

Charakterystyka prozdrowotnych kwasów tłuszczowych tłuszczu mlecznego

Characteristics of health-promoting fatty acids of milk fat

EWA RUTKOWSKA^{1/}, KRZYSZTOF TAMBOR^{1/}, JAROSŁAWA RUTKOWSKA^{1/}, ANDRZEJ STOŁYHWO^{2/}

^{1/} Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

^{2/} Bydgoska Szkoła Wyższa

Tłuszcz mleczny charakteryzuje złożony skład kwasów tłuszczowych (KT) o zróżnicowanej liczbie atomów węgla i różnym stopniu nienasycenia. Wiele z nich wykazuje szczególne właściwości biologiczne i żywieniowe cenne dla zdrowia konsumentów. Główny izomer sprzężonych dienów kwasu linolowego (CLA) C18:2 9-cis 11-trans stanowiący 75-90% udziału CLA wykazuje m.in. działanie przeciwnowotworowe, przeciwmiażdżycowe i przeciwzapalne. Krowi tłuszcz mleczny jest również źródłem kwasów nasyconych krótko- i średniołańcuchowych KT (SCSFA), które są niezbędne dla prawidłowego funkcjonowania nabłonka jelita grubego i mogą wywierać terapeutyczny wpływ na niektóre jego schorzenia. Obecnie doceniane jest też przeciwnowotworowe działanie kwasu wakceniowego C18:1 11-trans oraz KT należących do grupy nieparzystych i rozgałęzionych (OBCFA). W pracy dokonano przeglądu aktualnego piśmiennictwa dotyczącego prozdrowotnego działania KT tłuszczu mlecznego na organizm człowieka.

Słowa kluczowe: *tłuszcz mleczny, kwasy tłuszczowe, właściwości prozdrowotne*

Milk fat is a complicated mixture of numerous fatty acids (FA) of different carbon numbers and varying degrees of unsaturation. Many of them exhibit special biological properties and are nutritionally valuable for consumer health. Main isomer of the conjugated linoleic acid (CLA) C18:2 cis-9 trans-11 has been shown to have anti-atherogenic, anti-inflammatory and cancer-preventing qualities. Bovine milk fat is also an important source of short- and medium chain FA (SCSFA) which are essential for the normal structure and function of the colonic epithelium and may have therapeutic potential in certain colonic diseases. Now appreciated is the antitumor effect of vaccenic acid – trans-11C18:1 and FA of the odd- and branched chain FA group (OBCFA). This paper reviews recent literature regarding the health-promoting effects of FA of milk fat on the human organs.

Key words: *milk fat, fatty acids, health-promoting properties*

© Probl Hig Epidemiol 2015, 96(2): 377-386

www.phie.pl

Nadesłano: 27.04.2015

Zakwalifikowano do druku: 07.06.2015

Adres do korespondencji / Address for correspondence

dr hab. Jarosława Rutkowska
Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna
Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
ul. Nowoursynowska 159c, 02-776 Warszawa
tel. 22 5937072, e-mail: jaroslawa_rutkowska@sggw.pl

Wprowadzenie

Mleko oraz jego przetwory są ważnym źródłem składników odżywczych w diecie człowieka dostarczając wysokiej jakości białka oraz niezbędnych składników mineralnych i witamin. Tłuszcz w mleku występuje w postaci mikroskopijnych kuleczek o średnicy około 2-8 µm tworząc emulsję typu olej w wodzie. Struktura i skład pojedynczej kuleczki tłuszczu są bardzo złożone. Ich rdzeń tworzą triacyloglicerole stanowiące 98-99% masy kuleczki. W błonie otaczającej kuleczkę (MFGM – *milk fat globule membrane*) dominują białka i enzymy – 41% udziału ilościowego. Wśród składników lipidowych błony około 27% składu stanowią fosfolipidy pełniąc szczególną rolę w stabilizacji kuleczek tłuszczu. Pozostałych ważnymi składnikami błony kuleczki są: triacyloglicerole (14%) cerebrosydy (3%)

i cholesterol (2%). Zarówno rozmiar kuleczek jak i stopień ich rozproszenia powodują, że w diecie człowieka tłuszcz mleczny jest najłatwiej strawnym tłuszczem zwierzęcym i może być wchłaniany bez uprzedniej hydrolizy w przewodzie pokarmowym [1, 2].

Krowi tłuszcz mleczny uważany jest jako jeden z najbardziej złożonych naturalnie występujących tłuszczów. Badacze stosując techniki chromatograficzne i spektroskopowe zidentyfikowali około 400 kwasów tłuszczowych (KT) o zróżnicowanej liczbie atomów węgla od 2 do 28. W tłuszczu mlecznym występują następujące grupy KT: zawierające parzystą i nieparzystą liczbę atomów węgla, o różnym stopniu nasycenia (nasycone, jedno- i wielonienasycone), o konfiguracji *cis* i *trans*, posiadające łańcuchy węgla proste i rozgałęzione [3].

Przeważająca większość tych kwasów występuje w bardzo małej ilości (<0,01%). Jednakże około 15 obecnych jest w ilości powyżej 1,0%. Około 40 wraz z izomerami występuje w ilości do 1% [4]. Taka różnorodność jest efektem skomplikowanych procesów ich syntezy zachodzącej *de novo* w gruczole mlecznym, tkance tłuszczowej i żwaczu. Niezależnie od miejsca powstawania wiele z KT wykazuje szczególne właściwości biologiczne i żywieniowe, niezwykle cenne dla zdrowia człowieka, np. nasycone krótko- i średniołańcuchowe (SCSFA), kwas wakcenyowy, izomery CLA oraz kwasy posiadające nieparzystą liczbę atomów węgla i łańcuchy rozgałęzione (OBCFA) [1, 2].

Cel pracy

Charakterystyka najważniejszych kwasów tłuszczowych tłuszczu mlecznego wykazujących prozdrowotne oddziaływania na organizm człowieka.

Analiza piśmiennictwa

Krótko- i średniołańcuchowe nasyconych kwasy tłuszczowe C4:0 – C12:0 (SCSFA)

Obecność nasyconych krótko- i średniołańcuchowych KT (SCSFA) jest unikalną cechą tłuszczu mlecznego. Do najważniejszych kwasów z grupy SCSFA tłuszczu mlecznego należy zaliczyć: masłowy C4:0, kapronowy C6:0, kaprylowy C8:0, kaprynowy C10:0 i laurynowy C12:0. Sumaryczna zawartość SCSFA w krowim tłuszczu mlecznym wynosi około 15%. Zawartość kwasów SCSFA przedstawiono w tabeli I.

U przeżuwaczy synteza kwasów z grupy SCSFA zachodzi *de novo* w gruczole mlecznym. Substratami do syntezy SCSFA są octan (C2) i β -hydroksymaślan (C4), które powstają w żwaczu w procesie mikrobiologicznej fermentacji celulozy i innych składników pasz. Pierwszym etapem syntezy jest przekształcenie octanu w acetylo-CoA przy udziale cytozolowego enzymu syntetazy acetylo-CoA. Następnie acetylo-CoA jest przekształcany w przez karboksylazę acetylo-CoA w malonylo-CoA. Kolejnym etapem jest synteza KT odbywająca się pod wpływem wieloenzymatycznego kompleksu syntetazy KT. Aktywność syntetazy KT powoduje cykliczne dodawanie jednostki C2 przez malonylo-CoA. Dzięki tej syntezie powstają KT o długości łańcucha od 4 do 16 atomów węgla [9].

W organizmie człowieka kwasy SCSFA są szybko hydrolizowane z triacylogliceroli przy udziale lipazy językowej i trzustkowej [10]. Hydroliza triacylogliceroli odbywa się bez udziału żółci, uwalnianie wolnych kwasów tłuszczowych z połączeń glicerolu do śluzówki jelita odbywa się szybciej i trwa krócej w porównaniu z trawieniem kwasów długołańcuchowych [11].

SCSFA w przeciwieństwie do długołańcuchowych KT wchłaniane są bezpośrednio z jelita cienkiego

do krwioobiegu, a dalej transportowane do wątroby. Następnie w mitochondriach poddane są oksydacji, która zachodzi z wydzieleniem dużej ilości energii, co powoduje że nie odkładają się jako tłuszcz zapasowy lecz wykorzystywane są jako paliwo energetyczne dla prawidłowego funkcjonowania wielu narządów i układów m.in. serca, wątroby, mięśni, układu nerwowego czy płytek krwi [10, 12, 13]. Należy podkreślić, że utlenianie kwasów SCSFA nie wymaga obecności karnityny tak jak to ma miejsce w przypadku wyższych KT [14]. Uzyskana energia może być wykorzystana

Tabela I. Średnie zawartości kwasów prozdrowotnych kwasów tłuszczowych w tłuszczu mlecznym [4-8]
Table I. Mean content of health-promoting fatty acids in milk fat [4-8]

KT	Anglia [4] (okres letni – czerwiec- sierpień)	Szwajcaria [5] (okres letni, średnia z 3 regio- nów: nizin, wyżyn i gór)	Czechy [6] (okres, letni)	Polska [7] (okres letni region górzski)	Polska [8] (okres letni, żywienie TMR)
C4:0	2,4	3,31	2,61	3,70	4,15
C6:0	2,8	1,87	–	2,00	2,43
C7:0	–	0,01	–	–	–
C8:0	1,9	1,02	–	1,05	1,46
C10:0	3,8	2,10	–	2,11	3,33
C11:0	–	–	–	0,03	–
C12:0	4,4	2,29	–	2,56	3,87
Suma SCSFA	15,3	10,6	7,86	11,45	15,24
izo C12:0	–	–	–	0,06	–
anteizo C12:0	–	0,07	–	0,06	–
anteizo C13:0	–	–	–	0,02	–
C13:0	–	–	–	0,09	0,18
izo C13:0	–	0,13	–	0,09	0,13
izo C14:0	–	0,29	0,13	0,22	0,08
C15:0	–	1,07	1,1	1,5	1,23
izo C15:0	–	0,29	–	0,82	0,45
anteizo C15:0	–	–	0,47	0,81	–
C15:1	–	–	–	0,39	0,21
izo C15:1	–	–	–	0,05	1,48
izo C16:0	–	0,41	–	0,20	–
C17:0	–	0,64	–	0,9	0,19
C17:1 n-7	–	–	0,29	0,43	0,37
izo C17:0	–	0,06	0,47	0,12	0,19
anteizo C17	–	0,25	0,44	0,58	0,54
izo C18:0	–	–	0,06	–	–
Suma OBCFA	–	3,21	2,96	6,55	4,86
C18:1 (11-trans)	3,4	–	–	3,22	0,85
C18:2 9-cis 11- trans CLA	1,3	1,50	0,92	1,20	0,47

(–) brak danych

przez młody organizm do syntezy białek, a co za tym idzie do szybszego rozwoju tkanek [15]. Ten szlak metaboliczny sprawia, że SCSFA nie tworzą materiału zapasowego jak wyższe KT, ale zachowują się jak węglowodany dostarczając szybko znacznych ilości energii [16].

Wykazano, że SCSFA zmniejszają ryzyko występowania otyłości i wpływają korzystnie na bilans energetyczny [12]. Tezę tę potwierdza wiele badań przeprowadzonych na modelach zwierzęcych w których stwierdzono, że SCSFA wykazują działanie zmniejszające masę ciała [10, 17-20]. Efekt obniżania masy ciała spowodowany spożyciem kwasów SCSFA potwierdzono również w badaniach na ludziach. Jedno z doświadczeń przeprowadzono na grupie 101 pacjentów z BMI ~ 24,7 spożywających codziennie 10 g tłuszczu zawierającego 74,4 g/100 g KT kwasu C8:0 oraz 25,6 g/100 g KT kwasu C10:0 (w okresie 12 tygodni). W niniejszym badaniu stwierdzono obniżenie masy ciała jak również zawartości tkanki tłuszczowej oraz poziomu triacylogliceroli w osoczu krwi, które było skutkiem spożywania kwasów C8:0 i C10:0 [10]. W wielu pracach przeglądowych podkreślany jest korzystny wpływ średniołańcuchowych KT od C8:0 do C12:0 w obniżaniu ryzyka występowania nieprawidłowości metabolicznych: dyslipidemii, nadciśnienia, otyłości, nietolerancji glukozy i insulinooporności, powiązanych z chorobami układu krążenia w tym chorobą niedokrwienną serca [11, 12].

Pośród SCSFA na podkreślenie zasługuje obecność kwasu masłowego C4:0, którego tłuszcz mleczny jest unikatowym źródłem w diecie człowieka. Kwas masłowy wywiera szereg korzystnych efektów na śluzówkę okrężnicy chroniąc przed nadmierną proliferacją komórek, która może prowadzić do nowotworu. Podkreślany jest też wpływ kwasu C4:0 na tworzenie prawidłowej struktury i funkcjonowanie nabłonka we wszystkich odcinkach jelita grubego, modulacji perystaltyki jelit i narządów wewnętrznych [2, 22].

U przeżuwaczy źródłem kwasu masłowego jest maślan wytwarzany w żwaczu z węglowodanów przez bakterie, następnie transportowany krwiobiegiem do gruczołu mlecznego w którym jest zredukowany do kwasu masłowego [9]. U ludzi, maślan stanowi główne źródło energii dla komórek nabłonka jelita jak również reguluje wiele genów związanych z różnicowaniem komórek, proliferacją i apoptozą komórek nowotworowych [23]. Liczne badania wykazały anty-proliferacyjne, przeciwnowotworowe i apoptotyczne właściwości maślanu [24-27]. Maślan wywiera działanie przeciwnowotworowe i wykazuje terapeutyczne zastosowanie w chorobie zapalnej jelit. Badania kliniczne u pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego sugerują, że podawanie maślanu dojelitowo lub w diecie prowadzi do łagodzenia stanów zapalnych [22, 28].

Wykazano, że maślan sodu wywiera szerokie działania przeciwnowotworowe poprzez wpływanie na migrację komórek układu immunologicznego, adhezję i ekspresję cytokin [22]. Efekty maślanu są wywierane na wrodzony układ odpornościowy. Przeciwbakteryjne białko katelicydyna odgrywa ważną rolę w mechanizmach obrony przed zakażeniem bakteryjnym. Dostępne dane literaturowe wskazują, że maślan sodu zwiększa ekspresję genu katelicydyny w ludzkich komórkach okrężnicy, żołądka i wątroby. Również Kida i wsp. [29] wykazali wpływ maślanu sodu na ekspresję katelicydyny w komórkach nowotworowych nabłonka płuc (EBC-1) proponując równocześnie możliwe mechanizmy takiego oddziaływania. Ponadto badacze stwierdzili, że maślan sodu nie tylko zwiększa ekspresję mRNA katelicydyny, ale również wpływa na jej ekspresję na poziomie białka. Zatem stosowanie maślanu, który zwiększa ekspresję katelicydyny może być nowym podejściem do stymulacji odporności wrodzonej. Badania przedkliniczne przeprowadzone przez Gao i wsp. [30] na modelu mysim wykazały, że suplementacja diety maślanem może mieć zastosowanie w zapobieganiu i leczeniu otyłości wywołanej dietą oraz oporności na insulinę. Ostatnie dowody wskazują na efektywność maślanu w leczeniu i zapobieganiu hipercholesterolemii, poprzez regulację ekspresji dziewięciu głównych genów biorących udział w biosyntezie cholesterolu [31].

Badania na zwierzętach przeprowadzone przez Kim i wsp. [32] pokazały nowy zakres stosowania maślanu, którego suplementacja wydaje się mieć długoterminowe korzystne efekty po urazie niedokrwionym. Badania na szczurach poddanych niedokrwieniu mózgowym wykazały, że zastosowanie maślanu sodu w leczeniu udaru stymuluje proliferację komórek i różnicowanie przez aktywację neurotropowego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF).

Maślan hamuje wzrost komórek nowotworowych, zmniejszając proces ich angiogenezy i wywołując apoptozę [33]. Związek znany jest ze swoich możliwości do działania we wtórnej chemoprewencji przez spowolnienie wzrostu i aktywację apoptozy w komórkach raka jelita grubego, ale może również działać w podstawowej chemoprewencji. Mechanizm działania chemoprewencyjnego maślanu polega na zwiększeniu ekspresji transkrypcji enzymów detoksykacyjnych takich jak S-transferaza glutationowa (GST) [22]. Wykazano również że kwas masłowy – C4:0, może odgrywać istotną rolę w profilaktyce i leczeniu nowotworów jelita grubego i sutka [34]. W badaniach *in vitro* Joachimiak i wsp. [35] analizowano wpływ maślanu sodu na proliferację i cykl komórkowy dwóch linii komórek nowotworowych: wątroby (HepG2) i glejaka (C6). Obydwa nowotwory stanowią przykłady opornych na chemioterapię. Najbardziej skutecznym jest

ich leczenie obejmujące połączenie chirurgii, chemioterapii i radioterapii, które jest bardzo wyczerpujące dla pacjenta. Przeprowadzone doświadczenia potwierdziły inhibujący wpływ maślanu sodu na żywotność komórek w obu analizowanych liniach komórkowych. Najsilniejszy efekt zaobserwowano po 48-godzinnej inkubacji komórek nowotworowych z maślanem sodu przy zastosowaniu stężenia maślanu: 3,44 mM i 1,47 mM w stosunku do linii komórek odpowiednio: C6 i HepG2. Autorzy nie tylko wykazali plejotropowe działanie maślanu sodu w niskich stężeniach, ale również wykazali jego potencjalne zastosowanie w terapii przeciwnowotworowych której celem jest selektywne usunięcie komórek nowotworowych, przy minimalnej ogólnej toksyczności.

SCSFA wykazują również istotną rolę w działaniu przeciwdrobnoustrojowym. Stwierdzono, że kwasy laurynowy C12:0 oraz kaprynowy C10:0 charakteryzują się działaniem bakteriobójczym w stosunku do wielu patogenów występujących w żywności: *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* czy *Campylobacter jejuni* [12]. Aktywność przeciwbakteryjną kwasu laurynowego przeciw *Staphylococcus aureus* wykazano w dawce 400 µg/ml [36]. Przełomowym jest odkrycie inaktywującego działania kwasów SCSFA (powstających w wyniku hydrolizy tłuszczu mlecznego przy udziale lipazy) w stosunku do *Helicobacter pylori* [37]. W wcześniejszej pracy Sun i wsp [38] stwierdzili, że najsilniejszymi właściwościami bakteriostatycznymi wykazały się: kwas laurynowy C12:0, który w stężeniu 1mM (pH=7) inaktywował 99,99% komórek bakterii po inkubacji trwającej 1 godzinę. Podobnie skutecznym okazał się też monolaurinian (MG C12:0).

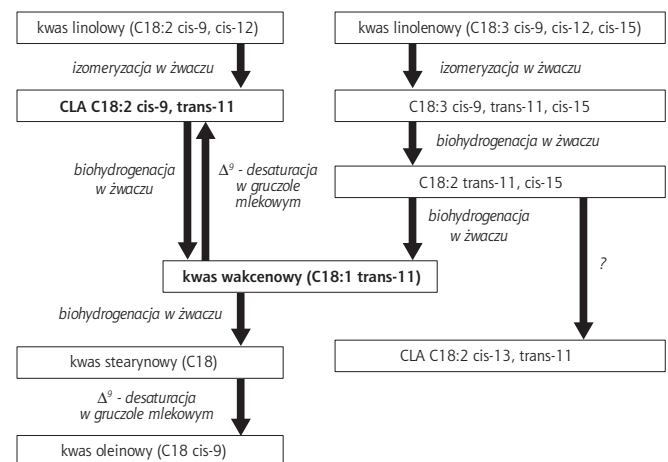
Kwas wakcenyowy

Kwas wakcenyowy to nienasycony osiemnastowęglowy KT, posiadający wiązanie podwójne w pozycji Δ -11, który występuje zarówno w formie izomeru *cis* jak i *trans*. Po raz pierwszy został oznaczony w 1928 roku w tłuszczu wołowym, owczym oraz maśle. Został zidentyfikowany jako C18:111*t* (n-7) – kwas wakcenyowy *trans* i nazwany kwasem krowim (łacińskie słowo *vacca* – krowa) [34]. W wyniku kolejnych badań obecność kwasu wakcenyowego stwierdzono również w roślinach, mikroorganizmach oraz ludzkich tkankach gdzie zauważono, że kwas ten może występować również w formie izomeru *cis* [35]. Jednakże w diecie człowieka najważniejszym źródłem kwasu wakcenyowego o konfiguracji *trans* jest tłuszcz mleczny.

W organizmach przeżuwaczy kwas wakcenyowy syntetyzowany jest w części żołądka przeżuwaczy nazywanej żwaczem. W żwaczu zachodzi proces enzymatycznego uwodorniania (zwanego biouwodorowaniem) wielonienasyconych kwasów tłuszczowych

(PUFA) pochodzących z paszy. Głównym substratami w procesie niekompletnego uwodorniania PUFA w żwaczu są kwasy: α -linolenowy C18:3 9*c* 12*c* 15*c* oraz linolowy C18:2 9*c*12*c* (ryc. 1) [41, 42]. Proces biouwodorowania PUFA zachodzi przy udziale mikroorganizmów zasiedlających żwacz z dominującym udziałem bakterii wśród których wyróżniono dwie grupy A i B [43]. W wyniku pierwszego etapu biouwodorowania kwasu linolowego w obecności bakterii należących do grupy A: *Butyrivibrio fibriosolvens*, *Ruminococcus albus*, *Eubacterium spp.* powstaje kwas wakcenyowy C18:111*t* [43]. Podczas tego procesu tworzy się również główny izomer CLA C18:2 9-*cis*11-*trans* (właściwości tego kwasu omówiono w następnym podrozdziale). Z kolei synteza kwasu wakcenyowego z kwasu α -linolenowego obejmuje powstawanie produktu przejściowego – skoniugowanego trienu C18:3 9-*c* 11-*t* 15-*c* podlegającego dalszym procesom biouwodorowania aż do kwasu wakcenyowego [37].

Fizjologiczna rola izomerów kwasu wakcenyowego jest przedmiotem badań od wielu lat, prace pochodzące z lat 90. dostarczyły wielu cennych odkryć w tej dziedzinie. Wykazano, że kwas C18:111-*t* pełni pozytywną rolę biologiczną w gliko- i fosfolipidach błon komórkowych polegającą na adaptacji makroorganizmów i mikroorganizmów do otaczającego środowiska [40, 41]. Możliwość wytwarzania izomerów kwasu wakcenyowego przez mikroflorę żwacza u zwierząt przeżuwających oraz mikroorganizmy przewodu pokarmowego zwierząt morskich i ryb powoduje, że związki te są włączane w fosfolipidy i lipidy komórek gospodarzy, co wzmacnia błony komórkowe tkanek i narządów. Izomery tego kwasu w konfiguracji *cis* jak i *trans* biorą udział w przesyłaniu sygnałów z cytoplazmy do błon komórkowych, a także w pobudzaniu do działania enzymów, białek tunelowych, receptorów dzięki czemu pełnią funkcje ochronne i utrzymują



Ryc. 1. Synteza kwasu wakcenyowego i CLA w organizmie przeżuwaczy. Opracowanie własne na podstawie [41, 42]

Fig. 1. Formation of vaccenic acid and CLA in ruminants. Own study based on [41, 42]

homeostazę komórkową. To z kolei podtrzymuje zachowanie właściwych struktur lipidowych błon komórkowych [43]. Przy odpowiednich proporcjach izomerów kwasu wakcenenowego możliwa jest modyfikacja błon adipocytów w tkance tłuszczowej zwierząt przeżuwających. Funkcja ta może mieć wpływ na procesy lipogenezy i lipolizy zachodzące w tkance tłuszczowej i w komórkach wątroby. Wyżej wymienione właściwości pozytywnie wpływają na zawartość tkanki tłuszczowej, powodując obniżenie jej zawartości oraz tempa odkładania. Jednocześnie powodują nasiloną oksydację glukozy oraz zwiększając wykorzystanie jej substratów w procesie lipogenezy *de novo* [44, 45].

Istotnym zdaje się być fakt, iż naturalne izomery *trans* pochodzące z kwasów rodziny omega-7 takie, jak: wakenenowy, palmityloelaidynowy i linoleelaidynowy, nie wykazują działania promiażdżycowego w naczyniach wieńcowych [46], co stwierdzono w przypadku izomerów *trans* kwasów, pochodzących z katalitycznego uwodornienia kwasów roślinnych [47]. W badaniach na modelach zwierzęcych wykazano hypolipidemiczne działanie kwasu wakenenowego C18:1 *11-t*. Bassett i wsp. [48] stwierdzili obniżone poziomy triacylogliceroli i cholesterolu u myszy spożywających (w czasie 14-tygodni) dietę zawierającą 15% masła z 1,5% udziałem kwasu wakenenowego. W najnowszych badaniach Jacome-Sosa i wsp. [49] autorzy pokazują nowe mechanizmy za pomocą których kwas wakenenowy może wpływać na metabolizm lipidów, wykorzystanie energii, a także na rozkład tkanki tłuszczowej w ciele. Stwierdzono, że u otyłych szczurów kwas wakenenowy wpływał na zmniejszenie całkowitej zawartości tłuszczu w organizmie (-6%) redystrybucję tkanki tłuszczowej w organizmie i zmniejszenie wielkości adipocytów (-44%) w porównaniu do zwierząt kontrolnych.

Bardzo ważną funkcją kwasu wakenenowego, będącą przedmiotem licznych badań naukowych jest hamowanie rozwoju komórek nowotworowych. Jedną z wcześniejszych prac została przeprowadzona przez zespół Awada i wsp. [50], którzy badali rozwój komórek nowotworu okrężnicy na hodowli tkankowej, które traktowane były kwasem wakenenowym w formach *cis* i *trans*, kwasem oleinowym oraz nasyconym kwasem stearynowym. Przeprowadzone badania pokazały, że kwas wakenenowy zarówno w formie *cis* jak i *trans* istotnie spowolnił wzrost komórek nowotworowych. Autorzy stwierdzili również, że izomer w konfiguracji *trans* był dwukrotnie silniejszy w hamowaniu wzrostu tych komórek, aniżeli forma *cis*. Podczas tych badań stwierdzono również, iż kwasy oleinowy oraz stearynowy nie wykazują właściwości w ograniczaniu namnażania komórek nowotworowych.

Prowadzone później badania *in vitro* na liniach ludzkich komórek nowotworowych potwierdziły, że

kwas wakenenowy przyczynia się do ograniczania ich wzrostu. Miller i wsp. [51] wykazali apoptozę komórek nowotworowych piersi MCF-7 i jelita grubego SW480 podczas ich 4-dniowej inkubacji z kwasem wakenenowym oraz CLA w osobnym doświadczeniu. Autorzy stwierdzili, że kwas wakenenowy i CLA były włączane do tkanek nowotworowych w sposób zależny od dawki. Konwersję kwasu wakenenowego do CLA oszacowali na 44% w komórkach MCF-7 oraz 24% w przypadku komórek SW480 [51].

W badaniach prowadzonych na modelach zwierzęcych Banni i wsp. [52] wykazali, że podawanie szczurom diety zawierającej 2% kwasu wakenenowego wpływało na zmniejszenie o około 50% zmian przednowotworowych. Autorzy stwierdzili że, przeciwnowotworowe działanie kwasu wakenenowego może zachodzić wskutek endogennej konwersji kwasu wakenenowego do CLA poprzez Δ -9-desaturazę. Podobny efekt kwasu wakenenowego stwierdzono też u szczurów z zaindukowanym nowotworem wątroby 7288 CTC [53].

Również najnowsze badania prowadzone na hodowlach dwóch ludzkich komórek nowotworowych wykazały hamowanie proliferacji komórek nowotworowych MCF-7 (gruczołak sutka) po 72 godzinnej ich ekspozycji na różne stężenia kwasu wakenenowego i CLA *9-cis 11-trans*. Stwierdzono, że kwas wakenenowy znacząco hamował proliferację komórek MCF-7, przez regulację ekspresji białka Bcl-2 i prokaspazy-9 [54].

Sprzężone dieny kwasu linolowego

Cechą charakterystyczną dla tłuszczu mlecznego jest występowanie sprzężonych dienów kwasu linolowego zwanych CLA (*Conjugated Linoleic Acid*). Nazwa ta oznacza mieszaninę pozycyjnych oraz geometrycznych izomerów kwasu oktadekadienowego – C18:2 z dwoma sprzężonymi podwójnymi wiązaniami, które izolowane są jednym pojedynczym wiązaniem. Izomery te mogą występować w pozycjach 8 i 10, 9 i 10, 10 i 12 oraz 11 i 13. Dodatkowo każdy z tych izomerów może występować w konfiguracji *cis/trans*, *trans/cis*, *cis-cis*, *trans/trans* [55, 56]. W tłuszczu mlecznym i mięsa przeżuwaczy zidentyfikowano 18 różnych izomerów CLA, jednak ilościowo dominującym jest kwas C18:2 *9-cis, 11-trans* oktadekadienowy, nazywany także kwasem żwaczowym (*rumenic acid*) [52]. W tłuszczu mlecznym zawartość izomeru CLA *9-cis 11-trans* szacowana jest na około 75-90% wszystkich izomerycznych form [42]. Drugim ilościowo ważnym jest izomer *10-trans 12-cis*, którego poziom szacuje się na 5-20% udziału CLA [43].

Obecność izomerów CLA w tłuszczu mleka przeżuwaczy wynika z izomeryzacji i biouwodowania nienasyconych KT w żwaczu, jak również z aktywności Δ -9-desaturazy w gruczole mlecznym.

Głównymi substratami syntezy izomerów CLA w żwaczu są kwasy linolowy i α -linolenowy [42] (ryc. 1). Biowodorowanie jest procesem zachodzącym przy udziale mikroorganizmów zasiedlających żwacz. Główny udział w tym procesie biorą bakterie, natomiast pierwotniaki tylko w niewielkim stopniu wspomagają jedynie przeprowadzenie pierwszego etapu izomeryzacji. Poszczególne etapy procesu biowodorowania różnią się w zależności od kwasu który temu procesowi podlega [43]. Pobrany z paszą kwas linolowy najpierw izomeryzowany jest do CLA, *cis-9 trans-11* przez izomerazę *12-cis 11-trans*, następnie uwodorniany przy udziale *Butyrivibrio fibrisolvens* do kwasu wakcenenowego (C18:111-*trans*) w żwaczu [58]. Te początkowe etapy zachodzą szybko. Uwodornienia kwasu wakcenenowego do stearynowego zachodzi w znacznie wolniejszym tempie i związane jest z udziałem różnych grup mikroorganizmów. Z tego względu organizm przeżuwaczy gromadzi znaczną dostępną zawartość kwasu wakcenenowego substratu do procesu jego Δ -9-desaturacji zachodzącej w gruczole mlecznym w wyniku której powstaje znaczna pula CLA *9-cis 11-trans* [42]. W przypadku gdy substratem w żwaczu jest kwas α -linolenowy następuje szereg etapów: początkowo izomeryzacja sprzężonego trienu C18:3, następnie redukcja podwójnego wiązania z wytworzeniem CLA *11-trans, 15-cis*.

Wykazano, że CLA może być jednym z najsilniejszym naturalnie występujących związków przeciwnowotworowych. Początki badań w tym obszarze można przypisać zespołowi Michaela Pariza z Uniwersytetu w Wisconsin [59]. Pariza i Hargreaves wykazali, że częściowo wyizolowane związki ze smażonej mielonej wołowiny były zdolne do hamowania indukowanych nowotworów naskórka myszy [60]. Chociaż na tym etapie nie zidentyfikowano struktur związków odpowiadających za właściwości przeciwrakotwócze jednakże już wtedy stwierdzono że są to związki niepolarne. Dalsze prace z laboratorium M. Pariza wykazały, że tymi związkami była mieszanina czterech izomerów kwasu linolowego, przy czym każdy zawierał układ sprzężony [61]. Od tego czasu przeciwnowotworową mieszaninę związków oznaczono jako CLA. Jednakże występowanie CLA w tłuszczu przeżuwaczy nie było doceniane do momentu opublikowania wyników badań przez Ha i wsp. [61], którzy udowodnili, że CLA może inaktywować powstawanie komórek nowotworowych u myszy. Praca tych autorów zainicjowała wiele dalszych badań nad właściwościami CLA. W dalszych pracach wykazano, że CLA był efektywnym czynnikiem przeciwnowotworowym w zwierzęcych modelach doświadczalnych np. hamował tworzenie się guzów sutka u szczurów oraz skóry u myszy [62]. Izomery CLA okazały się skuteczne w warunkach *in vitro* w hamowaniu pro-

liferacji komórek nowotworowych sutka, czerniaka, jelita grubego, prostaty, jajników oraz białaczki [63]. Stwierdzono, że działanie jest zależne od dawki, jak wykazano *in vitro* na hodowlach komórek raka piersi [40] i *in vivo* u szczurów u których chemicznie indukowano nowotwory sutka [59]. Już dawka zaledwie 0,05 g CLA/100 g diety spowodowała zmniejszenie liczby guzów sutka [35, 64]. W kolejnych badaniach Ip i wsp [65] badano wpływ CLA pochodzącego z dodatkowo wzbogaconego masła zawierającego 4,1% CLA (w którym 92% udział stanowił izomer *9-cis 11-trans*) na przebieg nowotworu sutka u samic szczura. Stwierdzono, że CLA z wzbogaconego masła mogła hamować rozwój nowotworu sutka o ok. 53%. W następstwie obiecujących wyników badań CLA zostało zatwierdzone przez *National Academy of Sciences of USA* jako jeden kwas tłuszczowy, wykazujący zdolności do hamowania nowotworów u zwierząt [66].

Wykazano też korzystny wpływ CLA w obniżaniu ryzyka powstawania miażdżycy tętnic [67, 68]. Wyniki badań Munday i wsp. [69] wskazały, że suplementacja CLA przyczynia się do zwiększenia frakcji cholesterolu HDL oraz spadku poziomu triacylogliceroli. Wykazano też, że CLA uczestniczy w hamowaniu odkładania się tłuszczu przy równoczesnym wzroście beztłuszczowej masy ciała. Zbadano, że CLA może również być odpowiedzialny za wzrost poziomu białek i tym samym przyczyniać się do wzrostu masy mięśniowej ciała [70].

W innych badaniach stwierdzono, że wpływ CLA na syntezę eikozanoidów może mieć implikacje na układ odpornościowy. W związku z tym wykazano, że CLA modulują układ odpornościowy i zapobiegają zanikowi odporności u zwierząt [42]. U ludzi stwierdzono korzystne działanie CLA na niektóre rodzaje reakcji (odpowiedzi) alergicznych i zapalnych poprzez indukcję zmniejszenia poziomu: TNF- α (*Tumor Necrosis Factor*) i IFN- γ (*Interferon gamma*) oraz zwiększenia: IL-1 (Interlukina 1) i IL-10 (Interlukina 1) jak również IgA i IgM immunoglobulin A i M) [71]. Wykazano zwiększone poziomy ochronnych przeciwciał po szczepieniu przeciw wirusowemu zapaleniu wątroby typu B u ludzi zdrowych otrzymujących CLA w porównaniu z grupą kontrolną [72].

Nieparzyste i rozgałęzione kwasy tłuszczowe

Nieparzyste i rozgałęzione kwasy tłuszczowe (OBCFA) tłuszczu mlecznego wywodzą się w dużym stopniu od bakterii opuszczających żwacz. Ich synteza *de novo* przebiega przy udziale dwóch rodzajów syntetaz KT: syntetazy łańcuchów prostych oraz syntetazy łańcuchów rozgałęzionych. Kwasy nieparzyste są rezultatem elongacji walerianu lub propionianu. Natomiast kwasy rozgałęzione powstają z aminokwasów rozgałęzionych (leucyna, izoleucyna, walina)

albo z rozgałęzionych krótkołańcuchowych kwasów karboksylowych (kwas 2-metylomasłowy, izowalerialnowy) [73, 74, 75]. Można wywnioskować, że cechą różniącą procesy syntezy kwasów nieparzystych i rozgałęzionych jest rodzaj użytego startera oraz powstałe produkty [76].

Głównymi OBCFA tłuszczu mleka krów są izomery kwasu tetradekanowego, pentadekanowego, heksadekanowego oraz heptadekanowego [77]. Zawartość OBCFA w tłuszczu mleka krowiego w dominującym stopniu zależy od czynników żywieniowych, wśród których najistotniejszym jest udział włókna pokarmowego w diecie krów (pochodzącego głównie z pasz objętościowych) [78]. Na podstawie 20 badań oszacowano średnią sumaryczną zawartość kwasów OBCFA w tłuszczu mleka krowiego na poziomie 4,94 g/100 g KT [7]. Badania Rutkowskiej i wsp. [7] wskazują na wyższe zawartości OBCFA w sezonie letnim. Autorzy podkreślają też przewagę żywienia sezonowego w porównaniu do monodiet TMR [8] (tab. I).

Wśród właściwości OBCFA można wymienić możliwość wykorzystania tych kwasów jako potencjalnego markera w celu określenia ilości biomasy bakteryjnej występującej w żwacu oraz w celu oznaczenia proporcji szczepów tych mikroorganizmów [79, 80]. Ponadto OBCFA mogą być użyte jako wzorzec fermentacji żwaczowej. Polega to na powiązaniach między proporcją molową lotnych KT występujących w żwacu, a ilością OBCFA znajdujących się w mleku (*izo* C13:0, *anteizo* C13:0, *izo* C14:0, C15:0, *izo* C15:0, *anteizo* C15:0, *izo* C16:0, C17:0, *izo* C17:0, *anteizo* C17:0, C17:1 *cis* 9) [73].

Ważnym aspektem jest aktywność przeciwnowotworowa kwasów z grupy OBCFA. Kwas 13-metyltetradekanowy (*izo* C15:0, 13-MTD) w warunkach *in vitro* i *in vivo* skutecznie hamuje rozwój komórek nowotworowych wielu organów: wątroby, płuc,

trzustki, prostaty i gruczołu mlecznego. W badaniach przeprowadzonych na myszach wykazano efektywne hamowanie wzrostu ortotopowych nowotworów w wątrobie i prostaty wskutek podawania 13-MTD. Autorzy postulują, że 13-MTD może być lekiem chemioterapeutycznym stosowanym u ludzi podczas terapii nowotworów [81].

Na szczególną uwagę zasługują kwasy C15:0 oraz C17:0, które mogą być uznawane za biomarkery spożycia tłuszczu mlecznego, ponieważ organizm ludzki nie jest w stanie ich syntetyzować. Wykazano, że zawartość kwasów C15:0 i C17:0 można oznaczać zarówno we krwi jak i tkance tłuszczowej. Należy jednak podkreślić, że tkanka tłuszczowa należy do najlepszych materiałów badawczych do badań składu i zawartości KT [82,83].

W ostatnich pracach wykazano, że KT z grupy rozgałęzionych (BCFA) są składnikiem wielu tkanek i płynów ustrojowych organizmu ludzkiego: przewodu pokarmowego niemowląt, mleka ludzkiego, lipidów skóry, płynu owodniowego i smółki (zawartość jelit noworodków) oraz mazi płodowej (biała substancja okrywająca ciało noworodka w czasie porodu – występuje tylko w organizmie kobiety) [84]. W badaniach przeprowadzonych na zwierzętach (szczury) stwierdzono malejącą liczbę zachorowań na martwicze zapalenie jelit w przypadku, gdy podawano mleko z dodatkiem BCFA [85]. Stwierdzono także, że kwasy z tej grupy istotnie wpływają na odpowiednie funkcjonowanie tkanek, a także na prawidłowy rozwój płodu [86].

Obecnie skład tłuszczu mlecznego i funkcje kwasów tłuszczowych są na nowo redefiniowane. Jeszcze niedawno uważano, iż są one źródłem energii odkładanej w tkance tłuszczowej oraz są niezbędne do budowy błon komórkowych. W chwili obecnej podkreśla się ich rolę jako składników wykazujących prozdrowotne oddziaływanie w organizmie człowieka.

Piśmiennictwo / References

1. Stołyhwo A, Rutkowska J. Tłuszcz mleczny: struktura, skład i właściwości prozdrowotne. [w:] Chemia Żywności: odżywcze i zdrowotne właściwości składników żywności. Tom 3. Sikorski ZE (red). WNT, Warszawa 2012: 39-89.
2. Barłowska J, Litwińczuk Z. Właściwości odżywcze i prozdrowotne tłuszczu mleka. Med Weter 2009, 65: 171-174.
3. Jensen RG. The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. J Dairy Sci 2002, 85: 295-350.
4. Lock AL, Garnsworthy PC. Seasonal variation in milk conjugated linoleic acid and $\Delta 9$ -desaturase activity in dairy cows. Livest Prod Sci 2003, 79: 47-59.
5. Collomb M, Butikofer U, Sieber R, Jeangros B, Bosset JO. Composition of fatty acids in cow's milk fat produced in the lowlands, mountains and highlands of Switzerland using high-resolution gas chromatography. Int Dairy J 2002, 12: 649-659.
6. Frelich J, Šlachta M, Hanuš O, Špička J, Samková E. Fatty acid composition of cow milk fat produced on low-input mountain farms. Czech J Anim Sci 2009, 54: 532-539.
7. Rutkowska J, Adamska A, Białek M. Fatty acid profile of the milk of cows reared in the mountain region of Poland. J Dairy Res 2012, 79: 469-476.
8. Rutkowska J, Sinkiewicz I, Adamska A. Profil kwasów tłuszczowych mleka pochodzącego od krów żywionych w systemie TMR. Żywn Nauk Technol Jakość 2012, 5(84): 135-144.
9. MacGibbon AKH, Taylor MW. Composition and Structure of Bovine Milk Lipids. [in:] Advanced Dairy Chemistry Vol 2 Lipids. Fox PF, McSweeney PLH (eds). Springer 2006: 1-42.

10. Tsuji H, Kasai M, Takeuchi H, Nakamura M, Okazaki M, Kondo K. Dietary medium-chain triacylglycerols suppress accumulation of body fat in a double-Blind, controlled trial in healthy men and women. *J Nutr* 2001, 131(11): 2853-2859.
11. Przybojewska B, Rafalski H. Kwasy tłuszczowe występujące w mleku zdrowie człowieka – krótkołańcuchowe nasycone kwasy tłuszczowe SCFA (cz.1). *Prz Mlecz* 2003, 4: 148-151.
12. Mills S, Ross RP, Hill CC, Fitzgerald GF, Stanton C. Milk intelligence: Mining milk for bioactive substances associated with human health. *Int Dairy J* 2011, 21: 377-401.
13. Rutkowska J, Adamska A. Zawartość prozdrowotnych kwasów tłuszczowych w próbach masła w zależności od metody wytwarzania. [w:] *Konsument usług żywieniowych i usług turystycznych*. Kolożyn-Krajewska D (red). Wyd WSHiT, Częstochowa 2012: 235-248.
14. Papamandjaris A, MacDougall D, Jones P. Medium chain fatty acid metabolism and energy expenditure: obesity treatment implications. *Life Sci* 1998, 62: 1203-1215.
15. Hanczakowska E, Szewczyk A. Krótko- i średniołańcuchowe kwasy tłuszczowe w żywieniu prosiąt. *Rocz Nauk Zoot* 2011, 38: 3-10.
16. Fushiki T, Matsumoto K. Swimming endurance capacity of mice is increased by consumption of medium – chain triglycerides. *J Nutr* 1995, 125: 531-537.
17. Turkenkopf IJ, Maggio CA, Greenwood MRG. Effect of high fat weanling diets containing either medium-chain triglycerides or long-chain triglycerides on the development obesity in the Zucker rat. *J Nutr* 1982, 112: 1254-1263.
18. Bach AC, Bois-Joyeux B, Chanez M, Delhomme B, Schirardin H, Peret M. Metabolic effects of medium-or long-chain triglycerides and high-protein, carbohydrate-free diets in Zucker rat. *Metabol* 1984, 33: 951-958.
19. Furuse M, Mabayo RT, Kita K, Okumura J. Effect of dietary medium chain triglyceride on protein and energy utilization in growing chicks. *Br Poultry Sci* 1992, 33: 49-57.
20. Mabayo RT, Furuse M, Murai A, Okumura J. Interactions between medium-chain and long-chain triacylglycerols in lipid and energy metabolism in growing chicks. *Lipids* 1994, 29: 139-144.
21. Pfeuffer M, Schrezenmeir J. Milk and the metabolic syndrome. *Obes Rev* 2007, 8: 109-118.
22. Canani RB, Di Costanzo M, Leone L. The epigenetic effects of butyrate: potential therapeutic implications for clinical practice. *Clin Epigenetics* 2012, 4: 1-7.
23. Hamer H M, Jonkers D, Venema K, Vanhoutvin S, Troost FJ, Brummer RJ. Review article: the role of butyrate on colonic function. *Aliment Pharm Ther* 2008, 104: 104-119.
24. Goncalves P, Araujo JR, Martel F. Characterization of butyrate uptake by nontransformed intestinal epithelial cell lines. *J Membr Biol* 2011, 240: 35-46.
25. Mariadason JM, Veleich A, Wilson AJ, Augenlicht LH, Gibson PR. Resistance to butyrate-induced cell differentiation and apoptosis during spontaneous Caco-2 cell differentiation. *Gastroenterol* 2001, 120: 889-899.
26. Pajak B, Orzechowski A, Gajkowska B. Molecular basis of sodium butyrate-dependent proapoptotic activity in cancer cells. *Adv Med Sci* 2007, 52: 83-88.
27. Meijer K, De Vos P, Priebe MG. Butyrate and other short-chain fatty acids as modulators of immunity: what relevance for health? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2010, 13: 715-721.
28. Hallert C, Björck I, Nyman M, Poussette A, Granno Ch, Svensson H. Increasing fecal butyrate in ulcerative colitis patients by diet: controlled pilot study. *Inflamm Bowel Dis* 2003, 9: 116-121.
29. Kida Y, Shimizu T, Kuwano K. Sodium butyrate up-regulates cathelicidin gene expression via activator protein-1 and histone acetylation at the promoter region in a human lung epithelial cell line EBC-1. *Mol Immunol* 2006, 43: 1972-1981.
30. Gao Z, Yin J, Zhang J, Ward RE, Martin RJ, Lefevreet M, Cefalu WT, Ye J. Butyrate improves insulin sensitivity and increases energy expenditure in mice. *Diabetes* 2009, 58: 1509-1517.
31. Alvaro A, Solá R, Rosales R, Ribalta J, Anguera Masana L. Gene expression analysis of a human enterocyte cell line reveals downregulation of cholesterol biosynthesis in response to short-chain fatty acids. *IUBMB Life* 2008, 60: 757-64.
32. Kim HJ, Leeds P, Chuang DM. The HDAC inhibitor, sodium butyrate, stimulates neurogenesis in the ischemic brain. *J Neurochem* 2009, 110: 1226-1240.
33. Emanuele S, D'Anneo A, Bellavia G, Vassallo B, Lauricella M, De Blasio A, Vento r, Tesorier G. Sodium butyrate induces apoptosis in human hepatoma cells by a mitochondria/caspase pathway, associated with degradation of β -catenin, pRb and Bcl-XL. *Eur J Cancer* 2004, 40: 1441-52.
34. Belobrajdic DP, McIntosh GH. Dietary butyrate inhibits NMU-induced mammary cancer in rats. *Nutr Cancer* 2000, 36: 217-223.
35. Joachimiak J, Kaźnica A, Drewna T. Influence of sodium butyrate on hepatocellular carcinoma (HepG2) and glioblastoma (C6) cell lines in vitro. *Acta Pol Pharm* 2007, 63: 561-563.
36. Kitahara T, Koyama N, Matsuda J, Aoyama Y, et al. Antimicrobial activity of saturated fatty acids and fatty amines against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Biol Pharm Bull* 2004, 9: 1321-6.
37. Sun CQ, O'Conner CJ, MacGibbon AK, Robertson AM. The products from lipase-catalysed hydrolysis of bovine milk fat kill *Helicobacter pylori* in vitro. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2007, 49: 235-242.
38. Sun CQ, O'Connor CJ, Robertson AM. Antibacterial actions of fatty acids and monoglycerides against *Helicobacter pylori*. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2003, 36: 9-17.
39. Bertram SH. Die Vaccensäure (Eine neue Fettsäure aus Rinder Schafs- und Butterfett). *Biochem Z* 1928, 197: 433-441.
40. Przybojewska B, Rafalski H. Kwasy tłuszczowe występujące w mleku a zdrowie człowieka (cz. 4). Kwas wakcenyowy cis i trans. *Prz Mlecz* 2003, 9: 343-346.
41. Field CJ, Blewett HH, Proctor S, Vine D. Human health benefits of vaccenic acid. *Appl Physiol Nutr Metab* 2009, 34: 979-991.
42. Collomb M, Schmid A, Sieber R, Wechsler, D, Ryhänen EL. Conjugated linoleic acids in milk fat: Variation and physiological effects. *Int Dairy J* 2006, 16: 1347-1361.
43. Szumacher-Strabel M. Rola żywienia zwierząt w uzyskaniu prozdrowotnych produktów zwierzęcych. *Kosmos Probl Nauk Biol* 2010, 59: 375-383.
44. Bauchart D, Legay-Carmier F, Doreau M, Gaillard B. Lipid metabolism of liquid-associated and solid-adherent bacteria in rumen contents of dairy cows. *Brit J Nutr* 1990, 63: 563-578.

45. Jenkins TC. Regulation of lipid metabolism in the rumen. *J Nutr* 1994, 124: 556-570.
46. Hodgson JM, Wahlqvist ML, Boxall JA, Balazset ND. Platelet trans fatty acids in relations to angiographically assessed coronary artery disease. *Atheroscler* 1996, 120: 147-157.
47. Pfeuffer M, Schrezenmeir J. Impact of trans fatty acids of ruminant origin compared with those from partially hydrogenated vegetable oils on CHD risk. *Int Dairy J* 2006, 16: 1383-1388.
48. Bassett ChMC, Edel AL, Patenaude AF, McCollough RS, et al. Dietary vaccenic acid has antiatherogenic effects in LDLr mice. *J Nutr* 2010, 140: 18-24.
49. Jacome-Sosa MM, Borthwick F, Mangat R, Uwiera R, et al. Diets enriched in trans-11 vaccenic acid alleviate ectopic lipid accumulation in a rat model of NAFLD and metabolic syndrome. *J Nutr Biochem* 2014, 25: 692-701.
50. Awad AB, Herrmann T, Fink CS, Horvath PJ. 18:1 n7 fatty acids inhibits growth and decrease inositol phosphates release in HT-29 cells compared to n9 fatty acids. *Cancer Lett* 1995, 91: 55-61.
51. Miller A, McGrath E, Stanton C, Devery R. Vaccenic acid (t11-18:1) is converted to c9,t11-CLA in MCF-7 and SW480 cancer cells. *Lipids* 2003, 38: 623-632.
52. Banni S, Angioni E, Murru E, Carta G, Melis PM, Bauman D, Dong Y, Ip C. Vaccenic acid feeding increases tissue levels of conjugated linoleic acid and suppresses development of premalignant lesions in rat mammary gland. *Nutr Cancer* 2001, 41: 91-97.
53. Sauer LA, Dauchy RT, Blask DE, Krause JE, et al. Conjugated linoleic acid isomers and trans fatty acids inhibit fatty acid transport in hepatoma 7288CTC and inguinal fat pads in Buffalo rats. *J Nutr* 2004, 134: 1989-1997.
54. Lim JN, Oh JJ, Wang T, Lee JS, Kim SH, Kim YJ, Lee HG. Trans-11 18:1 vaccenic acid (TVA) has a direct anti-carcinogenic effect on MCF-7 human mammary adenocarcinoma cells. *Nutr* 2014, 6: 627-636.
55. Cook ME, Pariza M. The role of conjugated linoleic Acid (CLA) in Health. *Int Dairy J* 1998, 8: 459-462.
56. Hur SJ, Park GB, Joo ST. Biological activities of conjugated linoleic acid (CLA) and effects of CLA on animal products. *Livest Sci* 2007, 110: 221-229.
57. Białek A, Tokarz A. Źródła pokarmowe oraz efekty prozdrowotne sprzężonych dienów kwasu linolowego (CLA). *Biul Wyzd Farm WUM*, 2009, 1: 1-24.
58. Kepler CR, Tove SB. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. 3. Purification and properties of a linoleate delta-12-cis, delta-11-trans-isomerase from *Butyrivibrio fibrisolvens*. *J Biol Chem* 1967, 242: 242-244.
59. Pariza MW, Ashoor SH, Chu FS, Lund DB. Effects of temperature and time on mutagen formation in pan-fried hamburger. *Cancer Lett* 1979, 7: 63-69.
60. Pariza PW, Hargraves WA. A beef-derived mutagenesis modulator inhibits initiation of mouse epidermal tumors by 7,12-dimethylbenz(a)anthracene. *Carcinog* 1985, 6: 591-593.
61. Ha YL, Grimm NK, Pariza MW. Anticarcinogens from fried ground beef: heat altered derivatives of linoleic acid. *Carcinog* 1987, 8: 1881-1887.
62. Belbury, MA. Conjugated dienoic linoleate: A polyunsaturated fatty acid with unique chemoprotective properties. *Nutr Rev* 1995, 53: 83-89.
63. Scimeca, LA. Cancer inhibition in animals. [in:] *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*. Yurawecz MP, Mossoba MM, Kramer JKG, Pariza MW, Nelson CJ (ed). AOCS Press USA 1999: 420-443.
64. Ip C, Singh M, Thompson HJ, Scimeca JA. Conjugated linoleic acid suppresses carcinogenesis and proliferative activity of the mammary gland in the rat. *Cancer Res* 1994, 54: 1212-1215.
65. Ip C, Banni, S, Angioni E, Carta G, McGinley J, et al. Conjugated linoleic acid-enriched butter fat alters mammary gland morphogenesis and reduces cancer risk in rats. *J Nutr* 1999, 129: 2135-2142.
66. National Research Council (NRC). *Carcinogens and Anticarcinogens in the Human Diet*. National Academy Press, Washington DC 1996.
67. Lee KN, Kritchevsky D, Pariza MW. Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. *Atheroscler* 1994, 108: 19-25.
68. Nicolosi RJ, Rogers EJ, Kritchevsky D, Scimeca JA, Hurth PJ. Dietary conjugated linoleic acid reduces plasma lipoproteins and early aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic hamsters. *Artery* 1997, 22: 266-277.
69. Munday JS, Thompson KG, James KAC. Dietary conjugated linoleic acids promote fatty streak formation in the C57BL/6 mouse atherosclerosis model. *Br J Nutr* 1999, 81: 251-255.
70. Larsen TM, Toubro S, Astrup A. Efficacy and safety of dietary supplements containing CLA for the treatment of obesity: Evidence from animal and human studies. *J Lipid Res* 2003, 44: 2234-2241.
71. O'Shea M, Bassaganya-Riera J, Mohede ICM. Immunomodulatory properties of conjugated linoleic acid. *Am J Clin Nutr* 2004, 79: 1199-1206.
72. Albers R, van der Wielen RPJ, Brink EJ, Henriks HFJ, Dorovska-Taran VN, Mohede ICN. Effects of cis-9, trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid CLA isomers on immune function in healthy men. *Eur J Clin Nutr* 2003, 57: 595-603.
73. Kaneda T. Iso- and anteiso-fatty acids in bacteria: biosynthesis, function and taxonomic significance. *Microbiol Rev* 1991, 55: 288-302.
74. Buccioni A, Decandia M, Minieri S, Rapaccini R, Pratesi V. Lipid metabolism in the rumen: new insights on lipolysis and biohydrogenation with an emphasis on the role of endogenous plant factors. *Anim Feed Sci Tech* 2012, 174: 1-25.
75. Adamska A, Rutkowska J. Nieparzyste i rozgałęzione kwasy tłuszczowe w tłuszczu mlecznym – charakterystyka i właściwości prozdrowotne. *Postępy Hig Med Dośw* 2014, 68: 957-966.
76. Vlaemnick B, Fievez V, Cabrita ARJ, Fonesca AJM, Dewhurst RJ. Factors affecting odd- and branched-chain fatty acids in milk. *Animal Feed Sci Tech* 2006, 131: 389-417.
77. Fievez V, Vlaemnick B, Dhanoa MS, Dewhurst RJ. Use of principal component analysis to investigate the origin of heptadecenoic and conjugated linoleic acids in milk. *J Dairy Sci* 2003, 86: 4047-4053.
78. Vlaemnick B, Fievez V, Tamminga S, Dewhurst RJ, Van Vuuren A, de Brabander D, Demeyer D. Milk odd- and branched fatty acids in relation to the rumen fermentation pattern. *J Dairy Sci* 2006, 89: 3954-3964.

79. Craninx M, Steen A, Van Laar H, Van Nespen T, et al. Effect of lactation stage on the odd- and branched-chain milk fatty acids of dairy cattle under grazing and indoor conditions. *J Dairy Sci* 2008, 91: 2662-2677.
80. Fievez V, Colman E, Castro-Montoya JM, Stefanov I, Vlaeminck B. Milk odd- and branched-chain fatty acids as biomarkers of rumen function- An update. *Anim Feed Sci Tech* 2012, 172: 51-65.
81. Yang Z, Liu S, Chen X, Chen X, Huang M, Zheng J. Induction of apoptotic cell death and in vivo growth inhibition of human cancer cells by saturated branched-chain fatty acid, 13-methyltetradecanoic acid. *Cancer Res* 2000, 60: 505-509.
82. German JB, Dillard CJ. Saturated fats: what dietary intake? *Am J Clin Nutr* 2004, 80: 550-559.
83. Wolk A. Dairy Foods and Colorectal and Ovarian Cancer – The Good and Bad Sides of Milk. *Karolinska Institutet* 2006: 1-3.
84. Ran-Ressler RR, Devapatla S, Lawrence P, Brenna T. Branched chain fatty acid are constituents of the normal healthy newborn gastrointestinal tract. *Pediatr Res* 2008, 64: 605-609.
85. Ran-Ressler RR, Khailova L, Arganbright KM. Branched chain fatty acids reduce the incidence of necrotizing enterocolitis and alter gastrointestinal microbial ecology in a neonatal rat model. *PLoS One* 2011, 6: 1-10.
86. Ran-Ressler RR, Sim D, O'Donnell-Megarolo AM, Bauman DE, Barbano DM, Brenna JT. Branched chain fatty acid content of United States retail cow's milk and implications for dietary intake. *Lipids* 2011, 46: 569-576.