

Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 55, No 3 (2004)



Defense mechanisms in the bovine mammary gland

V. S. MAVROGIANNI (Β. Σ. ΜΑΥΡΟΓΙΑΝΝΗ), G. C. FTENAKIS (Γ. Χ. ΦΘΕΝΑΚΗΣ)

doi: [10.12681/jhvms.15099](https://doi.org/10.12681/jhvms.15099)

To cite this article:

MAVROGIANNI (Β. Σ. ΜΑΥΡΟΓΙΑΝΝΗ) V. S., & FTENAKIS (Γ. Χ. ΦΘΕΝΑΚΗΣ) G. C. (2017). Defense mechanisms in the bovine mammary gland. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 55(3), 235–246. <https://doi.org/10.12681/jhvms.15099>

Αμυντικοί μηχανισμοί στο μαστικό αδένια των αγελάδων

Β.Σ. Μαυρογιάννη, Γ.Χ. Φθενάκης

ΠΕΡΙΛΗΨΗ. Στο παρόν άρθρο ανασκοπείται η σχετική με τους αμυντικούς μηχανισμούς του μαστικού αδένια των αγελάδων, βιβλιογραφία. Το άρθρο διαρθρώνεται σε τρεις ενότητες: (i) Η θηλή, (ii) Κυτταρικοί αμυντικοί μηχανισμοί (αριθμός σωματικών κυττάρων, τύπος σωματικών κυττάρων, μέτρηση σωματικών κυττάρων, αμυντικός ρόλος των σωματικών κυττάρων: μακροφάγα, ουδετερόφιλα λευκοκύτταρα, λεμφοκύτταρα) και (iii) Χυμικοί αμυντικοί μηχανισμοί (κυτοκίνες: IL-1, IL-2, IL-8, παράγοντας ενεργοποίησης πρόδρομων κοκκιοκυττάρων/μακροφάγων και TNF- α , ανοσοσφαιρίνες, συμπλήρωμα, γαλακτοσιδρίνη, σύστημα γαλακτοπεροξειδάσης/θειοκυανικών ιόντων/υπεροξειδίου του υδρογόνου, λυσοζύμη).

Λέξεις ευρετηρίασης: αγελάδα, μαστίτιδα, κυτταρική ανοσία, χυμική ανοσία, αμυντικοί μηχανισμοί

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η μαστίτιδα είναι η πιο σημαντική ασθένεια των γαλακτοπαραγωγών αγελάδων. Η ασθένεια εξελίσσεται σε μία σειρά των παρακάτω τεσσάρων φάσεων:

- Έκθεση του μαστικού αδένια σε κάποιον παθογόνο μικροοργανισμό.
- Είσοδος του παθογόνου μικροοργανισμού στο μαστικό αδένια.
- Επιβίωση και πολλαπλασιασμός του παθογόνου μέσα στη θηλή και το μαστικό αδένια.
- Παραγωγή τοξινών από το βακτήριο, αλληλεπίδρασή του με τα λευκοκύτταρα στο μαστικό αδένια και τελικά πρόκληση φλεγμονής.

Η πορεία της ασθένειας εξαρτάται από την επάρκεια των αμυντικών μηχανισμών του ζώου και το συγκεκριμένο στέλεχος του μικροοργανισμού που μολύνει το ζώο. Μετά την είσοδο των βακτηρίων, ο πιο σημαντικός αμυντικός μηχανισμός στο μαστικό αδένια των ζώων είναι η φαγοκυττάρωση των βακτηρίων από τα λευκοκύτταρα. Στην αντιμετώπιση των εισβαλλόντων μικροοργανισμών,

Defence mechanisms in the bovine mammary gland

Mavrogianni V.S., Fthenakis G.C.

ABSTRACT. In the present article the literature on the defence mechanisms of the bovine mammary gland is reviewed. The article is divided into three sections: (i) The teat, (ii) Cellular defence mechanisms (number of somatic cells, type of somatic cells, counting of somatic cells, defence role of somatic cells: macrophages, neutrophils, lymphocytes) and (iii) Chemoral defence mechanisms (cytokines: IL-1, IL-2, IL-8, granulocyte/macrophage-colony stimulating factor and TNF- α , immunoglobulins, complement, lactoferrin, lactoperoxidase/thiocyanate/ H₂O₂ system, lysozyme).

Key words: cows, mastitis, cellular defence, chemoral defence, defence mechanisms

μικρότερο ρόλο διαδραματίζουν και άλλοι αμυντικοί μηχανισμοί: οι ανοσοσφαιρίνες, το συμπλήρωμα και οι μη ειδικές αντιβακτηριακές ουσίες (Paape και συν. 2003, Pyorala 2003).

Το ποσοστό προσβολής των ζώων από μαστίτιδα είναι ιδιαίτερα αυξημένο κατά την αμέσως μετά τον τοκετό περίοδο, καθώς λόγω των ενδοκρινολογικών μεταβολών, αλλά και εξαιτίας των αλλαγών σε κυτταρικό επίπεδο, επηρεάζεται η άμυνα του οργανισμού και κατ' επέκταση του μαστικού αδένια (Beaudeau και συν. 1997, Kampen και Mallard 1997, Huszenicza και συν. 2004, Klaas και συν. 2004).

Η ΘΗΛΗ

Η θηλή αποτελεί ένα φραγμό για την είσοδο των μικροοργανισμών στο μαστικό αδένια, καθώς στη μεγάλη πλειονότητα των περιπτώσεων, τα βακτήρια εισβάλλουν στο μαστικό αδένια μέσω αυτής. Έτσι, αποτελεί και την "πρώτη γραμμή" του αμυντικού συστήματος του μαστικού αδένια.

Η θηλή αποτελείται από τέσσερα τοιχώματα (από έξω

Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας,
Τ.Θ. 199, 431 00 Καρδίτσα

Ημερομηνία υποβολής: 02.02.2004
Ημερομηνία εγκρίσεως: 06.09.2004

Faculty of Veterinary Science, University of Thessaly,
P.O. Box 199, 431 00 Karditsa, Greece

Submission date: 02.02.2004
Approval date: 06.09.2004

προς τα έσω): (α) το εξωτερικό τοίχωμα ή δέρμα (επιφανειακή επιδερμίδα και δέρμα), (β) το μεσαίο τοίχωμα ή αγγειακό-μυϊκό στρώμα, (γ) η βασική μεμβράνη και (δ) το εσωτερικό τοίχωμα (επιθήλιο). Η θηλή καλύπτεται από ένα παχύ στρώμα επιδερμίδας, το οποίο αποτελείται από πολύστιβο πλακώδες κερατινοποιημένο επιθήλιο, χωρίς θυλάκους τριχών, ούτε ιδρωτοποιούς ή σμηγματογόνους αδένες (Hibbitt και συν. 1992). Ο αμυντικός ρόλος της θηλής ασκείται αφενός από τη δημιουργία ενός μηχανικού φραγμού στην είσοδο των βακτηρίων και αφετέρου από την ύπαρξη ειδικών αντιβακτηριακών ουσιών μέσα σε αυτήν (Craven και Williams 1985). Ο σφιγκτήρας μως της θηλής κλείνει μεταξύ των αρμεγμάτων, εμποδίζοντας έτσι την είσοδο παθογόνων μικροοργανισμών. Έτσι, η αποτελεσματική σύγκλιση του σφιγκτήρα οδηγεί σε μειωμένο ποσοστό προσβολής από μαστίτιδα (Nickerson και Pankey 1983).

Ο θηλαίος πόρος, κατ' αρχήν, αποτελεί ένα μηχανικό φραγμό, καθώς δεν επιτρέπει την είσοδο μικροβίων από το περιβάλλον. Επιπλέον, καλύπτεται εσωτερικά από την κηρώδους υφής κεράτινη στιβάδα (Nickerson 1987). Η απομάκρυνση της κεράτινης στιβάδας έχει συσχετιστεί με αυξημένο ποσοστό προσβολής από μαστίτιδα, λόγω της πιο εύκολης δυνατότητας προσβολής και αποικιοποίησης από μικροοργανισμούς (Craven και Williams 1985, Carusco και συν. 1992). Η κεράτινη παρέχει προστασία στο μαστικό αδέν, προσροφώντας τα εισβάλλοντα βακτήρια και απομακρύνοντάς τα μέσω της απομάκρυνσης της ίδιας κατά τα αρμεγμάτα (Williams και Mein 1985). Κατά την ξηρή περίοδο ιδιαίτερα, η κεράτινη κλείνει ολοκληρωτικά το θηλαίο πόρο, προστατεύοντας έτσι αποτελεσματικά το μαστικό αδέν (Nickerson 1987).

Τα κύτταρα που κυριαρχούν στο επιθήλιο του θηλαίου πόρου είναι τα λεμφοκύτταρα και τα μονοκύτταρα (Nickerson 1987). Ο θηλαίος πόρος στο κεντρικό σημείο του διαχωρίζεται σαφώς από το θηλαίο κόλπο μέσω ορισμένων πτυχών, οι οποίες σχηματίζουν ένα εσωτερικό στόμιο, το οποίο, έως πρόσφατα, ονομαζόταν "δακτύλιος του Furstenberg". Στην περιοχή αυτή τα κύτταρα της επιφάνειας γίνονται πιο στρογγύλα και προεξέχοντα, φέρουν δε αραιές μικρολάχνες. Στην περιοχή ανευρίσκεται, επίσης, ένας λεμφοειδής ιστός, ο οποίος διαδραματίζει σημαντικό αμυντικό ρόλο, καθώς εκεί ανευρίσκεται πληθώρα πλασμοκυττάρων, τα οποία περιέχουν ανοσοσφαιρίνες (IgG, IgM και IgA) (Collins και συν. 1986). Η πληθώρα και η εκτεταμένη διάχυση των ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων, η συσσώρευση πλασμοκυττάρων και η ύπαρξη βλαστικών κέντρων στην περιοχή, αποδεικνύουν τη συμβολή της θηλής στην ανάπτυξη μηχανισμών τοπικής χυμικής ανοσίας (Collins και συν. 1986, Hibbitt και συν. 1992)

Επιπλέον, στην κεράτινη της θηλής έχουν ανιχνευτεί και αντιμικροβιακοί παράγοντες (Treece και συν. 1966). Τα λιπαρά οξέα μακράς αλύσου (μυριστικό οξύ, παλμιτολεϊκό οξύ, λινολεϊκό οξύ) που υπάρχουν στην κεράτινη, έχουν βακτηριοστατικές ιδιότητες (Hogan και συν. 1986), οι δε κατιονικές πρωτεΐνες της κεράτινης δεσμεύουν τα εισβάλλοντα παθογόνα, μεταβάλλοντας την τάση της κυτ-

ταρικής μεμβράνης τους, ώστε να είναι ευαίσθητα σε αλλαγές της ωσμωτικής πίεσης (Senft και συν. 1990).

Μολοταύτα, κάποια βακτήρια επιβιώνουν και στη συνέχεια αποικιοποιούν το θηλαίο πόρο, οπότε εισέρχονται στο θηλαίο κόλπο, όπου και συναντούν τη δεύτερη γραμμή άμυνας. Στο θηλαίο κόλπο κινητοποιούνται οι κυτταρικοί και χυμικοί αμυντικοί μηχανισμοί του μαστικού αδέν (Craven και Williams 1985, Paape και συν. 1985), όπως θα αναλυθεί περαιτέρω.

ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΙ ΑΜΥΝΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ

Αριθμός σωματικών κυττάρων

Θεωρητικά, το έκκριμα των υγιών μαστικών αδένων πρέπει να περιέχει μόνο μαστικά επιθηλιακά κύτταρα. Στην πράξη όμως, η ύπαρξη κάποιου αριθμού κυττάρων λευκοκυτταρικής προέλευσης (τα οποία ονομάζονται "σωματικά κύτταρα", ακριβώς διότι προέρχονται από την αιματική κυκλοφορία) στο μαστικό έκκριμα γίνεται αποδεκτή ως φυσιολογική (Pyorala 2003). Η μόλυνση είναι ο πιο σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει τον αριθμό των σωματικών κυττάρων στο μαστικό ιστό και συνακόλουθα στο μαστικό έκκριμα, καθώς σε περιπτώσεις μαστίτιδας εισρέουν φαγοκύτταρα στο μαστικό αδέν (Pyorala 2003, Schukken και συν. 2003), για να καταπολεμήσουν τους εισβάλλοντες μικροοργανισμούς.

Η περιεκτικότητα του γάλακτος των αγελάδων σε σωματικά κύτταρα έχει μελετηθεί εκτενέστατα, καθώς η αύξηση των σωματικών κυττάρων στο γάλα αποτελεί σημαντική ένδειξη ότι ο αντίστοιχος μαστικός αδένας είναι μολυσμένος. Για μεγάλο χρονικό διάστημα, η τιμή των $0,5 \times 10^6$ κυττάρων ανά ml γάλακτος θεωρείτο ως η ανώτερη αποδεκτή στο έκκριμα από μεμονωμένους υγιείς μαστικούς αδένες αγελάδων (International Dairy Federation 2003, Pyorala 2003). Η τιμή αυτή ήταν αυξημένη κατά το διπλάσιο της τυπικής απόκλισης, από το μέσο όρο των δειγμάτων που είχαν εξεταστεί (International Dairy Federation 2003). Όμως σε πιο πρόσφατες μελέτες, εξετάστηκαν οι τιμές των $0,1 \times 10^6$ και $0,2 \times 10^6$ κυττάρων ανά ml γάλακτος ως οι ανώτερες αποδεκτές στο έκκριμα από μεμονωμένους υγιείς μαστικούς αδένες αγελάδων (Hillerton 1999, Krömker και συν. 2001, Ruegg και Reinemann 2002).

Ο Dohoo και Leslie (1991), οι Djabri και συν. (2002), ο Hillerton (1999) και η Pyorala (2003) κατέληξαν ότι όταν η τιμή των σωματικών κυττάρων ήταν μικρότερη από $0,1 \times 10^6$ κύτταρα ανά ml γάλακτος, τότε ο μαστικός αδένας δεν ήταν μολυσμένος, ενώ όταν η τιμή των σωματικών κυττάρων ήταν μεγαλύτερη από $0,2 \times 10^6$ κύτταρα ανά ml γάλακτος, τότε ο μαστικός αδένας ήταν μολυσμένος. Ο μέσος όρος των τιμών σωματικών κυττάρων από υγιείς μαστικούς αδένες ήταν $0,068 \times 10^6$ κύτταρα ανά ml γάλακτος, ενώ αυτός από μαστικούς αδένες μολυσμένους με τα σημαντικότερα παθογόνα βακτήρια ήταν μεγαλύτερος από $0,35 \times 10^6$ κύτταρα ανά ml γάλακτος (Djabri και συν. 2002). Πρέπει να σημειωθεί ότι αυτή η μείωση της ανώτατης

αποδεκτής τιμής σωματικών κυττάρων στο γάλα αντικατοπτρίζει την επιτυχή εφαρμογή των προγραμμάτων πρόληψης της ασθένειας, τα οποία προτάθηκαν από τους Neave και συν. (1969).

Όσον αφορά στο γάλα από το γαλακτοδοχείο μιας εκτροφής (όπου συλλέγεται το γάλα όλων των αρμεγόμενων αγελάδων), στην Ευρωπαϊκή Ένωση το ανώτερο νομοθετημένο (οδηγία 92/46) επιτρεπτό όριο σωματικών κυττάρων σε γάλα που προορίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση είναι η τιμή των $0,4 \times 10^6$ κυττάρων ανά ml γάλακτος. Πάντως, σε άλλες χώρες έχουν καθιερωθεί διαφορετικές τιμές: για παράδειγμα, στην Ελβετία αυτό το όριο έχει τεθεί στα $0,25 \times 10^6$ κύτταρα ανά ml γάλακτος, στον Καναδά στα $0,5 \times 10^6$ κύτταρα ανά ml γάλακτος, ενώ στις ΗΠΑ στα $0,75 \times 10^6$ κύτταρα ανά ml γάλακτος.

Εκτός από τη μόλυνση του μαστικού αδένου, και άλλοι παράγοντες επηρεάζουν τον αριθμό των σωματικών κυττάρων στο μαστικό έκκριμα. Οι πιο σημαντικοί από αυτούς είναι: (i) Ο αριθμός της γαλακτικής περιόδου (ο αριθμός των σωματικών κυττάρων είναι αυξημένος σε ζώα μεγαλύτερης ηλικίας) (Emanuelson και συν. 1988), (ii) Το στάδιο της γαλακτικής περιόδου (ο αριθμός των σωματικών κυττάρων είναι αυξημένος αμέσως μετά τον τοκετό, στη συνέχεια μειώνεται και μετά αυξάνεται πάλι, καθώς προχωρά η γαλακτική περίοδος) (Brolund 1985, Mottram και συν. 2000), (iii) Η γαλακτοπαραγωγή (ο αριθμός των σωματικών κυττάρων είναι αυξημένος σε ζώα με μικρότερη γαλακτοπαραγωγή), (iv) Το κλάσμα του γάλακτος (ο αριθμός των σωματικών κυττάρων είναι αυξημένος στις πρώτες ριπές γάλακτος) (Dohoo και Leslie 1991), (v) Το άρμεγμα των ζώων (ο αριθμός των σωματικών κυττάρων είναι αυξημένος σε δείγματα γάλακτος που λαμβάνονται μετά το άρμεγμα) (Hogeveen και συν. 2001), (vi) Η ώρα της ημέρας (ο αριθμός των σωματικών κυττάρων είναι αυξημένος σε δείγματα γάλακτος που λαμβάνονται μετά το απογευματινό άρμεγμα), (vii) Ο αριθμός των καθημερινών αρμεγμάτων (ο αριθμός των σωματικών κυττάρων είναι αυξημένος σε ζώα που αρμεγούνται τρεις φορές καθημερινά) (Hogeveen και συν. 2001).

Τύπος σωματικών κυττάρων

Στο υγιές μαστικό παρέγχυμα και το φυσιολογικό μαστικό έκκριμα περιέχονται κυρίως λευκοκύτταρα. Η αναλογία των επιθηλιακών κυττάρων μπορεί να φθάσει έως 15% κατά τις πρώτες τέσσερις εβδομάδες της γαλακτικής περιόδου, στη συνέχεια όμως μειώνεται και δεν ξεπερνά το 2% των συνολικών κυττάρων στο μαστικό παρέγχυμα. Τα λευκοκύτταρα, τα οποία ανευρίσκονται στο μαστικό παρέγχυμα και το γάλα, είναι τα μακροφάγα, τα ουδετερόφιλα και τα λεμφοκύτταρα. Η αναλογία αυτών των τριών τύπων λευκοκυττάρων ποικίλλει ανάλογα με την κατάσταση της υγείας του μαστικού αδένου και με το στάδιο της γαλακτικής περιόδου, και αν και στις διεθνείς βιβλιογραφικές αναφορές αναφέρονται διαφορετικές τιμές, η πλειονότητα των αναφορών καταλήγει στα όρια τιμών που αναφέρονται παρακάτω. Στο μαστικό έκκριμα υγιούς

μαστικού αδένου κυριαρχούν τα μακροφάγα, τα οποία αποτελούν το 66-88% των σωματικών κυττάρων. Τα ουδετερόφιλα αποτελούν το 1-12% των σωματικών κυττάρων, τα δε λεμφοκύτταρα το 7-28% (Ostensson και συν. 1988, Sandholm 1995).

Η μόλυνση του μαστικού αδένου είναι ο πιο σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει τον τύπο των σωματικών κυττάρων στο μαστικό παρέγχυμα και το μαστικό έκκριμα. Σε περίπτωση οξείας κλινικής ή υποκλινικής μαστίτιδας αυξάνεται η αναλογία των ουδετερόφιλων, τα οποία φτάνουν να αποτελούν έως και το 90% των σωματικών κυττάρων (Sandholm 1995), ενώ σε πιο χρόνια μόλυνση αυξάνεται η αναλογία των λεμφοκυττάρων. Σημειώνεται πάντως ότι ακόμη και σε υγιή ζώα, προς το τέλος της γαλακτικής περιόδου, αυξάνονται τα ουδετερόφιλα και μειώνονται τα λεμφοκύτταρα.

Μέτρηση σωματικών κυττάρων

Για την ακριβή μέτρηση των σωματικών κυττάρων είναι διαθέσιμες αρκετές άμεσες ή έμμεσες μέθοδοι. Η ακριβής μέτρηση του αριθμού των σωματικών κυττάρων είναι απαραίτητη για τη σωστή διάγνωση της υποκλινικής μαστίτιδας.

Η μέτρηση του αριθμού των κυττάρων στο γάλα με μικροσκοπηση είναι μέθοδος αναφοράς αξιόπιστη, αλλά και επίπονη. Στην πράξη, οι γαλακτοβιομηχανίες χρησιμοποιούν τον ηλεκτρονικό μετρητή σωματιδίων με DNA (Fossomatic Counter), ο οποίος δίνει αξιόπιστα αποτελέσματα με ιδιαίτερη ευκολία (Vermunt και συν. 1995, Barkema και συν. 1997).

Έμμεσες μέθοδοι μέτρησης του αριθμού των σωματικών κυττάρων στο γάλα είναι η δοκιμή California και η δοκιμή Whiteside. Η δοκιμή California συνίσταται στην ανάμιξη 2 ml γάλακτος με ίση ποσότητα αντιδραστήριου (3% λαουρυλοθειικό νάτριο). Η ανάμιξη γίνεται σε ειδική συσκευή, με κυκλικές κινήσεις της. Το αντιδραστήριο διαλύει το κυτταρόπλασμα και τον πυρήνα των λευκοκυττάρων και απελευθερώνεται το DNA τους, με το οποίο αντιδρά, σχηματίζοντας πήγμα. Η δοκιμή Whiteside συνίσταται στην ανάμιξη πέντε σταγόνων γάλακτος με μία σταγόνα 4% κανονικού διαλύματος υδροξειδίου του νατρίου. Η ανάμιξη γίνεται σε γυάλινη αντικειμενοφόρο πλάκα μικροσκοπίου με ενστάλλαξη του δείγματος γάλακτος, άμεση πρόσθεση του διαλύματος υδροξειδίου του νατρίου και ανάμιξή τους με γυάλινη πιπέτα (Sandholm 1995). Οι παραπάνω δοκιμές είναι γρήγορες και θεωρούνται αξιόπιστες για την ανίχνευση της υποκλινικής μαστίτιδας (Brito και συν. 1997, Sargeant και συν. 2001). Το μεγάλο πλεονέκτημα των παραπάνω μεθόδων είναι ότι μπορούν να εφαρμοστούν και στις εκτροφές, βοηθώντας στη γρήγορη διάγνωση της υποκλινικής μαστίτιδας.

Αμυντικός ρόλος των σωματικών κυττάρων

Εάν τα βακτήρια υπερπηδήσουν τον αμυντικό φραγμό της θηλής, κατευθύνονται προς το θηλαίο κόλπο και το μαστικό αδένου, όπου θα αντιμετωπίσουν τα λευκοκύτταρα του μαστικού αδένου. Ο αμυντικός ρόλος των λευκο-

Πίνακας 1. Συνοπτική παρουσίαση του αμυντικού ρόλου των λευκοκυττάρων στο μαστικό αδέν

Τύπος λευκοκυττάρων	Αμυντικός ρόλος
Μακροφάγα	Ενεργοποίηση και διατήρηση της διαδικασίας της φλεγμονής, φαγοκυττάρωση και θανάτωση βακτηρίων, παρουσίαση αντιγόνου στα λευκοκύτταρα και ενεργοποίηση κυτταρικής ανοσίας στο σύστημα ΜHC.
Ουδετερόφιλα	Φαγοκυττάρωση και θανάτωση βακτηρίων, παραγωγή αντιβακτηριακών παραγόντων.
T-λεμφοκύτταρα	
CD4+	Παραγωγή ανοσορρυθμιστικών κυτοκινών μετά την αναγνώριση του αντιγόνου και την ενεργοποίηση της κυτταρικής ανοσίας, κύτταρα μνήμης.
CD8+	Παραγωγή κυτοκινών που ρυθμίζουν τις λειτουργίες των λευκοκυττάρων.
γδ T-λεμφοκύτταρα	Ασαφής αμυντικός ρόλος στο μαστικό αδέν.
B-λεμφοκύτταρα	
Ώριμα B-λεμφοκύτταρα	Διευκόλυνση της παρουσίας του αντιγόνου, κύτταρα μνήμης.
Πλασμοκύτταρα	Παραγωγή ανοσοσφαιρινών και κυτοκινών για ρύθμιση χυμικών αμυντικών μηχανισμών.

κυττάρων στη θηλή και το μαστικό αδέν περιγράφεται περιληπτικά στον πίνακα 1 και αναλύεται παρακάτω.

Μακροφάγα

Τα μακροφάγα στο μαστικό ιστό προέρχονται από τα μονοκύτταρα του αίματος. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, αποτελούν τη μεγαλύτερη αναλογία σωματικών κυττάρων στο γάλα και ως εκ τούτου αποτελούν και τον πρώτο κυτταρικό αμυντικό μηχανισμό του μαστικού αδέν.

Τα μακροφάγα κινητοποιούνται είτε μετά την αναγνώριση λοιμογόνων παραγόντων που παράγουν τα βακτήρια, είτε από τους αμυντικούς μηχανισμούς του μαστικού αδέν (κυτοκίνες προερχόμενες από T-λεμφοκύτταρα, ανοσοσφαιρίνες). Αποστολή τους είναι κυρίως η ενεργοποίηση της διαδικασίας της φλεγμονής και αφετέρου η φαγοκυττάρωση των εισβαλλόντων βακτηρίων, ενώ στον παλινδρομούντα μαστικό αδέν συμμετέχουν, επίσης, στην απομάκρυνση του λίπους (Outteridge και Lee 1981, Sordillo και Streicher 2002). Συγκεκριμένα, απελευθερώνουν χημειοτακτικούς παράγοντες για τα πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα, όπως επίσης προκαλούν και τον πολλαπλασιασμό των T-λεμφοκυττάρων (Craven 1983). Τα μακροφάγα είναι ιδιαίτερος αποτελεσματικά κατά βακτηρίων τα οποία μπορούν να επιβιώσουν μέσα στα άλλα φαγοκύτταρα (π.χ. *Staphylococcus* spp.) (Monks και συν. 2002).

Στο φλεγμαίνοντα μαστικό αδέν, ο αριθμός των μακροφάγων είναι μικρότερος αυτού των ουδετερόφιλων λευκοκυττάρων, και μάλιστα έχουν μικρό αριθμό υποδοχέων F_C (Niemiłowski και συν. 1988), οπότε μειώνεται ο ρυθμός με τον οποίο φαγοκυτταρώνουν. Έτσι, θεωρείται ότι όταν είναι παρόντα ουδετερόφιλα, ο κύριος ρόλος των μακροφάγων είναι να διατηρούν τη συνεχή προσέλευση λευκοκυττάρων στο μαστικό αδέν. Τα ενεργοποιημένα μακροφάγα απελευθερώνουν ενδιάμεσους παράγοντες φλεγμονής (προσταγλανδίνες, λευκοτριένια, κυτοκίνες) προάγοντας τη διαδικασία αυτή (Adams και

Hamilton 1988, Persson και συν. 1993). Όσον αφορά στις κυτοκίνες, σημειώνεται ότι στο μαστικό αδέν τα μακροφάγα παράγουν έως και 50% μικρότερη ποσότητα ιντερλευκίνης-1 σε σύγκριση με τα μονοκύτταρα στο αίμα (Politis και συν. 1992). Επιπλέον, τα μακροφάγα συντελούν στη λύση της φλεγμονής φαγοκυτταρώνοντας ουδετερόφιλα λευκοκύτταρα, που έχουν οδηγηθεί σε απόπτωση (Sládek και Ryšánek 2001).

Καθώς τα μακροφάγα έρχονται σε επαφή με τα βακτήρια ή με το ενεργοποιημένο συμπλήρωμα C5a, ενεργοποιείται η κυτταρική ανοσία στο μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας (σύστημα ΜHC) (Fitzpatrick και συν. 1992, International Dairy Federation 2003). Σημειώνεται ότι στο μαστικό αδέν τα μακροφάγα εκφράζουν μικρότερη ικανότητα έκφρασης των μορίων του συστήματος ΜHC σε σχέση με τα μονοκύτταρα του αίματος (Politis και συν. 1992). Αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία, καθώς η ικανότητα των μακροφάγων να αναγνωρίζουν το αντιγόνο, το οποίο "παρουσιάζουν" στα λεμφοκύτταρα, έχει συσχετισθεί άμεσα με την ποσότητα των μορίων του συστήματος ΜHC, που παράγουν τα μακροφάγα (Politis και συν. 1992).

Σημειώνεται πάντως ότι η δραστηριότητα των μακροφάγων στην αμέσως μετά τον τοκετό περίοδο είναι μειωμένη (Osterlundh και συν. 1998, Sordillo και Streicher 2002), πιθανόν λόγω της μειωμένης οψωνοποιητικής δυνατότητας στο μαστικό αδέν και το γάλα, η οποία είναι αποτέλεσμα της μείωσης της συγκέντρωσης της ανοσοσφαιρίνης IgM (Walker 2000). Κατά την ίδια περίοδο μειώνεται η έκφραση του ΜHC II από τα μακροφάγα, με αποτέλεσμα την ατελή "παρουσίαση" των αντιγόνων και τελικά την πιο ασθενή ανοσολογική ανταπόκριση από τα λεμφοκύτταρα του μαστικού αδέν (Fitzpatrick και συν. 1992, Mallard και συν. 1998).

Ουδετερόφιλα λευκοκύτταρα

Τα ουδετερόφιλα λευκοκύτταρα διαδραματίζουν τον πιο σημαντικό ρόλο για την προστασία του μαστικού αδέν

να κατά την οξεία φάση της φλεγμονής στο μαστικό αδέννα, καθώς μεταναστεύουν από το αίμα προς το μαστικό αδέννα και το γάλα.

Τα ουδετερόφιλα χαρακτηρίζονται από έναν πολυμορφικό-λοβωτό πυρήνα (Paape και Wergin 1977, Paape και συν. 1979), πολλά κυτταροπλασματικά κοκκία, τα οποία παρέχουν τις ουσίες για τη θανάτωση των βακτηρίων (Jain 1986) και νησίδια με αποθέματα γλυκογόνου ως ενεργειακή πηγή (Jain 1986). Στην εξωτερική επιφάνειά τους υπάρχουν υποδοχείς, οι οποίοι χρησιμεύουν: (i) για την ανίχνευση και προσκόλληση παραγόντων, ώστε να αρχίσει η μετανάστευσή τους προς το σημείο της φλεγμονής (Craven 1986, Caswell και συν. 2001) ή (ii) ως ψευδοπόδια για τη μετακίνησή τους προς το σημείο της φλεγμονής (Howard και συν. 1980) ή (iii) για την προσκόλληση των ανοσοσφαιρινών και των παραγόντων του συμπληρώματος, ώστε να ξεκινήσει η διαδικασία της φαγοκυττάρωσης (Howard και συν. 1980, Arnaout και συν. 1981) ή (iv) για την προσκόλληση βακτηριακών τοξινών και κυτοκινών, ώστε να πραγματοποιηθεί η πρωτεϊνική φωσφορύλιωση, που είναι απαραίτητη για την έκφραση των αμυντικών μηχανισμών των ουδετερόφιλων (Carlo και συν. 1996, Wang και συν. 1997).

Τα ουδετερόφιλα μεταναστεύουν με χημειοτακτισμό από το αίμα προς τη θηλή και το μαστικό αδέννα, καθώς με την παραγωγή λοιμογόνων παραγόντων από τα βακτήρια, ενεργοποιούνται τα μακροφάγα και τα επιθηλιακά κύτταρα μέσα στο μαστικό παρέγχυμα και παράγουν κυτοκίνες, οι οποίες προσελκύουν τα ουδετερόφιλα στη συγκεκριμένη περιοχή. Τα ουδετερόφιλα εμφανίζονται στη θηλή 30 έως 60 λεπτά μετά την είσοδο του παθογόνου μικροοργανισμού, η δε μεγαλύτερη συγκέντρωσή τους επιτυγχάνεται μετά από 1 έως 2 ώρες. Στη συνέχεια, 2 έως 4 ώρες μετά την είσοδο του παθογόνου αιτίου, ανευρίσκονται στο μαστικό αδέννα (Persson 1992).

Κύρια λειτουργία των ουδετερόφιλων είναι η φαγοκυττάρωση των μικροοργανισμών και η ενδοκυτταρική θανάτωση τους, ρόλος ο οποίος ενισχύεται με τις οψωνίνες (Craven και Williams 1985, Paape και συν. 1991). Τα ουδετερόφιλα περιέχουν αζουροφιλικά (πρωτοταγή) κοκκία, ειδικά (δευτεροταγή) και "νέα" (τριτοταγή) κοκκία (Gennaro και συν. 1982). Η πιο σημαντική αντιβακτηριακή ουσία που περιέχεται στα αζουροφιλικά κοκκία είναι η υπεροξειδάση (Klebanoff 1970), η οποία συντελεί στην ενδοκυτταρική θανάτωση των βακτηρίων. Σημειώνεται ότι στα αζουροφιλικά κοκκία των βοοειδών περιέχεται και λυσοζύμη, σε μικρή όμως ποσότητα (Rausch και Moore 1975). Στα ειδικά κοκκία, τα οποία στα ώριμα ουδετερόφιλα ανευρίσκονται σε μεγαλύτερο αριθμό από τα αζουροφιλικά, δεν περιέχεται υπεροξειδάση. Τα "νέα" κοκκία είναι μεγαλύτερου μεγέθους από τα άλλα, κυριαρχούν στα ώριμα ουδετερόφιλα λευκοκύτταρα και περιέχουν την πλειονότητα των αντιμικροβιακών πρωτεϊνών (Gennaro και συν. 1983, Baggolini και συν. 1985): γαλακτοσιδηρίνη, κατιονικές πρωτεΐνες (βακτηνεκτίνες) και β-αμυντικές πρωτεΐνες. Οι βακτη-

νεκτίνες δρουν καταστρέφοντας την κυτταρική μεμβράνη της *Escherichia coli*, ενώ οι β-αμυντικές πρωτεΐνες έχουν έντονη αντιβακτηριακή δραστηριότητα κατά όλων των παθογόνων μικροοργανισμών (Savoini και συν. 1984, Yount και συν. 1999). Επιπλέον, τα ουδετερόφιλα εκλύουν πρωτεΐνάσες, ρίζες οξυγόνου, προσταγλανδίνες και λευκοτριένια, έτσι ώστε προάγεται η διαδικασία της φλεγμονής και συνεχίζεται η μετανάστευση των λευκοκυττάρων προς το μαστικό αδέννα (Paape και συν. 2003). Σημειώνεται πάντως ότι τα ουδετερόφιλα, εκλύοντας τις παραπάνω χημικές ουσίες, δεν προκαλούν μόνο θανάτωση των βακτηρίων, αλλά επίσης επιφέρουν και καταστροφές στο μαστικό αδέννα, καθώς εντείνουν τη φλεγμονή (Carusco και συν. 1986, Sandgren 1991). Γι' αυτόν το λόγο, μετά από κάποιο χρονικό διάστημα, τα ουδετερόφιλα οδηγούνται σε απόπτωση, η οποία είναι προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος, έτσι ώστε να επιτευχθεί η λύση της φλεγμονής και να προστατευθεί ο μαστικός αδέννας (Sladek και Rysanek 2001).

Η ικανότητα φαγοκυττάρωσης και ενδοκυτταρικής θανάτωσης από τα ουδετερόφιλα μετά τη μετανάστευσή τους στο μαστικό αδέννα είναι μικρότερη απ' ό,τι στο αίμα. Τα ουδετερόφιλα που εισέρχονται στο θηλαίο κόλπο κατά την αρχική φάση της φλεγμονής (δηλαδή αμέσως μετά την είσοδο ενός μικροοργανισμού), εμφανίζουν ιδιαίτερα έντονη ικανότητα φαγοκυττάρωσης (Sandgren 1991). Στη συνέχεια, όμως, τα κύτταρα φαγοκυτταρώνουν λιποσφαίρια και καζεϊνικά μικύλλια, οπότε τα κυτταροπλασματικά κοκκία τους σχηματίζουν φαγολυσοσώματα με τα γαλακτικά στοιχεία, και έτσι μειώνεται η ικανότητά τους για ενδοκυτταρική θανάτωση των βακτηρίων (Paape και συν. 1975, Paape και Guidry 1977). Επιπλέον, τα ουδετερόφιλα στο μαστικό αδέννα περιέχουν έως 38% λιγότερο γλυκογόνο από αυτά του αίματος, διότι κατά τη μετανάστευσή τους προς το μαστικό αδέννα έχουν καταναλωθεί τα ενεργειακά αποθέματά τους (Newbould 1973). Έτσι, η διαθέσιμη ενέργεια, η οποία είναι απαραίτητη για τη φαγοκυττάρωση, είναι μειωμένη. Επιπλέον, στο φλεγμαίνοντα μαστικό αδέννα το διαθέσιμο οξυγόνο, το οποίο είναι απαραίτητο για την αντιμικροβιακή δράση των ουδετερόφιλων, είναι μειωμένο (Mayer και συν. 1988).

Η ικανότητα των ουδετερόφιλων να αντιμετωπίζουν τους εισβάλλοντες μικροοργανισμούς είναι καθοριστικός παράγοντας για το αποτέλεσμα κάθε ενδομαστικής μόλυνσης. Έτσι, έχει βρεθεί ότι η φαγοκυτταρική ικανότητα των ουδετερόφιλων εξαρτάται από την ηλικία της αγελάδας και από το στάδιο της γαλακτικής περιόδου (Mehrzaad και συν. 2001), από το μολύνον στέλεχος του μικροοργανισμού (Barrio και συν. 2000), από την καταναλισκόμενη μέσω της τροφής ποσότητα βιταμίνης E και σεληνίου (Hemingway 1999), καθώς επίσης από τα φάρμακα που χορηγούνται για την αντιμετώπιση της μαστίτιδας. Η χορήγηση γλυκοκορτικοειδών, φθοριοκινολονών, αμινογλυκοσιδών, τετρακυκλινών και β-λακταμών πιστεύεται ότι μειώνει τη φαγοκυτταρική ικανότητα των ουδετερόφιλων (Paape και συν. 2003).

Πίνακας 2. Συνοπτική παρουσίαση των χυμικών αμυντικών μηχανισμών στο μαστικό αδέννα

Τύπος λευκοκυττάρων	Αμυντικός ρόλος
Κυτοκίνες	
IL-1	Ρύθμιση της μετανάστευσης ουδετερόφιλων στο μαστικό αδέννα, αύξηση του αριθμού τους, βελτίωση της φαγοκυτταρικής ικανότητάς τους.
IL-2	Ρύθμιση του πολλαπλασιασμού των μακροφάγων στο μαστικό αδέννα, βελτίωση των αντιβακτηριακών ιδιοτήτων των λεμφοκυττάρων.
IL-8	Πρόδρομη ουσία της φλεγμονής, ρύθμιση της μετανάστευσης ουδετερόφιλων στο μαστικό αδέννα.
G-CSF	Αύξηση του αριθμού των ουδετερόφιλων στο μαστικό αδέννα, βελτίωση των φαγοκυτταρικών ιδιοτήτων τους.
GM-CSF	Βελτίωση των χημειοτακτικών και βακτηριοκτόνων ιδιοτήτων των ουδετερόφιλων, αύξηση του αριθμού των φαγοκυττάρων στο μαστικό αδέννα.
M-CSF	Ρύθμιση του πολλαπλασιασμού των μακροφάγων.
IFN- γ	Βελτίωση της φαγοκυττάρωσης από τα ουδετερόφιλα.
TNF- α	Ενίσχυση της διαδικασίας φλεγμονής, βελτίωση της φαγοκυττάρωσης από τα ουδετερόφιλα.
Ανοσοσφαιρίνες	
IgG ₁	Οψωνοποίηση βακτηρίων για υποβοήθηση φαγοκυττάρωσης.
IgG ₂	Οψωνοποίηση βακτηρίων για υποβοήθηση φαγοκυττάρωσης.
IgM	Παρεμπόδιση αποικιοποίησης από τα βακτήρια.
IgA	Οψωνοποίηση βακτηρίων για υποβοήθηση φαγοκυττάρωσης από ουδετερόφιλα, εξουδετέρωση βακτηριακών τοξινών.
Συμπλήρωμα	Αντιβακτηριακός ρόλος, υποβοήθηση φαγοκυττάρωσης.
Γαλακτοσιδηρίνη	Δέσμευση σιδήρου και μείωση της διαθεσιμότητάς του για τα βακτήρια, προαγωγή φαγοκυττάρωσης.
Σύστημα γαλακτοϋπεροξειδάσης/ θειοκυανικών ιόντων/ υπεροξειδίου του υδρογόνου	
Λυσοζύμη	Αντιβακτηριακή δράση, παρεμπόδιση αποικιοποίησης, υποβοήθηση φαγοκυττάρωσης.

Λεμφοκύτταρα

Τα λεμφοκύτταρα έχουν ειδικούς υποδοχείς στην κυτταρική μεμβράνη τους, μέσω των οποίων μπορούν να αναγνωρίζουν τα αντιγόνα, καθορίζοντας έτσι μία ειδικότητα στη δράση τους. Στο μαστικό αδέννα ανευρίσκονται T-λεμφοκύτταρα, B-λεμφοκύτταρα και πλασμοκύτταρα, κυρίως στο επιθήλιο και το δακτύλιο του Furstenberg (Nickerson και Pankey 1983). Όσον αφορά στις υποκατηγορίες των λεμφοκυττάρων, στον υγιή μαστικό αδέννα των αγελάδων κυριαρχούν τα $\alpha\beta$ T-λεμφοκύτταρα τύπου CD8+. Η συγκέντρωση των T-λεμφοκυττάρων διαφέρει ανάλογα με το στάδιο της γαλακτικής περιόδου και είναι μειωμένη στην αρχή της γαλακτικής περιόδου (Weaver και συν. 1996, Kampen και Mallard 1997), ενώ η συγκέντρωση των B-λεμφοκυττάρων παραμένει σταθερή (Weaver και συν. 1996).

Σε περίπτωση μαστίτιδας, κυριαρχούν τα $\alpha\beta$ T-λεμφοκύτταρα τύπου CD4+, τα οποία ενεργοποιούνται ανταποκρινόμενα στην ενεργοποίηση του MHC II από τα μακροφάγα ή τα B-λεμφοκύτταρα (Sordillo και Streicher 2002). Από τα B-λεμφοκύτταρα προέρχονται, επίσης, τα

πλασμοκύτταρα, τα οποία παράγουν ανοσοσφαιρίνες και κυτοκίνες, από τις οποίες ρυθμίζεται περαιτέρω η κυτταρική και η χυμική ανοσία. Επιπλέον, τα B-λεμφοκύτταρα "παρουσιάζουν" το αντιγόνο στα T-λεμφοκύτταρα, οπότε παράγεται IL-2 από αυτά, με τη δράση της οποίας τα B-λεμφοκύτταρα διαφοροποιούνται σε πλασμοκύτταρα ή σε κύτταρα μνήμης.

ΧΥΜΙΚΟΙ ΑΜΥΝΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ

Πέραν των κυτταρικών αμυντικών μηχανισμών, στο μαστικό αδέννα είναι διαθέσιμοι και χυμικοί αμυντικοί μηχανισμοί. Σε αυτούς περιλαμβάνονται (i) οι κυτοκίνες IL-1, IL-2, IL-8, παράγοντας ενεργοποίησης κοκκιοκυττάρων/μακροφάγων και TNF- α , (ii) οι ανοσοσφαιρίνες που είτε φτάνουν στο μαστό και τη θηλή με το αίμα είτε παράγονται τοπικά από τα πλασμοκύτταρα, (iii) το συμπλήρωμα, (iv) η γαλακτοσιδηρίνη, (v) το σύστημα γαλακτοπεροξειδάσης/θειοκυανικών ιόντων/υπεροξειδίου του υδρογόνου και (vi) η λυσοζύμη. Ο αμυντικός ρόλος τους στο μαστικό αδέννα περιγράφεται περιληπτικά στον πίνακα 2 και αναλύεται παρακάτω.

Κυτοκίνες

Οι κυτοκίνες είναι μία ομάδα ρυθμιστικών πρωτεϊνών, που δρουν ως ενδοκυτταρικά επικοινωνιακά "σήματα", εκκρίνονται σε μικρές ποσότητες και έχουν πολλαπλές βιολογικές δραστηριότητες (Schijns και Horzinek 1997). Οι κυτοκίνες παράγονται από πολλά και διάφορα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, όμως τα μακροφάγα και τα Τ-λεμφοκύτταρα είναι τα κύρια σημεία παραγωγής τους. Διαφορετικές κυτοκίνες, αν και με διαφορετική δομή, συνδέονται στους ίδιους υποδοχείς και ο συνδυασμός τους μπορεί να έχει συνεργική ή ανταγωνιστική δράση. Το σύμπλεγμα αυτό της αλληλοεπίδρασης των κυτοκινών περιγράφεται ως "δίκτυο κυτοκινών".

Οι κυτοκίνες έχουν ανοσορρυθμιστικό ρόλο στην άμυνα του μαστικού αδένου και την εξέλιξη της μαστίτιδας (Sordillo και Babiuk 1991, Sordillo και συν. 1991, Daley και συν. 1993). Οι παράγοντες IL-1β, IL-8, TNF-α έχουν ανιχνευθεί στο γάλα κατά τη φάση της φλεγμονής, ενώ μικρές ποσότητες των GM-CSF και INF-γ έχουν επίσης βρεθεί περιστασιακά (Waller και συν. 1997). Οι κυτοκίνες IL-1β, TNF-α, IL-8 και ο παράγοντας GM-CSF συμβάλλουν στην ταχεία προσέλευση των κυττάρων της φλεγμονής στο μαστικό αδένου (Persson και συν. 1996).

Συγκεκριμένα, σε περιπτώσεις βακτηριακής μόλυνσης οι IL-2 και IFN-γ ρυθμίζουν τους κυτταρικούς αμυντικούς μηχανισμούς (τύπος Th1), ενώ οι IL-4, IL-5 και IL-10 τους χυμικούς αμυντικούς μηχανισμούς στο μαστικό αδένου (τύπος Th2). Κατά την αμέσως μετά τον τοκετό περίοδο, η IL-2 και η IFN-γ παράγονται σε μικρές ποσότητες, ενώ αντίθετα παράγονται μεγαλύτερες ποσότητες IL-4 και IL-10 (Weaver και συν. 1999). Σημειώνεται ότι σημαντικός παράγοντας στο είδος των κυκλοφορούντων κυτοκινών είναι το στάδιο της γαλακτοπαραγωγής, καθώς οι παράγοντες IL-8, GM-CSF και TNF-α βρίσκονται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση σε ζώα που βρίσκονται στη γαλακτική περίοδο, ενώ οι παράγοντες IL-β, INF-γ ανιχνεύονται σε μικρότερη ποσότητα και περιστασιακά. Πάντως σε ζώα στην ξηρά περίοδο, όλοι οι παράγοντες ανιχνεύονται σε πάρα πολύ μικρές ποσότητες (Persson και συν. 1996).

Ιντερλευκίνη-1 (IL-1)

Στις αγελάδες ανευρίσκονται δύο μορφές του παράγοντα: η ιντερλευκίνη(IL)-1α και η ιντερλευκίνη(IL)-1β. Για την IL-1, η κυτταρική πηγή είναι τα μακροφάγα και τα επιθηλιακά κύτταρα, ενώ για την IL-1β, τα λεμφοκύτταρα, οι ινοβλάστες, τα επιθηλιακά κύτταρα, οι οστεοβλάστες, τα αστροκύτταρα και τα κερατινοκύτταρα. Η IL-1 ενεργοποιεί τα Τ-λεμφοκύτταρα, προάγει την έκκριση των ανοσοσφαιρινών και τον πολλαπλασιασμό των Β-λεμφοκυττάρων και προκαλεί την έκκριση άλλων κυτοκινών (GM-CSF, G-CSF) (Hamblin 1993). Στο μαστικό αδένου, σημαντική δράση της είναι η αύξηση του αριθμού των λευκοκυττάρων, ιδίως δε των ουδετερόφιλων. Σημειώνεται ότι η παραγωγή IL-1 είναι πιο έντονη στα μονοκύτταρα του αίματος σε σύγκριση με τα μακροφάγα του μαστικού αδένου, τα οποία έχουν μειωμένη ικανότητα

έκκρισης IL-1 (Politis και συν. 1992). Συγκεκριμένα, τα μονοκύτταρα εκκρίνουν 10 έως 15 φορές περισσότερη IL-1 από τα μακροφάγα, φαινόμενο το οποίο παρατηρείται σε υγιείς και σε φλεγμαινόντες μαστικούς αδένες (Politis και συν. 1991). Η μειωμένη έκκριση IL-1 έχει ιδιαίτερη σχέση με την αμυντική ικανότητα του μαστικού αδένου, καθώς αυτός ο παράγοντας επηρεάζει την προσέλευση των πολυμορφοπύρηνων λευκοκυττάρων.

Ιντερλευκίνη-2 (IL-2)

Η ιντερλευκίνη(IL)-2 παράγεται από τα Τ-λεμφοκύτταρα και είναι υπεύθυνη για τη διάχυση της αρχικής ανοσολογικής ανταπόκρισης των Τ-λεμφοκυττάρων στο μαστικό αδένου. Οι Daley και συν. (1991) και οι Sordillo και συν. (1997) απέδειξαν ότι η IL-2 ήταν υπεύθυνη για την ενίσχυση των φαγοκυτταρικών ιδιοτήτων των μακροφάγων στο μαστικό αδένου, καθώς και ότι η συγκέντρωσή της ήταν μειωμένη στο αρχικό στάδιο της γαλακτικής περιόδου, απέδωσαν δε τη μειωμένη φαγοκυτταρική ικανότητα των μακροφάγων ακριβώς σε αυτήν την έλλειψή της.

Ιντερλευκίνη-8 (IL-8)

Η ιντερλευκίνη(IL)-8 παράγεται από τα μονοκύτταρα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα επιθηλιακά κύτταρα, τους ινοβλάστες, τα χονδροκύτταρα, τα ηπατοκύτταρα και τα κερατινοκύτταρα και δρα στα ουδετερόφιλα, στα Τ-λεμφοκύτταρα και στα βασεόφιλα λευκοκύτταρα (Hamblin 1993). Ρόλος της στο μαστικό αδένου είναι η ταχεία προσέλκυση φλεγμονωδών κυττάρων κατά τη διάρκεια της βακτηριακής μόλυνσης.

Παράγοντας ενεργοποίησης πρόδρομων κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων (GM-CSF)

Ο παράγοντας ενεργοποίησης πρόδρομων κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων (GM-CSF) ενεργοποιεί κυρίως τη διαφοροποίηση και τον πολλαπλασιασμό των κοκκιοκυττάρων και των μακροφάγων (Hamblin 1993). Ειδικά στο μαστικό αδένου, θεωρείται ότι βελτιώνει το χημειοτακτισμό των ουδετερόφιλων, καθώς και την παραγωγή υπεροξειδάσης από αυτά (Daley και συν. 1993).

Παράγοντας νέκρωσης των όγκων-α (TNF-α)

Ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων-α (TNF-α) παράγεται από τα μακροφάγα και τα Τ- και Β-λεμφοκύτταρα. Είναι ισχυρός πρόδρομος της φλεγμονής, με πολλαπλή δραστηριότητα, καθώς προάγει την έκκριση των ανοσοσφαιρινών και τον πολλαπλασιασμό των Β-λεμφοκυττάρων (Hamblin 1993). Σε περιπτώσεις υπεροξειδίας μαστίτιδας από *E. coli*, ο παράγοντας TNF-α, η συγκέντρωσή του οποίου στο μαστικό αδένου κατά την περιτοκία περίοδο είναι αυξημένη, είναι υπεύθυνος για την ενδοτοξιναιμική καταπληξία στις προσβεβλημένες αγελάδες (Sordillo και Babiuk 1991, Sordillo και συν. 1995).

Ανοσοσφαιρίνες

Στο μαστικό αδένου των αγελάδων ανευρίσκονται τέσσερις ισότυποι ανοσοσφαιρινών: οι IgG1, IgG2, IgGA και IgGM. Η συγκέντρωσή των ανοσοσφαιρινών είναι χαμηλή στο γάλα από υγιείς μαστικούς αδένες, ενώ αντίθε-

τα αυξάνεται στο μαστικό έγκκριμα σε περιπτώσεις μαστίτιδας, καθώς και κατά την παλινδρομήσή του (Anderson και συν. 1986, Guidry και Miller 1986, Sordillo και συν. 1987, Doymaz και συν. 1988, Norcross 1991).

Οι ανοσοσφαιρίνες προέρχονται από τον ορό του αίματος ή παράγονται τοπικά από πλασμοκύτταρα της θηλής ή του μαστικού αδένου (Craven και Williams 1985, Norcross 1991). Η IgG1, η οποία αποτελεί τον κύριο τύπο ανοσοσφαιρίνης στον υγιή μαστικό αδένου, προέρχεται κυρίως από τον ορό του αίματος, η IgA και η IgM παράγονται τοπικά, ενώ η IgG2, η οποία αποτελεί τον κύριο τύπο ανοσοσφαιρίνης στο φλεγμαίνοντα μαστικό αδένου, προέρχεται και από τις δύο πηγές. Τα πλασμοκύτταρα, από τα οποία παράγονται και οι τέσσερις ισότυποι ανοσοσφαιρινών, είναι παρόντα στο μαστικό ιστό και στη θηλή (Collins και Oldham 1986, Doymaz και συν. 1988). Σε περιπτώσεις φλεγμονής, οι IgG1 και IgG2 διαχέονται παθητικά από τον ορό του αίματος στις εκκρίσεις του μαστικού αδένου, καθώς αυξάνονται η διαπερατότητα των αγγείων και η είσοδος των ουδετερόφιλων λευκοκυττάρων (Anderson και συν. 1986). Επιπλέον, η IgG2 μεταφέρεται με τα ουδετερόφιλα, μέσω της προσκόλλησής της σε αυτά (Paare και συν. 1991).

Οι ανοσοσφαιρίνες θεωρείται ότι εμποδίζουν την προσκόλληση των βακτηρίων στα μαστικά επιθηλιακά κύτταρα, εξουδετερώνουν τις βακτηριακές τοξίνες και δρουν κυτταρολυτικά (Craven και Williams 1985, Norcross 1991). Επιπλέον, η IgG1, η IgG2 και η IgM οψωνοποιούν τα βακτήρια, υποβοηθώντας έτσι τη λειτουργία των φαγοκυττάρων (Guidry και Miller 1986).

Συμπλήρωμα

Το σύστημα του συμπληρώματος υποβοηθά τα αμυντικά συστήματα του μαστικού αδένου μέσω των αντιβακτηριακών και οψωνοποιητικών ιδιοτήτων του, καθώς και μέσω της προαγωγής της φλεγμονής. Στον υγιή μαστικό αδένου, η συγκέντρωση των παραγόντων του συμπληρώματος είναι μικρή, φθάνοντας έως και 0,1% της συγκέντρωσης στον ορό του αίματος (Rainard 2003), αλλά αυξάνεται υπερβολικά στο πρωτόγαλα, κατά την ξηρά περίοδο, καθώς και σε περιπτώσεις μαστίτιδας (Colditz και Maas 1987). Στον υγιή μαστικό αδένου ανευρίσκεται κυρίως ο παράγοντας C5a, ενώ σε περιστατικά μαστίτιδας ανευρίσκονται οι παράγοντες C5a και C3. Σημειώνεται ότι ο παράγοντας C1q, ο οποίος αποτελεί το κύριο συστατικό του συστήματος στον ορό του αίματος, δεν έχει ανιχνευθεί στο μαστικό αδένου (Rainard και Poutrel 1995). Η προέλευση των παραγόντων του συμπληρώματος στο μαστικό αδένου δεν είναι απολύτως γνωστή. Πιστεύεται πάντως ότι προέρχονται από τον ορό του αίματος, αν και η αδιαπερατότητα του μαστικού επιθηλίου μάλλον αποτελεί τον περιοριστικό παράγοντα για την είσοδό τους στο μαστικό αδένου σε μεγάλη ποσότητα (Rainard και Poutrel 1995, Rainard 2003). Αυτός ο φραγμός αποδυναμώνεται σε περιπτώσεις φλεγμονής, οπότε οι παράγοντες του συμπληρώματος μπορούν να εισέλθουν στο μαστικό αδένου και να

συμβάλλουν στην άμυνα του μαστικού αδένου.

Λόγω της απουσίας του παράγοντα C1q, το κλασικό μονοπάτι ενεργοποίησης του συμπληρώματος δεν μπορεί να λειτουργήσει στο μαστικό αδένου, ενώ λειτουργεί το εναλλακτικό μονοπάτι, με το οποίο παράγεται ο παράγοντας C5 και οι παράγοντες C3b και C3bi συνδέονται με τα βακτήρια. Οι αμυντικές λειτουργίες, που επιτυγχάνονται με αυτούς τους παράγοντες, είναι η οψωνοποίηση των μικροοργανισμών (C3b, C3bi), η προαγωγή της φαγοκυττάρωσης (C3b), ο χημειοτακτισμός των ουδετερόφιλων λευκοκυττάρων (C4a, C5a) και η λύση των κυτταρικών μεμβρανών των βακτηρίων (C5b-9) (Craven και Williams 1985, Persson και συν. 1993, Rainard και Poutrel 1995, 2000, Rainard 2003). Σημειώνεται πάντως ότι η συμβολή του συστήματος του συμπληρώματος στην άμυνα του μαστικού αδένου δεν έχει διαλευκανθεί πλήρως.

Γαλακτοσιδηρίνη

Η γαλακτοσιδηρίνη είναι μία γλυκοπρωτεΐνη που βρίσκεται στο γάλα, το σάλιο, τα δάκρυα και τις ρινικές εκκρίσεις (Masson και συν. 1966). Αν και η συγκέντρωσή της είναι μικρή στο γάλα από υγιείς μαστικούς αδένους, αυξάνεται κατά την παλινδρομήση και τη φλεγμονή του μαστικού αδένου (Harmon και συν. 1975, Harmon και Newbould 1980, Smith και Oliver 1981, Sordillo και συν. 1987, Carlsson και συν. 1989). Είναι, επίσης, αξιοσημείωτο ότι κατά την ξηρά περίοδο, ανευρίσκεται σε μολυσμένους μαστικούς αδένους σε χαμηλότερη συγκέντρωση απ' ό,τι σε μη μολυσμένους (Sordillo και συν. 1987). Πηγή προέλευσης της γαλακτοσιδηρίνης στις μαστικές εκκρίσεις θεωρείται ότι είναι το μαστικό επιθήλιο (Masson και συν. 1966).

Η γαλακτοσιδηρίνη δεσμεύει το διαθέσιμο σίδηρο, οπότε εμποδίζει την ανάπτυξη βακτηρίων που χρειάζονται σίδηρο, για παράδειγμα των *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* και *Streptococcus agalactiae* (Goodman και Schanbacher 1991, Schanbacher και συν. 1993). Όμως, τα ιονικά άλατα στο μαστικό έγκκριμα δεσμεύουν τη γαλακτοσιδηρίνη και έτσι ο σίδηρος παραμένει διαθέσιμος για τα βακτήρια (Reiter 1985, Oliver and Sordillo 1989). Κατά τη διαδικασία της παλινδρομήσης του μαστικού αδένου, η συγκέντρωση ιονικών ιόντων μειώνεται, ενώ αυτή της γαλακτοσιδηρίνης αυξάνεται, οπότε και είναι η περίοδος της πιο αποτελεσματικής δράσης της γαλακτοσιδηρίνης. Αντίθετα, αμέσως μετά τον τοκετό η συγκέντρωση ιονικών ιόντων είναι μεγαλύτερη, ενώ αυτή της γαλακτοσιδηρίνης είναι μικρή, οπότε και ο μαστικός αδένος είναι ιδιαίτερος επιρρεπής σε λοιμώξεις. Επιπλέον, θεωρείται ότι η γαλακτοσιδηρίνη ενεργοποιεί το συμπλήρωμα και προάγει τη φαγοκυττάρωση, καθώς και τη θανάτωση των βακτηρίων από τα ουδετερόφιλα (Reiter 1985, Oliver και Sordillo 1989, Chew και συν. 1991).

Σύστημα γαλακτοπεροξειδάσης/θειοκυανικών ιόντων/υπεροξειδίου του υδρογόνου

Το σύστημα γαλακτουπεροξειδάσης/θειοκυανικών ιόντων/υπεροξειδίου του υδρογόνου, το οποίο ανευρίσκεται

στο γάλα και το σάλιο, βασίζεται στο ένζυμο της γαλακτοπεροξειδάσης. Η αντιβακτηριακή δραστηριότητα αυτού του συστήματος οφείλεται στην παραγωγή οξειδωτικών παραγόντων, οι οποίοι επιδρούν ανασταλτικά στα βακτήρια μέσω της δράσης τους στις εσωτερικές μεμβράνες τους (Björck 1985, Reiter 1985). Η γαλακτοπεροξειδάση ανευρίσκεται συνεχώς στο γάλα των βοοειδών, πιθανόν παραγόμενη από το μαστικό επιθήλιο, ενώ η ποσότητα θειοκυανικών ιόντων επηρεάζεται από την καταναλισκόμενη τροφή (Björck 1985, Reiter 1985). Όταν η τροφή περιέχει μεγάλη ποσότητα γλυκοσυνολοειδών ουσιών (glycosinolates), αυξάνεται και η συγκέντρωση θειοκυανικών ιόντων στο μαστικό αδέν. Φαίνεται όμως ότι το υπεροξειδίο του υδρογόνου είναι ο περιοριστικός παράγοντας του συστήματος αυτού. Βακτήρια, τα οποία δεν παράγουν καταλάση (π.χ. *Streptococcus* spp), παράγουν H_2O_2 , και έτσι επηρεάζονται από το σύστημα, ενώ βακτήρια, τα οποία παράγουν καταλάση (π.χ. *Staphylococcus* spp., *E.coli*), μπορούν να επηρεαστούν μόνον εφόσον εξωγενές H_2O_2 δημιουργηθεί στο μαστικό αδέν από ένζυμα, όπως η οξειδάση της γλυκόζης ή η οξειδάση της ξανθίνης (Björck 1985, Reiter 1985). Η παρουσία οξειδάσης της ξανθίνης στο θηλαίο κόλπο και στους εκκριτικούς ιστούς του μαστικού αδέν των βοοειδών έχει αποδειχθεί (Collins και συν. 1988). Σημειώνεται ότι η παρουσία μικρής τάσης οξυγόνου, όπως στο μαστικό αδέν, μπορεί να αναστείλει την παραγωγή υπεροξειδίου του υδρογόνου και συνακόλουθα και τη λειτουργία του συστήματος.

Λυσοζύμη

Σε *in vitro* μελέτες βρέθηκε ότι η λυσοζύμη υδρόλυε

την πεπτιδογλυκάνη του βακτηριακού τοιχώματος (Banks και Tranter 1985, Reiter 1985), ασκώντας έτσι αντιβακτηριακή δραστηριότητα σε Gram-θετικά και Gram-αρνητικά βακτήρια (Vakil και συν. 1969). Όμως κάποιοι από τους παθογόνους μικροοργανισμούς δεν προσβάλλονται, λόγω του αδιαπέραστου κυτταρικού τοιχώματός τους, το οποίο όμως μπορεί να λυθεί, όταν συνεργαστεί η λυσοζύμη με τα αντισώματα ή το συμπλήρωμα και οφωνοποιηθούν τα βακτήρια (Banks και Tranter 1985, Reiter 1985). Επιπλέον, η λυσοζύμη προωθεί τη φαγοκυττάρωση των μαστικών παθογόνων, παρεμποδίζει την προσκόλληση των βακτηρίων στα κύτταρα και έχει ανοσορρυθμιστικές ιδιότητες (Banks και Tranter 1985, Reiter 1985).

Όμως άλλοι ερευνητές αμφισβητούν τη σημασία της, καθώς βρέθηκαν μικρές ή ελάχιστες συγκεντρώσεις της στο γάλα (Shahani και συν. 1962). Επιπλέον, η αποτελεσματικότητά της δεν έχει επιβεβαιωθεί σε *in vivo* μελέτες, αν και βρέθηκε ότι η συγκέντρωσή της ήταν αυξημένη στην αρχή και το τέλος της γαλακτικής περιόδου, καθώς και σε περιπτώσεις μαστίτιδας (Shahani και συν. 1962, Götze και συν. 1977, Lie και συν. 1986, Carlsson και συν. 1989).

Η πηγή προέλευσης της λυσοζύμης στο γάλα των βοοειδών δεν είναι γνωστή. Πολλές υποθέσεις έχουν γίνει, όπως η διάχυσή της από το αίμα, η απελευθέρωσή της από ουδετερόφιλα ή τέλος, η τοπική παραγωγή της από εκκρίσεις του μαστικού επιθηλίου (Gordon και συν. 1974, Reiter 1985). Αν και σε άλλα ζωικά είδη απελευθερώνεται σημαντική ποσότητα λυσοζύμης από τα ουδετερόφιλα (Gordon και συν. 1974), στα ουδετερόφιλα των βοοειδών μόνον ίχνη λυσοζύμης έχουν ανιχνευθεί (Gennaro και συν. 1978, Berenji και Jain 1983). □

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ - REFERENCES

- Adams DO, Hamilton TA (1988) Phagocytic cell: cytotoxic activities of macrophages. In: Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates. Raven Press, New York, 471-492
- Anderson KL, Smith AR, Shanks RD, Whitmore HL, Davis LE, Gustafsson BK (1986) Endotoxin-induced bovine mastitis: immunoglobulins, phagocytosis, and effect of flunixin meglumine. *Am J Vet Res*, 47:2405-2410
- Arnaout MA, Melamed J, Tack BF, Colten HR (1981) Characterization of the human complement (c3b) receptor with a fluid phase C3b dimer. *J Immunol*, 127:1348-1354
- Baggiolini M, Horisberger U, Gennaro R, Dewald B (1985) Identification of three types of granules in neutrophils of ruminants. Ultrastructure of circulating and maturing cells. *Lab Invest*, 52:151-158
- Banks JG, Tranter HS (1985) Lysozyme. Proceedings of Symposium on natural antimicrobial systems, Bath, England, 38-48
- Barkema HW, Schans J van der, Schukken YH, Gee ALW de, Lam TJGM, Benedictus G (1997) Effect of freezing on somatic cell count of quarter milk samples as determined by a fossomatic electronic cell counter. *J Dairy Sci*, 80:422-426
- Barrio B, Vangroenweghe F, Dosogne H, Burvenich C (2000) Decreased neutrophil bactericidal activity during phagocytosis of a slime-producing *Staphylococcus aureus* strain. *Vet Res*, 31:603-609
- Beaudeau F, Frankena K, Fourichon C, Seegers H, Faye B, Noordhuizen JPTM (1997) Associations between healthy disorders on French dairy cows and early and late culling within the lactation. *Prev Vet Med*, 19:213-231
- Berenji SNH, Jain NC (1983) Antibacterial activity of bovine blood neutrophils and their cationic proteins. *J Dairy Sci*, 66:1377-1383
- Björck L (1985) The lactoperoxidase system. Proceedings of Symposium on natural antimicrobial systems, Bath, England, 18-30
- Brito JRF, Caldeira GAV, Verneque RD, Brito MAVPE (1997) Sensitivity and specificity of the California Mastitis Test as a diagnostic tool for subclinical mastitis in quarter somatic cell count estimation. *Pesquisa Vet Brasil*, 17:49-53
- Brolund L (1985) Cell counts in bovine milk: causes of variation and applicability for diagnosis of subclinical mastitis. Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences
- Capuco AV, Bright SA, Pankey JW, Wood DL, Miller RH, Bitman J (1992) Increased susceptibility to intramammary infection following removal of teat canal keratin. *J Dairy Sci*, 75:2126-2130
- Capuco AV, Paape MJ, Nickerson SC (1986) In vitro study of polymorphonuclear leukocyte damage to mammary tissues of lactating cows. *Am J Vet Res*, 47:663-668
- Carlo AL Di, Paape MJ, Miller RH (1996) Reactivity of purified complement component 3b with bovine neutrophils and

- modulation of complement receptor 1. *Am J Vet Res*, 57:151-156
- Carlsson Å, Björk L, Persson K (1989) Lactoferrin and lysozyme in milk during acute mastitis and their inhibitory effect in Delvotest P. *J Dairy Sci*, 72:3166-3175
- Caswell JL, Middleton DM, Gordon JR (2001) The importance of interleukin-8 as a neutrophil chemoattractant in the lungs of cattle with pneumonic pasteurellosis. *Can J Vet Res*, 65:229-232
- Chew BP, Michal JJ, Wong TS, Heirman LR (1991) Effects of lactoferrin on mammary polymorphonuclear leukocyte function in dairy cow. *J Dairy Sci*, 74(Suppl. 1):166
- Colditz IG, Mass PJCM (1987) The inflammatory activity of activated complement in ovine and bovine mammary glands. *Immunol Cell Biol*, 65:433-436
- Collins RA, Oldham G (1986) Proliferative responses and IL-2 production by mononuclear-cells from bovine mammary secretions, and the effect of mammary secretions on peripheral-blood lymphocytes. *Immunology*, 58:647-651
- Collins RA, Parsons KR, Bland AP (1986) Antibody-containing cells and specialized epithelial cells in the bovine teat. *Res Vet Sci*, 41:50-55
- Collins RA, Parsons KR, Field TR, Bramley AJ (1988) Histochemical localization and possible antibacterial role of xanthine oxidase in bovine mammary gland. *J Dairy Res*, 55:25-32
- Craven N (1983) Generation of neutrophil chemoattractants by phagocytosing bovine mammary macrophages. *Res. Vet. Sci.*, 35:310-317.
- Craven N (1986) Chemotactic factors for bovine neutrophils in relation to mastitis. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 9:29-36
- Craven N, Williams MR (1985) Defences of the bovine mammary gland against infection and prospects for their enhancement. *Vet Immunol Immunopathol*, 10:71-127
- Daley MJ, Williams T, Dougherty R, Coyle P, Furda G, Hayes P (1991). *Staphylococcus aureus* mastitis: pathogenesis and treatment with bovine interleukin-1 and interleukin-2. *J Dairy Sci*, 74:4413
- Daley MJ, Williams T, Dougherty R, Furda G, Hayes P, Coyle (1993). Prevention and therapy of *Staphylococcus aureus* infections with recombinant cytokines. *Cytokine*, 5:276-283
- Djabri B, Bareille N, Beaudeau F, Seegers H (2002) Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows: a meta-analysis. *Vet Res*, 33:335-357
- Dohoo IR, Leslie KE (1991) Evaluation of changes in somatic cell counts as indicators of new intramammary infections. *Prev Vet Med*, 10:225-237
- Doymaz MZ, Sordillo LM, Oliver SP, Guidry AJ (1988) Effects of *Staphylococcus aureus* mastitis on bovine mammary gland plasma cell populations and immunoglobulin concentration in milk. *Vet Immunol Immunopathol*, 20:87-93
- Emanuelson U, Olsson T, Mattila T, Aström G, Holmberg O (1988) Effects of parity and stage of lactation on adenosine triphosphate, somatic cell count and antitrypsin content in cow's milk. *J Dairy Res*, 55:49-55
- Fitzpatrick JL, Cripps PJ, Hill AW, Bland PW, Stokes CR (1992) MHC class II expression in the bovine mammary gland. *Vet Immunol Immunopathol*, 59:79-91
- Gennaro R, Dolzani L, Romeo D (1983) Potency of bactericidal proteins purified from the large granules of bovine neutrophils. *Infect Immun*, 40:684-690
- Gennaro R, Romeo D, Dewald B, Baggolini M (1982) The bovine neutrophil. Separation and partial characterization of plasma-membrane and cytoplasmic granules. *Adv Exp Med Biol* 141: 277-281
- Gennaro R, Schneider C, Nicola G de, Cian F, Romeo D (1978) Biochemical properties of bovine granulocytes. *Proc Soc Exp Biol Med*, 157:342-347
- Goodman RE, Schanbacher FL (1991) Bovine lactoferrin mRNA: sequence, analysis, and expression in the mammary gland. *Biochem Biophys Res Commun*, 180:75-84
- Gordon S, Todd J, Cohn ZA (1974) In vitro synthesis and secretions of lysozyme by mononuclear phagocytes. *J Exp Med*, 139:1228-1248
- Götze P, Meyer J, Buschmann H (1977) Untersuchungen über den Lysozymgehalt im Blut und in der Milch von gesunden und euterkranken Rinden. *Zbl Vet Med B*, 24:560-568
- Guidry AJ, Miller RH (1986). Immunoglobulin isotype concentration: in milk as affected by stage of lactation and parity. *J Dairy Sci*, 69:1799-1805
- Hamblin AS (1993) *Cytokines and Cytokine Receptors*. Oxford, Oxford University Press
- Harmon RJ, Newbould FHS (1980) Neutrophil leukocyte as a source of lactoferrin in bovine milk. *Am J Vet Res*, 41:1603-1606
- Harmon RJ, Schanbacher FL, Ferguson LC, Smith KL (1975) Concentration of lactoferrin in milk of normal lactating cows and changes occurring during mastitis. *Am J Vet Res*, 36:1001-1007
- Hemingway RG (1999) The influence of dietary selenium and vitamin E intakes on milk somatic cell counts and mastitis in cows. *Vet Res Commun*, 23:481-499
- Hibbitt KG, Craven N, Batten EH (1992) *Anatomy, physiology and immunology of the udder*. In: *Bovine Medicine: Diseases and Husbandry of Cattle*. Blackwell Science, Oxford, 276-278
- Hillerton JE (1999) Redefining mastitis based on somatic cell count. *Bul Intnatl Dairy Fed*, 345:4-6
- Hogan JS, Duthie AH, Pankey JW (1986) Fatty-acid composition of bovine teat canal keratin. *J Dairy Sci*, 69:2424-2427
- Hogeveen H, Miltenburg JD, Hollander S den, Frankena K (2001) Milking three times a day and its affect on udder health and production. *Intnatl Dairy Fed Mastitis Newsletter*, 24:7
- Howard CJ, Taylor G, Brownlie J (1980) Surface receptors for immunoglobulin on bovine polymorphonuclear neutrophils and macrophages. *Res Vet Sci*, 29:128-130
- Huszenicza G, Janosi S, Gaspardy A, Kulcsar M (2004) Endocrine aspects in pathogenesis of mastitis in postpartum dairy cows. *Anim Reprod Sci*, υπό εκτύπωση.
- International Dairy Federation (2003) *Ruminant Mammary Gland Immunology*. IDF Special Issue, 302
- Jain NC (1986) *Schalm's Veterinary Hematology*, 4th ed. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Kampen C van, Mallard BA (1997) Effects of peripartum stress and health on circulating bovine lymphocyte s. *Vet Immunol Immunopathol*, 59:79-91
- Klaas IC, Wessels V, Rothfuss H, Tenhangen BA, Henwieser W, Schallenberger E (2004) Factors affecting reproductive performance in German Holstein-Friesian cows with a special focus on postpartum mastitis. *Liv Prod Sci*, 86:233-238
- Klebanoff SJ (1970) In *Biochemistry of the Phagolytic Process*. North Holland Publishing Company, London
- Krömker V, Grabowski NT, Redetzky R, Hamann J (2001) Detection of mastitis using selected quarter-milk parameters. *Proceedings of 2nd International Symposium on Bovine Mastitis and Milk Quality*, Vancouver, Canada, 486-487
- Lie O, Syed M, Solbu H (1986) Improved agar plat assays of bovine lysozyme and haemolytic complement activity. *Acta Vet Scand*, 27:23-32
- Mallard BA, Dekkers JC, Ireland MJ, Leslie KE, Sharif S, Kampen C van, Wagter L, Wilkie BN (1998) Alteration in immune responsiveness during the peripartum period and its ramification on dairy cows and calf health. *J Dairy Sci*, 81:585-595
- Masson PL, Heremans JF, Dive CH (1966) An iron-binding protein

- common to many external secretions. *Clin Chim Acta*, 14:735-739
- Mayer SJ, Waterman AE, Keen PM, Craven N, Bourne EJ (1988) Oxygen concentration in milk and of healthy and mastitic cows and implications of low oxygen tension for the killing of *Staphylococcus aureus* by bovine neutrophils. *J Dairy Res*, 55:513-519
- Mehrzad J, Dosogne H, Vangroenweghe F, Burvenich C (2001) A comparative study of bovine blood and milk neutrophil functions with luminol-dependent chemiluminescence. *Luminescence*, 16:343-356
- Monks J, Geske FJ, Lehman L, Fadok VA (2002) Do inflammatory cells participate in mammary gland involution? *J Mammary Gland Biol*, 7:163-176
- Mottram T, Hart J, Pemberton R (2000) Biosensing techniques for detecting abnormal and contaminated milk. Proceedings of Conference on Robotic Milking, Lelystad, The Netherlands, 108-113
- Neave FK, Dodd FH, Kingwill RG, Westgarth DR (1969) Control of mastitis in the dairy herd by hygiene and management. *J Dairy Sci*, 52:696-707
- Newbould FH (1973) The effect of added serum and glucose and some inherent factors, on phagocytosis in vitro by milk leukocytes from several cows. *Can J Comp Med*, 37:189-194
- Niczerson SC (1987) Resistance mechanisms of the bovine udder: new implications for mastitis at the teat end. *J Am Vet Med Ass* 191:1484-1488
- Nickerson SC, Pankey JW (1983) Cytolytic observations of the bovine teat end. *Am J Vet Res*, 44:1433-1441
- Niemialowski M, Nonnecke BJ, Targowski SP (1988) Phagocytic activity of milk leukocytes during chronic staphylococcal mastitis *J Dairy Sci*, 71:768-787
- Norcross NL (1991) Specific defence mechanisms of the udder. *Flem Vet J*, 62(Suppl. 1):129-139
- Oliver SP, Sordillo LM (1989). Approaches to the manipulation of mammary involution. *J Dairy Sci*, 72:1647-1664
- Östensson K, Hageltorn M, Astrom G (1988) Differential cell counting in fraction-collected milk from dairy-cows. *Acta Vet Scand*, 29:493-500
- Osterlundh I, Holst H, Magnusson U (1998) Hormonal and immunological changes in blood and mammary secretion in the sow at parturition. *Theriogenology*, 50:465-477.
- Outteridge P.M. and Lee C.S., 1981. Cellular immunity in the mammary gland with particular reference to T, B lymphocytes and macrophages. *Exp. Med. Biol.*,137:513-534.
- Paape MJ, Bannerman DD, Zhao X, Lee JW (2003) The bovine neutrophil: structure and function in blood and milk. *Vet Res*, 34:597-627
- Paape MJ, Guidry AJ (1977) Effect of fat and casein on intracellular killing of *Staphylococcus aureus* by milk leukocytes. *Proc Soc Exp Biol Med*, 155:588-593
- Paape MJ, Guidry AJ, Jain NC, Miller RH (1991) Leukocytic defence mechanisms in the udder. *Flem Vet J*, 62(Suppl. 1):95-109
- Paape MJ, Guidry AJ, Kirk ST, Bolt DJ (1975) Measurement of phagocytosis of ³²p-labeled *Staphylococcus aureus* by bovine leukocytes: lysostaphin digestion and inhibitory effect of cream. *Am J Vet Res*, 36:1737-1743
- Paape MJ, Schultze WD, Guidry AJ (1985) Development of natural defense mechanisms. *Kieler Milchw Forsch*, 37:447-457
- Paape MJ, Wergin WP (1977) The leukocyte as a defense mechanism. *J Am Vet Med Assoc*, 170:1214-1223
- Paape MJ, Wergin WP, Guidry AJ, Pearson RE (1979) Leukocyte-second line of defense against invading mastitis pathogens. *J Dairy Sci*, 62:135-153
- Persson K (1992) Studies on inflammation in the bovine teat. Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences
- Persson K, Colditz IG, Flapper P, Franklin NAF, Seow HF (1996) Cytokine-induced inflammation in the ovine teat and udder. *Vet Immunol Immunopath*, 53:73-85
- Persson K, Larsson I, Sandgren CH (1993) Effects of certain inflammatory mediators on bovine neutrophil migration in vivo and in vitro. *Vet Immunol Immunopathol*, 37:99-112
- Politis I, McBride BW, Burton JH, Zhao X, Turner JD (1991) Secretion of interleukin-1 by bovine milk macrophages. *Am J Vet Res*, 52:858-862
- Politis I, Zhao X, McBride BW, Burton JH (1992) Function of bovine mammary macrophages as antigen-presenting cells. *Vet Immunol Immunopathol*, 30:399-410
- Pyorala S (2003) Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. *Vet Res*, 34:565-578
- Rainard P (2003) The complement in milk and defense of the bovine mammary gland against infections. *Vet Res*, 34:647-670
- Rainard P, Poutrel B (1995) Deposition of complement components on *Streptococcus agalactiae* in bovine milk in the absence of inflammation. *Infect Immun*, 63:3422-3427
- Rainard P, Poutrel B (2000) Generation of complement fragment C5a in milk is variable among cows. *J Dairy Sci*, 83:945-951
- Rausch PG, Moore TG (1975) Granule enzymes of polymorphonuclear neutrophils: a phylogenetic comparison. *Blood*, 46:913-919
- Reiter B (1985) Protective Proteins in Milk - Biological Significance and Exploitation. *Bul Intnatl Dairy Fed*, 191
- Ruegg PL, Reinemann DJ (2002) Milk quality and mastitis tests. *Bov Pract*, 36:41-54
- Sandgren CH (1991) The Neutrophil in the Bovine Udder, Friend or Foe? Studies of Bovine Neutrophil Function in Blood, Milk and Teat Secretions. Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden
- Sandholm M (1995) Detection of inflammatory changes in milk. In: *The Bovine Udder and Mastitis*. Gummerus, Jyväskylä, 89-104
- Sargeant JM, Leslie KE, Shirley JE, Pulkrabek JL, Liim GH (2001) Sensitivity and specificity of soamic cell count and California Mastitis Test for identifying intramammary infection in early lactation. *J Dairy Sci*, 84:2018-2024
- Savoini A, Marzari R, Dolzani L, Serrano D, Graziosi G, Gennaro R, Romeo D (1984) Wide-spectrum antibiotic activity of bovine granulocyte polypeptides. *Antimicrob Agents Chemother*, 26:405-407
- Schanbacher FL, Goodman RE, Talhouk RS (1993) Bovine mammary lactoferrin: implications from messenger ribonucleic acid (mRNA) sequence and regulation contrary to other milk proteins *J Dairy Sci*, 76:3812-3831
- Schijns VECJ, Horzinek MC (1997) Cytokines in Veterinary Medicine. Oxford, CAB International.
- Schukken YH, Wilson DJ, Welcome F, Tikofsky LG, Gonzalez RN (2003) Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. *Vet Res*, 34:579-596
- Senft B, Meyer F, Hartmann ML (1990) The importance of proteins of teat canal keratin as complex defense system of bovine mammary gland. *Milchwissenschaft*, 45:295-298
- Shahani KM, Chandan RC, Kelly PL, MacQuiddy EL (1962) Determination of lysozyme in milk and factors affecting its concentration and properties. Proceedings of the 8th International Dairy Congress, 285-294
- Sladek Z, Rysanek D (2001) Neutrophil apoptosis during the resolution of bovine mammary gland injury. *Res Vet Sci*, 70:41-46.
- Smith KL, Oliver SP (1981) Lactoferrin: a component of nonspecific defense of the involuting bovine mammary gland. *Adv Exp Med Biol*, 137:535-554

- Sordillo LM, Babiuk LA (1991) Controlling acute *Escherichia coli* mastitis during the periparturient period with recombinant bovine interferon-gamma. *Vet Microbiol*, 28:189-198
- Sordillo LM, Nickerson SC, Akers RM, Oliver SP (1987) Secretions composition during bovine mammary involution and the relationship with mastitis. *Int J Biochem*, 19:1165-1172
- Sordillo LM, Pighetti GM, Davis MR (1995) Enhanced production of bovine tumor necrosis factor- α during periparturient period. *Vet Immunol Immunopathol*, 49:263-270
- Sordillo LM, Redmond MJ, Campos M, Warren L, Babiuk LA (1991) Cytokine activity in bovine mammary gland secretions during the periparturient period. *Can J Vet Res*, 55:298-301
- Sordillo LM, Streicher KL (2002) Mammary gland immunity and mastitis susceptibility. *J Mammary Gland Biol*, 7:135-146
- Sordillo LM, Weaver KS, DeRosa D (1997) Immunobiology of the mammary gland. *J Dairy Sci*, 80:1851-1865
- Treese JM, Morese GE, Llevy C (1966) Lipid analyses of bovine teat canal keratin. *J Dairy Sci*, 49:1240
- Vakil JR, Chandan RC, Parry RM, Shahani KM (1969) Susceptibility of several microorganisms to milk lysozymes. *J Dairy Sci*, 52:1192-1197
- Vermunt AEM, Loeffen GJM, Vandervoet H, Naber MAAM (1995) Development of reference samples for the calibration and quality-control of somatic-cell count using a fossomatic instrument. *Neth Milk Dairy J*, 49:111-123
- Walker KP (2000) Mammary gland immunology around parturition. Influence of stress, nutrition and genetics. *Adv Exp Med Biol*, 480:231-245
- Waller KP, Colditz IG, Seow HF (1997) Accumulation of leucocytes and cytokines in the lactating ovine udder during mastitis due to *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Res Vet Sci*, 62:63-66
- Wang Y, Zarlenga DS, Paape MJ, Dahl GE (1997) Recombinant bovine soluble CD14 sensitizes the mammary gland to lipopolysaccharide. *Vet Immunol Immunopathol* 86:115-124
- Weaver KAS, Corl CM, Sordillo LM (1999) Shifts in bovine CD+4 subpopulations increase TH-2 compared to TH-1 effector cells during the postpartum period. *J Dairy Sci*, 82:1696-1706
- Weaver KAS, Pighetti GM, Sordillo LM (1996) Diminished mammary gland lymphocyte functions parallel shifts in trafficking patterns during the postpartum period. *Proc Soc Exp Biol Med*, 212:271-280
- Williams DM, Mein GA (1985) The role of machine milking in the invasion of mastitis organisms and implication for maintaining low infection rates. *Kieler Milchw Forsch*, 47:415-425
- Yount NY, Yuan J, Tarver A, Castro T, Diamond G, Tran PA, Levy JN, McCullough C, Cullor J, Bevins CL, Selsted ME (1999) Cloning and expression of bovine neutrophil beta-defensin. Biosynthetic profile during neutrophilic maturation and localization of mature peptide to novel cytoplasmic dense granules. *J Biol Chem*, 274:26249-26258