

# Zmiany stężeń biologicznie aktywnych składników mleka krowiego wskutek mastitis

EDWARD MALINOWSKI, ANNA KŁOSSOWSKA, SEBASTIAN SMULSKI

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

Malinowski E., Kłossowska A., Smulski S.

## Changes in biologically active cow's milk components caused by mastitis

### Summary

The aim of the review was to describe changes in some chemical components of milk during mastitis. Udder inflammation causes a decrease or increase in biologically active milk components, dependent on the clinical course of the inflammation and its etiological agents. Examinations performed over the last years have mainly focused on cytokines, acute phase proteins, eicosanoids, enzymes and caseinolysis products. The increase of pro-inflammatory cytokines: TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, GM-CSF, IL-8, and 11-12 has always been noted in acute forms of mastitis, and is related to an increase of IGF and TGFs, acute phase proteins and bacterial and leukocyte enzymes activity. In mild cases where inflammations are caused by *Staph. aureus* or *Str. uberis*, changes in cytokines or growth factors have occurred later and have been less intense. A decrease of casein, lactoalbumin- $\alpha$ , lactoglobulin-p, and vitamins E and C, and triiodothyronine in mastitic milk have also been stated. The increase in NAGase, LDH, serum amyloid A and haptoglobin can indicate both the beginning and intensiveness of the inflammatory process in the mammary gland. Antibacterial components of milk: lactoferrin, lysozyme and lactoperoxidase-thiocyanate-hydrogen peroxide systems do not inhibit bacteria in the inflamed secretion. However, they can indicate the false-positive results of screening tests for antibiotic residues in milk. Somatic cells, bacterial proteases and lipases together with endogenous enzyme plasma hydrolyze casein, gelatin, collagen, hemoglobin, and lactoferrin and secretor cell proteins. The decrease of  $\alpha$ -casein,  $\beta$ -casein and lipids and increase of  $\kappa$ -casein, protease-peptones and free fatty acids is due to the effect of the inflammatory enzyme's activity. Independently of bacterial toxins, the presence in fresh milk of higher concentrations of TNF- $\alpha$  and other cytokines, PGF2- $\alpha$ , IGF, BSA, histamine, bradykinin, thiocyanate or lower concentrations of  $\beta$ -casein, lactoalbumin- $\alpha$ , lactoglobulin-p, vitamins E and C or triiodothyronine, that are connected with mastitis can be potentially detrimental both for the health of calves and, above all, for humans.

**Keywords:** cow, mastitis, milk

Zapalenia gruczołu mlekowego krów pozostają ciągle najczęstszą i najdroższą chorobą bydła (45). Straty spowodowane przez *mastitis* wynikają z ograniczenia produkcji mleka i pogorszenia jego jakości, negatywnego oddziaływania na płodność krów i stan zdrowia cieląt oraz wysokich kosztów diagnostyki, leczenia i zapobiegania. Podczas procesu zapalnego zahamowaniu ulega synteza, a wzrasta rozpad składników mleka oraz przepuszczalność naczyń krwionośnych dla wielu składników krwi. Skutkiem jest spadek zawartości suchej masy, laktozy, tłuszczu, kazeiny całkowitej oraz wzrost liczby komórek somatycznych, poziomu białek serwatki, w tym albuminy surowiczej oraz immunoglobulin. Dochodzi też do wzrostu, a także spadku wielu innych składników (52). W związku z tym płyn znajdujący się wewnątrz gruczołu mlekowego przestaje być mlekiem, staje się natomiast wydzieliną zapalną, która nierzadko cechuje się makroskopowym wyglądem przypominającym surowicę lub ropę.

### Stężenia aktywnych związków chemicznych w wydzielinie zapalnej wymienia

Mleko, oprócz podstawowych składników odżywczych, zawiera związki chemiczne, które oddziałują na gruczoł mlekowy i inne narządy krowy, na przewód pokarmowy i organizm cielęcia, a także na zdrowie człowieka (12, 63). Skutkiem procesu zapalnego jest przeważnie wzrost, a niekiedy także spadek wielu biologicznie aktywnych składników mleka. Badania ostatnich lat koncentrowały się głównie na pomiarach cytokin i białek ostrej fazy, aktywności eikozanoidów i enzymów oraz produktów rozpadu kazeiny. W tab. 1 zestawiono najczęściej badane związki chemiczne, których stężenie bądź aktywność wzrasta podczas procesu zapalnego. W większości cytowanych prac, oprócz składników będących głównym obiektem zainteresowań, określano liczbę komórek somatycznych (LKS), a często także poziom albuminy surowiczej

(BSA), N-acetylo-beta-D-glukozaminidazy (NAGaza) lub dehydrogenazy kwasu mlekowego (LDH), jako referencyjne wskaźniki stanu zapalnego. Ocena zawartości LKS i BSA oraz aktywności NAGazy i LDH wykorzystywane są do rutynowej diagnostyki *mastitis* (48).

Szczególnie intensywnym badaniom podlegały cytokiny, zwłaszcza prozapalne. Oceny ich aktywności dokonywano najczęściej posługując się modelem doświadczalnym polegającym na wyzwoleniu *mastitis* za pomocą dowymieniowej infuzji LPS (14, 46, 55), *E. coli* (6, 17), *Staph. aureus* (2, 6), *Str. uberis* (5, 42), *Ps. aeruginosa* (4) lub *Serratia marcescens* (5). Czas pojawienia się w mleku cytokin prozapalnych zależy od czynnika etiologicznego oraz natężenia procesu zapalnego. W przypadku zapalenia ostrego stwierdzono ekspresję mRNA dla TNF- $\alpha$  i cyklooksygenazy-2 już w 3. godzinie po infuzji endotoksyny, a po 6 h szczytowe wartości uzyskał mRNA laktoferyny, lizozymu, kaspazy-3, kaspazy-7, syntazy tlenu azotu oraz syntazy kwasów tłuszczowych (14, 55). O kilka godzin później podobne zmiany w zachowaniu się kwasu rybonukleinowego odnotowali inni autorzy (46). Natomiast w przypadku zapaleń o łagodnym przebiegu ich pojawienie się uległo wyraźnemu przesunięciu w czasie. Rambeaud i wsp. (50) wykryli obecność w mleku TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  oraz IL-8 po 66 godzinach od zakażenia *Str. uberis*. Z kolei Bannerman i wsp. (6) nie wykazali wzrostu TNF- $\alpha$  w ćwiartkach zakażonych *Staph. aureus*, w przeciwieństwie do Alluwaimi i wsp (2), którzy podwyższoną aktywność TNF- $\alpha$  oraz IL-12 stwierdzili w 24 godzinie po zakażeniu wymienionym drobnoustrojem. Cytokiny, eikozanoidy, białka ostrej fazy, a także inne mediatory odpowiedzi immunologicznej wydzielane są przez komórki somatyczne mleka, w tym głównie przez makrofagi także podczas przewlekłego, podklinicznego zapalenia gruczołu mlekowego (14).

Zmiany aktywności różnych cytokin wskazują na rolę układu immunologicznego w inicjacji i zakończeniu procesu zapalnego. Zawsze stwierdzano wzrost aktywności cytokin prozapalnych: TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, GM-CSF, IL-8, IL-12. Natomiast w przypadku INF- $\gamma$  stwierdzano albo wzrost (4, 5), albo spadek (2). Wzrost poziomu interferonu wiązany był z zakażeniem przez *E. coli* (24), *Str. uberis* lub *Ps. aeruginosa* (4, 7), natomiast spadek IFN, obserwowany po zakażeniu *Staph. aureus* łączono z obniżeniem proporcji limfo-

Tab. 1. Wzrost koncentracji w mleku niektórych składników aktywnych biologicznie w następstwie *mastitis*

Składnik	Autor (poz. piśmiennictwa)
TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-12, IL-8, IL-10, C5a, BSA	4, 5, 6
INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$	24
TNF- $\alpha$ , GM-CSF, IL-12, IL-6	2
TNF- $\alpha$ , IL-6	58
TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8	50
INF- $\gamma$ , IL-10, IL-12	59
IGF1, $\beta$ FGF	30
TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2	17
Haptoglobina, surowiczy amyloid	1, 20, 42
Cyklooksygenaza, lipooksygenaza (PGF, LTB4)	46
PGF2, PGF2- $\alpha$ , TXB2, FFA	3
LTB4, LXA4	13
Bradykinina	21
Histamina, laktoferyna,	26
Laktoferyna, lizozym, syntaza NO(x), kaspaza-3, kaspaza-7	55
Laktoferyna, lizozym, system laktoperoksydaza-tiocyaniany	54
Reaktywne metabolity tlenu (RMT)	29, 32, 37
LDH, NAGaza, N <sup>+</sup> , Cl <sup>-</sup>	64
LDH, NAGaza	16
NAGaza, białko całkowite	7
NAGaza, kwas beta-hydroksymastowy, mocznik, białko całkowite	43
Plazmina, BSA, proteozo-peptony	40
Plazmina, proteozo-peptony	47
Plazmina, proteazy granulocytów, BSA, proteozo-peptony	36, 40
Plazmina, proteozo-peptony, kazeina- $\gamma$ , kazeina- $\kappa$	39
Plazmina, lipaza lipoproteinowa	8
Żelatynaza A, żelatynaza B, antytrypsyna, BSA	51
Mleczany	19

Tab. 2. Spadek koncentracji aktywnych składników mleka podczas *mastitis* (spowodowany przez stan zapalny)

Składnik	Autor (poz. piśmiennictwa)
Laktoalbumina- $\alpha$ , laktoglobulina- $\beta$	25
Laktoza, tłuszcz	7, 43
Trójiodotyronina, dejodynaza tyroksyny (5'MD)	58
K <sup>+</sup>	64
Witamina C	61
Witamina E	9
Kazeina całkowita, kazeina $\alpha$ s-1, $\alpha$ s-2, kazeina $\beta$	39
K, Ca, Mg	65
IFN- $\gamma$ , IL-2	2
Laktoalbumina- $\alpha$	26

cytów CD4 na korzyść CD8, a spadek IL-2 z supresyjnym oddziaływaniem tego gronkowca (2).

Aktywność wymienionych cytokin skorelowana jest ze wzrostem innych drobnocząsteczkowych mediatorów, tj. czynników wzrostu (17, 30), w tym szczególnie insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF-1 $\beta$ ) oraz transformujących czynników wzrostu (TGF). Rolę TGF $\alpha$ ,  $\beta$ 1 i  $\beta$ 2 w patogenezie zapalenia wymienia szczegółowo przedstawili Chockalingam i wsp. (17). Wymienione cytokiny, ze względu na plejotroficzny charakter, mogą brać udział zarówno w inicjacji naturalnej odpowiedzi immunologicznej na infekcję, jak też w indukcji procesów naprawczych oraz przywróceniu wewnętrznej homeostazy gruczołu mlekowego w późniejszym okresie.

Z piśmiennictwa wynika, że cytokiny, a w tym czynniki wzrostu, indukują syntezę białek ostrej fazy przez komórki wątrobowe (4, 6), niezależnie od ich lokalnego wydzielania przez makrofagi (14). Białka te współdziałają z czynnikami obronnymi gospodarza, posiadają też właściwości przeciwbakteryjne. Ich wzrost jest proporcjonalny do LKS w mleku; może wskazywać zarówno na pojawienie się *mastitis* (20), jak też na ostrość odczynu zapalnego (42). Określanie zawartości haptoglobiny oraz surowiczego amyloidu A posiada wartość diagnostyczną w przypadku badania mleka ćwiartkowego, złożonego lub zbiorczego (1).

W chwili inicjacji procesu zapalnego dochodzi do wzrostu aktywności wielu przeciwbakteryjnych składników mleka. Składniki przeciwbakteryjne, takie jak: laktoferyna, lizozym oraz system laktoperoksydazy-tiocyanianu-nadtlenek wodoru, które są aktywne w zapobieganiu rozwoju infekcji, nie hamują wzrostu bakterii w wydzielinie zapalnej (54). Mogą jednak stanowić przyczynę fałszywie dodatnich wyników testów skriningowych na obecność pozostałości leków w mleku (15, 27). Dodatkowo wyniki tych testów występują w mleku z podwyższoną liczbą komórek bez stosowania u krów jakichkolwiek środków przeciwbakteryjnych. Do przeciwbakteryjnych składników wydzieliny zapalnej należą też reaktywne metabolity tlenu (RMT). Nazywane są nawet „komórkowymi antybiotykami” (37). Ich zawartość wzrasta bezpośrednio po zakażeniu (29) i jest pośrednim wykładnikiem liczby oraz aktywności komórek somatycznych (32).

Podczas procesu zapalnego wzrasta aktywność wielu enzymów surowiczych i komórkowych. Najczęściej określanym enzymem związanym z komórkami somatycznymi jest N-acetylo-beta-D-glukozaminidaza (7, 16, 43, 48). Enzym ten nawet lepiej niż komórki somatyczne określa nieprawidłowości w obrębie tkanki wydzielniczej, szczególnie po likwidacji infekcji. Ocena aktywności tego enzymu lub LKS powinna stanowić kryterium ustąpienia stanu zapalnego, szczególnie w przypadkach *Staph. aureus*, gdyż ujemny wynik badania bakteriologicznego nie zawsze daje prawidłową odpowiedź (49). Z kolei poziom dehydrogenazy kwasu mlekowego cechuje się wyższą czułością od

NAGazy, przy podobnej swoistości (16), a przy tym jest czulszym markerem uszkodzeń komórek (64). Wskaźnikiem wzrostu przepuszczalności naczyń krwionośnych są BSA i antytyrypsyna, a żelatynaza dodatkowo zwiększa tę przepuszczalność (51).

Bardzo ważną rolę w odniesieniu do mleka i tkanki gruczołowej odgrywają także inne enzymy proteolityczne i lipolityczne, które znajdują się w wydzielinie zapalnej. Proteazy leukocytarne i bakteryjne wraz z plazminą surowiczą hydrolizują kazeinę, żelatynę, kolagen, hemoglobinę, białka nabłonka wydzielniczego oraz laktoferynę (45). Skutkiem działania enzymów jest spadek koncentracji kazeiny- $\alpha$ , kazeiny- $\beta$  i lipidów oraz wzrost zawartości kazeiny- $\kappa$ , proteozo-peptonów, stężenia wolnych kwasów tłuszczowych (FFA), oraz krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (52). Proteazy komórek somatycznych cechują się zdolnością do rozkładu białek macierzy pozakomórkowej i biorą udział w uszkodzeniu tkanek wymienia (36). Leukocytna plazmina i lipaza lipoproteinowa prowadzą także do dalszych zmian w mleku pasteryzowanym (8). Rośnie stężenie wolnych kwasów tłuszczowych, a spada procent białka surowego, w tym kazeiny, spada też średnica kuleczek tłuszczu proporcjonalnie do wzrostu LKS w mleku surowym (53).

Wzrost w mleku kwasu beta-hydroksymasłowego (BHBA) i mocznika podczas procesu zapalnego może być przyczyną błędnej oceny składu dawki pokarmowej pod względem udziału białka i węglowodanów (43), co utrudnia wykorzystanie tych wskaźników do oceny prawidłowości żywienia. Cytowani autorzy łączą wzrost wymienionych związków chemicznych z uszkodzeniem naczyniowej bariery krew–mleko.

Następstwem wzrostu przepuszczalności naczyń krwionośnych jest, między innymi, wzrost koncentracji sodu i chloru, a skutkiem aktywności proteaz jest spadek poziomu kazeiny. Dzięki temu wzrasta przewodność elektryczna mleka, która jest jednym z kryteriów rozpoznawania podklinicznego stanu zapalnego (7, 49). Najlepszym kryterium oceny stanu zapalnego są jednak pomiary liczby komórek somatycznych. W 1 ml mleka pobranego ze zdrowego gruczołu mlekowego ich liczba nie powinna przekraczać 100 000 (23). W zależności od czynnika etiologicznego i przebiegu klinicznego *mastitis* LKS wzrasta do kilku, a nawet kilkudziesięciu milionów/ml (33).

Oprócz wzrostu koncentracji wielu składników, dochodzi też do spadku zawartości innych (tab. 2). Wykazano, między innymi, spadek zawartości witaminy C, witaminy E, trójiodotyroniny i dejodotyroniny, a także potasu, wapnia i magnezu. Niski poziom witamin C i E może wskazywać na słabszą zdolność granulocytów do efektywnej fagocytozy, gdyż spełniają one rolę antyoksydantów. Spadek witaminy C, który jest proporcjonalny do wzrostu natężenia zmian zapalnych, tłumaczony jest wzrostem jej utleniania (61). Z kolei spadek aktywności lipoksyny (LXA4) w stosunku do leukotrienu (LTB4), który posiada właści-

wości chemotaktyczne dla PMN, może być przyczyną przechodzenia ostrej postaci *mastitis* w przewlekłą (13). Natomiast spadek zawartości kazeiny oraz jonów Ca i Mg w mleku ułatwia cytotoksyczne działanie gronkowcowej toksyny-alfa (18).

Podczas zapalenia skład chemiczny mleka staje się podobny do składu chemicznego krwi, chociaż w gruczole mlekowym zachodzi także synteza „de novo” niektórych związków, np. amyloidu A3 (25). Ponowny wzrost zawartości składników, które uległy spadkowi w czasie rozwoju procesu zapalnego wykorzystywany jest jako wskaźnik ustępowania zmian zapalnych i zdrowienia (26).

### Zmiany w mleku a choroby cieląt

Wzrost lub spadek zawartości w mleku krów wielu aktywnych biologicznie związków chemicznych wraz z ograniczeniem koncentracji laktozy, kazeiny i tłuszczu może wpływać na zdrowie cieląt zarówno ssących, jak i odpajanych tzw. mlekiem odpadowym, które nie spełnia określonych prawem kryteriów jakościowych. Powyższa sugestia nie znajduje jednak szerszego odbicia w piśmiennictwie naukowym. Zwraca się jedynie uwagę na obecność w mleku (wydzielinie zapalnej), przeznaczonym na karmę dla cieląt, patogennych drobnoustrojów, a w tym szczególnie z rodzaju *Mycoplasma*, *Mycobacterium*, *Salmonella* i *Escherichia*. Dlatego zalecana jest pasteryzacja takiego mleka oraz wzbogacanie o witaminy, co ogranicza zachorowania cieląt (22). Wpływu procesu zapalnego wymienia nie można jednak pomijać, gdyż skutkiem *mastitis* jest np. ograniczenie produkcji siary, a tym samym puli dostępnych immunoglobulin (35), ale także zwiększonej zawartości BSA, co prowadzi do interferencji i upośledzonego wchłaniania IgG1 przez nabłonek jelitowy cieląt (10). Nie można też wykluczyć uszkodzeń jelit cieląt przez cytokiny znajdujące się w zapalnie zmienionej sianie lub mleku. Na taką możliwość wskazują obserwacje nad wpływem *mastitis* u kobiet na stan zdrowia noworodków (62).

### Potencjalny wpływ mleka o zmienionym składzie na zdrowie człowieka

Opisane zmiany w biochemicznym składzie mleka nie mogą być obojętne dla zdrowia człowieka, niezależnie od zakażeń i zatruc pokarmowych, związanych z niektórymi drobnoustrojami wywołującymi *mastitis* (34). Zaburzenia zdrowotne u ludzi mogą być skutkiem wzrostu stężenia (aktywności) jednych składników mleka (wydzieliny zapalnej) lub spadkiem zawartości innych. Na szczególne zainteresowanie zasługują składniki mleka o właściwościach farmakologicznych (nutraceuticals), w tym proteolipidy otoczki kuleczki tłuszczowej oraz peptydy (38, 56). W otoczce kuleczek tłuszczowych znajdują się, między innymi, inhibitory wzrostu komórek rakowych, w tym raka piersi, czynnik obniżający poziom cholesterolu w krwi, inhibitor *Helicobacter pylori*, inhibitor beta-glukoro-

nidazy jelitowych *E. coli*, oksydaza ksantynowa jako czynnik bakteriobójczy, butyrylina jako potencjalny czynnik ograniczający stwardnienie rozsiane oraz fosfolipidy, które hamują rozwój raka okrężnicy, chorobę Alzheimerera, a także przeciwdziałają depresji i stresowi (56). Częściowe lub całkowite zniszczenie otoczki kuleczki tłuszczu mlekowego może być skutkiem zwiększonej aktywności plazminy, a także lipaz i proteaz oraz RMT. Niekorzystne dla zdrowia człowieka mogą też okazać się zmiany w składzie białek mleka, które są prekursorami wielu aktywnych peptydów. Są wśród nich immunomodulatory pobudzające komórki układu obronnego oraz cytomodulatory, które hamują wzrost komórek rakowych. Znajdują się też peptydy przeciwbakteryjne, opioidowe, wiążące pierwiastki, przeciwwkrzepowe oraz przeciwdziałające nadciśnieniu. Bioaktywne peptydy mogą wchodzić w interakcje z enzymami lub receptorami komórek nabłonka jelit, lub po wchłonięciu oddziaływać na cały organizm (38).

Innym, także potencjalnym zagrożeniem dla zdrowia człowieka jest obecność w wydzielinie zapalnej insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF). Steinman (57) sugeruje, że czynnik ten, obok wielu innych, może być odpowiedzialny za wzrost odsetka cięż bliźniaczych u kobiet, w dziecie których znajduje się mleko od krów poddawanych działaniu rekombinowanej somatotropiny bydłowej. Warto podkreślić, że większość białek, które są najsilniejszymi alergenami mleka krowiego (41) uzyskuje wyższy poziom w wydzielinie zapalnej (BSA, laktoferyna, IgG, kazeina-kappa). Bydłęca albumina surowicza ciągle rozpatrywana jest jako przyczyna cukrzycy typu I u dzieci (44). Wymienione związki chemiczne uzyskują dostęp do organizmu człowieka dzięki podwyższonej koncentracji w mleku histaminy wolnej oraz innych eikozanoidów, co ułatwia wchłanianie jelitowe. Histamina pośredniczy też w reakcji alergicznej na białka mleka krowiego oraz na insulinę. Nie można przy tym wykluczyć, że spożywanie mleka, które zawiera nieco wyższy poziom histaminy, kortyzolu i prostaglandyny F2- $\alpha$  nie może doprowadzić do poronienia w przypadku występowania zaburzeń hormonalnych.

W rozważaniach o potencjalnym związku zmian zapalnych w mleku ze zdrowiem człowieka nie można pominąć laktoalbuminy- $\alpha$ , laktoglobuliny- $\beta$ , witamin A i C, długołańcuchowych kwasów tłuszczowych oraz kazeiny- $\alpha_1$  i kazeiny- $\beta$ . Niekorzystny może być spadek poziomu laktoglobuliny- $\alpha$ , która osłania błonę śluzową żołądka, chroniąc przed rozwojem wrzodów (60), a także laktoglobuliny- $\beta$ , która jest antyoksydantem (31). Ze spadkiem koncentracji witaminy A oraz C można spodziewać się zwiększonej aktywności RMT. Z kolei spadek koncentracji kazeiny- $\alpha$  można rozpatrywać jako jedną z wielu przyczyn chorób naczyniowo-sercowych oraz autyzmu i schizofrenii. Bell i wsp. (11) stwierdzili bowiem, że w populacjach przyjmujących w pożywieniu więcej kazeiny-ss o wa-

riancie A2 stwierdza się mniej wymienionych chorób układu krążenia i słabiej wyrażone objawy psychoz.

Oprócz tego, warto zwrócić uwagę na tiocyjaniany, których wzrost podczas zapalenia prowadzi do obniżenia poziomu jodu w mleku, z czym może wiązać się rozwój zaburzeń w rozwoju centralnego układu nerwowego u dzieci (28). Niezależnie od tego wyższa koncentracja tiocyjanianów, przy równoczesnym wzroście cytokin pozapalnych, może przyczynić się do obniżenia aktywności trójiodotyroniny (58), co pogłębia negatywne skutki niedoboru jodu w mleku.

Niekorzystny wpływ na zdrowie człowieka przedstawionych związków chemicznych, które ulegają zmianom podczas procesu zapalnego i w niewielkim nadmiarze lub niedoborze mogą znaleźć się w mleku konsumpcyjnym i przetworach mleczarskich wydaje się jedynie hipotetyczny z uwagi na trudności lub nawet niemożliwość przeprowadzenia bezpośredniego dowodu. Do zaburzeń homeostazy organizmu mogą jednak prowadzić nawet subtelne zmiany w składzie pożywienia.

### Podsumowanie

Podczas procesu zapalnego wymienia krwi dochodzi do zmian wśród aktywnych biologicznie składników mleka. Analiza i ocena tych zmian prowadzona jest przede wszystkim w aspekcie patogenezy i diagnostyki *mastitis*. Normy prawne zdecydowanie ograniczają udział silnie zmienionej wydzieliny zapalnej w mleku i produktach mleczarskich przeznaczonych dla człowieka. Jednak w mleku surowym, które zawiera 200 000-400 000 komórek w 1 ml i spełnia wymagania higieniczne, znajduje się dodatek wydzieliny od krów wykazujących *mastitis subclinica*. Ewentualny wpływ mleka o nawet nieznacznie zmienionym składzie biochemicznym na zdrowie konsumentów wymaga odpowiednich badań.

### Piśmiennictwo

1. Akerstedt M., Person Waller K., Sternesjo A.: Haptoglobin and serum amyloid A in relation to the somatic cell count in quarter, cow composite and bulk tank milk samples. *J. Dairy Res.* 2007, 74, 1-6.
2. Alluwaimi A. M., Leutenegger C. M., Farver T. B., Rossitto P. V., Smith W. L., Cullor J. S.: The cytokine markers in Staphylococcus aureus mastitis of bovine mammary gland. *J. Vet. Med. B* 2003, 50, 105-111.
3. Atroshi F., Rizzo A., Osterman T., Parantainen J.: Free fatty acids and lipid peroxidation in normal and mastitic bovine milk. *Zentralbl. Veterinarmed. A* 1989, 36, 321-330.
4. Bannerman D. D., Chockalingam A., Paape M. J., Hope J. C.: The bovine innate response during experimentally-induced *Pseudomonas aeruginosa* mastitis. *Vet. Immunol. Immunopath.* 2005, 107, 201-215.
5. Bannerman D. D., Paape M. J., Goff J. P., Kimura K., Lippolis J. D., Hope J. C.: Innate immune response to intramammary infection with *Serratia marcescens* and *Streptococcus uberis*. *Vet. Res.* 2004, 35, 681-700.
6. Bannerman D. D., Paape M. J., Lee J.-W., Zhao X., Hope J. C., Reinard P.: *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* elicit differential innate immune responses following intramammary infection. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2004, 11, 463-472.
7. Bansal B. K., Hamann J., Grabowski N. T., Singh K. B.: Variation in the composition of selected milk fraction samples from healthy and mastitic quarters and its significance for mastitis diagnosis. *J. Dairy Res.* 2005, 72, 144-152.
8. Barbano D. M., Ma Y., Santos M. V.: Influence of raw milk quality on fluid milk shelf life. *J. Dairy Sci.* 2006, 89, Suppl. 1, E15-19.
9. Batra T. R., Singh K., Ho S. K., Hidirolglou M.: Concentration of plasma and milk vitamin E and plasma beta-carotene of mastitic and healthy cows. *Int. Vitam. Nutr. Res.* 1992, 62, 233-237.
10. Beasser T. E., Osborn D.: Effect of bovine serum albumin or passive transfer of immunoglobulin G1 to newborn calves. *Vet. Immunol. Immunopath.* 1993, 37, 321-327.
11. Bell S. J., Grochoski G. T., Clarke A. J.: Health implications of milk containing beta-casein with the A2 genetic variant. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2006, 46, 93-100.
12. Blum J. W., Baumrucker C. R.: Colostral and milk insulin-like growth factors and related substances: mammary gland and neonatal (intestinal and systemic) targets. *Domest. Anim. Endocrinol.* 2002, 23, 101-110.
13. Boutet P., Bureau F., Degand G., Lekeux P.: Imbalance between lipoxin A4 and leukotriene B4 in chronic mastitis-affected cows. *J. Dairy Sci.* 2003, 86, 3430-3439.
14. Bruckmaier R. M.: Gene expression of factors related to immune reaction in response to intramammary *Escherichia coli* lipopolysaccharide challenge. *J. Dairy Res.* 2005, 72, 120-124.
15. Carlsson A., Bjorck L., Persson K.: Lactoferrin and lysozyme in milk during acute mastitis and their inhibitory effect in Delvotest P. *J. Dairy Sci.* 1989, 72, 3166-3175.
16. Chagunga M. G., Larsen T., Bjerring M., Invarstsen K. L.: L-lactate dehydrogenase and N-acetyl-beta-D-glucosaminidase activities in bovine milk as indicators of non-specific mastitis. *J. Dairy Res.* 2006, 73, 431-440.
17. Chockalingam A., Paape M. J., Bannerman D. D.: Increased milk levels of transforming growth factor- $\alpha$ ,  $\beta$ 1, and  $\beta$ 2 during *Escherichia coli*-induced mastitis. *J. Dairy Sci.* 2005, 88, 1986-1993.
18. Cifrión E., Guidry A., Marquardt W. W.: Role of milk fractions, serum, and divalent cations in protection of mammary epithelial cells of cows against damage by *Staphylococcus aureus* toxins. *Am. J. Vet. Res.* 1996, 57, 308-312.
19. Davis S. R., Farr V. C., Prosser C. G., Nicholas G. D., Turner A. S., Lee J., Hart A. L.: Milk L-lactate concentration is increased during mastitis. *J. Dairy Res.* 2004, 71, 175-181.
20. Eckersall P. D., Young E. J., McComb C., Hogarth C. J., Safi S., Weber A., McDonald T., Nolan A. M., Fitzpatrick J. L.: Acute phase protein in serum and milk from dairy cows with clinical mastitis. *Vet. Rec.* 2001, 148, 35-41.
21. Eshraghi H. R., Zeitlin I. J., Fitzpatrick J. L., Ternent H., Logue D.: The release of bradykinin in bovine mastitis. *Life Sci.* 1999, 64, 1675-1687.
22. Godden S. M., Fetrow J. P., Feirtag J. M., Green L. R., Wells S. J.: Economic analysis of feeding pasteurized nonsaleable milk versus conventional milk replacer to dairy calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2005, 226, 1547-1554.
23. Hamann J.: Diagnosis of mastitis and indicators of milk quality. Mastitis in dairy production. Current knowledge and future solutions. Wageningen Academic Publishers 2005, 82-90.
24. Hisaeda K., Hagiwara K., Eguchi J., Yamanaka H., Kirisawa R., Iwan H.: Interferon-gamma and tumor necrosis factor alpha levels in sera and whey of cattle with naturally occurring coliform mastitis. *J. Vet. Med. Sci.* 2001, 63, 1009-1011.
25. Hogarth C. J., Fitzpatrick J. L., Nolan A. M., Young F. J., Pitt A., Eckersall P. D.: Differential protein composition of bovine whey: a comparison of whey from healthy animals and from those with clinical mastitis. *Proteomics* 2004, 4, 2094-2100.
26. Kai K., Komine A., Asai K., Kuroishi T., Komine Y., Kozutsumi T., Itagaki M., Ohta M., Endo Y., Kumagai K.: Anti-inflammatory effects of intramammary infusions of glycyrrhizin lactating cows with mastitis caused by coagulase-negative staphylococci. *Am. J. Vet. Res.* 2003, 64, 1213-1220.
27. Kang J. H., Jin J. H., Kondo F.: False positive outcome and drug residue in milk samples over withdrawal times. *J. Dairy Sci.* 2005, 88, 908-913.
28. Lauberg P., Andersen S., Knudsen N., Ovesen L., Nohr S. B., Bulow Pedersen J.: Thiocyanate in food and iodine in milk: from domestic animal feeding to improved understanding of cretinism. *Thyroid* 2002, 12, 897-902.
29. Lauzon K., Zhao X., Bouetard A., Delbecchi L., Paquette B., Lacasse P.: Antioxidants to prevent bovine neutrophil-induced mammary epithelial cell damage. *J. Dairy Sci.* 2005, 88, 4295-4303.
30. Liebe A., Schams D.: Growth factors in milk: interrelationship with somatic cell count. *J. Dairy Res.* 1998, 65, 93-100.
31. Liu H. C., Chen W. L., Mao S. J.: Antioxidant nature of bovine milk beta-lactoglobulin. *J. Dairy Sci.* 2007, 90, 547-555.
32. Malinowski E., Kuźma K., Sobolewska S., Klossowska A.: Aktywność metaboliczna komórek fagocytujących mleka i krwi krów zdrowych i z zapaleniem wymienia. *Medycyna Wet.* 1998, 54, 321-324.
33. Malinowski E., Lassa H., Klossowska A., Markiewicz H., Smulski S.: Relationship between mastitis agents and somatic cell count in foremilk samples. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2006, 50, 349-352.
34. Malinowski E., Nowak M.: Niebezpieczne drobnoustroje dla wymienia krów i dla ludzi. *Lecznica Dużych Zwierząt* 2007, 2, 66-71.

35. Maunsell F. P., Morin D. E., Constable P. D., Hurley W. L., McCoy G. C., Kakoma J., Isacson R. E.: Effect of mastitis on the volume and composition of colostrum produced by Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 1998, 81, 1291-1299.
36. Mehrzad J., Desrosiers C., Lauzon K., Zhao X., Lacasse P.: Proteases involved in mammary tissue damage during endotoxin-induced mastitis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2005, 88, 211-222.
37. Mehrzad J., Duchateau L., Burvenich C.: High milk neutrophil chemiluminescence limits the severity of bovine coliform mastitis. *Vet. Res.* 2005, 36, 101-116.
38. Meisel H.: Biochemical properties of peptides encrypted in bovine milk proteins. *Curr. Med. Chem.* 2005, 12, 1905-1919.
39. Moussaoui F., Michelutti L., Le Roux Y., Laurent F.: Mechanisms involved in milk endogenous proteolysis by a lipopolysaccharide experimental mastitis. *J. Dairy Sci.* 2002, 85, 2562-2570.
40. Moussaoui F., Vangroenweghe F., Haddadi K., Le Roux Y., Laurent F., Duchateau L., Burvenich C.: Proteolysis in milk during experimental *Escherichia coli* mastitis. *J. Dairy Sci.* 2004, 87, 2923-2931.
41. Natale M., Bisson C., Monti G., Peltrau A., Garoffo L. P., Valentini S., Fabris C., Bertino E., Coscia A., Conti A.: Cow's milk allergens identification by two-dimensional immunoblotting and mass spectrometry. *Mol. Nutr. Food Res.* 2004, 48, 363-369.
42. Nielsen B. H., Jacobsen S., Andersen P. H., Niewold T. A., Heegaard P. M.: Acute phase protein concentrations in serum and milk from healthy cows, cows with clinical mastitis and cows with extra-mammary inflammatory conditions. *Vet. Rec.* 2004, 154, 361-365.
43. Nielsen H. J., Larsen T., Bjerring M., Ingvarsen K. L.: Quarter health, milking interval, and sampling time during milking affect the concentration of milk constituents. *J. Dairy Sci.* 2005, 88, 3186-3200.
44. Persaud D. R., Barranco-Mendoza A.: Bovine serum albumin and insulin-dependent diabetes mellitus; is cow's milk a possible toxicological causative agent of diabetes? *Food Chem. Toxicol.* 2004, 42, 707-714.
45. Petrovski K. R., Trajcevic M., Buneski G.: A review of the factors affecting the costs of bovine mastitis. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 2006, 77, 53-60.
46. Pfaffl M. W., Wittmann H. H., Meyer D., Bruckmaier R. M.: Gene expression of immunologically important factors in blood cells, milk cells, and mammary tissue of cows. *J. Dairy Sci.* 2003, 86, 538-545.
47. Politis J.: Plasminogen activator system: Implication for mammary cell growth and involution. *J. Dairy Sci.* 79, 1097-1107.
48. Pyörälä S.: Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. *Vet. Res.* 2003, 34, 565-568.
49. Pyörälä S., Pyörälä E.: Accuracy of methods using somatic cell count and N-acetyl-beta-D-glucosaminidase activity in milk to assess the bacteriological cure of bovine clinical mastitis. *J. Dairy Sci.* 1977, 80, 2820-2825.
50. Rambeaud M., Almeida R. A., Pighetti G. M., Oliver S. P.: Dynamics of leucocytes and cytokines during experimentally induced *Streptococcus uberis* mastitis. *Vet. Immunol. Immunopath.* 2003, 96, 193-205.
51. Raulo S. M., Sorsa T., Ternahartiala T., Latvanene T., Pirila E., Hirvonen J., Maisi P.: Increase in milk metalloproteinase activity and vascular permeability in bovine endotoxin-induced and naturally occurring *Escherichia coli* mastitis. *Vet. Immunol. Immunopath.* 2002, 85, 137-145.
52. Roux Le Y., Laurent F., Moussaoui F.: Polymorphonuclear proteolytic activity and milk composition change. *Vet. Res.* 2003, 34, 629-645.
53. Santos M. V., Ma Y., Barbano D. M.: Effect of somatic cell count on proteolysis and lipolysis in pasteurized fluid milk during shelf-life storage. *J. Dairy Sci.* 2003, 86, 2491-2503.
54. Schmedt auf der Günne., Tenhagen B.-A., Kutzer P., Forderung D., Heuwieler W.: Laktoferrin, Lysozym und das Laktoperoxidase-Thiozyanat-Wasserstoffperoxid-System (LPS) als Ursache negativer mikrobiologischer Befunde aus Mastitissekreten? *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.* 2002, 109, 300-305.
55. Schmitz S., Pfaffl M. W., Meyer H. H., Bruckmaier R. M.: Short-term changes of mRNA expression of various inflammatory factors and milk proteins in mammary tissue during LPS-induced mastitis. *Dom. Anim. Endocrinol.* 2004, 26, 111-126.
56. Spietsberg V. L.: Invited review. Bovine milk fat globule membrane as potential nutraceutical. *J. Dairy Sci.* 2005, 88, 2289-2294.
57. Steinman G.: Mechanisms of twinning. VII. Effect of diet and heredity on the human twinning rate. *J. Reprod. Med.* 2006, 51, 405-410.
58. Ślebodziński A., Malinowski E., Lipczak W.: Concentrations of triiodothyronine (T<sub>3</sub>), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and interleukin-6 (IL-6) in milk from healthy and naturally infected quarters of cows. *Res. Vet. Sci.* 2002, 72, 17-21.
59. Taylor B. C., Keefe R. C., Dellinger J. D., Nakamura Y., Cullor J. S., Stott J. L.: T cell populations and cytokine expression in bovine mammary glands. *Cell Immunol.* 1997, 182, 68-76.
60. Ushida Y., Shimokawa Y., Toida T., Matsui H., Takase M.: Bovine alpha-lactoglobulin stimulates mucus metabolism in gastric mucosa. *J. Dairy Sci.* 2007, 90, 541-546.
61. Weiss W. P., Hogan J. S., Smith K. L.: Changes in vitamin C concentrations in plasma and milk from dairy cows after intramammary infusion of *Escherichia coli*. *J. Dairy Sci.* 2004, 87, 32-37.
62. Willumsen J. E., Filteau S. M., Coutousid A., Uebel K. E., Nowell M. L., Tomkins A. M.: Subclinical mastitis as a risk factor for mother-infant HIV transmission. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2000, 478, 211-223.
63. Zabielski R.: Regulatory peptides in milk, food and the gastrointestinal lumen of young animals and children. *J. Anim. Feed Sci.* 1998, 7, 65-78.
64. Zank W., Schlatterer B.: Assessment of subacute mammary inflammation by soluble biomarkers in comparison to somatic cell counts in quarter milk samples from dairy cows. *Zentralbl. Veterinärmed.* 1998, 45, 41-51.
65. Zubeir El J. E., El Owni O. A., Mohamed G. E.: Effect of mastitis on macrominerals of bovine milk and blood serum. *J. S. Afr. Vet. Med. Assoc.* 2005, 76, 22-25.

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