

Biogeneza kuleczek tłuszczowych mleka

MICHAŁ SMO CZYŃSKI, BOGUSŁAW STANIEWSKI, KATARZYNA KIEŁCZEWSKA

Katedra Mleczarstwa i Zarządzania Jakością Wydziału Nauki o Żywności UWM, ul. Oczapowskiego 7, 10-719 Olsztyn

Smoczyński M., Staniewski B., Kielczewska K.

Biogenesis of the milk fat globules

Summary

Processes of milk fat biosynthesis and milk fat globules secretion are gaining increasing attention in recent years. Milk fat not only provides calories and nutritionally important components, but also greatly contributes to the organoleptic characteristics of dairy products. Milk fat globules are formed and secreted from mammary epithelial cells. The functioning and development of the mammary gland is a very complex process. The changes in hormonal levels upon each pregnancy cause the mammary epithelial cells to proliferate, differentiate and die due to apoptosis. The paper brings together current information regarding the regulation of the mammary gland development, regulation of milk fat synthesis, as well as characterizes key stages in the biosynthesis, formation and secretion of milk fat globules.

Keywords: milk, milk fat, mammary gland, milk fat globules

Procesy związane z biosyntezą tłuszczu mlekowego oraz formowaniem i wydzielaniem kuleczek tłuszczowych zyskują w ostatnich latach coraz większe zainteresowanie, m.in. ze względu na wpływ, jaki wywiera tłuszcz mlekowy na właściwości technologiczne i organoleptyczne produktów mleczarskich. Jednym z głównych kierunków badań związanych z gruczołem mlekowym jest określenie wpływu czynników środowiskowych na skład tłuszczu mlekowego. Skład triacylogliceroli zależy głównie od stadium laktacji oraz od sposobu żywienia krów. Poprzez modyfikowanie diety krowy możliwy jest wpływ na poziom takich istotnych składników, jak np. skoniugowany kwas linolowy (CLA) czy kwasy tłuszczowe omega-3 (16). Ważne żywieniowo składniki nie ograniczają się tylko do triacylogliceroli. W otocze kuleczek tłuszczowych mleka znajduje się również wiele biologicznie aktywnych składników, takich jak białka czy fosfolipidy, których właściwości funkcjonalne i żywieniowe nie zostały jeszcze dokładnie poznane (28). Wraz z rozwojem inżynierii genetycznej komórki gruczołu mlekowego coraz częściej brane są pod uwagę jako potencjalne bioreaktory do produkcji składników lub białek normalnie nie spotykanych w mleku (4).

Poznanie procesów biologicznych związanych z biosyntezą składników mleka jest niezbędne w celu świadomego modyfikowania i doskonalenia właściwości technologicznych oraz żywieniowych mleka i produktów mleczarskich. Celem niniejszego opracowania było omówienie aktualnego stanu wiedzy na temat re-

gulacji oraz kluczowych etapów biosyntezy tłuszczu mlekowego w gruczole mlekowym.

Regulacja biosyntezy tłuszczu mlekowego w gruczole mlekowym

Biosynteza tłuszczu mlekowego w formie kuleczek tłuszczowych zachodzi w komórkach nabłonkowych gruczołu mlekowego. Gruczoł mlekowy jest unikalnym gruczołem ssaków, wykształconym w toku ewolucji w celu odżywiania potomstwa. Wykazuje on niezwykłą umiejętność i wydajność w przekształcaniu substancji odżywczych w składniki mleka (4).

Procesy te muszą podlegać ściśle skoordynowanej kontroli. Mechanizmy regulujące funkcjonowanie gruczołu mlekowego i biosyntezę tłuszczu mlekowego nie są w dalszym ciągu dokładnie poznane i zdefiniowane, ale dzięki zastosowaniu takich metod, jak: modyfikacje genów u myszy, mikromacierze DNA, oznaczenie poziomu mRNA metodą PCR oraz metody bioinformatyczne, w ostatnich latach nastąpił znaczny postęp w rozumieniu tych procesów, również na poziomie komórkowym.

Gruczoł mlekowy jest złożoną i dynamiczną strukturą, której stan i organizacja zależą zarówno od wieku matki, jak i od występujących w środowisku hormonów. Pod wpływem zmian w poziomie hormonów podczas każdej ciąży podlega on cyklom rozwoju, laktacji i inwolucji, w czasie których komórki nabłonkowe proliferują, różnicują się, produkują mleko, a następnie umierają w procesie apoptozy (2). Zmiany

te zachodzą zarówno na poziomie morfologicznym, jak i komórkowym. Poziom estrogenów, progesteronu, glikokortykoidów, hormonu wzrostu i lokalnie wydzielanych czynników wzrostu kontroluje wydłużanie i rozgałęzianie się pierwotnych kanałów i przewodów pęcherzykowych gruczołu mlekowego. Zrazikowy i pęcherzykowy rozwój gruczołu podczas ciąży zachodzi pod wpływem zmian w poziomie estrogenów, progesteronu, laktogenu łożyskowego oraz prolaktyny. Prolaktyna i oksytocyna są natomiast kluczowe dla produkcji i wydzielania mleka podczas okresu laktacji (24).

Prolaktyna (PRL) jest jednym z głównych hormonów kontrolujących rozwój i różnicowanie się komórek gruczołu mlekowego. Jest to plejotropowy hormon peptydowy, zbudowany ze 193 aminokwasów i masie 23 kDa, wytwarzany głównie w przysadce mózgowej. Wykazano, że prolaktyna jest niezbędna zarówno do prawidłowego funkcjonowania gruczołu mlekowego, jak i ekspresji genów białek mleka (12). Prolaktyna poprzez przyłączenie do swojego receptora (PRLR) na powierzchni komórek gruczołu mlekowego powoduje jego dimeryzację. Dimeryzacja ta prowadzi do aktywacji tyrozynowej kinazy Janusowej, fosforylacji receptora, a następnie fosforylacji i dimeryzacji czynników transkrypcyjnych Stat 5a i Stat 5b. W tej formie czynniki te mogą przemieścić się do jądra komórkowego i poprzez przyłączenie do odpowiednich regulatorowych sekwencji DNA aktywują geny białek mleka (17). Prolaktyna i glikokortykoidy poprzez asocjacje z czynnikami Stat 5a i Stat 5b mogą również bezpośrednio uczestniczyć w tej aktywacji (8). Prolaktyna może pełnić znacznie więcej funkcji, ponieważ wykrywana jest w mleku i gruczole mlekowym w różnych formach wynikających z proteolitycznego rozpadu czy też modyfikacji enzymatycznych. Wszystkie te formy mogą być funkcjonalnie istotne (27).

Oksytocyna jest hormonem odpowiedzialnym za wydzielanie mleka, czyli opróżnianie gruczołu mlekowego. Wiązanie się oksytocyny z receptorami na powierzchni komórek mięśniowo-nabłonkowych wywołuje skurcz mięśni gładkich i wydzielenie mleka. Wykazano, że hormon ten nie jest niezbędny do prawidłowego rozwoju gruczołu mlekowego, jednakże przy jego braku mleko nie jest wydzielane, a gruczoł mlekowy szybko podlega inwolucji (19).

Biosynteza tłuszczu mlekowego jest złożonym procesem, wymagającym skoordynowanej kontroli wielu procesów komórkowych oraz szlaków metabolicznych, zachodzących na poszczególnych etapach rozwoju i funkcjonowania gruczołu mlekowego. Procesy te regulowane są poprzez tzw. sieci genowe, będące układem wzajemnych interakcji i zależności pomiędzy czynnikami transkrypcyjnymi oraz innymi elementami regulatorowymi mającymi wpływ na ekspresję określonych genów (5, 18, 26). O ile wzajemne zależności pomiędzy czynnikami transkrypcyjnymi regulującymi biosyntezę tłuszczu nie zostały dokładnie określone, zidentyfikowano szereg kluczowych elementów

odgrywających prawdopodobnie nadrzędną rolę w tej regulacji.

Do najistotniejszych czynników regulujących biosyntezę tłuszczu i funkcjonowanie gruczołu mlekowego zalicza się białka: SREBP, INSIG1 i PPAR γ .

Białka należące do rodziny białek SREBP są czynnikami transkrypcyjnymi wiążącymi sterolowy element regulacyjny (sterol regulatory element-binding proteins – SREBP). Regulują one ekspresję genów związanych z homeostazą lipidową i cholesterolową. U ssaków występują trzy izoformy tego białka: SREBP-1a, SREBP-1c i SREBP-2 (14). SREBP-1a wykazuje najszersze spektrum oddziaływania, ponieważ aktywuje geny związane z syntezą zarówno cholesterolu, kwasów tłuszczowych, jak i triacylogliceroli. SREBP-1c preferencyjnie aktywuje geny związane z syntezą kwasów tłuszczowych, ale nie cholesterolu, natomiast SREBP-2 wpływa głównie na syntezę cholesterolu (7). Białka te występują w nieaktywnej formie w błonie *reticulum* endoplazmatycznego (ER). Zawierają one domenę oddziałującą z DNA oraz domenę regulatorową. Z domeną regulatorową oddziałuje białko SCAP (SREBP cleavage activating protein – białko aktywujące hydrolizę SREBP), które pełni funkcję sensora reagującego na poziom cholesterolu. W przypadku gdy poziom cholesterolu ulega obniżeniu, białko SCAP eskortuje białko SREBP do aparatu Golgiego, gdzie pod wpływem pozostających tam dwóch specyficznych proteaz uwolniona zostaje domena oddziałująca z DNA. Fragment ten po dimeryzacji przemieszcza się do jądra i po przyłączeniu do promotorowych regionów DNA aktywuje całą grupę genów odpowiedzialnych za syntezę cholesterolu, kwasów tłuszczowych, triacylogliceroli, fosfolipidów oraz również NADPH, jako niezbędnego kofaktora do syntezy tych związków (14).

INSIG1 (insulin-induced gene 1 protein – indukowane przez insulinę białko genu 1) jest białkiem wiążącym oksysterole (ale nie cholesterol), mogącym blokować aktywację białka SREBP. Bionaz i wsp. (5), stwierdzili wysoki poziom mRNA dla tego białka w okresie laktacji, co może sugerować istotną rolę tego czynnika w regulacji ekspresji izoform białek SREBP oraz w regulacji metabolizmu lipidów w gruczole mlekowym.

Kolejnym kluczowym elementem regulującym metabolizm lipidów w gruczole mlekowym może być białko PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ – receptor aktywowany przez proliferatory peroksyosomów γ). Białko to bierze udział w procesach różnicowania adipocytów, a jego ekspresja stymulowana może być zarówno przez insulinę, jak i SREBP-1. Należy do czynników transkrypcyjnych aktywowanych czynnikami lipofilowymi, regulującym ekspresję genów związanych z metabolizmem tłuszczów, białek i węglowodanów (31).

Anderson i wsp. (1) oprócz SREBP-1c wskazują na istotną rolę serynowo-treoninowej kinazy białkowej

AKT1 w regulacji biosyntezy składników mleka. Kinaza ta pełni kluczową rolę w wielu procesach, takich jak: wzrost i proliferacja komórek, metabolizm glukozy, apoptoza czy procesy transkrypcji. Poprzez fosforylację reszt treoniny i seryny w białku SREBP może regulować jego aktywność, wpływając na ubikwitynozależną degradację tego białka (29).

Białko PAS VI/VII (laktadheryna, MFG E-8), występujące w otoczeniu kuleczek tłuszczowych odgrywa z kolei istotną rolę podczas involucji gruczołu mlekowego. Białko to wykazuje wysoki poziom ekspresji nawet w okresie późnej laktacji. Poprzez wiązanie fosfatydyloseryny na powierzchni komórek apoptotycznych umożliwia ich szybką fagocytozę przez makrofagi (2).

Mechanizmy regulujące funkcjonowanie gruczołu mlekowego i biosyntezę tłuszczu mlekowego na poziomie komórkowym pozostają w dużej mierze niewyjaśnione. Dodatkowo regulacja ta nie ogranicza się tylko do wzajemnych oddziaływań pomiędzy czynnikami transkrypcyjnymi i elementami regulatorowymi, ale również obejmuje takie mechanizmy, jak: modyfikacje potranskrypcyjne, regulację biosyntezy białka i modyfikacje potranslacyjne oraz zmiany w kondensacji chromatyny (modyfikacje histonów) i strukturze chromosomów.

Wybrane aspekty biosyntezy tłuszczu mlekowego w gruczole mlekowym

Procesy związane z metabolizmem lipidów i prowadzące do biosyntezy tłuszczu mlekowego obejmują szereg etapów. Jednym z głównych składników tłuszczu mlekowego są kwasy tłuszczowe. Ich źródłem może być pożywienie lub mogą pochodzić z tkanki tłuszczowej matki. Oprócz tego część kwasów tłuszczowych (głównie nasyconych o 10-14 atomach węgla) może być syntetyzowana *de novo* w wątrobie, gruczole mlekowym lub innych tkankach (16).

Istotną cechą metabolizmu lipidów jest niezdolność triacylogliceroli do przekraczania błony komórkowej (21). Proces trawienia składników tłuszczowych pożywienia zapoczątkowany jest w żołądku pod wpływem lipazy żołądkowej, jednak główne etapy tego procesu zachodzą pod wpływem lipazy trzustkowej i kwasów żółciowych w dwunastnicy oraz w jelicie cienkim pod wpływem lipazy jelitowej. Uwolnione kwasy tłuszczowe po wchłonięciu przez kosmki jelitowe w jelicie cienkim ulegają reestryfikacji do triacylogliceroli i w formie chylomikronów dostarczane są do gruczołu mlekowego (30). W okresach niedoborów tłuszczu w pożywieniu triacyloglicerole są transportowane do gruczołu mlekowego z wątroby w formie VLDL (very low density lipoproteins – lipoproteiny o bardzo małej gęstości). Kwasy tłuszczowe mogą być również transportowane w organizmie w formie niezestryfikowanej, w połączeniu z albuminą (3). Głównym białkowym składnikiem zarówno chylomikronów, jak i cząstek VLDL jest apolipoproteina B. Oprócz funkcji

strukturalnych, poprzez oddziaływanie z receptorem lipoproteinowym pełni ona również funkcje regulujące pobieranie triacylogliceroli przez komórki (6, 30). Na powierzchni komórek gruczołu mlekowego oprócz receptora lipoproteinowego znajduje się również lipaza lipoproteinowa (LPL) (9). Jest to kluczowy enzym regulujący gospodarkę lipidową organizmu. Podczas laktacji poziom LPL zwiększa się w gruczole mlekowym, natomiast maleje w tkance tłuszczowej, wskazując na zwiększoną utylizację kwasów tłuszczowych w gruczole mlekowym (25). Pod wpływem LPL następuje hydroliza triacylogliceroli i uwolnione zostają kwasy tłuszczowe, które muszą przemieścić się do wnętrza komórki. Przekroczenie błony komórkowej przez kwasy tłuszczowe może zachodzić samistnie (wg mechanizmu flip-flop z ew. udziałem flipaz) lub też z pomocą białkowych przENOŚNIKÓW. Istotną rolę w imporcie kwasów tłuszczowych do komórki może odgrywać białko CD36 (5). Po przekroczeniu błony kwasy tłuszczowe ulegają aktywacji poprzez utworzenie acylokoenzymu A. Reakcja ta, zachodząca pod wpływem syntetazy acylo-CoA (long chain fatty acid synthase), oprócz aktywacji zatrzymuje kwasy tłuszczowe w komórce (21). Następnie aktywowane kwasy tłuszczowe po przyłączeniu do specyficznych cytozolowych FABP (fatty acid binding protein – białko wiążące kwasy tłuszczowe) transportowane są do wewnątrzkomórkowych organelli celem dalszych przemian. W zależności od potrzeb komórki kwasy tłuszczowe mogą ulegać desaturacji pod wpływem desaturazy stearoilo-CoA (SCD), ulegać przekształceniu do triacylogliceroli, fosfolipidów czy też estrów cholesterolu (5). Enzymy przeprowadzające acylację glicero-3-fosforanu do kwasu lizofosfatydowego, a następnie kwasu fosfatydowego obecne są zarówno w błonie mitochondrium, jak i w mikrosomach. Wykazano, że aktywność tych enzymów (ich różnych izoform) regulowana jest w dużym stopniu przez kompleksy kwasów tłuszczowych z FABP (21), tym samym determinując ich dalszy kierunek przemian. Kompleksy te mogą również wpływać na ekspresję genów poprzez oddziaływanie z PPAR γ (5).

Formowanie i wydzielanie kuleczek tłuszczowych

Powstawanie kropelek tłuszczowych w cytoplazmie związane jest z *reticulum* endoplazmatycznym. Triacyloglicerole gromadzą się na powierzchni lub wewnątrz błony *reticulum*. Poprzez tworzenie „wybrzuszenia” mogą oddzielać się od jego błony i następnie przechodzić do cytoplazmy, otoczone zewnętrzną cytozolową częścią tej błony, zawierającą polarne lipidy i białka (13). Ten płaszcz oddziela rdzeń lipidowy kropelki tłuszczu od wnętrza komórki. Małe kropelki zlewają się w cytoplazmie z innymi i powiększają się, tworząc kropelki o różnych wielkościach. Mechanizmy regulujące ten proces pozostają niewyjaśnione, przy czym stwierdzono, że małe kropelki mogą ulegać zlewaniu się w większe, natomiast duże nie ule-

gają fuzji. Wskazuje to na udział specyficznych regulatorów w tym procesie, a taką rolę mogą odgrywać jony wapnia, gangliozydy i wysokocząsteczkowe białko pochodzące z cytozolu komórki (13). Następnie kropelki według nieznanego mechanizmu transportowane są do apikalnej części błony komórki wydzielniczej. Stwierdzono wysoką zawartość mikrotubuli, mikrofilamentów aktynowych i filamentów pośrednich w rejonach apikalnych komórek wydzielniczych (10, 23) oraz obecność w wewnątrzkomórkowych kuleczkach tłuszczowych białek oddziaływujących ze szkieletem cytoplazmatycznym (32). Stąd prawdopodobny wydaje się udział elementów cytoszkieletu w wewnątrzkomórkowym transporcie kropelek tłuszczowych.

Następnie kropelki tłuszczowe wydzielane są na zewnątrz komórki według prawdopodobnie unikalnego mechanizmu, różnego od klasycznej egzocytozy. W procesie tym otaczane są one błoną komórkową pochodzącą z zewnętrznej, apikalnej części komórki wydzielniczej, w ten sposób zyskując dodatkową dwuwarstwę lipidową (20). Zawiera ona szereg białek błonowych, z których część bierze udział w wydzielaniu kropelek tłuszczowych. Istotną rolę mogą odgrywać butyrofilina i dehydrogenaza/oksydaza ksantynowa (XDH). Stwierdzono, że białka te współdziałają podczas wydzielania kropelek tłuszczowych, gdyż m.in. występują w stałych stosunkach molowych w otoczce kuleczek tłuszczowych (13). W przypadku gdy butyrofilina związana jest z błoną komórki, a XDH jest enzymem cytozolowym, podczas wydzielania kropelki tłuszczowej dochodzić może do interakcji pomiędzy cytozolową częścią butyrofiliny a XDH i powstawania na powierzchni kropelki kompleksów z udziałem wiązań disiarczkowych. Adipofilina (ADPH) może również brać udział w tym mechanizmie oddziaływaniach i tworzeniu płaszcza białkowego na powierzchni kropelki (13, 22). Kompleksy te mogą zapoczątkowywać proces otaczania kropelki błoną i wydzielania na zewnątrz komórki. Dodatkowo potwierdza to obecność izomerazy disulfidowej w wewnątrzkomórkowych kropelkach tłuszczowych (11, 32). W ten sposób w wydzielonej kuleczce tłuszczowej wyróżnić można, zaczynając od środka: monowarstwę polarnych lipidów i białek otaczających wewnątrz, czyli rdzeń lipidowy, następnie warstwę białkową, czyli tzw. płaszczy białkowy, występujący w przestrzeni międzybłonowej oraz otaczającą całą kuleczkę tłuszczową rzeczywistość, zewnętrzną dwuwarstwę lipidową, składającą się z białek, glikoprotein, enzymów, niepolarnych i polarnych lipidów oraz fosfolipidów (15).

Procesy związane z regulacją funkcjonowania gruczołu mlekowego, biosyntezą tłuszczu i prowadzące do wydzielania kuleczek tłuszczowych są wyjątkowo złożone i w dużej mierze pozostają niewyjaśnione. Prowadzą do wytworzenia wysoce zorganizowanej struktury, jaką jest kuleczka tłuszczowa oraz jej otoczka. Poznanie zależności pomiędzy strukturą kuleczki

a jej właściwościami funkcjonalnymi pozwoli na lepsze wykorzystanie potencjału żywieniowego składników mleka oraz lepsze odżywianie.

Piśmiennictwo

1. Anderson S. M., Rudolph M. C., McManaman J. L., Neville M. C.: Secretory activation in the mammary gland: it's not just about milk protein synthesis. *Breast Cancer Res.* 2007, 9, 204.
2. Aoki N.: Regulation and functional relevance of milk fat globules and their components in the mammary gland. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2006, 70, 2019-2027.
3. Ashbrook J. D., Spector A. A., Santos E. C., Fletcher J. E.: Long chain fatty acids binding to human plasma albumin. *J. Biol. Chem.* 1975, 250, 2333-2338.
4. Bauman D. E., Mather I. A., Wall R. J., Lock A. L.: Major advances associated with the biosynthesis of milk. *J. Dairy Sci.* 2006, 89, 1235-1243.
5. Bionaz M., Looor J. J.: Gene networks driving bovine milk fat synthesis during the lactation cycle. *BMC Genomics* 2008, 9, 366.
6. Bolanos-Garcia V. M., Miguel R. N.: On the structure and function of apolipoproteins: more than a family of lipid-binding proteins. *Prog. Biophys. Mol. Bio.* 2003, 83, 47-68.
7. Brown M. S., Goldstein J. L.: The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor. *Cell* 1997, 89, 331-340.
8. Cella N., Groner B., Hynes N. E.: Characterization of Stat5a and Stat5b homodimers and heterodimers and their association with the glucocorticoid receptor in mammary cells. *Mol. Cell. Biol.* 1998, 18, 1783-1792.
9. Fielding B. A., Frayn K. N.: Lipoprotein lipase and the disposition of dietary fatty acids. *Brit. J. Nutr.* 1998, 80, 495-502.
10. Franke W. W., Schmidt E., Freudenstein C., Appelhans B., Osborn M., Weber K., Keenan T. W.: Intermediate-sized filaments of the prekeratin type in myoepithelial cells. *J. Cell Biol.* 1980, 84, 633-654.
11. Ghosal D., Shappell, Keenan T. W.: Endoplasmic reticulum lumenal proteins of rat mammary gland. Potential involvement in lipid droplet assembly during lactation. *Biochim. Biophys. Acta* 1994, 1200, 175-181.
12. Gouilleux F., Wakao H., Mundi V., Groner B.: Prolactin induces phosphorylation of Tyr694 of STAT5 (MFG), a prerequisite for DNA binding and induction of transcription. *EMBO J.* 1994, 13, 4361-4369.
13. Heid H. W., Keenan T. W.: Intracellular origin and secretion of milk fat globules. *Eur. J. Cell Biol.* 2005, 84, 245-258.
14. Horton J. D., Goldstein J. L., Brown M. S.: SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *J. Clin. Invest.* 2002, 109, 1125-1131.
15. Keenan T. W.: Milk lipid globules and their surrounding membrane: A brief history and perspectives for future research. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia* 2001, 6, 365-371.
16. Koletzko B., Rodriguez-Palermo M., Demmelmair H., Fidler N., Jensen R., Sauerwald T.: Physiological aspects of human milk lipids. *Early Hum. Dev.* 65 Suppl., 2001, 3-18.
17. Lebrun J. J., Ali S., Sofer L., Ullrich A., Kelly P. A.: Prolactin-induced proliferation of Nb2 cells involves tyrosine phosphorylation of the prolactin receptor and its associated tyrosine kinase JAK2. *J. Biol. Chem.* 1994, 269, 14021-14026.
18. Lemay D. G., Neville M. C., Rudolph M. C., Pollard K. S., German J. B.: Gene regulatory networks in lactation: identification of global principles using bioinformatics. *BMC Syst. Biol.* 2007, 1, 56.
19. Lollivier V., Guinard-Flament J., Ollivier-Bousquet M., Marnet P. G.: Oxytocin and milk removal: to important sources of variation in milk production and milk quality during and between milking. *Reprod. Nutr. Dev.* 2002, 42, 173-186.
20. Mather I. H., Keenan T. W.: Origin and secretion of milk lipids. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia* 1998, 3, 259-273.
21. McArthur M. J., Atshaves B. P., Frolov A., Foxworth W. D., Kier A. B., Schroeder F.: Cellular uptake and intracellular trafficking of long chain fatty acids. *J. Lipid Res.* 1999, 40, 1371-1383.
22. McManaman J. L., Russell T. D., Schaack J., Orlicky D. J., Robenek H.: Molecular determinants of milk lipid secretion. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia* 2007, 12, 259-268.
23. Nickerson S. C., Keenan T. W.: Distribution and orientation of microtubules in milk secreting epithelial cells of rat mammary gland. *Cell Tissue Res.* 1979, 202, 303-312.
24. Ollivier-Bousquet M., Devinoy E.: Physiology of lactation: Old questions, new approaches. *Livest. Prod. Sci.* 2005, 98, 163-173.
25. Rogers M. P., Zhao X.: Lipoprotein lipase mRNA levels in adipose tissue in lactation. *Biochem. Soc. Trans.* 1996, 24, 169S.

26. Rudolph M. C., McManaman J. L., Phang T., Russell T., Kominsky D. J., Serkova N. J., Stein T., Anderson S. M., Neville M. C.: Metabolic regulation in the lactating mammary gland: a lipid synthesizing machine. *Physiol. Genomics* 2007, 28, 323-336.
27. Sinha Y. N.: Structural variants of prolactin: occurrence and physiological significance. *Endocr. Rev.* 1995, 16, 354-369.
28. Spitsberg V. L.: Bovine milk fat globule membrane as a potential nutraceutical. *J. Dairy Sci.* 2005, 88, 2289-2294.
29. Sundqvist A., Goechea-Alonso M. T., Ye X., Lukiyanchuk V., Jin J., Harper J. W., Ericsson J.: Control of lipid metabolism by phosphorylation-dependent degradation of the SREBP family of transcription factors by SCFF^{bw7}. *Cell Metab.* 2005, 1, 379-391.
30. Uchida T., Onda K., Bonkobara M., Thongsong B., Matsuki N., Inaba M., Ono K.: Utilization of intestinal triglyceride-rich lipoproteins in mammary gland of cows. *J. Vet. Med. Sci.* 1999, 61, 1143-1146.
31. Wan Y., Saghatelian A., Chong L. I., Zhang C. L., Cravatt B. F., Evans R. M.: Maternal PPAR α protects nursing neonates by suppressing the production of inflammatory milk. *Gene Dev.* 2007, 21, 1895-1908.
32. Wu C. C., Howell K. E., Neville M. C., Yates III J. R., McManaman J. L.: Proteomics reveal a link between the endoplasmic reticulum and lipid secretory mechanisms in mammary epithelial cells. *Electrophoresis* 2000, 21, 3470-3482.

Adres autora: dr inż. Michał Smoczyński, ul. Oczapowskiego 7, 10-719 Olsztyn; e-mail: michal.smoczynski@uwm.edu.pl