

Prozdrowotne właściwości białek mleka

Pro-health properties of milk proteins

HANNA CZECZOT¹, GRAŻYNA CICHOSZ¹, MARIKA BIELECKA²

¹Wyższa Szkoła Rehabilitacji

²Katedra Mleczarstwa i Zarządzania Jakością, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski

Streszczenie

Praca dotyczy prozdrowotnych właściwości białek mleka i ich znaczenia w profilaktyce chorób, szczególnie nowotworów. Scharakteryzowano antyoksydacyjne, przeciwdrobnoustrojowe, immunostymulacyjne i antynowotworowe właściwości białek, peptydów, aminokwasów obecnych w mleku i przetworach mlecznych.

Wiele białek mleka i powstających z nich peptydów oraz występujących w mleku enzymów (dysmutaza ponadtlenkowa, katalaza, peroksydaza, reduktaza glutationowa) wykazuje bezpośrednie i pośrednie działanie antyoksydacyjne. Aktywność antyoksydacyjna białek polega na odtwarzaniu grup tiolowych -SH w białkach, unieczynnianiu wolnych rodników i ich reaktywnych form i chelatowaniu Fe (szczególna rola laktoferyny). Wyższą aktywność antyoksydacyjną wykazują bioaktywne peptydy (produkty hydrolizy białek mleka np. kazeiny). Działanie przeciwdrobnoustrojowe (antybakteryjne, antywirusowe, antygrzybicze i antypasożytnicze) wykazują: laktoferyna, lizozym i laktoperoksydaza.

Białka mleka krowiego wykazują największy potencjał immunostymulacyjny, spośród wszystkich białek spożywanych z dietą. Ze wszystkich związków immunologicznie aktywnych mleka to laktoferyna, peptyd bogaty w prolinę (PRP) i immunoglobuliny oraz laktoperoksydaza i lizozym stanowią pierwszą linię obrony przed szerokim spektrum patogennych mikroorganizmów: bakteriami Gram-dodatnimi i Gram-ujemnymi, pasożytami, grzybami oraz wirusami. Warunkując prawidłową odpowiedź immunologiczną organizmu odgrywają one najważniejszą rolę w przeciwdziałaniu różnego rodzaju infekcjom. Odpowiedź immunologiczną organizmu wspomagają także obecne w mleku liczne czynniki wzrostu, białkowe składniki otoczki kuleczki tłuszczowej oraz pośrednio związki mineralne (Zn, Se, Ca, Fe), których nośnikami są białka mleka. Szczególnym białkiem mleka o szerokim spektrum prozdrowotnego działania jest laktoferyna oraz produkty jej denaturacji np. laktoferycyna. Dzięki właściwościom antyoksydacyjnym, przeciwdrobnoustrojowym, immunomodulującym wykazują one udokumentowane działanie antynowotworowe w przypadku nowotworów piersi i układu krwiotwórczego, a także w przerzutowych liniach komórek nowotworowych raka prostaty i kostniakomięsaka.

W świetle aktualnego stanu wiedzy właściwości antyoksydacyjne, przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe, immunostymulujące i przeciwzapalne białek mleka w sposób naturalny wzmacniają układ odpornościowy w identyfikacji oraz eliminacji czynników odpowiedzialnych za powstawanie i rozwój wielu chorób, w tym nowotworów.

Słowa kluczowe: białka mleka, właściwości biologiczne, prozdrowotne działanie

Abstract

The work concerns the pro-health properties of milk proteins and their importance in the prevention of diseases, especially cancer. The antioxidant, antimicrobial, immunostimulatory and anti-cancer properties of proteins, peptides, amino acids present in milk and dairy products were characterized.

Hanna Czeczot, Grażyna Cichosz, Marika Bielecka

Many milk proteins and peptides derived from them, as well as enzymes found in milk (superoxide dismutase, catalase, peroxidase, glutathione reductase) show direct and indirect antioxidant activity. The antioxidant activity of proteins consists in restoring the -SH thiol groups in proteins, inactivating free radicals and their reactive forms and Fe chelating (a special role of lactoferrin). Bioactive peptides (products of milk protein hydrolysis, e.g. caseins) show higher antioxidant activity. Antimicrobial activity (antibacterial, antiviral, antifungal and antiparasitic) is demonstrated by: lactoferrin, lysozyme and lactoperoxidase.

Cow's milk proteins show the greatest immunostimulatory potential among all proteins consumed with the diet. Of all the immunologically active compounds of milk, lactoferrin, proline-rich peptide (PRP) and immunoglobulins, as well as lactoperoxidase and lysozyme are the first line of defense against a wide spectrum of pathogenic microorganisms: gram-positive and gram-negative bacteria, parasites, fungi and viruses. By conditioning the proper immune response of the body, they play the most important role in preventing various types of infections. The immune response of the organism is also supported by numerous growth factors present in milk, protein components of the fat ball shell and indirectly mineral compounds (Zn, Se, Ca, Fe), the carriers of which are milk proteins.

Lactoferrin and its denaturation products, e.g. lactoferrin, are a special milk protein with a broad spectrum of pro-health effects. Thanks to their antioxidant, antimicrobial and immunomodulatory properties, they have a documented anti-cancer effect in breast and hematopoietic cancers, as well as in metastatic cancer cell lines of prostate cancer and osteosarcoma.

In the light of the current state of knowledge, the antioxidant, antibacterial, antiviral, immunostimulatory and anti-inflammatory properties of milk proteins naturally strengthen the immune system in identifying and eliminating factors responsible for the emergence and development of many diseases, including cancer.

Key words: milk proteins, biological properties, pro-health effects

Wstęp

Z obserwacji epidemiologicznych, badań klinicznych i laboratoryjnych (w układach *in vitro* i *in vivo*) wynika, że w patogenezie wielu schorzeń, w tym choroby nowotworowej uczestniczą zarówno czynniki genetyczne jak i środowiskowe. Głównym czynnikiem środowiskowym, decydującym o powstawaniu i rozwoju wielu chorób, szczególnie nowotworów u ludzi jest sposób odżywiania [50]. Spożywanie żywności bogatej w składniki biologicznie aktywne wspomaga endogenne systemy obronne organizmu przed zmianami patologicznymi, którym towarzyszy stan zapalny. Istotne znaczenie mają te składniki diety, które utrzymują równowagę pro- i antyoksydacyjną w komórkach organizmu. W świetle aktualnego stanu wiedzy nie ma już wątpliwości, że nadmierna produkcja wolnych rodników tlenowych i azotowych oraz ich reaktywnych form (RFT/RFA) towarzyszy powstawaniu i rozwojowi większości schorzeń, również nowotworów (nie

tylko na etapie inicjacji, ale również promocji i progresji) [6].

W warunkach homeostazy powstające w organizmie wolne rodniki tlenowe (RFT) i azotowe (RFA) oraz ich reaktywne formy są unieczyniane przez endo- i egzogenne antyoksydanty. Natomiast, w przypadku zbyt intensywnych procesów wolnorodnikowych, nasilony, długotrwały stres oksydacyjny powoduje powstawanie trwałych zmian w strukturze biologicznie aktywnych makrocząsteczek (DNA, białek, lipidów, cukrów). Konsekwencją zmian w strukturze są zaburzenia funkcji biologicznych tych makromolekuł, co skutkuje utratą integralności błon, zaburzeniami w metabolizmie komórkowym i sprzyja powstawaniu wielu schorzeń oraz powstawaniem mutacji, co może prowadzić do transformacji nowotworowej i nadmiernej proliferacji komórek [32].

Źródłem bardzo wielu składników o działaniu antyoksydacyjnym istotnych w profilaktyce wielu chorób, szczególnie nowotworów – jest mleko i jego przetwory [2, 47, 56, 69].

Właściwości antyoksydacyjne białek mleka

Szczególną rolę w zapewnieniu homeostazy pro- i antyoksydacyjnej w organizmie człowieka pełnią białka mleka (różne frakcje kazeiny, białka serwatkowe oraz białka obecne w otoczkach kulek tłuszczowych) oraz powstające z nich bioaktywne peptydy, a także obecne w mleku enzymy [69].

Białka kazeinowe w mleku krowim stanowią ok. 80% białka ogólnego i występują w kilku frakcjach: α s1-kazeina, α s2-kazeina, β -kazeina, γ -kazeina i κ -kazeina. Są one nie tylko nośnikiem jonów wapnia, fosforu, ale także żelaza, cynku czy miedzi. Kazeinian wapnia jest najlepiej przyswajalnym źródłem wapnia w diecie i dlatego odgrywa ważną rolę w profilaktyce osteoporozy, chorób sercowo-naczyniowych (nadciśnienie), nowotworów (jelito grube). Właściwości antyoksydacyjne wykazuje frakcja α s-kazeiny. Kazeina jest także prekursorem wielu peptydów o wielu funkcjach biologicznych. Wykazują one działanie nie tylko antyoksydacyjne, ale także antybakteryjne, immunomodulacyjne, przeciwzakrzepowe. Mają one także zdolność do wiązania związków mineralnych oraz wykazują aktywność agonistyczną lub/i antagonistyczną wobec receptorów opioidowych [26, 52, 53, 56, 59].

Po spożyciu produktów mleczarskich (mleko, ser, jogurt), w żołądku z kazeiny wytwarzane są β -kazomorfiny i fosfopeptydy (CPP). Wykazują one 2,5-krotnie wyższą aktywność antyoksydacyjną niż kazeina, co wynika z większej zawartości aminokwasów hydrofobowych: histydyny, proliny, lizyny oraz tyrozyny i tryptofanu. Wskazuje to, że to I-rzędowa struktura kazeiny determinuje jej właściwości antyoksydacyjne. Wysoką aktywnością w unieczynnianiu anionorodników ponadtlenkowych cechują się także fragmenty kazeiny zawierające leucynę i kwas glutaminowy. Natomiast antyoksydacyjne działanie histydyny jest konsekwencją jej zdolności do chelatowania jonów metali, „wyłapywania” wolnych rodników oraz „wygaszania” tlenu singletowego. Kazeinofosfopeptydy przerywają reakcje autooksydacji, jednak – w odróżnieniu

od innych peptydów – ich wysoki poziom może wywoływać prooksydację. Wykazują one także zdolność do wiązania i transportowania jonów makroelementów (np. Ca, P, Mg, Fe), czy pierwiastków śladowych/mikroelementów (np. Zn, Se). W badaniach *in vitro* wykazano, że niektóre fragmenty β -kazeiny (169–176 oraz 33–48) mogą hamować utlenianie kwasu oleinowego. Zaobserwowano także, że frakcje kazeiny hamują oksydację kwasu α -linolenowego n-3 [11, 16, 33, 56, 59, 60].

Działanie antyoksydacyjne wykazują również białka serwatkowe. Stanowią one 20–25% białek mleka krowiego i należą do nich α -laktoalbumina, β -laktoglobulina, laktoferyna, immunoglobuliny, laktoperoksydaza, lizozym, albumina [14, 37, 40, 46, 66].

Białka serwatkowe zawierają aminokwasy egzogennie niezbędne do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Białka te (np. β -laktoglobulina) są także bogatym źródłem aminokwasów siarkowych (metioniny i cysteiny), niezbędnych (cysteina) do syntezy glutationu (GSH) – jednego z najważniejszych endogennych antyoksydantów w organizmie człowieka. Jest to wielofunkcyjny drobnocząsteczkowy antyoksydant, który bierze udział w bezpośrednim zmiataniu RFT (H_2O_2), chelatowaniu jonów metali ciężkich, a także w detoksykacji egzo- i endogennych związków. Glutation bierze także udział w utrzymaniu grup –SH w białkach, co zapewnia ich aktywność biologiczną [69]. Jest kofaktorem enzymów antyoksydacyjnych: peroksydazy glutationowej (GSHPx), transferazy -S-glutationowej (GST) – istotnych w zabezpieczeniu białek i tłuszczu mlekowego przed utlenianiem [56]. Pośrednie działanie antyoksydacyjne β -laktoglobuliny jest możliwe dzięki zdolności wiązania witamin A i D3 i ułatwieniu ich transportu w organizmie [40, 59].

Z kolei α -laktoalbumina, dzięki zdolności do wiązania i transportu jonów: wapnia, magnezu, cynku i kobaltu, uczestniczy nie tylko w wielu przemianach metabolicznych, ale reguluje gospodarkę wapniową oraz działa antyoksydacyjnie i immunostymulacyjnie. Ze względu na wysoką zawartość tryptofanu, wpływa również korzystnie na zdolności poznawcze i poprawę nastroju [64].

Hanna Czczot, Grażyna Cichosz, Marika Bielecka

Aktywność antyoksydacyjna białek serwatkowych mleka skorelowana jest z ich stężeniem i zależy od stopnia ich denaturacji [76].

Najważniejszym białkiem serwatkowym o wyjątkowej aktywności biologicznej jest laktoferyna. Dzięki zdolności do wiązania i sekwestracji/magazynowaniu wolnego żelaza wykazuje ona właściwości antyoksydacyjne. Jest to możliwe dzięki chelatowaniu żelaza i usuwania w ten sposób tego pierwiastka potrzebnego drobnoustrojom do wzrostu i blokowaniu jego prooksydacyjnego działania, w komórkach, polegającego na wytwarzaniu w reakcji Habera-Weissa czy reakcji Fentona bardzo toksycznego rodnika hydroksylowego. Białko to poprzez wiązanie żelaza chroni komórki przed skutkami stresu oksydacyjnego występującego w stanach zapalnych, które towarzyszą powstawaniu i rozwojowi wielu schorzeń, w tym nowotworów [5, 49, 75, 79].

W wyniku hydrolizy enzymatycznej białek serwatkowych powstają peptydy o wysokiej aktywności antyoksydacyjnej. Najwyższą skuteczność w unieczynnieniu nadtlenków organicznych wykazują peptydy o wysokiej masie cząsteczkowej (>45 kDa). Z β -laktoglobuliny wyizolowano peptyd (reszty aminokwasowe 19–29) o wysokiej zawartości tryptofanu, tyrozyny i metioniny wykazujący wyższą aktywność antyoksydacyjną niż syntetyczny przeciwutleniacz stosowany jako konserwant żywności – butylowany hydroksyanizol (BHA). Mechanizm antyoksydacyjnego działania białek serwatkowych polega na zmiataniu wolnych rodników dzięki obecności w nich określonych aminokwasów i chelatowaniu żelaza oraz odtwarzaniu grup tiolowych -SH w białkach [56, 59].

Ważną grupę antyoksydantów stanowią również obecne w mleku enzymy: dysmutaza ponadtlenkowa, katalaza, peroksydaza oraz reduktaza glutationowa. Dysmutaza ponadtlenkowa, przekształca anionorodniki ponadtlenkowe do nadtlenku wodoru i tlenu cząsteczkowego. Katalaza, podobnie jak peroksydaza glutationowa, jest zdolna do usuwania nadtlenku wodoru. W układach biologicznych neutralizacja nadtlenku wodoru przez peroksydazę glutationową następuje poprzez redukcję glutationu. Peroksydaza glutationowa jest też nośnikiem ok.

30% obecnego w mleku selenu. Enzym ten wspólnie z dysmutazą ponadtlenkową i katalazą oraz reduktazą glutationową jest ważnym elementem ochrony komórek przed skutkami toksycznego działania RFT [34, 47, 56, 59].

Utlenianiu białek i peptydów w mleku zapobiega obecna w nim, w niewielkich ilościach witamina C. Mechanizm jej antyoksydacyjnego działania polega na reakcji z nadtlenkiem wodoru, anionorodnikiem ponadtlenkowym, rodnikiem hydroksylowym i wytwarzaniu mniej reaktywnego rodnika askorbylowego. Witamina C jest również odpowiedzialna za utrzymanie na odpowiednim stopniu utlenienia jonów metali, wchodzących w skład niektórych enzymów obecnych w mleku, a także utrzymanie w formie zredukowanej grup tiolowych (-SH) w glutationie i w białkach. Mleko poddane pasteryzacji oraz sterylizacji nie zawiera witaminy C [80].

Właściwości antybakteryjne i antywirusowe białek mleka

Ważną rolę w etiopatogenezie wielu schorzeń, w tym nowotworów odgrywają czynniki infekcyjne. Obecnie szacuje się, że ok. 18–20% nowotworów może mieć podłoże wirusowe, bakteryjne, grzybicze i pasożytnicze. Dane epidemiologiczne dostarczają coraz więcej dowodów dotyczących związku przewlekłych infekcji bakteryjnych, wirusowych z procesami kancerogenezy. Stan zapalny towarzyszący przewlekłym infekcjom stanowi istotny czynnik ryzyka powstawania i rozwoju chorób nowotworowych [6, 9, 35, 41, 48, 77].

Właściwości przeciwdrobnoustrojowe (szczególnie antybakteryjne i antywirusowe) wykazują między innymi białka mleka (przede wszystkim białka serwatkowe: laktoferyna, laktopeperoksydaza, immunoglobuliny i lizozym). Są one aktywne bakteriobójczo w stosunku zarówno do bakterii Gram-ujemnych (np. *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Shigella flexneri*, *Pseudomonas spp.*) jak i Gram-dodatnich (np. *Clostridium difficile*, *Staphylococcus spp.* i *Streptococcus spp.*, *Listeria spp.*) a nawet grzybów (np. *Candida albicans*) i pasożytów [7–9, 13, 48, 77].

Mechanizm antybakteryjnego działania tych białek polega między innymi na: wiązaniu wolnego żelaza, które jest niezbędne dla rozwoju bakterii (szczególna rola laktoferyny); destrukcji ściany komórkowej, co prowadzi do śmierci bakterii; przyłączaniu do białek porynowych; hamowaniu adhezji bakterii do komórek gospodarza poprzez degradację adhezyn bakteryjnych; hamowaniu tworzenia biofilmu; zwiększaniu aktywności bójczej układu odpornościowego oraz zwiększeniu wrażliwości bakterii na antybiotyki [7, 64, 77].

Wykazano, że β -laktoglobulina hamując adhezję wielu patogenów w jelitach a frakcja κ -kazeina *Helicobacter pylori* do błony śluzowej żołądka mogą zapobiegać infekcjom w przewodzie pokarmowym [35].

Najwięcej danych o mechanizmach antybakteryjnego działania dotyczy laktoferyny. Wykazuje ona również działanie antywirusowe. Zapobiega ich przedostawaniu się do komórek gospodarza, dzięki czemu blokuje zakażenie na wczesnym etapie. W badaniach klinicznych wykazano, że jest ona skuteczna w hamowaniu infekcji wywołanych przez różnego typu wirusy (np. zapalenia wątroby typu B (HBV) i C (HCV), opryszczki (*Herpes simplex virus*), ludzkiego wirusa niedoboru odporności (HIV), wirusa brodawczaka ludzkiego (HPV), enterowirusa, adenowirusa, wirusa grypy oraz rotawirusa, który jest najważniejszym czynnikiem etiologicznym ostrych schorzeń z biegunką, stanowiących jedną z głównych przyczyn śmiertelności niemowląt i małych dzieci [1, 4, 5, 23, 49].

Silne działanie laktoferyny wobec wirusa HIV, wynika z jej zdolności do hamowania jego replikacji w organizmie gospodarza oraz blokowania receptorów komórkowych wirusa (poprzez wiązanie się do białek powierzchniowych). W testach *in vitro* wykazano, także działanie przeciwko wirusowi HIV α -laktoalbuminy (α -LA) i β -laktoglobuliny (β -LA). Laktoferyna wykazuje także aktywność przeciwgrzybiczą, zwłaszcza wobec *Candida albicans* oraz kilku innych gatunków *Candida* (np. *Candida krusi*, *Candida tropicalis*), co związane jest z destrukcją/dezintegracją ścian komórkowych grzybów. Natomiast działanie przeciwpasożytnicze laktoferyny polega podobnie

jak w przypadku jej działania antybakteryjnego na konkurencji z pasożytem (np. *Pneumocystis carinii*, *Plasmodium falciparum*, *Trypanosoma cruzi*) o jony żelaza [3, 45, 62].

Również peptydy pochodzące/powstające z laktoferyny – laktoferycyna (fragment 17–41) i laktoferampina (fragment 268–284) wykazują ochronne działanie nie tylko przed patogenymi bakteriami, wirusami, ale także grzybami i pasożytami. Działanie antybakteryjne wykazuje także, glikomakropeptyd powstający z frakcji κ -kazeiny (reszty aminokwasowe 106–169). Efektami jego działania jest stymulacja fagocytozy w proliferacji ludzkich makrofagów, hamowanie adhezji bakterii kolonizujących jamę ustną i adhezji *Helicobacter pylori* do błony śluzowej żołądka. Działanie takie wykazują również inne peptydy powstające w wyniku hydrolizy κ -kazeiny, zawierające jej fragmenty [3, 44, 65].

Występująca w mleku laktoperoksydaza katalizuje reakcję utleniania tiocyjanianów (SCN^-) w obecności nadtlenu wodoru w nietrwałe związki, które mają zdolność hamowania metabolizmu wielu mikroorganizmów. Enzym ten dzięki swojej aktywności pełni rolę naturalnego czynnika antybakteryjnego wobec bakterii Gram-dodatnich (np. *Listeria spp.*, *Staphylococcus spp.* oraz *Streptococcus spp.*) i Gram-ujemnych (np. *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Campylobacter spp.*), wirusów, grzybów czy pierwotniaków. Inaktywuje także wirusy HIV1 i polio [4, 5, 58, 59, 77].

Naturalny mechanizm obronny organizmu stanowi również lizozym, mimo, że występuje w mleku krowim w niewielkim stężeniu. Jego działanie antybakteryjne polega na niszczeniu bakterii dzięki hydrolizie polisacharydu, z którego zbudowana jest ściana komórkowa wielu bakterii. Obecne w mleku laktoperoksydaza i lizozym stanowią elementy niespecyficznej/nieswoistej odporności komórkowej. Ich działanie jest ściśle powiązane z funkcjami biologicznymi laktoferyny i immunoglobulin (efekt synergistyczny) [7, 37].

Działanie antybakteryjne wykazują także występujące nie tylko w sianie, ale także w mleku immunoglobuliny, u przeżuwaczy IgG, ludzi i innych ssaków IgA (szczególnie odporne na

Hanna Czeczot, Grażyna Cichosz, Marika Bielecka

trawienie przez enzymy żołądkowo-jelitowe). Warunkują one swoistą odporność humoralną organizmu. IgA chroni niedojrzałe immunologicznie błony śluzowe organizmu przed infekcjami [20, 29]. Przeciwdziałają one adhezji patogenów do błon śluzowych (układu pokarmowego, oddechowego i moczowo-płciowego), co utrudnia ich penetrację i kolonizację w organizmie. Hamują także metabolizm bakterii (poprzez inhibicję enzymów), a także neutralizują ich toksyny. Biorą również udział w niszczeniu między innymi *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Clostridium difficile*, *Shigella flexneri*, *Streptococcus mutans* czy *Helicobacter pylori* w procesie opsonizacji (przyłączanie do patogenu ułatwiające jego fagocytozę) [20, 24, 51, 61, 67, 68].

Właściwości immunostymulacyjne białek mleka

Układ immunologiczny człowieka stanowi główną linię obrony przed chorobami, w tym nowotworami, dlatego tak istotne jest naturalne wzmacnianie jego roli w identyfikacji i eliminacji komórek nowotworowych. Wiele badań i obserwacje epidemiologiczne wskazują, że regularne spożywanie mleka i przetworów mlecznych wzmacnia mechanizmy odpornościowe w organizmie człowieka [17, 26, 28].

Stymulacja działania układu odpornościowego przez związki immunomodulacyjne jest skutecznym sposobem walki w różnych stanach chorobowych, szczególnie nowotworów. W licznych badaniach udowodniono, że wiele białek mleka (szczególnie białka serwatkowe), a także powstające z nich peptydy, zawierające w swoim składzie aminokwasy egzogenne wykazują właściwości immunostymulacyjne. Zawartość tych białek w codziennej diecie jest jednym z czynników warunkujących prawidłową odpowiedź immunologiczną organizmu [28].

Wpływ na proliferację limfocytów wykazują zarówno frakcje α -, β - i κ -kazeiny oraz ich pochodne (np. glikomakropeptyd – pochodzący z κ -kazeiny), a także białka serwatkowe m.in. laktoferyna, laktoperoksydaza, czynnik wzrostu (IGF1) oraz immunoglobuliny G. Kazeina β

znacząco stymuluje proliferację limfocytów T i B, natomiast kazeina α intensyfikuje proliferację limfocytów T. Podobnie κ -kazeina oraz powstające z niej peptydy, stymulują proliferację limfocytów. Polipeptyd bogaty w prolinę (PRP) promuje dojrzewanie i różnicowanie tymocytów. Wykazuje zdolność do stymulacji syntezy niektórych cytokin np. Il-6, Il-10 czy TNF- α . Ponadto może zmniejszać wytwarzanie autoprzeciwciał oraz ma zdolność do zmiany markerów powierzchniowych i funkcji komórek. Produkty trawienia PPR regulują hormonalną odpowiedź immunologiczną, reakcję nadwrażliwości późnej i dojrzewanie tymocytów [16, 70, 78].

Właściwości immunostymulacyjne wykazują także białka serwatkowe (β laktoglobulina, α -laktoalbumina, laktoferyna, immunoglobuliny) oraz obecne w mleku enzymy (laktoperoksydaza, lizozym). Jest to możliwe dzięki ich właściwościom antyoksydacyjnym i przeciwdrobnoustrojowym [10, 17].

Najważniejszym białkiem mleka o właściwościach immunomodulujących jest laktoferyna współpracująca z immunoglobulinami, laktoperoksydazą i lizozymem w regulacji odpowiedzi odpornościowej organizmu.

Laktoferyna może w sposób bezpośredni stymulować odpowiedź immunologiczną organizmu. Jest to możliwe poprzez: pobudzenie syntezy nieswoistych przeciwciał IgA i IgG w jelicie; stymulację dojrzewania oraz różnicowania tymocytów do dojrzałych limfocytów T; promocję dojrzewania limfocytów B, umożliwiając im prezentację antygenów [1, 4, 5, 41, 42].

Pośrednie działanie immunomodulujące laktoferyny wynika z jej powinowactwa do wolnego żelaza. Wychwytyjąc i wiążąc wolne żelazo w organizmie, utrudnia bakteriom dostęp do jonu metalu niezbędnego do ich rozwoju i wzrostu. Antibakteryjny mechanizm działania laktoferyny niezależny od wiązania żelaza polega na wiązaniu N-końcowej części białka do ściany komórkowej bakterii, doprowadzając do jej uszkodzenia/destrukcji. Ma to istotne znaczenie dla ochrony komórek nabłonka jelita oraz wspomagania mikroflory probiotycznej. Wykazano, że laktoferyna hamuje wzrost *Escherichia coli*

i innych patogennych bakterii jelitowych, zwłaszcza z rodziny *Enterobacteriaceae* [1, 9].

Immunostymulujący potencjał laktoferyny determinuje także jej przeciwwirusowe, przeciwgrzybicze czy przeciw pasożytnicze działanie [8, 13, 30].

Potencjał immunostymulujący laktoferyny wiąże się również z jej działaniem przeciwzapalnym. Stymuluje ona syntezę cytokin przeciwzapalnych (np. IL-4 i IL-10) i hamuje wytwarzanie cytokin prozapalnych (np. czynnik martwicy TNF- α ; ang. *tumor necrosis factor α*), i IL-1 β i IL6) w jelicie [1, 55].

Właściwości przeciwzapalne LF związane są także z jej zdolnością do wiązania z lipopolisacharydami (LPS), które są mediatorami reakcji zapalnych. Duże ilości LPS powodują nadprodukcję wolnych rodników tlenowych. Laktoferyna ma zdolność szybkiej inaktywacji LPS, ograniczając tym samym uszkodzenia oksydacyjne tkanek [1, 3–5, 45, 62, 71].

W stymulacji układu odpornościowego istotne są także immunoglobuliny (głównie IgG) mleka krowiego warunkujące swoistą odporność humoralną organizmu. Wynika to z ich wysokiej koncentracji (0,6–0,9 g/l mleka), a także ze współdziałania z laktoferyną, laktoperoksydazą oraz lizozym [51, 38, 39].

W licznych badaniach potwierdzono, że białka serwatkowe dzięki komórkowym mechanizmom obronnym mogą skutecznie hamować migrację bakterii przez błony przewodu pokarmowego, co zmniejsza prawdopodobieństwo infekcji bakteryjnych [36, 37, 51].

W skład białek serwatkowych wchodzi także liczne czynniki wzrostu (IGF-1 i -2, TGF α i β , EGF). W gospodarce hormonalnej (m.in. w sekrecji insuliny) istotny jest przede wszystkim IGF-1 (ang. *Insulin-like Growth Factor*), który wspomaga proliferację ludzkich limfocytów T. Z kolei TGF- α i β (ang. *Transforming Growth Factor*) odpowiedzialne są za różnicowanie komórek nabłonka jelita. Poza tym, biorą udział w regulacji układu odpornościowego. Natomiast EGF (ang. *Epidermal Growth Factor*) ogranicza migrację bakterii przez ścianę przewodu pokarmowego [36, 57, 54].

Również niektóre białka (np. mucyna, laktadheryna, butyrofilina, adipofilina), peptydy

i enzymy (np. oksydaza ksantynowa czy fosfataza alkaliczna) wchodzące w skład otoczki kuleczki tłuszczowej (MFGM; ang. *milk fat globule membrane*) wykazują korzystne działanie na układ odpornościowy. Wykazano, że białka MFGM są czynnikiem regulującym procesy komórkowe. Butyrofilina poprzez działanie autoimmunogenne zapobiega stwardnieniu rozsianemu i autyzmowi. Natomiast adipofilina jest jednym z markerów różnicowania komórek tłuszczowych (adipocytów); wpływa na rozwój i funkcjonowanie tkanki tłuszczowej [20, 15].

Duży wpływ na odpowiedź immunologiczną wywierają także aminokwasy. Funkcjonowanie limfocytów typu T i B wspomaga glutamina, która zwiększa aktywność fagocytarną makrofagów, proliferację limfocytów oraz wytwarzanie cytokin przez limfocyty i makrofagi. Optymalne stężenie asparaginy (2mM) zwiększa wzrost limfocytów i zapobiega ich apoptozie. Natomiast L-arginina wpływa na proliferację i funkcjonowanie limfocytów T. Poprzez wpływ na poziom NO, który rozszerza naczynia krwionośne oraz udział w niszczeniu pasożytów, bakterii, wirusów, komórek nowotworowych, L-arginina usprawnia funkcje układu krążenia i układu odpornościowego [43].

Białka mleka (kazeina, α -laktoalbumina i β -laktoglobulina, peroksydaza glutationowa) są nośnikami związków mineralnych (Mg, Co, Zn, Se, Ca, Cu i Fe) istotnych dla funkcjonowania układu odpornościowego. Zn indukuje uwalnianie IL-1, IL-6, TNF- α oraz pobudza monocyty. Ponadto, indukuje adhezję monocytów do śródbłonka, jest niezbędny w funkcjonowaniu makrofagów w fagocytozie, produkcji cytokin, jak też proliferacji i aktywacji limfocytów. Immunostymulacyjne działanie Se polega na pobudzaniu proliferacji limfocytów T, intensyfikacji odpowiedzi na antygeny oraz zwiększaniu aktywności limfocytów cytotoksycznych i komórek NK. Natomiast Ca stymuluje proces fagocytozy oraz wytwarzanie leukocytów w szpiku kostnym, przekazuje sygnały niezbędne w regulacji różnicowania i transkrypcji genów. W procesie dojrzewania limfocytów oraz ich proliferacji, a także w aktywacji enzymów biorących udział w syntezie DNA, niezbędne jest Fe [14, 27, 35, 64].

Hanna Czeczot, Grażyna Cichosz, Marika Bielecka

Antynowotworowe właściwości białek mleka

Właściwości antyoksydacyjne, przeciwdrobnoustrojowe i immunostymulujące białek mleka determinują ich działanie antynowotworowe na każdym etapie nowotworzenia. Szczególnie skutecznym sposobem walki z nowotworami jest stymulacja działania układu odpornościowego przez związki immunomodulacyjne, spośród których wiele znajduje się w mleku [48, 53].

Dość dobrze poznany jest mechanizm antynowotworowego działania laktoferyny i powstających z niej peptydów, który polega między innymi na: zwiększeniu ekspresji receptorów powierzchniowych na komórkach nowotworowych, ułatwiając ich identyfikację przez układ immunologiczny gospodarza; stymulacji aktywności limfocytów, leukocytów i komórki NK (ang. Natural Killer – naturalni zabójcy) odpowiedzialnych za zjawisko naturalnej cytotoksyczności; wiązaniu żelaza niezbędnego do wzrostu komórek nowotworowych; hamowaniu ich proliferacji; indukcji apoptozy, lizie komórek nowotworowych, czy hamowaniu angiogenezy w obrębie guzów. Wykazano, że laktoferyna może hamować wzrost nowotworu, zarówno *in vitro* oraz *in vivo*. Poprzez bezpośrednie oddziaływanie z określonymi receptorami LF moduluje ekspresję genetyczną cząsteczek uczestniczących w cyklu komórkowym i mechanizmie apoptozy. Zaobserwowano, że w komórkach przerzutowych raka prostaty i kostniakomięsaka (*lac.osteosarcoma*), który jest najcięższym nowotworem u dzieci LF uczestniczy w indukcji apoptozy, zatrzymaniu cyklu komórkowego oraz zwiększa ich immunoreaktywność [72, 73, 79].

Kolejny mechanizm przeciwnowotworowego działania laktoferyny polega na wiązaniu żelaza, co ogranicza produkcję w reakcji Habera-Weissa i Fentona wolnych RFT indukujących w DNA oksydacyjne uszkodzenia zasad azotowych, co sprzyja powstawaniu mutacji. Zaobserwowano także, że wysycona żelazem laktoferyna (hololactoferrin) zwiększa skuteczność chemioterapii [12].

W badaniach *in vitro* oraz *in vivo* wykazano, że laktoferyna może działać cytotoksycznie na

komórki nowotworowe raka okrężnicy, raka sutka, czerniaka, włókniako-mięsaka. Ponadto zaobserwowano, że blokuje proliferację komórek raka płuc oraz angiogenezę wokół guzów nowotworowych, co hamuje ich wzrost oraz tworzenie przerzutów [3, 25, 62, 71, 79].

Aktywność przeciwnowotworową wykazują również uwalniane ze zdenaturowanej laktoferyny peptydy (m.cz.>20 kDa). Przykładem tego jest laktoferycyna B (Lfcb), której antynowotworowe działanie potwierdzono w licznych badaniach, szczególnie *in vitro*. Dzięki wielokierunkowym działaniom LF jest obecnie uznana za potencjalny lek przeciwnowotworowy [19, 25, 63, 72, 73, 79].

Również pochodzący z β -kazeiny heksapeptyd Pro-Gly-Ile-Pro-Pro-Asn (reszty aminokwasowe 63–68) (PGPIP β -CN) hamuje proliferację ludzkich linii komórek raka jajnika. Jego przeciwnowotworowe działanie polega na promowaniu apoptozy poprzez hamowanie szlaku Bcl 2. Ze względu na wysoką zawartość proliny heksapeptyd PGPIP β -CN jest bardziej odporny na degradację przez enzymy trawienne, niż inne peptydy. W badaniach na zwierzętach wykazano, że odgrywa on ważną rolę w odpowiedzi immunologicznej: stymuluje proliferację limfocytów, zwiększa aktywność fagocytarną makrofagów. Poza tym, PGPIP β -CN wykazuje aktywność antyoksydacyjną [74]. Mechanizm antynowotworowego działania peptydu PRP, podobnie jak i innych białek (szczególnie laktoferyny) mleka wiąże się z jego właściwościami immunomodulującymi. PRP stymuluje leukocyty krwi obwodowej do produkcji cytokin (np. interferon gamma (INF- γ) czy czynnik martwicy nowotworów alfa (TNF- α)). INF- γ aktywuje komórki NK i makrofagi oraz usprawnia działanie limfocytów T. Natomiast TNF- α stymuluje fagocytozę i wykazuje wobec komórek nowotworowych bezpośrednie działania cytotoksyczne [31, 63].

Ludzka α -laktoalbumina z kwasem oleinowym tworzy kompleks HAMLET (*human alpha-lactoalbumin made lethal to tumor cells*), natomiast bydlęca α -laktoalbumina kompleks BAMLET (*bovine alpha-lactoalbumin made lethal to tumor cells*), które poprzez indukcję apoptozy wykazują silne działanie cytotoksyczne wobec wielu linii

komórek nowotworowych (np. komórek glejaka, brodawczaków skórnych). Zaobserwowano, że kompleks ten działa selektywnie, niszczy wyłącznie komórki rakowe [18, 22]. Antynowotworowy potencjał mleka zwiększają obecne w nim seleno-białka o działaniu antyoksydacyjnym (np. peroksydaza glutationowa) [21, 27].

Podsumowanie

Białka mleka wykazują szerokie spectrum właściwości biologicznych, co determinuje ich korzystne działanie na organizm człowieka. Charakteryzują się wysoką aktywnością antyoksydacyjną oraz wyjątkowym potencjałem antybakteryjnym, antywirusowym i immunostymulacyjnym, co może być wykorzystane w profilaktyce wieku schorzeń, w tym w chorobie nowotworowej. Białka serwatkowe (laktoferyna, β -laktoglobulina, α -laktoalbumina i albumina surowicy) hamują wzrost guzów nowotworowych w sposób bardziej efektywny niż inne białka żywności. Dzięki działaniu w przewodzie pokarmowym antyproteaz, laktoferyna, immunoglobuliny, laktoperoksydaza i lizozym oraz bioaktywne peptydy są odporne na działanie pepsyny i trypsyny i w znacznym stopniu zachowują swoją aktywność biologiczną w organizmie człowieka. W ostatnich latach jest bardzo duże zainteresowanie produktami chroniącymi organizm przed różnego typu schorzeniami (w tym nowotwory) i wspomagającymi układ odpornościowy organizmu białka mleka

(szczególnie laktoferyna, immunoglobuliny) są coraz częściej wykorzystywane do wzbogacania żywności, środków dietetycznych dla dorosłych, odżywek dla dzieci, wysokobiałkowych preparatów/suplementów (np. Immunocal, Colostrum, Colostrin, Lactoferrin, Colostrum Bovinum Lux vitale i inne) dla sportowców, rekonwalescentów i osób starszych. Laktoferyna, laktoperoksydaza czy lizozym jako czynniki przeciwdrobnoustrojowe (szczególnie antybakteryjne) hamujące próchnicę stanowią składniki past do zębów, płynów dezynfekujących jamę ustną oraz gum do żucia.

Mimo licznych dowodów na prozdrowotne działanie białek mleka, opracowania epidemiologiczne nie potwierdzają w sposób jednoznaczny czy spożycie mleka zmniejsza czy zwiększa ryzyko zachorowania na nowotwory. Powodem tego może być niska jakość cytologiczna mleka, w związku z powszechnym żywieniem krów w systemie TMR (hodowla wysokowydajna). Potencjał immunostymulacyjny i antynowotworowy wykazuje wyłącznie mleko o najwyższych standardach jakości cytologicznej, nie zawierające jakichkolwiek pozostałości substancji hamujących, pozyskiwane od krów żywionych zieloną pastwiskową. Ponadto, źródłem natywnych białek serwatkowych jest tylko mleko po mikrofiltracji oraz niskopasteryzowane. Szansą na wykorzystanie antynowotworowego potencjału białek mleka jest powrót do tradycyjnych metod hodowli krów mlecznych, na wzór Szwajcarii.

Piśmiennictwo

1. Actor JK, Hwang S, Kruzel M. Lactoferrin as a natural immune modulator. *Curr Pharm Des* 2009; 15 (17): 1956–1973.
2. Aimutis WR. Bioactive properties of milk proteins with particular focus on anticarcinogenesis. *J Nutr* 2004; 4: 989–995.
3. Andersen JH, Jenssen H, Gutteberg TJ. Lactoferrin and lactoferricin inhibit Herpes simplex 1 and 2 infection and exhibit synergy when combined with acyclovir. *Antivir Res* 2003; 58: 209–215.
4. Artym J. Antitumor and chemopreventive activity of lactoferrin. *Post Hig Med Dosw* 2006; 60: 352–369.
5. Artym J. Udział laktoferyny w gospodarce żelazem w organizmie. Część II. Działanie przeciwmikrobiologiczne i przeciwzapalne poprzez sekwestrację żelaza. *Post Hig Med Dosw* 2010; 64: 604–616.

Hanna Czczot, Grażyna Cichosz, Marika Bielecka

6. Behrend L, Henderson G, Zwacka RM. Reactive oxygen species in oncogenic transformation. *Biochem Soc Trans* 2003; 31(6):1441–1444.
7. Benkerroum N. Antimicrobial activity of lysozyme with special relevance to milk. *Afr J Biotechnol* 2008; 7(25): 4856–4867.
8. Berkhout B, Van Wamel JL, Belijaars L, Beljaars L, Meijer DKF, Visser S, Floriscet R. Charakterization of the anti-HIV effects of native lactoferrin and other milk proteins and protein-derived peptides. *Antiviral Res* 2002; 55: 341–355.
9. Berlutti F, Pantanella F, Natalizi T, Frioni A, Paesano R, Polimeni A, Valenti P. Antiviral properties of lactoferrin—a natural immunity molecule. *Molecules* 2011; 16(8): 6992–7018.
10. Boots JW, Floris R. Lactoperoxidase: From catalytic mechanism to practical applications. *Int Dairy J* 2006; 16(11): 1272–1276.
11. Bouhallab S, Bouglé D. Biopeptides of milk: Caseinophosphopeptides and mineral bioavailability *Reprod Nutr Devel* 2004; 44(5): 493–498.
12. Burrow H, Kanwar RK, Kanwar JR. Antioxidant enzyme activities of iron-saturated bovine lactoferrin (Fe-bLf) in human gut epithelial cells under oxidative stress. *Med Chem* 2011; 7(3): 224–230.
13. Carvalho CAM, Ivanildo PS Jr, Saliva JL, Oliveira AO, Goncalves RB, Gomes AMO. Inhibition of Mayaro virus infection by bovine lactoferrin. *Virology* 2014; 452(3): 297–302.
14. Chatterton DE, Smithers G, Roupas P, Brodkorb A. Bioactivity of α -lactalbumin and β -lactoglobulin – technological implications for Processing. *Int Dairy J* 2006; 16: 1229–1240.
15. Contarini G, Povolo M. Phospholipids in milk fat: composition, biological and technological significance, and analytical strategies. *Inter J Mol Sciences* 2013; 14(2): 2808–2831.
16. Cross DA, Huq NL, Reynolds EC. Casein phosphopeptides in oral health-chemistry and clinical application. *Curr Pharm Desig* 2007; 13: 793–800.
17. Darewicz M, Dziuba B, Minkiewicz P, Dziuba J. The Preventive Potential of Milk and Colostrum Proteins and Protein Fragments. *J Food Rev Inter* 2011; 27 (4): 357–388.
18. Delgado Y, Morales-Cruz M, Figueroa CM, Hernandez-Roman J. The cytotoxicity of BAMLET complexes is due to oleic acid and independent of the α -lactalbumin component. *FEBS* 2015; 5: 397–404.
19. Duarte, DC, Nicolau A, Teixeira JA, Rodrigues LR. The effect of bovine milk lactoferrin on human breast cancer cell lines. *J Dairy Sci* 2011; 94(1): 66–76.
20. El-Loly MM. Bovine milk immunoglobulins in relation to human health. *Int J Dairy Sci* 2007; 2(3): 183–195.
21. Fairweather-Tait SJ, Bao Y, Broadley MR, Collings R, Ford D, Hesketh JE, Hurst R. Selenium in human health and disease. *Antioxid Redox Signal* 2011; 14(7): 1337–1383.
22. Fang B, Zhang M, Tian M, Jiang L, Guo HG, Ren FZ. Bovine lactoferrin binds oleic acid to form an anti-tumor complex similar to HAMLET. *Bioch Bioph Acta (BBA)* 2014; 1841(4): 535–543.
23. Gajda-Morszewski P, Śpiewak K. Laktoferyna – białko multipotencjalne. *Zesz Nauk Doktorantów UJ Nauki Ścisłe* 2015; 10: 177–188.
24. Gapper LW, David EJ, Copestake DEJ, Otter DE, Indyk HE. Analysis of bovine immunoglobulin G in milk, colostrum and dietary supplements: a review. *Anal Bioanal Chem* 2007; 389: 93–109.
25. Gibbons JA, Kanwar RK, Kanwar JR. Lactoferrin and cancer in different cancer models. *Front Biosci (Schol Ed)* 2011; 3: 1080–1088.
26. Gill HS, Doull F, Rutherford KJ, Cross ML. Immunoregulatory peptides in bovine milk. *Br J Nutr* 2000; 84 (1): 111–117.
27. Gong J, Ni L, Wang D, Shi B, Yan S. Effect of dietary organic selenium on milk selenium concentration and antioxidant and immune status in midlactation dairy cows. *Livestock Sci* 2014; 170: 84–90.
28. Grimm H, Calder PC. Immunonutrition. *Br J Nutr* 2002; 87(1): S1.
29. Hurley WL, Theil PK. Perspectives on immunoglobulins in colostrum and milk. *Nutr* 2011; 3(4): 442–474.
30. Imoto I, Okuda M, Nakazawa T, Miyashiro E, Yamauchi K, Takakura N, Teraguchi S, Tamura Y, Adachi Y. Suppressive effect of bovine lactoferrin against *Helicobacter pylori*. *Milk Science* 2004; 53: 288–290.
31. Inglot AD, Janusz M, Lisowski J. Colostrinine: A proline-rich polypeptide from ovine colostrums is a modest cytokine inducer in human leukocytes. *Arch Immunol Ther Exp* 1996; 44: 215–224.

32. Karpińska A, Gromadzka G. Stres oksydacyjny i naturalne mechanizmy antyoksydacyjne – znaczenie w procesie neurodegeneracji. Od mechanizmów molekularnych do strategii terapeutycznych, *Post Hig Med Dosw* 2013; 67: 43–53.
33. Kitts DD. Antioxidant properties of casein-phosphopeptides. *Trends Food Sci Tech* 2004; 16(12): 549–554.
34. Koksal Z, Gulcin I, Ozdemir H. An important milk enzyme: Lactoperoxidase. Milk proteins-From structure to biological properties and health aspects. W: Gigli I [ed.] *Milk proteins from structure to biological properties and health aspects*. Rijeka: InTech; 2016: 141–156.
35. Kontopidis G, Holt C, Sawyer L. Invited Review: β -Lactoglobulin: Binding Properties, Structure, and Function. *J Dairy Sci* 2004; 87: 785–796.
36. Korhonen H, Marnila P, Gili H. Bovine milk antibodies for health: a review. *Brit J Nutr* 2000; 84: 135–146.
37. Król J, Brodziak A, Litwińczuk Z, Szajkowska M. Wykorzystanie białek serwatkowych w promocji zdrowia. *Żyw Człow Met* 2011; 38(1): 36–45.
38. Król J, Litwińczuk Z, Brodziak A, Barłowska J. Lactoferrin, lysozyme and immunoglobulin G content in milk of four breeds of cows managed under intensive production system. *Pol J Vet Sci* 2010; 13(2): 357–336.
39. Król J, Litwińczuk Z, Brodziak A, Sawicka-Zugaj W. Bioactive protein content in milk from local breeds of cows included in the genetic resources conservation programme. *Ann Anim Sci* 2010; 10(3): 213–221.
40. Król J, Litwińczuk A, Zarajczyk A, Litwińczuk Z. Alfa-laktoalbumina i beta-laktoglobulina jako związki biologicznie czynne frakcji białkowej mleka. *Med Wet* 2008; 64(12): 1375–1378.
41. Kruzel ML. Rola laktoferyny w rozwoju ostrych stanów zapalnych. *Post Hig Med Dosw* 2003; 57(4): 377–404.
42. Legrand D, Elaiss E, Pierce A, Mazurier J. Lactoferrin and host defense: an overview of its immune-modulating and anti-inflammatory properties. *Biometals* 2004; 17: 225–229.
43. Li P, Yin YL, Li D, Kim SW, Wuet G. Amino acids and immune function. *Br J Nutr* 2007; 98: 237–252.
44. Li EW, Mine Y. Immunoenhancing effects of bovine glycomacropptide and its derivatives on the proliferative response and phagocytic activities of human macrophagelike cells, U937. *J Agric Food Chem* 2004; 52: 2704–2708.
45. Lis J, Orczyk-Pawiłowicz M, Kątnik-Prastowska I. Białka mleka ludzkiego zaangażowane w procesy immunologiczne. *Post Hig Med Dosw* 2013; 67: 529–547.
46. Liu HC, Chen WL, Mao SJT. Antioxidant nature of bovine milk b-lactoglobulin. *J Dairy Sci* 2007; 90: 547–555.
47. Lindmark-Mansson H, Akesson B. Antioxidative factors in milk. *Brit J Nutr* 2000; 84(1): 103–110.
48. López-Exposito I, Recio I. Protective effect of milk peptides: antibacterial and antitumor properties. *Adv Exp Med Biol* 2008; 606: 271–293.
49. Małaczewska J, Rotkiewicz Z. Laktoferyna – białko multipotencjalne. *Med Wet* 2007; 63(2): 136–139.
50. Marmot M, Friel S, Bell R, Houweling TAJ, Taylor S. Closing the gap in a generation: health equity through action on the social determinants of health. *Lancet* 2008; 372: 1661–1669.
51. Mehra R, Marnila P, Korhonen H. Milk immunoglobulins for health promotion. *Int Dairy J* 2006; 16(11): 1262–1271.
52. Meisel H, Fitzgerald RJ. Biofunctional peptides from milk proteins: Mineral binding and cytomodulatory effects. *Curr Pharm Des* 2003; 9(16): 1289–1295.
53. Möller NP, Scholz-Ahrens KE, Roos N, Schrezenmeier J. Bioactive peptides and proteins from foods: indications for health effects. *Eur J Nutr* 2008; 47(4): 171–182.
54. Pakkanen R, Aalto J. Growth factors and antimicrobial factors of bovine colostrum. *Int Dairy J* 1997; 7: 285–297.
55. Pan WR, Chen PW, Chen YLS, Hsu HC, Lin CC, Chen WJ. Bovine lactoferricin B induces apoptosis of human gastric cancer cell line AGS by inhibition of autophagy at a late stage. *J Dairy Sci* 2013; 96(12): 7511–7520.
56. Pihlanto A. Antioxidative peptides derived from milk proteins. *Int Dairy J* 2006; 16(11): 1306–1314.
57. Płusa T. Immunomodulacyjne białka zawarte w sianie. *Pol Merk Lek* 2009; 153: 234–238.
58. Ponce P. Lactoperoxidase system under tropical conditions: use, advantages and limitations in conservation of raw milk and potential applications. *Rev Salud Anim* 2010; 32(3): 146–154.
59. Power O, Jakeman P, Fitzgerald RJ. Antioxidative peptides: enzymatic production, in vitro and in vivo antioxidant activity and potential applications of milk-derived antioxidative peptides. *Amino Acids* 2013; 44(3): 797–820.

Hanna Czeczot, Grażyna Cichosz, Marika Bielecka

60. Pritchard SR, Phillips M, Kailasapathy K. Identification of bioactive peptides in commercial Cheddar cheese. *Food Res Intr* 2010; 43(5): 1545–1548.
61. Rawal P, Gupta V, Thapa BR. Role of colostrum in gastrointestinal infections. *Indian J Pediatr* 2008; 75(9): 917–921.
62. Rak KA, Bronkowska M. Immunologiczne znaczenie siary. *Hygeia Public Health* 2014; 49(2): 249–254.
63. Rodrigues, L, Teixeira J, Schmitt F, Paulsson M, Månsson HL. Lactoferrin and cancer disease prevention. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2008; 49(3): 203–217.
64. Sedaghati M, Ezzatpanah H, Boojar M, Tajabadi Ebrahimi M. β -lactoglobulin and α -lactalbumin Hydrolysates as Sources of Antibacterial Peptides *J Agr Sci Tech* 2014; 16: 1587–1600.
65. Séverin S, Wenshui X. Milk biologically active components as nutraceuticals: Review *Crit Rev Food Sci Nutr* 2005; 45(7–8): 645–656.
66. Siemianowski K, Szpendowski J. Wartość żywieniowa białek serwatkowych. *Przem Mlecz* 2010; 11: 4–6.
67. Stelwagen K, Carpenter E, Haigh B, Hodgkinson A, Wheeler TT. Immune components of bovine colostrum and milk. *J Anim Sci* 2009; 87: 3–9.
68. Struff WG, Sprotte G. Bovine colostrum as a biologic in clinical medicine: a review – Part II: clinical studies. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2008; 46(5): 211–225.
69. Sukkar SG, Bounous UG. The role of whey protein in antioxidant defense. *Riv Ital Nutr Parent Ent* 2004; 22(4): 193–200.
70. Thomä-Worringer C, Sørensen J, López-Fandiño R. Health effects and technological features of caseinomacropeptide. *Int Dairy J* 2006; 16: 1324–1333.
71. Tung YT, Chen HL, Yen CC, Lee PY, Tsai HC, Lin MF, Chen CM. Bovine lactoferrin inhibits lung cancer growth through suppression of both inflammation and expression of vascular endothelial growth factor. *J Dairy Sci* 2013; 96: 2095–2106.
72. Tuccari G, Barresi G. Lactoferrin in human tumours: Immunohistochemical investigations during more than 25 years. *Biomaterials* 2011; 24: 775–784.
73. Udenigwe CC, Aluko RE. Food-protein derived bioactive peptides: Production, processing, and potential health benefits. *J Food Sci* 2012; 71(1): R11–24.
74. Wang W, Gu, F, Wei C, Tang Y, Zheng X, Ren M, Qin Y. PGPIP, a therapeutic hexapeptide, suppressed human ovarian cancer growth by targeting BCL2. *PLoS One* 2013; 8(4): e60701.
75. Wakabayashi H, Yamauchi K, Takase M. Lactoferrin research, technology and applications. *Int Dairy J* 2006; 16(11): 1241–1251.
76. Wijayanti HB, Bansal N, Deeth HC. Stability of Whey Proteins during Thermal Processing: A Review *Comprehensive Reviews in Food Science*. *Food Saft* 2014; 13 (6): 1235–1251.
77. Van Hooijdonk ACM, Kussendrager KD, Steijns JM. In vivo antimicrobial and antiviral activity of components in bovine milk and colostrum involved in non-specific defence. *Br J Nutr* 2000; 84(1): S127–134.
78. Zimecki M, Artym J. Właściwości terapeutyczne białek i peptydów z siary i mleka. *Post Hig Med Dosw* 2005; 59: 309–323.
79. Zhang, Y, Lima CF, Rodrigues LR. Anticancer effects of lactoferrin: underlying mechanisms and future trends in cancer therapy. *Nutr Rev* 2014; 72(12): 763–773.
80. Zulueta A, Maurizi A, Frigola A, Esteve MJ. Antioxidant capacity of cow milk, whey and deproteinized milk. *Int Dairy J* 2009; 19: 380–385.