

## ЗАЩИТНИ МЕХАНИЗМИ НА МАЙЧИНАТА КЪРМА И ЗДРАВЕТО НА КЪРМАЧЕТАТА

Илия Илиев

## PROTECTIVE MECHANISMS OF BREAST MILK AND INFANT HEALTH

Илия Илиев

**Резюме:** Оптималното кърмене е високо ефективна стратегия на общественото здраве при новородените за намаляване на смъртността от гастроентерити и пневмонии особено в развиващите се страни. Изследванията на кърменето показват защитната роля на кърмата срещу много хронични и имунни състояния, по-специално, диабет тип 1, некротизиращ ентероколит, астма и левкемия. Настоящата статия предлага обзор на механизмите, които осигуряват защитните механизми на майчината кърма.

**Ключови думи:** кърма, защитни механизми

**Abstract:** Optimal breastfeeding is a highly effective public health strategy for the reduction of infant mortality from gastroenteritis and pneumonia, especially in developing countries. Breastfeeding studies have shown the protective role of breast milk against many chronic and immune conditions, in particular, type 1 diabetes, necrotizing enterocolitis, asthma and leukemia. This article offers an overview of the protective mechanisms of mother's milk.

**Key words:** breast milk, protective mechanisms

Майчината кърма се счита за златен стандарт на храненето на бебетата. Оптималното кърмене всъщност остава високо ефективна стратегия на общественото здраве при новородените, особено за намаляване на смъртността от гастроентерити и пневмонии в развиващите се страни (Bhutta et al., 2013). Изследванията на кърменето показват защитната роля на кърмата срещу много хронични и имунни състояния, по-специално, диабет тип 1, некротизиращ ентероколит, астма и левкемия (Bartick and Reinhold, 2010). Освен това е известно, че кърменето намалява респираторните и стомашно-чревните инфекции в най-ранна възраст, както и намалява риска от захарен диабет тип 2, наднормено тегло и затлъстяване в детството, от заболявания на нервната система, особено при недоносени деца (Bartick and Reinhold, 2010; Dieterich et al., 2013; Kramer et al., 2009).

Факторите, отговорни за защитните механизми на кърменето могат да се разделят на три групи:

- Съставът на кърмата;
- Наличието на специфична микрофлора;
- Многообразието на секретирани ензими.

### 1. Някои специфики на състава на кърмата

Човешкото мляко притежава множество механизми за защита на новородените: клетки на имунния отговор, имуноглобулини, вродени защитни протеини, пептиди, свободни мастни киселини, цитокини и хемокини, гликани и олигозахариди (Ballard and Morrow, 2013). Сред различните биоактивни компоненти на човешкото мляко, олигозахаридите са най-разпространените и включват над 100 различни биоактивни въглехидрата, изградени от 3 до 32 монозахарида (Newburg et al., 2005). Като клас олигозахаридите съставляват 6–12 g/l от кърмата и са до голяма степен синтезирани от лактоза (Vode, 2012).

Човешката коластра съдържа приблизително 22–24 g/l млечни олигозахариди, докато това количество в кърмата е приблизително 12–13 g/l (Newburg et al., 1995; Urashima et al., 2012). В човешкото мляко

олигозахаридите са третият по концентрация компонент след лактозата и липидите и тяхното количество е доста по-високо от количеството на протеините (Newburg et al., 1995). До момента е характеризирана структурата на повече от 100 човешки олигозахариди (Urashima et al., 2011a,b; Kobata, 2010). Характеризирането на метаболизма на бифидобактериите е фокусирано в голяма степен върху способността им да метаболизират различни хранителни олигозахариди. Този род бактерии разполагат с набор от трансмембранни пермеази, осигуряващи метаболизирането на различни въглехидратни полимери, като хранителни фибри, включително човешки млечни олигозахариди, които преминават неразградени до дисталните отдели на храносмилателния тракт (Moro et al., 2006; Macfarlane and Cummings, 1999). Съществуват данни само за няколко вида бифидобактерии, способни да метаболизират и използват като въглероден източник човешки млечни олигозахариди. Такива видове обичайно са изолирани от микрофлората на гастроинтестиналния тракт на новородени. Установено е, че асоциирани с новороденото бифидобактерии са способни да усвояват предимно лакто-N-тетраози (LNT; Gal  $\beta$  1-3GlcNAc  $\beta$  1-3 Gal  $\beta$  1-4Glc) или лакто-N-неотетраози (LNnT; Gal  $\beta$  1-4GlcNAc  $\beta$  1-3 Gal  $\beta$  1-4Glc) (LoCascio et al., 2007).

Метаболитите са следствие на физиологичното състояние на човешкия организъм от една страна, а от друга на физиологичната активност на съпътстващата микрофлора в интестиналния тракт. Това ги прави идеален начин за проследяване на промените, предизвикани от болестно състояние или при лечение. Оценката на количеството и разнообразието на метаболитите е особено важен момент за разбирането на многобройните взаимодействия между генетика, околна среда и микробиота. В ключови точки от метаболитните процеси, там където те се пресичат, нискомолекулните метаболити посредничат при тези взаимоотношения.

### 2. Специфика в състава на микробиома в майчината кърма и чревния тракт на кърмачета

От раждането съществува стабилна симбиотична

връзка между съпътстващата ни микрофлора и клетките на нашето тяло, която играе съществена положителна роля в нашия живот и здравословен статус. Тази ос на здравето между микробиома и тялото на човека се развива през целия живот и се адаптира към отделните местообитания, образувайки специфични екологични ниши. Благодарение на огромния си метаболитен капацитет, днес вече микробиома се разглежда като „орган“ на нашето тяло, като тя се намира в динамично равновесие от раждането до смъртта (Moуa and Ferrer 2016). Съставът на микробиома, количеството и съотношението на представителите на различни семейства и родове микроорганизми са строго индивидуални. Те могат да бъдат променяни от генетичния произход, болести, диети и взаимодействие с околната среда (Bashan et al. 2016; Noecker et al. 2017). Нашият микробиом, обаче, е силно еластичен, често възстановява естествения си първоначален статус, известен като „Еубиоза“ (Moуa and Ferrer 2016). За разлика от това, в други случаи, при силен дисбаланс в таксономичния състав може да се индуцира микробиом, който е известен като „дисбиоза“ (Shin, Whon and Bae 2015). Дисбиозата може да се появи за няколко дни (P'erez-Cobas et al. 2013b) или да се придобива бавно през нашия живот.

Развитието на микробиома в храносмилателната система на новороденото е постепенен и динамичен процес, който се определя от няколко фактора, като например начин на раждане, недоносеност, вида на хранене, свързани заболявания и антибиотичната терапия, както и от влиянието на околната среда (Wall et al. 2009). Освен това процесът на колонизацията е силно повлиян от диетата (кърма и /или адаптирано мляко). По време на първия месец след раждането бифидобактериите и колиформите (в частност *E. coli*) са преобладаващи, последвани от *Lactobacillus* spp. и *Bacteroides* и със съществени различия между отделните индивиди (Wall et al., 2009). Промени в съотношението на доминиращите представители на чревната микрофлора на новородените се появяват след около една година от живота, главно в резултат на захранването с преходни храни и промяна в диетата на бебето. Броят на представителите на *Lactobacillus* spp., *Bacteroides* spp. и *Clostridia* се увеличава, докато *Bifidobacteria* и *E. coli* намаляват. Най-накрая на възраст от около 2 години микробната общност на червата достига по състав на микроби, подобен на този откриван в червата на възрастните (Koenig et al. 2011). През последните няколко години проучвания са разкрили, че и коластрата, и кърмата на здрави жени съдържат бактерии, включително стафилококи, стрептококи, коринебактерии, млечно-кисели бактерии, пропионобактерии и бифидобактерии (Fernández et al., 2013). Прилагането на модерни молекулярно-биологични методи и техники, включително и метагеномни подходи, потвърди присъствието на ДНК от тези и други бактериални родове в кърмата и коластрата. Следователно, тези биологични течности са непрекъснати източници на живи бактерии към стомашно-чревния тракт. Други проучванията показват, че има трансфер на бактериални шамове от майка към бебето в процеса на кърмене. Някои бактерии от устната кухина на бебето могат да замърсят млякото по време на сучене поради поток на мляко обратно в млечните канали (Ramsey et al., 2004). Установено е, че в рамките на 24 часа след раждането коластрата съдържа типични устни бактерии като *Veillonella*, *Leptotrichia* и *Prevotella* (Cabrerа-Rubio et al., 2012). Въпреки, че произходът на човешкия слюнчен микробиом все още е доста недобре проучен (Zaura et al., 2014), *Streptococcus* spp. изглежда е един от доминиращите видове. Стрептококите също

са сред доминиращите видове в човешката коластра и кърма. Няма проведени мащабни проучвания, характеризиращи развитието на оралната микрофлора по време на неонаталния период и детството. В първоначални проучвания се е смятало, че оралната колонизация от бактерии, причиняващи зъбен кариес може да се случи след поникване на първите млечни зъби при новороденото, като по-късно обаче е доказано, че кариогенният *Streptococcus mutans* може да присъства в устната кухина на бебето преди появата на твърди тъкани там (Law et al., 2007). Интересно е, че този вид вече е изолиран и от кърма (Martín et al., 2015). Доказано е, че здравето в устната кухина на майката корелира тясно с вероятността за развитие на зъбен кариес при детето (Zaura et al., 2014). Някои компоненти от майчината кърма (например, млечни олигозахариди, протеини) могат да повлияят колонизацията на отделни видове индиректно. Например, открити са млечни протеини, като казеини и лактоферин, които имат способност да инхибират прикрепването на кариогенни стрептококи към хидроксипатит и да насърчават прикрепването на коменсални бактерии *in vitro* (Johansson and Lif Holgersson, 2011).

В едно от последните проучвания върху количеството на лактобацилите и бифидобактериите в майчина кърма се докладва, че 40.91% от изолираните бактерии са лактобацили, а 10.61% са бифидобактерии в 66 изследвани култивирани проби. При друго подобно изследване е установено, че представителите на род *Lactobacillus* са 67.50%, а на род *Bifidobacterium* са 25.62% при общо 160 изследвани проби. Най-често изолирани и идентифицирани са видовете *L. salivarius* (35.00%), следван от *L. fermentum* (25.00%) и *L. gasseri* (21.88%), докато от бифидобактериите *B. breve* (13.75%) е бил най-често идентифициран.

Основните фактори, повлияващи микробната колонизация на кърмачетата, включват начина на раждане, модела на хранене, неонаталните грижи, приема на антибиотик, хигиенните условия, състава на семейството и физическото местоположение (например държава на раждането) (Adlerberth and Wold, 2009; Fallani et al., 2010; Penders et al., 2006).

## 2.1. Начин на раждане

Един от най-известните източници на микробна колонизация и последващи влияния на микробиома на бебето е начинът на раждане. С отделяне на вагинални, фекални и перианални микроорганизми от майката по време на раждането започва процесът на микробна колонизация на новороденото (Dominguez-Bello et al., 2010; Fallani et al., 2010; Koenig et al., 2011; Madan et al., 2016; Penders et al., 2006). И въпреки това, мястото и болничната практика могат да бъдат еднакво важни по отношение на експозицията и ранната колонизация.

## 2.2. Начин на хранене

Съставът на диетите на новороденото също е един от най-ранните фактори, засягащи ранната микробна експозиция и колонизация на детския гастроинтестинален тракт (Edwards and Parrett, 2002; Penders et al., 2006; Thompson, 2012). За повечето бевета се смята, че кърменето има най-дълготрайно влияние в тази насока. Например, бактерии в човешкото мляко (Jeurink et al., 2013; Hunt et al., 2011; Martín et al., 2012) вероятно допринасят пряко за колонизацията на гастроинтестиналният тракт на новородените като на това се основават и значителни разлики във фекалния микробиом на беветата, които са кърмени, и такива които са изкуствено

хранени (Fanaro et al., 2003; Madan et al., 2016; Penders et al., 2006).

### 2.3. Влияние на социалната среда

По целия свят е прието майките да оказват приоритетно първични грижи в отглеждането на новороденото (Konner, 2016), а техният контакт с децата ги прави един от най-важните индивиди по отношение развитието на микробиома на техните бебета (Matamoros et al., 2013). Съществуват обаче различни културни различия, които непряко оказват влияние върху ранната колонизация. Така например е установено, че в американското общество майката държи до себе си и докосва детето си не повече от 18 % от 24 часовото денонощие. За разлика от тях майките от не-западни общества са в близък контакт с новородените приблизително 79-90 % от деня (Hewlett and Lamb, 2002). Този продължителен контакт на майката и новороденото дава възможност за по-голям трансфер на микроорганизми в посока от майката към детето. Не е много добре проучено влиянието на други индивиди, съжителстващи с новороденото и полагащи грижи в отглеждането му, както и влиянието на различни домашни животни върху развитието на неонаталния микробиом.

Към полезната микрофлора в чревния тракт на новородените се причисляват основно представителите на род *Bifidobacterium* и род *Lactobacillus*, които са сред първите микроорганизми, колонизиращи чревния тракт на новороденото. Счита се, че видът *Bifidobacterium longum* е най-честия първоначален колонизатор на гастроинтестиналния тракт на новородените (Palmer et al., 2007).

Лактоцилите населяват тялото на новороденото бебе в ранния неонатален период. Те обитават различни участъци от стомашно-чревния тракт, от устната кухина до дебелото черво, където поддържат рН от 5,5-5,6. Лактоцилите се откриват също в човешкото и животинското мляко. В стомаха лактобацилите се съдържат в количество 102-103 cfu/ml стомашен сок, в тънките черва - до 103-104 cfu/ml чревен сок, в дебелото черво - 106-108 cfu/g изпражнения (в зависимост от възрастта).

Млечнокиселите бактерии влизат в сложно взаимодействие с други микроорганизми, в резултат на което се потискат гнилостни и пиогенни условно-патогенни микроорганизми, предимно от род *Proteus*, както и патогенни причинители на остри чревни инфекции. В процеса на нормален метаболизъм те са в състояние да образуват органични киселини, като млечна киселина, оцетна киселина, водороден пероксид, да секретират ензима лизозим, както и вещества с антибиотична активност като бактериоцини (реутерин, плантарицин, лактоцидин, лактолин) и биоактивни пептиди. В стомаха и тънките черва лактобацилите, в сътрудничество с организма на човека, са основната микробиологична връзка при формирането на резистентност към колонизация.

### 3. Ензими, секретирани от полезната микрофлора в чревния тракт на кърмачета

Микроорганизмите от полезната микрофлора секретират богат комплекс от ензими, като протеази,  $\beta$ -галактозидази,  $\alpha$ -галактозидази, липази, които са отговорни за усвояването и метаболизирането на различни компоненти от богатия състав на майчината кърма и в частност на коластрата. Единствено в майчината кърма

са установени голямо разнообразие от олигозахариди със специфични, разклонени химични структури, чието усвояване и метаболизиране изисква секрецията на специфични ензими. Наскоро беше идентифицирана ензимната система на бифидобактериите, отговорна за метаболизирането на олигозахаридите в майчината кърма. Ензимът 1,3- $\beta$ -галактозил-N-ацетилхексозамин фосфорилаза (ЕС 2.4.1.211), катализиращ хидролизирането на олигозахаридите от майчината кърма с откъсване на дизахаридите галакто-N-биоза и лакто-N-биоза. *Bifidobacterium bifidum* притежава извънклетъчни ензими за освобождаване на лакто-N-биоза от олигозахаридите в кърмата. Бифидобактерии, изолирани от чревния тракт на новородени, притежават специфичен метаболитен път за метаболизиране на двата дизахариди. *Bifidobacterium bifidum* секретира и друг специфичен ензим, извънклетъчна 1,2- $\alpha$ -L-фукозидаза (ЕС 3.2.1.63), която разцепва крайни 1,2- $\alpha$ -фукозилови връзки, които защитават галактозните остатъци в лакто-N-биоза, като по този начин позволяват продължаване на катаболитните процеси до пълното им усвояване (Katayama et al., 2004; Nagaе et al., 2007). В допълнение, лакто-N-биозидаза (ЕС 3.2.1.140) освобождава лакто-N-биоза от лакто-N-тетраоза и от други млечни олигозахариди, в които липсва фукозилиране или сиалиране (Wada et al., 2008). Веднъж получена, лакто-N-биозата се транспортира през клетъчната мембрана от специален ABC транспортер, който интегрира лакто-N-биозо свързваща субединица (Suzuki et al., 2008; Wada et al., 2007). Известно е също така, че *B. longum* използва ендо- $\alpha$ -N-ацетилгалактозаминидаза (ЕС 3.2.1.97) за извличане на галакто-N-биоза от O-свързани муцинови гликани (Fujita et al., 2005). Същност, присъствието на както ендо-N-ацетилгалактозаминидаза, така и на фукозидазната активност дава възможност на *B. bifidum* да разгражда муцин (Ruas-Madiedo et al., 2008).

### 4. Примери за заболявания, свързани с дисбиози на чревния тракт при кърмачета

Въз основа на серия от публикации от последните години, дисбиозата на коменсалния микробиом е замесена в патогенезата на няколко заболявания, включително IBD, затлъстяване и алергични разстройства, както при новородени, така и при възрастни. От друга страна изследователите разглеждат микробиома като потенциален източник на биомаркери за различни заболявания. Въпреки че това може да е плодородна зона за биомаркерите, има много примери за това, че различни метаболити могат да се свързват с едно и също заболяване, което намалява надеждността им като биомаркери.

Астмата е най-разпространеното хронично заболяване на детството. Установена е от канадски учени корелация между настъпващи промени в микробиома на червата при бебета до една година (дисбиоза), които повлияват развитието на астма. Изследвани са ефектите на микробналната дисбиоза на червата върху atopичен хрип при население, живеещо в развиващи се страни с нисък икономически стандарт. Микробнални дисбиози на 3-месечна възраст се свързват с по-късно развитие на atopичен хрип. Например наблюдаваната дисбиоза при бебета в Еквадор, включващи различни бактериални таксони, включително и няколко таксона микроскопични гъбички. Нивата на фекалните късоверижни мастни киселини при тримесечни бебета с atopичен хрип показват ясни тенденции на увеличена концентрация на ацетат и намалена концентрация на

капронова киселина.

Възпалителното заболяване на червата (IBD) е чревно възпалително състояние, което засяга над два милиона души в Съединените щати. Въпреки че етиологията и патогенезата на IBD все още са до голяма степен неизвестни, дисрегулираните взаимодействия гостоприемник/микроорганизъм са необходими за развитието на IBD. Досега много изследователи се опитват да установят точна връзка между IBD и дисбаланси на чревния микробиом. Въпреки всеобхватните усилия, все още не е известно до каква степен взаимодействието между микрофлората, техните гостоприемници и спецификата на екологичната им ниша, отговорни за настъпване на дисбиоза, е причинен фактор или ефект на IBD. Публикувани са данни от анализи на микробиома при пациенти с IBD, които търсят пряка или косвена връзка със съществено значение между дисбиозата и развитието на IBD. До този момент няма неоспорими доказателства, които еднозначно да идентифицират свързаните с конкретните промени нива на видовете и болестта.

Атопичният дерматит (AD) е хронично и рецидивиращо възпалително заболяване, което засяга предимно кожата, причинява сърбежни лезии, сухота и стафилококови инфекции. Като се имат предвид симптомите му, атопичният дерматит представлява значителна тежест за пациентите, техните семейства и цялото общество. Началото на заболяването обикновено се случва в ранна детска възраст. Диагностицирани са 15 % до 30 % от децата, включително и кърмачета. Въпреки че атопичния дерматит може да изчезне с течението на времето, 40 % до 60 % от децата - пациенти продължават да имат симптоми, а прогнозираното разпространение при възрастни е от 2 % до 10 %. Приема се, че атопичният дерматит е наследствено заболяване, тъй като включва няколко гена, свързани с функционирането на бариерните функции на кожата и имунната система. Освен това е установено, че също фактори на околната среда и навици в ежедневието като стрес, инфекции и алергени също могат да провокират неговата изява. Въпреки факта, че подробни механизми, които са в основата на възпалението на кожата на атопичен дерматит не са напълно изяснени, дефект във функцията на бариера на кожата и имуноен дисбаланс играят решаваща роля за неговото проявление, което води до Thelper клетъчен тип 2 (Th2) имунна реакция. Въпреки че ролята на чревния микробиом за превенция и преодоляване на атопичния дерматит все още се дискутира, докладвани са съществени разлики в състава и количеството на микробиома на кожата и червата при здрави и болни с атопичен дерматит. По-специално, по-големи количества клостридии и качествени разлики в популацията на бифидобактериите са открити в чревната микрофлора на пациенти с атопичен дерматит в сравнение с здрави субекти. Тъй като пробиотиците имат значение за активирането на имунната система, те могат да представляват валидна опция за лечение на атопичен дерматит. Многобройни изследвания подкрепят това използване на пробиотици при лечение на атопичен дерматит.

Някои от защитните механизми на човешкото мляко се дължат на олигозахаридите. Като се има предвид нарастващата степен на заболявания, свързани с нерегулирания микробиом и имунитета на гостоприемника, налице е глобален интерес за тестване на нови хранителни подходи и функционални храни, съответстващи на тези, открити в кърмата, за да се оптимизира здравето на човека и да се възстанови бактериалната флора.

1. Albesharat, R., Ehrmann, M.A., Korakli, M., Yazaji, S., Vogel, R.F., 2011. Phenotypic and genotypic analyses of lactic acid bacteria in local fermented food, breast milk and faeces of mothers and their babies. *Systematic and Applied Microbiology* 34, 148–155.

2. Ballard, O., Morrow, A.L., 2013. Human milk composition: nutrients and bioactive factors. *Pediatric Clinics of North America* 60 (1), 49–74.

3. Bartick, M., Reinhold, A., 2010. The burden of suboptimal breastfeeding in the United States: a pediatric cost analysis. *Pediatrics* 125 (5), e1048–e1056.

4. Bhutta, Z.A., Das, J.K., Walker, N., et al., 2013. Interventions to address deaths from childhood pneumonia and diarrhoea equitably: what works and at what cost? *Lancet* 381 (9875), 1417–1429.

5. Bode, L., Jantscher-Krenn, E., 2012. Structure-function relationships of human milk oligosaccharides. *Advances in Nutrition* 3 (3), 383S–391S.

6. Cabrera-Rubio, R., Collado, M.C., Laitinen, K., Salminen, S., Isolauri, E., Mira, A., 2012. The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. *American Journal of Clinical Nutrition* 96 (3), 544–551.

7. Cephas, K.D., Kim, J., Mathai, R.A., Barry, K.A., Dowd, S.E., Meline, B.S., Swanson, K.S., 2011. Comparative analysis of salivary bacterial microbiome diversity in edentulous infants and their mothers or primary care givers using pyrosequencing. *PLoS ONE* 6, e23503.

8. Dieterich, C.M., Felice, J.P., O'Sullivan, E., Rasmussen, K.M., 2013. Breastfeeding and health outcomes for the mother-infant dyad. *Pediatric Clinics of North America* 60 (1), 31–48.

9. Jiménez, E., de Andrés, J., Manrique, M., Pareja-Tobes, P., Tobes, R., Martínez-Blanch, J.F., Codoñer, F.M., Ramón, D., Fernández, L., Rodríguez, J.M., 2015. Metagenomic analysis of milk of healthy and mastitis-suffering women. *Journal of Human Lactation* 31, 406–415.

10. Jiménez, E., de Andrés, J., Manrique, M., Pareja-Tobes, P., Tobes, R., Martínez-Blanch, J.F., Codoñer, F.M., Ramón, D., Fernández, L., Rodríguez, J.M., 2015. Metagenomic analysis of milk of healthy and mastitis-suffering women. *Journal of Human Lactation* 31, 406–415.

11. Johnson, P., Watkins, W., 1982. Separation of an alpha-3-L-fucosyltransferase from the blood-group-Legene-specified alpha-3/4-L-fucosyltransferase in human milk. *Biochemical Society Transactions*, 10:445–446.

12. Katayama, T., et al., 2004. Molecular cloning and characterization of *Bifidobacterium bifidum* 1,2-alpha-L-fucosidase (AfcA), a novel inverting glycosidase (glycoside hydrolase family 95). *Journal of Bacteriology* 186 (15), 4885–4893.

13. Kobata, A., 2010. Structures and application of oligosaccharides in human milk. *Proceedings of Japan Academy, Series B, Physical and Biological Sciences* 86, 1–17.

14. Koenig, J.E., et al., 2011. Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108 (Suppl. 1), 4578–4585.

15. Kramer, M.S., Matush, L., Bogdanovich, N., et al., 2009. Health and development outcomes in 6.5-y-old children breastfed exclusively for 3 or 6 mo. *The American Journal of Clinical Nutrition* 90 (4), 1070–1074.

16. Law, V., Seow, W.K., Townsend, G., 2007. Factors influencing oral colonization of mutans streptococci in

young children. *Australian Dental Journal* 52, 93–100.

17. LoCascio, R.G., et al., 2009. A versatile and scalable strategy for glycoprofiling bifidobacterial consumption of human milk oligosaccharides. *Microbial Biotechnology* 2 (3), 333–342.

18. Macfarlane, G.T., Cummings, J.H., 1999. Probiotics and prebiotics: can regulating the activities of intestinal bacteria benefit health? *BMJ* 318 (7189), 999–1003.

19. Martin, R., Langa, S., Reviriego, C., Jiménez, E., Marín, M.L., Xaus, J., Fernández, L., Rodríguez, J.M., 2012. Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. *Journal of Pediatrics* 143, 754–758.

20. McGuire, M.K., McGuire, M.A., 2015. Human milk: mother nature's prototypical probiotic food? *Advances in Nutrition* 6, 112–123.

21. Moro, G., et al., 2006. A mixture of prebiotic oligosaccharides reduces the incidence of atopic dermatitis during the first six months of age. *Archives of Disease in Childhood* 91 (10), 814–819.

22. Nagae, M., et al., 2007. Structural basis of the catalytic reaction mechanism of novel 1,2- $\alpha$ -L-fucosidase from *Bifidobacterium bifidum*. *Journal of Biological Chemistry* 282 (25), 18497–18509.

23. Nasidze, I., Li, J., Quinque, D., Tang, K., Stoneking, M., 2009. Global diversity in the human salivary microbiome. *Genome Research* 19, 636–643.

24. Newburg, D.S., Naubauer, S.H., 1995. Carbohydrates in milks: analysis, quantities and significance. In: Jensen, R.G. (Ed.), *Handbook of Milk Composition*. Academic Press, San Diego, pp. 273–349.

25. Palmer, C., et al., 2007. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biology* 5 (7), e177.

26. Urashima, T., Fujita, S., Fukuda, K., Nakamura, T., Saito, T., Cowan, P., Messer, M., 2012. Chemical characterization of milk oligosaccharides of the common brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*). *Glycoconjugate Journal* 31, 387–399.

27. Urashima, T., Messer, M., Oftedal, O.T., 2011. Comparative biochemistry and evolution of milk oligosaccharides of monotremes, marsupials, and eutherians. In: Pontarotti, P. (Ed.), *Evolutionary Biology: Genome Evolution, Speciation, Coevolution and Origin of Life*. Springer, Switzerland, pp. 1–33.

28. Wada, J., et al., 2007. Purification, crystallization and preliminary X-ray analysis of the galacto-N-biose-/lacto-N-biose I-binding protein (GL-BP) of the ABC transporter from *Bifidobacterium longum* JCM1217. *Acta Crystallographica Section F Structural Biology and Crystallization* 63 (Pt 9), 751–753.

29. Wall, R., Ross, R. P., Shanahan, F., O'Mahony, L., O'Mahony, C., Coakley, M., et al., 2009. Metabolic activity of the enteric microbiota influences the fatty acid composition of murine and porcine liver and adipose tissues. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 89, 1393–1401.

30. Ward, T.L., Hosid, S., Ioshikhes, I., Altosaar, I., 2013. Human milk metagenome: a functional capacity analysis. *BMC Microbiology* 13, 116.

31. Yang, F., Zeng, X., Ning, K., Liu, K.L., Lo, C.C., Wang, W., Chen, J., Wang, D., Huang, R., Chang, X., Chain, P.S., Xie, G., Ling, J., Xu, J., 2012. Saliva microbiomes distinguish caries-active from healthy human populations. *ISME Journal* 6, 1–10.

32. Zaura, E., Nicu, E.A., Krom, B.P., Keijser, B.J., 2014. Acquiring and maintaining a normal oral microbiome: current perspective. *Frontiers in Cell Infection and Microbiology* 24, 85.

33. Newburg, D.S., Naubauer, S.H., 2005. Carbohydrates in milks: analysis, quantities and significance. In: Jensen, R.G. (Ed.), *Handbook of Milk Composition*. Academic Press, San Diego, pp. 273–349.

34. Wada, J., et al., 2008. *Bifidobacterium bifidum* lacto-N-biosidase, a critical enzyme for the degradation of human milk oligosaccharides with a type 1 structure. *Applied and Environmental Microbiology* 74 (13), 3996–4004.

35. Suzuki, R., et al., 2008. Structural and thermodynamic analyses of solute-binding protein from *Bifidobacterium longum* specific for core 1 disaccharide and lacto-N-biose I. *Journal of Biological Chemistry* 283 (19), 13165–13173.

36. Fujita, K., et al., 2005. Identification and molecular cloning of a novel glycoside hydrolase family of core 1 type O-glycan-specific endo- $\alpha$ -N-acetylgalactosaminidase from *Bifidobacterium longum*. *Journal of Biological Chemistry* 280 (45), 37415–37422.

37. Ruas-Madiedo, P., et al., 2008. Mucin degradation by *Bifidobacterium* strains isolated from the human intestinal microbiota. *Applied and Environmental Microbiology* 74 (6), 1936–1940.

38. Cabrera-Rubio, R., Collado, M.C., Laitinen, K., Salminen, S., Isolauri, E., Mira, A., 2012. The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. *American Journal of Clinical Nutrition* 96 (3), 544–551.

39. Fernández, L., Langa, S., Martín, V., Maldonado, A., Jiménez, E., Martín, R., Rodríguez, J.M., 2013. The human milk microbiota: origin and potential roles in health and disease. *Pharmacological Research* 69, 1–10.

40. Jost, T., Lacroix, C., Braegger, C., Rochat, F., Chassard, C., 2014. Vertical mother-neonate transfer of maternal gut bacteria via breastfeeding. *Environmental Microbiology* 16 (9), 2891–2904.

41. Ward, T.L., Hosid, S., Ioshikhes, I., Altosaar, I., 2013. Human milk metagenome: a functional capacity analysis. *BMC Microbiology* 13, 116.

Проф. д-р Илия Илиев - Център по технологии, ПУ „Паисий Хилендарски“, ул. Костаки Пеев № 2, 1, Пловдив-4000

За контакт: [iliev@pu-technocentre.eu](mailto:iliev@pu-technocentre.eu)