

## ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛЕТОЧНОГО СОСТАВА ГРУДНОГО МОЛОКА

© К. В. Зайцев,<sup>1</sup> С. А. Межеричкий,<sup>1</sup> Н. П. Степаненко,<sup>1</sup> А. А. Гостюхина,<sup>1</sup>  
 О. Б. Жукова,<sup>1</sup> Е. И. Кондратьева,<sup>1</sup> И. А. Степанов,<sup>2</sup> А. Н. Дзюман,<sup>3</sup>  
 Е. Е. Николаевская,<sup>3</sup> В. А. Воробьев,<sup>1</sup> Н. Г. Абдулкина,<sup>1</sup> А. А. Зайцев,<sup>1,3</sup>  
 С. Ю. Юрьев,<sup>1</sup> О. П. Коришнова,<sup>1</sup> Л. С. Литвинова,<sup>4</sup> И. А. Хлусов<sup>3,5,\*</sup>

<sup>1</sup> Сибирский федеральный научно-клинический центр ФМБА России, Северск, 636035,

<sup>2</sup> Областной перинатальный центр, Томск, 634063,

<sup>3</sup> Кафедра морфологии и общей патологии Сибирского государственного медицинского университета, Томск, 634050,

<sup>4</sup> Лаборатория иммунологии и клеточных биотехнологий Балтийского федерального университета им. И. Канта, Калининград, 236016, и

<sup>5</sup> Кафедра экспериментальной физики Томского политехнического университета, Томск, 634050;

\* электронный адрес: khlusov63@mail.ru

В краткосрочной (6—7 сут) культуре *in vitro* изучали морфологию и иммунофенотип прилипающих к пластику клеток женского молозива с помощью антител к CD3, CD31, CD34, CD45, CD68, виментину и остеокальцину. В 20 % культуральных флаконов наблюдали примерно равное соотношение фибробластоподобных и округлых клеток. В 80 % флаконов отмечены клетки правильной формы с примесью единичных фибробластов. Диаметр распластанных клеток варьировал в пределах 10—100 мкм. Все прилипающие к пластику клетки не экспрессировали CD3 и слабо (сл) взаимодействовали с антителами к CD31, CD34 и CD45. В то же время выявлены прилипающие клетки, интенсивно взаимодействующие с антителами к CD68, виментину и остеокальцину. В соответствии с имеющимися в литературе сведениями, иммунофенотип CD68<sup>+</sup>CD3<sup>-</sup>CD31<sup>сн</sup>CD34<sup>сн</sup>CD45<sup>сн</sup> позволяет отнести значительную часть прилипающих клеток молозива к моноцитарно-макрофагальному ряду. Выраженная экспрессия стромальных антигенов (виментина и остеокальцина) в 40—45 % прилипающих клеток в культуральной среде без остеогенных добавок (бета-глицерофосфата, аскорбиновой кислоты и дексаметазона) позволяет предполагать наличие в молозиве фракции остеобластов, дифференцирующихся из мезенхимных стволовых клеток под воздействием гуморальных факторов грудного молока.

Ключевые слова: грудное молоко, молозиво, культура клеток *in vitro*, клеточные детерминанты, моноциты, фибробластоподобные клетки, остеобласты.

Принятые сокращения: ГМ — грудное молоко, K<sub>гист</sub> — гистоморфометрический коэффициент, МСК — мезенхимные стволовые клетки, DAB — 3,3-диаминобензидин, r<sub>s</sub> - коэффициент корреляции рангов по Спирмену, WOS — база Web of Science.

В женском грудном молоке (ГМ) недавно обнаружены прогениторные клетки из пула мезенхимных стволовых клеток (МСК) (Patki et al., 2010). Кроме того, ГМ, включая молозиво, содержит гетерогенные клеточные компоненты: лейкоциты (лимфоциты, моноциты/макрофаги и полиморфноядерные гранулоциты) и лактоциты (Crago et al., 1979; Hanson et al., 2001; Hassiotou et al., 2013); элементы с маркерами кровяных стволовых клеток, МСК, иммунных и мезенхимных клеток (Cregan et al., 2007; Hassiotou et al., 2013; Indumathi et al., 2013), а также эндотелиальных клеток (Patki et al., 2010).

Клеточное разнообразие делает ГМ важным источником питания, развития и становления иммунитета детей (Indumathi et al., 2013), а также в приложении к клеточным технологиям и восстановительной медицине. При

этом, согласно данным Индумати с соавторами (Indumathi et al., 2013), клеточный спектр ГМ до конца еще не охарактеризован. Встречаются популяции клеток, биологическое значение которых даже не рассматривается при обсуждении биологической активности ГМ (Piper et al., 2007). Это во многом связано с недостаточным числом исследований и публикаций по данной теме. В связи с этим характеристика клеточного состава ГМ женщин является актуальной задачей.

### Материал и методика

В исследовании принимали участие 10 женщин в возрасте 17—36 лет (средний возраст 25.1 ± 5.5 года), находившихся в родильном отделении Областного перина-

**Иммуноцитохимический фенотип клеток в женском грудном молоке (доля окрашенных клеток, %) и гистоморфометрический коэффициент ( $K_{\text{гист}}$ ) при полуколичественной (балльной) оценке интенсивности окрашивания**

Маркер клеток	$K_{\text{гист}}$	Интенсивность окраски клеток, баллы			
		1	2	3	4
CD31	1.29 (1.26—2.16)	74 (53—75)	22 (9.5—26)	0 (0—3)	0 (0—33.5)
CD34	1.40 (1.11—1.63)	65 (59—89)	20 (11—26)	5 (0—8)	0 (0—7)
CD45	1.56 (1.09—1.72)	44.5 (28—67)	16 (5—26)	1 (0—11)	0.5 (0—6)
CD68	2.41 (2.16—2.55) <sup>a</sup>	21.5 (9.5—34)	35 (19—43)	19 (17.5—30)	17 (1.5—28)
	$p_{\text{CD34}} = 0.045,$ $p_{\text{CD45}} = 0.045$				
Виментин	2.73 (1.22—2.74)	21 (13—84)	12 (9—14)	21 (2—27.5)	24.5 (2—33)
Остеокальцин	2.66 (1.19—2.87)	10 (10—84)	13 (6.5—21)	39 (3.5—41)	1 (0—28)
Контроль	—	100	0	0	0

Примечание. Данные представлены в виде Ме (Q1—Q3). <sup>a</sup> Статистически значимые различия согласно U-критерию Манна—Уитни.

тального центра (Томск). Исследования выполняли с согласия локального этического комитета (протокол № 2 от 11.02.2014) филиала Томского научно-исследовательского института курортологии и физиотерапии ФГБУ «Сибирский федеральный научно-клинический центр» ФМБА России (Томск).

В группу доноров включали здоровых женщин, не имевших острых или хронических воспалительных процессов в молочной железе, проблем с лактацией на период забора грудного молока и подписавших информированное согласие на участие в исследовании.

Молозиво забирали из груди, к которой долгое время не прикладывался ребенок, в объеме  $5 \pm 1$  мл в 1—2-е сут после родов. Забор осуществляли в стерильных условиях в стерильный пластиковый контейнер с 10 мл транспортировочной среды, содержащей RPMI-1640 (Sigma-Aldrich, США) и 50 мкг/мл тиенама (MERCK SHARP&DOHME B. V., Нидерланды). В течение 40—60 мин полученные образцы транспортировали в лабораторию при 4—6 °С.

Культивирование. Доставленные образцы переносили в стерильные пластиковые центрифужные пробирки объемом 15 мл с коническим дном (Axygen Scientific, США), клетки осаждали однократным центрифугированием смеси (транспортировочная среда и ГМ) в течение 10 мин при 1000 об/мин. Надосадочную жидкость забирали, оставляя над клеточным осадком примерно 0.5—1 мл супернатанта. Клеточный осадок отмывали еще 2 раза, используя транспортировочную среду.

Отмытые клетки помещали в пластиковые флаконы 25 см<sup>2</sup> (Techno Plastic Products AG, Швейцария) с 10 мл бессывороточной среды MesenCult(tm)-XF Medium (StemCell Technologies Inc., США) для культивирования МСК человека с добавлением 50 мкг/мл тиенама (MERCK SHARP&DOHME B. V., Нидерланды). Клетки культивировали в CO<sub>2</sub>-инкубаторе (Jouan, Франция) при 37 °С, 5 % CO<sub>2</sub> и 100 % влажности.

Каждые 3 сут питательную среду заменяли свежей в эквивалентном объеме, а также определяли состояние среды и клеток. В 50 % случаев на 2—3-и сут культивирования отмечали помутнение культуральной среды, что предполагает микробную контаминацию биологического материала и соответственно исключение флаконов из дальнейшего исследования. В оставшихся 5 флаконах

плотность культуры составляла примерно 10<sup>3</sup> прилипших к пластику клеток на 25 см<sup>2</sup> поверхности.

К 6—7-м сут наблюдения за ростом культуры в инвертированном микроскопе клетки начинали открепляться от пластика. При появлении открепившихся клеток супернатант забирали, флаконы высушивали при комнатной температуре в течение 24 ч.

Иммуноцитохимическое окрашивание прилипших к культуральному пластику клеток проводили на основе протокола в нашей модификации (Khlusov et al., 2013). Применяли непрямой иммунопероксидазный метод. В качестве субстрата для пероксидазы выбрали диаминобензидин-3,3 тетрагидрохлорид (DAB).

Клетки фиксировали в холодном метаноле в течение 5 мин и промывали фосфатно-солевым буфером (pH 7.4). Все дальнейшие манипуляции проводили в соответствии с рекомендациями производителей антител. Использовали первичные моноклональные мышиные антитела к CD3 (Novocastra<sup>TM</sup>, clone Ln10; RTU, Великобритания), CD31 (Novocastra<sup>TM</sup>, clone 1A10, рабочее разведение 1 : 100; Великобритания), CD34 (Novocastra<sup>TM</sup>, clone QBEnd/10, RTU, Великобритания), CD45 (Dako, clone UCHL1, рабочее разведение 1 : 100; США), CD68 (Novocastra<sup>TM</sup>, clone 514H12; RTU, Великобритания), виментину (Novocastra<sup>TM</sup>, clone V9, рабочее разведение 1 : 500; Великобритания), а также поликлональные IgG кролика к остеокальцину человека (Epitomics®, clone Rb4507, рабочее разведение 1 : 50; США).

Для визуализации DAB-положительной реакции применяли поливалентную визуализирующую систему Novocastra NOVOLINK<sup>TM</sup> на основе Novolink Compact Polymer<sup>TM</sup>. В качестве негативного контроля окрашивания применяли тест-систему без антител.

В каждом флаконе выделяли отдельные зоны для окрашивания каждым антителом и негативного (без антител) контроля. Результаты иммуноцитохимического окрашивания клеток оценивали полуколичественным способом в баллах (см. таблицу) согласно принятой методике (Торбек-Шедько, 1971). На основании интенсивности окрашивания (экспрессии CD-маркеров) клетки делили на 4 группы: 1 — неокрашенные или слабо окрашенные клетки; 2 — окрашенные в средней степени; 3 — интенсивно окрашенные; 4 — максимально окрашенные. Подсчитывали долю (в %) клеток в каждой балльной группе

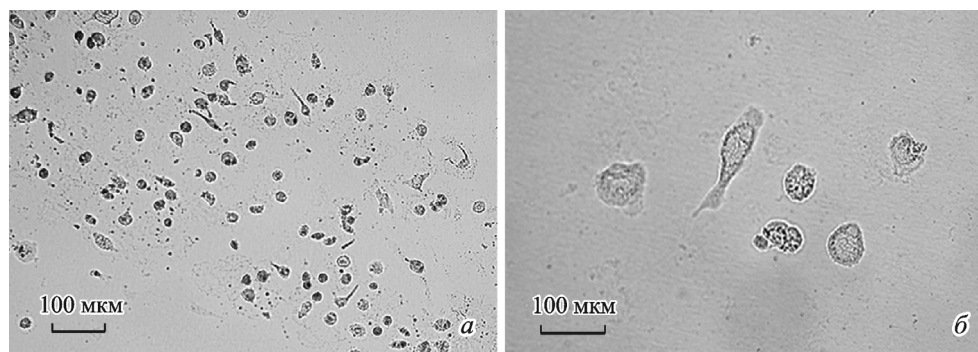


Рис. 1. Морфология прилипающих клеток ГМ после их краткосрочного культивирования на пластике. Неокрашенный препарат, световая микроскопия.

*а* — примерно равное соотношение фибробластоподобных и округлых клеток; *б* — крупные, прилипающие к пластику клетки молозива с формой, близкой к правильной, с примесью единичных фибробластов.

от общего числа изученных клеток (100—900) в каждом культуральном флаконе.

Для сравнения окрашивания клеток с разными антителами рассчитывали гистоморфометрический коэффициент (см. таблицу) согласно (Astaldi, Verga, 1957) по формуле

$$K_{\text{гист}} = (1 \times A + 2 \times B + 3 \times V + 4 \times \Gamma) / 100,$$

где А—Г — доля клеток с определенной интенсивностью окрашивания, 1—4 — степень интенсивности окрашивания от 1 до 4 баллов, 100 — доля всех подсчитанных клеток, %.

При оценке полученных результатов использовали методы статистического описания, а также методы проверки статистических гипотез стандартного пакета Statistica (версия 6.0). Полученные результаты выражали как медиану (Me), 25 % (Q1) и 75 % (Q3) квантили. Для оценки статистической значимости различий использовали непараметрический U-критерий Манна—Уитни. С целью выявления связи между исследуемыми показателями проводили корреляционный анализ по Спирмену ( $r_s$ ). Различия считали статистически значимыми при уровне значимости  $p < 0.05$ .

## Результаты и обсуждение

Большая часть исследований клеточного состава выполнена на свежевыделенном ГМ (см., например: Fan et al., 2010; Indumathi et al., 2013), в меньшей степени — после культивирования его компонентов *in vitro* (Cregan et al., 2007; Patki et al., 2010). Преимущественно используются методы цитофлуориметрической оценки распределения поверхностных антигенов, полимеразной цепной реакции определения РНК белков клеточной дифференциации и созревания.

При этом отмечается, что в условиях культивирования клеток ГМ *in vitro* на них появляются антигенные детерминанты, которые не экспрессируются на свежееизолированных клетках ГМ (Fan et al., 2010; Patki et al., 2010). В настоящем исследовании клеточного состава молозива прилипающая к пластику фракция была неоднородной по морфологии и диаметру клеток (рис. 1). В 1 из 5 флаконов (20 %) соотношение фибробластоподобных и округлых клеток составляло примерно 1 : 1 (рис. 1, *а*), в 80 %

флаконов отмечены преимущественно клетки с формой, близкой к правильной, с примесью единичных фибробластов (рис. 1, *б*). Линейный размер распластанных клеток варьировал в пределах 10—100 мкм (рис. 1).

Практически все прилипающие к пластику клеточные элементы слабо взаимодействовали с антителами к CD31, CD34 и CD45 (см. таблицу; рис. 2, *а—в*), на уровне 1—2 баллов полуколичественной оценки. Соответственно  $K_{\text{гист}}$  окрашивания клеток составил 1.29—1.56 единиц (см. таблицу). Выявленная прямая корреляция экспрессии антигенов CD31 и CD34 ( $r_s = 0.75$ ;  $p = 0.0009$ ) позволяет интерпретировать их как маркеры эндотелиальных клеток (Miettinen et al., 1994).

В свою очередь экспрессия моноцит-специфического маркера CD68 (Yu et al., 2013) варьировала от слабой (сл) до сильной (рис. 2, *з*) относительно равномерно (в пределах 17—35 % окрашенных клеток), значение соответствующего  $K_{\text{гист}}$  (2.41) превышало таковые для маркеров CD31 и CD34 (см. таблицу). При отсутствии экспрессии CD3 (антитела к CD3 давали окраску тестируемых клеток на уровне контроля без антител), иммунофенотип CD68<sup>+</sup> + CD3<sup>-</sup>CD31<sup>sl</sup>CD34<sup>sl</sup>CD45<sup>sl</sup> позволяет рассматривать принадлежность значительной части прилипающих клеток ГМ к моноцитарно-макрофагальному ряду (Yu et al., 2013).

Присутствие моноцитов в ГМ для поддержания локального иммунитета новорожденных вполне закономерно. В то же время наличие в молозиве клеток со стромальным фенотипом с уровнем окрашивания на виментин (рис. 2, *д*) и остеокальцин (рис. 2, *е*), сопоставимым с таковым для антигена CD68 моноцитов ( $K_{\text{гист}} = 2.66$  и 2.73 ед. соответственно; см. таблицу), стимулирует вопросы относительно их происхождения и биологического значения.

Виментин-положительные клетки могут способствовать развитию желудочно-кишечного тракта новорожденных. Виментин является одним из маркеров цитоскелета МСК (Patki et al., 2010), наличие которых в ГМ женщин считается доказанным (Fan et al., 2010; Patki et al., 2010; Indumathi et al., 2013). Тем не менее идет дискуссия о способности клеток ГМ, несущих характерные для МСК маркеры, дифференцироваться в остеобласты (Patki et al., 2010) или проявлять нетипичное поведение (Fan et al., 2010) в культуральной среде со стандартными остеогенными добавками (бета-глицерофосфат, аскорбиновая кислота и дексаметазон).

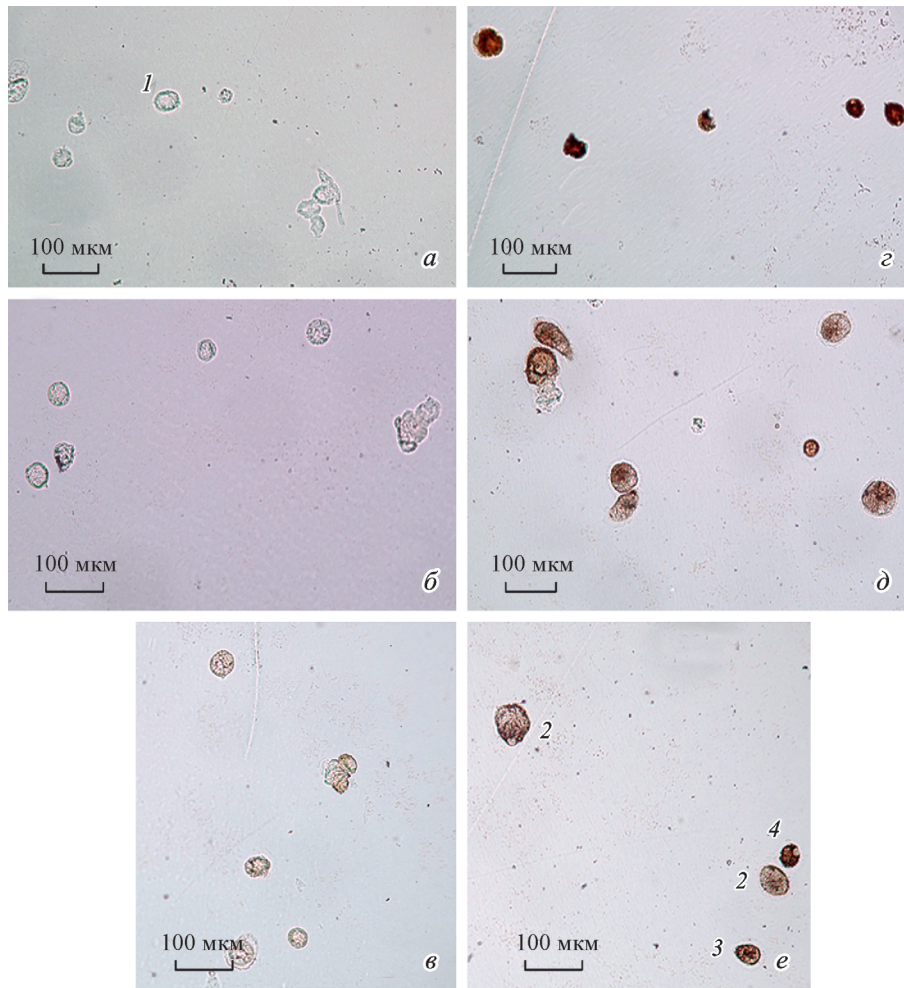


Рис. 2. Культуры прилипающих к пластику клеток ГМ после реакции с антителами к белкам CD31 (а), CD34 (б), CD45 (в), CD68 (с), виментину (д) и остеокальцину (е).

Цифры 1–4 — примеры интенсивности окрашивания от 1 до 4 баллов соответственно при полуколичественной оценке.

В среде для культивирования МСК (без известных остеогенных добавок) нами выявлено существенное количество прилипающих клеток (40 % от всех клеток в данной группе), интенсивно экспрессирующих остеокальцин (см. таблицу; рис. 2, е). Остеокальцин наряду со щелочной фосфатазой считается реальным маркером секретирующих остеобластов (Риггз, Мелтон III, 2000). Таким образом, до культивирования *in vitro* в ГМ женщин присутствуют остеобласты с интенсивной экспрессией остеокальцина. Удивительно, что на запрос «osteoblasts in breast milk» мы обнаружили в Pubmed 20 ссылок, которые касались только лактоферрина, кальция, гормонов и факторов роста в молоке. В базах WOS (7 статей с 2005 г.) и Scopus (17 статей) тематика публикаций не касалась остеобластов.

Остеобласты, скорее всего, способны дифференцироваться из МСК под воздействием гуморальных факторов ГМ. В частности, активные протеины молочной сыворотки (Tsuji-Naito et al., 2012), лактоферрин (Cornish et al., 2004; Naot et al., 2005) и кальций (Rao et al., 2007) способствуют росту кости и дифференцировке остеобластов. В то же время значение остеобластов женского ГМ для развития костной системы новорожденных еще только предстоит установить.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект 16-15-10031).

### Список литературы

- Riggz B. L., Melton III L. J. Дж. 2000. Остеопороз. СПб.: ЗАО «Издательство БИНОМ», «Невский диалект». 560 с. (Riggz B. L., Melton III L. J. 2000. Osteoporosis: translated from English. St. Petersburg: ZAO «Publishing House BINOM», «Nevskii dialekt». 560 p.)
- Торбек-Шедько В. Э. 1971. Цитохимические особенности клеток костного мозга и периферической крови человека в эмбриогенезе: Автореф. канд. дис. М.: 32 с. (Torbek-Shed'ko V. E. 1971. Cytochemical features of human bone marrow and peripheral blood cells in embryogenesis: Autoref. thesis kand. med. sci. M. 32 p.)
- Astaldi J., Verga L. 1957. The glycogen content of the cells of lymphatic leukemia. Acta Haematol. (Basel). 17 : 129–135.
- Cornish J., Callon K. E., Naot D., Palmano K. P., Banovic T., Bava U., Watson M., Lin J. M., Tong P. C., Chen Q., Chan V. A., Reid H. E., Fazzalari N., Baker H. M., Baker E. N., Haggarty N. W., Grey A. B., Reid I. R. 2004. Lactoferrin is a potent regulator of bone cell activity and increases bone formation *in vivo*. Endocrinology. 145 : 4366–4374.

Crago S. S., Prince S. J., Pretlow T. G., McGhee J. R., Mestec-ky J. 1979. Human colostrum cells. I. Separation and characterization. Clin. Exp. Immunol. 38 : 585—597.

Cregan M. D., Fan Y., Appelbee A., Brown M. L., Klopchic B., Koppen J., Mitoulas L. R., Piper K. M., Choolani M. A., Chong Y. S., Hartmann P. E. 2007. Identification of nestin-positive putative mammary stem cells in human breastmilk. Cell Tissue Res. 329 : 129—136.

Fan Y., Chong Y. S., Choolani M. A., Cregan M. D., Chan J. K. 2010. Unravelling the mystery of stem/progenitor cells in human breast milk. PLoS ONE. 5 : e14421.

Hanson L., Silfverdal S. A., Stromback L., Erling V., Zaman S., Olcen P., Telemo E. 2001. The immunological role of breast feeding. Pediatric Allergy Immunol. 12 : 15—19.

Hassiotou F., Geddes D. T., Hartmann P. E. 2013. Cells in human milk: state of the science. J. Hum. Lact. 29 : 171—182.

Indumathi S., Dhanasekaran M., Rajkumar J. S., Sudarsanam D. 2013. Exploring the stem cell and non-stem cell constituents of human breast milk. Cytotechnology. 65 : 385—393.

Khlusov I. A., Shevtsova N. M., Khlusova M. Y. 2013. Detection *in vitro* and quantitative estimation of artificial microterritories which promote osteogenic differentiation and maturation of stromal stem cells. Methods Mol. Biol. 1035 : 103—119.

Miettinen M., Lindenmayer A. E., Chaubal A. 1994. Endothelial cell markers CD31, CD34, and BNH9 antibody to H- and Y-antigens—evaluation of their specificity and sensitivity in the diagno-

sis of vascular tumors and comparison with von Willebrand factor. Mod. Pathol. 7 : 82—90.

Naot D., Grey A., Reid I. R., Cornish J. 2005. Lactoferrin — a novel bone growth factor. Clin. Med. Res. 3 : 93—101.

Patki S., Kadam S., Chandra V., Bhone R. 2010. Human breast milk is a rich source of multipotent mesenchymal stem cells. Hum. Cell. 23 : 35—40.

Piper K. M., Berry C. A., Cregan M. D. 2007. The bioactive nature of human breast milk. Breastfeed Rev. 15 : 5—10.

Rao L. G., Khan T., Gluck G. 2007. Calcium from LactoCalcium milk mineral after digestion with pepsin stimulates mineralized bone nodule formation in human osteoblast-like SaOS-2 cells *in vitro* and may be rendered bioavailable *in vivo*. Biosci. Biotechnol. Biochem. 71 : 336—342.

Tsuji-Naito K., Jack R. W. 2012. Concentrated bovine milk whey active proteins facilitate osteogenesis through activation of the JNK-ATF4 pathway. Biosci. Biotechnol. Biochem. 76 : 1150—1154.

Yu H. K., Lee H. J., Choi H. N., Ahn J. H., Choi J. Y., Song H. S., Lee K. H., Yoon Y., Yi L. S., Kim J. S., Kim S. J., Kim T. J. 2013. Characterization of CD45-/CD31+/CD105+ circulating cells in the peripheral blood of patients with gynecologic malignancies. Clin. Cancer Res. 19 : 5340—5350.

Поступила 24 II 2016

#### IMMUNOPHENOTYPICAL CHARACTERISTICS OF CELLULAR COMPOSITION IN BREAST MILK

K. V. Zaitsev,<sup>1</sup> S. A. Mezheritskiy,<sup>1</sup> N. P. Stepanenko,<sup>1</sup> A. A. Gostyukhina,<sup>1</sup> O. B. Zhukova,<sup>1</sup>  
E. I. Kondratieva,<sup>1</sup> I. A. Stepanov,<sup>2</sup> A. N. Dzyuman,<sup>3</sup> E. E. Nikolaevskaya,<sup>3</sup> V. A. Vorobyev,<sup>1</sup> N. G. Abdulkina,<sup>1</sup>  
A. A. Zaitsev,<sup>1, 3</sup> S. Yu. Yuriev,<sup>1</sup> O. P. Korshunova,<sup>1</sup> L. S. Litvinova,<sup>4</sup> I. A. Khlusov<sup>3, 5, \*</sup>

<sup>1</sup> Siberian Federal Scientific-Clinical Center, Tomsk, 636035,

<sup>2</sup> Tomsk Regional Perinatal Center, Tomsk, 634063,

<sup>3</sup> Morphology and General Pathology Department, Siberian State Medical University, Tomsk, 634050,

<sup>4</sup> Laboratory of Immunology and Cell Biotechnology, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, 236016, and

<sup>5</sup> Experimental Physics Department, Tomsk Polytechnic University, Tomsk 634050;

\* e-mail: khlusov63@mail.ru

The morphology and immunophenotype of female colostrum adherent cells with the help of CD3, CD31, CD34, CD45, CD68, vimentin, and osteocalcin antibodies panel was studied in short-term (6—7 days) culture *in vitro*. Approximately equal (1 : 1) ratio of fibroblast-like and rounded cells was observed in 20 % of cultural flasks. The cells with regular shape mixed with single fibroblasts were noted in 80 % of cultural flasks. The diameter of spreaded cells varied within 10—100 μm. All cells adhered to plastics did not express CD3 and interacted slightly (sl) with antibodies to CD31, CD34, and CD45. At the same time, adherent cells with intensive CD68, vimentin and osteocalcin staining have been revealed. Literature data allows to interpret CD68<sup>+</sup>CD3<sup>-</sup>CD31<sup>sl</sup>CD34<sup>sl</sup>CD45<sup>sl</sup> immunophenotype of significant part of mother colostrum adherent cells as belonging to monocyte-macrophage lineage. Marked expression of stromal antigens (vimentin, osteocalcin) in 40—45 % adherent cells in cultural medium without osteogenic supplements (beta-glycerophosphate, ascorbic acid, dexamethasone) proposes an existence of osteoblasts fraction differentiated in colostrum from mesenchymal stem cells under an action of breast milk humoral factors.

Key words: women, colostrum, cell culture *in vitro*, cell determinants, monocytes, fibroblast-like cells, osteoblasts.