® Postepy Hig Med Dosw (online), 2020; 74: 103–115
e-ISSN 1732-2693

www.phmd.pl
Review

Received: 02.07.2019
Accepted: 29.01.2020
Published: 15.05.2020

Cząsteczki mikroRNA – nowy biologicznie aktywny składnik mleka kobiecego*

MicroRNAs as novel bioactive components of human breastmilk

Patrycja Jakubek, Joanna Cieślewicz, Agnieszka Bartoszek

Katedra Chemii, Technologii i Biotechnologii Żywności, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska, Gdańsk

Streszczenie

Cząsteczki mikroRNA są krótkimi, niekodującymi oligonukleotydami odpowiadającymi za potranskrypcyjną regulację ekspresji genów. W wyniku ich aktywności kontrolowanych jest wiele procesów komórkowych oraz szlaków sygnalizacyjnych. Od 2010 roku wiadomo, że wchodzą one w skład mleka kobiecego, które obecnie uznaje się za jedno z najbogatszych pokarmowych źródeł mikroRNA. Funkcje tych cząsteczek w organizmie karmionego mlekiem matki dziecka są związane z kształtowaniem się układu odpornościowego, wzrostem i prawidłowym rozwojem. Wykazano, że cząsteczki mikroRNA pochodzące z mleka kobiecego są stabilne w warunkach *in vitro* symulujących trawienie w przewodzie pokarmowym niemowlęcia oraz mogą podlegać wchłanianiu przez enterocyty, przez co stanowią potencjalnie bioaktywny składnik mleka kobiecego sprzyjający rozwojowi niemowląt karmionych piersią. Ochronę przed degradacją w wyniku działania RNaz bądź niskiego pH zapewnia otoczka egzosomów, które stanowią nośnik mikroRNA we frakcji odtłuszczonej mleka, natomiast we frakcji lipidowej i komórkowej funkcję tę przypisuje się koloidalnym skupiskom pęcherzyków, zwanych kuleczkami tłuszczowymi, oraz laktocytom. W przeciwieństwie do mleka matki, sztuczne mieszanki mlekozastępcze zawierają tylko nieliczne cząsteczki mikroRNA – co więcej – wywodzące się od innych organizmów. Można przypuszczać, że dodatek krótkich RNA o sekwencjach identycznych z mikroRNA występującymi naturalnie w mleku kobiecym do preparatów do karmienia zastępczego niemowląt może stać się nowym, ważnym składnikiem mieszanek mlekozastępczych.

Słowa kluczowe: **mikroRNA • mleko kobiece • kwasy nukleinowe w żywności • bioaktywne składniki mleka kobiecego**

Summary

MicroRNAs are short, non-coding oligonucleotides that regulate gene expression at the post-transcriptional level. These small molecules participate in the control of various cellular processes and signalling pathways. Since 2010 microRNAs have been recognized as a new bioactive component of breastmilk, which is an exceptionally rich source of these oligonucleotides. In infants fed with breastmilk, microRNAs are involved in the growth and proper development as well as maturation of the immune system. It has been demonstrated that microRNAs are resistant to harsh conditions during *in vitro* digestion in simulated gastrointestinal tract of a newborn and, therefore, may be absorbed by the intestinal cells. Protection against RNase activity and low pH is provided by exosomes, which are carriers of microRNAs in skim milk or by fat globules and milk cells. It has been reported that, in contrast to human milk, infant

*Publikację przygotowano w wyniku realizacji projektu badawczego o nr 2016/23/N/NZ9/02227 finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki w ramach konkursu „PRELUDIUM 12"

formulas contain only a few microRNAs, which have been derived from other organisms, such as cow or soy. It may be presumed that supplementing infant formulas with microRNAs identical with those which occur naturally in breastmilk may constitute a new way of designing artificial substitutes for human breastmilk.

Keywords: **microRNAs • human milk • breastmilk • breastfeeding • dietary nucleic acids • breastmilk bioactive components**

GICID 01.3001.0014.1434
DOI: 10.5604/01.3001.0014.1434
Word count: 7538
Tables: 6
Figures: –
References: 101

Adres autorki: mgr inż. Patrycja Jakubek, Katedra Chemii, Technologii i Biotechnologii Żywności, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska, ul. Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk; e-mail: patrycja.jakubek@pg.edu.pl

Wykaz skrótów: **α-LA** – α-laktoalbumina (α-lactalbumin); **Akt** – kinaza Akt (kinase Akt); **β4GalT1** – β-1,4-galaktozylotransferaza 1 (β-1,4-galactosyltransferase 1); **AGPAT6** – O-acylotransferaza 6 1-acyloglicerolo-3-fosforanu (1-acylglycerol-3-phosphate O-acyltransferase 6); **ATPaza** – adenozynotrifosfataza (adenylpyrophosphatase); **DGCR8** – podjednostka kompleksu mikroprocesorowego (DiGeorge syndrome critical region 8); **DNMT1** – metylotransferaza DNA 1 (DNA methyltransferase 1); **DNMT3b** – metylotransferaza DNA 3b (DNA methyltransferase 3b); **ER** – receptory estrogenowe (estrogen receptors); **ERBB3** – receptor czynnika wzrostu naskórka (tyrosine-protein kinase erbB-3 receptor); **FTO** – gen podatności na otyłość (fat mass and obesity-associated gene); **GHR** – receptor hormonu wzrostu (growth hormone receptor); **GLUT1** – transporter glukozy 1 (glucose transporter 1); **hGH** – ludzki hormon wzrostu (human growth hormone); **HIEC** – linia komórkowa krypt jelitowych zdrowych komórek nabłonkowych jelita cienkiego (normal human intestinal epithelial crypt-like cells); **IGF-1** – insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (insulin-like growth factor 1); **IGF-IR** – receptor insulinopodobnego czynnika wzrostu (insulin-like growth factor-I receptor); **INS** – insulina (insulin); **INSR** – receptor insuliny (insulin receptor); **JAK2** – kinaza Janus 2 (Janus kinase 2); **miR** – mikroRNA (microRNA); **mTOR –** kinaza mTOR (mammalian target of rapamycin); **ORP9** – białko powiązane z białkiem wiążącym oksysterol (oxysterol binding protein-related protein 9); **PI3K** – kinaza fosfatydyloinozytolu (phosphatidylinositol-3-kinase); **pre-mikroRNA** – prekursorowy mikroRNA (precursor microRNA); **pri-mikroRNA** – pierwotny mikroRNA (primary microRNA); **PXR** – receptor pregnanu X (pregnane X receptor); **RAA** – układ renina-angiotensyna-aldosteron (renin-angiotensin-aldosteron system); **RAS** – układ renina-angiotensyna (renin-angiotensin system); **RISC** – indukowany przez RNA kompleks wyciszający (RNA-induced silencing complex); **RNaza** – rybonukleaza (ribonuclease); **ROCK1** – Rho-zależna kinaza 1 (Rho-associated protein kinase 1); **SOCS** – supresor sygnalizacji cytokin (suppressor of cytokine signaling); **STAT** – przekaźniki sygnału i aktywatory transkrypcji (signal transducers and activators of transcription); **TGIF2** – represor transkrypcji modulujący szlak sygnalizacyjny związany z TGF-β (transforming growth-interacting factor 2); **TLR** – receptory Toll-podobne (Toll-like receptors); **TNF-α** – czynnik martwicy nowotworu (tumor necrosis factor).

WSTĘP

Mleko kobiece jest cennym źródłem składników pokarmowych dostosowanych do potrzeb rozwijającego się dziecka [52]. Z tego względu wyłączne karmienie piersią jest rekomendowane przez Światową Organizację Zdrowia przez pierwsze sześć miesięcy życia niemowlęcia, a dalsze karmienie nawet do osiągnięcia przez dziecko wieku dwóch lat przy stopniowo wprowadzanych do diety innych produktach uzupełniających [53]. Oprócz podstawowych składników pokarmowych, mleko kobiece dostarcza dziecku substancji aktywnych biologicznie, które nie tylko zapewniają odpowiedni rozwój, ale też wzmacniają układ immunologiczny, a w dorosłym życiu chronią przed rozwojem chorób przewlekłych [43]. Od 2010 r. do tej grupy składników zalicza się także krótkie niekodujące jednoniciowe kwasy nukleinowe, tzw. mikroRNA, których bioaktywność oraz biodostępność jest intensywnie badania w mleku kobiecym [3, 4, 5, 50, 73], krowim [73, 79, 84], mysim [88], owczym [73] oraz pobranym od loch [32].

MOST WIEDZY Pobrano z mostwiedzy.pl

Biogeneza cząsteczek mikroRNA przebiega w kilku etapach, które szczegółowo opisali Grenda i wsp. [31]. Pierwsze etapy zachodzą w jądrze komórkowym, gdzie powstają pierwotne transkrypty pri-miRNA, składające się z połączonych ze sobą struktur szpilek do włosów, które mogą osiągnąć długość nawet kilku tysięcy par zasad. Takie struktury pri-miRNA są następnie poddawane obróbce przez kompleks enzymatyczny, w którego skład wchodzi białko jądrowe DGCR8 oraz rybonukleaza III o nazwie Drosha. Obróbka uwalnia pojedyncze struktury szpilki do włosów o długości około 60–100 par zasad tworzące cząsteczki pre-miRNA, które są następnie przenoszone przez białko eksportynę 5 do cytoplazmy, gdzie w wyniku działania enzymu Dicer podlegają przekształceniu w dojrzałe, dwuniciowe cząsteczki mikroRNA o długości około 20 nukleotydów. Dojrzała cząsteczka mikroRNA po wspomnianej obróbce enzymatycznej przeprowadzonej przez enzym Dicer występuje w formie dupleksu składającego się z nici wiodącej i pasażerskiej. W ostatnim etapie cząsteczki mikroRNA przyjmują aktywną postać po wbudowaniu ich w białkowy kompleks RISC, w którym występują w finalnej jednoniciowej formie [65]. Główną rolą cząsteczek mikroRNA jest potranskrypcyjna regulacja ekspresji genów zachodząca albo przez blokowanie translacji białka na rybosomach, albo w wyniku degradacji cząsteczek mRNA. W 2014 r. na podstawie danych z bazy miRBase v21 oszacowano, że prawie 30% ludzkich genów kodujących białka stanowi cel molekularny dla 2588 poznanych już wówczas ludzkich cząsteczek mikroRNA [26, 51]. Jest to możliwe, ponieważ jedna cząsteczka mikroRNA może oddziaływać z sekwencjami nawet 100 różnych transkryptów [19, 82]. W ten sposób cząsteczki mikroRNA, zaliczane do epigenetycznych modulatorów ekspresji genów, biorą znaczący udział w kształtowaniu się transkryptomu, a tym samym również proteomu, czyli zbiorów cząsteczek, odpowiednio RNA oraz białek w danej populacji komórek bądź organizmie.

Dzięki technologiom sekwencjonowania nowej generacji i bioinformatycznej analizie danych możliwe stało się poznanie tzw. miRNomów, czyli kompletnych profili cząsteczek mikroRNA danej komórki, tkanki, płynów ustrojowych (takich jak mleko) czy też organizmu. Stąd wiadomo, że mleko kobiece jest jednym z najbogatszych źródeł mikroRNA spośród wszystkich płynów ustrojowych człowieka; już w pierwszych analizach stwierdzono w nim obecność ponad 200 dojrzałych cząsteczek mikroRNA [4]. Można oczekiwać, że poznanie miRNomu mleka kobiecego pozwoli dogłębnie zrozumieć rolę karmienia piersią oraz wyjaśnić na poziomie epigenetycznym płynące z tego korzyści dla dziecka, ale też lepiej projektować mieszanki mlekozastępcze przeznaczone do karmienia niemowląt [66, 79].

CZĄSTECZKI mikroRNA W POSZCZEGÓLNYCH FRAKCJACH MLEKA KOBIECEGO

Cząsteczki mikroRNA są obecne w każdej z trzech frakcji mleka kobiecego: odtłuszczonej [50, 94], lipidowej [3] oraz komórkowej [4]. Laktocyty (komórki nabłonkowe gruczołu mlekowego pełniące funkcje wydzielnicze) są dominującą grupą komórek w dojrzałym mleku matki. Oprócz mleka, wydzielają także tłuszcz mleczny [38]. Frakcja komórkowa i lipidowa mleka kobiecego charakteryzują się podobnym profilem ekspresji cząsteczek mikroRNA, dlatego też Alsaweed i wsp. [3] uznali gruczoł mlekowy za główne miejsce ich syntezy, wskazując na jedynie niewielki udział układu krążenia matki w dostarczaniu pozostałych z nich [3, 5]. Podobne wyniki uzyskali Li i wsp. [62], przeprowadzając analizę miRNomu każdej z frakcji mleka krowiego. Swoiste dla okresu ciąży i laktacji cząsteczki mikroRNA mogą istotnie wpływać na rozwój i prawidłowe funkcjonowanie gruczołu mlekowego, m.in. biorąc udział w regulacji przejścia epitelialno-mezenchymalnego [5, 34], którego celem jest przystosowanie tego gruczołu do wytwarzania mleka. Sprawia to, że cząsteczki mikroRNA mogą także pełnić rolę biomarkerów stanu zdrowia gruczołu mlekowego u karmiących matek [3, 4, 5].

Frakcja odtłuszczona

Pierwsze opublikowane w 2010 r. prace badawcze dotyczące cząsteczek mikroRNA w mleku kobiecym ograniczały się jedynie do mleka odtłuszczonego [50, 94]. Obecnie wiadomo, że spośród wszystkich frakcji mleka, we frakcji odtłuszczonej oligonukleotydy te występują najmniej licznie [3, 8]. W badaniach opublikowanych przez Kosaka i wsp. [50] oraz Weber i wsp. [94], wykorzystano mikropłytki służące do detekcji odpowiednio 723 oraz 714 znanych mikroRNA pochodzących z organizmu człowieka. Pierwsza grupa zidentyfikowała 281, natomiast druga 429 różnych cząsteczek mikroRNA, wskazując mleko kobiece jako drugie, po płynie owodniowym, najbogatsze źródło cząsteczek mikroRNA spośród płynów ustrojowych. Rola tych cząsteczek, które charakteryzowały się najwyższym poziomem ekspresji, wiązała się z rozwojem układu immunologicznego, co stanowiło punkt wyjścia do dalszego zgłębiania ich bioaktywnych korzyści płynących z karmienia piersią.

Cząsteczki mikroRNA odtłuszczonej frakcji mleka mogą być zamknięte w małych transportujących pęcherzykach błonowych biorących udział w komunikacji międzykomórkowej, zwanych egzosomami [27, 63, 67, 100]. Możliwe jest ich wchłanianie w przewodzie pokarmowym dzięki obecności na powierzchni egzosomów oraz komórek nabłonkowych jelita swoistych glikoprotein [95]. Egzosomy są uznawane za główny nośnik cząsteczek mikroRNA umożliwiający ich transfer z pokarmu matki do organizmu dziecka, gdzie mogą spełniać określone funkcje biologiczne, wpływając na zmianę ekspresji genów [6, 27, 49, 63, 95]. Same cząsteczki mikroRNA pełnią również główną rolę w komunikacji międzykomórkowej [15]. Istnieją wprawdzie także doniesienia podważające możliwość rzeczywistej biodostępności i bioaktywności cząsteczek mikroRNA obecnych w pożywieniu w organizmie konsumenta. Wątpliwości te skupiają się jednak głównie na możliwym działaniu mikroRNA pochodzenia roślinnego na spożywające je z pokarmem roślinnym organizmy zwierzęce [10, 88].

MOST WIEDZY Pobrano z mostwiedzy.pl

Zhou i wsp. [100] zidentyfikowali 452 rodzaje prekursorowych cząsteczek pre-mikroRNA pochodzących z egzosomów mleka kobiecego, które są źródłem aż 639 różnych dojrzałych sekwencji. Spośród nich dla 602 profil ekspresji został określony jako unikatowy dla mleka kobiecego. Potwierdzono, że funkcje biologiczne pełnione przez część z tych cząsteczek były powiązane z rozwojem układu immunologicznego. Wspomniana grupa zidentyfikowanych cząsteczek mikroRNA występujących najliczniej w egzosomach mleka kobiecego jest zgodna z wynikami badań prowadzonych przez inną grupę badawczą [63]. Niewielkie różnice między uzyskanymi profilami mikroRNA wynikają z naturalnych różnic osobniczych między matkami, od których pobrano pokarm.

Dzięki zamknięciu w egzosomach, cząsteczki mikroRNA mleka kobiecego cechują się dużą bądź częściową, w zależności od rodzaju cząsteczki, stabilnością i opornością na degradację pod wpływem czynników, takich jak: długotrwałe przechowywanie mleka w temperaturze pokojowej [100], wielokrotne zamrażanie oraz rozmrażanie [50, 100], trawienie RNazą [50, 100], 10-minutowe gotowanie [100], niskie pH [50] oraz trawienie w modelu układu pokarmowego *in vitro* [49, 63]. Trawienie *in vitro* zostało przeprowadzone w środowisku odzwierciedlającym proces trawienia w układzie pokarmowym niemowlęcia, tj. w fizjologicznym pH wynoszącym 4,0 (bądź w pH równym 4,5 w przypadku wcześniaków [49]) oraz w obecności enzymów trawiennych reprezentowanych przez świńską pepsynę oraz pankreatynę. W wyniku trawienia *in vitro* profil cząsteczek mikroRNA zawartych w egzosomach nie uległ zmianie [63]. To, że mogą być następnie wchłaniane do krwiobiegu przez enterocyty potwierdzono z wykorzystaniem linii komórkowej HIEC odwzorowującej morfologiczne oraz fizjologiczne właściwości komórek nabłonkowych jelita cienkiego. Niecałkowicie ukształtowana bariera jelitowa u niemowląt również może ułatwiać zachodzenie procesu absorpcji cząsteczek mikroRNA [9].

Wykazana odporność cząsteczek mikroRNA na niekorzystne warunki panujące w przewodzie pokarmowym potomstwa wspiera hipotezę o możliwości regulacji ekspresji genów dziecka zachodzącej z udziałem matczynych cząsteczek mikroRNA obecnych w jej mleku. Analogiczne doniesienia dotyczą także egzosomów i cząsteczek mikroRNA pochodzących z mleka krowiego [79, 84].

Frakcja lipidowa i komórkowa

Badając profil mikroRNA w tłuszczu mlecznym, Munch i wsp. [72] zidentyfikowali 308 cząsteczek wraz z ich 9074 potencjalnymi celami molekularnymi. Zaledwie dziesięć mikroRNA, których ekspresja w kuleczkach tłuszczu była najwyższa (tabela 1), może regulować aktywność 2691 genów. Ich działanie może potencjalnie wpływać na proces transkrypcji, szlaki metaboliczne oraz układ immunologiczny dziecka.

Tabela 1. Liczba regulowanych genów przez poszczególne cząsteczki mikroRNA charakteryzujące się najwyższą ekspresją we frakcji lipidowej mleka kobiecego [72]

Cząsteczka mikroRNA	Liczba regulowanych genów
miR-30d	890
miR-200c	664
let-7f	531
let-7a	529
let-7b	527
let-7g	527
miR-148a	425
miR-103	332
miR-21	166
miR-146b-5p	89

Jedną z cząsteczek o podwyższonej ekspresji była cząsteczka miR-564, która w okresie laktacji może być zaangażowana w regulację syntezy mleka bądź tłuszczu mlecznego zachodzących w laktocytach. Laktocyty są głównym składnikiem komórkowej frakcji mleka kobiecego, w której występują również komórki układu odpornościowego oraz komórki macierzyste. Komórki układu odpornościowego dominują w siarze bądź w mleku matki, której dziecko (lub ona sama) przechodzi infekcję [35, 37]. Komórki mleka kobiecego nie ulegają degradacji w układzie pokarmowym dziecka, lecz przechodzą przez błonę śluzową jelita, docierając wraz z krwią do różnych tkanek, gdzie mogą się łączyć i różnicować [39]. Jednocześnie umożliwia to transport zawartych w nich cząsteczek mikroRNA do tkanek i krwiobiegu organizmu dziecka.

Alsaweed i wsp. [3], analizując frakcję komórkową i tłuszczową mleka kobiecego, początkowo zidentyfikowali 1136 i 835 cząsteczek mikroRNA, odpowiednio w komórkach oraz tłuszczu mlecznym. Aż 776 cząsteczek mikroRNA było wspólnych dla obu frakcji, natomiast 360 cząsteczek było swoistych dla frakcji komórkowej, a tylko 59 dla lipidowej. Ponadto, zidentyfikowano 276 nowych sekwencji mikroRNA swoistych dla frakcji komórkowej, 72 mikroRNA swoiste dla frakcji lipidowej oraz 81 sekwencji wspólnych. W następnych badaniach w komórkach pochodzących z mleka kobiecego zidentyfikowano aż 1467 znanych oraz 1996 nowych sekwencji mikroRNA. Tym samym spośród wszystkich frakcji mleka kobiecego, frakcja komórkowa została uznana za ich najbogatsze źródło [4]. Dla 23 cząsteczek mikroRNA charakteryzujących się najwyższą ekspresją zostało przewidzianych łącznie 8925 genów, których aktywność może być przez nie regulowana. Zestawienie ich funkcji zostało przedstawione w tabeli 2.

ZNACZENIE BIOLOGICZNE mikroRNA MLEKA KOBIECEGO

Sekwencje i aktywność biologiczna cząsteczek mikroRNA są sukcesywnie poznawane. Badania te są prowadzone przede wszystkim z myślą o zrozumieniu roli mikroRNA

MOST WIEDZY Pobrano z mostwiedzy.pl

Tabela 2. Funkcje poszczególnych cząsteczek mikroRNA wykazujących najwyższą ekspresję we frakcji komórkowej mleka kobiecego [4, 5]

Cząsteczki mikroRNA	Funkcje
miR-181a-5p miR-101-3p miR-148a-3p miR-30a-5p miR-16-5p miR-141-3p miR-22-3p miR-182-5p let-7f-5p	Regulacja ekspresji ATPazy, Regulacja syntezy triacylogliceroli, Regulacja ekspresji transportera GLUT1
miR-181a-5p miR-375-3p miR-148a-3p miR-30a-5p miR-16-5p miR-141-3p miR-22-3p miR-182-5p miR-125b-5p let-7f-5p	Kontrola szlaków sygnałowych w gruczole mlekowym poprzez wywieranie bezpośredniego wpływu na ekspresję receptorów: GHR IGF-IR INSR, Regulacja ekspresji genów kodujących receptory estrogenowe ERα oraz ERβ
miR-181a-5p miR-148a-3p miR-30a-5p miR-141-3p miR-22-3p miR-182-5p let-7f-5p	Przeciwdziałanie procesom nowotworzenia
miR-148a-3p miR-181a-5p miR-182-5p miR-16-5p miR-99b-5p let-7f-5p	Działanie związane z układem immunologicznym dziecka

w różnych stanach chorobowych, a przez to wykorzystaniu jako biomarkerów pozwalających na wczesną diagnostykę m.in. nowotworów [70], cukrzycy [89], chorób sercowo-naczyniowych [83] oraz neurodegeneracyjnych [30]. Wiadomo, że w DNA cząsteczki mikroRNA często są kodowane w postaci klastrów, czyli grup sekwencji kodujących mikroRNA odpowiedzialnych za kontrolę tych samych wewnątrzkomórkowych mechanizmów [16]. Te same rodzaje cząsteczek lub klastrów mikroRNA często pojawiają się także w mleku kobiecym. Ich uprzednio zdefiniowana rola w organizmie człowieka pozwala wnioskować o możliwym wpływie na organizm karmiącej kobiety i karmionego mlekiem kobiecym dziecka. W następnych podrozdziałach omówiono zagadnienia funkcji mikroRNA właśnie z tym związane. Obecnie wiadomo, że ponad 65% cząsteczek mikroRNA mleka kobiecego wpływa na poziomie komórkowym i molekularnym na procesy immunologiczne i metaboliczne, regulując i kontrolując procesy podstawowe dla rozwoju organizmu dziecka oraz przebiegu laktacji u karmiącej matki [4, 5, 63, 100].

Znaczenie mikroRNA mleka kobiecego dla organizmu dziecka

W kształtowaniu się mechanizmów wrodzonej i nabytej odporności oraz regulacji dojrzewania i różnicowania limfocytów B i T biorą udział tzw. immunologiczne mikroRNA. Kształtują u dziecka odpowiedź immunologiczną po zetknięciu się z patogenami, takimi jak np. wirus grypy typu A, w ten sposób wzmacniając mechanizmy ochronne organizmu przeciwdziałające rozwojowi chorób górnych i dolnych dróg oddechowych [4]. Cząsteczki mikroRNA mogą także przeciwdziałać rozwojowi chorób autoimmunologicznych u dziecka [76].

Wśród immunologicznych mikroRNA wysoką ekspresją w mleku kobiecym charakteryzuje się klaster miR-17-92, w którego skład wchodzą: miR-17-5p, miR18a, miR-19a, miR-20a, miR-19b-1, miR-92-1 i miR-106a [85]. Wszystkie te cząsteczki mogą być odpowiedzialne za regulację różnicowania i dojrzewania monocytów oraz limfocytów B i T u dziecka. Jednak klaster miR-17-92 został wcześniej zidentyfikowany jako tzw. onkomiR, co sugeruje, że rozregulowanie jego ekspresji może działać onkogennie, przejawiając się wzmożoną proliferacją komórek oraz zahamowaniem apoptozy. Ponadto, ekspresja tego klastra została skorelowana z występowaniem makrosomii płodu, czyli jego nadmierną masą w stosunku do czasu trwania ciąży [60]. Nadekspresja miR-17-92 u myszy prowadzi do rozwoju chorób limfoproliferacyjnych i autoimmunizacji przez wzrost liczby aktywowanych limfocytów B i T CD4+ oraz w mniejszym stopniu T CD8+ [85, 96]. Znaczenie cząsteczek mikroRNA kodowanych przez klaster miR-17-92 dla dziecka karmionego mlekiem kobiecym, inne niż prawdopodobny wpływ na rozwój układu immunologicznego, nadal pozostaje niewyjaśnione. Istnieją doniesienia o rozpoznaniu także innych onkogenów uczestniczących w prawidłowych przemianach zachodzących w gruczole mlekowym podczas laktacji [36]. W związku z tym można przypuszczać, że rolą miR-17-92 jest właśnie wspomaganie sekrecji mleka i na tym etapie rozwoju klaster ten raczej nie działa jako onkogen [1].

Spośród cząsteczek mikroRNA biorących udział w procesach immunologicznych oraz metabolicznych, szczególnie wysokim poziomem ekspresji w mleku, zarówno kobiecym [100], jak i krowim [12], charakteryzuje się miR-148a. Według Golan-Gerstl i wsp. [27], miR-148a stanowi prawie 40% i 8% miRNomu, odpowiednio odtłuszczonej oraz tłuszczowej, frakcji mleka kobiecego. Oprócz funkcji regulatora tolerancji obwodowej limfocytów B, miR-148a pełni także rolę regulatora autoimmunizacji, którego nieprawidłowa ekspresja może doprowadzić do rozwoju chorób autoimmunologicznych [28]. Jak wykazano w różnych modelach badawczych, cele molekularne cząsteczki miR-148a stanowią ponadto: (1) represor transkrypcji TGIF2, którego ekspresja jest podwyższona w nowotworowych

MOST WIEDZY Pobrano z mostwiedzy.pl

Tabela 3. Funkcje poszczególnych cząsteczek mikroRNA związanych z układem immunologicznym dziecka

Funkcje pełnione w układzie immunologicznym dziecka	Cząsteczki mikroRNA	Źródło
Regulacja rozwoju limfocytów B, T oraz monocytów	miR-17-92	[50, 100]
Hamowanie stanu zapalnego wywołanego alergią	miR-20a	[64, 100]
Regulacja rozwoju i różnicowania limfocytów T	miR-22-3p	[3]
Działanie immunosupresyjne	miR-29a-3p miR-30b-5p	[100]
Obniżenie ekspresji prozapalnej IL-8	miR-106a	[45, 100]
Hamowanie produkcji i aktywacji czynnika TNF-α	miR-125b	[4, 47, 50]
Supresja aktywności komórek odpowiedzi nieswoistej układu odpornościowego	miR-146b	[50]
Regulacja tolerancji obwodowej limfocytów B	miR-148a	[28, 100]
Regulacja dojrzewania i różnicowania limfocytów T i B	miR-155 miR-181a	[3, 50]
Selekcja limfocytów T CD4+	miR-181b	[50]
Indukcja odpowiedzi immunologicznej poprzez limfocyty T	miR-182-5p	[100]
Hamowanie różnicowania limfocytów T	miR-200a	[91, 100]
Regulacja proliferacji oraz aktywacji neutrofili	miR-223	[50]
Regulacja ekspresji TLR4 w ludzkich cholangiocytach	let-7i-5p	[50]

liniach komórkowych jajnika [48], (2) PXR (receptor pregnanu X) – główny czynnik transkrypcyjny regulujący indukowaną ekspresję wielu transporterów oraz enzymów detoksykacyjnych w ludzkiej wątrobie [86], (3) receptor ERBB i (4) kinaza ROCK1 biorące udział w procesie nowotworzenia i przerzutowania, odpowiednio w modelu komórkowym raka piersi oraz u pacjentów chorujących na raka żołądka [61, 97], (5) DNMT3b – metylotransferaza DNA nanosząca wzór metylacyjny *de novo* na wczesnym etapie rozwojowym człowieka [18] oraz (6) DNMT1 – metylotransferaza DNA odpowiadająca za zachowanie prawidłowego wzoru metylacji DNA po podziałach komórkowych u człowieka [40]. Uważa się, że przez regulację ekspresji powyższych genów miR-148a może pełnić funkcję supresora nowotworowego, chroniąc w ten sposób organizm dziecka przed kancerogenezą. Biodostępność oraz bioaktywność miR-148a *in vitro* wykazali Golan-Gerstl i wsp. [27]. W doświadczeniach wykorzystano prawidłowe (CRL 1831) i nowotworowe (Lim 1215) linie komórkowe jelita grubego oraz komórki białaczkowe (K562). W wyniku inkubacji komórek z wyizolowanymi z mleka kobiecego egzosomami oraz kuleczkami tłuszczowymi zawierającymi cząsteczki mikroRNA nastąpił wzrost ekspresji miR-148a, a tym samym zmniejszenie ekspresji DNMT1, enzymu będącego jego celem molekularnym [27]. Ponieważ u pacjentów chorujących na białaczkę ekspresja DNMT1 jest obniżona, wzrost ekspresji miR-148a w białaczkowej linii komórkowej może sugerować ochronę dziecka przed rozwojem białaczki [91].

Przypuszcza się, że cząsteczki mikroRNA obecne w mleku matki mogą mieć udział w regulacji procesów anabolicznych u dziecka. Wysoka podaż składników odżywczych dostarczanych wraz z mlekiem matki prowadzi do aktywacji szlaków sygnalizacyjnych (np. PI3K/Akt/mTOR) odpowiedzialnych za procesy anaboliczne, ważnych dla wzrostu organizmu dziecka. Działanie szlaku PI3K/Akt/mTOR może być stymulowane m.in. przez insulinę oraz insulinopodobny czynnik wzrostu-1 (IGF-1), których ekspresja jest regulowana w procesie metylacji DNA. Melnik i wsp. wysunęli hipotezę, że przez supresję DNMT1 cząsteczki mikroRNA mleka kobiecego mogą prowadzić do demetylacji obszarów regulujących ekspresję genów uczestniczących w procesach anabolicznych, takich jak: FTO, INS, IGF-1 oraz geny lipogeniczne [68]. Za przykład może posłużyć aktywacja ekspresji czynnika IGF-1 wskutek obniżenia ekspresji enzymu DNMT1 odpowiedzialnego za podtrzymanie wzoru metylacji. Mleko kobiece samo w sobie jest już bogate w IGF-1, przy czym siara zawiera więcej tego czynnika niż mleko dojrzałe [4]. Rolą IGF-1 jest wspomaganie wzrostu i rozwoju dziecka przez stymulowanie różnicowania oraz podziałów komórkowych. Jest to możliwe dlatego, iż IGF-1 wzmaga działanie kinazy Akt, która następnie stymuluje aktywność białka MDM2 odpowiedzialnego za zwiększoną degradację białka p53, które jest nie tylko tzw. strażnikiem genomu, ale również ważnym regulatorem metabolizmu [99]. Około 10% promotorów ludzkich genów zawiera sekwencję, do której wiąże się białko p53 [25, 44], a jednym z nich jest DNMT1. Interakcja, która zachodzi między p53 oraz DNMT1 prowadzi do wyciszenia ekspresji genów, co może zahamować pewne procesy metaboliczne [21]. Przy ograniczonym dostępie do składników odżywczych mogłoby to mieć na celu utrzymanie komórkowych zasobów energetycznych na odpowiednim poziomie. Jednak mleko matki jest pokarmem o wysokiej wartości odżywczej, w związku z czym hamo-

MOST WIEDZY Pobrano z mostwiedzy.pl

wanie przez zawarte w nim cząsteczki mikroRNA ekspresji DNMT1 oraz białka p53 może raczej sprzyjać procesom anabolicznym, zachodzącym u dziecka podczas okresu karmienia piersią przez utrzymanie aktywności transkrypcyjnej odpowiednich genów stymulujących prawidłowy wzrost i rozwój [68]. Przykładami innych cząsteczek, które hamują ekspresję wyżej opisanych genów są, oprócz wspomnianego wcześniej miR-148a, także miR-125b odpowiedzialny za supresję ekspresji białka p53 w ludzkich liniach komórkowych [58], miR-155-5p i miR-21-5p hamujące ekspresję metylotransferaz DNA w ludzkich [98], a miR-29b-1-3p w zwierzęcych modelach komórkowych [69].

Korzyści płynące z karmienia dziecka mlekiem matki to nie tylko zwiększona odporność młodego organizmu oraz jego prawidłowy rozwój. Dzieci karmione mlekiem matki wykazują zmniejszone ryzyko wystąpienia otyłości i nadwagi w późniejszym życiu, a także rzadziej rozwija się u nich cukrzyca typu 1 i 2 [56]. Cząsteczki mikroRNA mogą mieć w tym udział. Ryzyko wystąpienia cukrzycy typu 2 jest bowiem związane z nadmierną aktywnością układu hormonalnego renina-angiotensyna (zwanego RAS) [29], który jest regulowany przez cząsteczki mikroRNA mleka kobiecego. Układ RAS jest układem tkankowym o działaniu autokrynnym oraz parakrynnym i w przypadku cukrzycy, jego nadmierna stymulacja może doprowadzić do uszkodzenia nerek oraz siatkówki oka [11]. Ponadto, prawidłowe funkcjonowanie układu RAS chroni organizm przed rozwinięciem się insulinooporności zwiększającej zagrożenie cukrzycą typu 2 oraz przed wzrostem masy ciała w wyniku zaburzenia homeostazy energetycznej organizmu. Insulina jest jednym z hormonów regulujących apetyt, a jej podwyższone stężenie we krwi powstałe na skutek insulinooporności, razem z obniżonym poziomem leptyny, będzie miało deregulacyjny wpływ na apetyt [78]. W związku z tym przypuszcza się, że kontrola układu RAS przez mikroRNA mleka kobiecego może wpływać na apetyt dziecka [4, 8, 22, 90].

MikroRNA mleka kobiecego mogą mieć także udział w zwiększaniu biodostępności jonów wapnia pochodzących z mleka kobiecego, o której wiadomo, że jest znacznie lepsza w porównaniu z biodostępnością wapnia pochodzącego ze sztucznych mieszanek mlekozastępczych. Mleko kobiece jest bowiem bogate w cząsteczki mikroRNA let-5f-5p, miR-181a-5p, miR-101-rp, miR-148a-3p, miR-30a-5 oraz miR-16-3p, które przez regulację aktywności ATPaz stymulują transport jonów wapnia, wzmagając jego wchłanianie w przewodzie pokarmowym dziecka. Aktywnością ATPazy charakteryzuje się również jedno z głównych białek immunologicznych mleka kobiecego – laktoferyna [33].

Znaczenie mikroRNA mleka kobiecego dla karmiącej matki

Alsaweed i wsp. [4], jak już wspomniano, za pomocą sekwencjonowania nowej generacji oraz narzędzi analizy bioinformatycznej określili cele molekularne cząsteczek mikroRNA obecnych w mleku kobiecym. Na podstawie wyników analiz stwierdzili, że cząsteczki mikroRNA mleka kobiecego mogą brać udział także w regulacji wielu procesów metabolicznych oraz szlaków sygnalizacyjnych uruchamianych podczas laktacji w gruczole mlekowym karmiącej matki. Spośród nich można wyróżnić: biosyntezę kwasów tłuszczowych, fosfolipidów, glikosfingolipidów, zachowanie homeostazy cholesterolowej, oksydację lipidów, syntezę laktozy, metabolizm porfiryn i azotu oraz katabolizm lizyny [4].

Na poziomie molekularnym synteza laktozy jest regulowana przez cząsteczki let-7f-5p, miR-148a-3p, miR-181a-5p oraz miR-182-5p [4]. Wpływają one na ekspresję transportera glukozy (GLUT1) biorącego udział w transporcie tego monosacharydu do aparatu Golgiego. Tam glukoza, z udziałem α-laktoalbuminy (α-LA) oraz β-1,4-galaktozylotransferazy (β4GalT1), w reakcji z UDP-galaktozą, jest przekształcana w laktozę. Białka α-LA oraz β4GalT1 tworzą razem kompleks umożliwiający syntezę cukru mlecznego, a ich ekspresja jest regulowana przez miR-181a-5p oraz miR-148a-3p, czyli te same cząsteczki, które były odpowiedzialne za regulację ekspresji GLUT1 [4, 55].

W komórkach nabłonkowych gruczołu mlecznego następuje również synteza *de novo* kwasów tłuszczowych wykorzystywanych w syntezie triacylogliceroli,

Tabela 4. Funkcje poszczególnych cząsteczek mikroRNA regulujących metabolizm tłuszczu mlecznego oraz przemiany gruczołu mlekowego karmiącej matki [4, 5]

Cząsteczki mikroRNA	Funkcje
let-7f-5p miR-22-3p miR-148a-3p miR-182-5p	Regulacja ekspresji białka AGPAT6 biorącego udział w syntezie triacylogliceroli i długołańcuchowych kwasów tłuszczowych
miR-30a-5p	Regulacja ekspresji białek odpowiedzialnych za metabolizm glicerofosfolipidów oraz biosyntezę nienasyconych kwasów tłuszczowych
miR-33a	Regulacja homeostazy cholesterolowej na poziomie komórkowym
miR-125a-5p	Regulacja ekspresji białka ORP9 biorącego udział w przemianach metabolicznych lipidów
miR-148a miR-193b-3p	Stymulacja różnicowania adipocytów

MOST WIEDZY Pobrano z mostwiedzy.pl

czyli głównego składnika tłuszczu mlecznego [71]. Jednym z enzymów katalizujących syntezę triacyloglicerolu oraz długołańcuchowych kwasów tłuszczowych jest O-acylotransferaza 6 1-acyloglicerolo-3-fosforanu (AGPAT6) [87]. Alsaweed i wsp. [4] sugerują, że cząsteczki let-7f-5p, miR-22-3p, miR-148a-3p oraz miR-182-5p charakteryzujące się wysoką ekspresją we frakcji komórkowej mleka kobiecego, mogą regulować poziom ekspresji AGPAT6 oraz innych genów związanych z metabolizmem lipidów obecnych w tłuszczu mlecznym. Cząsteczka miR-148a jest zaangażowana również w regulację szlaków związanych z adipogenezą w gruczole mlekowym oraz wydajnością laktacji, co stwierdzono na podstawie analiz bioinformatycznych zsekwencjonowanych cząsteczek mikroRNA wyekstrahowanych z mleka kobiecego oraz badań prowadzonych w modelu zwierzęcym [4, 13, 17]. Cząsteczki mikroRNA mleka kobiecego zaangażowane w regulację metabolizmu lipidów zestawiono w tabeli 4.

Sugeruje się, że mikroRNA mleka kobiecego mogą też regulować szlaki sygnalizacyjne umożliwiające wzrost i rozwój tkanek gruczołu mlekowego w okresie ciąży i laktacji (tabela 5). Cząsteczki let-7f-5p, miR-151-3p oraz miR165p są odpowiedzialne za regulację ekspresji receptora hormonu wzrostu (GHR) [4, 54]. Gdy hormon wzrostu (hGH) łączy się ze swoim receptorem, następuje aktywacja kinazy JAK2, która następnie fosforyluje GHR oraz transduktory sygnału i aktywatory transkrypcji (STAT), powodując ich aktywację [41, 93]. Szlak sygnalizacyjny Jak/STAT umożliwia prawidłowy rozwój gruczołu sutkowego i przebieg laktacji w organizmie matki. W jego kontrolę zaangażowane są mikroRNA o wysokim poziomie ekspresji we frakcji komórkowej mleka kobiecego: miR-375-3p, miR-181a-5p, miR-30a/d-5p i miR-141-3p [4].

Ekspresja receptorów estrogenowych (ERα i ERβ) u karmiącej matki również może być zależna od obecnych w mleku kobiecym cząsteczek mikroRNA, które obniżając ekspresję tych receptorów, mogą sprzyjać laktacji przez utrzymanie niskiego poziomu estrogenu [5]. Przy niskim poziomie estrogenu, laktacja może przebiegać dzięki aktywności prolaktyny. Regulacja ekspresji tego hormonu przez mikroRNA została do tej pory potwierdzona tylko w komórkach nabłonkowych krowiego gruczołu mlecznego [74]. MikroRNA mleka kobiecego mogą mieć także znaczenie w prewencji i/lub terapii nowotworów piersi, gdzie nadekspresja receptorów estrogenowych jest charakterystyczna dla najpowszechniej występującego typu nowotworu piersi (ER+) [75, 101].

Tabela 5. Cząsteczki mikroRNA mleka kobiecego regulujące ekspresję genów odpowiedzialnych za prawidłowe funkcjonowanie szlaków sygnalizacyjnych w gruczole mlekowym [5]

Cząsteczki mikroRNA	Geny, których ekspresja jest regulowana przez mikroRNA mleka kobiecego
miR-148a-3p	α-LA
miR-181a-5p	β4GalT1
miR-21-5p miR-22-3p miR-181a-5p	ERα
let-7f-5p	ERβ
miR-16-5p miR-151-3p let-7f-5p	GHR
miR-148a-3p miR-181a-5p miR-182-5p	GLUT1
miR-16-5p miR-30a/d-5p miR-141-3p miR-182-5p miR-375-3p let-7f-5p	IGF-IR
miR-22-3p miR-30a-5p miR-141-3p miR-148a-3p miR-181-5p miR-182-5p	INSR
miR-375-3p	JAK2
miR-16-5p miR-22-3p miR-141-3p miR-148a-3p miR-181a-5p miR-182-5p let-7f-5p	SOCS1-7
miR-30a/d-5p miR-141-3p miR-181a-5p	STAT

Rodzina mikroRNA let-7 w mleku kobiecym

Wysoką ekspresją w mleku kobiecym charakteryzuje się grupa cząsteczek mikroRNA o nazwie let-7 (nazwa pochodzi od ang. lethal-7) (tabela 6) [4, 5, 50]. Cząsteczka cel-let-7 była jedną z dwóch pierwszych poznanych cząsteczek mikroRNA podczas prac na nicieniu *Caenorhabditis elegans* – organizmie modelowym często wykorzystywanym do badań biologicznych [80]. Sekwencja dojrzałej cząsteczki cel-let-7 rozpoznanej u *C. elegans* była także pierwszym poznanym mikroRNA w genomie ludzkim (hsa-let-7a), co umożliwiła analiza sekwencji za pomocą narzędzia bioinformatycznego służącego do lokalnego przyrównywania sekwencji aminokwasów i nukleotydów (BLAST, basic local alignment serach tool). MikroRNA z rodziny let-7 są cząsteczkami o zakonserwowanych ewolucyjnie sekwencjach nukleotydowych, a zatem i pełnionych funkcjach. Uczestniczą w rozwoju i fizjologii ssaków, kontrolując m.in. różnicowanie się komórek we wczesnym stadium rozwojowym oraz apoptozę, a obniżenie ich ekspresji stwierdzono w wielu chorobach nowotworowych [7, 81]. We frakcji komórkowej i tłuszczowej mleka kobiecego w czasie pierwszych 6 miesięcy laktacji najwyższą ekspresję

MOST WIEDZY Pobrano z mostwiedzy.pl

stwierdzono dla let-7f-5p. Tak jak opisano wcześniej, na podstawie analizy bioinformatycznej mikroRNA zidentyfikowanych w próbach mleka kobiecego przewiduje się, że let-7f-5p jest zaangażowany m.in. w syntezę makroskładników mleka, regulację ekspresji genu GLUT1 i w działanie szlaków sygnalizacyjnych gruczołu sutkowego (GHR, IGF-IR, INSR, ER) oraz procesy związane z rozwojem układu nerwowego i immunologicznego dziecka [4].

WPŁYW CZYNNIKÓW BIOLOGICZNYCH NA ZMIANY PROFILU I POZIOMU EKSPRESJI mikroRNA W MLEKU KOBIECYM

Czas trwania laktacji

Alsaweed i wsp. [4]. przeprowadzili badania nad zmianami profilu mikroRNA we frakcji komórkowej i lipidowej mleka kobiecego zachodzącymi wraz z czasem trwania laktacji. Mleko kobiece pobrano od 10 zdrowych, karmiących matek podczas drugiego, czwartego i szóstego miesiąca karmienia. Uzyskane wyniki nie wykazały żadnych znaczących cyklicznych zmian w stężeniu mikroRNA dla frakcji komórkowej i lipidowej w przeciągu pierwszych 6 miesięcy laktacji. Warto zaznaczyć, że jest to zalecany okres, w którym dziecko powinno być karmione wyłącznie mlekiem matki. W miesiącu czwartym, w porównaniu do miesiąca drugiego i szóstego, niektóre cząsteczki charakteryzowały się zmienionym poziomem ekspresji. Jedynie w przypadku cząsteczki let-7f-5p nastąpił wyraźny wzrost ekspresji między drugim, a szóstym miesiącem laktacji. Funkcje let-7f-5p opisano w poprzednim podrozdziale. Zmiany te mogą być odzwierciedleniem adaptacji składu pokarmu do bieżących potrzeb niemowlęcia. Podobne zależności dotyczące zmian ekspresji niektórych mikroRNA wraz z czasem laktacji opisano także dla mleka krów [12] oraz loch [32]. Powyższe spostrzeżenia są zgodne również z tymi dla frakcji odtłuszczonej mleka kobiecego, w której profil mikroRNA w okresie od wczesnego do późnego stadium laktacji nie zmieniał się [63]. Według Kosaka i wsp. [50], profil mikroRNA mleka kobiecego pochodzącego od jednej matki nie ulega zmianie przez pierwsze 12 miesięcy laktacji, a obserwowane różnice wynikają z cech osobniczych. Sugerowano przy tym, że skład jakościowy oraz ilościowy cząsteczek mikroRNA mleka kobiecego może być natomiast kształtowany przez czynniki środowiskowe i w ten sposób odzwierciedlać stan zdrowia matki, co zostało później potwierdzone w innych badaniach [24, 77].

Karmienie

Podczas karmienia piersią zmienia się konsystencja mleka kobiecego: na początku karmienia dziecko otrzymuje mleko I fazy (foremilk) przypominające mleko odtłuszczone, a wraz z postępującym karmieniem mleko II fazy, które jest bogatsze w tłuszcz i bardziej kaloryczne (hindmilk) [38]. Mleko II fazy zawiera więcej tłuszczu i laktocytów, zatem będzie zawierało więcej cząsteczek mikroRNA niż mleko fazy I, niemniej we frakcji komórkowej poziom ekspresji większości z nich nie ulega zmianie. Do niewielkiej grupy cząsteczek mikroRNA, których ekspresja po zakończonym karmieniu została podwyższona, należą cząsteczki miR-191-5p oraz miR-30e-3p. Mogą być odpowiedzialne za stymulację podziałów komórkowych w celu wytworzenia większej liczby laktocytów, a tym samym ułatwienia wytwarzania następnej porcji mleka [4].

Poród przedwczesny

Mleko matki, która urodziła przedwcześnie różni się od mleka matki dziecka urodzonego w terminie nie tylko pod względem zawartości mikro- i makroskładników, lecz również profilem ekspresji cząsteczek mikroRNA [8, 59]. Poród przedwczesny jest odzwierciedlony w profilu mikroRNA mleka kobiecego wskutek zmian hormonalnych, jakie zachodzą po porodzie. Mogą one wpływać na proces transkrypcji w laktocytach nie tylko na poziomie pri- i premikroRNA, ale także w wyniku wystąpienia czynników zewnętrznych, takich jak poród przez cesarskie cięcie. Matki, które urodziły przedwcześnie mają niższy poziom prolaktyny, estrogenu i progesteronu niż matki, które urodziły w terminie. Istnieje związek między poziomem tych hormonów w organizmie ludzkim, a ekspresją cząsteczek mikroRNA, np. niższy poziom prolaktyny może być przyczyną ich obniżonej ekspresji i sekrecji [14, 23, 42].

Tabela 6. Rodzina let-7 w mleku kobiecym [4, 5, 50]

Cząsteczki mikroRNA	Numery identyfikacyjne miRbase 22.1	Sekwencje nukleotydowe
let-7a-5p	MIMAT0000062	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU
let-7b-5p	MIMAT0000063	UGAGGUAGUAGGUUGUGUGGUU
let-7c-5p	MIMAT0000064	UGAGGUAGUAGGUUGUAUGGUU
let-7d-5p	MIMAT0000065	AGAGGUAGUAGGUUGCAUAGUU
let-7e-5p	MIMAT0000066	UGAGGUAGGAGGUUGUAUAGUU
let-7f-5p	MIMAT0000067	UGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUU
let-7g-5p	MIMAT0000414	UGAGGUAGUAGUUUGUACAGUU
let-7i-5p	MIMAT0000415	UGAGGUAGUAGUUUGUGCUGUU

MOST WIEDZY Pobrano z mostwiedzy.pl

Dzieci urodzone przedwcześnie są bardziej narażone na infekcje wirusowe i bakteryjne. Według Carney i wsp. [8] może to się wiązać ze spadkiem ekspresji cząsteczek miR--1260a i miR1260b w mleku przedwczesnym, których rola jest związana z działaniem układu immunologicznego (tabela 3). Ponadto, część mikroRNA w pokarmie przedwczesnym reguluje geny związane z metabolizmem dziecka, mogąc pozytywnie wpływać na homeostazę glukozową oraz proces adipogenezy. Prawdopodobnie to jedno z wyjaśnień dlaczego wcześniaki rosną lepiej, dostając pokarm od własnej matki, w porównaniu z karmionymi pokarmem z banku mleka [8].

Sposób żywienia matki

Innym czynnikiem również wpływającym na miRNom mleka kobiecego jest sposób odżywiania matki. W mleku kobiet będących na diecie wysokotłuszczowej nastąpił wyraźny wzrost ekspresji miR-27 oraz miR-67, natomiast w przypadku stosowania diety wysokowęglowodanowej nie zaobserwowano zmian profilu mikroRNA. Udział miR-27 oraz miR-67 w procesie laktacji bądź rozwoju dziecka nie został jeszcze określony [72].

MIKRORNA W PREPARATACH DO KARMIENIA NIEMOWLĄT

Istnieje wiele powodów, dla których matki zaprzestają naturalnego karmienia piersią i sięgają po komercyjnie dostępne sztuczne mieszanki mlekozastępcze dla niemowląt. Podjęcie takiej decyzji może być spowodowane problemami z laktacją, nieprawidłowym, zbyt płytkim chwytaniem dziecka za pierś, co może być bolesne dla matki i wiąże się z ulewaniem podczas karmienia; niewystarczającą wiedzą na temat karmienia czy brakiem wsparcia ze strony specjalistów [46].

W serwatce mleka krowiego dotychczas zidentyfikowano 245 różnych cząsteczek mikroRNA, z czego najliczniejszymi są miR-29b oraz miR-200c o takich samych sekwencjach jak te pochodzące z mleka kobiecego. Podczas produkcji sztucznych mieszanek mlecznych odrzucane są dwie najbogatsze w cząsteczki mikroRNA frakcje mleka: tłuszczowa oraz komórkowa. W związku z tym preparaty przeznaczone do karmienia niemowląt na bazie mleka krowiego i na bazie soi zawierają stosunkowo niewielką ilość mikroRNA w porównaniu z mlekiem kobiecym [5, 12]. Howard i wsp. [46] uważają, że pasteryzacja i homogenizacja mleka krowiego dodatkowo powodują znaczny spadek zawartości miR-200c oraz miR-29, choć inni autorzy nie zaobserwowali wpływu pasteryzacji na ogólny profil mikroRNA mleka krowiego, a także koziego [27]. W preparatach na bazie mleka krowiego i soi obecne są: 33 i 8 cząsteczek mikroRNA wspólnych z profilem mleka kobiecego, lecz poziom ich ekspresji jest niski [5]. W sztucznych preparatach do karmienia niemowląt stwierdzono znaczny spadek zawartości cząsteczki miR-148a, która jest jedną z najliczniejszych cząsteczek mikroRNA mleka kobiecego pełniących m.in. funkcje immunologiczne [27, 100]. Niska zawartość mikroRNA w sztucznych mieszankach mlecznych może być wyjaśnieniem dlaczego dzieci karmione w sposób naturalny wykazują lepszą odporność [58].

PODSUMOWANIE

Mleko kobiece stanowi jedno z najbogatszych źródeł cząsteczek mikroRNA, których profil różni się osobniczo oraz może zmieniać się pod wpływem czynników środowiskowych [4, 24, 77]. Cząsteczki mikroRNA są obecne w każdej z trzech frakcji mleka, przy czym najmniej występuje ich w mleku odtłuszczonym, a najwięcej w tłuszczu mlecznym i frakcji komórkowej [4]. Ich potencjalne działanie biologiczne dotyczy zarówno organizmu matki, jak i rozwijającego się dziecka, gdzie mogą regulować wiele procesów komórkowych i szlaków sygnalizacyjnych [16], wpływając w ten sposób m.in. na przebieg laktacji, a także na rozwój układu immunologicznego niemowlęcia [5, 50]. Cząsteczki mikroRNA dzięki odpowiednim nośnikom, takim jak egzosomy, są oporne na działanie RNaz, niskiego pH oraz trawienia *in vitro* symulującego warunki w układzie pokarmowym dziecka [49, 50, 63, 100]. Po dotarciu do jelita niemowlęcia mogą być w tej postaci wchłaniane przez enterocyty [63]. Wykazano, że sztuczne mieszanki mleczne są ubogie w cząsteczki mikroRNA charakterystyczne dla mleka kobiecego, co może wyjaśniać dlaczego dzieci karmione naturalnie cieszą się lepszym zdrowiem [35, 58]. Omówione doniesienia naukowe pozwalają uznać mikroRNA za biodostępne i potencjalnie nowe bioaktywne składniki mleka kobiecego kształtujące zdrowie i rozwój dzieci karmionych piersi.

PIŚMIENNICTWO

[1] Alsaweed M., Hartmann P.E., Geddes D.T., Kakulas F.: MicroRNAs in breastmilk and the lactating breast: Potential immunoprotectors and developmental regulators for the infant and the mother. Int. J. Environ. Res. Public Health, 2015; 12: 13981–14020

[2] Alsaweed M., Hepworth A.R., Lefèvre C., Hartmann P.E., Geddes D.T., Hassiotou F.: Human milk microRNA and total RNA differ depending on milk fractionation. J. Cell. Biochem., 2015; 116: 2397–2407

[3] Alsaweed M., Lai C.T., Hartmann P.E., Geddes D.T., Kakulas F.: Human milk cells and lipids conserve numerous known and novel miRNAs, some of which are differentially expressed during lactation. PLoS One, 2016; 11: e0152610

[4] Alsaweed M., Lai C.T., Hartmann P.E., Geddes D.T., Kakulas F.: Human milk cells contain numerous miRNAs that may change with milk removal and regulate multiple physiological processes. Int. J. Mol. Sci., 2016; 17: 956

[5] Alsaweed M., Lai C.T., Hartmann P.E., Geddes D.T., Kakulas F.: Human milk miRNAs primarily originate from the mammary gland resulting in unique miRNA profiles of fractionated milk. Sci. Rep., 2016; 6: 20680

[6] Baier S.R., Nguyen C., Xie F., Wood J.R., Zempleni J.: MicroRNAs are absorbed in biologically meaningful amounts from nutritionally relevant doses of cow milk and affect gene expression in peripheral blood mononuclear cells, HEK-293 kidney cell cultures, and mouse livers. J. Nutr., 2014; 144: 1495–1500

MOST WIEDZY Pobrano z mostwiedzy.pl

[7] Barh D., Malhotra R., Ravi B., Sindhurani P.: MicroRNA let-7: An emerging next-generation cancer therapeutic. Curr. Oncol., 2010; 17: 70–80

[8] Carney M.C., Tarasiuk A., DiAngelo S.L., Silveyra P., Podany A., Birch L.L., Paul I.M., Kelleher S., Hicks S.D.: Metabolism-related microRNAs in maternal breast milk are influenced by premature delivery. Pediatr. Res., 2017; 82: 226–236

[9] Catassi C., Bonucci A., Coppa G.V., Carlucci A., Giorgi P.L.: Intestinal permeability changes during the first month: effect of natural versus artificial feeding. J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr., 1995; 21: 383–386

[10] Chan S.Y., Snow J.W.: Formidable challenges to the notion of biologically important roles for dietary small RNAs in ingesting mammals. Genes Nutr., 2017; 12: 13

[11] Chaszczewska-Markowska M., Sagan M., Bogunia-Kubik K.: Układ renina-angiotensyna-aldosteron (RAA) – fizjologia i molekularne mechanizmy funkcjonowania. Postępy Hig. Med. Dośw., 2016; 70: 917–927

[12] Chen X., Gao C., Li H., Huang L., Sun Q., Dong Y., Tian C., Gao S., Dong H., Guan D., Hu X., Zhao S., Li L., Zhu L., Yan Q. i wsp.: Identification and characterization of microRNAs in raw milk during different periods of lactation, commercial fluid, and powdered milk products. Cell Res., 2010; 20: 1128–1137

[13] Chen Z., Luo J., Sun S., Cao D., Shi H., Loor J.J.: miR-148a and miR-17-5p synergistically regulate milk TAG synthesis via PPARGC1A and PPARA in goat mammary epithelial cells. RNA Biol., 2017; 14: 326–338

[14] Cochrane D.R., Spoelstra N.S., Richer J.K.: The role of miRNAs in progesterone action. Mol. Cell. Endocrinol., 2012; 357: 50–59

[15] De Candia P., De Rosa V., Casiraghi M., Matarese G.: Extracellular RNAs: A secret arm of immune system regulation. J. Biol. Chem., 2016; 291: 7221–7228

[16] Do D.N., Dudemaine P.L., Li R., Ibeagha-Awemu E.M.: Co-expression network and pathway analyses reveal important modules of miRNAs regulating milk yield and component traits. Int. J. Mol. Sci., 2017; 18: 1560

[17] Do D.N., Li R., Dudemaine P.L., Ibeagha-Awemu E.M.: MicroRNA roles in signalling during lactation: an insight from differential expression, time course and pathway analyses of deep sequence data. Sci. Rep., 2017; 7: 44605

[18] Duursma A.M., Kedde M., Schrier M., le Sage C., Agami R.: miR-148 targets human DNMT3b protein coding region. RNA, 2008; 14: 872–877

[19] Dziedzic M., Orłowska E., Powrózek T., Solski J.: Role of circulating microRNA in hemodialyzed patients. Postępy Hig. Med. Dośw., 2016; 70: 1362–1366

[20] Escrevente C., Keller S., Altevogt P., Costa J.: Interaction and uptake of exosomes by ovarian cancer cells. BMC Cancer, 2011; 11: 108

[21] Estève P.O., Chin H.G., Pradhan S.: Human maintenance DNA (cytosine-5)-methyltransferase and p53 modulate expression of p53-repressed promoters. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2005; 102: 1000–1005

[22] Fernández-Hernando C., Suárez Y., Rayner K.J., Moore K.J.: MicroRNAs in lipid metabolism. Curr. Opin. Lipidol., 2011; 22: 86–92

[23] Ferraro L., Ravo M., Nassa G., Tarallo R., De Filippo M.R., Giurato G., Cirillo F., Stellato C., Silvestro S., Cantarella C., Rizzo F., Cimino D., Friard O., Biglia N., De Bortoli M. i wsp.: Effects of oestrogen on microRNA expression in hormone-responsive breast cancer cells. Horm. Cancer., 2012; 3: 65–78

[24] Floris I., Kraft J.D., Altosaar I.: Roles of microRNA across prenatal and postnatal periods. Int. J. Mol. Sci, 2016; 17: 1994

[25] Flöter J., Kaymak I., Schulze A.: Regulation of metabolic activity by p53. Metabolites, 2017; 7: 21

[26] Friedman R.C., Farh K.K., Burge C.B., Bartel D.P.: Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. Genome Res., 2009; 19: 92–105

[27] Golan-Gerstl R., Shiff Y.E., Moshayoff V., Schecter D., Leshkowitz D., Reif S.: Characterization and biological function of milk-derived miRNAs. Mol. Nutr. Food Res., 2017; 61: 1700009

[28] Gonzalez-Martin A., Adams B.D., Lai M., Shepherd J., Salvador-Bernaldez M., Salvador J.M., Lu J., Nemazee D., Xiao C.: The microRNA miR-148a functions as a critical regulator of B cell tolerance and autoimmunity. Nat. Immunol., 2016; 17: 433–440

[29] Goossens G.H.: The renin-angiotensin system in the pathophysiology of type 2 diabetes. Obes. Facts, 2012; 5: 611–624

[30] Grasso M., Piscopo P., Crestini A., Confaloni A., Denti M.A.: Circulating microRNAs in neurodegenerative diseases. Exp. Suppl., 2015; 106: 151–169

[31] Grenda A., Budzyński M., Filp A.A.: Biogeneza cząsteczek mikroRNA oraz ich znaczenie w powstawaniu i przebiegu wybranych zaburzeń hematologicznych. Postępy Hig. Med. Dośw., 2013; 67: 174–185

[32] Gu Y., Li M., Wang T., Liang Y., Zhong Z., Wang X. Zhou Q., Chen L., Lang Q., He Z., Chen X., Gong J., Gao X., Li X., Lv X.: Lactation-related microRNA expression profiles of porcine breast milk exosomes. PLoS One, 2012; 7: e43691

[33] Hallberg L., Rossander-Hultén L., Brune M., Gleerup A.: Bioavailability in man of iron in human milk and cow's milk in relation to their calcium contents. Pediatr. Res., 1992; 31: 524–527

[34] Hassiotou F., Beltran A., Chetwynd E., Stuebe A.M., Twigger A.J., Metzger P., Trengove N., Lai C.T., Filgueira L., Blancafort P., Hartmann P.E.: Breastmilk is a novel source of stem cells with multilineage differentiation potential. Stem Cells, 2012; 30: 2164–2174

[35] Hassiotou F., Geddes D.T.: Immune cell-mediated protection of the mammary gland and the infant during breastfeeding. Adv. Nutr., 2015; 6: 267–275

[36] Hassiotou F., Hepworth A.R., Beltran A.S., Mathews M.M., Stuebe A.M., Hartmann P.E., Filgueira L., Blancafort P.: Expression of the pluripotency transcription factor OCT4 in the normal and aberrant mammary gland. Front. Oncol., 2013; 3: 79

[37] Hassiotou F., Hepworth A.R., Metzger P., Lai C.T., Trengove N., Hartmann P.E., Filgueira L.: Maternal and infant infections stimulate a rapid leukocyte response in breastmilk. Clin. Transl. Immunol., 2013; 2: e3

[38] Hassiotou F., Hepworth A.R., Williams T.M., Twigger A.J., Perrella S., Lai C.T., Filgueira L., Geddes D.T., Hartmann P.E.: Breastmilk cell and fat contents respond similarly to removal of breastmilk by the infant. PLoS One, 2013; 8: e78232

[39] Hassiotou F., Mobley A., Geddes D., Hartmann P., Wilkie T.: Breastmilk imparts the mother's stem cells to the infant. FASEB J., 2015; 29: 876–878

[40] Hermann A., Goyal R., Jeltsch A.: The Dnmt1 DNA-(cytosine-C5)-methyltransferase methylates DNA processively with high preference for hemimethylated target sites. J. Biol. Chem., 2004; 279: 48350–48359

[41] Herrington J., Carter-Su C.: Signaling pathways activated by the growth hormone receptor. Trends Endocrinol. Metab., 2001; 12: 252–257

[42] Hill P.D., Aldag J.C., Demirtas H., Naeem V., Parker N.P., Zinaman M.J., Chatterton R.T. Jr.: Association of serum prolactin and oxytocin with milk production in mothers of preterm and term infants. Biol. Res. Nurs., 2009; 10: 340–349

[43] Hoddinott P., Tappin D., Wright C.: Breast feeding. BMJ, 2008; 336: 881–887

[44] Hoh J., Jin S., Parrado T., Edington J., Levine A.J., Ott J.: The p53MH algorithm and its application in detecting p53-responsive genes. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2002; 99: 8467–8472

[45] Hong Z., Hong H., Liu J., Zheng X., Huang M., Li C., Xia J.: miR-106a is downregulated in peripheral blood mononuclear cells of chronic hepatitis B and associated with enhanced levels of interleukin-8. Mediators Inflammation, 2015; 2015: 629862

MOST WIEDZY Pobrano z mostwiedzy.pl

[46] Howard K.M., Kusuma R.J., Baier S.R., Friemel T., Markham L., Vanamala J., Zempleni J.: Loss of miRNAs during processing and storage of cow's (*Bos taurus*) milk. J. Agric. Food Chem., 2015; 63: 588–592

[47] Huang H.C., Yu H.R., Huang L.T., Huang H.C., Chen R.F., Lin I.C., Ou C.Y., Hsu T.Y., Yang K.D.: miRNA-125b regulates TNF-α production in CD14$^+$ neonatal monocytes via post-transcriptional regulation. J. Leukoc. Biol., 2012; 92: 171–182

[48] Imoto I., Pimkhaokham A., Watanabe T., Saito-Ohara F., Soeda E., Inazawa J.: Amplification and overexpression of TGIF2, a novel homeobox gene of the TALE superclass, in ovarian cancer cell lines. Biochem. Biophys. Res. Commun., 2000; 276: 264–270

[49] Kahn S., Liao Y., Du X., Xu W., Li J., Lönnerdal B.: Exosomal microRNAs in milk from mothers delivering preterm infants survive in vitro digestion and are taken up by human intestinal cells. Mol. Nutr. Food Res., 2018; 62: 1701050

[50] Kosaka N., Izumi H., Sekine K., Ochiya T.: MicroRNA as a new immune-regulatory agent in breast milk. Silence, 2010; 1: 7

[51] Kozomara A., Griffiths-Jones S.: miRBase: Annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data. Nucleic Acids Res., 2014; 42: D68–D73

[52] Kramer M.S.: "Breast is best": The evidence. Early Hum. Dev., 2010; 86: 729–732

[53] Kramer M.S., Kakuma R.: Optimal duration of exclusive breastfeeding. Cochrane Database Syst. Rev., 2012; 2012: CD003517

[54] Kulski J.K., Hartmann P.E.: Milk insulin GH and TSH: Relationship to changes in milk lactose, glucose and protein during lactogenesis in women. Endocrinol. Exp., 1983; 17: 317–326

[55] Kunz C., Rudloff S., Baier W., Klein N., Strobel S.: Oligosaccharies in human milk: Structural, functional, and metabolic aspects. Annu. Rev. Nutr., 2000; 20: 699–722

[56] Laskowska J., Książyk J.: Aktualne wytyczne dotyczące karmienia piersią. Pediatr. Med. Rodz., 2011; 7: 110–114

[57] Le M.T., Teh C., Shyh-Chang N., Xie H., Zhou B., Korzh V., Lodish H.F., Lim B.: MicroRNA-125b is a novel negative regulator of p53. Genes Dev., 2009; 23: 862–876

[58] Le Huërou-Luron I., Blat S., Boudry G.: Breast- v. formula-feeding: impacts on the digestive tract and immediate and long-term health effects. Nutr. Res. Rev., 2010; 23: 23–36

[59] Lemons J.A., Moye L., Hall D., Simmons M.: Differences in the composition of preterm and term human milk during early lactation. Pediatr. Res., 1982; 16: 113–117

[60] Li J., Chen L., Tang Q., Wu W., Gu H., Liu L., Wu J., Jiang H., Ding H., Xia Y., Chen D., Hu Y., Wang X.: The role, mechanism and potentially novel biomarker of microRNA-17-92 cluster in macrosomia. Sci. Rep., 2015; 5: 17212

[61] Li J., Song Y., Wang Y., Luo J., Yu W.: MicroRNA-148a suppresses epithelial-to-mesenchymal transition by targeting ROCK1 in non-small cell lung cancer cells. Mol. Cell. Biochem., 2013; 380: 277–282

[62] Li R., Dudemaine P.L., Zhao X., Lei C., Ibeagha-Awemu E.M.: Comparative analysis of the miRNome of bovine milk fat, whey and cells. PLoS One, 2016; 11: e0154129

[63] Liao Y., Du X., Li J., Lönnerdal B.: Human milk exosomes and their microRNAs survive digestion in vitro and are taken up by human intestinal cells. Mol. Nutr. Food Res., 2017; 61: 1700082

[64] Lu Y., Li Z., Xie B., Song Y., Ye X., Liu P.: hsa-miR-20-5p attenuates allergic inflammation in HMC-1 cells by targeting HDAC4. Mol. Immunol., 2019; 107: 84–90

[65] MacFarlane L.A., Murphy P.R.: MicroRNA: Biogenesis, function and role in cancer. Curr. Genomics, 2010; 11: 537–561

[66] Malkaram S.A., Hassan Y.I., Zempleni J.: Online tools for bioinformatics analyses in nutrition sciences. Adv. Nutr., 2012; 3: 654–665

[67] Mathivanan S., Ji H., Simpson R.J.: Exosomes: Extracellular organelles important in intercellular communication. J. Proteomics, 2010; 73: 1907–1920

[68] Melnik B.C., Schmitz G.: MicroRNAs: Milk's epigenetic regulators. Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab., 2017; 31: 427–442

[69] Meunier L., Siddeek B., Vega A., Lakhdari N., Inoubli L., Bellon R.P., Lemaire G., Mauduit C., Benahmed M.: Perinatal programming of adult rat germ cell death after exposure to xenoestrogens: role of microRNA miR-29 family in the down-regulation of DNA methyltransferases and Mc1-1. Endocrinology, 2012; 153: 1936–1947

[70] Mishra P.J., Merlino G.: MicroRNA reexpression as differentiation therapy in cancer. J. CIin. Invest., 2009; 119: 2119–2123

[71] Morera Pons S., Castellote Bargallo A.I., López Sabater M.C.: Analysis of human milk triacylglycerols by high-performance liquid chromatography with light-scattering detection. J. Chromatogr. A, 1998; 823: 475–482

[72] Munch E.M., Harris R.A., Mohammad M., Benham A.L., Pejerrey S.M., Showalter L., Hu M., Shope C.D., Maningat P.D., Gunaratne P.H., Haymond M., Aagaard K.: Transcriptome profiling of microRNA by next-gen deep sequencing reveals known and novel miRNA species in the lipid fraction of human breast milk. PLoS One, 2013; 8: e50564

[73] Na R.S., E G.X., Sun W., Sun X.W., Qiu X.Y., Chen L.P., Huang Y.F.: Expressional analysis of immune-related miRNAs in breast milk. Genet. Mol. Res., 2015; 14: 11371–11376

[74] Neville M.C., McFadden T.B., Forsyth I.: Hormonal regulation of mammary differentiation and milk secretion. J. Mammary Gland Biol. Neoplasia, 2002; 7: 49–66

[75] O'Day E., Lal A.: MicroRNAs and their target gene networks in breast cancer. Breast Cancer Res., 2010; 12: 201

[76] Pauley K.M., Cha S., Chan E.K.: MicroRNA in autoimmunity and autoimmune diseases. J. Autoimmun., 2009; 32: 189–194

[77] Perri M., Lucente M., Cannataro R., De Luca I.F., Gallelli L., Moro G., De Sarro G., Caroleo M.C., Cione E.: Variation in immune-related microRNAs profile in human milk amongst lactating women. MicroRNA, 2018; 7: 107–114

[78] Perry B., Wang Y.: Appetite regulation and weight control: the role of gut hormones. Nutr. Diabetes, 2012; 2: e26

[79] Rani P., Vashisht M., Golla N., Shandilya S., Onteru S.K., Singh D.: Milk miRNAs encapsulated in exosomes are stable to human digestion and permeable to intestinal barrier *in vitro*. J. Funct. Foods, 2017; 34: 431–439

[80] Reinhart B.J., Slack F.J., Basson M., Pasquinelli A.E., Bettinger J.C., Rougvie A.E., Horvitz H.R., Ruvkun G.: The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in *Ceanorhabditis elegans*. Nature, 2000; 403: 901–906

[81] Roush S., Slack F.J.: The let-7 family of microRNAs. Trends Cell Biol., 2008; 18: 505–516

[82] Satoh J.I., Tabunoki H.: Comprehensive analysis of human microRNA target networks. BioData Min., 2011; 4: 17

[83] Schulte C., Zeller T.: MicroRNA-based diagnostics and therapy in cardiovascular disease – summing up the facts. Cardiovasc. Diagn. Ther., 2015; 5: 17–36

[84] Shandilya S., Rani P., Onteru S.K., Singh D.: Small interfering RNA in milk exosomes is resistant to digestion and cross intestinal barrier *in vitro*. J. Agric. Food Chem., 2017; 65: 9506–9513

[85] Sikora E., Ptak W., Bryniarski K.: Immunoregulacja poprzez interferencyjny RNA – mechanizmy, rola, perspektywy. Postępy Hig. Med. Dośw., 2011; 65: 482–495

[86] Takagi S., Nakajima M., Mohri T., Yokoi T.: Post-transcriptional regulation of human pregnane X receptor by microRNA affects the expression of cytochrome P450 3A4. J. Biol. Chem., 2008; 283: 9674–9680

MOST WIEDZY Pobrano z mostwiedzy.pl

[87] Takeuchi K., Reue K.: Biochemistry, physiology, and genetics of GPAT, AGPAT, and lipid enzymes in triglyceride synthesis. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab., 2009; 296: E1195–E1209

[88] Title A.C., Denzler R., Stoffel M.: Uptake and function studies of maternal milk-derived microRNAs. J. Biol. Chem., 2015; 290: 23680–23691

[89] Vaishya S., Sarwade R.D., Seshadri V.: MicroRNA, proteins, and metabolites as novel biomarkers for prediabetes, diabetes, and related complications. Front. Endocrinol., 2018; 9: 180

[90] Wagschal A., Najafi-Shoushtari S.H., Wang L., Geodeke L., Sinha S., deLemos A.S., Black J.C., Ramírez C.M., Li Y., Tewhey R., Hatoum I., Shah N., Lu Y., Kristo F., Psychogios N. i wsp.: Genome-wide identification of microRNAs regulating cholesterol and triglyceride homeostasis. Nat. Med., 2015; 21: 1290–1297

[91] Wang X.X., Zhang R., Li Y.: Expression of the miR-148/152 family in acute myeloid leukemia and its clinical significance. Med. Sci. Monit., 2017; 23: 4768–4778

[92] Wang X.Y., Chen X.Y., Li J., Zhang H.Y., Liu J., Sun L.D.: miR-200a expression in CD4+ T cells correlates with the expression of Th17/Treg cells and relevant cytokines in psoriasis vulgaris: A case control study. Biomed. Pharmacother., 2017; 93: 1158–1164

[93] Wang Y.D., Wood W.I.: Amino acids of the human growth hormone receptor that are required for proliferation and Jak–STAT signalling. Mol. Endocrinol., 1995; 9: 303–311

[94] Weber J.A., Baxter D.H., Zhang S., Huang D.Y., Huang K.H., Lee M.J., Galas D.J., Wang K.: The microRNA spectrum in 12 body fluids. Clin. Chem., 2010; 56: 1733–1741

[95] Wolf T., Baier S.R., Zempleni J.: The intestinal transport of bovine milk exosomes is mediated by endocytosis in human colon carcinoma Caco-2 cells and rat small intestinal IEC–6 cells. J. Nutr., 2015; 145: 2201–2206

[96] Xiao C., Srinivasan L., Calado D.P., Patterson H.C., Zhang B., Wang J., Henderson J.M., Kutok J.L., Rajewsky K.: Lymphoproliferative disease and autoimmunity in mice with increased miR-17-92 expression in lymphocytes. Nat. Immunol., 2008; 9: 405–414

[97] Yu J., Li Q., Xu Q., Liu L., Jiang B.: miR-148a inhibits angiogenesis by targeting ERBB3. J. Biomed. Res., 2011; 25: 170–177

[98] Zhang G., Estève P.O., Chin H.G., Terragni J., Dai N., Corrêa I.R. Jr., Pradhan S.: Small RNA-mediated DNA (cytosine-5) methyltransferase 1 inhibition leads to aberrant DNA methylation. Nucleic Acids Res., 2015; 43: 6112–6124

[99] Zhou B.P., Liao Y., Xia W., Zou Y., Spohn B., Hung M.C.: HER-2/neu induces p53 ubiquitination via Akt-mediated MDM2 phosphorylation. Nat. Cell. Biol., 2001; 3: 973–982

[100] Zhou Q., Li M., Wang X., Li Q., Wang T., Zhu Q., Zhou X., Wang X., Gao X., Li X.: Immune-related microRNAs are abundant in breast milk exosomes. Int. J. Biol. Sci., 2012; 8: 118–123

[101] Zwart W., Theodorou V., Carroll J.S.: Estrogen receptor-positive breast cancer: A multidisciplinary challenge. Wiley Interdiscip. Rev. Syst. Biol. Med., 2011; 3: 216–230

Autorki deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.

MOST WIEDZY Pobrano z mostwiedzy.pl