

Jakość 1 (80) 116-127. **87. Qu D., Zhou X., Yang F., Tian S., Zhang X., Ma L., Han J.**, 2017 – Development of class model based on blood biochemical parameters as a diagnostic tool of PSE meat. *Meat Sci.* 128, 24-29. **88. Richards M.P.**, 2013 – Redox reactions of myoglobin. *Antioxid. Redox Signaling* 18 (17), 2342-2351. **89. Robergs R.A., Ghisavand F., Parker D.**, 2004 – Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. *Am. J. Physiol.: Regul., Integr. Comp. Physiol.* 287 (3), R502-16. **90. Rojas J.E., Wilches M.A., Cepeda L.A., Garcés M.F., Suarez M.A., Baldrich R.M., Vélez C.A., Guerrero M.F., García M.R., Moreno I.H., Bravo S.B., Omelka R., Caminos J.E.**, 2008 – Molecular diagnostics of porcine stress syndrome susceptibility associated with the Arg615Cys mutation using real-time PCR with fluorescent hybridization probes. *Rev. Colomb. Anestesiología.* 36 (1), 11-18. **91. Rosenberg H., Pollock N., Schiemann A., Bulger T., Stowell K.**, 2015 – Malignant hyperthermia: a review. *Orphanet J. Rare Dis.* 10, 93. **92. Rosenvold K., Andersen H.J.**, 2003 – Factors of significance for pork quality – a review. *Meat Sci.* 64 (3), 219-237. **93. Rosenvold K., Lærke H.N., Jensen S.K., Karlsson A.H., Lundström K., Andersen H.J.**, 2001 – Strategic finishing feeding as a tool in the control of pork quality. *Meat Sci.* 59 (4), 397-406. **94. Schäfer A., Rosenvold K., Purslow P.P., Andersen H.J., Henckel P.**, 2002 – Physiological and structural events post mortem of importance for drip loss in pork. *Meat Sci.* 61 (4), 355-366. **95. Scheffler T.L., Gerrard D.E.**, 2007 – Mechanisms controlling pork quality development: The biochemistry controlling postmortem energy metabolism. *Meat Sci.* 77 (1), 7-16. **96. Scheffler T.L., Park S., Gerrard D.E.**, 2011 – Lessons to learn about postmortem metabolism using the AMPK γ 3R200Q mutation in the pig. *Meat Sci.* 89 (3), 244-250. **97. Shen Q.W., Underwood K.R., Means W.J., McCormick R.J., Du M.**, 2007 – The halothane gene, energy metabolism, adenosine monophosphate-activated protein kinase, and glycolysis in postmortem pig longissimus dorsi muscle. *J. Anim. Sci.* 85 (4), 1054-1061. **98. Shen Q.W., Means W.J., Thompson S.A., Underwood K.R., Zhu M.J., McCormick R.J., Ford S.P., Du M.**, 2006 – Pre-slaughter transport, AMP-activated protein kinase, glycolysis, and quality of pork loin. *Meat Sci.* 74 (2), 388-395. **99. Sieczkowska H., Koćwin-Podsiadła M., Zybert A., Krzęcio E., Antosik K., Kamiński S., Wójcik E.**, 2010 – The association between polymorphism of PKM2 gene and glycolytic potential and pork meat quality. *Meat Sci.* 84 (1), 180-185. **100. Sieczkowska H., Andrzejczuk A., Zybert A., Krzęcio-Nieczyporuk E., Antosik K., Tarczyński K., Koćwin-Podsiadła M.**, 2017 – Przydatność kryteriów diagnozujących klasy jakości mięsa wieprzowego do szacowania cech przydatności kulinarniej mięsa. *Rocz. Nauk. PTZ* 13 (3), 53-62. **101. Sionek B., Przybylski W.**, 2015 – Wpływ czynników środowiskowych na poziom gliko-

geny w mięśniach zwierząt rzeźnych. *Żywn. Nauka Technol.* Jakość 1 (98), 35-48. **102. Strydom P.E., Jaworska D., Kołożyn-Krajewska D.**, 2016 – Meat quality of slaughter animals. [W:] *Meat Quality: Genetic and Environmental Factors* (ed. Przybylski W., Hopkins D.), 31-80. **103. Strzyżewski T., Bilska A., Krystofiak K.**, 2008 – Zależność pomiędzy wartością pH mięsa a jego barwą. *Nauka Przyr. Technol.* 2 (2) #12. **104. Sybesma W., Eikelenboom G.**, 1978 – Methods of predicting pale, soft, exudative pork and their application in breeding programmes – A review. *Meat Sci.* 2 (2), 79-90. **105. Teresz-kiewicz K., Molenda P., Choroszy K., Kulig Ł.**, 2017 – Warunki transportu i kondycja tuczników z dostaw bezpośrednich do zakładów ubojowych na Podkarpaciu. *Autobusy: technika, eksploatacja, systemy transportowe* 18 (6), 1574-1578. **106. Vermeulen L., van de Perre V., Permentier L., De Bie S., Verbeke G., Geers R.**, 2015 – Pre-slaughter handling and pork quality. *Meat Sci.* 100, 118-123. **107. Vermeulen L., van de Perre V., Permentier L., De Bie S., Verbeke G., Geers R.**, 2015 – Sound levels above 85dB pre-slaughter influence pork quality. *Meat Sci.* 100, 269-274. **108. Warner R.**, 2014 – Measurement of water-holding capacity and color: objective and subjective. [W:] *Encyclopedia of Meat Sciences* (ed. Dikeman M., Devine C.), 164-171. **109. Warner R.**, 2016 – Meat: conversion of muscle into meat. [W:] *Encyclopedia of Food and Health* (ed. Caballero B., Finglas P.M., Toldrá F.), Academic Press, 677-684. **110. Warner R.D., Kauffman R.G., Greaser M.L.**, 1997 – Muscle protein changes post mortem in relation to pork quality traits. *Meat Sci.* 45 (3), 339-352. **111. Wilson G.G., van Laack R.L.J.M.**, 1999 – Sarcoplasmic proteins influence water-holding capacity of pork myofibrils. *J. Sci. Food Agric.* 79 (13), 1939-1942. **112. Wu S., Ibarra M.C.A., Malicdan M.C.V., Murayama K., Ichihara Y., Kikuchi H., Nonaka I., Noguchi S., Hayashi Y.K., Nishino I.**, 2006 – Central core disease is due to RYR1 mutations in more than 90% of patients. *Brain* 129 (6), 1470-1480. **113. Xiong Y.L., Dikeman M., Devine C.**, 2014 – Protein functionality. [W:] *Encyclopedia of Meat Sciences – Second ed.* (ed. Dikeman M., Devine C.), 267-273. **114. Yu T.Y., Morton J.D., Clerens S., Dyer J.M.**, 2017 – Cooking-induced protein modifications in meat. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 16 (1), 141-159. **115. Zhu L.G., Brewer M.S.**, 1998 – Metmyoglobin reducing capacity of fresh normal, PSE, and DFD pork during retail display. *J. Food Sci.* 63 (3), 390-393. **116. Zimecki M., Artym J.**, 2004 – Wpływ stresu psychicznego na odpowiedź immunologiczną. *Postępow. Hig. Med. Dośw.* 58, 166-175. **117. Żelechowska E., Przybylski W., Jaworska D., Santé-Lhoutellier V.**, 2012 – Technological and sensory pork quality in relation to muscle and drip loss protein profiles. *Eur. Food Res. Technol.* 234 (5), 883-894.

Lipokalina-2 – potencjalny marker molekularny zdrowotności wymienia?

Joanna Pokorska, Dominika Kułaj,
Andrzej Ochrem

Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Instytut Nauk o Zwierzętach,
Zakład Hodowli Bydła

Lata doskonalenia bydła mlecznego w kierunku zwiększonej wydajności mlecznej doprowadziły do nadprodukcji mleka i produktów mlecznych. Obecnie zainteresowanie konsumenta przenosi się na żywność o bardzo dobrej jakości. Aby otrzymać mleko wysokiej jakości konieczne jest zapewnienie odpowiednich warunków środowiskowych utrzymywanym krowom oraz higienicznych warunków pozyskiwania tego su-

rowca. Niespełnienie tych kryteriów może prowadzić do stanów zapalnych wymienia, które negatywnie wpływają na jakość mleka. Oprócz czynników środowiskowych, na zwiększenie odporności krow na stany zapalne mają wpływ czynniki genetyczne. Dlatego prowadzone są intensywne badania mające na celu identyfikację markerów genetycznych związanych ze stanem zdrowia wymienia, a w szczególności z odpornością na *mastitis* oraz takich, które oprócz poprawy zdrowotności wymienia będą korzystnie wpływały na cechy jakościowe mleka [2, 3, 16]. Takim markerem mogłaby się stać lipokalina-2.

Lipokalina-2 (LCN2) wchodzi w skład lipokalin – dużej grupy niewielkich, zewnątrzkomórkowych białek ludzkich, zwierzęcych i roślinnych o masie ok. 18-20 kDa [1, 5], które należą do nadrodziny kalicyn [10]. Zwierzęce lipokaliny to grupa bardzo zróżnicowanych białek, które charakteryzują się podobną budową trzeciorzędową oraz wysoce konserwatywną strukturą aminokwasową motywów (SCR – ang. *short conserved region*) [15]. Lipokaliny wykazują zdolność do wiązania i transportowania małych, hydrofobowych cząsteczek oraz charakteryzują się dużym zróżnicowaniem funkcjonalnym. Biorą udział w procesach regulacji starzenia się komórek, ich różnicowaniu oraz modelowaniu odpowiedzi immunologicznej [11]. Lipokalina-2 (LCN2, znana również jako NGAL – ang. *neutrophil*

gelatinase-associated lipocalin) może występować w postaci monomerów lub związana kowalentnie z metaloproteinazą (MMP-9) w ziarnistościach neutrofilii [14]. LCN2 ma zdolność wiązania enterocheliny, nośnika o bardzo wysokim powinowactwie do żelaza [8]. Zdolność LCN2 do wiązania żelaza jest niezwykle ważna w procesach odpornościowych. Podczas infekcji bakterie syntetyzują siderofory, wyłapujące żelazo niezbędne do ich wzrostu z przestrzeni pozakomórkowej, co powoduje niedobór żelaza niezbędnego do prawidłowego działania komórek wrodzonej odpowiedzi immunologicznej. Siderofory wytwarzane są przez prawie wszystkie bakterie, także te najbardziej rozpowszechnione, jak *Escherichia coli* czy *Staphylococcus aureus* [6, 7]. W odpowiedzi na związany z infekcją niedobór żelaza organizm syntetyzuje m.in. lipokaliny-2, która wiąże i unieszkodliwia siderofory, co ogranicza bakteriom dostęp do żelaza i przez to uniemożliwia im wzrost, stąd LCN2 działa jak naturalny bakteriostatyk [12]. Wykazano, że myszy z niedoborem LCN2 były istotnie bardziej podatne na infekcje i sepsę, wywołane przez *Escherichia coli* [9]. Właściwości antybakteryjne lipokaliny-2 zostały wykazane również przeciwko innym bakteriom, jak chociażby *Staphylococcus aureus* [4, 17]. Badania kliniczne wykazały, że u ssaków stężenie lipokaliny-2 gwałtownie wzrasta w ostrych zakażeniach bakteryjnych oraz stanach zapalnych [19, 21].

Bakterie *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* i *Streptococcus agalactiae* są najważniejszym czynnikiem etiologicznym *mastitis* w stadach bydła mlecznego [13]. Schorzenie to od lat stanowi główną przyczynę strat ekonomicznych w hodowli krów mlecznych. Stosowane terapie antybiotykowe, zwłaszcza w leczeniu klinicznej postaci *mastitis*, wykazują zróżnicowaną skuteczność (co wynika z narastania oporności bakterii na antybiotyki). Eliminacja bakterii wymaga, oprócz efektywnego antybiotyku, także dobrze działającego systemu obronnego gruczołu mlekowego. Dlatego też odporność na *mastitis* uwzględnia się obecnie w programach hodowlanych oraz prowadzi się intensywne poszukiwania nowych markerów molekularnych, które mogłyby wspomóc prace hodowlane prowadzące do eliminacji *mastitis* ze stad bydła mlecznego. Sharma i wsp. [20] wykazali, że wprowadzenie ludzkiego genu lipokaliny-2 (hLCN2) za pośrednictwem plazmidu do macierzystych komórek nabłonkowych wymienia krów było źródłem syntetyzowanej przez komórki wymienia hLCN2 i prowadziło do zwiększenia ochrony wymienia przeciwko głównym bakteriom wywołującym *mastitis*. Jak dotąd nie ma doniesień naukowych, w których próbowano by powiązać zmiany w budowie nukleotydowej genu lipokaliny-2 z odpornością/podatnością krów na *mastitis*.

Z badań własnych wynika (dane nieopublikowane), że mutacje typu SNP w odcinkach kodujących, jak i niekodujących bydlęcego genu LCN-2 istotnie wpływały na średnią zawartość komórek somatycznych, znormalizowaną do współczynnika SCS (ang. *somatic cell score*) w mleku krów. Poziom komórek somatycznych w mleku uważany jest za jeden z podstawowych wskaźników zdrowotności wymienia. W mleku pochodzącym od zdrowych krów liczba komórek somatycznych wynosi poniżej 200 tys./ml. Schepers i wsp. [18] uważają tę liczbę komórek somatycznych za wartość progową między zdrowym a chorym wymieniem. Podwyższona liczba komórek somatycznych (SCC) w mleku krów jest odpowiedzią na wtargnięcie patogenów chorobotwórczych i toczący się w wymieniu stan zapalny, dlatego SCC (lub znormalizowany ich rozkład wyrażany w SCS) jest wykorzystywany w diagnozowaniu *mastitis*. Wydaje się, że ze względu na istotną rolę w odpowiedzi układu immunologicznego na patogeny lipokalina-2 mogłaby w przyszłości wspomóc monitoring stanów zapalnych wymienia, zwłaszcza formy podklinicznej, oraz stać się markerem dla *mastitis*. Wymaga to jednak określenia referencyjnego stężenia tego białka w płynach ustrojowych

bydła oraz przeprowadzenia badań klinicznych umożliwiających określenie zmian w stężeniu LCN2 w stanach zapalnych wymienia. Dodatkowo, szczegółowa analiza molekularna zmian polimorficznych w genie lipokaliny-2 mogłaby w przyszłości pomóc w określeniu predyspozycji do *mastitis* i być wykorzystana w doborze par do rozplodu.

Literatura: 1. Akerstrom B., Flower D.R., Salier J.P., 2000 – Lipocalins: unity in diversity. *Biochimica et Biophysica Acta* 1482 (1-2), 1-8. 2. Beecher C., Daly M., Childs S., Berry D.P., Magee D.A., McCarthy T.V., Giblin L., 2010 – Polymorphisms in bovine immune genes and their associations with somatic cell count and milk production in dairy cattle. *BMC Genetics* 5, 11, 99. 3. Bhattarai D., Chen X., Ur Rehman Z., Hao X., Ullah F., Dad R. et al., 2017 – Association of MAP4K4 gene single nucleotide polymorphism with mastitis and milk traits in Chinese Holstein cattle. *J. Dairy Res.* 84 (1), 76-79. 4. Breyne K., Steenbrugge J., Demeyere K., Vanden Berghe T., Meyer E., 2017 – Preconditioning with lipopolysaccharide or lipoteichoic acid protects against *Staphylococcus aureus* mammary infection in mice. *Frontiers in Immunology* 8, 833. 5. Charron J.B., Ouellet F., Pelletier M., Danyluk J., Chauve C., Sarhan F., 2005 – Identification, expression, and evolutionary analyses of plant lipocalins. *Plant Physiology* 139 (4), 2017-2028. 6. Dale S.E., Doherty-Kirby A., Lajoie G., Heinrichs D.E., 2004 – Role of siderophore biosynthesis in virulence of *Staphylococcus aureus*: identification and characterization of genes involved in production of a siderophore. *Infection and Immunity* 72 (1), 29-37. 7. Demir M., Kaleli I., 2004 – Production by *Escherichia coli* isolates of siderophore and other virulence factors and their pathogenic role in a cutaneous infection model. *Clin. Microbiol. Infect.* 10 (11), 1011-1014. 8. Devarajan P., 2007 – Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: new paths for an old shuttle. *Cancer Therapy* 5 (B), 463-470. 9. Flo T.H., Smith K.D., Sato S., Rodriguez D.J., Holmes M.A., Strong R.K., Akira S., Aderem A., 2004 – Lipocalin 2 mediates an innate immune response to bacterial infection by sequestering iron. *Nature* 432, 917-921. 10. Flower D.R., North A.C., Attwood T.K., 1993 – Structure and sequence relationships in the lipocalins and related proteins. *Protein Science* 2 (5), 753-761. 11. Flower D.R., North A.C., Sansom C.E., 2000 – The lipocalin protein family: structural and sequence overview. *Biochimica et Biophysica Acta* 1482, 9-24. 12. Goetz D.H., Holmes M.A., Borregaard N., Bluhm M.E., Raymond K.N., Strong R.K., 2002 – The neutrophil lipocalin NGAL is a bacteriostatic agent that interferes with siderophore-mediated iron acquisition. *Molecular Cell* 10 (5), 1033-1043. 13. Jensen K., Günther J., Talbot R., Petzl W., Zerbe H., Schuberth H.J. et al., 2013 – *Escherichia coli*- and *Staphylococcus aureus*-induced mastitis differentially modulate transcriptional responses in neighbouring uninfected bovine mammary gland quarters. *BMC Genomics* 14, 36. 14. Kjeldsen L., Johnsen A.H., Sengeløv H., Borregaard N., 1993 – Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase. *J. Biological Chemistry* 268, 10425-10432. 15. Koistinen H., Koistinen R., Seppälä M., Burova T.V., Choiset Y., Haertlé T., 1999 – Glycodelin and beta-lactoglobulin, lipocalins with a high structural similarity, differ in ligand binding properties. *FEBS Letters* 450 (1-2), 158-162. 16. Ogorevc J., Kunej T., Rappet A., Dovc P., 2009 – Database of cattle candidate genes and genetic markers for milk production and mastitis. *Animal Genetics* 40 (6), 832-851. 17. Robinson K.M., McHugh K.J., Mandalapu S., Clay M.E., Lee B., Scheller E.V., Enelow R.I., Chan Y.R., Kolls J.K., Alcorn J.F., 2014 – Influenza A virus exacerbates *Staphylococcus aureus* pneumonia in mice by attenuating antimicrobial peptide production. *J. Infectious Dis.* 209, 865-875. 18. Schepers A.J., Lam T.J.G.M., Schukken Y.H., Wilmink J.B.M., Hanekamp W.B.A., 1997 – Estimation of variance components for somatic cell counts to determine thresholds for uninfected quarters. *J. Dairy Sci.* 80, 1833-1840. 19. Schmidt-Ott K.M., Mori K., Li J.Y., Kalandadze A., Cohen D.J., Devarajan P., Barasch J., 2007 – Dual action of neutrophil gelatinase-associated lipocalin. *J. Am. Society Nephrology* 18 (2), 407-413. 20. Sharma N., Sodhi S.S., Kim J.H., Ghosh M., Zhang J.J., Koo D-B., Kang M-J., Jeong D.K., 2016 – Molecular cloning of lipocalin-2 into a eukaryotic vector and its expression in bovine mammary epithelial cells as a potential treatment for bovine mastitis. *Turkish J. Biology* 40, 55-68. 21. Shashidharamurthy R., Machiah D., Aitken J.D., Putty K., Srinivasan G., Chassaing B. et al., 2013 – Differential role of lipocalin 2 during immune complex-mediated acute and chronic inflammation in mice. *Arthritis & Rheumatology* 65 (4), 1064-1073.