

Received: 2013.07.29
Accepted: 2014.06.03
Published: 2014.08.22

Nieparzyste i rozgałęzione kwasy tłuszczowe w tłuszczu mlecznym – charakterystyka i właściwości prozdrowotne

Odd- and branched-chain fatty acids in milk fat – characteristic and health properties

Agata Adamska, Jarosława Rutkowska

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Zakład Analiz Instrumentalnych w Warszawie

Streszczenie

W pracy przeanalizowano stan wiedzy na temat nieparzystych i rozgałęzionych kwasów tłuszczowych występujących w tłuszczu mlecznym. Zwrócono szczególną uwagę na charakterystykę, syntezę w organizmie przeżuwaczy, czynniki kształtujące ich zawartość w tłuszczu mlecznym oraz na właściwości prozdrowotne tych związków. Do grupy nieparzystych i rozgałęzionych kwasów tłuszczowych są zaliczane głównie nasycone kwasy tłuszczowe z jedną lub kilkoma rozgałęzionymi grupami metylowymi występującymi w pozycji izo lub anteizo. Kwasy te są syntezowane głównie przez bakterie żwaczowe w organizmach przeżuwaczy i odkładane w ich tkankach (mleku i mięsie). Dlatego też mogą być wykorzystywane jako biomarker fermentacji żwaczowej w organizmach przeżuwaczy. W organizmie człowieka nieparzyste i rozgałęzione kwasy tłuszczowe są produktami egzogennymi, dzięki czemu wykazują specyficzne działanie. Wyniki badań z ostatniego dziesięciolecia wskazują, że nieparzyste i rozgałęzione kwasy tłuszczowe wykazują właściwości przeciwnowotworowe. Rozgałęzione kwasy tłuszczowe mogą się przyczyniać do redukcji zachorowań na martwicze zapalenie jelit. Ponadto grupa tych związków ma wpływ na właściwe działanie tkanek oraz funkcjonowanie i rozwój jelit noworodka. Natomiast nieparzyste kwasy tłuszczowe są uznawane za biomarkery spożycia tłuszczu mlecznego przez ludzi. Dotychczas nie wszystkie mechanizmy działania omawianej grupy związków zostały dokładnie poznane, a ich dogłębne zbadanie umożliwi właściwe wykorzystanie tych cennych związków, zarówno w profilaktyce jak i w terapii.

Słowa kluczowe:

kwasy tłuszczowe • nieparzyste i rozgałęzione kwasy tłuszczowe • tłuszcz mleczny • właściwości przeciwnowotworowe

Summary

This review analyzes the current state of knowledge on odd- and branched-chain fatty acids present in milk fat. Special attention is devoted to the characteristic, synthesis in ruminants, factors affecting their content in milk fat and pro-health properties of these compounds. The group of odd- and branched-chain fatty acids includes mainly saturated fatty acids with one or more methyl branches in the iso or anteiso position. These fatty acids are largely derived from ruminal bacteria and they have been transferred to ruminant tissue (milk and meat). For that reason they have been used as biomarkers of rumen fermentation. Odd- and branched-chain fatty acids are exogenous products for humans, and therefore have specific properties. The results of research from recent decades show that odd- and branched-chain fatty acids have anti-cancer activity. Branched-chain fatty acids may reduce the incidence of necrotizing

Keywords	enterocolitis. Additionally, these compounds have a beneficial effect on proper tissue function and on functioning and development of the infant gut, whereas odd-chain fatty acids are considered as biomarkers of milk fat intake by humans. So far, not all the mechanisms of activity of these compounds are known thoroughly. They should be more carefully studied for application of their biological effects in prevention and treatment.
Full-text PDF:	http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1118188
Word count:	3676
Tables:	2
Figures:	2
References:	56

Adres autorki: dr hab. Jarosława Rutkowska, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Zakład Analiz Instrumentalnych, ul. Nowoursynowska 159C, 02-776 Warszawa; e-mail: jaroslawa_rutkowska@sggw.pl

Wykaz skrótów: **BCFA** – rozgałęzione kwasy tłuszczowe (branched-chain fatty acids), **F:C** – stosunek pasz objętościowych do treściwych (forage:concentrate ratio), **HDL** – lipoproteiny wysokiej gęstości (high-density lipoprotein), **KT** – kwasy tłuszczowe (fatty acids), **LDL** – lipoproteiny niskiej gęstości (low density lipoproteins), **MFGM** – błona otaczająca kuleczkę tłuszczową (milk fat globule membrane), **13-MTD** – kwas 13-metylotetradecanowy (izo C15:0; 13-methyltetradecanoic acid), **NDF** – neutralne włókno detergentowe (neutral detergent fiber), **OBCFA** – nieparzyste i rozgałęzione kwasy tłuszczowe (odd- and branched-chain fatty acids), **OCFA** – nieparzyste kwasy tłuszczowe (odd-chain fatty acids), **TAG** – triacyloglicerole (triacylglycerols).

WPROWADZENIE

Mleko i produkty mleczne są źródłem nie tylko takich składników odżywczych jak białko i składniki mineralne, ale również tłuszczu mlecznego. Tłuszcz mleczny charakteryzuje bardzo wysoka strawność, wynosząca 97-99%. Związana jest z dużym rozproszeniem kuleczek tłuszczowych, dzięki czemu tłuszcz może być wchłaniany bez wcześniejszej hydrolizy w przewodzie pokarmowym [1]. Rdzeń kuleczek tłuszczowych tworzą triacyloglicerole (TAG), stanowiące 97-98% tłuszczu mlecznego. Natomiast otoczkę stanowi błona białkowo-lipidowa (MFGM) [28]. W badaniach wykazano, że MFGM jest potencjalnym czynnikiem terapeutycznym w wielu schorzeniach [44]. Ponadto udowodniono, że jedno z białek zawartych w MFGM jest potencjalnym czynnikiem przeciwnowotworowym w stosunku do komórek nowotworu piersi [45]. Innymi korzystnymi działaniami otoczki MFGM są właściwości przeciwdrobnoustrojowe i obniżające stężenie cholesterolu [13,28].

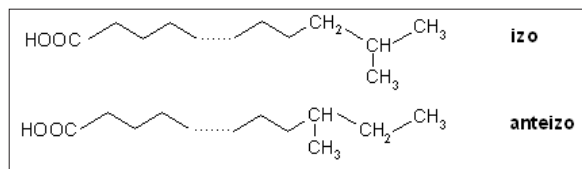
Tłuszcz mleczny jest unikatowym składnikiem ze względu na zróżnicowany skład kwasów tłuszczowych (KT) wykazujących korzystne działanie na zdrowie człowieka m.in. przeciwnowotworowe i przeciwdrobnoustrojowe [1,15,19,28,46]. W składzie krowiego tłuszczu

mlecznego na uwagę zasługują m.in. kwasy zawierające nieparzyste i rozgałęzione łańcuchy o różnej długości od C3 do C27 [25,40]. Nieparzyste i rozgałęzione kwasy tłuszczowe (OBCFA) w większości roślin występują jedynie w ilościach śladowych. Natomiast u zwierząt przeżuwających związki te są składnikami występującymi głównie w mleku i mięsie, a ich źródłem są przede wszystkim bakterie zasiedlające żwacz [48]. Zawartość OBCFA w tkankach ssaków kształtuje się na poziomie 1-2% wszystkich KT. Podobne ilości KT z grupy izo i anteizo występują w olejach rybich, jednak najczęściej są to łańcuchy o długości od C14 do C18, które powstają w morskim łańcuchu pokarmowym [12]. W ostatnich latach pojawiają się prace badawcze wykazujące właściwości prozdrowotne tych związków [22,35,54,55,56]. Jednak w związku z tym, że są one w tłuszczu mlecznym oznaczane przez stosunkowo nieliczną grupę badaczy ich właściwości nie są jeszcze należycie doceniane. W związku z powyższym celem pracy było scharakteryzowanie OBCFA występujących w tłuszczu mlecznym oraz omówienie ich właściwości prozdrowotnych.

CHARAKTERYSTYKA OBCFA

Rozgałęzione kwasy tłuszczowe (BCFA) obejmują głównie nasycone KT z jedną lub kilkoma rozwidłonymi

grupami metylowymi - CH₃. Rozgałęzienie w tych KT występuje w pozycji *izo* lub *anteizo*. W izomerach *izo* rozgałęziona grupa metylowa znajduje się przy węglu C2 od końca metylowego łańcucha, natomiast w postaci *anteizo* podstawiona jest przy węglu C3 (ryc. 1) [20].



Ryc. 1. Wzór strukturalny OBCFA w zależności od lokalizacji rozgałęzienia

Wśród OBCFA można wyróżnić następujące grupy kwasów: parzyste o konfiguracji *izo* (*izo* C14:0, *izo* C16:0), nieparzyste o konfiguracji *izo* (*izo* C15:0, *izo* C17:0) oraz nieparzyste *anteizo* (*anteizo* C15:0, *anteizo* C17:0) [49]. Głównymi OBCFA w krowim tłuszczu mlecznym są izomery: kwasu tridekanowego (*izo* C13:0), tetradekanowego (*izo* C14:0), kwasu pentadekanowego (C15:0, *izo* C15:0, *anteizo* C15:0), kwasu heksadekanowego (*izo* C16:0) oraz kwasu heptadekanowego (C17:0, *izo* C17:0, *anteizo* C17:0) [12,45].

W tłuszczu mlecznym występują także wielorozgałęzione KT przykładem, których są terpenoidowe BCFA – kwas fitanowy (phytanic acid; 3, 7, 11, 14 kwas tetrametyloheksadekanowy) oraz kwas pristanowy (pristanic acid; 2, 6, 10, 14 tetrametylopentadekanowy) [24,51].

Poza wymienionymi wyżej grupami KT w tłuszczu mlecznym występuje jeszcze jedna specyficzna grupa KT syntetyzowana przez bakterie są to ω -acykliczne KT [20]. Reprezentantami cyklicznych alifatycznych KT w mleku przeżuwaczy są głównie grupy kwasów: cyklopropanowych (lactobacillic i dihydroksysterulowy) i ω -cykloheksylowych (cykloheksyloundekany i tridekanowy). Zawartość kwasu tridekanowego ω -cykloheksylowego w tłuszczu mlecznym oznaczono na poziomie około 0,15% [26].

W celu przedstawienia poziomu zawartości OBCFA w tłuszczu mlecznym w tabeli 1 przedstawiono dane z różnych badań [9,10,36,38,39,48,50], które zestawiono w zależności od sposobu żywienia krów. W każdym z przedstawionych doświadczeń oznaczono zróżnicowany profil OBCFA. Jednak należy zauważyć, że największe wartości występowały w grupie BCFA kwasy: *izo* C15:0, *anteizo* C15:0, *anteizo* C17:0, natomiast w grupie OCFA kwasy: C15:0 i C17:0. Należy podkreślić, że mleko pochodzące z „produkcji” ekstensywnej (z dużym udziałem żywienia pastwiskowego) i ekologicznej wyróżniało się zarówno wysoką sumaryczną zawartością, a także bogatym (zróżnicowanym) profilem OBCFA [9,38,48,50]. W próbach mleka pochodzących z żywienia pastwiskowego w regionie górskim w Polsce zawartość OBCFA oznaczono na poziomie 6,55-6,97 g/100g KT [38].

W pracy Ran-Rassler i wsp. oszacowano, że przeciętne spożycie kwasów z grupy BCFA w amerykańskim spo-

życiu wynosi 220 mg/d/osobę z produktami mlecznymi, a 575 BCFA mg/d/osobę uwzględniając także spożycie wołowiny [36]. Poddając ocenie zawartość składników bioaktywnych w tłuszczu mlecznym należy zaznaczyć, że zawartość kwasów *anteizo* rozgałęzionych jest porównywalna z zawartością kwasu CLA (sprężonego kwasu linolowego), a całkowita zawartość BCFA stanowi prawie połowę zawartości KT w konfiguracji *trans* [36].

SYNTEZA OBCFA

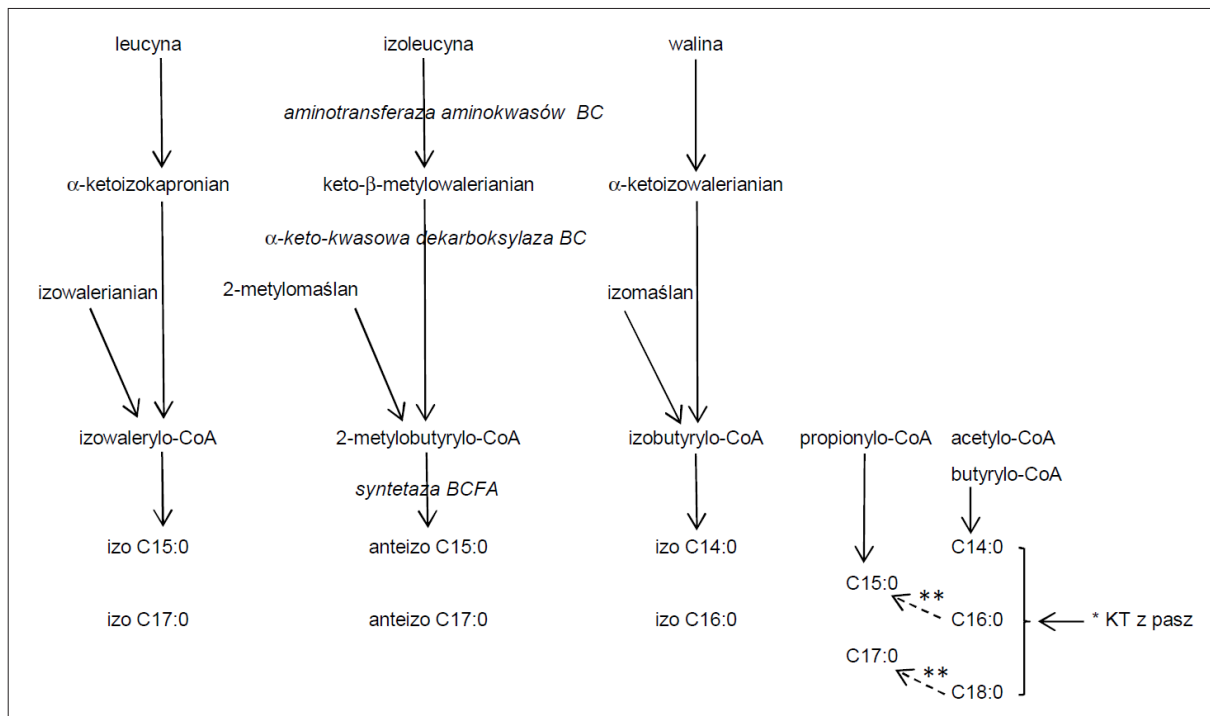
Głównym źródłem OBCFA w tłuszczu mlecznym jest synteza żwaczowa z nasyconych KT prowadzona przez bakterie (ryc. 2). W profilu KT grupa OBCFA stanowi w przypadku bakterii 16,5%, a u pierwotniaków 11,0% KT. BCFA pochodzenia bakteryjnego mogą stanowić 1-3% udziału KT w tłuszczu mlecznym. Głównymi BCFA bakterii są *izo* C13:0, *anteizo* C13:0, *izo* C14:0, *anteizo* C15:0 oraz *izo* C16:0. Natomiast u pierwotniaków ilościowo wyróżniającymi się KT są: *izo* C17:0 i *anteizo* C17:0. OBCFA są niezwykle istotnymi składnikami mikroorganizmów ze względu na zapewnienie struktury i optymalnej przepuszczalności błony komórkowej [31]. Mikrobiologiczna masa w żwaczu jest ważnym źródłem składników odżywczych organizmu gospodarza [2].

Bakteryjna synteza OBCFA odbywa się za pośrednictwem dwóch głównych układów enzymatycznych: syntetaz KT o prostym lub rozgałęzionym łańcuchu różniących się swoistością substratową ściany komórkowej bakterii w stosunku do transacylasy acetyloCoA:ACP [40,48]. Nieparzyste KT (C15:0 i C17:0) powstają w procesie elongacji propionianu lub walerianu, natomiast prekursorami rozgałęzionych KT (*izo* i *anteizo*) są aminokwasy rozgałęzione: walina, leucyna, izoleucyna lub rozgałęzione krótkołańcuchowe kwasy karboksylowe m.in. izomasłowy, izowalerianowy, 2-metylomasłowy [6,20].

Nieparzyste KT są syntetyzowane z acetylo-CoA jako startera przez powtarzającą się kondensację malonylo-CoA pochodzącego z modyfikacji różnych KT [20]. Nieparzyste prostołańcuchowe KT są syntetyzowane z wykorzystaniem jako startera propionilo-CoA podczas gdy izowalerylo-CoA (3-metylobutyryl-CoA) jest wykorzystywany do syntezy następujących kwasów: *izo* C15:0 i *izo* C17:0. Natomiast 2-metylobutylo-CoA jest substratem do syntezy *anteizo* C15:0 i *anteizo* C17:0 [48].

Parzyste rozgałęzione KT (*izo* C14:0 i *izo* C16:0) syntetyzowane są z izobutylo-CoA jako startera. Prekursor rozgałęzionych KT acetylo-CoA pochodzi z deaminacji rozgałęzionych łańcuchów aminokwasów w żwaczu. Metylomalonylo-CoA powstający z propionianu może również służyć bakteriom żwaczowym jako substrat do syntezy *anteizo* KT [20,40,48].

Podsumowując, jedyną różnicą w syntezie nieparzystych i rozgałęzionych łańcuchów KT jest rodzaj starterów i powstających produktów [48].



Ryc. 2. Synteza OBCFA przez bakterie w żwaczu (wg [48] zmodyfikowano); * - pobór KT z paszy przez bakterie żwaczowe, ** - α -oksydacja parzystych KT

Znaczne ilości OBCFA w tłuszczu mleka pochodzą z wykorzystania lipidów bakteryjnych w żwaczu, podczas gdy ich endogenna synteza jest ograniczona. Choć linowe, nieparzyste KT lub ich izomery *anteizo*, mogą być syntetyzowane *de novo* w gruczole mlecznym przez wykorzystanie propionyl-CoA zamiast acetyl-CoA lub metylomalonyl-CoA zamiast malonyl-CoA, udział tych ostatnich procesów w syntezie OBCFA w mleku krów jest znikomy. Niemniej jednak poszczególne badania wykazały, że linowe nieparzyste KT (C15:0 i C17:0) mogą być syntetyzowane *de novo* z propionianu w tkance tłuszczowej i gruczole mlecznym przeżuwaczy [11,31,48]. W badaniach wykazano także, że wydzielanie kwasów C15:0 i C17:0 w mleku jest znacznie większe niż przepływ w dwunastnicy, co potwierdza syntezę w gruczole mlecznym tych KT [11]. Ponadto wyższy poziom liniowych nieparzystych łańcuchów KT w mleku, w stosunku do osocza krwi jest dodatkową oznaką częściowej syntezy KT w gruczole mlecznym [48].

W grupie wielorozgałęzionych KT kwas fitanowy jest produktem utlenienia fitolu, związku powstałego w procesie degradacji chlorofilu. Natomiast kwas pristanowy jest produktem α -oksydacji kwasu fitanowego [24,29]. Swoiste bakterie wykorzystują do syntezy tej grupy KT jako starter endogenne cykliczne kwasy karboksylowe, a mechanizm syntezy jest zbliżony do procesu syntezy rozgałęzionych krótkołańcuchowych kwasów karboksylowych [20]. Źródłem kwasów w diecie człowieka są nie tylko produkty mleczne, ale również mięso przeżuwaczy zawierające dużą zawartość tłuszczu [48].

Kwasy cyklopropylowe są pochodzenia mikrobiologicznego i powstają głównie przez przeniesienie grupy metylowej z S-adenozyl-L-metioniny na podwójne wiązanie nienasyconego KT (najczęściej kwasu oleinowego). Kwas cyklopropanowy występuje również w kiszonkach (głównie z kukurydzy), gdzie powstaje w wyniku mikrobiologicznej fermentacji. Kwasy ω -acykliczne są syntetyzowane przez dodanie kwasu cykloheksylowego do kultury bakterii [26].

CZYNNIKI WPŁYWAJĄCE NA ZAWARTOŚĆ OBCFA W TŁUSZCZU MLECZNYM

Skład OBCFA w tłuszczu mlecznym jest zależny przede wszystkim od mikroorganizmów bytujących w żwaczu. Z tego względu niezwykle istotne są czynniki wpływające na populację mikroorganizmów w żwaczu, wśród których można wymienić: rodzaj pasz, poziom pasz objętościowych w stosunku do treściwych (stosunek F:C) w żywieniu, skład chemiczny pasz, pH żwacza oraz stężenie amoniaku [6].

W badaniach *in vitro* [51], w których pasze poddano 21-godzinne trawieniu stwierdzono, że większa zawartość skrobi w paszy skutkowała wyższymi zawartościami syntetyzowanych kwasów C15:0 i C17:0. Podczas gdy większa zawartość neutralnego włókna detergentowego (NDF) była pozytywnie skorelowana z ilością powstałego kwasu *anteizo* C15:0 [51].

W badaniach przeprowadzonych na małych gatunkach przeżuwaczy - kozy, również udowodniono, że naj-

ważniejszym czynnikiem odpowiedzialnym za zmiany w składzie OBCFA jest zawartość NDF dostarczonego z paszą. Ponadto wyniki badań wskazują, że stosując żywienie bez suplementacji tłuszczem bakterie żwaczowe akumulują rezerwy energii przez zwiększenie syntezy nasyconych KT z grup: nieparzystych i rozgałęzionych, które pełnią rolę w transferze wodoru. W powyższym doświadczeniu wykazano również, iż niezależnie od wzbogacania żywienia zwierząt w tłuszcz jest możliwa modyfikacja składu bakterii żwaczowych głównie przez ilość dostarczonej paszy i poziom NDF w niej zawartego [2].

Rodzaj paszy, którą są żywione krowy mleczne ma wpływ zarówno na skład mikroorganizmów w żwaczu, jak również na środowisko żwacza. Na przykład zastąpienie kiszonki z trawy kiszonką z kukurydzy zwiększało podaż w diecie skrobi i zmniejszało NDF [30]. Taka modyfikacja wpłynęła na pH środowiska żwacza, populację mikroorganizmów oraz proporcje wytwarzanych lotnych KT [48]. W konsekwencji podanie krowom kiszonki z kukurydzy zmniejszało zawartość kwasów izo C14:0 i izo C15:0 oraz zmniejszało stosunek nieparzystych łańcuchów kwasów serii *izo* do *anteizo* w tłuszczu mlecznym. Stwierdzono jednocześnie większe ilości kwasów *izo* C17:0 i *anteizo* C17:0. Vlaeminck i wsp. wykazali, że kwas *izo* C17:0 jest powiązany z bakteryjnym tempem wzrostu, wywołanym przez jego silny związek ze stosunkiem adenina:azot w bakteriach żwaczowych [48]. Mikrobiologiczna synteza białkowa jest energetycznie bardziej wydajna przy skarmianiu kiszonką z kukurydzy w porównaniu do diety opartej na kisonce z trawy, co może wyjaśniać wzrost w mleku kwasu *izo* C17:0. Cabrita i wsp. przedstawili ujemne korelacje między zawartością w diecie surowego białka i proporcjami w mleku *izo* C17:0 oraz *anteizo* C17:0 [7].

Istotnym czynnikiem żywieniowym, mającym wpływ na zawartość OBCFA w tłuszczu mlecznym, jest stosunek F:C. Jeżeli stosunek ten jest wyższy tłuszcz mleczny zawiera większe ilości OBCFA zwłaszcza KT: *anteizo* C15:0, *izo* C14: i *izo* C15:0. Dlatego też wskaźnik ten może być wykorzystywany do oceny podaży składników odżywczych dla bakterii żwaczowych [49].

Czynnikiem żywieniowym, który wpływa na skład OBCFA w tłuszczu mlecznym jest wzbogacanie paszy w różne składniki. Przykładowo suplementacja pasz olejami roślinnymi: olejem rzepakowym, olejem słonecznikowym i olejem z siemienia lnianego, bez względu na rodzaj oleju, przyczyniła się do zmniejszenia zawartości OBCFA (analizowano KT: *izo* C13:0, *izo* C14:0, *izo* C15:0, *anteizo* C15:0, *izo* C16:0, *izo* C17:0, *anteizo* C17:0) w krowim tłuszczu mlecznym [37]. Natomiast podawanie zwierzętom paszy wzbogaconej w olej rybi lub algi morskie powoduje zwiększenie zawartości OBCFA w tłuszczu mlecznym [23,42]. Jednak Boeckeaert i wsp. wykazali, że żywienie krów paszami wzbogaconymi w mikroalgi powodowało zmniejszenie zawartości niektórych KT: C15:0, *izo* C14:0, *izo* C15:0, *izo* C16:0 [5]. Natomiast zawar-

tość wszystkich kwasów z serii *anteizo* i kwasu C17:0 uległa zwiększeniu.

Podsumowując należy stwierdzić, że zmiany w profilu OBCFA w tłuszczu mlecznym są związane głównie z mikroflorą żwacza. Czynnikiem, które przyspieszają wzrost bakterii amylolytycznych, a zmniejszają celulozytycznych są głównie: zwiększenie w paszy zawartości skrobi i strawności paszy oraz zmniejszenie stosunku F:C i zawartości NDF [12].

W USA analizowano także wpływ infuzji do żwacza lotnych KT na zawartość OBCFA w tłuszczu mlecznym. Zwiększenie zawartości lotnych KT (octanu, propionianu, *izo* walerianu i *anteizo* walerianu) miało nieznaczny wpływ na zawartość tej grupy KT w żwaczu i mleku. Jedynie podanie do żwacza dużej dawki propionianu spowodowało niewielkie zwiększenie postabsorpcyjnej syntezy nieparzystych KT przejawiającej się nieznacznym zwiększeniem tej grupy KT w tłuszczu mlecznym [14].

Na skład OBCFA ma wpływ również etap laktacji [10]. Wykazano, że ilość kwasów OBCFA o łańcuchach długości C14-C15 jest większa w tłuszczu mlecznym wytworzonym na etapie wczesnej laktacji. Natomiast ilość OBCFA o łańcuchach C17 jest mniejsza. Stwierdzono także nieznaczną negatywną korelację między OBCFA i zawartością tłuszczu w mleku [10].

OBCFA JAKO POTENCJALNY BIOMARKER FERMENTACJI ŻWACZOWEJ

Przeprowadzono badania nad możliwością wykorzystania OBCFA jako potencjalnego markera do ilościowego określenia zawartości biomasy bakteryjnej bytującej w żwaczu (na podstawie stałej zależności między zawartością białka bakteryjnego a zawartością azotu w poszczególnych grupach bakterii) oraz jakościowego określenia proporcji różnych szczepów mikroorganizmów bytujących w żwaczu (na podstawie rodzaju wytwarzanych metabolitów) [10,12,47,49]. Podobnie w badaniach Bessa i wsp. potwierdzono możliwość wykorzystania profilu OBCFA jako użytecznego wewnętrznego mikrobiologicznego markera do oceny ekosystemu żwacza [4]. Dlatego też oznaczanie zawartości OBCFA w tłuszczu mlecznym może dać obraz przepływu dwunastniczego, a pośrednio odzwierciedlać skład mikroorganizmów w żwaczu, nawet u krów niepoddanych zabiegowi fistulacji. Ta nieinwazyjna metoda może być z korzyścią wykorzystana w praktycznym żywieniu krów mlecznych jak i do celów badawczych [47].

Rozpatrywanie OBCFA jako potencjalnego wzorca fermentacji żwaczowej oparte jest o powiązanie między molową proporcją lotnych KT w żwaczu a zawartością OBCFA (*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 oraz C17:1 9cis) w mleku [50]. Zawartość OBCFA w mleku krowim jest ściśle skorelowana z molową proporcją kwasu octowego, propionowego i masłowego – otrzymane

Tabela 1. Średnia zawartość OBCFA (g/100 g KT) w mleku wg różnych autorów w zależności od sposobu żywienia krów

Źródło	[50]	[48]	[38]	[10]	[39]	[9]	[36]	min	max
Kraj	-	-	Polska	Holandia	Polska	Szwajcaria	USA		
Sposób żywienia	sezonowy	sezonowy	sezonowy	alkierzowy	TMR	ekologiczny	mleko spożywcze		
n	148	64-103 w zależności od KT	83	320	26	36	56		
Rozgałęzione KT (BCFA)									
izo C12:0	-	-	0,068	-	-	0,030	-	0,030	0,068
izo C13:0	0,024	0,040	0,068	-	0,130	0,130	-	0,024	0,130
izo C14:0	0,085	0,089	0,216	0,059	0,077	0,270	0,130	0,059	0,270
izo C15:0	0,217	0,224	0,970	0,172	0,437	0,260	0,130	0,130	0,970
izo C16:0	0,190	0,209	0,180	0,169	-	0,350	0,310	0,169	0,350
izo C17:0	0,188	0,272	0,102	0,300	0,187	0,070	0,260	0,070	0,300
anteizo C12:0	-	-	0,050	-	-	0,070	-	0,050	0,070
anteizo C13:0	0,085	0,083	0,013	-	-	-	-	0,013	0,085
anteizo C15:0	0,470	0,462	0,740	0,369	-	-	0,560	0,369	0,740
anteizo C17:0	0,535	0,501	0,546	-	0,513	0,240	0,610	0,240	0,610
Nieparzyste KT (OCFA)									
C11:0	-	-	0,036	-	-	-	-	0,036	
C13:0	-	-	0,096	-	0,148	-	-	0,096	0,148
C15:0	1,088	1,104	1,474	0,928	1,290	1,120	-	0,928	1,474
C17:0	C17:0 + 9cis C17:1 0,701	0,557	0,806	0,479	0,615	0,600	-	0,479	0,806
C21:0	-	-	0,110	-	-	-	-	0,110	
C23:0	-	-	0,058	-	-	-	-	0,058	

n – liczba prób

w analizie regresji wartości R^2 wynoszą 79,6-86,6% [51]. Lotne KT (kwas octowy i masłowy) są istotnym wskaźnikiem wykorzystania energii przez przeżuwacze, natomiast kwas propionowy jest głównie prekursorem glukozy. Można przyjąć, że wzór fermentacji zwaczowej wiąże się ze składem OBCFA w zwacu i odpowiada składowi OBCFA w mleku [12]. Ponadto kwasy z grupy OBCFA są wykorzystywane do przewidywania występowania kwasicy żwacza [10].

DZIAŁANIE PRZECIWNOWOTWOROWE I INNE WŁAŚCIWOŚCI PROZDROWOTNE OBCFA

Tłuszcz mleczny zawiera cenne dla zdrowia człowieka kwasy m.in. izomery CLA: C18:2 9c11t oraz C18:2 10t 12c jak również kwas wakcenyowy – C18:1 11t, które są istotne w profilaktyce chorób nowotworowych [3,27,32]. Badania naukowe ostatniego dziesięciolecia dowodzą również, że działaniem przeciwnowotworowym charakteryzują się też kwasy należące do grupy OBCFA. Przykładem takiego związku jest rozgałęziony kwas izo C15:0 (13-metylotetradekanowy, 13-MTD). Yang i wsp.

wykazali, że kwas izo C15:0 otrzymany z produktów fermentacji soi (stosowanych jako suplement w terapii chorób nowotworowych) skutecznie hamuje wzrost różnych linii komórek nowotworowych *in vitro* i *in vivo* [56]. Wykazano, że działanie przeciwnowotworowe kwasu 13-MTD polega na indukowaniu apoptozy komórek nowotworowych. Apoptoza komórki jest procesem analizowanym w poszukiwaniach skutecznych sposobów leczenia chorób nowotworowych. Różnorodne badania *in vitro* i *in vivo* przeprowadzone w ostatnich latach sugerują, że wiele chemioterapeutycznych czynników może doprowadzić do apoptotycznej śmierci komórek nowotworowych. Jednak większość chemioterapeutyków wykazuje niepożądane, toksyczne działanie na organizmy zwierząt i ludzi [17].

Yang i wsp. wykazali, że 13-MTD może indukować apoptozę ludzkich komórek nowotworów aż w 7 liniach komórkowych organów: MCF7, DU-145, NCI-SNU-1, SNU-423, NCI-H1688, BxPC3 i HCT116 i jednej białaczki: K-562 [56]. Dawki śmiertelne - LD₅₀ dla 13-MTD w przypadku apoptozy komórek wyżej wymienionych linii nowo-

tworowych wahały się 10-25 µg/ml (tabela 2). Należy podkreślić, że apoptotyczne zmiany we wszystkich badanych liniach komórek nowotworowych stwierdzano już po 2 godzinach podawania kwasu *izo* C15:0. Wykazano, że pozytywną cechą kwasu *izo* C15:0 jest to, że będąc egzogennym związkami w organizmie człowieka w mniejszym stopniu zależny jest od typu komórek i czynników środowiskowych związanych ze stresem w komórkach apoptotycznych. Ponadto rozgałęziona grupa metylowa poprawia funkcje 13-MTD w indukowaniu apoptozy w porównaniu do KT o prostych łańcuchach węglowych. Związek 13-MTD jako KT z 15 atomami węgla, jest wchłaniany przez jelito i transportowany przez chylomikrony wraz z limfą do krążenia przez przewód piersiowy, unikając transportu do wątroby, co zapewnia jego znaczne stężenie w krążeniu zaopatrując tkanki i organy. Jest to bardzo ważna własność kwasu 13-MTD, wpływająca pozytywnie na indukcję apoptozy w miejscowych tkankach [56].

Wyniki badań na zwierzętach (myszach) również wykazały, że dożołądkowe podawanie kwasu 13-MTD w dawce 35 mg/kg m.c. hamowało rozwój komórek nowotworowych (stercza i wątroby), sugerując wchłanianie i transport przez limfę z ominięciem metabolizmu w wątrobie kwasów BCFA [56]. Wykazano, że 13-MTD może skutecznie hamować wzrost guzów ortotopowych u myszy z zaindukowaną chorobą nowotworową, w porównaniu z grupami kontrolnymi. Średni wskaźnik inhibicji wynosił 84,6% dla DU-145 i 65,2% dla LCI-D35. Podsumowując, wyniki badań Yanga i wsp. wskazują, że 13-MTD może skutecznie hamować wzrost różnych komórek nowotworowych przez indukcję apoptozy bez znaczących toksycznych skutków, co sugeruje że 13-MTD może być potencjalnym związkiem stosowanym w chemioterapii ludzkich nowotworów [56].

Prace badawcze prowadzone przez Wongtangtintharn i wsp. dotyczyły właściwości przeciwnowotworowych kwasów z grupy BCFA w odniesieniu do komórek nowotworu piersi, z zaznaczeniem oddziaływania tych związków na biosyntezę KT [55]. W badaniach *in vitro* stwierdzono, że zarówno kwasy serii *anteizo* jak i *izo* C15:0 modulowały metabolizm KT i wywoływały apoptotyczną śmierć komórek nowotworowych raka piersi. Okazało się, że cytotoksyczność tych KT była porównywalna

ze sprzężonym kwasem linolowym (CLA), składnikiem tłuszczu mlecznego, który dotychczas wzbudzał znacznie większe zainteresowanie jako potencjalny czynnik przeciwnowotworowy [55]. Wongtangtintharn i wsp. wykazali, że BCFA hamują syntezę KT w guzach komórek, co zostało uznane za przydatne w rozwoju terapii nowotworowych, ponieważ komórki rakowe są bardziej uzależnione od syntezy KT niż zdrowe komórki [55]. Analizując wpływ długości łańcucha węglowego kwasów BCFA serii *izo* największą cytotoksyczność w odniesieniu do ludzkich komórek nowotworu piersi wykazano dla kwasu *izo* C16:0. W przypadku pozostałych kwasów z tej grupy właściwości te zmniejszały się wraz ze zmniejszaniem liczby atomów węgla w łańcuchu KT [55].

W innych badaniach mających na celu wyjaśnienie mechanizmu apoptozy kwasu *izo* C15:0 w komórkach nowotworu piersi, nie stwierdzono zwiększenia aktywności kaspazy – grupy enzymów aktywowanych podczas apoptozy [33]. Zaobserwowano natomiast zakłócenia integralności błony mitochondrialnej komórek linii nowotworu piersi po ich 4-godzinnej inkubacji z kwasem *izo* C15:0 [55]. Jedno z najnowszych badań przeprowadzonych przez Lin i wsp. potwierdziło apoptotyczne działanie kwasu *izo* C15:0 w ludzkich komórkach nowotworu pęcherza moczowego [22]. Stwierdzono, że indukcja apoptozy wywołuje zaburzenia mitochondrialne prowadzące do uwolnienia cytochromu C z mitochondriów do cytoplazmy, a także proteolityczną aktywację kaspaz. Apoptoza mitochondrialna wywoływana przez 13-MTD odbywa się za pośrednictwem regulacji szlaków kinaz białkowych: AKT i MAPK. W ten sposób autorzy wskazują, że 13-MTD może być rozważany jako czynnik terapeutyczny w leczeniu ludzkiego nowotworu pęcherza moczowego [22].

Związkami z grupy OBCFA, których działanie przeciwnowotworowe było przedmiotem wnikliwych studiów to kwasy fitanowy i pristanowy. W badaniach *in vitro* wykazano, że związki te promują apoptozę w hodowlach komórek mięśni gładkich naczyń krwionośnych: ludzi, szczurów i świni. Wyniki badań wskazują również na wgląd w mechanizm apoptozy nowotworowych komórek mięśni gładkich indukowany przez BCFA i wykazują, że działanie proapoptotyczne izoprenoidowych BCFA jest swoiste. Wykazano, że kwasy BCFA indukują czynnik

Tabela 2. Cytotoksyczność kwasu C15:0 *izo* względem ludzkich komórek nowotworowych [56]

Linia komórek	Wysokość dawki śmiertelnej LD (lethal dose) (µg/ml)		
	LD50	LD75	LD90
MCF-7 nowotwór piersi	10,03 ± 0,97	15,99 ± 1,28	25,49 ± 1,68
K-562 białaczka	11,45 ± 1,82	22,27 ± 4,60	43,57 ± 6,71
DU-145 nowotwór stercza	13,98 ± 2,15	40,43 ± 5,72	81,87 ± 8,85
H1688 nowotwór płuc	15,08 ± 1,92	35,03 ± 3,59	61,37 ± 8,06
HCT-116 nowotwór okrężnicy	18,49 ± 6,23	67,96 ± 8,25	108,65 ± 13,35
SNU-1 nowotwór żołądka	20,77 ± 2,47	47,43 ± 4,95	80,49 ± 10,03
SNU-423 nowotwór wątroby	24,26 ± 3,98	70,46 ± 9,36	120,77 ± 15,82

nekrozy nowotworu – TNF- α , zarówno jego aktywację jak i wydzielanie. Czynnikiem ten jest konieczny do wywołania apoptozy. Ponadto wykazano, że apoptoza nowotworowych komórek mięśni gładkich zależy od wydzielania i regulacji syntazy tlenu azotu (iNOS) [18].

Na niezwykle znaczenie kwasów BCFA w organizmie człowieka wskazuje ich obecność w przewodzie pokarmowym niemowląt oraz ludzkim mleku (w ilości około 1,5% wszystkich KT). U osób dorosłych BCFA są najlepiej zbadane jako składnik lipidów skóry [36]. W niedawnych badaniach Ran-Ressler i wsp. udowodniono, że kwasy z grupy BCFA są głównym składnikiem płynu owodniowego i smółki (zawartości jelit noworodków) [34]. BCFA stanowią również prawie jedną trzecią składu KT mazi płodowej, białej substancji pokrywającej ciało noworodka podczas porodu. Maź płodowa jest unikalnym składnikiem organizmu kobiety, żaden inny gatunek ssaków nie wytwarza tego rodzaju substancji łącznie z ssakami naczelnyymi. BCFA wchodzące w skład mazi płodowej to głównie kwasy dimetylowe i serii *anteizo*, natomiast w smółce głównymi są kwasy w konfiguracji *izo*. BCFA są także składnikiem przewodu pokarmowego noworodków [34]. Ponadto w badaniach na młodych szczurach, którym podawano mleko wzbogacone BCFA, zawierające w składzie te KT, które oznaczono w mleku spożywczym (*izo* C14:0, *anteizo* C15:0, *izo* C16:0, *anteizo* C17:0, *izo* C18:0 i *izo* C20:0) stwierdzono redukcję zachorowań na martwicze zapalenie jelit (w 56% przypadków) w porównaniu do grupy kontrolnej oraz podwyższony poziom przeciwwzapalnych cytokin IL-10 [35]. Martwicze zapalenie jelit występuje u 5-10% wcześniaków i jest związane głównie z żywieniem dojelitowym i kolonizacją bakteryjną tego narządu. Cilieborg i wsp. wykazali, że mniejsza gęstość i mniejszy przyrost gatunków bakterii jest zwykle dodatnio skorelowany z występowaniem tego schorzenia [8]. Pomocnymi czynnikami wspierającymi niedojrzały układ odpornościowy jelit są siara i mleko matki [8], których jak już wspomniano wcześniej OBCFA są cennym składnikiem. Ponadto Siggers i wsp. wykazali, że typ żywienia dojelitowego (mleko matki, immunoskładniki, płyn owodniowy, probiotyki, mleko zastępcze) oraz sposób jego podania (pozajelitowo, dojelitowo, minimalnie dojelitowo) odgrywają istotną rolę w rozwoju przewodu pokarmowego noworodków oraz ich odporności na martwicze zapalenie jelit [41]. Podsumowując, tłuszcz mleczny będący źródłem BCFA ma istotny wpływ na właściwe funkcjonowanie tkanek oraz rozwój i funkcjonowanie jelit noworodka [36].

Obecnie rośnie zainteresowanie związkami należącymi do OBCFA ponieważ kwasy zaliczane do tej grupy wykazują wiele interesujących właściwości, m.in. mogą być narzędziem diagnostycznym w ocenie fermentacji żwaczowej, wykazują właściwości przeciwnowotworowe, mają wpływ na punkt topnienia tłuszczu mlecznego oraz mogą być potencjalnym wskaźnikiem ilości spożycia produktów mlecznych przez ludzi [12,48]. Omówione wyżej wyniki badań wskazują również na potencjalne zastosowanie OBCFA w produktach dla niemowląt.

OBCFA JAKO BIOMARKERY SPOŻYCIA TŁUSZCZU MLECZNEGO

Jako biomarkery spożycia tłuszczu mlecznego na szczególną uwagę zasługują nieparzyste KT: C15:0 i C17:0. Są to swoiste KT, których organizm ludzki nie może syntetyzować, co oznacza, że można dokonać pomiaru ich zawartości w tkankach ludzkich (tłuszczowej lub krwi) w celu oznaczenia ich spożycia z tłuszczem mlecznym.

Tkanka tłuszczowa jest zazwyczaj najlepszym materiałem badawczym do pomiaru zawartości różnych KT. W badaniach Wolka przeprowadzonych na próbach tkanki tłuszczowej pobranej od 81 kobiet z jednoczesnym monitorowaniem spożycia produktów mlecznych potwierdzono, że zawartość kwasu C15:0 jest ważnym biomarkerem spożycia tłuszczu mlecznego [53]. W innych badaniach również wykazano, że pomiar zawartości kwasu C15:0 w surowicy krwi może być używany jako marker spożycia tłuszczu mlecznego [43]. W powyższym badaniu jak również w pracy Warensjö i wsp. [52] uzyskano odwrotny związek między spożyciem produktów mlecznych a niektórymi czynnikami ryzyka chorób układu krążenia (masą ciała, obwodem tali, stężeniem LDL/HDL cholesterolu, triacylogliceroli, glikemii na czczo). Wyniki dotychczasowych badań wskazują, że nieparzyste KT: C15:0 i C17:0 mogą być uznawane za biomarkery spożycia tłuszczu mlecznego, co może być przydatne w poszukiwaniu zależności między poziomem spożycia tego tłuszczu a wskaźnikami biochemicznymi w organizmie człowieka [43,52,53].

Cykliczne KT mogą pełnić funkcję markera jakości żywności regionalnej, np. włoskiego sera parmeżano-reggiano, który jest produkowany z mleka pochodzącego od krów żywionych pastwiskowo lub paszami konserwowanymi przygotowanymi z traw (bez udziału kiszonki z kukurydzy). Stwierdzenie obecności tej grupy KT w tłuszczu mlecznym świadczy o obecności w żywieniu krów kiszonki z kukurydzy, czyli niewłaściwej produkcji mleka stosowanego do wytwarzania sera parmeżano-reggiano. [26].

PODSUMOWANIE

Kwasy z grupy OBCFA w większości są syntetyzowane przez bakterie żwaczowe, jedynie nieznaczne ich ilości powstają w gruczole mlecznym. Związki te mogą być cennymi biomarkerami wykorzystywanymi w badaniach medycznych i analizie żywności. W organizmie ludzkim kwasy OBCFA są związkami egzogennymi charakteryzującymi się znaczną aktywnością. Zważywszy na udokumentowane skuteczne działanie przeciwnowotworowe - indukcję apoptozy wielu linii ludzkich komórek nowotworowych, kwasy OBCFA mogą mieć zastosowanie w terapii chorób nowotworowych. Niezwykle interesującym aspektem, który wymaga dalszych badań, jest również wykorzystanie kwasów OBCFA w produktach dla noworodków.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Barłowska J., Litwińczuk Z.: Właściwości odżywcze i prozdrowotne tłuszczu mleka. *Medycyna Wet.*, 2009; 65: 171-174
- [2] Bas P., Archimède H., Rouzeau A., Sauvant D.: Fatty acid composition of mixed-rumen bacteria: effect of concentration and type of forage. *J. Dairy Sci.*, 2003; 86: 2940-2948
- [3] Belury M.A.: Inhibition of carcinogenesis by conjugated linoleic acid: potential mechanisms of action. *J. Nutr.*, 2002; 132: 2995-2998
- [4] Bessa R.J., Maia M.R., Jerónimo E., Belo A.T., Cabrita A.R., Dewhurst R.J., Fonseca A.J.: Using microbial fatty acids to improve understanding of the contribution of solid associated bacteria to microbial mass in the rumen. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 2009; 150: 197-206
- [5] Boeckaert C., Vlaeminck B., Dijkstra J., Issa-Zacharia A., Van Nepsen T., Van Straalen W., Fievez V.: Effect of dietary starch or micro algae supplementation on rumen fermentation and milk fatty acid composition of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2008; 91: 4714-4727
- [6] Buccioni A., Decandia M., Minieri S., Molle G., Cabiddu A.: 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
- [7] Cabrita A.R., Fonseca A.J., Dewhurst R.J., Gomes E.: Nitrogen supplementation of corn silages. 2. Assessing rumen function using fatty acid profiles of bovine milk. *J. Dairy Sci.*, 2003; 86: 4020-4032
- [8] Cilieborg M.S., Boye M., Sangild P.T.: Bacterial colonization and gut development in preterm neonates. *Early Hum. Dev.*, 2012; 88: S41-S49
- [9] Collomb M., Bisig W., Bütikofer U., Sieber R., Bregy M., Etter L.: Fatty acid composition of mountain milk from Switzerland: composition of organic and integrated farming systems. *Int. Dairy J.*, 2008; 18: 976-982
- [10] Craninx M., Steen A., Van Laar H., Nepsen T., Martín-Tereso J., De Baets B., Fievez V.: 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
- [11] Dewhurst R.J., Moorby J.M., Vlaeminck B., Fievez V.: Apparent recovery of duodenal odd- and branched-chain fatty acids in milk of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2007; 90: 1775-1780
- [12] Fievez V., Colman E., Castro-Montoya J.M., Stefanov I., Vlaeminck B.: Milk odd- and branched-chain fatty acids as biomarkers of rumen function. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 2012; 172: 51-65
- [13] Fong B.Y., Norris C.S., MacGibbon A.K.: Protein and lipid composition of bovine milk-fat-globule membrane. *Int. Dairy J.*, 2007; 17: 275-288
- [14] French E.A., Bertics S.J., Armentano L.E.: Rumen and milk odd- and branched-chain fatty acid proportions are minimally influenced by ruminal volatile fatty acid infusions. *J. Dairy Sci.*, 2012; 95: 2015-2026
- [15] German J.B., Dillard C.J.: Composition, structure and absorption of milk lipids: a source of energy, fat-soluble nutrients and bioactive molecules. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2006; 46: 57-92
- [16] German J.B., Dillard C.J.: Saturated fats: what dietary intake? *Am. J. Clin. Nutr.*, 2004; 80: 550-559
- [17] Hannun Y.A.: Apoptosis and the dilemma of cancer chemotherapy. *Blood*, 1997; 89: 1845-1853
- [18] Idel S., Ellinghaus P., Wolfrum C., Nofer J.R., Gloerich J., Assmann G., Spener F., Sedorf U.: Branched chain fatty acids induce nitric oxide-dependent apoptosis in vascular smooth muscle cells. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 49319-49325
- [19] Jensen R.G.: The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *J. Dairy Sci.*, 2002; 85: 295-350
- [20] Kaneda T.: Iso- and anteiso-fatty acids in bacteria: biosynthesis, function, and taxonomic significance. *Microbiol. Rev.*, 1991; 55: 288-302
- [21] Kuhajda F.P.: Fatty-acid synthase and human cancer: new perspectives on its role in tumor biology. *Nutrition*, 2000; 16: 202-208
- [22] Lin T., Yin X., Cai Q., Fan X., Xu K., Huang L., Luo J., Zheng J., Huang J.: 13-Methyltetradecanoic acid induces mitochondrial-mediated apoptosis in human bladder cancer cells. *Urol. Oncol.*, 2012; 30: 339-345
- [23] Looor J.J., Doreau M., Chardigny J.M., Ollier A., Sebedio J.L., Chilliard Y.: Effects of ruminal or duodenal supply of fish oil on milk secretion and profiles of *trans*-fatty acids and conjugated linolenic acid isomers in dairy cows fed maize silage. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 2005; 119: 227-246
- [24] Lough A.K.: The chemistry and biochemistry of phytanic, pristanic and related acids. *Prog. Chem. Fats Other Lipids*, 1973; 14: 1-48
- [25] MacGibbon A.K., Taylor M.W.: Composition and structure of bovine milk lipids. W: *Advanced Dairy Chemistry*, vol. 2, red.: P.F. Fox & P.L.H. McSweeney. Springer, New York 2006, 1-42
- [26] Marseglia A., Caligiani A., Comino L., Righi F., Quarantelli A., Palla G.: Cyclopropyl and ω -cyclohexyl fatty acids as quality markers of cow milk and cheese. *Food Chem.*, 2013; 140: 711-716
- [27] Melaku A., Kadir A.A., Othman F., Meng G.Y., Sazili A.Q.: Cytotoxic effects of conjugated linoleic acids on human hepatoma cancer cells (HepG2). *J. Mol. Pathophysiol.*, 2012; 1: 43-48
- [28] Mills S., Ross R.P., Hill C., Fitzgerald G.F., Stanton C.: Milk intelligence: mining milk for bioactive substances associated with human health. *Int. Dairy J.*, 2011; 21: 377-401
- [29] Mukherji M., Schofield C.J., Wierzbicki A.S., Jansen G.A., Wanders R.J., Lloyd M.D.: The chemical biology of branched-chain lipid metabolism. *Prog. Lipid Res.*, 2003; 42: 359-376
- [30] Nielsen T.S., Sejrsen K., Andersen H.R., Lund P., Straarup E.M.: Effect of silage type and energy concentration on conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat from dairy cows. *J. Anim. Feed Sci.*, 2004; 13 (Suppl. 1): 697-700
- [31] Or-Rashid M.M., Odongo N.E., McBride B.W.: Fatty acid composition of ruminal bacteria and protozoa, with emphasis on conjugated linoleic acid, vaccenic acid, and odd- and branched-chain fatty acids. *J. Anim. Sci.*, 2007; 85: 1228-1234
- [32] Park H.S., Ryu J.H., Ha Y.L., Park J.H.: Dietary conjugated linoleic acid induces apoptosis of colonic mucosa in 1,2-dimethylhydrazine-treated rats: a possible mechanism of the anticarcinogenic effect by CLA. *Brit. J. Nutr.*, 2001; 86: 549-555
- [33] Philchenkov A.: Caspases: potential targets for regulating cell death. *J. Cell Mol. Med.*, 2004; 8: 432-444
- [34] Ran-Ressler R.R., Devapatla S., Lawrence P., Brenna J.T.: Branched chain fatty acid are constituents of the normal healthy newborn gastrointestinal tract. *Pediatr. Res.*, 2008; 64: 605-609
- [35] Ran-Ressler R.R., Khailova L., Arganbright K.M., Adkins-Rieck C.K., Jouni Z.E., Koren O., Ley R.E., Brenna J.T., Dvorak B.: Branched chain fatty acids reduce the incidence of necrotizing enterocolitis and alter gastrointestinal microbial ecology in a neonatal rat model. *PLoS One*, 2011; 6: e29032
- [36] Ran-Ressler R.R., Sim D., O'Donnell-Megaró A.M., Bauman D.E., Barbano D.M., Brenna J.T.: Branched chain fatty acid content of United States retail cow's milk and implications for dietary intake. *Lipids*, 2011; 46: 569-576
- [37] Rego O.A., Alves S.P., Antunes L.M., Rosa H.J., Alfaia C.F. Prates J.A., Cabrita A.R., Fonseca A.J., Bessa R.J.: Rumen biohydrogenation-derived fatty acids in milk fat from grazing dairy cows supplement-

- ed with rapeseed, sunflower, or linseed oils. *J. Dairy Sci.*, 2009; 92: 4530-4540
- [38] 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
- [39] Rutkowska J., Sinkiewicz I., Adamska A.: Profil kwasów tłuszczowych mleka pochodzącego od krów żywnionych w systemie TMR. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012; 5: 135-144
- [40] Shingfield K.J., Chilliard Y., Toivonen V., Kairenius P., Givens D.I.: Milk lipids: a source of bioactive molecules. W: *Bioactive components of milk*, red.: Z. Bösze. Springer, New York 2008; 3-65
- [41] Siggers R.H., Siggers J., Thymann T., Boye M., Sangild P.T.: Nutritional modulation of the gut microbiota and immune system in preterm neonates susceptible to necrotizing enterocolitis. *J. Nutr. Biochem.*, 2011; 22: 511-521
- [42] Singh A.P., Avramis C.A., Kramer J.K., Marangoni A.G.: Algal meal supplementation of the cows' diet alters the physical properties of milk fat. *J. Dairy Res.*, 2004; 71: 66-73
- [43] Smedman A.E., Gustafsson I.B., Berglund L.G., Vessby B.: Pentadecanoic acid in serum as a marker for intake of milk fat: relations between intake of milk fat and metabolic risk factors. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1999; 69: 22-29
- [44] Spitsberg V.L.: Bovine milk fat globule membrane as a potential nutraceutical. *J. Dairy Sci.*, 2005; 88: 2289-2294
- [45] Spitsberg V.L., Gorewit R.C.: Isolation, purification and characterisation of fatty acid binding protein from milk fat globule membrane: effect of bovine growth hormone treatment. *Pak. J. Nutr.*, 2002; 1: 43-48
- [46] Sun C.Q., O'Connor C.J., MacGibbon A.K., Robertson A.M.: The products from lipase-catalysed hydrolysis of bovine milk fat *Helicobacter pylori* *in vitro*. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 2007; 49: 235-242
- [47] Vlaeminck B., Dufour C., van Vuuren A.M., Cabrita A.R., Dewhurst R.J., Demeyer D., Fievez V.: Use of odd and branched-chain fatty acids in rumen contents and milk as a potential microbial marker. *J. Dairy Sci.*, 2005; 88: 1031-1042
- [48] Vlaeminck B., Fievez V., Cabrita A.R., Fonseca A.J., Dewhurst R.J.: Factors affecting odd- and branched-chain fatty acids in milk. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 2006; 131: 389-417
- [49] Vlaeminck B., Fievez V., Demeyer D., Dewhurst R.J.: Effect of forage:concentrate ratio on fatty acid composition of rumen bacteria isolated from ruminal and duodenal digesta. *J. Dairy Sci.*, 2006; 89: 2668-2678
- [50] Vlaeminck B., Fievez V., Tamminga S., Dewhurst R.J., 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
- [51] Vlaeminck B., Fievez V., van Laar H., Demeyer D.: Rumen odd and branched chain fatty acids in relation to *in vitro* rumen volatile fatty acid production and dietary characteristics of incubated substrates. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 2004; 88: 401-411
- [52] Warensjö E., Jansson J.H., Bergkud L., Boman K., Ahrén B., Weinehall L., Lindhal B., Hallmans G., Vessby B.: Estimated intake of milk fat is negatively associated with cardiovascular risk factors and does not increase the risk of a first acute myocardial infarction. A prospective case-control study. *Br. J. Nutr.*, 2004; 91: 635-642
- [53] Wolk A.: Dairy foods and colorectal and ovarian cancer – the good and bad sides of milk. *Karolinska Institutet*, 2006, 1-3
- [54] Wongtangtharn S., Oku H., Iwasaki H., Inafuku M., Toda T., Yanagita T.: Incorporation of branched-chain fatty acid into cellular lipids and caspase-independent apoptosis in human breast cancer cell line SKBR-3. *Lipids Health Dis.*, 2005; 4: 29
- [55] Wongtangtharn S., Oku H., Iwasaki H., Toda T.: Effect of branched-chain fatty acids on fatty acid biosynthesis of human breast cancer cells. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 2004; 50: 137-143
- [56] Yang Z., Liu S., Chen X., Chen H., Huang M., Zheng J.: Induction of apoptotic cell death and *in vivo* growth inhibition of human cancer cells by a saturated branched-chain fatty acid, 13-methyl-tetradecanoic acid. *Cancer Res.*, 2000; 60: 505-509

Autorki deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.