

Farmakologiczne przyspieszanie inwolucji wymienia u krów

EDWARD MALINOWSKI

Zakład Fizjopatologii Rozrodu i Gruczołu Mlekowego Państwowego Instytutu Weterynaryjnego
– Państwowego Instytutu Badawczego, Al. Powstańców Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz

Malinowski E.

Pharmacological acceleration of mammary gland involution in cows

Summary

Mammary gland involution is a compound, physiological process that is characterized by de-differentiation and apoptosis of mammary epithelial cells. The involution is controlled by prolactin, growth hormones, estrogens, progesterone, cortisol and insulin-like growth factor 1 (IGF-1). Advanced pregnancy, infrequent milking, and mastitis increase the death of epithelial cells by apoptosis. Milk stasis triggers local stimuli, which cause the leak-tight junctions and initiate involution. Cows are especially susceptible to intramammary infections (IMI) by contagious pathogens at drying-off and environmental pathogens around parturition. High milk yield at dry-off is a significant risk factor for both cows and quarters infected with environmental pathogens at calving. Cows with high milk production rarely develop a keratin plug, which is the natural protection against infection during dry period. These cows require reduction in milk production at drying-off by restricted diet, interrupted milking or pharmacological treatment. From literature it is known that intramammary infusion of colchicine and endotoxin at drying off accelerates mammary involution. Infusion of ConA or PHA near drying off also accelerates bovine mammary involution, resulting in elevated levels of natural protective factors. Interleukin-2 accelerates involution and stimulates local antibody production more than did the pokeweed mitogen and LPS. Intramammary infusion of either rboGm-CSF or rboIL-1 β at the cessation of milking immediately increases the number of phagocytic cells in the gland. These cytokines, particularly rboIL-1 β , can increase the rate of mammary gland involution. It is also stated that infusion of β 1,3-glucan at drying-off accelerates the involution process through an increase in somatic cells, particularly in the numbers of macrophages in mammary secretions. Casein hydrolyzates are among the milk-borne factors that cause the disruption of tight junction integrity and induce involution in cows. Mammary tissue involution is effected by exogenous estrogen through the activation of plasminogen. Endogenous estrogen secreted by the developing fetal and placental unit might partially mediate the gradual involution that occurs during lactation.

Keywords: cow, mammary gland

Laktacja, zasuszanie i ponowny rozwój gruczołu mlekowego podlega wpływom prolaktyny, somatotropiny, estrogenów, progesteronu i kortyzolu (1, 3, 8, 21, 34, 39). Laktację podtrzymuje regularne ssanie lub dojenie. Bez tych bodźców dochodzi do zatrzymania sekrecji i rozpoczęcia inwolucji, która polega na apoptozie istniejących komórek wydzielniczych i zahamowaniu (wstrzymaniu) powstawania nowych (38). W inwolucji bierze udział system plazminogen/plazmina (4, 6, 31), białko p53 (22), insulinopodobny czynnik wzrostu oraz rodzina białek wiążących wymienioną cytokinę (1, 2, 12, 13). Rozwój i zanik laktacji zależy od liczby komórek sekrecyjnych i ich zdolności do wydzielania mleka (12, 36). Wzrost produkcji mleka w okresie od porodu do szczytu laktacji, w przypadku dwukrotnego dojenia krowy w ciągu doby, jest skutkiem zwiększenia aktywności wydzielniczej każdej komórki gruczołowej. Natomiast spadek wydajności

mleka po szczycie laktacji spowodowany jest zmniejszeniem się liczby komórek wydzielniczych na drodze apoptozy (36). W czasie trwania laktacji tylko 0,3% komórek przybywa w ciągu doby wskutek proliferacji, co wystarcza do zastąpienia większości komórek utraconych (12). Na czas trwania laktacji oraz zdolności gruczołu do produkcji można wpływać za pomocą hormonów i działań organizacyjnych (management). Stosowanie somatotropiny prowadzi do wzrostu wydajności wskutek pobudzenia procesu proliferacji i ograniczenia apoptozy nabłonka gruczołowego. Wzrost wydajności można uzyskać wystawiając krowy na przedłużone działanie światła. Mechanizmy uruchomione przez rosnący fotoperiod podczas laktacji nie są jednak do końca poznane. Wydłużone oddziaływanie światła w zasuszeniu prowadzi jednak do obniżenia wydajności w następnej laktacji (24). Produkcję mleka podnosi także zwiększona częstotliwość

dojenia w pierwszych tygodniach laktacji. Skutkiem tego jest wzrost wydajności o około 8% za całą laktację, nawet po powrocie w późniejszym okresie do doju dwukrotnie. Zjawisko może mieć związek z proliferacją dodatkowych komórek w odpowiedzi na zwiększoną częstość pozyskiwania mleka. W przeciwieństwie do tego, zaawansowana ciąża, rzadsze dojenie i *mastitis* zwiększa śmiertelność komórek nabłonka na drodze apoptozy (12, 36). Oddziaływanie na proliferację i apoptozę wydaje się kluczem zarówno do wydłużenia laktacji, jak też zahamowania wydzielniczości gruczołu mlekowego krowy w okresie zasuszenia. Czasowe wstrzymanie produkcji mleka jest niezbędne do stworzenia w organizmie odpowiednich warunków do szybkiego wzrostu płodu, prawidłowego przebiegu porodu i okresu poporodowego oraz dobrej płodności i wysokiej wydajności mlecznej w następnej laktacji. Okres zasuszenia trwa u krowy przeważnie 40-60 dni z wahaniami od 30 do 80 dni (3, 5, 8) i zaczyna się inwolucją tkanki gruczołowej.

Inicjacją zasuszenia jest zaprzestanie pozyskiwania mleka (8, 36, 38). Zasadniczy wpływ na przebieg procesu inwolucji, jak też na stan zdrowotny wymienia po porodzie ma wydajność mleczna w chwili rozpoczęcia zasuszenia. Krowy o wysokiej mleczności w tym czasie są bardziej podatne na zakażenia gruczołu mlekowego, a w konsekwencji na stany zapalne zarówno w czasie zasuszenia, jak też po porodzie (8-10, 18). Stwierdzono, że 26% krow, które w dniu zasuszenia produkowały więcej niż 21 kg mleka, miało po porodzie zakażenie i stan zapalny wymienia w porównaniu z 16% krow, które w dniu zasuszenia dawały mniej niż 13 kg mleka (15). Według Rajala-Schultz i wsp. (32) optymalną w chwili zasuszania jest wydajność nie wyższa niż 12,5 kg mleka dziennie. Wyższej wydajności o każde 5 kg towarzyszy wyższy o kolejne 77% odsetek ćwiartek zakażonych w zasuszeniu. Wysoka wydajność mleka w chwili zasuszania prowadzi do mlekotoku lub wymaga przerywanego dojenia, co stanowi przyczynę zaburzeń wytwarzania czopa keratynowego, który stanowi naturalną barierę ochrony przed infekcją. Wykazano, że pod koniec 6. tygodnia okresu zasuszenia aż 23,4% strzyków pozostawało ciągle bez czopa, czyli były one otwarte dla penetracji drobnoustrojów. Ćwiartki, które zamknęły się podczas okresu zasuszenia okazały się 1,8 razy mniej podatne na zakażenie niż ćwiartki otwarte (15). Nadmiernie wysoka produkcja mleka w okresie bezpośrednio poprzedzającym planowane zasuszenie jest problemem nowym o narastającym znaczeniu. Z tego powodu poszukiwane są metody przyspieszenia inwolucji gruczołu mlekowego. Metodą najbardziej popularną jest dieta i przerywane dojenie (23, 30). Jed-

Tab. 1. Związki chemiczne stosowane dowymieniowo w doświadczeniach nad przyspieszeniem inwolucji gruczołu mlekowego u krow

Nazwa związku	Dawka	Liczba infuzji	Autor
Kolchicyna	20 mg	1 (na dzień przed zas.)	Oliwer i wsp. (27)
Kolchicyna	20 mg	2 (przed i w dniu zas.)	
Kolchicyna + LPS	20 mg + 100 µg	Kolchicyna (przed), LPS (w dniu zas.)	
Konkanawalina A	25 mg	2 co 48 h	Breau i Oliver (11)
Fitohemaglutynina	1 mg	2 co 48 h	Breau i Oliver (11)
Mitogen szkarłatki	100 µg	21 co 24 h	Nickerson i wsp. (26)
LPS	100 µg	21 co 24 h	Nickerson i wsp. (26)
		1 (w dniu zas.)	Oliver i wsp. (28)
Interleukina 2	100 µg	21 co 24 h	Nickerson i wsp. (26)
	2 mg	1 (w dniu zas.)	Erskine i wsp. (16)
	1 mg	1 (w dniu zas.)	Rejman i wsp. (33)
	2 × 10 ⁵ j.	1 (w dniu zas.)	Wedlock i wsp. (37)
Interleukina-1b	10 µg	1 (w dniu zas.)	Rejman i wsp. (33)
	10 µg	1 (w dniu zas.)	Wedlock i wsp. (37)
GM-CSF	500 µg	1 (w dniu zas.)	Wedlock i wsp. (37)
Glukan 1,3	100 lub 200 mg	1 (w II fazie zas.)	Inchaisri i wsp. (20)
Hydrolyzaty kazeiny	67,5 mg	6 co 12 h	Shamay i wsp. (35)

nak u krow o bardzo wysokiej wydajności metody tradycyjne mogą okazać się niewystarczające.

Celem opracowania jest przedstawienie metod farmakologicznego oddziaływania na przebieg inwolucji za pomocą niektórych alkaloidów, lektyn, cytokin oraz immunostymulatorów. Ich nazwy, dawki oraz zasady stosowania umieszczono w tab. 1.

Środki stosowane dowymieniowo

Do szybkiego ograniczenia wydzielania mleka doprowadziły dowymieniowe infuzje kolchicyny (27) lub kolchicyny w połączeniu z lipopolisachydem (LPS) *Escherichia coli* (28). Kolchicyna jest alkaloidem uzyskiwanym z nasion ziemowitu jesiennego. Alkaloid ten hamuje powstawanie w komórce mikrotubuli, które są składnikiem szkieletu błony komórkowej i biorą udział w tworzeniu się wrzecionka podczas procesu mitozy. Dzięki tym właściwościom kolchicyna wstrzymuje proliferację komórek wydzielniczych. Lipopolisacharyd jest immunostymulatorem, który pobudza limfocyty B i T oraz stanowi tzw. chemoatraktant dla granulocytów. Enzymy proteolityczne granulocytów stymulują rozkład kazeiny, a produkty tego rozkładu, takie jak kazeina-gamma, inicjują apoptozę komórek sekrecyjnych (25). Skutkiem zastosowania kolchicyny oraz kolchicyny z LPS, oprócz zmniejszenia wydajności mlecznej, były zmiany w składzie wydzieliny charakterystyczne dla pierwszej fazy zasuszenia (4, 6, 8). Wykorzystane zostały jednocześnie dwa mechanizmy, tj. zahamowanie proliferacji i apoptoza komórek wydzielniczych.

Przydatne okazały się dowymieniowe infuzje konkanawaliny A (ConA) oraz fitohemaglutyniny (PHA) (11). Na 2 dni przed planowanym zasuszeniem oraz bezpośrednio po ostatnim doju wprowadzono 25 mg ConA lub 1 mg PHA do prawych ćwiartek wymienia krów doświadczalnych. Po 24 godzinach stwierdzono zmiany w wydajności i składzie mleka, charakterystyczne dla zasuszenia. Wraz z zaawansowaniem inwolucji wzrastała zawartość laktoferyny, albuminy surowiczej, immunoglobulin G, pH i liczba komórek somatycznych, czemu towarzyszył spadek stężenia cytrynianu. W 7. dniu opisane zmiany były bardziej zaawansowane w ćwiartkach poddanych działaniu ConA i PHA niż w kontrolnych. Dane wskazują, że dowymieniowe zastosowanie Con A lub PHA w czasie zasuszenia przyspiesza inwolucję gruczołu mlekowego, czego skutkiem jest wzrost naturalnych czynników obronnych. Zaobserwowane zjawisko tłumaczono zdolnością Con A i PHA do wiązania się z receptorami mannozy i glukozy, znajdującymi się na powierzchni błony komórkowej. Następstwem jest zahamowanie produkcji enzymów, uszkodzenia struktury błony komórkowej, cytoszkieletu i obumarcie komórki. Konkanawalina prowadzi także do zmian w składzie elektrolitów i pH, czego skutkiem jest rozpad miceli kazeiny do monomerów.

Nickerson i wsp. (26) zastosowali dowymieniowo roztwór interleukiny-2, mitogenu szkarłatki (PWM) lub LPS raz dziennie przez kolejnych 21 dni począwszy do pierwszego dnia po zakończeniu zdajania mleka. Po 21 dniach zwierzęta poddano ubojowi i przeprowadzono badania histologiczne. W porównaniu z ćwiartkami kontrolnymi, stwierdzono zmniejszenie światła pęcherzyków i pogrubienie tkanki łącznej podstawowej, co wskazywało na przyspieszenie inwolucji. Najbardziej wyraźny efekt miał miejsce w ćwiartkach poddanych działaniu IL-2. Niezależnie od przyspieszenia inwolucji odnotowano wyraźny immunostymulacyjny wpływ zastosowanych mitogenów, czego wyrazem był wzrost produkcji immunoglobulin. Z uwagi na szybkość oraz intensywność zmian spowodowanych przez interleukinę, autorzy sugerowali potencjalną przydatność tej cytokiny do immunostymulacji wymienia w okresie zasuszenia.

Badania nad przydatnością cytokin przeprowadzili także inni autorzy. Rejman i wsp. (33) zastosowali jednorazowo 10 µg rekombinowanej bydłczej interleukiny-1 β lub 1 mg interleukiny-2 do różnych ćwiartek 8 krów. Stwierdzili przyspieszenie inwolucji oraz brak negatywnego wpływu na gruczoł mlekowy po porodzie. Stymulujący wpływ potwierdzili Erskine i wsp. (16), co wyrażało się lepszą skutecznością antybiotyku DC zastosowanego w skojarzeniu z infuzją 1 mg IL-2 w stosunku do *Staph. aureus*. Jednak odnotowano 7,9% poronień, z których większość wystąpiła między 2. a 7. dniem po zastosowaniu interleukiny w porównaniu z 1,7% poronień wśród krów kontrolnych. Podobnego działania ani też wpływu na czynniki

obronne gruczołu mlekowego zasuszanych krów nie potwierdzili jednak Wedlock i wsp. (37), którzy rekombinowaną IL-2 zastosowali w dawce 2×10^5 jednostek. Przyspieszenie inwolucji uzyskano natomiast po dowymieniowym wprowadzeniu rekombinowanej bydłczej interleukiny-1 β (rboIL-1 β) oraz czynnika stymulacji kolonii granulocytów i makrofagów (rboGM-CSF). W ćwiartkach poddanych działaniu wymienionych cytokin odnotowano szybki wzrost liczby neutrofilów i makrofagów, wzrost stężenia laktoferyny i spadek zawartości cytrynianu (37).

Do przyspieszenia inwolucji zastosowano β -1,3 glukan, który pobudza aktywność układu obronnego gruczołu mlekowego (29). Badania Inchaisri i wsp. (20) wykazały, że pojedyncza dowymieniowa infuzja tego związku w dawce 100 lub 200 mg w drugiej fazie zasuszenia, tj. podczas pełnej inwolucji, prowadzi do przemijającego stanu zapalnego oraz wzmożenia aktywności immunologicznej. Stwierdzono zależny od dawki wzrost liczby komórek somatycznych, liczby monocytów/makrofagów oraz proporcji leukocytów CD14+ i MHC II. Infuzja tego immunostymulatora lekko podnosiła także proporcje limfocytów CD4+ oraz koncentrację IgG1 i IgG2. Warto dodać, że druga infuzja glukanu przyczyniała się do przedłużenia wymienionej odpowiedzi, co wskazywało, że opisane postępowanie może być efektywną metodą wzmocnienia obrony wymienia przed infekcją w okresie okołoporodowym.

Udział kazeiny

W procesie inwolucji wymienia biorą udział aktywne białka pochodzące z krwi lub wytworzone miejscowo oraz związki powstałe w wyniku ich rozpadu. Należy do nich plazmina oraz produkty hydrolizy kazeiny. Aktywność plazminy, plazminogenu oraz aktywatora plazminogenu w wydzielinie gruczołu mlekowego podczas inwolucji określili Aslam i Hurley (4). Dokonali też identyfikacji peptydów powstałych w tej wydzielinie w wyniku proteolizy kazeiny i laktoferyny, znajdujących się w tej wydzielinie. Aktywność plazminy, plazminogenu i aktywatora plazminogenu była statystycznie wyższa w 7., 14. i 21. dniu zasuszenia w porównaniu z aktywnością stwierdzoną w 7. dniu po porodzie. Produkty hydrolizy wykryto także na początku inwolucji przy niskim ich stężeniu po porodzie. Analiza immunologiczna wykazała, że peptydy wykazane podczas inwolucji pochodziły z kazeiny- α s, kazeiny- β , kazeiny- κ lub laktoferyny. Pojawienie się i wzrost zawartości tych peptydów skorelowane było ze wzrastającą aktywnością plazminy. Stanowi to dowód na udział plazminy w hydrolizie białek mleka.

Spadek zawartości kazeiny i wzrost produktów jej rozpadu, takich jak peptony odporne na ogrzewanie, stwierdzono w następstwie dowymieniowego zastosowania lektyn, cytokin, estrogenów lub glukanu (11, 20, 26). Rolę hydrolizatów kazeiny w procesie inwolucji potwierdzili Shamay i wsp. (35). Po ostatniej in-

lokacji hydrolizatu w dawce 67,5 mg na ćwiartkę gwałtownie spadło wydzielanie mleka, doszło do zmian makroskopowych, liczba komórek wzrosła do 5 milionów i więcej, a zawartość laktozy obniżyła się o 50%. Odnotowano najpierw wzrost zawartości aktywności plazminogenu, następnie wzrost aktywności plazminy, czemu towarzyszył spadek poziomu plazminogenu. Równocześnie stwierdzono 4-krotny wzrost zawartości peptonów opornych na ogrzewanie (produkty enzymatycznej proteolizy), prawie 9-krotny albuminy surowiczej, 12-krotny laktoferyny, a także 30-krotny immunoglobulin. Według cytowanych autorów (35), hydrolizaty kazeiny, wśród których znajdowały się frakcje β -kazeiny, prowadzą do dezintegracji spistości i ciągłości nabłonka wydzielniczego. Skutkiem są zaburzenia osmotyczne, które stanowią bodziec do indukcji zasuszenia. Dowymieniowe infuzje hydrolizatu kazeiny mogą być szczególnie przydatne do przyspieszenia inwolucji u krów, które w chwili zasuszenia dają jeszcze 30 litrów mleka dziennie. Metodę tę można także zastosować w celu czasowego wyłączenia z produkcji ćwiartek o wysokiej liczbie komórek, których mleko negatywnie wpływa na wskaźniki higieniczne, a także do trwałego zasuszenia ćwiartek zakażonych i opornych na terapię.

Wykorzystanie estrogenów

W celu zahamowania laktacji i przyspieszenia inwolucji wymienia zastosowano też iniekcje estrogenów. Odpowiednie badania przeprowadzili Athie i wsp. (5), podając krowom przez 4 kolejne dni, począwszy od 60. dnia przed przewidywanym porodem, po 15 mg estradiolu-17 β dziennie. Po 3 iniekcjach estradiolu wydajność mleka przypadająca na jeden udój spadła o 59%. W grupie kontrolnej też nastąpił spadek, ale tylko średnio o 13% dziennie. U krów kontrolnych i doświadczalnych odnotowano wzrost liczby komórek, zawartości laktoferyny, białka i sodu oraz obniżenie poziomu alfa-laktoalbuminy, laktozy, cytrynianu i potasu. Zmiany te wcześniej pojawiły się u krów doświadczalnych, a pełna inwolucja wystąpiła o 6 dni szybciej w porównaniu z krowami kontrolnymi. Przyspieszenie inwolucji przy zachowaniu 60-dniowego okresu zasuszenia nie miało wpływu na wydajność mleczną w następnej laktacji. Nie odnotowano objawów estrogenizacji lub skrócenia ciąży.

Estradiol-17 β nie miał też wpływu na wydajność mleczną krów z krótszym okresem zasuszenia (7). Iniekcje domięśniowe, przez 4 dni po 15 mg, rozpoczęto około 60. lub 30. dnia przed spodziewanym porodem, a rzeczywisty okres zasuszenia wyniósł odpowiednio 59 i 34 dni. Stwierdzono, że krowy z 34-dniowym okresem zasuszenia nie różniły się wydajnością w następnej laktacji od krów z 59-dniowym okresem zasuszenia. Zastosowanie estrogenów przyspiesza inwolucję, nie powoduje estrogenizacji krów, nie ma negatywnego wpływu na przebieg porodu i występowania *mastitis* oraz innych zaburzeń stanu zdrowia w okre-

sie poporodowym. Powyższą opinię potwierdzili Gulay i wsp. (19), którzy użyli 84 krów rasy HF do oceny wpływu czasu trwania okresu zasuszenia (60 dni wobec 30 dni) z iniekcją bez iniekcji cypionianu estradiolu (estradiol cypionate – ECP) na pobieranie suchej masy (DMI), masę ciała (BW), kondycję (BCS) i produkcję mleka. W celu przyspieszenia inwolucji wymienia zastosowano w dniu zasuszenia (dry-off) jedną, domięśniową iniekcję 15 mg estradiolu. Skrócenie okresu zasuszenia do 30 dni nie spowodowało wzrostu lub spadku produkcji mleka w następnej laktacji. Krótsze, 30-dniowe okresy zasuszenia nie miały negatywnego wpływu na DMI, BW, BCS, nie wystąpiły też widoczne problemy zdrowotne podczas okresu poporodowego. Z analizowanej pracy wynika, że okres 30-dniowy jest wystarczający dla przebycia inwolucji, ponownego pojawienia się komórek wydzielniczych i rozpoczęcia nowej laktacji.

Zastosowanie egzogenego estrogenu przed lub w dniu ostatniego doju prowadzi do wzmocnienia procesu naturalnej inwolucji wymienia, w czym prawdopodobnie pośredniczy estrogen uwalniany przez łożysko (5-7, 19). Janowski i wsp. (21) stwierdzili, że estrogeny, tj. estron, siarczan estronu i estradiol-17 α nie są produkowane przez gruczoł mlekowy. Wytwarzanie przez tkanki wymienia estradiolu-17 β zaczyna się na 12 dni przed spodziewanym porodem. Tak więc lokalnie wytwarzany estrogen nie bierze udziału w procesie inwolucji wymienia. Uczestniczy natomiast w rozwoju i przygotowaniu wymienia do laktacji, a z jego obecnością wiąże się występowanie *oedema uberris* (39). W procesie inwolucji wymienia bierze zatem udział estradiol jednostki łożyskowo-płodowej.

Podsumowanie

Inwolucja gruczołu mlekowego krowy jest złożonym procesem fizjologicznym. U wysoko wydajnych krów nie przebiega jednak spontanicznie, nawet po zaprzestaniu doju i wymaga oddziaływania metodami organizacyjnymi (dieta, przerywane dojenie), które często są niewystarczające. Dlatego może zająć konieczność interwencji farmakologicznej. Z analizowanego piśmiennictwa wynika, że pomocne okazać mogą się dowymieniowe infuzje immunomodulatorów, takich jak LPS lub glukan, jak też iniekcje estrogenów. Przyspieszanie inwolucji za pomocą egzogenego estrogenu wydaje się bardziej fizjologiczne. Interesujące może być także skojarzenie dowymieniowej immunostymulacji z estrogenami, ze względu na aktywizację miejscowych czynników obronnych, co dałoby szansę na rezygnację ze stosowania antybiotyków o przedłużonym działaniu, przynajmniej u krów wolnych od infekcji w chwili zasuszania. Wymaga to jednak przeprowadzenia odpowiednich badań zarówno w aspekcie skuteczności, jak też nieszkodliwości dla krowy i cielęcia ze zwróceniem szczególnej uwagi na ewentualne pozostałości nawet śladów estrogenu w mleku konsumpcyjnym.

Piśmiennictwo

1. Accorsi P. A., Pacioni B., Pezzi C., Forni M., Flint D. J., Seren E.: Role of prolactin, growth hormone, and insulin-like growth factor 1 in mammary gland involution in the dairy cow. *J. Dairy Sci.* 2002, 85, 507-513.
2. Allan G. J., Beattie J., Flint D. J.: The role of IGFBP-5 in mammary gland involution. *Domest. Anim. Endocrinol.* 2004, 27, 257-266.
3. Annen E. L., Collier R. J., McGuire M. A., Vicini J. L., Ballam J. M., Lormore M. J.: Effect of modified dry period lengths and bovine somatotropin on yield and composition of milk from dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2004, 87, 2746-2761.
4. Aslam M., Hurley W. L.: Proteolysis of milk proteins during involution of the bovine mammary gland. *J. Dairy Sci.* 1997, 80, 2004-2010.
5. Athie F., Bachman K. C., Head H. H., Hayen M. J., Wilcox C. J.: Estrogen administered at final milk removal accelerates involution of bovine mammary gland. *J. Dairy Sci.* 1996, 79, 220-226.
6. Athie F., Bachman K. C., Head H. H., Hayen M. J., Wilcox C. J.: Milk plasmin during bovine mammary involution that has been accelerated by estrogen. *J. Dairy Sci.* 1997, 80, 1561-1568.
7. Bachman K. G.: Milk production of dairy cows treated with estrogen at the onset of a short dry period. *J. Dairy Sci.* 2002, 85, 797-803.
8. Bachman K. C., Schairer M. L.: Invited review. Bovine studies on optimal lengths of dry periods. *J. Dairy Sci.* 2003, 86, 3027-3037.
9. Berry E. A., Johnston W. T., Hillerton E. J.: Prophylactic effects of two selective dry cow strategies accounting for interdependence of quarter. *J. Dairy Sci.* 2003, 86, 3912-3919.
10. Bradley A. J., Green M. J.: A study of the incidence and significance of intra-mammary enterobacterial infections acquired during the dry period. *J. Dairy Sci.* 2000, 83, 1957-1965.
11. Breau W. C., Oliver S. P.: Accelerated bovine mammary involution induced by infusion of concanavalin A or phytohemagglutinin. *Am. J. Vet. Res.* 1985, 46, 816-820.
12. Capuco A. V., Ellis S. E., Hale S. A., Long E., Erdman R. A., Zhao X., Paape M. J.: Lactation persistency: Insights from mammary cell proliferation studies. *J. Anim. Sci.* 2003, 81, 18-31.
13. Cohick W. S.: Role of the insulin-like growth factors and their binding proteins in lactation. *J. Dairy Sci.* 1998, 81, 1769-1777.
14. Crispie F., Flynn J., Ross R. P., Hill C., Meaney W.: Dry cow therapy with non-antibiotic intramammary teat seal – a review. *Irish Vet. J.* 2004, 57, 412-418.
15. Dingwell R. T., Leslie K. E., Schukken Y. H., Sargeant J. M., Timms L. L., Duffield T. F., Keefe G. P., Kelton D. F., Lissemore K. D., Conklin J.: Association of cow and quarter-level factors at drying-off with new intramammary infections during the dry period. *Prev. Vet. Med.* 2004, 63, 75-89.
16. Erskine R. L., Bartlett P. C., Tavernier S. R., Fowler R. H., Walker R. D., Seguin J. H., Shuster D.: Recombinant bovine interleukin-2 and dry cow therapy: Efficacy to cure and prevent intramammary infections, safety, and effect on gestation. *J. Dairy Sci.* 1998, 81, 107-115.
17. Godden S., Rapnicki P., Stewart T., Fetrow J., Johnson A., Bey R., Farnsworth R.: Effectiveness of an internal teat seal in the prevention of new intramammary infection during the dry and early-lactation periods in dairy cows when used with a dry cow intramammary antibiotic. *J. Dairy Sci.* 2003, 86, 3899-3911.
18. Green M. J., Green L. E., Medley G. F., Schukken Y. H., Bradley A. J.: Influence of dry period bacterial intramammary infection on clinical mastitis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2002, 85, 2589-2599.
19. Gulay M. S., Hayen M. J., Bachman K. C., Belloso T., Liboni M., Head H. H.: Milk production and feed intake of Holstein cows given short (30-d) or normal (60-d) dry periods. *J. Dairy Sci.* 2003, 86, 2030-2038.
20. Inchaisri C., Persson Waller K., Johannisson A.: Studies on the modulation of leucocyte subpopulations and immunoglobulins following intramammary infusion of β 1,3-glucan into the bovine udder during the dry period. *J. Vet. Med. B.* 2000, 47, 373-386.
21. Janowski T., Zduńczyk S., Malecki-Tepicht J., Barański W., Raś A.: *Dom. Anim. Endocrinol.* 2002, 23, 125-137.
22. Jerry D. J., Dickinson E. S., Roberts A. L., Said T. K.: Regulation of apoptosis during mammary involution by the p53 tumor suppressor gene. *J. Dairy Sci.* 2002, 85, 1103-1110.
23. Malinowski E.: Organizacyjne metody przyspieszania inwolucji wymienia przed porodem w przypadkach wysokiej wydajności mlecznej. *Magazyn Wet.* 2005, w druku.
24. Miller A. R., Erdman R. A., Douglass L. W., Dahl G. S.: Effects of photoperiodic manipulation during the dry period of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2000, 83, 962-967.
25. Moussaoui F., Michelutti J., Le Roux Y., Laurent F.: Mechanisms involved in milk endogenous proteolysis induced by a lipopolysaccharide experimental mastitis. *J. Dairy Sci.* 2002, 85, 2562-2570.
26. Nickerson S. C., Owens W. E., Boddie R. L., Boddie N. T.: The effect of chronic immunostimulation of the nonlactating bovine mammary gland with interleukin-2, pokeweed mitogen, and lipopolysaccharide. *J. Dairy Sci.* 1992, 75, 3339-3351.
27. Oliver S. P., Smith K. L.: Milk yield and secretion composition following intramammary infusion of colchicine. *J. Dairy Sci.* 1982, 65, 204-210.
28. Oliver S. P., Smith K. L.: Bovine mammary involution following intramammary infusion of colchicine and endotoxin at drying off. *J. Dairy Sci.* 1982, 65, 801-813.
29. Persson Waller K., Grönlund U., Johannisson A.: Intramammary infusion of β 1,3-glucan for prevention and treatment of *Staphylococcus aureus* mastitis. *J. Vet. Med. B* 2003, 50, 121-127.
30. Philpot W. N., Niclerson S. C.: *Winning the fight against mastitis.* Published Westfalia Surge, Inc. Naperville, IL, USA 2000, s. 140.
31. Politis J.: Plasminogen activator system: Implication for mammary cell growth and involution. *J. Dairy Sci.* 1996, 79, 1097-1107.
32. Rajala-Schultz P. J., Hogan J. S., Smith K. L.: Short communication: association between milk yield at dry-off and probability of intramammary infections at calving. *J. Dairy Sci.* 2005, 88, 577-579.
33. Rejman J. J., Luther D. A., Owens W. E., Nickerson S. C., Oliver S. P.: Changes in bovine mammary-secretion composition during early involution following intramammary infusion of recombinant bovine cytokines. *J. Vet. Med. B.* 1995, 42, 449-458.
34. Shams D., Kohlenberg S., Amselgruber W., Berisha B., Pfaffl M. W., Sinozatz F.: Expression and localisation of estrogen and progesterone receptors in the bovine mammary gland during development, function and involution. *J. Endocrinol.* 2003, 177, 305-317.
35. Shamay A., Shapiro F., Leitner G., Silanikove N.: Infusions of casein hydrolyzates into the mammary gland disrupt tight junction integrity and induce involution in cows. *J. Dairy Sci.* 2003, 86, 1250-1258.
36. Stefanon B., Colitti M., Gabai G., Knight C. H., Wilde C. J.: Mammary apoptosis and lactation persistency in dairy animals. *J. Dairy Res.* 2002, 69, 37-59.
37. Wedlock D. N., McCarthy A. R., Doolin E. E., Lacy-Hulbert S. J., Woolford M. W., Buddle B. M.: Effect of recombinant cytokines and leucocytes and physiological changes in bovine mammary gland during early involution. *J. Dairy Res.* 2004, 71, 154-161.
38. Wilde C. J., Knight C. H., Flint D. J.: Control of milk secretion and apoptosis during mammary involution. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia.* 1999, 4, 129-136.
39. Zduńczyk S., Janowski T.: Znaczenie estrogenów dla rozwoju, funkcji i stanu zdrowotnego gruczołu mlekowego krów. *Medycyna Wet.* 2002, 58, 670-673.

Adres autora: prof. dr hab. Edward Malinowski, ul. Sułkowskiego 50 m. 34, 85-634 Bydgoszcz; e-mail: vetri@logonet.com.pl