

Received: 2012.03.13
Accepted: 2012.11.19
Published: 2013.01.11

Sprężone dieny kwasu linolowego jako potencjalny czynnik prewencyjny w profilaktyce nowotworów piersi

Conjugated linoleic acid as a potential protective factor in prevention of breast cancer

Agnieszka Białek, Andrzej Tokarz

Zakład Bromatologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Streszczenie

Nowotwory złośliwe są drugą z najczęstszych przyczyn zgonów w Polsce, zarówno wśród kobiet, jak i wśród mężczyzn, a rak piersi zajmuje wśród nich pierwsze miejsce spośród zachorowań diagnozowanych u kobiet. W 2008 r. rozpoznano go aż u 14 500 pacjentek. Jest on także drugą z najczęstszych przyczyną zgonów z powodu raka wśród kobiet w naszym kraju. Mimo iż etiologia tej choroby w większości przypadków nie jest znana, do czynników ryzyka zalicza się różnorodne czynniki żywieniowe. Zwłaszcza ilość tłuszczu spożywanego w diecie i stosunek ilościowy i jakościowy jego kwasów tłuszczowych mają podstawowe znaczenie. Wśród kwasów tłuszczowych, którym przypisywane jest duże znaczenie w modyfikowaniu ryzyka procesu nowotworzenia, wymieniane są sprężone dieny kwasu linolowego (CLA). CLA, to grupa pozytywnych i geometrycznych izomerów kwasu linolowego, zawierających w łańcuchu węglowym układ sprzężonych wiązań podwójnych. Ich głównym naturalnym źródłem jest mleko i produkty mleczarskie oraz mięso różnych gatunków zwierząt przeżuwających, w których w największych ilościach występuje kwas *cis*-9, *trans*-11 oktadekadienowy (tzw. kwas żwaczowy), stanowiący ponad 90% całkowitej puli CLA. Drugim istotnym izomerem jest kwas *trans*-10, *cis*-12 oktadekadienowy, który występuje oprócz kwasu żwaczowego w suplementach diety, zwykle w proporcji 1:1. Prowadzone badania wskazują na ich możliwe działanie prozdrowotne w: otyłości, miażdżycy, chorobach układu sercowo-naczyniowego, osteoporozie, cukrzycy, insulinooporności, stanach zapalnych i różnych typach nowotworów, zwłaszcza w nowotworach sutka.

Słowa kluczowe:

sprężone dieny kwasu linolowego • CLA • nowotwory

Summary

Cancers are the second leading cause of deaths in Poland, among both women and men. Breast cancer is the malignancy most frequently diagnosed in women. In 2008 mammary cancer was diagnosed in up to 14 500 patients. It is also the second most common cause of cancer deaths among women in our country. Although the etiology of most cases of this disease is not known, risk factors include a variety of nutritional factors. The amount of fat consumed in the diet and the quantity and quality of fatty acids are especially crucial. Among fatty acids to which great importance in modification of cancer risk is attributed are conjugated linoleic acid. Conjugated linoleic acids (CLA) are a group of positional and geometric isomers of linoleic acid, with a conjugated double bond system in the carbon chain. The main natural source of them is milk and dairy products and meat of different species of ruminants, in which *cis*-9, *trans*-11 octadecadienoic acid (rumenic acid) occurs in the largest quantities, constituting over 90% of the total pool of CLA. Another important isomer is *trans*-10, *cis*-12 octadecadienoic acid, which occurs with rumenic acid in dietary supplements, usually in the ratio 1:1. Surveys conducted show their possible



health promoting effects in obesity, atherosclerosis, cardiovascular diseases, osteoporosis, diabetes, insulin resistance, inflammation, and various types of cancer, especially breast cancer.

Key words: conjugated linoleic acids • CLA • cancers

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1028764>

Word count: 4787

Tables: –

Figures: –

References: 67

Adres autorki: dr Agnieszka Białek, Zakład Bromatologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. S. Banacha 1, 02-097 Warszawa; e-mail: agnieszka.bialek@wum.edu.pl

Wykaz skrótów: **CLA** – sprężony kwas linolowy (conjugated linoleic acid); **COX-2** – cyklooksygenaza 2; **DMBA** – 7,12-dimetylobenz[*a*]antracen; **ER** – receptor estrogenowy; **ERE ν** – kanoniczny element odpowiedzi estrogenowej; **FLAP** – białko aktywujące 5-LOX; **5-HETE** – kwas 15-hydroksyeikozatetraenowy; **13-HODE** – kwas 13-hydroksyoktadekadienowy; **5-LOX** – 5-lipoksygenaza; **LTB $_4$** – leukotrien B $_4$; **MNU** – metylnitrozomocznik (methylnitrosourea); **NF- κ B** – jądrowy czynnik κ B (nuclear factor κ B); **PGE $_2$** – prostaglandyna E $_2$; **PPAR** – receptory aktywowane proliferatorami peroksyosomów (peroxisome proliferator-activated receptors); **PUFA** – wielonienasycone kwasy tłuszczowe (polyunsaturated fatty acids); **TEB** – struktury kanalikowo-pęcherzykowe (terminal end buds); **TNF- α** – czynnik martwicy guza α (tumor necrosis factor); **VEGF** – czynnik wzrostu naczyń krwionośnych.

WPROWADZENIE

Pojęcie „nowotwór” odnosi się do ponad stu różnych chorób, których cechą wspólną jest niekontrolowany wzrost komórek, będący wynikiem zmian w materiale genetycznym. Szacuje się, że do 2030 r. liczba zachorowań na nowotwory na świecie ulegnie podwojeniu. Rak piersi jest najczęstszym rodzajem choroby występującym u kobiet, zarówno w krajach rozwiniętych, jak i rozwijających się, w tym w Polsce [64] i trzecim co do częstości (po raku płuc, okrężnicy i odbyticy) w populacji globalnej. Częstość jego występowania wzrasta w większości krajów na świecie [65]. W 2008 r. rozpoznano go u 14500 pacjentek w naszym kraju [64]. Jest on także drugą wśród kobiet, a szóstą w populacji ogólnej najczęstszą przyczyną zgonów z powodu raka [65, 67].

Etiologia większości przypadków raka piersi jest nieznaną [67]. Wśród czynników ryzyka o udokumentowanym znaczeniu do wystąpienia raka piersi wymienia się w pierwszej kolejności liczne czynniki reprodukcyjne, takie jak: wiek wystąpienia pierwszej miesiączki, urodzenie dziecka, wiek urodzenia dziecka i karmienie piersią. Ryzyko zachorowania spada o 5% z każdym rokiem późniejszego wystąpienia pierwszej menstruacji. Podobnie obserwowane jest prawie 25% zmniejszenie ryzyka wystąpienia tego nowotworu u kobiet, które przeszły minimum jedną pełną ciążę, a które zmniejsza się z każdą kolejną donoszoną ciążą. Dodatkowo działanie ochronne jest tym większe, im wcześniej kobieta urodziła pierwsze dziecko. Wyraźny ochronny efekt, także skorelowany z wiekiem, obserwowany jest u kobiet karmiących piersią. Jest on znacznie większy u młodszych kobiet. Ponadto ryzyko raka piersi jest prawie

o 25% większe u kobiet stosujących doustne środki antykoncepcyjne, choć obserwuje się spadek tego ryzyka po zaprzestaniu stosowania wspomnianych środków. Badania epidemiologiczne wskazują także na główną rolę czynników hormonalnych wśród czynników ryzyka raka piersi. Wykazano wyraźną dodatnią korelację między wysokimi poziomami estradiolu a zwiększonym ryzykiem raka piersi. Kobiety po menopauzie, u których występuje duże stężenie estradiolu w surowicy, są dwukrotnie bardziej narażone na wystąpienie raka piersi w porównaniu do kobiet z notowanymi niskimi poziomami tego hormonu w surowicy. Podobnie kobiety stosujące hormonalną terapię zastępczą są w grupie zwiększonego ryzyka wystąpienia tego typu nowotworu w porównaniu do kobiet niestosujących takiej terapii. Zapadalność na raka piersi wyraźnie wzrasta także z wiekiem w okresie rozrodczym i nieco wolniej, lecz wciąż w okresie pomenopauzalnym [29].

W opublikowanym w 1981 r. artykule przeglądowym dotyczącym zależności między dietą a śmiertelnością z powodu raka zasugerowano, że około 1/3 przypadków raka jest powiązana z czynnikami dietetycznymi [11]. Prowadzone od tego czasu badania wykazują, że mimo iż odsetek ten może być nieco niższy, jednak wpływ sposobu żywienia, a także poszczególnych składników odżywczych i nieodżywczych, w powstawaniu rozwoju oraz w prewencji licznych nowotworów jest znaczący. Wśród czynników żywieniowych o udokumentowanym znaczeniu można wymienić otyłość i spożycie alkoholu. Otyłość zwiększa prawie o 50% ryzyko wystąpienia raka piersi u kobiet po menopauzie. Jest to związane prawdopodobnie z wyższymi stężeniami wolnego estradiolu oznaczanymi w surowicy krwi kobiet otyłych. Choć nie stwierdzono takiej zależności u kobiet przed

klimakterium, jednak otyłość w młodszym wieku często jest powiązana z otyłością w latach późniejszych, przez co pośrednio także przyczynia się do wystąpienia tego typu nowotworów. Wyniki licznych badań wiążą ponadto zwiększone ryzyko tej choroby ze zwiększonym spożyciem alkoholu. Spożycie dziennie jednego drinka zawierającego alkohol zwiększa średnio o 7% szansę wystąpienia nowotworu piersi [28]. Szacuje się, że alkohol jest przyczyną prawie 4% przypadków tych nowotworów u kobiet w krajach rozwiniętych [14]. Co więcej, wyraźny niekorzystny wpływ spożycia etanolu na ryzyko nowotworu piersi obserwowany jest zwłaszcza u kobiet po klimakterium, których dieta jest ponadto uboga w foliany, warzywa o dużej zawartości karotenoidów oraz warzywa zielone [16].

Wiele spośród wymienionych czynników zwiększających ryzyko wystąpienia raka piersi nie może zostać zmienionych, jednak na wiele spośród nich można wyraźnie wpływać np. poprzez zmianę przyzwyczajzeń, modelu życia czy sposobu żywienia. Wielkie nadzieje wiąże się z czynnikami dotyczącymi sposobu żywienia [29], dlatego wciąż prowadzone są badania m.in. nad wpływem składników żywności na powstawanie i rozwój nowotworów. Substancje odżywcze i inne składniki pokarmowe mogą wpływać hamująco na procesy prowadzące do rozwoju nowotworu, mogą także działać wspomagająco na ten proces przez bezpośredni wpływ na DNA, jak i poprzez zmianę przepływu informacji [65].

Naukowcy na podstawie badań od lat podkreślają znaczenie kwasów tłuszczowych w profilaktyce zachorowań na nowotwory. Szczególną rolę przywiązuje się zwłaszcza do ilości i jakości tłuszczu spożywanego w diecie, ponieważ stosunek ilościowy i jakościowy kwasów tłuszczowych przyjmowanych z pożywieniem w największym stopniu determinuje skład, a co za tym idzie także funkcje lipidów ustrojowych [7,51]. Wśród kwasów tłuszczowych, którym przypisywane jest duże znaczenie w procesie nowotworzenia wymieniane są m.in. sprzężone dieny kwasu linolowego.

SPRZĘŻONE DIENY KWASU LINOLEWEGO – CLA

Sprzężone dieny kwasu linolowego (CLA – conjugated linoleic acids) to grupa pozycyjnych i geometrycznych izomerów kwasu linolowego, zawierających w łańcuchu węglowym układ sprzężonych wiązań podwójnych. Mogą one mieć różne lokanty, mogą się także różnić konfiguracją, co sprawia, że teoretycznie możliwe jest istnienie 56 izomerów CLA [50].

Głównym naturalnym źródłem sprzężonych dienów kwasu linolowego są tkanki, zwłaszcza tłuszczowa, zwierząt przeżuwających, co sprawia, że głównym źródłem CLA w diecie jest mleko i produkty mleczarskie oraz mięso krów, owiec, kóz, ale także jeleni i saren. Wysokimi stężeniami tych związków charakteryzują się ponadto tkanki kangurów i walabii. CLA powstają w wyniku przemian wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, które stanowią istotny składnik pożywienia zarówno zwierząt przeżuwających, jak i torbaczy z rodziny kangurowatych. Kwasy te, zwłaszcza kwas linolowy i α -linolenowy, ulegają pod wpływem enzymów bakterii anaerobowych bytujących w żwaczu, zwłaszcza *Butyrivibrio fibrisolvens*, izomeryzacji i uwodornieniu. W wielu badaniach wykazano, że

również inne szczepy bakterii np. z rodzaju *Lactobacillus* czy *Bifidobacterium* są zdolne do syntezy różnych izomerów CLA [43,54]. Kwas *cis*-9, *trans*-11 oktadekadienowy (tzw. kwas żwaczowy), który występuje w tkankach zwierząt poligastycznych w największych ilościach spośród wszystkich izomerów CLA (stanowiąc ponad 90% całkowitej puli CLA [33]), powstaje w żwaczu jako produkt pośredni szlaku redukcji kwasu linolowego do kwasu stearynowego. Część powstającego kwasu żwaczowego nie ulega całkowitemu uwodornieniu, lecz jest wchłaniana z przewodu pokarmowego i z krwią jest transportowana do gruczołów sutkowych. Udział tej syntezy jest jednak znikomy. Liczne badania potwierdziły, że główne znaczenie w powstawaniu puli kwasu żwaczowego, obecnego w tkankach przeżuwaczy ma aktywność enzymu Δ^9 -desaturazy, dla którego substratem jest kwas *trans*-11 oktadekenowy (kwas wakcenyowy), powstający w wyniku przemian zarówno kwasu linolowego, jak i kwasu α -linolenowego zachodzących w żwaczu. Szybkość jego redukcji do kwasu stearynowego jest niewielka, co powoduje gromadzenie się tego związku w żwaczu, a następnie jego wchłaniania do krwiobiegu z przewodu pokarmowego. Dzięki działaniu enzymu Δ^9 -desaturazy do cząsteczki kwasu wakcenyowego zostaje wprowadzone drugie wiązanie podwójne w pozycję 9 [43,56]. Szlak endogennej syntezy jest źródłem 78% całkowitej puli kwasu żwaczowego występującego w tłuszczu mleka krów [10]. Podobna synteza kwasu *cis*-9, *trans*-11 oktadekadienowego została potwierdzona w organizmach innych ssaków, w tym ludzi. Podawanie zdrowym ochotnikom płci obojga zróżnicowanych dawek kwasu wakcenyowego prowadziło do zależnego od dawki wzrostu zawartości w surowicy kwasu żwaczowego [60]. Wysoką ekspresję genów kodujących ten enzym stwierdzono w wątrobie, trzustce i mózgu. Podanie znakowanego izotopem ^{13}C kwasu wakcenyowego kobietom w czasie trwania laktacji prowadziło do zwiększenia udziału kwasu żwaczowego w mleku, choć ta endogenna synteza była źródłem jedynie do 10% całkowitej ilości kwasu żwaczowego oznaczonej w mleku [41]. W wyniku działania izomeryzacji bakteryjnych mikroorganizmów bytujących w żwaczu powstają także, choć w znacznie mniejszych ilościach, inne izomery CLA, spośród których istotne znaczenie ma kwas *trans*-10, *cis*-12 oktadekadienowy. Produktem pośrednim w wyniku jego przemian do kwasu stearynowego w żwaczu jest kwas *trans*-10 oktadekenowy, jednak ze względu na brak w organizmach ssaków enzymu Δ^{12} -desaturazy, który mógłby wprowadzać wiązanie podwójne przy węglu C^{12} nie jest możliwa endogenna synteza izomeru *trans*-10, *cis*-12 CLA, podobnie jak w przypadku kwasu żwaczowego ani w organizmach przeżuwaczy, ani w organizmach zwierząt monogastycznych. Bakteryjna synteza w żwaczu stanowi zatem główne źródło tego izomeru w mleku zwierząt poligastycznych, podczas gdy np. dla ludzi jedynym jego źródłem jest dieta [48]. W skali przemysłowej izomery CLA są produkowane za pośrednictwem izomeryzacji kwasu linolowego, zawartego w olejach roślinnych, w środowisku alkalicznym i wysokiej temperaturze. W wyniku tego procesu powstaje zwykle mieszanina izomerów, wśród których w największych ilościach występują zwykle dwa: *cis*-9, *trans*-11 i *trans*-10, *cis*-12 w proporcji 1:1. Taki skład występuje w większości suplementów diety [55].

Porównanie zawartości kwasu żwaczowego w mleku różnych gatunków zwierząt i ludzi wykazało znacznie wyższą jego



zawartość w mleku zwierząt poligastrycznych, zwłaszcza owiec i krów oraz jej sezonowe wahania (z wyraźnym spadkiem w miesiącach zimowych) [53]. Interesującym jest jednak to, że mleko kobyce jest znacznie bogatsze w ten kwas, w porównaniu do mleka zwierząt monogastrycznych, a na jego poziom wyraźnie wpływa spożycie mleka i produktów mleczarskich [24]. Potwierdzono to w licznych badaniach, w których wprowadzenie do diety kobiet produktów mleczarskich o wyraźnie zwiększonej zawartości CLA, takich jak ser [49] czy masło [2] powodowało wyraźny wzrost zawartości kwasu żwaczowego w mleku i osoczu grup badanych. Także spożycie ciastek wzbogaconych o CLA powodowało znaczne zwiększenie stężenia tych związków w mleku [42]. W badaniach przeprowadzonych w Katedrze i Zakładzie Bromatologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego również potwierdzono korzystny wpływ spożycia mleka i jego przetworów na zawartość kwasu *cis*-9, *trans*-11 oktadecadienowego w mleku kobiecym, a także wskazano na inne czynniki żywieniowe i pozażywniowe, które mogą oddziaływać na zawartość tego związku [4,59]. W badaniach porównujących zawartość kwasu żwaczowego w próbkach mleka kobiecego i mleka modyfikowanego, zarówno początkowego jak i następnego, stwierdzono obecność tego kwasu we wszystkich próbkach mleka kobiecego i tylko w 31% próbek mleka modyfikowanego; co więcej w mleku naturalnym jego zawartość była istotnie wyższa [40].

WŁAŚCIWOŚCI ANTYNOWOTWOROWE CLA

Zainteresowanie sprężonymi dienami kwasu linolowego zostało zapoczątkowane na przełomie lat 70. i 80. XX wieku, a przyczynkiem do tego stały się wyniki uzyskane przez M. W. Pariza i wsp., którzy w 1979 r. w badaniach nad wpływem wysokich temperatur w obróbce termicznej mięsa na powstawanie czynników mutagennych i kancerogennych, odkryli w mięsie wołowym, zarówno poddawany jak i niepoddawany obróbce, występowanie czynników hamujących powstawanie mutacji u bakterii *Salmonella* Tiphimurium [46,47]. Dalsze prace wykazały, że za wywołanie tego efektu odpowiadają sprężone dieny kwasu linolowego – CLA [15]. Odkrycie to zapoczątkowało rozwój badań nad możliwymi rodzajami aktywności, efektami działania i zastosowaniem CLA w leczeniu i prewencji oraz nad mechanizmami leżącymi u podstaw działania tych związków. Niżej przedstawiono wybrane doniesienia dotyczące aktywności antynowotworowej tej grupy związków, ze zwróceniem szczególnej uwagi na wpływ CLA na rozwój nowotworu piersi.

W toku prowadzonych badań wykazano, że sprężone dieny kwasu linolowego wykazują właściwości przeciwnowotworowe w wielu typach nowotworów dotykających różnych organów. Pariza podsumowując lata własnych eksperymentów nad działaniem prozdrowotnym sprężonych dienów kwasu linolowego oraz wyniki uzyskane przez innych badaczy zasugerował, że wpływ CLA na rozwój nowotworów może się przejawiać w trojaki sposób:

- poprzez bezpośrednią ingerencję w proces karcynogenezy,
- pośrednio poprzez wpływ na zmniejszenie ilości tkanki tłuszczowej w organizmie oraz
- poprzez hamowanie kacheksji, która towarzyszy zaawansowanym stadium wielu chorób nowotworowych [48].

Szczególne znaczenie przypisuje się działaniu izomerów CLA w procesie nowotworowym przebiegającym w obrębie

gruczołów sutkowych. Gruczoł sutkowy jest złożonym tworem, zbudowanym ze struktur nabłonkowych osadzonych w macierzy, którą tworzą fibroblasty, adipocyty, naczynia krwionośne i limfatyczne oraz limfocyty [52]. CLA obecne w diecie hamują u szczurów rozwój i wzrost guzów sutka indukowanych chemicznie przez podanie DMBA czy MNU, a działanie to ujawnia się już przy ich bardzo niewielkim udziale w diecie, znacznie niższym niż w przypadku innych kwasów tłuszczowych, dla których również obserwowano podobne właściwości – PUFA. Z jednej strony kontakt z CLA przed inicjacją karcynogenezy, w okresie rozwoju gruczołu sutkowego, obniża podatność tej tkanki na indukcję transformacji nowotworowej. Z drugiej zaś ekspozycja na CLA po zadziałaniu czynnika inicjującego proces nowotworzenia znacząco obniża liczbę oraz wzrost guzów [5]. Efekt inhibicji jest proporcjonalny do zawartości CLA w diecie w zakresie do 1,0%, przy której to wartości osiąga maksimum, niezależnie od zastosowanego kancerogenu czy innych lipidów obecnych w diecie [18]. Nie zależy to od postaci, w jakiej izomery CLA są spożywane, choć przy zastosowaniu izomerów w postaci wolnych kwasów tłuszczowych ich zawartość w tkance gruczołowej była niższa [5].

Ip i wsp. wzbogacając dietę szczurów mieszaniną izomerów CLA w ilości 0,5, 1,0 i 1,5% obserwowali zmniejszenie liczby guzów sutka indukowanych poprzez podanie DMBA, zarówno złośliwych jak i łagodnych, w stopniu zależnym od dawki [19]. Co więcej, wykazali, że także niższe dawki CLA, w zakresie 0,1–0,5% wykazują znaczącą aktywność w tym kierunku. Ponadto obserwowali zmniejszenie efektywności chemicznej indukcji procesu nowotworowego u zwierząt, u których suplementacja diety 1,0% CLA prowadzona była jedynie przez krótki okres życia, w czasie dojrzewania gruczołów sutkowych, kiedy to dochodzi do intensywnych zmian morfologicznych w obrębie tkanki gruczołowej: zmniejsza się liczba struktur kanalikowo-pęcherzykowych (terminal end buds – TEB), a dochodzi do różnicowania ich w płaciki [21]. Stosowana suplementacja powoduje zmniejszenie o około 20% gęstości drzewa przewodowo-płacikowego [58]. Obserwowana jest także, zależna od dawki przyjmowanego CLA, redukcja ilości TEB, co jest o tyle istotne, że właśnie w tych miejscach dochodzi do indukcji gruczolakoraków w gruczołach sutkowych gryzoni [1]. Co więcej efektywność hamowania procesu nowotworowego przy tak prowadzonej suplementacji jest porównywalna z efektywnością osiąganą przy suplementacji prowadzonej przez 6 miesięcy [58].

W badaniach nad powstawaniem i rozwojem przerzutów u myszy, którym wszczepiono ludzkie komórki raka piersi, 1,0% dodatek CLA do diety hamował wzrost guza oraz rozprzestrzenianie się komórek nowotworowych do innych narządów. Nawet tak minimalne dawki, jak 0,1% udział CLA w diecie, w której udział tłuszczu stanowił 20% całkowitej wartości energetycznej, znacząco ograniczały okres latencji oraz zdolność do tworzenia przerzutów u myszy, którym wszczepiono komórki nowotworu sutka, co świadczy o unikalnych właściwościach tej grupy kwasów tłuszczowych. Może to być wynikiem m.in. hamowania przez CLA ekspresji cząsteczek adhezyjnych, które są odpowiedzialne za przytwierdzanie komórek nowotworowych, co ułatwia powstawanie przerzutów [61]. Efekt hamowania procesu nowotworowego obserwowany był zarówno przy 1,0%

udziale w diecie mieszaniny izomerów CLA, jak i przy zastosowaniu 1,0% dodatku kwasu żwaczowego, czy nawet kwasu *trans*-11 wakceniowego [5]. Analiza profilu kwasów tłuszczowych wykazała, że endogenna przemiana kwasu *trans*-11 wakceniowego do *cis*-9, *trans*-11 CLA powoduje zwiększoną kumulację tego związku w tkance tłuszczowej gruczołów sutkowych, a co za tym idzie także ich mniejszą podatność na indukowaną chemicznie kancerogenezę, co jest o tyle istotne, że kwas wakceniowy występuje w dużych ilościach w produktach żywnościowych pochodzących od zwierząt poligastycznych (zwłaszcza w mleku i jego przetworach), będących naturalnym składnikiem diety [9]. Przemiana ta z udziałem Δ^9 -desaturazy jest jedynym szlakiem warunkującym aktywność przeciwnowotworową kwasu wakceniowego [37].

Mimo iż większość nowotworów piersi jest zwykle pochodzenia nabłonkowego, składniki macierzy, poprzez swoje oddziaływanie, mogą wpływać promująco lub hamująco na rozwój procesu karcynogenezy. Sprzężone dieny kwasu linolowego są wbudowywane do lipidów w adipocytach, gdzie są gromadzone i w sposób pośredni mogą oddziaływać na rozwój procesu karcynogenezy, m.in. hamując różnicowanie komórek [22]. Wyraźne zmiany w strukturze gruczołów sutkowych zachodzą zwłaszcza w okresie ciąży i karmienia, choć liczne związki o właściwościach chemioprewencyjnych, w tym sprzężone dieny kwasu linolowego, także mogą prowadzić do zmian strukturalnych w obrębie tych gruczołów. Obserwowano, że wzbogacanie diety w kwas *trans*-10, *cis*-12 oktadekadienowy prowadzi, m.in. do zmniejszenia grubości warstwy istoty właściwej otaczającej przewody sutkowe, zwiększenia w niej liczby komórek tucznych oraz do odkładania kolagenu i białka, a także napływu eozynofili, neutrofilów i granulocytów w obrębie tkanki tłuszczowej, co może być przyczyną aktywacji fibroblastów, a w konsekwencji – fibrozy. Zmiany inicjowane przez izomer *trans*-10, *cis*-12 CLA przypominają zmiany pojawiające się w macierzy w czasie stanu zapalnego, co z kolei wymaga dalszych badań nad bezpieczeństwem stosowania tego związku, jako czynnika chemioprewencyjnego [52]. Jednocześnie jednak dla obydwu izomerów CLA wykazano zdolność hamowania angiogenezy na kilku poziomach, m.in. przez zmniejszenie poziomu czynnika wzrostu naczyń (VEGF) w surowicy oraz w obrębie gruczołów sutkowych, a także przez hamowanie ekspresji jego receptora (flk-1) w sutkach, co prowadzi do zahamowania powstawania sieci naczyń krwionośnych, które są konieczne do odżywiania guza. Jednocześnie może to pośrednio ograniczać zdolność tworzenia przerzutów [39].

Receptory jądrowe stanowią grupę wewnątrzkomórkowych czynników transkrypcyjnych, które wpływają na ekspresję licznych genów regulujących m.in. metabolizm kwasów tłuszczowych, detoksykację ksenobiotyków czy procesy reprodukcji. Liczne doniesienia wskazują ostatnio na znaczenie wszystkich podtypów receptorów PPAR w procesie karcynogenezy. Aktywatory PPAR α mogą działać chemioprewencyjnie w raku skóry, mogą także hamować wzrost linii komórkowych raka okrężnicy, endometrium czy piersi, a także hamować zdolność tworzenia przerzutów przez komórki czerniaka. Ligandy selektywne dla PPAR δ mogą działać promująco w procesie karcynogenezy, podczas gdy antagoniści tego receptora zdają się działać prewencyjnie. Z wielu doniesień wynika, że ligandy podtypu

PPAR γ mogą indukować różnicowanie komórek nowotworowych oraz stymulować proces apoptozy, a także hamować proliferację komórek raka okrężnicy, piersi, żołądka czy pęcherza [66]. Wśród efektów wywieranych przez ten podtyp receptorów można wymienić także zmiany w ekspresji genów BAX i BCL-2 oraz pobudzanie inhibitorów kinaz zależnych od cyklin, obserwowane m.in. w komórkach raka piersi linii MCF-7 [6]. Proponowane mechanizmy działania ligandów PPAR γ obejmują także interakcje w szlak Wnt oraz hamowanie jądrowego czynnika κ B (NF- κ B) [66]. Naturalne ligandy tego receptora, takie jak kwasy tłuszczowe pochodzące z diety, wpływają na strukturę cytoszkieletu oraz indukują śmierć komórki w procesie apoptozy. Ich efekt prewencyjny w kierunku raka okrężnicy i raka piersi uwidocznił się także w badaniach *in vivo* [6]. Wśród ligandów i aktywatorów PPAR γ wymienia się także CLA, zwłaszcza zaś izomer *cis*-9, *trans*-11. Wykazano, że pod wpływem działania tego kwasu dochodzi do zahamowania proliferacji komórek raka okrężnicy zależnie od aktywacji tego podtypu receptorów PPAR [66].

NF- κ B jest czynnikiem transkrypcyjnym odgrywającym główną rolę m.in. w odpowiedzi komórki na stan zapalny, jednak jego dużą aktywność stwierdzono także w wielu typach nowotworów. Cyklooksigenaza 2 (COX-2) jest indukowana w wyniku aktywacji zależnie od NF- κ B. W stanie braku stymulacji czynnik ten znajduje się w cytoplazmie w postaci nieaktywnej, tworząc kompleks z inhibitorem. Uwolniony poprzez działanie kinazy I κ B NF- κ B migruje do jądra komórkowego, gdzie reguluje ekspresję licznych genów odpowiedzialnych m.in. za promocję i progresję nowotworu, takich jak: kodujące czynniki wzrostu, regulatory cyklu komórkowego, białka antyapoptotyczne, czynniki angiogenezy czy molekuly adhezyjne. Duża aktywność NF- κ B w raku piersi powiązana jest z nieobecnością receptorów estrogenowych (ER) oraz z opornością na stosowane terapie: chemioterapię, radioterapię czy terapię z zastosowaniem przeciwciał. Nadekspresja onkogenu HER2, która występuje u 25–30% przypadków raka piersi u ludzi, często towarzyszy oporności nowotworów na terapie hormonalne, która jest wynikiem nieobecności receptorów estrogenowych. Aktywność NF- κ B i nadekspresja HER2 w raku piersi są ze sobą ściśle powiązane, co dało początek hipotezie o możliwości hamowania przez *trans*-10, *cis*-12 CLA ekspresji HER2 poprzez wpływ na szlak sygnałowy regulowany przez NF- κ B. Wykazano, że ten izomer CLA wyraźnie hamuje ekspresję białka HER2 w komórkach SKBr3, czego nie wykazano dla kwasu żwaczowego oraz hamuje stężenie jądrowego białka NF- κ B p65. Stwierdzono ponadto, że redukcja ekspresji HER2 powiązana jest także ze zmniejszeniem syntezy PGE $_2$, jako wyniku zahamowania aktywności COX-2. Co więcej traktowanie komórek SKBr3 izomerem *trans*-10, *cis*-12 CLA uwarżliwiało je na indukowaną TNF- α apoptozę oraz na antyproliferacyjne działanie transzumabu [13]. Jednakże inne badania wskazują na potencjalne niebezpieczeństwo stosowania tego izomeru CLA, gdyż stymulował on rozwój nowotworów piersi oraz powstawanie przerzutów do płuc u myszy, kiedy otrzymywały one dietę wzbogaconą w ten izomer, niezależnie od wieku, w którym prowadzona była suplementacja. Powodował on także zwiększoną proliferację komórek nabłonkowych oraz zwiększał ilość TEBs, co świadczy o większej podatności na proces nowotworzenia. Co więcej, efekt ten był wyraźny nie tylko



u zwierząt z nadekspresją genu *erbB2/her2*, ale także z fenotypem dzikim [23].

Na poziomie komórkowym CLA wykazuje działanie przeciwnowotworowe przez indukowanie procesu apoptozy. Wykazano to m.in. na liniach szczurzych komórek raka sutka oraz w badaniach na zwierzętach, w których izomery CLA indukowały apoptozę w gruczołach sutkowych w miejscach uszkodzeń poprzedzających zezłośliwienie, podczas gdy niezmiennione komórki pęcherzyków czy TEB nie były wrażliwe na taką stymulację. Wykazano ponadto, że izomery CLA wywołują w komórce zmiany morfologiczne, charakterystyczne dla tego procesu, takie jak: kondensacja chromatyny czy fragmentacja DNA. Co więcej skuteczność działania mieszaniny izomerów jest większa niż pojedynczego kwasu tłuszczowego, co wskazuje na znaczenie izomeru *trans*-10, *cis*-12 CLA w aktywacji tego procesu [20]. Apoptoza może być głównym mechanizmem warunkującym jego chemioprewencyjne działanie [45]. Proces programowanej śmierci komórki zależy w dużym stopniu od aktywności kaspaz, które syntetyzowane w postaci nieaktywnej, ulegają aktywacji, polegającej na przecięciu łańcucha białkowego przez odpowiednie proteazy, po otrzymaniu przez komórkę sygnału zapoczątkującego proces śmierci komórki. Jeden ze szlaków prowadzących do apoptozy – szlak mitochondrialny – rozpoczyna się od uwolnienia z tych organelli komórkowych cytochromu c, który wraz z innymi składnikami, takimi jak: dATP, Apaf-1 i prokaspaza 9 tworzy strukturę kompleksową, tzw. apoptosom. Aktywacja kaspazy 9 inicjuje całą kaskadę przemian prowadzących w konsekwencji do apoptozy. Uwalnianie cytochromu c z mitochondriów jest kontrolowane przez rodzinę białek Bcl-2. Białka Bak i Bax, o aktywności proapoptotycznej, ułatwiają przechodzenie cytochromu c z mitochondriów do cytosolu, podczas gdy białka Bcl-2 i Bcl-XL, hamują tworzenie kanałów transbłonowych i w konsekwencji hamują proces apoptozy. W badaniach *in vitro* prowadzonych na linii komórkowej TM4t mysich komórek raka sutka wykazano, że izomer *trans*-10, *cis*-12 CLA indukuje proces apoptozy w stopniu zależnym od dawki. Mechanizm tego działania polega na aktywacji mitochondrialnego szlaku apoptozy, co potwierdza obserwowane zwiększone uwalnianie cytochromu c do cytosolu oraz aktywacja kaspazy 9. Jest to wynikiem zahamowania ekspresji białka Bcl-2 w zewnętrznej błonie mitochondrialnej, które obserwowano po poddaniu komórek TM4t działaniu kwasu *trans*-10, *cis*-12 oktadekadienowego. Obserwowano także, że ten izomer CLA powoduje zahamowanie cyklu komórkowego w fazie G1, jednak nie było to tak wyraźne [44]. Innym mechanizmem, poprzez który CLA może wprowadzać komórkę na szlak apoptozy jest oddziaływanie na retikulum endoplazmatyczne, gdyż wykazano, że długotrwały, ostry stres w obrębie tej struktury komórkowej indukuje śmierć komórki zależnie m.in. od kaspazy 12. W badaniach na liniach mysiego nowotworu sutka kwas *trans*-10, *cis*-12 oktadekadienowy okazał się efektywnym czynnikiem indukującym programową śmierć komórek preneoplastycznych i neoplastycznych (podczas gdy komórki niezmiennione nowotworowo były odporne na to działanie) oraz zmiany morfologiczne w obrębie retikulum endoplazmatycznego. Wykazano, że ten izomer wywołuje ponadto zwiększoną ekspresję proapoptotycznego czynnika transkrypcyjnego CHOP oraz aktywację kaspazy 12 – enzymu obecnego w zewnętrznej błonie retikulum,

który odgrywa znaczącą rolę w indukcji apoptozy [45]. Inna grupa badaczy, na podstawie własnych wyników badań uważa, że najefektywniejszym czynnikiem wpływającym na procesy proliferacji i apoptozy ludzkich komórek raka sutka jest równomolowa mieszanina izomerów CLA – *cis*-9, *trans*-11 i *trans*-10, *cis*-12. Wykazali oni, że izomery CLA mogą wpływać na ekspresję licznych protoonkogenów ważnych z punktu widzenia przetrwania czy śmierci komórki nowotworowej. W komórkach linii MCF-7, zawierających receptory estrogenowe, CLA powoduje zahamowanie ekspresji na poziomie mRNA i białka onkogenu bcl-2 o działaniu antyapoptotycznym oraz wzmożoną ekspresję genów *p53* i *p21/WAF1/CIP1* o działaniu antyproliferacyjnym i proapoptotycznym. W komórkach linii MDA-MB-231, które nie zawierają receptorów estrogenowych, obserwuje się mutację w genie *p53*, która zmienia jego aktywność na antyapoptotyczną. Izomery CLA powodują zahamowanie ekspresji białka kodowanego przez ten gen, a co za tym idzie hamują niekorzystny efekt mutacji. Co więcej, wpływają pozytywnie na ekspresję białek Bax i Bcl-Xs, których zwiększony poziom skutecznie przeciwdziała zwiększonej ekspresji antyapoptotycznego bcl-2. Uzyskane wyniki potwierdzają efektywność i różnorodność mechanizmów oddziaływania sprzężonych dieny kwasu linolowego w nowotworze sutka [38].

Przechodzenie komórki do kolejnej fazy cyklu komórkowego jest kontrolowane przez cykliny i kinazy zależne od cyklin, które stanowią mechanizm regulujący postęp cyklu komórkowego. Wejście komórki w cykl replikacji wymaga stymulacji owych cząsteczek regulatorowych poprzez swoiste czynniki, takie jak: czynniki wzrostu, hormony czy cytokiny, podczas gdy komórki nowotworowe często przechodzą przez wiele cykli komórkowych mnożąc się, bez uprzedniego zadziałania żadnego z czynników aktywujących. Ingerując w cykl komórkowy można wpływać na replikację komórki, a przez to na zahamowanie wzrostu guza nowotworowego [12]. Traktowanie komórek ludzkiego nowotworu sutka linii MCF-7 mieszaniną izomerów CLA prowadziło do zatrzymania ich w fazie G0/G1. Dodatkowo obserwowano nagromadzenie w nich białek p53, p21 i p27, co z kolei było przyczyną zmniejszenia poziomów cyklin D1 i E, koniecznych do przejścia komórki z fazy G1 do S. Prowadziło to w konsekwencji do zahamowania proliferacji komórek nowotworowych [27]. Ip i wsp. wskazali na szczególne znaczenie kwasu tłuszczowego, który hamuje ekspresję cyklin D i A w komórkach nabłonka gruczołów sutkowych, zwłaszcza TEB [12]. Koronowicz i wsp. także obserwowali hamowanie proliferacji komórek raka piersi linii MCF-7 pod wpływem lipidów żółtka jaja z wbudowanymi CLA [32]. W badaniach porównawczych wykazano, iż zarówno mieszanina, jak i pojedyncze izomery, mogą hamować proliferację komórek ludzkiego raka sutka, to jednak ich mechanizmy działania są inne i nie występuje efekt synergizmu [8].

Niezwykle interesującym kierunkiem badań dotyczących potencjalnego mechanizmu działania CLA są próby określenia jego aktywności antyestrogennej, gdyż prawie 75% przypadków raka sutka diagnozowanego u ludzi to nowotwory, w których występują receptory estrogenowe α [63]. Wykorzystywane są w nich linie komórkowe ludzkiego raka sutka MCF-7, które mają te receptory jądrowe. Wykazano, że różne izomery CLA z różną aktywnością hamują wzrost

tych komórek rakowych. Co więcej, wykazano, że już na poziomie mRNA hamują one ekspresję tych receptorów, a także zdolność wiązania jądrowego białek z kanonicznym elementem odpowiedzi estrogenowej EREv, przez co dochodzi do inhibicji wielu genów regulowanych w tym szlaku [57]. U podłoża owego hamowania wiązania ER α -EREv leży wpływ CLA na fosforylację receptora, gdyż wykazano, że hamuje on fosforylację ER α poprzez stymulację aktywności fosfatazy [36]. Co więcej, wpływ CLA, a zwłaszcza izomeru *trans*-10, *cis*-12 na receptory ER jest jednym ze sposobów stymulowania przez ten związek procesu apoptozy w komórkach nowotworowych [63].

Jednym ze sposobów w jaki kwasy tłuszczowe mogą wpływać na proces proliferacji i apoptozy komórek jest wpływ na powstawanie i metabolizm eikozanoidów, poprzez zmianę dostępności substratów oraz wpływ na aktywność podstawowych enzymów: cyklooksygenaz i lipooksygenaz. Głównym substratem dla obydwu rodzin enzymów jest kwas arachidonowy, który ulega przekształceniom do eikozanoidów o dużej i zróżnicowanej aktywności biologicznej [25]. Wiele badań wskazuje, że izomery CLA wpływają na profil kwasów tłuszczowych w tkankach i w ten sposób zmieniają dostępność kwasu arachidonowego dla enzymów. Kwas żwaczowy w komórkach ludzkiego raka sutka MCF-7 ogranicza w budowywanie kwasu arachidonowego do fosfatydylocholino, zwiększa zaś jego zawartość w fosfatydyloetanoloaminie [26]. Izomer *trans*-10, *cis*-12 zmienia natomiast udział kilku kwasów tłuszczowych, w tym kwasu arachidonowego w tkance tłuszczowej piersi oraz hamuje ekspresję desaturazy stearoilo-Co A, przez co także zmienia dostępność substratów dla lipooksygenaz i cyklooksygenaz [30]. Cyklooksygenaza 2 (COX-2) jest enzymem, którego pobudzona aktywność jest związana z odpowiedzią organizmu w stanie zapalnym, a także jest wynikiem działania licznych bodźców, takich jak: cytokiny, czynniki wzrostu, onkogeny [17]. Nadekspresję COX-2 stwierdza się także prawie w 40% przypadków nowotworów piersi u ludzi, przedinwazyjnych miejscach uszkodzeń w obrębie przewodów oraz w nowotworach sutka u zwierząt doświadczalnych, co z kolei prowadzi do zwiększonych poziomów PGE₂ w tkankach nowotworowych. Liczne badania wskazują na możliwe działanie ochronne inhibitorów COX, zarówno nioselektywnych, jak i selektywnie skierowanych przeciwko COX-2, w licznych typach nowotworów, zwłaszcza jelita grubego, płuc, układu moczowo-płciowego i sutka [17,62]. Większość badań wskazuje, że izomer *cis*-9, *trans*-11 CLA szczególnie silnie hamuje ekspresję COX-2 [26]. W części badań wykazano jednak, że obydwa główne izomery CLA: *cis*-9, *trans*-11 i *trans*-10, *cis*-12, aktywnie hamują ekspresję COX-2 w komórkach złośliwego raka sutka oraz obniżają ekspresję receptora EP2 dla PGE₂, zarówno w komórkach nowotworowych, jak i w komórkach macierzy, jednak aktywność obydwu tych izomerów jest nieco zróżnicowana w zależności od rodzaju komórki [62].

Wykazano, że izomery CLA wpływają także na szlak przemian katalizowanych przez lipooksygenazy, a przez to także na możliwość wzrostu komórek rakowych, w tym raka sutka. Kim i wsp. wykazali, że kwas *trans*-10, *cis*-12 oktadekadienowy hamuje powstawanie kwasu 5-hydroksyeikozatetraenowego (5-HETE), produktu działania jednej z izoform – 5-lipooksygenazy (5-LOX), co z kolei działa

hamująco na proliferację oraz stymulująco na apoptozę komórek nowotworowych. Działanie kwasu *cis*-9, *trans*-11 oktadekadienowego, mimo wyraźnego określonego kierunku, przebiega jednak w wyniku innego mechanizmu komórkowego [30]. Wykazano bowiem, że obydwa główne izomery CLA konkurują z kwasem arachidonowym jako potencjalne substraty dla 5-LOX i w ten sposób prowadzą do zmniejszenia wytwarzania 5-HETE. Co więcej, izomer *trans*-10, *cis*-12 hamuje na poziomie mRNA ekspresję białka aktywującego 5-LOX (FLAP) przez co, mimo iż nie wpływa bezpośrednio na ekspresję 5-LOX, obniża syntezę 5-HETE. Ogranicza także powstawanie innych produktów działania lipooksygenaz, takich jak: kwas 13-hydroksyoktadekadienowy (13-HODE) czy leukotrien B₄ (LTB₄) [31].

Ponieważ głównym źródłem sprzężonych dienów kwasu linolowego w diecie jest mleko, jego przetwory i mięso przeżuwaczy, wielu badaczy pokusiło się o poszukanie zależności między spożyciem tych produktów a ryzykiem wystąpienia nowotworu piersi. Niestety uzyskiwane wyniki nie były jednoznaczne: od wykazania zwiększenia ryzyka raka piersi przy dużym spożyciu produktów mlecznych, poprzez stwierdzenie braku jakiegokolwiek zależności między badanymi zmiennymi, aż po sugerowanie działania ochronnego tej grupy produktów spożywczych [3,61]. Na przykład prospektywne badania w Szwecji nie wykazały ochronnego działania sprzężonych dienów kwasu linolowego na wystąpienie raka piersi u kobiet [35], choć jednocześnie obserwowano zmniejszone ryzyko zachorowania na raka okrężnicy u kobiet spożywających produkty mleczne bogate w tłuszcz i których dieta była zasobna w CLA [34]. Według autorów może być to wynikiem niewielkiego pobrania CLA z dietą [34], około 0,12–0,2 g/dzień, co jest wartością znacznie mniejszą od osiąganego w badaniach na modelach zwierzęcych, a to nie wystarczy do uzyskania działania ochronnego przed nowotworem piersi. Oznaczenie zawartości CLA w tkance tłuszczowej pobranej z piersi pacjentek ze złośliwym lub łagodnym nowotworem sutka wykazało, że głównym izomerem był kwas *cis*-9, *trans*-11 oktadekadienowy, stanowiący około 0,43% wszystkich kwasów tłuszczowych, choć jednocześnie nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic między tymi grupami [5]. Co więcej, nie znaleziono żadnej zależności między poziomami CLA w białej tkance tłuszczowej piersi a parametrami prognostycznymi, takimi jak: wielkość guza, stan węzłów chłonnych, indeks mitotyczny, wynik badania histopatologicznego, ekspresja receptorów estrogenowych i progesteronowych, mogącymi świadczyć o zdolności do tworzenia przerzutów, ryzyku wznowy czy śmierci [5].

PODSUMOWANIE

Aktywność antynowotworowa sprzężonych dienów kwasu linolowego w kierunku nowotworów sutka może być wielokierunkowa i wynikać z różnorodnych mechanizmów. Występowanie tych związków jako naturalnych składników żywności oraz poszukiwania efektywnych sposobów zwiększania ich zawartości w produktach spożywczych pociągają za sobą konieczność dalszych badań nad mechanizmami ich działania. Zapewnienie ich odpowiedniej podaży w diecie może się przyczynić do zmniejszenia ryzyka występowania raka sutka, co w perspektywie globalnej ma niebagatelne znaczenie.



PIŚMIENNICTWO

- [1] Banni S., Angioni E., Casu V., Melis M.P., Carta G., Corongiu F.P., Thompson H., Ip C.: Decrease in linoleic acid metabolites as a potential mechanism in cancer risk reduction by conjugated linoleic acid. *Carcinogenesis*, 1999; 20: 1019–1024
- [2] Bertschi I., Collomb M., Rist L., Eberhard P., Sieber R., Bütikofer U., Wechsler D., Folkers G., von Mandach U.: Maternal dietary Alpine butter intake affects human milk: fatty acids and conjugated linoleic acid isomers. *Lipids*, 2005; 40: 581–587
- [3] Bhattacharya A., Banu J., Rahman M., Causey J., Fernandes G.: Biological effects of conjugated linoleic acids in health and disease. *J. Nutr. Biochem.*, 2006; 17: 789–810
- [4] Białek A., Tokarz A., Romanowicz M.: The impact of selected nutritional factors on *cis-9, trans-11* octadecadienoate content in milk of breastfeeding women. Part I. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 2011; 92: 840–843
- [5] Bougnoux P., Hajjaji N., Maheo K., Couet C., Chevalier S.: Fatty acids and breast cancer: sensitization to treatments and prevention of metastatic re-growth. *Prog. Lipid Res.*, 2010; 49: 76–86
- [6] Campbell M.J., Carlberg C., Koefler H.P.: A role for the PPAR γ in cancer therapy. *PPAR Res.*, 2008; 2008: 314974
- [7] Carroll K.K.: Dietary fats and cancer. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1991; 53(Suppl. 4): 1064S–1067S
- [8] Chujo H., Yamasaki M., Nou S., Koyanagi N., Tachibana H., Yamada K.: Effect of conjugated linoleic acid on growth factor-induced proliferation of human breast cancer cells. *Cancer Lett.*, 2003; 202: 81–87
- [9] Corl B.A., Barbano D.M., Bauman D.E., Ip C.: *Cis-9, trans-11* CLA derived endogenously from *trans-11* 18:1 reduces cancer risk in rats. *J. Nutr.*, 2003; 133: 2893–2900
- [10] Corl B.A., Baumgard L.H., Dwyer D.A., Griinari J.M., Phillips B.S., Bauman D.E.: The role of Δ^9 -desaturase in the production of *cis-9, trans-11* CLA. *J. Nutr. Biochem.*, 2001; 12: 622–630
- [11] Doll R., Peto R.: The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1981; 66: 1191–1308
- [12] Field C.J., Schley P.D.: Evidence for potential mechanisms for the effect of conjugated linoleic acid on tumor metabolism and immune function: lessons from n-3 fatty acids. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2004; 79(Suppl.6): 1190S–1198S
- [13] Flowers M., Thompson P.A.: t10c12 conjugated linoleic acid suppresses HER2 protein and enhances apoptosis in SKBr3 breast cancer cells: possible role of COX2. *PLoS One*, 2009; 4: e5342
- [14] Gonzalez C.A.: Nutrition and cancer: the current epidemiological evidence. *Br. J. Nutr.*, 2006; 96(Suppl.1): S42–S45
- [15] Ha Y.L., Grimm N.K., Pariza M.W.: Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis*, 1987; 8: 1881–1887
- [16] Hanf V., Gonder U.: Nutrition and primary prevention of breast cancer: foods, nutrients and breast cancer risk. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 2005; 123: 139–149
- [17] Howe L.R.: Inflammation and breast cancer. Cyclooxygenase/prostaglandin signaling and breast cancer. *Breast Cancer Res.*, 2007; 9: 210
- [18] Ip C., Briggs S.P., Haeghele A.D., Thompson H.J., Storkson J., Scimeca J.A.: The efficacy of conjugated linoleic acid in mammary cancer prevention is independent of the level or type of fat in the diet. *Carcinogenesis*, 1996; 17: 1045–1050
- [19] Ip C., Chin S.F., Scimeca J.A., Pariza M.W.: Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivative of linoleic acid. *Cancer Res.*, 1991; 51: 6118–6124
- [20] Ip C., Ip M.M., Loftus T., Shoemaker S., Shea-Eaton W.: Induction of apoptosis by conjugated linoleic acid in cultured mammary tumor cells and premalignant lesions of the rat mammary gland. *Cancer Epidem. Biomarkers Prev.*, 2000; 9: 689–696
- [21] Ip C., Singh M., Thompson H.J., Scimeca J.A.: Conjugated linoleic acid suppresses mammary carcinogenesis and proliferative activity of the mammary gland in the rat. *Cancer Res.*, 1994; 54: 1212–1215
- [22] Ip M.M., Masso-Welch P.A., Ip C.: Prevention of mammary cancer with conjugated linoleic acid: role of the stroma and the epithelium. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, 2003; 8: 103–118
- [23] Ip M.M., McGee S.O., Masso-Welch P.A., Ip C., Meng X., Ou L., Shoemaker S.: The t10,c12 isomer of conjugated linoleic acid stimulates mammary tumorigenesis in transgenic mice over-expressing erbB2 in the mammary epithelium. *Carcinogenesis*, 2007; 28: 1269–1276
- [24] Jahreis G., Fritsche J., Möckel P., Schöne F., Möller U., Steinhart H.: The potential anticarcinogenic conjugated linoleic acid, *cis-9, trans-11* C18:2, in milk of different species: cow, goat, ewe, sow, mare, woman. *Nutr. Res.*, 1999; 19: 1541–1549
- [25] Jelińska M.: Kwasy tłuszczowe – czynniki modyfikujące procesy nowotworowe. *Biul. Wydz. Farm. AMW (obecnie WUM)*, 2005; 1
- [26] Kelley N.S., Hubbard N.E., Erickson K.L.: Conjugated linoleic acid isomers and cancer. *J. Nutr.*, 2007; 137: 2599–2607
- [27] Kemp M.Q., Jeffy B.D., Romagnolo D.F.: Conjugated linoleic acid inhibits cell proliferation through a p53-dependent mechanism: effects on the expression of G1-restriction points in breast and colon cancer cells. *J. Nutr.*, 2003; 133: 3670–3677
- [28] Key T.J., Schatzkin A., Willett W.C., Allen N.E., Spencer E.A., Travis R.C.: Diet, nutrition and the prevention of cancer. *Public Health Nutr.*, 2004; 7: 187–200
- [29] Key T.J., Verkasalo P.K., Banks E.: Epidemiology of breast cancer. *Lancet Oncol.*, 2001; 2: 133–140
- [30] Kim J.H., Hubbard N.E., Ziboh V., Erickson K.L.: Conjugated linoleic acid reduction of murine mammary tumor cell growth through 5-hydroxyeicosatetraenoic acid. *Biochim. Biophys. Acta*, 2005; 1687: 103–109
- [31] Kim J.H., Hubbard N.E., Ziboh V., Erickson K.L.: Attenuation of breast tumor cell growth by conjugated linoleic acid via inhibition of 5-lipoxygenase activating protein. *Biochim. Biophys. Acta*, 2005; 1736: 244–250
- [32] Koronowicz A., Dulińska-Litewka J., Pisulewski P., Laidler P.: Wpływ lipidów żółtka jaja kurzego wzbogaconego w izomery sprzężonego kwasu linolowego na proliferację komórek MCF-7. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009; 16: 55–61
- [33] Kramer J.K., Parodi P.W., Jensen R.G., Mossoba M.M., Yurawecz M.P., Adlof R.O.: Rumenic acid: a proposed common name for the major conjugated linoleic acid isomer found in natural products. *Lipids*, 1998; 33: 835
- [34] Larsson S.C., Bergkvist L., Wolk A.: High-fat dairy food and conjugated linoleic acid intakes in relation to colorectal cancer incidence in the Swedish Mammography Cohort. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2005; 82: 894–900
- [35] Larsson S.C., Bergkvist L., Wolk A.: Conjugated linoleic acid intake and breast cancer risk in a prospective cohort of Swedish women. *Am. J. Clin. Nutr.* 2009; 90: 556–560
- [36] Liu J., Sidell N.: Anti-estrogenic effects of conjugated linoleic acid through modulation of estrogen receptor phosphorylation. *Breast Cancer Res. Treat.*, 2005; 94: 161–169
- [37] Lock A.L., Corl B.A., Barbano D.M., Bauman D.E., Ip C.: The anticarcinogenic effect of *trans-11* 18:1 is dependent on its conversion to *cis-9, trans-11* CLA by Δ^9 -desaturase in rats. *J. Nutr.*, 2004; 134: 2698–2704
- [38] Majumder B., Wahle K.W., Moir S., Schofield A., Choe S.N., Farquharson A., Grant I., Heys S.D.: Conjugated linoleic acids (CLAs) regulate the expression of key apoptotic genes in human breast cancer cells. *FASEB J.*, 2002; 16: 1447–1449
- [39] Masso-Welch P.A., Zangani D., Ip C., Vaughan M.M., Shoemaker S., Ramirez R.A., Ip M.M.: Inhibition of angiogenesis by the cancer chemopreventive agent conjugated linoleic acid. *Cancer Res.*, 2002; 62: 4383–4389
- [40] McGuire M.K., Park Y., Behre R.A., Harrison L.Y., Shultz T.D., McGuire M.A.: Conjugated linoleic acid concentrations of human milk and infant formula. *Nutr. Res.*, 1997; 17: 1277–1283
- [41] Mosley E.E., McGuire M.K., Williams J.E., McGuire M.A.: *Cis-9, trans-11* conjugated linoleic acid is synthesized from vaccenic acid in lactating women. *J. Nutr.*, 2006; 136: 2297–2301
- [42] Moutsiouli A.A., Rule D.C., Murrieta C.M., Bauman D.E., Lock A.L., Barbano D.M., Carey G.B.: Human breast milk enrichment in conjugated linoleic acid after consumption of a conjugated linoleic acid-rich food product: a pilot study. *Nutr. Res.*, 2008; 28: 437–442
- [43] Ogawa J., Kishino S., Ando A., Sugimoto S., Mihara K., Shimizu S.: Production of conjugated fatty acids by lactic acid bacteria. *J. Biosci. Bioeng.*, 2005; 100: 355–364
- [44] Ou L., Ip C., Lisafeld B., Ip M.M.: Conjugated linoleic acid induces apoptosis of murine mammary tumor cells via Bcl-2 loss. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2007; 356: 1044–1049

- [45] Ou L., Wu Y., Ip C., Meng X., Hsu Y.C., Ip M.M.: Apoptosis induced by t10, c12-conjugated linoleic acid is mediated by an atypical endoplasmic reticulum stress response. *J. Lipid Res.*, 2008; 49: 985–994
- [46] Pariza M.W., Ashoor S.H., Chu F.S., Lund D.B.: Effects of temperature and time on mutagen formation in pan-fried hamburger. *Cancer Lett.*, 1979; 7: 63–69
- [47] Pariza M.W., Loretz L.J., Storkson J.M., Holland N.C.: Mutagens and modulator of mutagenesis in fried ground beef. *Cancer Res.*, 1983; 43(Suppl.5): 2444s–2446s
- [48] Pariza M.W., Park Y., Cook M.E.: Conjugated linoleic acid and the control of cancer and obesity. *Toxicol. Sci.*, 1999; 52(Suppl.2): 107–110
- [49] Ritzenthaler K.L., McGuire M.K., McGuire M.A., Shultz T.D., Koeppe A.E., Luedecke L.O., Hanson T.W., Dasgupta N., Chew B.P.: Consumption of conjugated linoleic acid (CLA) from CLA-enriched cheese does not alter milk fat or immunity in lactating women. *J. Nutr.*, 2005; 135: 422–430
- [50] Roach J.A., Mossoba M.M., Yurawecz M.P., Kramer J.K.: Chromatographic separation and identification of conjugated linoleic acid isomers. *Anal. Chim. Acta*, 2002; 465: 207–226
- [51] Rose D.P.: Effects of dietary fatty acids on breast and prostate cancers: evidence from *in vitro* experiments and animal studies. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1997; 66(Suppl.6): 1513S–1522S
- [52] Russell J.S., McGee S.O., Ip M.M., Kuhlmann D., Masso-Welch P.A.: Conjugated linoleic acid induces mast cell recruitment during mouse mammary gland stromal remodeling. *J. Nutr.*, 2007; 137: 1200–1207
- [53] Rutkowska J., Adamska A., Białek M.: Porównanie składu kwasów tłuszczowych zawartych w tłuszczu mleka kłaczy i krów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011; 18: 28–38
- [54] Sieber R., Collomb M., Aeschlimann A., Jelen P., Eyer H.: Impact of microbial cultures on conjugated linoleic acid in dairy products – a review. *Int. Dairy J.*, 2004; 14: 1–15
- [55] Silveira M.B., Carraro R., Monereo S., Tébar J.: Conjugated linoleic acid (CLA) and obesity. *Public Health Nutr.*, 2007; 10: 1181–1186
- [56] Tanaka K.: Occurrence of conjugated linoleic acid in ruminant products and its physiological functions. *Animal Sci. J.*, 2005; 76: 291–303
- [57] Tanmahasamut P., Liu J., Hendry L.B., Sidell N.: Conjugated linoleic acid blocks estrogen signaling in human breast cancer cells. *J. Nutr.*, 2004; 134: 674–680
- [58] Thompson H., Zhu Z., Banni S., Darcy K., Lotus T., Ip C.: Morphological and biochemical status of the mammary gland as influenced by conjugated linoleic acid: implication for a reduction in mammary cancer risk. *Cancer Res.*, 1997; 57: 5067–5072
- [59] Tokarz A., Białek A., Romanowicz M.: The impact of selected environmental factors on *cis-9, trans-11* octadecadienoate content in milk of breastfeeding women. Part II. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 2011; 92: 844–847
- [60] Turpeinen A.M., Mutanen M., Aro A., Salminen I., Basu S., Palmquist D.L., Griinari J.M.: Bioconversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in humans. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2002; 76: 504–510
- [61] Wahle K.W., Heys S.D., Rotondo D.: Conjugated linoleic acids: are they beneficial or detrimental to health? *Prog. Lipid Res.*, 2004; 43: 553–587
- [62] Wang L.S., Huang Y.W., Liu S., Chang H.L., Ye W., Shu S., Sugimoto Y., Funk J.A., Smeaks D.D., Hill L.N., Lin Y.C.: Conjugated linoleic acid (CLA) modulates prostaglandin E2 (PGE₂) signaling in canine mammary cells. *Anticancer Res.*, 2006; 26: 889–898
- [63] Wang L.S., Huang Y.W., Liu S., Yan P., Lin Y.C.: Conjugated linoleic acid induces apoptosis through estrogen receptor alpha in human breast tissue. *BMC Cancer*, 2008; 8: 208
- [64] Wojciechowska U., Didkowska J., Zatoński J.: Nowotwory złośliwe w Polsce w 2008 roku. Rejestracja nowotworów złośliwych Narodowego Programu Zwalczenia Chorób Nowotworowych. Warszawa 2010
- [65] World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research. *Food, Nutrition, Physical Activity and the Prevention of Cancer; a Global Perspective*. Washington DC: AICR, USA, 2007
- [66] Yasui Y., Kim M., Tanaka T.: PPAR ligands for cancer chemoprevention. *PPAR Res.*, 2008; Article ID 548919
- [67] Zalecenia postępowania diagnostyczno-terapeutycznego w nowotworach złośliwych. Rak piersi. Wydawnictwo Medyczne Via-Medica, Gdańsk 2009 (<http://www.onkologia.zalecenia.med.pl/>)

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.

