

Oligosaccaridi del latte umano

I benefici nella nutrizione degli adulti

Clifford A Adams¹, Bettina Gutiérrez²

¹Anozene Nutritional Sciences, Antwerp (Belgium)

²Jennewein, Rheinbreitbach (Germany)

Bettina.Gutierrez@jennewein-biotech.de

Traduzione di Sara Corigliano

Parole chiave: Oligosaccaridi del latte umano, Microbiota, Patogeni, Colon, Allergia

SUMMARY

Human milk oligosaccharides

The benefits in adult nutrition

Human milk oligosaccharides (HMOs) comprise a large family of extremely diverse oligosaccharides present in high concentrations and which generate a multitude of biological responses. They are generally considered to have a beneficial effect upon the establishment of the microbiota in infants, but they also exert this effect in adult humans. They can impede the attachment of pathogens and toxins such as *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella typhi*, *Helicobacter pylori*, bacterial toxins, *Entamoeba histolytica* and viruses, to the epithelial cells of the gastrointestinal tract. This in effect reduces their pathogenicity as binding to receptors on the epithelial cells is a prerequisite for infection by pathogens. If the pathogens or toxins bind to the HMOs they will be removed from the gastrointestinal tract and not cause disease. Therefore, HMOs are putative protective agents against enteric infections in adults as well as in infants. HMOs are also useful as therapeutic or preventive adjuncts in gut motility disorders and gut pain, and possibly also have beneficial effects in reducing food allergies. Hence, dietary manipulation by the use of HMOs represents a strategy to promote a beneficial gut microbiota and provide health benefits to human adults as well as to infants.

Riassunto

Gli oligosaccaridi del latte umano (HMO – *Human Milk Oligosaccharides*) comprendono un'ampia famiglia di oligosaccaridi estremamente eterogenei, presenti in elevate concentrazioni e in grado di generare numerose risposte biologiche. Essi sono generalmente noti per i loro effetti benefici nella formazione del microbiota nei neonati, sebbene producano il medesimo beneficio anche negli adulti.

Gli oligosaccaridi del latte umano sono in grado di impedire l'attacco alle cellule epiteliali del tratto gastrointestinale di agenti patogeni e tossine, come *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella typhi*, *Helicobacter pylori*, tossine batteriche, *Entamoeba histolytica* e virus; questo processo riduce la patogenicità di tali agenti dal momento che il legame ai recettori sulle cellule epiteliali è un prerequisito per l'infezione. Quando agenti patogeni o tossine si legano agli HMO, vengono rimossi dal tratto gastrointestinale e non causano dunque alcuna patologia. Quindi, gli HMO sono agenti protettivi putativi contro le infezioni enteriche negli adulti, così come nei bambini. Gli HMO sono utili anche come adiuvanti nelle patologie legate alla motilità e al dolore intestinale e possono avere un effetto benefico anche nella riduzione delle allergie alimentari. L'integrazione alimentare mediante l'uso di HMO rappresenta quindi una strategia per promuovere un sano microbiota intestinale e produrre benefici salutari ad adulti e neonati.

Introduzione

Gli oligosaccaridi del latte umano (HMO) comprendono un'ampia famiglia di oligosaccaridi estremamente eterogenei e presenti in elevate concentrazioni nel latte materno. Essi rappresentano il terzo componente solido del latte materno in termini di abbondanza, dopo lattosio (70 g/l) e grassi (30-60 g/l), con concentrazioni tipiche di 10-15 g/l nel latte maturo a termine, e superano il contenuto proteico del latte materno che di solito è 6,0-8,0 g/l (1). Gli HMO non sono digeriti nel tratto gastrointestinale superiore e solo l'1-2% di essi è assorbito nei neonati. La maggior parte degli HMO ingeriti raggiunge l'intestino crasso dove fornisce substrati selettivi per specifici batteri intestinali (2,3), modula il

sistema immunitario (4) e previene l'adesione epiteliale dei patogeni intestinali (5).

Gli HMO del latte materno si compongono di diversi monosaccaridi, in particolare glucosio, galattosio, fucosio, N-acetilglucosamina e acidi sialici (acido N-acetilneuramminico). Lo zucchero fucosio è anche una molecola insolita poiché ha una configurazione L, mentre le altre molecole di zuccheri dell'organismo hanno una configurazione D.

La struttura degli HMO ha un nucleo di lattosio con l'estremità riducente allungata con unità fucosilate e/o unità di sialil N-acetil-lattosamina (6). Nel latte umano sono stati identificati circa 200 HMO (7). Gli HMO fucosilati sono risultati la componente più cospicua (~77%), mentre gli HMO sialilati rappresentano circa il 16% degli HMO totali. Gli HMO fucosilati sono molecole neutre, mentre gli HMO sialilati sono molecole acide. Nel latte umano, gli HMO più abbondanti sono il 2'-fucosillattosio, con una concentrazione di circa 2 g/l (Fig. 1).

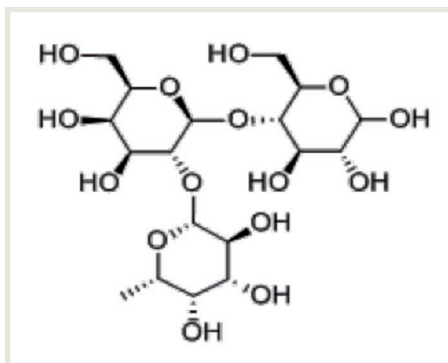


Figura 1 - Struttura dell'oligosaccaride del latte umano 2'-fucosillattosio

Modificazione del microbiota

Gli HMO sono molto importanti per la formazione di un efficace microbiota nel neonato. Ciò premesso, quando gli HMO 2'-O-fucosil-lattosio (2'-FL) e/o latte-N-neotetraosio (LNnT) sono stati somministrati ad adulti sani per 2 settimane, sono stati in grado di modulare il microbiota intestinale anche in questi soggetti. Si è osservato un incremento nell'abbondanza relativa di bifidobatteri (fino a >25% in alcuni soggetti), ed una riduzione dell'abbondanza relativa di due *phyla*, Firmicuti e Proteobatteri (8). Si tratta di un risultato interessante, dal momento che i bifidobatteri sono stati a lungo considerati membri benefici del microbiota gastrointestinale umano, e livelli bassi sono stati riscontrati in soggetti obesi e diabetici, in soggetti che assumono antibiotici e in pazienti con sindrome dell'intestino irritabile o patologie infiammatorie intestinali.

Inoltre, la somministrazione a soggetti adulti di 2'-FL o LNnT a dose giornaliera fino a 20 grammi si è rivelata assolutamente sicura e ben tollerata e costituisce una valida modalità di reintegrazione dei bifidobatteri in soggetti adulti che presentano bassi livelli di questi batteri. In un altro studio, 100 soggetti adulti sono stati ran-

domizzati in 10 gruppi, ciascuno dei quali ha ricevuto HMO chimicamente prodotti in diverse dosi giornaliere (5, 10 o 20 g), o 2 g di glucosio come placebo per 2 settimane (9). Si è così proceduto ad una osservazione della sicurezza, della tollerabilità e degli eventi avversi degli HMO. I parametri fisici, fra cui pulsazioni e pressione sanguigna, sono rimasti invariati durante e dopo l'assunzione degli HMO. Anche le analisi ematoclini-

che di routine sono rimaste stabili nel corso dello studio. La tollerabilità è risultata buona e gli eventi avversi lievi. L'analisi di sequenziamento del 16S rRNA ha rivelato che la supplementazione con HMO ha modificato specificatamente il microbiota intestinale dell'adulto, il cui effetto immediato è stato il sostanziale incremento di *Actinobacteria* e *Bifidobacterium*, e una riduzione dei Firmicuti e dei Proteobatteri. L'incremento di *Bifidobacterium*, che in alcuni soggetti è stato superiore al 25%, era dose-dipendente ma non dipendeva dalla sua iniziale quantità.

Nessuno studio ha evidenziato problemi di sicurezza o tolleranza dopo la supplementazione con HMO, sebbene sia stato osservato un forte impatto sul microbiota intestinale di soggetti adulti sani (8,9). Nel loro insieme, questi risultati mostrano che la supplementazione con HMO è una strategia valida per modificare il microbiota intestinale e, più specificatamente, per promuovere la crescita di bifidobatteri benefici, migliorando la salute di adulti e neonati.

Interazione con patogeni microbici

Molti agenti patogeni riconoscono la struttura carboidrato sulla superficie delle cellule come recettore. Alcuni HMO hanno la stessa struttura dei recettori presenti sulla superficie delle cellule e sono dunque potenziali inibitori dell'infezione, perché analoghi solubili del recettore per i patogeni. Di conseguenza, gli HMO possono avere effetti diretti sulla struttura e sulla funzione dell'epitelio intestinale e possono interferire con l'adesione di batteri infettivi come *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella fytis*, *Helicobacter pylori*, tossine batteriche, parassiti protozoa-

ni come *Entamoeba histolytica*, e virus. Le infezioni enteriche costituiscono un problema di salute importante per neonati, adulti e animali allevati per la produzione alimentare, come polli e maiali. Gli HMO dunque, sono putativi agenti protettivi contro l'infezione enterica di numerose specie (5,10).

Campylobacter jejuni

Il *Campylobacter jejuni* rappresenta la prima causa d'infezione batterica enterica in tutto il mondo e costituisce una vera e propria minaccia alla salute pubblica. Il pollame comunemente disponibile in commercio, e in particolare i polli da ingrasso, sono un serbatoio di infezioni umane suscettibili di trasmissione mediante alimenti contaminati, acqua e contatto oro-fecale diretto. L'infezione batterica causa modificazioni infiammatorie acute locali, sia nell'intestino tenue che in quello crasso, causando dolore addominale, febbre, vomito, mal di testa e diarrea. Vale la pena di ricordare che anche una completa guarigione in seguito a infezione da *C. jejuni* può comportare un rischio residuo di gravi complicazioni, come la sindrome Guillain-Barré o la sindrome dell'intestino irritabile.

Il primo passo nella patogenesi del campilobatterio è l'aderenza alla mucosa intestinale (11). Le frazioni proteiche, lipidiche e dei carboidrati preparate da latte materno sono state testate al fine di valutare la loro capacità di inibire l'aderenza del campilobatterio alle cellule epiteliali umane (Hep-2). Solo la frazione oligosaccaride a 3 mg/ml, ossia la metà della concentrazione media presente nel latte materno, ha inibito le infezioni delle cellule Hep-2 da parte dei ceppi invasivi di campilobatterio testati. Nessuna inibizione è stata osservata con frazioni proteiche non-immunoglobuliniche, lipidiche o di lattosio.

Inoltre, la frazione oligosaccaride attiva ha causato una osservabile inibizione a concentrazioni pari a solo un dodicesimo della sua normale concentrazione nel latte materno (0,3 mg/ml). Quando la frazione oligosaccaride cruda è stata ulteriormente separata in frazioni neutre o acide, solo la frazione neutra ha inibito il legame del campilobatterio, ed è stata individuata come fucosil-oligosaccaridi. La frazione oligosaccaride neutra a metà della sua naturale concentrazione nel latte materno ha inibito per il 93% la colonizzazione da parte del ceppo campilobatterio ed il trattamento con solo 2'-FL ha causato una inibizione del 69%.

Un modello murino è stato utilizzato per determinare se la frazione HMO potesse inibire la colonizzazione intestinale *in vivo*. I topi che hanno ricevuto HMO *per os* presentavano una colonizzazione da campilobatterio significativamente inferiore, sia a bassa inoculazione (10^4

cfu/ml) che ad elevata inoculazione (10^8 cfu/ml), rispettivamente. In un altro studio, le cellule epiteliali umane HEp-2 e HT-29 sono state infettate con un ceppo virulento *C. jejuni* (12). Le cellule infette sono state trattate con 5 g 2'-FL/l, che ha attenuato dell'80% l'invasione *C. jejuni* ed ha soppresso il rilascio di segnali pro-infiammatori mucosali, quali interleuchina (IL) 8 del 60-70%, IL-1 β dell'80-90%, e la proteina infiammatoria dei macrofagi (MIP-2) del 50% (12).

Un altro studio *in vivo* in topi di 4 settimane ha mostrato che l'ingestione di 2'-FL ha ridotto la colonizzazione *C. jejuni* dell'80%, il peso corporeo del 5% e le caratteristiche istologiche di infiammazione intestinale del 50-70%. La somministrazione di 2'-FL puro potrebbe quindi rivelarsi utile come nuovo agente clinico profilattico e terapeutico contro *C. jejuni* ed altri patogeni enterici. Questo lascia presagire che 2'-FL possa rappresentare una nuova classe di agente orale per la prevenzione e, potenzialmente, per il trattamento, di specifiche patologie infettive enteriche, sia negli adulti che nei neonati, dal momento che l'infezione da *C. jejuni* è una problematica sanitaria riconosciuta presso entrambe queste categorie.

Tossine batteriche

Le enterotossine da *Vibrio cholerae* ed *Escherichia coli* enterotossigeno riconoscono il monosialoganglioside 1 (GMI) sulla superficie della cellula come recettore. Ciò consente alle tossine di aderire alla mucosa intestinale e causare diarrea.

Il latte materno contiene una grande quantità di acido sialico legato agli oligosaccaridi. Questi oligosaccaridi sialilati sembrano comportarsi come potenziali inibitori contro le enterotossine prodotte da questi batteri. 3'-Sialilattosio (3'-SL) ha inibito la tossina del colera, inducendo un accumulo di fluido in un modello di anse intestinali di coniglio (13), agendo come un analogo del recettore per la tossina del colera.

Entamoeba histolytica

L'amebiasi, caratterizzata dal protozoo *Entamoeba histolytica*, costituisce la terza causa di morte per malattia parassitaria, preceduta quindi solo dalla malaria e dalla schistosomiasi. Circa cinquanta milioni di persone in tutto il mondo sono affette da *E. histolytica*, responsabile di circa 100.000 morti all'anno. *E. histolytica* è trasmessa tramite la via oro-fecale attraverso acqua o cibo contaminato ed è spesso endemica nelle regioni dove l'igiene scarseggia. L'infezione avviene mediante ingestione della cisti contenente la forma semi dormiente del parassita che, passando attraverso lo stomaco e l'intestino tenue, raggiunge il colon dove si differenzia in

trofozoi mobili, che possono colonizzare ed invadere la mucosa dell'ospite, causando dissenteria.

Concentrazioni fisiologiche di HMO sono state in grado di inibire *in vitro* l'adesione di *E. histolytica* agli strati di cellule enteriche epiteliali e la sua citotossicità in modo dose-dipendente (14). Gli HMO hanno anche protetto gli strati di cellule epiteliali da citotossicità indotta da *E. histolytica* quando aggiunti dopo iniziazione delle colture; ciò indica che HMO può fermare la citotossicità. Quando i singoli HMO sono stati testati individualmente, solo latte-N-tetraosio (LNT) (Fig.2), un tetrasaccaride neutro, ha significativamente protetto le cellule epiteliali intestinali. La maggior parte delle aree del mondo dove l'incidenza di *E. histolytica* è elevata presentano un clima estremo e risorse molto limitate. Quindi gli HMO, che sono molecole stabili con tolleranza al calore e bassi costi, presentano caratteristiche interessanti che rendono questi oligosaccaridi candidati ideali come agenti preventivi e terapeutici antiamebici per il trattamento di adulti e bambini.

Virus

L'influenza aviaria (IA) colpisce i volatili, incluso il pollame, e in tutto il mondo è causa di importanti perdite economiche nel settore avicolo. Il sottotipo H9N2 del virus IA è altamente prevalente e ampiamente distribuito in tutto il mondo. Questo sottotipo è infettivo non soltanto per i volatili ma anche per l'uomo ed altri animali, fra cui maiali. Nel pollame, la IA causa una infezione acuta del tratto respiratorio, edema alla testa e cianosi alla cresta e alle zampe, con una conseguente riduzione della produzione di uova, ed ha un tasso di mortalità del 5-30%.

Gli HMO sialilati 3'-SL e 6'-sialilattosio (6'-SL) (Fig.3) hanno una potente attività inibitoria contro i virus IA *in vitro* (15). 3'-SL ha mostrato una promettente attività antivirale contro quasi tutti i sottotipi di virus testati nel test di inibizione dell'emoagglutinazione, mentre 6'-SL ha mostrato una attività contro alcuni ceppi di sottotipi H1N1, H1N2 e H3N2 selezionati.

Il virus H9N2 si lega preferibilmente a sialil glicani legati in $\alpha 2,3$ presenti nelle cellule mucipare aviarie e 3'-SL si è mostrato in grado di mimare i recettori delle cellule epiteliali dell'ospite. Così 3'-SL ha neutralizzato efficacemente il virus H9N2 legandosi ai siti di legame del recettore e rimuovendoli apparentemente dal colon tramite semplice wash-out.

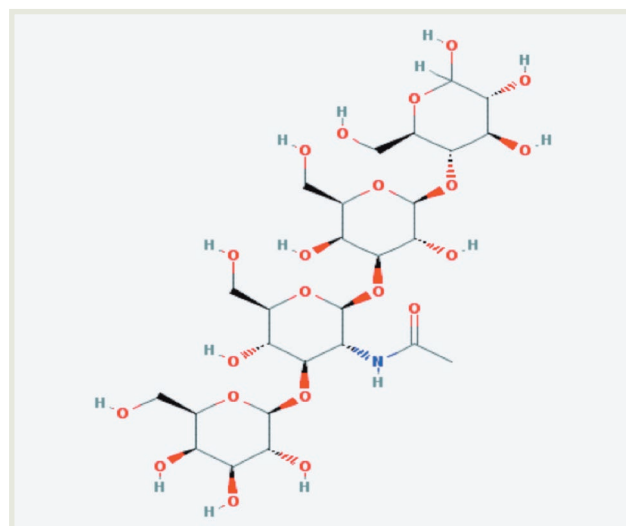


Figura 2 - Struttura dell'oligosaccaride del latte materno latte-N-tetraosio

Inoltre, il trattamento dei polli con 3'-SL ha portato alla completa eliminazione dei virus H9N2 entro 24 ore dall'infezione. Test ELISA indiretti hanno confermato il completo wash-out dei virus H9N2 dal colon dopo neutralizzazione mediante 3'-SL senza entrare nel flusso sanguigno. Questi risultati *in vivo* aprono nuove possibili applicazioni di 3'-SL per la prevenzione delle infezioni del virus dell'influenza aviaria nei volatili, mediante un semplice meccanismo di lavaggio. Questi risultati sono altamente significativi, in quanto lasciano intravedere la possibilità che gli HMO sialilati possano avere effetti benefici in altre specie, oltre che nei polli. Le patologie virali rappresentano un importante problema sanitario per gli animali e l'uomo. I virus influenzali, in particolare quello dell'influenza A, sono agenti responsabili di gravi malattie che causano circa 250.000-500.000 morti all'anno in tutto il mondo. Sfortunatamente, molti vaccini virali non sono in grado di stare al passo con le mutazioni dei virus. Contestualmente, i virus sviluppano resistenza ai farmaci in uso, imponendo la necessità di sviluppare nuove terapie.

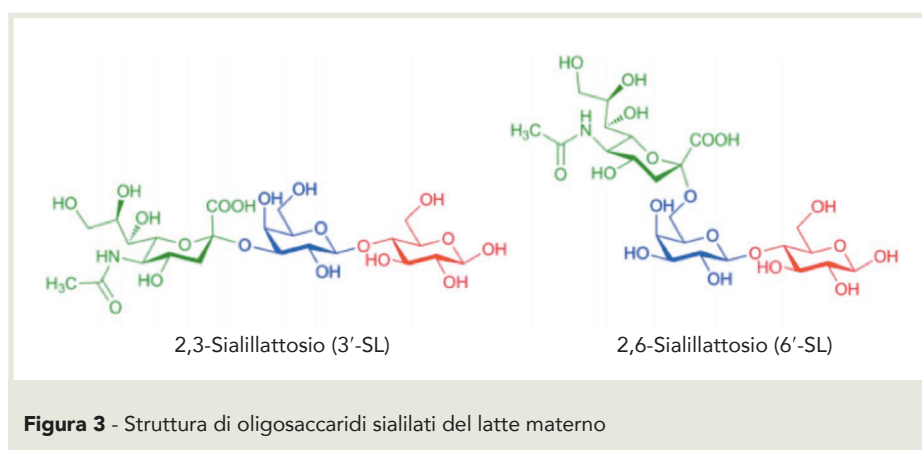


Figura 3 - Struttura di oligosaccaridi sialilati del latte materno

La possibilità di un ruolo degli HMO nel controllo delle patologie virali costituisce una novità certamente interessante.

Contrazioni motorie gastrointestinali

Diversi HMO hanno un pronunciato effetto sulle contrazioni motorie gastrointestinali, come indicato da un modello di peristalsi di colon murino *in vitro* (16). Le molecole fucosilate 2'-fucosillattosio (2'-FL) e 3'-fucosillattosio (3'-FL) hanno ridotto la contrattilità in modo concentrazione-dipendente. 2'-FL è circa tre volte più attivo di L-fucosio e 3'-FL è inoltre più che doppiamente efficace di 2'-FL. Altri HMO, come gli acidi sialilattosio 3'-SL e 6'-SL, il neutro latte-N-neotetraosio (LNnT) e i galatto-oligosaccaridi (GOS) non hanno prodotto alcun effetto. Il fucosio e le molecole fucosilate hanno avuto l'effetto immediato di ridurre la contrattilità del muscolo liscio del colon entro 5-10 minuti dall'applicazione. È improbabile che questi effetti degli HMO avvengano mediante stimolazione dei bifidobatteri, ma piuttosto tramite azione diretta su complessi motori neurone-dipendenti. Questi risultati suggeriscono una specifica interazione di fucosio e/o HMO fucosilati con i recettori dei tessuti che, a loro volta, regolano la motilità intestinale e possono anche dimostrare attività anti-nocicettiva. Queste osservazioni supportano l'ipotesi che gli HMO fucosilati possano essere utili come supporto terapeutico o preventivo nelle patologie di motilità intestinale e dolore intestinale e possano inoltre, anche avere effetti benefici sul sistema nervoso centrale.

Patologie allergiche

La prevalenza delle patologie allergiche ha raggiunto proporzioni epidemiche; secondo le stime, tali patologie affliggono circa un miliardo di persone in tutto il mondo. L'allergia alimentare è considerata una "seconda ondata" dell'epidemia. Studi suggeriscono che l'allergia alimentare colpisca circa il 5% degli adulti e l'8% dei bambini. Gli alimenti maggiormente responsabili di tali reazioni allergiche sono latte vaccino, semi di soia, grano, uova, noccioline, noci, pesce, molluschi e sesamo. Dal momento che i trattamenti curativi sono limitati, i soggetti allergici di norma ricorrono all'astensione dal consumo del cibo in questione ed al trattamento dei sintomi acuti. Gli effetti prebiotici ed immunoregolatori degli HMO sono generalmente riconosciuti ed indicano anche che essi potrebbero avere un certo potenziale nelle patologie allergiche.

L'effetto di due HMO, 2'-FL e 6'-SL, sui sintomi anafilattici indotti da ovalbumina orale sono stati studiati in un modello murino di allergia alimentare (topi sensibilizzati all'ovalbumina) (17). Il trattamento per via orale quotidiano con 2'-FL o 6'-SL ha attenuato i sintomi dell'allergia alimentare fra cui diarrea e ipotermia. I risultati suggeriscono che 2'-FL o 6'-SL riducono i sintomi dell'allergia alimentare mediante induzione di cellule regolatorie T IL-10(+) e indiretta stabilizzazione dei mastociti.

In uno studio successivo, gli HMO 2'-FL e 6'-SL hanno mostrato di modulare le risposte di cellule epiteliali umane correlate alla patologia allergica (18). In particolare, 6'-SL potrebbe avere benefici aggiuntivi inibendo il rilascio di chemochine indotto dal complesso antigene-anticorpo ed altri segnali infiammatori che, a loro volta, inibirebbero l'influsso delle cellule infiammatorie all'intestino, attenuando potenzialmente i sintomi dell'allergia alimentare. Questi risultati incoraggiano ulteriori studi atti a valutare il potenziale terapeutico di specifici HMO nell'allergia alimentare.

Bibliografia

- Zivkovic AM, German JB, Lebrilla CB, Mills DA (2011) Human milk glycomiome and its impact on the infant gastrointestinal microbiota. *Proc Natl Acad Sci USA* 108:4653-4658
- Marcobal A, Barboza M, Froehlich JW et al (2010) Consumption of human milk oligosaccharides by gut-related microbes. *J Agric Food Chem* 58:5334-5340
- Marcobal A, Sonnenburg JL (2012) Human milk oligosaccharide consumption by intestinal microbiota. *Clin Microbiol Infect* 18(Suppl 4):12-15
- Bode L, Kunz C, Muhly-Reinholz M et al (2004) Inhibition of monocyte, lymphocyte, and neutrophil adhesion to endothelial cells by human milk oligosaccharides. *Thromb Haemost* 92:1402-1410
- Coppa GV, Zampini L, Galeazzi T et al (2006) Human milk oligosaccharides inhibit the adhesion to Caco-2 cells of diarrheal pathogens: *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, and *Salmonella typhi*. *Pediatr Res* 59:377-382
- Bode L (2012) Human milk oligosaccharides: every baby needs a sugar mama. *Glycobiology* 22:1147-1162
- Niñonuevo MR, Lebrilla CB (2009) Mass spectrometric methods for analysis of oligosaccharides in human milk. *Nutr Rev* 67(Suppl 2):S216-S226
- Elison E, Vignanes LK, Krosgaard LR et al (2016) Oral supplementation of healthy adults with 2'-O-fucosyllactose and lacto-N-neotetraose is well tolerated and shifts the intestinal microbiota. *Br J Nutr* 116:1356-1368

9. Salomonsson E, Vigsnaes L, Sommer M et al (2016) Human milk oligosaccharides; now as substantial modulators of the adult gut microbiota.
Paper presented at the International Scientific Conference on Probiotics and Prebiotics (Budapest) IPC2016 Proceedings pag 114
10. Morrow AL, Ruiz-Palacios GM, Jiang X et al (2005) Human-milk glycans that inhibit pathogen binding protect breast-feeding infants against infectious diarrhea.
J Nutr 135:1304-1307
11. Ruiz-Palacios GM, Cervantes LE, Ramos P et al (2003) *Campylobacter jejuni* binds intestinal H(O) antigen (Fuca1, 2Gal β 1, 4GlcNAc), and fucosyloligosaccharides of human milk inhibit its binding and infection.
J Biol Chem 278:14112-14120
12. Yu ZT, Nanthakumar NN, Newburg DS (2016) The human milk oligosaccharide 2'-fucosyllactose quenches *Campylobacter jejuni*-induced inflammation in human epithelial cells HEp-2 and HT-29 and in mouse intestinal mucosa.
J Nutr 146:1980-1990
13. Tadashi I, Kawakami H, Murakami Y et al (1995) Inhibition of cholera toxin by human milk fractions and sialyllactose.
Biosci Biotech Biochem 59:417-419
14. Jantscher-Krenn E, Lauwaet T, Bliss LA et al (2012) Human milk oligosaccharides reduce *Entamoeba histolytica* attachment and cytotoxicity *in vitro*.
Br J Nutr 108:1839-1846
15. Pandey RP, Kim DH, Woo J et al (2018) Broad-spectrum neutralization of avian influenza viruses by sialylated human milk oligosaccharides: *in vivo* assessment of 3'-sialyllactose against H9N2 in chickens.
Sci Rep 8:2563
16. Bienenstock J, Buck RH, Linke H et al (2013) Fucosylated but not sialylated milk oligosaccharides diminish colon motor contractions.
PLoS ONE 8:e76236
17. Castillo-Courtade L, Han S, Lee S et al (2015) Attenuation of food allergy symptoms following treatment with human milk oligosaccharides in a mouse model.
Allergy 70:1091-1102
18. Zehra S, Khambati I, Vierhout M et al (2018) Human milk oligosaccharides attenuate antigen-antibody complex induced chemokine release from human intestinal epithelial cell lines.
J Food Sci 83:499-508