

Vědecký výbor výživy zvířat

Konjugovaná kyselina linolová v živočišných produktech: souvislost s výživou zvířat a zdravím lidí

Prof. Ing. Milan Marounek, DrSc.

Praha, březen 2007



Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i.

Přátelství 815, Praha - Uhřetěves,

PSČ: 104 01, www.vuzv.cz

Souhrn

Konjugovaná kyselina linolová (CLA) je předmětem značného zájmu výzkumných pracovišť i laické veřejnosti. Důvodem jsou její fyziologické účinky, které by mohly být na prospěch lidskému zdraví. Hlavním zdrojem CLA jsou produkty přežvýkavců - maso i mléko. Kromě toho lze CLA zakoupit jako potravinový doplněk, zpravidla jako přípravek na snížení tělesné hmotnosti. V posledních letech proběhly pokusy s hospodářskými zvířaty, do jejichž krmné dávky byla přidána komerčně dostupná CLA, připravená šetrnou izomerizací kyseliny linolové, získávané například ze slunečnicového oleje. Pokusy prokázaly dobré ukládání CLA v tkáních a výrazné ovlivnění profilu mastných kyselin v jejich lipidové frakci. CLA je tč. možno získat u několika výrobců. Složení této CLA se liší od CLA obsažené v maso a mléce přežvýkavců. Hlavní isomery *cis*-9, *trans*-11 a *trans*-10, *cis*-12 jsou přítomny v podobných množstvích, zatímco u přežvýkavců první z nich výrazně převládá.

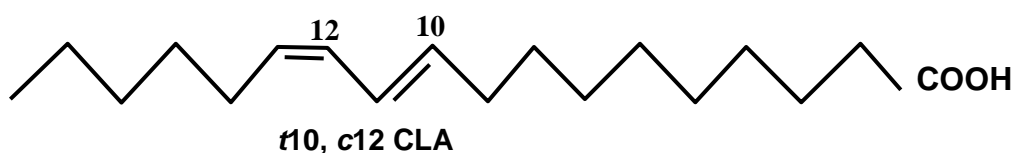
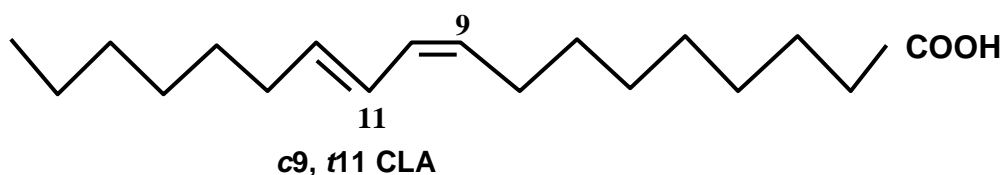
Cílem studie je kriticky zhodnotit výsledky stávajících pokusů s přidavkem CLA do krmiva hospodářských zvířat. Většina účinků CLA prospěšných lidskému zdraví se odvozuje z výsledků pokusů na laboratorních hlodavcích. Počet pokusů s podáváním CLA (isomerově odlišné od CLA v maso a mléce) lidem je malý. V studii jsou rovněž výsledky těchto pokusů shrnuty a zhodnoceny.

OBSAH

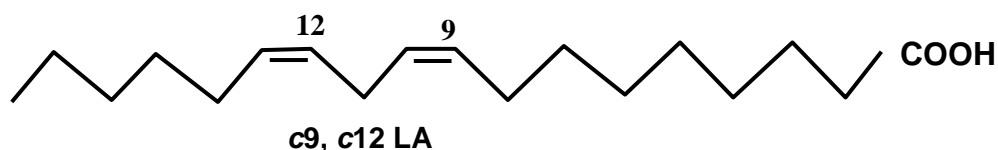
1. ÚVOD.....	3
2. BIOSYNTÉZA CLA	4
2.1. ROLE Δ 9-DESATURASY.....	6
2.2. VLIV DIETY NA TVORBU CLA.....	6
2.3. MIKROBIÁLNÍ KONVERSE KYSELINY LINOLOVÉ NA CLA.....	8
3. ANALYTICKÉ STANOVENÍ CLA.....	9
4. OBSAH CLA V POTRAVINÁCH	9
4.1. STABILITA CLA PŘI SKLADOVÁNÍ A KULINÁRNÍCH ÚPRAVÁCH.....	11
4.2. ODHADY ALIMENTÁRNÍHO PŘÍJMU CLA	11
5. FYZIOLOGICKÉ ÚČINKY CLA	12
5.1. VLIV CLA NA SLOŽENÍ TĚLA.....	12
5.2. CLA A RIZIKOVÉ FAKTORY KARDIOVASKULÁRNÍCH ONEMOCNĚNÍ	13
5.3. CLA A DIABETES TYPU II	14
5.4. CLA A KANCEROGENEZE	15
5.4.1 CLA a kolorektální karcinom.....	15
5.4.2 CLA a karcinom prsu.....	15
5.4.3 CLA a karcinom prostaty.....	15
5.5. CLA A FUNKCE IMUNITNÍHO SYSTÉMU.....	16
6. METABOLISMUS CLA	16
7. POUŽITÍ SYNTETICKÉ CLA VE VÝŽIVĚ ZVÍŘAT	16
7.1. EXPERIMENTY S PŘEŽVÝKAVCI	17
7.2. EXPERIMENTY S PRASATY	17
7.3. EXPERIMENTY S DRŮBEŽÍ.....	19
7.4. EXPERIMENTY S KRÁLÍKY	21
8. ZKOUŠKY ÚČINKU CLA U LABORATORNÍCH ZVÍŘAT	22
8.1. ÚČINKY CLA ZJIŠTĚNÉ U POTKANŮ.....	22
8.2. ÚČINKY CLA ZJIŠTĚNÉ U MYŠÍ.....	24
8.3. ÚČINKY CLA ZJIŠTĚNÉ U KŘEČKŮ	25
9. VLIV CLA NA UŽITKOVOST, KVALITU MASA A PROFIL MASTNÝCH KYSELIN V TKÁNÍCH KRÁLÍKŮ (VÝSLEDKY EXPERIMENTU VE VŮŽV UHRÍNĚVES).....	26
9.1. ÚVOD	26
9.2. METODIKA	26
9.3. VÝSLEDKY	27
9.4. DISKUSE.....	31
10. SHRUTÍ POZNATKŮ O CLA	32
11. LITERATURA	33

1. Úvod

Konjugovaná kyselina linolová (CLA) představuje skupinu pozičních a geometrických isomerů kyseliny linolové (C18:2). Tyto isomery mají dvojné vazby v konjugované poloze, což znamená, že nejsou odděleny methylenovou skupinou (či více -CH₂- skupinami), jak je tomu u ostatních mastných kyselin s dvěma i více dvojnými vazbami. Dvojně vazby mohou mít konfiguraci *cis*- i *trans*-. Počet možných isomerů CLA činí několik desítek. V potravinách a potravních doplňcích bylo zatím nalezeno 16 isomerů CLA (Martin a Valeille, 2002). Existují i mastné kyseliny s konjugovanými dvojnými vazbami a počtem atomů uhlíku větším než 18, např. konjugovaná kyselina arachidonová. V tom případě se ale již nejedná o CLA. Z velkého počtu isomerů CLA můžeme dva považovat za nejvýznamnější. Je to isomer *cis*-9, *trans*-11 a isomer *trans*-10, *cis*-12.



Pro srovnání následuje vzorec „obyčejné“ kyseliny linolové



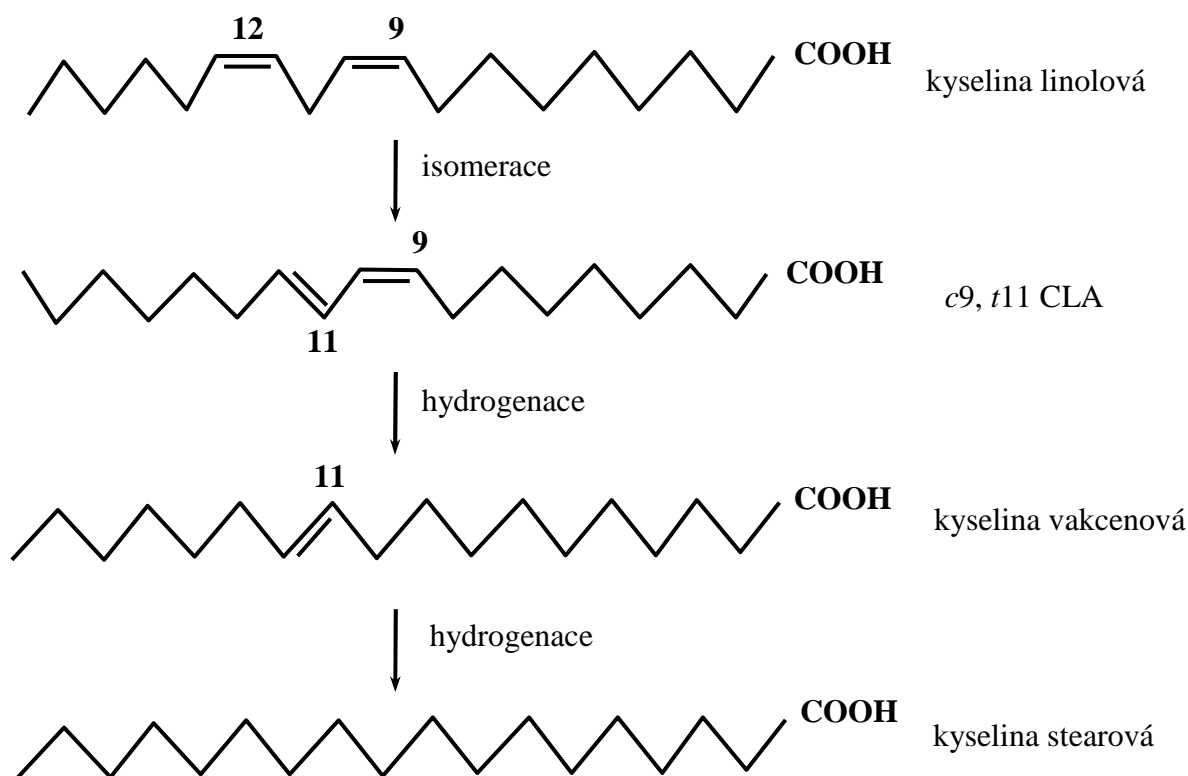
První isomer dominuje v produktech přežvýkavců. Nachází se jak v lipidech tkání, tak i v mléčném tuku. Isomer *t*10, *c*12 jej doprovází. V syntetické CLA, která se připravuje alkalickou isomerizací kyseliny linolové jsou oba isomery v téměř stejném množství.

Zájem o CLA se datuje od roku 1979, kdy Pariza a kol. zveřejnili zprávu, že v hamburgerech smažených na pánvi se nachází látka s antimutagenními vlastnostmi. Později se ukázalo, že je schopna inhibovat vznik epidermálního tumoru u myši (Pariza a Hargraves, 1985). Uvedená látka byla identifikována jako CLA (Ha a kol., 1987). Nepřekvapuje proto, že

od té doby se CLA stala předmětem velkého zájmu a byly publikovány početné práce o jejích významných fyziologických účincích, o nichž bude v dalším textu pojednáno.

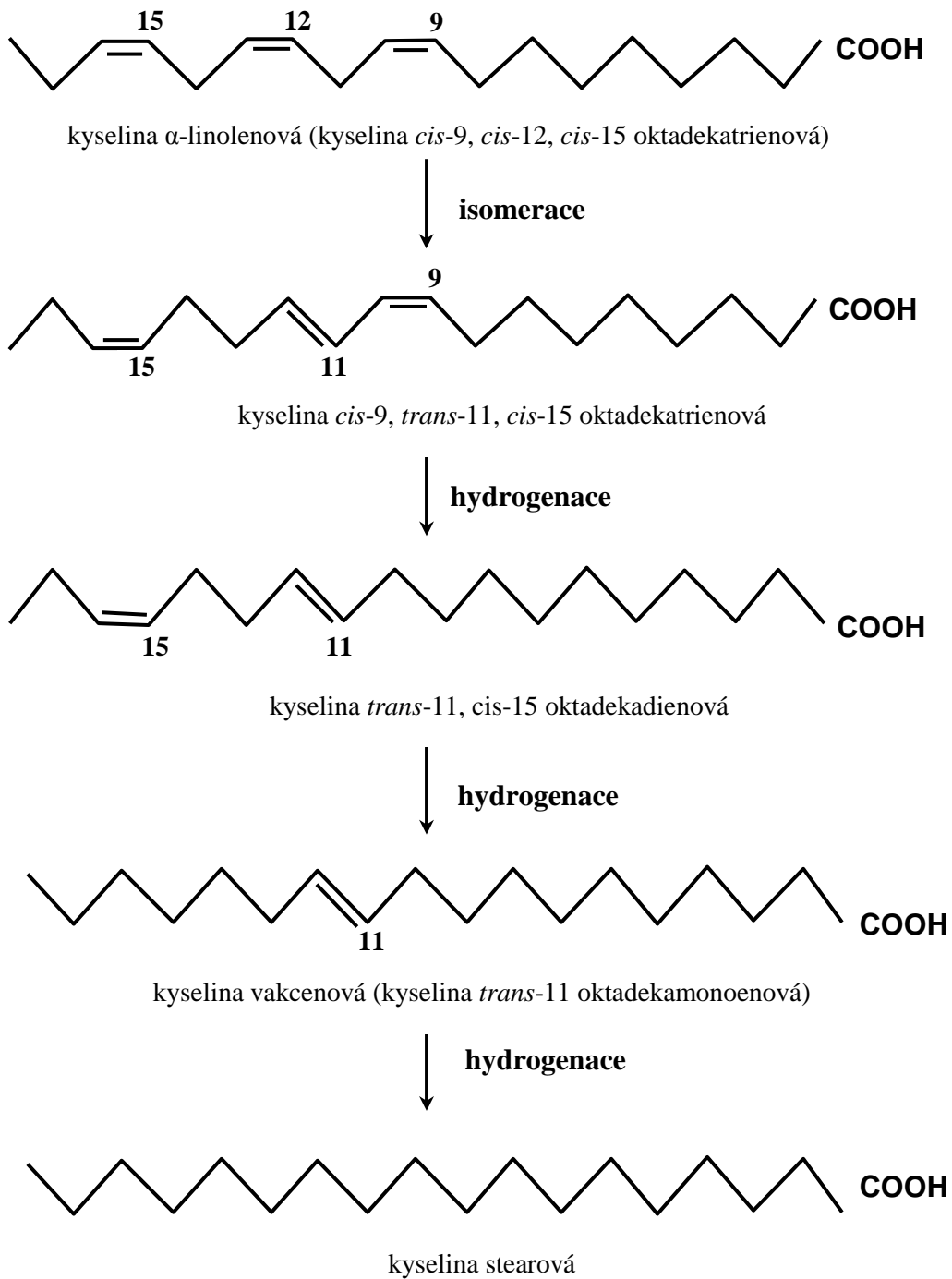
2. Biosyntéza CLA

Objev účinků CLA neznamena, že by tato látka nebyla známa již dříve. V roce 1967 Kepler a Tove zveřejnili práci o vlastnostech *cis-trans* isomerasy bachorové bakterie *Butyrivibrio fibrisolvens*. Tato isomerasa mění kyselinu linolovou (*cis*-9, *cis*-12 oktadekadienovou) na *c*9, *t*11 CLA a *t*9, *c*11 CLA. Hydrogenací vazby *cis* pak vzniknou trans-mononenasycené mastné kyseliny *t*11 C18:1 (kyselina vakcenová) a *t*9 C18:1 (kyselina elaidová). Obě tyto kyseliny mohou být v bachoru hydrogenovány až na kyselinu stearovou.

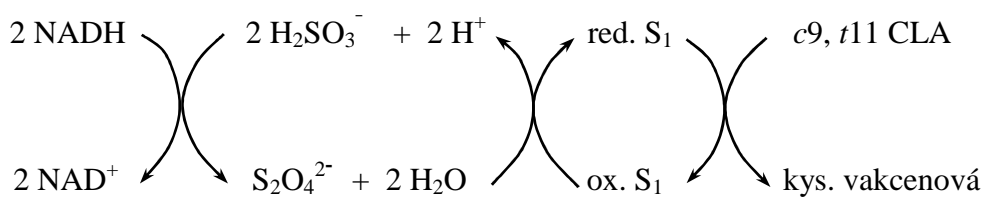


Kromě bakterií se na hydrogenaci nenasycených MK podílejí i prvoci (Chalupa, Kutches, 1968). Z bachoru přechází do dalších oddílů trávicího traktu nejen kyselina stearová, ale i meziprodukty bachorové hydrogenace, tj. CLA a kyselina vakcenová s elaidovou. Kyselina vakcenová je (po vstřebání v tenkém střevu) substrátem pro tkáňovou $\Delta 9$ -desaturasu, která ji mění na *c*9, *t*11 CLA.

Kyselina linolenová je v bachoru hydrogenována obdobným způsobem. Níže uvádíme reakční schéma převzaté z práce Kellens a kol. (1986):



Na přenosu vodíku při bachorové hydrogenaci se podílí dithionit (Yamazaki a Tove, 1979).



Tvorba CLA tkáňovou $\Delta 9$ -desaturasou je významnější než přísun CLA z bacheru. Lock a Garnsworthy (2002) uvádějí, že 80% CLA mléčného tuku pochází z endogenní syntézy v mléčné žláze. Význam bacheru spočívá v tom, že dodává substrát pro tuto syntézu. Kyselina vakcenová se může desaturací měnit na CLA i v tkáních jiných živočichů. Nízká dostupnost kyseliny vakcenové však význam tvorby CLA u živočichů s jednoduchým žaludkem omezuje.

2.1. Role $\Delta 9$ -desaturasy

Tvorba CLA je pouze vedlejší úloha $\Delta 9$ -desaturasy. Ta hlavní spočívá v přeměně kyseliny stearové (konečný produkt bacherové hydrogenace) na kyselinu olejovou. U dojnic je místem působení $\Delta 9$ -desaturasy především mléčná žláza, tudíž i většina CLA je syntetizována v mléčné žláze. Expresi mRNA stearoyl-CoA desaturasy zvyšuje insulin (Daniel a kol., 2004a), existuje tudíž souvislost s výživou. Daniel a kol. (2004b) zjistili v pokuse s ovce, že travní pelety snížily expresi stearoyl-CoA desaturasy. Paradoxně však při zkrmování travních pelet byl obsah CLA v tkáních vyšší než podání koncentrátové diety, zřejmě z důvodu vysokého obsahu kyseliny linolenové v peletách. Další autoři (Lock a Garnsworthy, 2003) poukazují na sezónní kolísání aktivity $\Delta 9$ -desaturasy u dojnic. Na aktivitu enzymu usuzují z poměru kyseliny myristoolejové (C14:1) a myristové (C14:0). Kyselina myristová je jediným zdrojem kyseliny myristoolejové. (Kyselina myristová ani myristoolejová se v krmivu nenachází). Největší desaturační aktivitu Lock a Garnsworthy (2003) našli v období květen až červenec. Autoři upozorňují na velké rozdíly mezi jednotlivými dojnicemi. Isomer *t*10, *c*12 CLA snižuje tučnost mléka (Perfield a kol., 2006), již při podání 5 g/dojnicí po 4 dny. Protože dochází k snížení indexu desaturační aktivity, je tento jev asi způsoben inhibičním účinkem *t*10, *c*12 CLA na desaturasu. Existují i další inhibitory $\Delta 9$ -desaturasy.

2.2. Vliv diety na tvorbu CLA

Složení mléčného, intramuskulárního a depotního tuku přežvýkavců lze dietou ovlivnit jen částečně. Primárním důvodem je bacherová hydrogenace, které podléhá většina nenasycených mastných kyselin obsažených v lipidech potravy. Příčinou hydrogenace je snaha bacherových mikroorganismů snížit antimikrobiální účinek těchto látek a (v druhé řadě) zbavit se části metabolického vodíku redukovaných koenzymů, tím obnovit jejich funkci. Přes tato omezení existuje řada důkazů o tom, že složení tuku přežvýkavců je možno dietou ovlivnit a učinit výhodnějším z hlediska lidského zdraví, zejména prevence civilizačních onemocnění. Nejedná se pouze o obsah CLA, ale také o poměr polynenasycených mastných

kyselin (PUFA) řady n-3 a n-6. Je žádoucí poměr PUFA n3/PUFA n6 zvýšit. Běžným prostředkem je použití semen olejnin a olejů. Olej v semenech spíše unikne bachorové hydrogenaci než je-li v čisté podobě. Enser a kol. (1999) prokázali, že doplněk lněného semene, bohatého na kyselinu linolenovou zvýšil na trojnásobek obsah CLA v *m. longissimus lumborum* u volů plemene Charolais. Rybí tuk byl méně účinný. Zvýšení koncentrace CLA v intramuskulárním tuku *m. longissimus dorsi* u jalovic přijímajících koncentrát se slunečnicovým olejem pozorovali Noci a kol. (2005). Slunečnicový olej je bohatý na kyselinu linolovou. Obsah CLA a PUFA v mase skotu se zvyšuje také při pastvě zvířat a zvýšení poměru píce: koncentrát při stájovém krmení (Mir a kol., 2003). V roce 2006 byla zveřejněna práce (De La Torre a kol.) o faktorech, které ovlivňují koncentraci CLA v mase skotu. Autoři zjistili, že po zařazení lněného semene do krmné dávky býků, volů a krav dojde k stabilní změně profilu mastných kyselin (MK) za 6 týdnů. Maximální obsah CLA v mase byl při pomalé tvorbě tuku. Přídavek lněného semene v množství 14% sušiny krmné dávky zvýšil obsah CLA v mase o 22-36% proti kontrole. Isomerové složení CLA bylo u různých kategorií zvířat odlišné. U krav byl např. podíl *cis-trans* isomerů o 20% vyšší než u mladých býků. Meziplenné rozdíly v této studii pozorovány nebyly. Autoři uvádějí, že maximální obsah CLA je u mladých zvířat krmených koncentrátem s doplňkem olejnin.

Obdobné pokusy proběhly s ovce. Ivan a kol. (2001) přidali do ječné siláže slunečnicové semeno (6% sušiny krmné dávky) po 7 týdnů. Obsah CLA u svalu nohy vzrostl o 37%, v podkožním tuku o 33%. Další autoři sledovali vliv lněného semene a rybího oleje na obsah CLA v neutrálních lipidech svalu a jater jehňat (Demirel a kol., 2004).

Velká pozornost byla věnována výzkumu možností zvýšení obsahu CLA a dalších žádoucích MK v mléčném tuku. Mléčný tuk je hlavní zdroj tzv. saturevaného tuku ve výživě lidí. Právem je proto kritizován. Zlepšení skladby MK v mléčném tuku má tudíž zásadní význam. Metodické přístupy jsou opět založeny na zkrmování krmiv bohatých na PUFA, tj. olejů, semen olejnin, případně na pastvě. Jako příklad lze uvést rozsáhlý pokus, při kterém byl do krmiva dojníc (Holstein) přidán řepkový a sojový olej v množství 30 g/kg sušiny (Loor a Herbein, 2003). Řepkový olej je bohatý na kyselinu olejovou (c9 18:1), sojový na kyselinu linolovou. Přídavek olejů snížil syntézu MK o střední délce řetězce v mléčné žláze. Zvýšil obsah *trans*-mononenasyčených MK v mléčném tuku, z nichž hlavní byla kyselina vakcenová. Loor a Herbein ze svých výsledků vyvozují závěr, že hlavní faktor zvyšující obsah CLA v mléčném tuku je dostatek kyseliny vakcenové pro desaturaci v mléčné žláze. Kyselina vakcenová vzniká nejen při hydrogenaci polynenasycených, ale také isomerizací kyseliny olejové bachorovými mikroorganismy. Další práce zdůrazňuje význam pastvy pro

zvýšení obsahu CLA v mléčném tuku (Loor a kol., 2003). V jiném pokuse byl do koncentrátové krmné dávky dojnic přidán olej slunečnicový, lněný či rybí v množství 5% sušiny (Loor a kol., 2005). Minimální tok CLA z bacheru do duodena byl při dotaci oleje slunečnicového (8,3 g/den). Při oleji lněném činil 6,9 g/den a oleji rybím jen 4,0 g/den. Rybí olej obsahuje nutričně významné MK s velmi dlouhým řetězcem: C 20:5 (EPA) a C 22:6 (DHA). Tyto kyseliny v bacheru inhibovaly redukci mastných kyselin *trans* C 18:1 na kyselinu stearovou a způsobily akumulaci MK *trans*-10, C 18:1. Zajímavé jsou údaje o podílu hlavních isomerů CLA v duodenálních lipidech (v g/100 g MK):

Olej	Isomer <i>c</i> 9, <i>t</i> 11	Isomer <i>t</i> 10, <i>c</i> 12
slunečnicový	0,22	0,19
lněný	0,13	0,04
rybí	0,06	0,04

Poměr obou isomerů se desaturací kyseliny vakcenové v mléčné žláze výrazně mění ve prospěch *c*9, *t*11 CLA. Přehlédnout nelze ani práci, kterou zveřejnili Lock a Garnsworthy, (2002). Do krmné dávky dojnic, sestávající z travní siláže a koncentrátu, přidávali olivový, lněný, řepkový, sojový a slunečnicový olej k docílení různých koncentrací kyseliny linolové a linolenové. Autoři měřili tok MK duodenem a výtěžek MK v mléčném tuku. Uvádějí, že kyselina linolová je jediný zdroj pro syntézu *c*9, *t*11 CLA v bacheru. Kyselina linolová je zdrojem CLA prostřednictvím bacherové fermentace a kyselina linolenová zvyšuje CLA v mléce cestou endogenní syntézy. Za nejlepší indikátor aktivity desaturas v mléčné žláze pokládají autoři poměr C 14:1/C 14:0 v mléčném tuku (C 14:0 se nenachází v krmivu). U různých dojnic se tento poměr značně lišil, nebyl však ovlivněn skladbou diety.

2.3. Mikrobiální konverse kyseliny linolové na CLA

Chin a kol. (1994) podávali dietu s kyselinou linolovou potkanům konvenčním a bezmikrobním. Zjistili, že obsah CLA v tkáních konvenčních potkanů se přidavkem kyseliny linolové zvyšoval, zatímco u bezmikrobních potkanů zůstal stejný. Z toho autoři studie usoudili, že střevní mikroflóra potkanů dokáže přeměnit kyselinu linolovou na CLA. Lin (2006) uvádí, že kyselinu linolovou dokáže přeměnit na CLA i extrakt z *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. Extrakt této bakterie rovněž konvertoval kyselinu olejovou na CLA, má tudíž aktivitu isomerasovou i desaturasovou. Výsledky pokusu naznačují možnost zvýšení obsahu CLA v mléčných výrobcích.

3. Analytické stanovení CLA

Již dávno předtím, než se CLA stala předmětem fyziologicky zaměřených studií, byla známa coby meziprodukt bachorové hydrogenace polynenasycených MK. Plynové chromatografy byly v té době vybaveny náplňovými kolonami jejichž separační účinnost nebyla dostatečná k rozdělení celého spektra MK, které se v biologickém materiálu nachází. Postup stanovení byl proto složitější a sestával z více kroků. Příkladem může být stanovení produktů hydrogenace nenasycených MK tak, jak je uvádí Mills a kol. (1970). Plynovou chromatografií rozdělili MK na monoenové, dienové a trienové. Tyto frakce rozdělili chromatografií na tenké vrstvě silikagelu impregnovaného AgNO_3 . Impregnace stříbrnými ionty umožňuje dělit *cis*- a *trans*- isomery. Di- a trienové frakce redukovali hydrazinem na monoeny, ty opět dělili na tenké vrstvě a po eluci skvrn oxidovali monoeny $\text{KJO}_4/\text{KMnO}_4$ kvůli zjištění polohy dvojné vazby. Vzniklé dikarboxylové kyseliny esterifikovali methanolem a dimethylestery identifikovali plynovou chromatografií.

Zjednodušení analýzy bylo umožněno zavedením 60 m a 100 m kapilár. Na plynovém chromatografu lze přímo stanovit 2 až 4 isomery CLA. Dokonalejší rozdělení isomerů CLA je možné pomocí HPLC po vybavení spřaženými (2 i více) kolonami s náplní impregnovanou stříbrem (opět, pro dělení *cis*- a *trans*- isomerů). S detektorem UV-VIS jsou při 232 nm detegovány pouze MK s konjugovaným systémem dvojných vazeb. Podle jemných rozdílů v absorpčním maximu lze rozlišit isomery *cis-cis*, *cis-trans* a *trans-trans*. Účinnost tohoto postupu dokládá práce, ve které její autoři v masě býků (Holstein, německý genotyp) identifikovali 14 isomerů CLA (Dannenberger a kol., 2004).

4. Obsah CLA v potravinách

Tabulka č. 1 shrnuje koncentrace CLA nalezené v různých druzích masa. Podle očekávání byly nejvyšší nálezy v případě masa jehněčího a hovězího. U masa telecího záleží na tom, bylo-li z telat z mléčného výkrmu, kdy role bachorového trávení je malá, či z telat po odstavu, kdy v důsledku příjmu rostlinné potravy je bachorová fermentace plně funkční. V ostatních druzích masa je obsah CLA malý (< 1 mg/g tuku). Výjimkou je maso krocana (2,5 mg/g tuku). Tento nález není jednoduché vysvětlit, snad jen mikrobiální činností ve voleti. Malé množství CLA v masě králíků je zřejmě důsledkem fermentace v slepém střevu a příjmu cékotrofů. Uvádí se, že hovězí maso z Argentiny a Brazílie má vyšší obsah CLA než z jiných oblastí. Schmid a kol. (2006) poukazují na velké rozdíly mezi zvířaty a sezónní vlivy. Vysoký

je obsah CLA v mase klokanů (38 mg/g MK; Engelke a kol., 2004). Zřejmě to je důsledek pregastrické fermentace, kterou klokani mají.

Tab. 1. Obsah CLA v mase v mg/g tuku.

<i>a) Maso hovězí</i>	<i>Pramen</i>
2,9 - 4,3	Chin a kol. (1992)
5,8 - 6,8	Shantha a kol. (1994)
5,6 - 6,2	Dufey (1999)
1,2 - 3,0	Ma a kol. (1999)
4,0 - 10,0	Raes a kol. (2003)
<i>b) Maso jehněčí</i>	<i>Pramen</i>
5,6	Chin a kol. (1992)
11,0	Dufey (1999)
4,3	Badiani a kol. (2004)
<i>c) Maso telecí</i>	<i>Pramen</i>
2,7	Chin a kol. (1992)
1,3	Skřivanová a kol. (v tisku)
<i>d) Maso vepřové</i>	<i>Pramen</i>
0,6	Chin a kol. (1992)
0,7	Dufey (1999)
<i>e) Maso drůbeží</i>	<i>Pramen</i>
0,9 (kuře)	Chin a kol. (1992)
2,5 (krocan)	Chin a kol. (1992)
<i>f) Maso králičí</i>	<i>Pramen</i>
< 1	Marounek a kol. (2006)
<i>g) Maso koňské</i>	<i>Pramen</i>
0,6	Dufey (1999)

Obsah CLA v mléčném tuku je podobný obsahu CLA v intramuskulárním tuku skotu a ovcí (Tab. 2). Při současné nízké spotřebě hovězího masa v ČR (ca 10 kg/osobu za rok) představuje mléko a mléčné výrobky hlavní zdroj CLA ve výživě lidí.

Tab. 2. Obsah CLA v mléčném tuku (mg/g MK)

<i>Nález</i>	<i>Pramen</i>
8,2 - 11,0	Lock a Garnsworthy (2002)
6 - 17	Lock a Garnsworthy (2003)
3 - 7	Loor a Herbein (2003)
3,3 - 11,6	AbuGhazaleh a kol. (2004)
6,8 - 10,1	Kudrna a Marounek (2005)

Pro člověka je zdrojem CLA též kyselina vakcenová, která je obsažena nejen v masě a mléce přežvýkavců, ale i ve ztužených tucích (viz Salminen a kol., 1998). Není jasné jak na její přítomnost v potravě pohlížet. Všechny ostatní *trans*-nenasycené MK se považují za látky, jejichž přítomnost v potravinách není žádoucí.

4.1. Stabilita CLA při skladování a kulinárních úpravách

Stabilitou CLA v masě se zabývali Shantha a kol. (1994). Při tepelných úpravách masa jako je vaření, pečení a smažení dochází k mírnému vzrůstu koncentrace CLA. V některých případech je však změna koncentrace CLA nepozorovatelná. Pokud se vařené maso skladovalo 7 dnů při 41°C, docházelo k nárůstu koncentrace látek reagujících s kyselinou thiobarbiturovou, což ukazuje na jeho oxidační poškození. Souběžné měření koncentrace CLA neprokázalo žádné změny. Z toho lze odvodit, že CLA je látka stabilní, která nepodléhá změnám tak jako ostatní polynenasycené MK. Svými vlastnostmi se podobá spíše nasyceným než nenasyceným MK.

Na stejném pracovišti byla studována i stabilita CLA obsažené v mléčných výrobcích (Shantha a kol., 1995). Závěry byly stejné. Ani v mléčných výrobcích skladovaných 6 měsíců nedošlo k měřitelnému poklesu koncentrace CLA.

4.2. Odhady alimentárního příjmu CLA

Odhad alimentárního příjmu CLA českou populací by bylo možno učinit výpočtem z průměrné spotřeby masa hovězího (případně i telecího a jehněčího), spotřeby ostatních druhů masa a mléčných výrobků. Nejistá je ovšem koncentrace CLA v těchto produktech. V ČR navíc není systematicky sledována. K dispozici jsou však údaje ze Spolkové republiky Německo. Podle nich je průměrný denní příjem CLA 360 mg u žen a 440 mg u mužů. Čtvrtina této spotřeby pochází z masa a výrobků z masa (Schmid a kol., 2006). Další údaj, rovněž německého původu, říká, že průměrný denní příjem CLA je 310 mg, z čehož 1/3

pochází z masa. Schmid a kol. uvádějí i odhady alimentárního příjmu CLA v dalších zemích. Tak ve Švédsku by to mělo být jen 160 mg/den, v Kanadě 95 mg/den. Vysvětlením je asi nízká spotřeba mléka a masa u dotazovaného souboru osob. V U.S.A. se denní příjem CLA odhaduje na 210 mg u mužů a 150 mg u žen s tím, že maso a výrobky z masa představují asi 37% alimentárního příjmu CLA.

Z výše uvedených údajů lze dojít k závěru, že odhady alimentárního příjmu CLA jsou v různých zemích rozdílné a zřejmě jsou zatíženy velkou chybou. Problematický může být i způsob, který k odhadu slouží (dotazníky). Nejistota je i ohledně skutečné koncentrace CLA v potravinách, spotřebovaných v dané zemi (přejímání údajů z cizí literatury). Můžeme proto konstatovat, že odhady alimentárního příjmu CLA v různých zemích se „západním“ způsobem stravování kolísají mezi 95 a 440 mg/den.

5. Fyziologické účinky CLA

Fyziologické účinky CLA byly zjišťovány na různých živočišných modelech, nebo přímo na lidech ve studiích intervenčních případně epidemiologických. K pokusům byla zpravidla použita syntetická CLA, která oba hlavní isomery, tj. *cis*-9, *trans*-11 a *trans*-10, *cis*-12 obsahuje v podobném množství. Nověji je používána CLA isomerově čistá, tj. obsahující jen jeden z obou isomerů. Důvodem je skutečnost, že účinky těchto isomerů se často liší.

5.1. Vliv CLA na složení těla

V řadě studií, uskutečněných zpravidla s laboratorními hlodavci, bylo zjištěno, že CLA má lipodystrofický účinek. Snižuje zásoby tuku v těle a tento účinek přetrvává i po ukončení podávání CLA (přehled – viz Belury, 2002). Z obou hlavních isomerů CLA je takto účinný isomer *t*10, *c*12 CLA. Mechanismus, kterým CLA snižuje adipositu, je složitý. CLA zvyšuje aktivitu adrenalinu a noradrenalinu, čímž se urychluje energetický metabolismus. CLA ovlivňuje diferenciaci a apoptosu adipocytů. Působí také jako rozpojovač transportu elektronů v mitochondriích a konservace energie v podobě ATP. Energie transportu elektronů se pak přeměňuje na teplo. CLA inhibuje lipoproteinovou lipasu a minimalizuje ukládání tuku do tukové tkáně. Uvedené účinky jsou zřetelné u mladých rostoucích zvířat, ne však u zvířat dospělých. Bhattacharya a kol. (2006) uvádějí, že u myší CLA zvyšuje lipolýzu a oxidaci MK za současného snížení ukládání MK do tukové tkáně. Rovněž zde je za tyto účinky odpovědný isomer *t*10, *c*12 CLA.

Bhattacharya a kol. (2006) uvádějí, že vliv CLA na složení těla lidí, především z hlediska obezity, byl málo studován. Existuje popis několika studií, které však málo potvrzují příznivé

účinky nalézané u laboratorních zvířat. V jedné z těchto studií byl zjišťován vliv příjmu 3 g CLA/den po dobu 64 dnů na hmotnost tuku dospělých zdravých žen. V tomto pokuse hmotnost tuku ani oxidace MK nebyly ovlivněny (Zambell a kol., 2000). Obdobně nebyl zjištěn vliv příjmu 2,1 g CLA/den po 45 dnů na složení těla mladých žen se sedavým zaměstnáním. Existují nicméně dvě norské studie, kdy snížení hmotnosti tuku u lidí bylo prokázáno (Thom a kol., 2001; Petridou a kol., 2003). V jedné z nich dávka až 6,8 g CLA/den po 12 týdnů snížila hmotnost tuku při zachování celkové tělesné hmotnosti. V druhé CLA v dávce 1,8 g/den snížila hmotnost tuku u zdravých cvičících lidí. V jiné studii byla CLA v množství 4,2 g/den podávána po 4 týdny obézním mužům středního věku (Risérus a kol., 2001). Autoři studie došli k závěru, že CLA může snížit abdominální tuk, nikoliv však celkovou obezitu.

V literatuře lze nalézt i popis dvou dlouhodobých intervenčních pokusů (Gaullier a kol., 2004, 2005), oba v trvání 12 měsíců. Týkaly se zdravých lidí s nadváhou. V těchto pokusech CLA v množství 3,4 g/den snížila hmotnost tuku, přičemž účinek přetrvával i po ukončení podávání.

5.2. CLA a rizikové faktory kardiovaskulárních onemocnění

CLA potlačuje vznik atherosklerotických lezí u pokusných zvířat přijímajících dietu s vysokým obsahem cholesterolu (Belury, 2002). Základním živočišným modelem pro tyto studie jsou králíci, u nichž lze atherosklerosu snadno vyvolat. Účinek CLA byl potvrzen i v pokusech s křečkou. De Deckere a kol. (1999) zjistili, že směs obou isomerů CLA a *t10, c12* CLA, nikoliv však *c9, t11* CLA, snižují LDL- a HDL-cholesterol a zvyšují VLDL-cholesterol u křečků. To naznačuje, že pouze isomer *t10, c12* CLA je schopen měnit skladbu lipoproteinů v krvi.

V kulturách krevních destiček CLA inhibovala jejich agregaci indukovanou arachidonátem nebo kolagenem (Belury, 2002). To je dáváno do souvislosti se sníženou tvorbou thromboxanů, které podporují agregaci. Thromboxany vznikají z arachidonátu reakcí, kterou katalyzuje cyklooxygenasa.

Snížení obsahu lipidů v krvi může souviset i s inhibicí stearoyl-CoA desaturasy, která již byla zmíněna. Exprese genu tohoto enzymu je přísně regulována. Oba isomery CLA inhibují jeho aktivitu. Myši, které mají gen stearoyl-CoA desaturasy zablokovan mají nižší lipémii a cholesterolemii.

Rizikovým faktorem kardiovaskulárních onemocnění je také hypertenze. Inoue a kol. (2004) ukázali, že isomer *t*10, *c*12, nikoliv však isomer *c*9, *t*11 snižuje krevní tlak u potkanů náchylných k vývoji obezity, diabetu či hypertenzi.

Účinek CLA na atherosklerosu a rizikové faktory kardiovaskulárních onemocnění byl u lidí studován méně než u zvířat. Závěry různých autorů navíc nejsou shodné. Výčet uskutečněných klinických pokusů podávají Bhattacharya a kol. (2006). Podle jednoho z nich příjem CLA (oba isomery) v množství 3,9 g/den neměl vliv na plasmatické lipidy, podle jiného příjem 4,2 g CLA/den po 12 týdnů neovlivnil lipémii ani skladbu sérových lipoproteinů. Jsou však i výsledky pozitivní. Mougios a kol. (2001) zjistili, že podání 0,7 g CLA/den po 4 týdny vedlo ke snížení sérového cholesterolu a triacylglycerolů. Další pokus vedl ke zjištění, že isomer *t*10, *c*12 CLA zvýšil plasmatické triacylglyceroly a poměr LDL- a HDL-cholesterolu, zatímco isomer *c*9, *t*11 CLA tyto ukazatele snížil (Tricon a kol., 2004).

5.3. CLA a diabetes typu II

Je více rizikových faktorů, které podporují vznik diabetu typu II, např. věk a genetické založení. Hlavním rizikovým faktorem je však obezita. Protože CLA u pokusných zvířat snižuje ukládání tuku, je předpoklad, že sníží i riziko diabetu II. Z výsledků různých pokusů (viz Belury, 2002) vyplývá, že v krvi potkanů CLA snižuje koncentraci glukosy na lačno, koncentraci insulinu, triacylglycerolů, volných MK a leptinu. Rovněž bylo zjištěno, že CLA zvyšuje spotřebu glukosy ve tkáních potkanů (Ryder a kol., 2001). Protože tento účinek nemá isomer *c*9, *t*11 CLA, autoři soudí, že nástup diabetu II může zpomalit jen *t*10, *c*12 CLA. Další pokusy ukázaly, že CLA má různé účinky u diabetických a normoglykemických zvířat. Také, že se liší účinek krátkodobého a dlouhodobého podávání CLA. CLA může zpočátku zhoršit citlivost tkání na insulin, při dlouhé době podávání naopak zlepšit (Wargent a kol., 2005).

Výsledky klinických studií, tak jak je shrnují Bhattacharya a kol. (2006) není jednoduché interpretovat. Záleží nejen na isomerovém složení použité CLA, ale i na stavu osob účastnících se pokusu, zda jsou obézní, zda diabetici či nikoliv, zda podávání CLA bylo krátkodobé či dlouhodobé. Shoda panuje v názoru, že aktivně působí jen *t*10, *c*12 CLA. Belury (2002) popisuje pokus s diabetiky II. typu, kteří denně dostávali 6 g CLA či placebo po 8 týdnů. CLA významně snížila glykémii na lačno, koncentraci leptinu v plasmě, index tělesné hmotnosti a nevýznamně také tělesný tuk. Naopak CLA neovlivnila insulin na lačno, triacylglyceroly, cholesterol a HDL. Belury proto hodnotí účinky CLA u diabetiků kladně.

5.4. CLA a kancerogeneze

Pro studium kancerogeneze je k dispozici řada živočišných modelů, různé způsoby jejího vyvolání a také možnost *in vitro* pokusů s buněčnými kulturami.

5.4.1 CLA a kolorektální karcinom

Kim a kol. (2002) zjistili, že proliferaci buněk karcinomu tlustého střeva Caco 2 inhibuje *t10, c12* CLA. Isomer *c9, t11* CLA je bez účinku. Isomer *t10, c12* CLA indukuje apoptosu (programovaný zánik) buněk. V pokuse s potkany 1% CLA v dietě podávané 30 týdnů zabránila vývoji karcinomu tlustého střeva, vyvolanému dimethylhydrazinem (Park a kol., 2001). Klinické studie sledující vliv CLA na kolorektální kancerogenezi jsou těžko proveditelné. Bhattacharya a kol. (2006) však zmiňují studii epidemiologickou, podle které příjem mléčných výrobků bohatých na tuk, potažmo CLA může riziko kolorektálního karcinomu zmírnit. Je však zřejmé, že v tomto případě hrají roli i další látky v mléčných výrobcích obsažené, např. vápník.

5.4.2 CLA a karcinom prsu

Souvislost mezi estrogény a karcinomem prsu je dobře známa. CLA má antiestrogenní účinky, dané tím, že snižuje aktivitu receptorů estrogenu. V pokusech s potkany CLA snížila výskyt chemicky vyvolaného karcinomu mléčné žlázy až o 60% (Ip a kol., 1991). Účinek CLA nebyl ovlivněn množstvím a typem současně podaného tuku. CLA rovněž inhibuje angiogenezi ve zvětšujícím se nádoru. Mechanismus inhibice je složitý, ne zcela poznáný. Ví se například, že *t10, c12* CLA snižuje aktivitu leptinu, který angiogenezi podporuje. Klinické studie tohoto zaměření lze těžko uskutečnit, proto se alespoň hledala souvislost mezi obsahem CLA v tukové tkáni a výskytem karcinomu prsu, nebyla však nalezena (viz Bhattacharya a kol., 2006).

5.4.3 CLA a karcinom prostaty

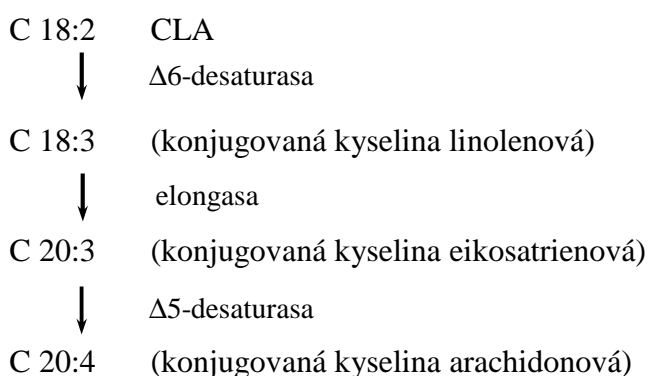
Jsou známy výsledky pokusů s účinkem CLA v kulturách buněk karcinomu, které naznačují, že isomer *t10, c12* CLA je účinnější při indukci apoptosy (Ochoa a kol., 2004). Isomer *c9, t11* CLA má rovněž ochranný účinek vůči karcinomu prostaty, působí ale odlišným způsobem. Zasahuje do metabolismu kyseliny arachidonové, tvorby eikosanoidů tím, že ovlivňuje expresi lipooxygenasy a cyklooxygenasy.

5.5. CLA a funkce imunitního systému

Imunitní systém je velmi složitý a všechny dílčí účinky CLA není jednoduché postihnout. Přehled pokusů na zvířatech podávají Belury (2002) a Bhattacharya a kol. (2006). Účinek CLA se prolíná s účinkem ostatních polynenasycených MK, zejména co se týče vlivu na cytokiny (např. interferon- γ), eikosanoidy a oxid dusnatý. Exaktních studií u lidí je málo. Zdá se, že CLA se ve svých účincích na imunitní funkce neliší od kyseliny linolové. Žádné pochybnosti nejsou o tom, že CLA snižuje tvorbu prostaglandinu PGE₂ a oxidu dusnatého.

6. Metabolismus CLA

CLA podléhá stejným reakcím jako jiné polynenasycené MK. Může být oxidována cestou β -oxidace, její řetězec může být prodloužen a také v něm účinkem desaturas mohou vzniknout další dvojně vazby. Takto z CLA vzniká konjugovaná kyselina arachidonová :



V bacheru je CLA hydrogenována na kyselinu vakcenovou, případně až na kyselinu stearovou. V tkáních je CLA inkorporována do triacylglycerolů a fosfolipidů. Banni a kol. (2001) uvádějí, že CLA je přednostně inkorporována do neutrálních lipidů a méně do fosfolipidů. Naopak kyselina linolová je přednostně inkorporována do fosfolipidů a méně do neutrálních lipidů (triacylglycerolů). Fosfolipidy jsou lipidy buněčných membrán. Důvodem neochoty začlenit CLA do těchto strukturálních lipidů může být okolnost, že *trans*-dvojná vazba v CLA způsobuje neohebnost molekuly, což vede k expansi fosfolipidové dvojvrstvy membrán a narušení jejich funkcí.

7. Použití syntetické CLA ve výživě zvířat

Z kyseliny linolové, která je běžnou součástí rostlinných olejů lze CLA připravit šetrnou alkalickou isomerizací. Syntetickou CLA dodává více firem (BASF, Německo; Conlinc, U.S.A.; Natural Lipids, Norsko; Bioriginal, Kanada a další). Syntetická CLA obsahuje oba

hlavní isomery v zhruba stejném množství. Začíná být dostupná i CLA sestávající z isomeru jediného.

7.1. Experimenty s přežvýkavci

Loor a Herbein (2001) zjišťovali vliv infusí CLA do bachoru dojníc v množství 0 – 180 g/den. CLA obsahovala oba isomery (*c9, t11* a *t10, c12*) v podobném množství. Koncentrace CLA v mléčném tuku se zvyšovala málo. Výtěžek obou isomerů CLA v mléčném tuku byl 6,2 g/den u kontroly a 7,6 g/den při nejvyšší úrovni infuse. To svědčí o tom, že většina CLA je v bachoru hydrogenována. Transfer CLA do mléčného tuku činil jen asi 3%. Část CLA se po hydrogenaci *cis*- dvojných vazeb změnila na odpovídající *trans*- kyseliny C18:1, které se v tkáních mohou zpětně desaturovat. Při maximální infuzi CLA klesala koncentrace tuku a jeho výtěžek v mléce. Bylo to způsobeno potlačením tvorby MK s 6 – 16 atomy uhlíku.

K závěru, že exogenní CLA je v bachoru hydrogenována, došli stejní autoři i v dalším pokuse, kdy kombinovali přídavek CLA do krmiva se sojovým a řepkovým olejem (Loor a Herbein, 2003). Z výsledků dedukují, že pro zvýšení obsahu CLA v mléčném tuku je podstatný dostatek *trans*-11 C18:1, který lze docílit i oleji s vysokým obsahem kyseliny olejové (*cis*-9 C18:1). Bachorové bakterie isomerizují kyselinu olejovou na řadu *trans*- C18:1 kyselin.

Gulati a kol. (2006) podávali dojnícím obdukovanou CLA, chráněnou před hydrogenací v bachoru. Pozorovali pokles koncentrace a výtěžku tuku v mléce. Uvádějí, že tomu lze předejít současným zkrmováním chráněného tuku. K ochraně CLA použili matici proteinu ošetřeného formaldehydem.

Výsledky zajímavého pokusu zveřejnili Perfield a kol. (2006). Do slezu dojníc infuzí dodávali isomery *t10, c12* a *t10, t12* CLA v množství 5 g/den. Infuse neměly vliv na příjem krmiva, nádoj a protein mléka. Isomer *t10, c12* CLA však signifikantně snížil obsah tuku v mléce z 3,41 na 2,41% a také obsah MK s 16-ti a méně atomy C. Isomer *trans-trans* tento vliv neměl. Oba isomery CLA snížily indexy desaturasové aktivity, isomer *trans-trans* dokonce víc než isomer *trans-cis*. Vztah mezi desaturasovou aktivitou a profilem MK v mléčném tuku tudíž není jednoznačně daný.

7.2. Experimenty s prasaty

Použití CLA ve výživě prasat se těší relativně nejvyššímu zájmu. Vedle pokusů zaměřených na vliv CLA na růst, konverzi krmiva a obsah CLA v mase existují i studie, které mají spíše charakter základního výzkumu. Např. Kramer a kol. (1998) zjišťovali distribuci

isomerů CLA přidané do krmiva v množství 2% v různých skupinách tkáňových lipidů. Shodu s profilem isomerů CLA diety pozorovali pouze u vnitřního tuku. Fosfolipidy jater byly obohaceny o *c9*, *t11* CLA, další frakce lipidů jater nikoliv. Lipidy srdečního svalu (vyjma triacylglycerolů) byly obohaceny o *c11*, *t13* CLA.

Stangl a kol. (1999) se zaměřili na vliv CLA (1% diety po 6 týdnů) na krevní lipidy. Neesterifikované MK v séru byly u pokusných prasat sníženy o 38%, avšak za současného zvýšení triacylglycerolů, LDL-cholesterolu a poměru LDL/HDL-cholesterol. Rovněž byla zvýšena koncentrace insulinu na lačno. Autoři ze stejného pracoviště zjistili, že CLA (3%) zvýšila o 10% poměr retence energie proteinu k energii tuku. Opět, poměr LDL-cholesterolu k HDL-cholesterolu byl vyšší o 17% (Müller a kol., 2000).

Bee (2000) se zabýval vlivem CLA (2%) na lipidy tukové tkáně a mléka prasnic. Nepozoroval vliv na příjem krmiva a změny hmotnosti v březosti a laktaci. Účinnost transferu CLA diety do hřbetního i mléčného tuku byla vysoká : CLA představovala 3,6% MK hřbetního tuku, 6,0% MK kolostra a 4,4 – 5,0% MK mléka. V mléce i hřbetním tuku byl poměr isomerů *c9*, *t11* a *t10*, *c12* vyšší než v krmivu.

Bee (2001) se také zabýval účinkem CLA (~ 1%) u prasat v 2. fázi výkrmu. CLA snížila příjem krmiva, ne však přírůstky. Konverze krmiva byla tudíž v pokusné skupině lepší. Rovněž v tomto experimentu CLA snížila tloušťku hřbetního tuku. Neměla vliv na barvu masa a ztrátu odkapem. Účinek CLA na profil MK v tkáních byl jako v jiných případech: CLA zvýšila podíl nasycených MK na úkor mononenasycených MK. Také snížila zastoupení kyseliny arachidonové. U pokusné skupiny CLA představovala 1,49% MK v *m. longissimus dorsi* a 4,65% MK v tukové tkáni. Ve svalu i tukové tkáni se uložilo více isomeru *c9*, *t11* než odpovídalo jeho zastoupení v pokusné dietě.

Thiel-Cooper a kol. (2001) přidávali až 1% CLA do krmiva prasat po dobu výkrmu od 26 do 116 kg. CLA zvýšila hmotnostní přírůstky a zlepšila konverzi krmiva. Rovněž snížila výšku hřbetního tuku. S rostoucím přídatkem CLA rostl obsah CLA v podkožním tuku i libové tkáni. Poměr isomerů *c9*, *t11* a *t10*, *c12* byl v tkáních vyšší než v dietě. Také Wiegand a kol. (2001) pozorovali snížení tloušťky hřbetního tuku u prasat přijímajících CLA (0,75%) v krmivu. CLA nesignifikantně zvýšila rychlost růstu a signifikantně zlepšila konverzi krmiva.

Ramsay a kol. (2001) zjistili při přídatku až 2% CLA do krmiva prasat v době růstu mezi 20 – 55 kg zvýšení obsahu CLA ve svalu i tukové tkáni. Rovněž zvýšení poměru nasycených a nenasycených MK. Růst, jatečná výtěžnost, váha orgánů a nálezy v séru (glukosa, insulin,

urea, IGF-1) ovlivněny nebyly. Poměr isomerů *c9*, *t11* a *t10*, *c12* ve svalu (*m. latissimus*) a podkožním tuku byl nižší než v dietě.

Gatlin a kol. (2002) se zabývali účinky CLA (1%) u prasat při výkrmu z hmotnosti 49 kg do 113 kg. Nezaznamenali vliv na růst a příjem krmiva ani na tloušťku hřbetního tuku. V lipidech tukové tkáně a *m. longissimus dorsi* CLA zvýšila podíl nasycených MK na úkor mononenasycených MK. Ukládání CLA v tkáních se zvýšilo přidavkem tukového doplňku ve výši 4% krmné směsi. V obou tkáních byl podíl isomeru *c9*, *t11* vyšší než v dietě.

Další práce (Smith a kol., 2002) je přínosná tím, že prokazuje inhibiční účinek CLA na tkáňovou desaturaci nejen výpočtem indexu desaturace, ale i přímým měřením aktivity stearyl-CoA desaturasy. Toto měření je náročné. Vyžaduje izolaci mikrosomální frakce buněk ultracentrifugací a práci s radioaktivitou. V tukové tkáni se tentokrát více ukládal isomer *t10*, *c12* CLA než *c9*, *t11* CLA.

Lauridsen a kol. (2005) přidávali CLA (0,5%) do krmné dávky prasat v průběhu výkrmu z 40 kg na 130 kg. CLA nesignifikantně zvýšila rychlost růstu a signifikantně zlepšila konverzi krmiva. Kromě malého snížení obsahu cholesterolu v mase nebyly parametry kvality masa ovlivněny. V plasmě pokusných zvířat byla nižší koncentrace cholesterolu. Vliv na skladbu MK ve svalu a tukové tkáni byl stejný jako již vícekrát zde uváděno. Do tkání byl přednostně ukládán isomer *c9*, *t11* CLA.

Závěrem je možno zmínit práci, která sice konstatuje, že CLA nemá významný vliv na růst prasat a kvalitu masa, avšak uvádí, že změny ve složení MK zlepšují technologické vlastnosti masa (Corino a kol., 2006).

7.3. Experimenty s drůbeží

Účinky CLA (až 1,5%) u kuřecích brojlerů popisují Szyczyk a kol. (2001). CLA signifikantně snížila příjem krmiva a rychlost růstu, zejména při vyšší koncentraci v krmivu. Rovněž snížila ukládání abdominálního tuku. CLA zvýšila podíl nasycených MK na úkor nenasycených MK v tkáňových lipidech. Koncentrace CLA v tkáních byla přímo úměrná koncentraci v krmivu.

Sirri a kol. (2003) přidávali 2% či 4% CLA do krmné směsi kuřecích brojlerů. Nezaznamenal vliv CLA na užitkovost. V mase kuřat pokusných skupin byl vyšší obsah nasycených MK a nižší obsah mononenasycených MK. Z polynenasycených MK byla snížena koncentrace kyseliny arachidonové.

Jiní autoři (Du a Ahn, 2003) podávali CLA kuřecím brojlerům v množství 0 – 3% diety po dobu 5 týdnů. Zjistili, že CLA zvýšila triacylglyceroly a cholesterol v plasmě. Rovněž zvýšila

váhu jater a snížila obsah kyseliny linolové a arachidonové jak v plasmě, tak i játrech. CLA zvýšila množství kyseliny linolové vyloučené výkaly aniž by změnila obsah tuku.

Pozornost byla věnována i různým účinkům CLA u nosnic. Jedním z důvodů byla i snaha, ověřit přestup CLA do vajec s cílem, učinit tento produkt zajímavějším pro spotřebitele. Výsledky rozsáhlého pokusu zveřejnili Raes a kol. (2002). Autoři použili dva různé preparáty CLA lišící se poměrem isomerů. CLA v množství 1% diety kombinovali s olejem sojovým, lněným nebo živočišným tukem. CLA neměla vliv na příjem krmiva, snášku a obsah cholesterolu v žloutku, signifikantně však zvýšila nasycené MK na úkor mononenasycených MK a kyseliny arachidonové. Obsah CLA v žloutku činil až 5,3% MK. Isomer *c9, t11* CLA se inkorporoval ve větší míře než *t10, c12* CLA. V jednom vejci bylo 130 – 250 mg CLA. Ke změně profilu MK stačilo 10 dnů.

Výsledky obdobného pokusu uvádí Szymczyk a Pisulewski (2003). Použili komerční CLA (až 2% diety) u níž žádný z isomerů nebyl většinový. CLA snížila hmotnost vajec, konverze krmiva byla tudíž horší. Obsah CLA v žloutku se zvyšoval s rostoucí koncentrací v krmivu, současně však rostlo zastoupení nasycených MK a klesalo zastoupení mononenasycených MK i kyseliny linolové, arachidonové a DHA. Autoři proto použití CLA u nosnic nedoporučují. Isomerové složení CLA v žloutku bylo odlišné od diety.

Třetí práci z této řady představuje studie španělských autorů. Alvarez a kol. (2004) kombinovali přídavek CLA (1 – 5 g/kg) s rybím olejem. CLA neměla vliv na produkci vajec, zvýšila však obsah nasycených MK a polynenasycených MK řady n-3 v žloutku na úkor MK mononenasycených. CLA se do vajec dobře ukládala. Její retence ve vejcích činila 15,1% příjmu. Přídavek rybího oleje retenci CLA snižoval. Velké změny v profilu MK byly pozorovány již při přidavku pouze 1 g CLA/kg krmiva. CLA také zvýšila tuhost žloutku po uvaření, přičemž přídavek rybího oleje tuto změnu neovlivnil.

Podobný pokus provedli Aydin a Cook (2004) s japonskými křepelkami. CLA podávali v širokém rozsahu koncentrací v krmivu (0,25 – 3%). Profil MK ve vejcích a játrech byl ovlivněn obdobně jak ukázáno výše. Vejce křepelky, v jejichž krmivu bylo 0,25% CLA měla větší hmotnost. Naopak koncentrace 2 a 3% CLA hmotnost vajec snížila. Vyšší koncentrace CLA (1 – 3%) způsobila úplnou embryonální mortalitu již po několika dnech příjmu krmiva. I nižší koncentrace CLA vedla k částečné embryonální mortalitě.

Přínosná je i práce, kterou publikovali Husvéth a kol. (2005). Nosnice v jejich pokuse přijímaly 1,1 g CLA/den. Obsah CLA v žloutku se zvýšil již po týdnu podávání. Retence CLA ve vejcích byla *ca* 9%. CLA zvýšila zastoupení nasycených MK palmitové a stearové v žloutku a játrech, ne však v tukové tkáni. Z toho autoři usuzují na nízkou aktivitu desaturas

v tukové tkáni nosnic. V žloutku, játrech i tukové tkáni výrazně převládá isomer *c9, t11* CLA nad ostatními.

Přehlednout nelze ani práci kolektivu Yang a kol. (2003), která se zabývá distribucí isomerů CLA v tkáních nosnic v jejichž dietě bylo 1,68% CLA. CLA se ukládala ve všech tkáních vyjma mozkové. V játrech představovala 2,8% MK, v mase méně, v tuku 4,1% MK. Ukládání CLA v tkáních bylo pro různé isomery selektivní. Obsah *cis-trans* isomerů byl v tkáních nižší než v krmivu. Obsah *trans-trans* isomerů byl naopak vyšší. Je možné, že *trans-trans* isomery se metabolizují pomaleji a v tkáních proto přetrvávají déle.

7.4. Experimenty s králíky

V roce 1994 Lee a kol. popsali účinky CLA podávané dospělým králíkům v množství 0,5 g/den po 22 týdnů, současně s cholesterolem a rostlinným olejem. CLA neměla vliv na příjem krmiva. Během pokusu se u králíků zvyšoval obsah triacylglycerolů a cholesterolu v plasmě. CLA snížila koncentraci cholesterolu, ale až po 10-ti týdnech podávání. Po 8-mi týdnech snížila rovněž koncentraci triacylglycerolů. U králíků pokusné skupiny bylo sníženo ukládání cholesterolu v aortě. V obdobně uspořádaném experimentu Kritchevsky a kol. (2000) zjistili, že k prevenci atherogeneze stačí i nízká koncentrace CLA, pouze 1 g/kg krmiva.

Corino a kol. (2002) do krmiva králíků přidávali CLA až 0,5% po dobu 3, 5 a 7 týdnů. CLA neměla vliv na růst a spotřebu krmiva. V plasmě CLA signifikantně snížila koncentraci triacylglycerolů a cholesterolu a nesignifikantně zvýšila aktivitu leptinu. U králíků, kteří dostávali CLA 7 týdnů došlo k snížení hmotnosti ledvinového tuku. Jiné jatečné parametry ovlivněny nebyly. Maso králíků, kteří přijímali více CLA mělo lepší oxidační stabilitu.

V navazujícím pokuse, se stejným metodickým uspořádáním Corino a kol. (2003) potvrdili, že CLA nemá vliv na růst, příjem krmiva a konversi krmiva u králíků. Jistý vliv CLA na kvalitu masa existuje. CLA signifikantně zvýšila obsah vody v mase a poměr voda/protein. CLA také signifikantně snížila obsah tuku v mase u králíků s nejvyšší porážkovou hmotností (3,1 kg).

Třetí práce ze stejného pracoviště se zabývá vlivem CLA na kvalitu masa králíků podrobněji (Corino a kol., v tisku). V lipidech *m. longissimus lumborum* CLA sice signifikantně, ale jen málo zvýšila podíl nasycených MK na úkor mononenasycených MK. Neměla vliv na chemické složení a barvu masa. Oxidační stabilita masa vyjádřená tvorbou látek reagujících s kyselinou thiobarbiturovou (TBARS) během skladování při 4°C se vlivem CLA (0,5%) zlepšila. V plasmě CLA zvýšila koncentraci glukosy, triacylglycerolů a cholesterolu. Obsah CLA v mase kontrolních králíků byl *ca* 0,5 mg/g tuku, v mase pokusných

králíků *ca* 4,1 mg/g tuku (odečet z grafu). Mezi množstvím isomeru *c9, t11* CLA a *t10, c12* CLA nebyl rozdíl.

8. Zkoušky účinku CLA u laboratorních zvířat

Při zkouškách účinku CLA u laboratorních zvířat je kladen důraz na poznání mechanismů, kterými CLA ovlivňuje fyziologické procesy. Často se používá CLA obsahující jediný isomer, nebo alespoň taková, jejíž složení je přesně definováno. Výjimkou mohou být některé starší práce. O některých zkouškách účinku CLA u laboratorních zvířat byla zmínka v kapitole č. 5.

8.1. Účinky CLA zjištěné u potkanů

Szymczyk a kol. (2000) zjistili, že CLA, byla-li potkanům věku 4 týdny přidána do diety v množství 1% urychlila růst. V séru CLA neměla významný vliv na celkový a HDL-cholesterol, avšak signifikantně zvýšila poměr HDL-cholesterolu k celkovému cholesterolu. Tento pozitivní účinek byl však zpochybněn tím, že současně vzrostla koncentrace sérových triacylglycerolů. V lipidech tkání vzrostl podíl nasycených MK na úkor kyseliny linolové a arachidonové.

Czauderna a kol. (2003) srovnával v pokusech s potkany isomery *c9, t11* CLA, *t10, c12* CLA a jejich směs. Potkani, kteří přijímali *t10, c12* CLA a směsnou CLA měli nejnižší přírůstek hmotnosti během 4 týdnů trvání pokusu. Poměr isomerů CLA v dietě nebyl v tkáních zachován. Zastoupení isomeru *c9, t11* CLA bylo vždy vyšší. Z toho autoři odvozují, že isomer *t10, c12* CLA je snadno oxidován. Poměr nasycených MK a polynenasycených MK v tkáních byl vlivem CLA zvýšen. Autoři v práci také popisují interakci CLA a selenu. Selen byl však do diety přidán v atypicky vysoké koncentraci (2 mg/kg).

Ve své další práci Czauderna a kol. (2004) uvádějí, že při podání CLA potkanům se v játrech akumulují nejen CLA, ale i jiné konjugované kyseliny. Isomery *trans-trans* byly odbourávány pomaleji než isomery *cis-trans* a *trans-cis*. Selen v podobě selenanu sodného stimuloval ukládání CLA i konjugovaných kyselin v játrech.

Akahoshi a kol. (2003) se zaměřili na vliv CLA (0,8%) na metabolismus lipidů. Kromě isomerů *c9, t11* CLA a *t10, c12* CLA použili i jejich směs 1:1. V příjmu krmiva a růstu nebyly mezi skupinami rozdíly. Po ukončení pokusu v trvání 26 dnů byla u všech potkanů skupin s CLA zjištěna menší hmotnost bílé tukové tkáně. U potkanů skupiny s *t10, c12* CLA byla větší hmotnost hnědé tukové tkáně. Rozdíl mezi *t10, c12* CLA a *c9, t11* CLA byl

signifikantní. U potkanů skupiny s *t*10, *c*12 CLA byla nesignifikantně nižší sérová koncentrace cholesterolu a triacylglycerolů. U všech skupin potkanů s CLA byla tendence k vyššímu HDL-cholesterolu. Akahoshi a kol. (2003) dále zaznamenali kolísavý účinek CLA na sérové imunoglobuliny a absenci účinku na koncentraci leptinu.

Stejný kolektiv (Akahoshi a kol., 2004) zjišťoval, jak účinky CLA ovlivňuje typ proteinu diety (rostlinný vs. živočišný). Potkani dostávali krmivo s 0 – 1% CLA po 4 týdny. Sojový protein byl srovnáván s kaseinem. Typ proteinu ovlivnil koncentraci leptinu v séru: klesala s přidavkem CLA byl-li v dietě kasein a měla tendenci růst, byl-li v dietě sojový protein. CLA snížila váhu ledvinového tuku, toto snížení bylo větší za přítomnosti proteinu soji. Z těchto a ještě dalších nálezů docházejí autoři k závěru, že snížení obezity příjmem CLA je ovlivňováno skladbou potravy, konkrétně původem proteinu.

Další práce ukazuje, že účinek CLA může být ovlivněn též tělesnou aktivitou (Faulconnier a kol., 2004). Dvěma skupinám potkanů, které se lišily v možnostech pohybové aktivity, byla podána dieta s 1% *t*10, *c*12 CLA nebo se směsí obou isomerů. U pohybově aktivních potkanů byla nalezena nižší koncentrace cholesterolu, insulinu a leptinu, současně s nižší aktivitou enzymů účastných syntézy lipidů v tukové tkáni. Směs isomerů a *t*10, *c*12 CLA způsobily, zvýšení aktivity enzymů lipogeneze, obzvláště u potkanů bez pohybové aktivity, aniž by však byla zvýšena hmotnost tukové tkáně a velikost adipocytů. Autoři soudí, že oba isomery CLA zrychlují obrat tukové tkáně, bez toho, že by měnily její hmotnost.

Kim a kol. (2005) použili u potkanů dietu s obvyklým obsahem vitamínu E, dietu s deficitem vitamínu E a diety s deficitem vitamínu E doplněné 0,5% a 1,5% CLA. Tvorba látek reagujících s kyselinou thiobarbiturovou (TBARS) byla v játrech potkanů deficitem vitamínu E zvýšena, CLA však působila v opačném směru a peroxidaci lipidů snižovala. Aktivita jaterní glutathion peroxidasy byla nedostatkem vitamínu E zvýšena a přidavkem CLA naopak snížena. Výsledky potvrzují, že vitamin E a glutathion peroxidasa se mohou v roli antioxidantu zastupovat. CLA může nedostatek vitamínu E zmírnit, zbývá však určit do jaké míry CLA působí jako antioxidant přímo a do jaké míry jen změnou skladby MK tkání ve prospěch nasycených, z kterých peroxylové radikály nevznikají.

Tsuzuki a kol. (2006) připravili z kyseliny dokosaheptaenové (C 22:6) alkalickou isomerizací konjugovanou kyselinu dokosaheptaenovou. Ta, podávána potkanům v množství 0,2 g/den, snížila o 43% hmotnost bílé tukové tkáně, koncentraci triacylglycerolů (o 35%) a cholesterolu v játrech (o 12%) ve srovnání s kontrolou. Navíc konjugovaná kyselina dokosaheptaenová inhibovala v játrech syntézu MK a aktivovala jejich oxidaci.

Potkani jsou samozřejmě používáni i pro jiné typy pokusů. Park a kol. (2001) zjistili, že přídavek 1% CLA do diety snižoval výskyt karcinomu tlustého střeva indukovaný 1,2-dimethylhydrazinem. CLA zvýšila index apoptosy a snížila koncentraci prostaglandinu E₂, thromboxanu B₂ a kyseliny arachidonové v mukose střeva.

8.2. Účinky CLA zjištěné u myší

Pokusy s účinkem CLA u myší probíhaly současně s pokusy na potkanech, závěry učiněné z výsledků jsou podobné. West a kol. (1998) zkoušeli přídavek CLA k dietě s vysokým (45% energie) a nízkým (15% energie) obsahem tuku. CLA signifikantně snížila příjem energie, rychlost růstu a hmotnost tukové tkáně. Autoři práce soudí, že snížení hmotnosti tuku se děje několika cestami, zejména snížením energetického příjmu a zvýšením rychlosti metabolismu.

Park a kol. (1999) přidávali k dietě myší 0,5% CLA sestávající ze stejného množství isomerů *c9, t11* CLA a *t10, c12* CLA po 4 týdny. CLA snížila hmotnost tělesného tuku a zvýšila hmotnost proteinu a vody v těle. Po ukončení podávání CLA klesal obsah isomeru *t10, c12* ve svalech rychleji než obsah isomeru *c9, t11*.

Častým námětem pokusů s CLA je vliv na koncentraci lipidů v séru. CLA podávaná myším (až 0,5% diety) po 15 týdnů nesignifikantně snížila celkový cholesterol v séru, zvýšila HDL-cholesterol a poměr HDL-cholesterol/celkový cholesterol (Munday a kol., 1999). Koncentrace triacylglycerolů v séru byla účinkem CLA signifikantně snížena. Navzdory příznivému účinku CLA na sérové lipidy CLA překvapivě zvýšila tvorbu atherosklerotických plaků (dieta obsahovala 1% cholesterolu). K rozdílnému závěru došli Toomey a kol. (2006), kteří rovněž podávali myším dietu s 1% cholesterolu. CLA o koncentraci 1% diety, s poměrem isomerů *c9, t11/ t10, c12* = 4:1, bránila vzniku atherosklerosy, dokonce způsobila téměř úplné zmizení časných atherosklerotických lezí.

Terpstra a kol. (2002) se u myší zaměřili na účinek CLA na hospodaření s energií. Dieta myší se zvýšeným obsahem tuku (38% energie) byla doplněna o 0,93% CLA. Pomocí kalorimetru se měřila energie obsažená v krmivu, exkrementech i v celém těle. CLA snížila podíl přijaté energie, která se uložila v těle a zvýšila podíl energie z organismu myší vyloučené, rovněž podíl energie krmiva přeměněné na teplo.

Práce z posledních let často porovnávají účinky dvou hlavních isomerů CLA. Kelly a kol. (2004) doplnili dietu myší o 0,5% *c9, t11* CLA nebo o 0,5% *t10, c12* CLA. Myši tyto diety dostávaly po 8 týdnů. V játrech myší, přijímajících *t10, c12* CLA bylo podstatně více lipidů (především triacylglycerolů) včetně cholesterolu a volných mastných kyselin. Účinek na obsah kyseliny linolové v lipidech jater byl u obou isomerů opačný. Isomer *t10, c12* CLA

obsah kyseliny linolové snižoval, zatímco isomer *c9, t11* CLA zvyšoval. Na druhou stranu isomer *c9, t11* CLA snižoval zastoupení kyseliny olejové v lipidech jater a isomer *t10, c12* CLA kyselinu olejovou zvyšoval. Tyto změny mohou souviset s rozdílným účinkem CLA na $\Delta 9$ desaturasu.

Rovněž konjugovaná kyselina eikosapentaenová (C 20:5) má význačné fyziologické účinky. Tsuzuki a kol. (2004) zjistili, že tato konjugovaná MK inhibuje u myši transplantovaný nádor tlustého střeva. Konjugovaná kyselina eikosapentaenová v nádorové tkáni indukuje apoptosu cestou zvýšené peroxidace lipidů v membránách. V témže experimentu byla zkoušena i CLA. Její působení bylo podobné, ale slabší.

8.3. Účinky CLA zjištěné u křečků

K laboratorním hlodavcům patří i křečci. Skladba lipoproteinů v krvi křečků je bližší člověku než je tomu u potkanů, proto jejich použití k pokusům s účinky CLA je dosti běžné. Tak např. Nicolosi a kol. (1997) přidávali CLA do diety křečků v rozmezí koncentrací 0 – 1,1% po dobu 4 až 11 týdnů. CLA signifikantně snížila celkový cholesterol v plasmě a jeho LDL- a VLDL-frakce, přičemž HDL-cholesterol ovlivněn nebyl. CLA, rovněž však i kyselina linolová zpomalovaly nástup atherosklerosy.

Gavino a kol. (2000) srovnávali *c9, t11* CLA se směsí obou isomerů a kyselinou linolovou. CLA při koncentraci 1% diety po 2- a 6-týdenním podávání snížila jak cholesterol, tak i triacylglyceroly v plasmě křečků. Rovněž došlo ke zpomalení růstu při paradoxně vyšším příjmu krmiva.

Výsledky dobře uspořádaného pokusu představili Navarro a kol. (2003). Do atherogenní diety křečků přidávali 0,5% *c9, t11* CLA či *t10, c12* CLA, nebo kyselinu linolovou (v kontrole). Za 6 týdnů zjistili, že *t10, c12* CLA snížila akumulaci tuku v játrech a koncentraci cholesterolu v séru. Snížení sérového cholesterolu bylo dáno poklesem jeho LDL-frakce. Uvedený účinek v případě isomeru *c9, t11* CLA pozorován nebyl. Navarro a kol. proto soudí, že pouze isomer *t10, c12* CLA je účinnou formou CLA ve vztahu k obezitě a hypercholesterolémii.

Srovnáním obou hlavních isomerů CLA se v pokusech s křečkou zabývali i další autoři. Mitchell a kol. (2005) použili atherogenní dietu doplněnou 1% *c9, t11* CLA nebo *t10, c12* CLA. Celkový cholesterol v plasmě a jeho LDL-frakce nebyly v pokusných skupinách ovlivněny, *t10, c12* CLA však zvýšila HDL-cholesterol. Oba isomery CLA potlačily vývoj atherosklerotických lezí. V podobně uspořádaném experimentu, avšak s poloviční koncentrací isomerů CLA Wilson a kol. (2006) zjistili, že jak *c9, t11* CLA tak i *t10, c12* CLA snížily

celkový a HDL-cholesterol v plasmě, avšak až po 12-ti týdnech podávání, (nikoliv po 8-mi týdnech). Koncentrace triacylglycerolů v plasmě byla v 8. týdnu pokusu účinkem *t10, c12* CLA signifikantně zvýšena, v 12. týdnu tento účinek odezněl. Ve srovnání s kontrolou a isomerem *c9, t11* CLA, isomer *t10, c12* CLA signifikantně zvýšil koncentraci triacylglycerolů a glukosy v plasmě ve 12. týdnu pokusu. Isomer *c9, t11* CLA nevýznamně snížil ukládání cholesterolu v aortě. Účinek isomeru *t10, c12* CLA byl opačný, rovněž však statisticky nevýznamný. Autoři varují, že isomer *t10, c12* CLA může zvýšit riziko diabetu typu II.

Jiní autoři uvádějí, že při 2% koncentraci isomerů CLA v dietě křečků a 4-týdenním podávání, isomer *t10, c12* CLA zvýšil LDL-cholesterol v plasmě více než isomer *c9, t11* CLA (Bissonauth a kol., 2006). Přesto *c9, t11* CLA nevykázala zlepšení profilu lipidů v plasmě ve srovnání s kyselinou linolovou. Positivním účinkem *t10, c12* CLA bylo však snížení koncentrace triacylglycerolů a cholesterolu v játrech.

V jiné nedávné práci je uvedeno, že podání *t10, c12* CLA při 0,5% koncentraci v atherogenní dietě křečků a době podávání 6 týdnů nezabránilo zvýšení koncentrace glukosy a insulinu v séru, pouze snížilo ukládání tělesného tuku (Simon a kol., 2006).

9. Vliv CLA na užítkovost, kvalitu masa a profil mastných kyselin v tkáních králíků (výsledky experimentu ve VÚŽV Uhřetěves)

9.1. Úvod

V kapitole 7.4. je přehled stávajících pokusů s přidavkem CLA do diety králíků. Vyplývá z nich, že účinek CLA závisí na věku zvířat, době podávání a koncentraci CLA v krmivu. Cílem našeho experimentu bylo zjistit jak CLA ovlivňuje růst a příjem krmiva u brojlerových králíků, kvalitu masa, ukládání CLA v tkáních a také vliv CLA na profil MK. Použili jsme dvě koncentrace komerčně dostupné CLA v krmivu a dvě doby podávání.

9.2. Metodika

Čtyřicet králíků genotypu Hyplus bylo odstaveno ve věku 35 dnů a umístěno jednotlivě v klecích při teplotě 16°C a relativní vlhkosti asi 65%. Králíci měli volný přístup ke granulovanému krmivu a vodě. Základní složky krmiva byly vojtěšková moučka (30%), pšeničné otruby (26%), ječmen (14,5%) a extrahovaný slunečnicový šrot (13%). Dieta pokusných králíků byla doplněna o preparát Luta-CLA[®] 60 od BASF (Spolková republika Německo). Jeho složení uvádí tabulka č. 3. Koncentrace CLA-oleje byla 5 a 10 g/kg, doba

podávání 6 týdnů (celý výkrm) nebo 3 týdny (2. polovina výkrmu). Králíci byli poraženi ve věku 77 dnů.

Tab. 3. Složení preparátu Luta-CLA[®] 60 (BASF) použitého v pokuse s králíky

<i>Kyselina</i>		<i>mg/ g MK</i>
palmitová	C 16:0	64,0
stearová	C 18:0	38,6
olejová	C 18:1 n9	243,3
	C 18:1 n7	7,2
CLA	C 18:2 (c9,t11)	320,1
CLA	C 18:2 (t10,c12)	318,0
EPA	C 20:5 n3	6,7
lignocerová	C 24:0	2,1

V mase hřbetu a stehna zadní nohy byla stanovena sušina při 105°C, protein kjehldalizací a tuk extrakcí petroletherem. Vzorky masa, jater a ledvinového tuku byly extrahovány CHCl₃/CH₃OH. Po alkalické transmethylaci byly MK stanoveny na plynovém chromatografu s programovanou 60 m kapilárou (150 – 230°C). Isomery CLA byly stanoveny s použitím HPLC, s trojicí kolon impregnovaných stříbrem.

K statistické analýze byla použita ANOVA a Scheffe test.

9.3. Výsledky

CLA nesignifikantně snížila příjem krmiva o 1,7 – 8,1%, potažmo i rychlost růstu o 3,9 – 6,3% (Tab. 4).

Tab. 4. Údaje o růstu, příjmu krmiva a jeho konverzi u králíků¹ kmených dietou kontrolní a dietami s CLA (průměrné hodnoty a RMSE)

<i>CLA² :</i>	<i>0</i>	<i>5 g/kg</i>		<i>10 g/kg</i>	<i>RMSE</i>
<i>Dny příjmu CLA</i>	<i>–</i>	<i>1. - 42.</i>	<i>22. - 42.</i>	<i>22. - 42.</i>	
Počáteční hmotnost (g)	643	624	662	660	76
Konečná hmotnost (g)	2492	2357	2439	2433	215
Přírůstek (g)	1849	1733	1777	1773	182
Příjem krmiva (g)	5205	4785	4862	5118	526
Konverse krmiva (kg/kg)	2,82	2,76	2,74	2,89	0,35
Příjem CLA ² (g)	-	23,9 ^a	15,5 ^b	31,5 ^c	2,7

¹ 10 králíků ve skupině

² Olej obsahující 63,8% CLA

^{abc} Hodnoty ve stejném řádku s různými indexy se významně liší (P < 0,05)

Signifikantně zvýšila koncentraci proteinu v masě zadní nohy o 4,6 – 6,1%. Sušina a tuk masa nebyly CLA ovlivněny (Tab. 5).

Tab. 5. Složení masa hřbetu a stehna u králíků¹ krměných dietou kontrolní a dietami s CLA (průměrné hodnoty a RMSE)

<i>CLA</i> ² :	0	5 g/kg		10 g/kg	RMSE
<i>Dny příjmu CLA</i>	–	1. - 42.	22. - 42.	22. - 42.	
Hřbet					
sušina (g/kg)	253	254	253	254	7
protein (g/kg)	216	217	215	217	6
tuk (g/kg)	8,5	9,1	8,9	8,2	2,3
Stehno					
sušina (g/kg)	259	265	266	269	11
protein (g/kg)	196 ^a	208 ^b	205 ^b	206 ^b	7
tuk (g/kg)	39,3	32,2	35,0	37,6	7,9

¹ 10 králíků ve skupině

² Olej obsahující 63,8% CLA

^{ab} Hodnoty ve stejném řádku s různými indexy se významně liší (P < 0,05)

CLA zvýšila podíl nasycených MK na úkor mononenasycených MK v lipidech obou svalů a jater (Tab. 6, 7). CLA zvýšila (v některých případech signifikantně) podíl polynenasycených MK v lipidech masa hřbetu i stehna. V ledvinovém tuku CLA signifikantně snížila podíl mononenasycených MK a zvýšila podíl polynenasycených MK. Doplněk CLA zvýšil zastoupení CLA v lipidech masa z < 1 mg/g MK až na 30 mg/g MK v hřbetu, a až na 36 mg/g MK v masě stehna. Inkorporace CLA byla nejvyšší v tukové tkáni a nejnižší v játrech. Míra inkorporace CLA rostla s obsahem CLA v krmivu. Vliv délky podávání byl omezený nebo žádný.

Preparát CLA (Luta-CLA[®] 60) obsahoval isomery *c*9, *t*11 a *t*10, *c*12 v poměru 1:0,80 (Tab. 8). Tento poměr byl u vzorku masa hřbetu 1:0,99, u masa stehna 1:1,23, v játrech 1:1,04 a v tuku 1:1,37. Minoritní isomery CLA představovaly 6,08% celkové CLA u masa hřbetu, 2,95% u masa stehna, 6,49% u vzorků jater a 6,75% v ledvinovém tuku. V dietě však pouze 1,14%. Zastoupení různých isomerů CLA v analyzovaných tkáních nebylo stejné. Lipidy jater obsahovaly více isomerů *trans-trans* a lipidy tuku a masa stehna více *t*10, *c*12. Isomer *c*9, *t*11 CLA byl zastoupen ve větším množství než isomer *t*10, *c*12 CLA, přičemž rozdíl v zastoupení obou isomerů byl největší v tukové tkáni.

Tab. 6. Profil mastných kyselin v mg/g MK v mase hřbetu a stehna králíků¹ krmených dietou kontrolní a dietami s CLA (průměrné hodnoty a RMSE)

CLA ² :	Maso hřbetu					Maso stehna				
	0	5 g/kg		10 g/kg	RMSE	0	5 g/kg		10 g/kg	RMSE
Dny příjmu	-	1.- 42.	22.- 42.	22.- 42.		-	1.- 42.	22.- 42.	22.- 42.	
CLA :	-	1.- 42.	22.- 42.	22.- 42.		-	1.- 42.	22.- 42.	22.- 42.	
Nasycené MK										
12 : 0	0,9	1,0	1,2	1,1	0,3	2,0	2,0	1,9	1,7	0,6
14 : 0	17,1	18,4	21,1	21,4	3,2	21,8 ^a	21,8 ^a	25,3 ^b	24,0 ^{ab}	2,7
15 : 0	4,9	5,3	5,2	4,9	0,5	5,3 ^{ab}	5,8 ^a	5,6 ^a	5,2 ^b	0,3
16 : 0	247,1	245,1	258,8	259,5	16,0	242,9	247,5	255,2	253,1	16,8
17 : 0	5,5 ^a	6,9 ^b	6,4 ^{ab}	6,0 ^{ab}	0,4	5,6 ^a	7,1 ^b	6,1 ^{ab}	6,2 ^{ab}	0,9
18 : 0	67,8 ^a	81,6 ^b	80,8 ^b	87,3 ^b	6,5	57,8 ^a	77,1 ^b	71,3 ^b	74,4 ^b	6,5
Ostatní	6,3	5,0	6,7	9,8	3,5	5,0 ^a	1,3 ^b	1,8 ^b	4,2 ^a	1,5
Celkem	349,6 ^a	363,3 ^{ab}	380,2 ^{ab}	390,0 ^b	19,3	340,4	362,6	367,2	368,8	21,9
Mononenasycené MK										
14 : 1	1,7 ^a	0,5 ^b	0,6 ^b	0,8 ^b	0,5	2,3 ^a	0,7 ^b	0,8 ^b	1,1 ^b	0,7
16 : 1	28,7 ^a	8,2 ^b	10,4 ^b	12,5 ^b	6,6	35,5 ^a	10,2 ^b	12,9 ^b	16,0 ^b	8,1
18 : 1n9	272,3 ^a	242,4 ^b	241,5 ^b	246,5 ^b	11,4	299,8 ^a	267,4 ^b	265,3 ^b	271,4 ^b	12,6
18 : 1n7	18,2	17,6	16,8	17,0	1,3	16,8 ^a	15,4 ^b	15,0 ^b	14,6 ^b	0,8
20 : 1n9	3,5	3,5	3,8	3,3	0,4	4,6 ^a	4,2 ^{ab}	4,3 ^{ab}	3,8 ^b	0,4
Ostatní	1,3	1,1	1,0	1,9	1,0	0,9	0,9	0,9	1,1	0,3
Celkem	325,7 ^a	273,3 ^b	274,1 ^b	282,0 ^b	15,5	359,9 ^a	298,8 ^b	299,2 ^b	308,0 ^b	15,7
Polynenasycené MK										
18 : 2n6	217,8 ^a	242,4 ^b	229,4 ^{ab}	211,5 ^a	13,7	224,6 ^{ab}	237,0 ^a	233,0 ^{ab}	216,7 ^b	13,4
CLA	0,9 ^a	22,5 ^b	19,1 ^b	30,0 ^c	3,7	0,5 ^a	15,3 ^b	20,9 ^b	36,4 ^c	3,9
18 : 3n3	35,4 ^a	39,2 ^{ab}	37,2 ^{ab}	31,7 ^b	4,8	51,7	49,8	51,2	47,5	4,3
20 : 2n6	3,2	3,5	3,6	3,2	0,5	2,7 ^{ab}	2,9 ^{ab}	3,1 ^a	2,5 ^b	0,4
20 : 3n6	4,6 ^a	3,0 ^b	3,5 ^{ab}	3,4 ^b	0,8	1,5	1,4	1,7	1,3	0,4
20 : 4n6	35,1 ^a	29,0 ^{ab}	29,2 ^{ab}	25,1 ^b	6,7	9,5	11,3	12,3	9,5	3,0
20 : 5n3	2,7	2,0	1,9	3,1	2,0	0,5	0,5	0,5	0,3	0,3
22 : 4n6	9,8	8,6	8,2	7,1	1,6	2,8	3,7	3,7	2,9	0,9
22 : 5n3	10,2	9,3	8,8	6,9	3,8	3,2	4,0	4,1	3,4	1,0
22 : 6n3	1,3	1,0	1,4	1,0	0,5	0,4	0,5	0,7	0,5	0,3
Ostatní	3,7	2,9	3,4	5,0	2,8	2,3 ^a	12,2 ^b	02,4 ^a	2,2 ^a	2,4
Celkem	324,7 ^a	363,4 ^b	345,7 ^{ab}	328,0 ^{ab}	27,4	299,7 ^a	338,6 ^b	333,6 ^b	323,2 ^{ab}	20,1

¹ 10 králíků ve skupině

² Olej obsahující 63,8% CLA

^{abc} Hodnoty ve stejném řádku s různými indexy se významně liší (P < 0,05)

Tab. 7. Profil mastných kyselin v mg/g MK v játrech a ledvinovém tuku králíků¹ krmených dietou kontrolní a dietami s CLA (průměrné hodnoty a RMSE)

CLA ² :	Játra					Ledvinový tuk				
	0	5 g/kg		10 g/kg	RMSE	0	5 g/kg		10 g/kg	RMSE
Dny příjmu CLA :	-	1.- 42.	22.- 42.	22.- 42.		-	1.- 42.	22.- 42.	22.- 42.	
Nasycené MK										
12 : 0	0,3 ^a	0,2 ^{ab}	0,1 ^b	0,2 ^{ab}	0,1	1,8 ^a	2,6 ^{ab}	3,2 ^b	2,1 ^{ab}	1,0
14 : 0	8,3 ^a	4,2 ^b	4,4 ^{ab}	3,6 ^b	3,1	20,1 ^a	20,8 ^a	25,1 ^b	21,9 ^a	2,1
15 : 0	3,0	2,5	2,3	2,2	0,6	5,3 ^a	6,1 ^b	6,2 ^b	5,2 ^a	0,4
16 : 0	222,9 ^a	168,0 ^b	182,1 ^b	171,9 ^b	28,6	233,9	216,5	220,4	231,1	22,0
17 : 0	7,2 ^a	9,2 ^{ab}	9,7 ^b	10,2 ^b	1,6	5,7 ^a	7,0 ^b	6,6 ^{ab}	6,4 ^{ab}	0,4
18 : 0	143,2 ^a	228,1 ^b	246,8 ^{bc}	288,5 ^c	32,3	53,1 ^a	63,0 ^{ab}	57,6 ^{ab}	65,2 ^b	7,9
Ostatní	2,7 ^a	8,0 ^b	3,6 ^a	4,4 ^a	2,0	5,0	4,9	6,3	3,2	2,7
Celkem	387,6 ^a	420,2 ^{ab}	449,0 ^b	481,0 ^c	40,5	324,9	320,9	325,4	335,4	29,3
Mononenasycené MK										
14 : 1	0,5 ^a	0,2 ^b	0,2 ^b	0,2 ^b	0,2	2,1 ^a	0,6 ^b	0,8 ^b	1,0 ^b	0,7
16 : 1	13,3 ^a	3,8 ^b	4,0 ^b	4,4 ^b	2,7	33,4 ^a	8,7 ^b	12,1 ^b	14,4 ^b	8,0
18 : 1n9	213,0 ^a	153,9 ^b	151,9 ^b	146,8 ^b	32,2	308,9	296,2	297,2	292,2	13,2
18 : 1n7	16,2 ^a	10,3 ^b	9,6 ^b	10,1 ^b	1,9	16,9 ^a	15,6 ^b	15,7 ^b	15,1 ^b	0,8
20 : 1n9	6,0 ^a	3,7 ^b	4,0 ^b	3,3 ^b	1,1	5,3 ^a	4,8 ^{ab}	5,0 ^{ab}	4,4 ^b	0,5
Ostatní	1,2	1,5	1,5	2,8	1,6	0,8	0,7	1,0	0,7	0,4
Celkem	250,7 ^a	173,4 ^b	171,2 ^b	166,6 ^b	36,4	367,4 ^a	326,6 ^b	331,8 ^b	327,8 ^b	15,0
Polynenasycené MK										
18 : 2n6	262,3	296,2	281,9	269,0	38,9	236,3 ^{ab}	251,7 ^a	249,0 ^{ab}	228,2 ^b	17,1
CLA	0,6 ^a	11,5 ^{bc}	9,6 ^b	14,5 ^c	3,5	0,5 ^a	29,7 ^b	22,9 ^c	43,6 ^d	5,0
18 : 3n3	19,6 ^a	18,6 ^{ab}	15,1 ^{ab}	13,3 ^b	4,2	62,5	64,1	63,0	58,8	5,3
20 : 2n6	1,5	11,5	12,9	10,2	2,8	2,4 ^a	2,2 ^{ab}	2,4 ^a	1,8 ^b	0,4
20 : 3n6	6,6 ^a	5,0 ^b	5,0 ^b	3,4 ^c	1,1	0,4	0,3	0,4	0,3	0,1
20 : 4n6	43,5	43,4	38,9	29,3	12,1	1,4 ^a	0,8 ^b	1,0 ^b	0,8 ^b	0,2
20 : 5n3	0,9 ^{ab}	1,9 ^a	0,6 ^b	1,0	1,0 ^{ab}	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1
22 : 4n6	6,5 ^{ab}	6,6 ^a	5,9 ^{ab}	3,5 ^b	1,4	0,7	0,6	1,1	0,5	0,8
22 : 5n3	4,9	5,9	5,1	4,8	1,0	1,0	0,8	0,9	0,8	0,2
22 : 6n3	1,8	1,8	1,7	2,4	1,4	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0
Ostatní	3,5	4,0	3,1	1,0	2,9	2,2	2,0	1,8	1,7	0,5
Celkem	361,7	406,4	379,8	352,4	58,2	307,7 ^a	352,5 ^b	342,8 ^b	336,8 ^{ab}	24,0

¹ 10 králíků ve skupině

² Olej obsahující 63,8% CLA

^{abc} Hodnoty ve stejném řádku s různými indexy se významně liší (P < 0,05)

Tab. 8. Distribuce isomerů CLA v dietě, masu hřbetu a stehna, játrech a ledvinovém tuku králíků¹ krmených dietou kontrolní a dietami s CLA (průměrné hodnoty a RMSE)

	CLA ² (g/kg diety)	Dny příjmu CLA	Isomery CLA				
			$\sum t,t$	<i>c9,t11</i>	<i>t10,c12</i>	$\sum c,c$	Ostatní
Dieta	-	-	1,2	549,0	439,6	10,2	0,0
Hřbet	5	1. – 42.	6,9 ^a	464,9 ^a	466,4 ^a	9,8	52,0
	5	22. – 42.	7,1 ^a	476,2 ^a	476,6 ^a	9,8	30,3
	10	22. – 42.	7,0 ^a	474,0 ^a	459,5 ^a	7,4	52,1
		RMSE:	3,5	42,4	38,5	4,5	52,3
Stehno	5	1. – 42.	7,3 ^a	435,2 ^a	534,3 ^b	10,4	12,8
	5	22. – 42.	7,3 ^a	429,8 ^a	537,0 ^b	10,8	15,1
	10	22. – 42.	6,9 ^a	438,9 ^a	531,5 ^b	10,7	12,0
		RMSE:	1,1	16,3	13,4	1,0	25,4
Játra	5	1. – 42.	15,9 ^b	458,0 ^a	489,8 ^{ab}	6,4	29,9
	5	22. – 42.	17,0 ^b	458,0 ^a	477,8 ^{ab}	7,8	39,4
	10	22. – 42.	22,5 ^b	460,0 ^a	461,6 ^a	7,9	48,0
		RMSE:	7,4	55,6	48,1	5,3	54,2
Tuk	5	1. – 42.	6,4 ^a	386,4 ^b	535,8 ^b	10,6	60,8
	5	22. – 42.	6,4 ^a	393,7 ^b	540,2 ^b	9,9	49,8
	10	22. – 42.	6,0 ^a	400,6 ^b	540,8 ^b	11,0	41,6
		RMSE:	0,9	38,1	60,6	3,1	77,0

¹ 10 králíků ve skupině

² Olej obsahující 63,8% CLA

^{ab} Hodnoty ve stejném řádku s různými indexy se významně liší (P < 0,05)

9.4. Diskuse

CLA u králíků nevykázala růstově stimulační účinek. To souhlasí s tím, co uvádějí Lee a kol. (1994) a Corino a kol. (2002, 2003). Vliv CLA na chemické složení masa byl okrajový. Naproti tomu vliv CLA na profil MK v tkáních byl velmi výrazný. Zvýšení podílu nasycených MK na úkor mononenasycených MK odpovídá tomu, co bylo na předchozích stránkách vícekrát zmíněno u jiných živočišných druhů. Malé množství CLA v tkáních kontrolních králíků (0,5 – 0,9 mg/g MK) je asi důsledkem metabolismu nenasycených MK v slepém střevu a následné cékotrofie. Příklad CLA do krmiva pozoruhodným způsobem

zvýšil obsah CLA ve všech analyzovaných tkáních. Obsah CLA v mase králíků značně převýšil obsah CLA v mase přežvýkavců (viz Tab. 1 vs. Tab. 6). Důsledkem zvýšení obsahu CLA v tkáních bylo i zvýšení obsahu celkových polynenasycených MK.

Isomery CLA se v tkáních nehromadily úměrně jejich zastoupení v dietě. Relativní zastoupení isomeru *c9, t11* CLA bylo v tkáních nižší než zastoupení *t10, c12* CLA. U jiných zvířat je tomu opačně (viz předchozí kapitoly). Zastoupení isomeru *c9, t11* CLA bylo v tkáních vždy nižší než v dietě. Zde je nutno podotknout, že CLA se může metabolizovat tak jako jiné MK, tzn. může být oxidována, její řetězec může být prodloužen a desaturací v něm mohou vzniknout další dvojnásobné vazby. Frakce CLA $\sum trans, trans, \sum cis, cis$ a „Ostatní CLA“ uvedené v Tab. 8 mohou tudíž zahrnovat i konjugované MK jiné než C 18:2.

10. Shrnutí poznatků o CLA

Je málo tak jednoduchých sloučenin, které vzbudily stejný zájem jako konjugovaná kyselina linolová. Počáteční euforii z řady pozoruhodných účinků ve vztahu k rozšířeným onemocněním a obezitě (i obezita je pokládána za onemocnění) vystřídal určité vystřízlivění, neboť klinické pokusy vesměs nepotvrdily výsledky pokusů na zvířatech. Je otázkou, proč tomu tak je, zdá se však, že příčinou jsou etické a metodické problémy spojené s realizací pokusů s lidmi, spíše než rozdílný mechanismus účinku CLA u zvířat a lidí. Při pokusech se zvířaty lze sestavit velké skupiny zvířat stejného genotypu, věku a stejně krmených po neomezenou dobu. Po ukončení experimentu nečiní potíže odebrat vzorky tkání. Tuto preciznost je při pokusech s lidmi prakticky nemožné docílit. Nelze také u lidí studovat vliv CLA na experimentálně vyvolanou kancerogenezi či transplantovat tumor.

Při hodnocení účinků CLA je třeba mít na paměti, že účinky dvou hlavních isomerů *cis-9, trans-11* a *trans-10, cis-12* se liší. Je např. jisté, že za snížené ukládání tuku v tukové tkáni je odpovědný pouze isomer *trans-10, cis-12*. Tento isomer snižuje také tučnost mléka, krevní lipidy a může zpomalit nástup diabetu typu II. Zdá se, že je i účinnější při snížení rizika vzniku karcinomů. Výsledky pokusů s laboratorními hlodavci prokázaly, že krátkodobé a dlouhodobé účinky CLA se mohou velmi lišit (viz vliv na koncentraci cholesterolu a triacylglycerolů v krvi králíků). Velmi málo je známo o fyziologických účincích dalších isomerů CLA a dalších konjugovaných kyselin.

Dostupnost syntetické CLA umožňuje zvýšit obsah CLA v produktech prasat, drůbeže i králíků. CLA vstupující do potravního řetězce touto cestou se liší od CLA v produktech přežvýkavců vyšším obsahem isomeru *trans-10, cis-12*. Ten je z hlediska možné prevence

civilizačních onemocnění účinnější než isomer *cis*-9, *trans*-11, který u přežvýkavců převládá. Výsledky našeho experimentu ukázaly, že při podání syntetické CLA se králíci liší od ostatních hospodářských zvířat převahou isomeru *trans*-10, *cis*-12 ve všech analyzovaných tkáních. Je to nepochybně důsledek tkáňového metabolismu, proč tomu tak je a jaký je vůbec molekulární mechanismus působení CLA, však dosud není přesně známo.

11. Literatura

- AbuGhazaleh, A.A., Schingoethe, D.J., Hippen, A.R., Kalscheur, K.F.: Conjugated linoleic acid increases in milk when cows fed fish meal and extruded soybeans for an extended period of time. *J. Dairy Sci.* 87: 1758-1766, 2004.
- Akahoshi, A., Koba, K., Ichinose, F., Kaneko, M., Shimoda, A., Nonaka, K., Iwata, T., Yamuchi, Y., Tsutsumi, K., Sugano, M.: Dietary protein modulates the effect of CLA on lipid metabolism in rats. *Lipids* 39: 25-30, 2004.
- Akahoshi, A., Koba, K., Ohkura-Kaku, S., Kaneda, N., Goto, C., Sano, H., Iwata, T., Yamauchi, Y., Tsutsumi, K., Sugano, M.: Metabolic effects of dietary conjugated linoleic acid (CLA) in rats. *Nutr. Res.* 23: 1691-1701, 2003.
- Alvarez, C., Cachaldora, P., Méndez, J., García-Rebollar, P., De Blas, J.C.: Effects of dietary conjugated linoleic acid and fish oil supplementation on performance and egg quality in laying hens. *Br. Poult. Sci.* 45: 524-529, 2004.
- Aydin, R., Cook, M.E.: The effect of dietary conjugated acid on egg yolk fatty acids and hatchability in Japanese quail. *Poult. Sci.* 83: 2016-2022, 2004.
- Badiani, A., Montellato, L., Bochicchio, D., Anfossi, P., Zanardi, E., Maranesi, M.: Selected nutrient contents, fatty acid composition, including conjugated linoleic acid, and retention values in separable lean from lamb rib loins as affected by external fat and cooking method. *J. Agr. Food Chem.* 52: 5187-5194, 2004.
- Banni, S., Carta, G., Angioni, E., Murru, E., Scanu, P., et al.: Distribution of conjugated linoleic acid and metabolites in different lipid fractions in the rat liver. *J. Lipid Res.* 42: 1056-1061, 2001.
- Bee, G.: Dietary conjugated linoleic acids alter adipose tissue and milk lipids of pregnant and lactating sows. *J. Nutr.* 130: 2292-2298, 2000.
- Bee, G.: Dietary conjugated linoleic acids affect tissue lipid composition but not de novo lipogenesis in finishing pigs. *Anim. Res.* 50: 383-399, 2001.

- Belury, M.A.: Dietary conjugated linoleic acid in health: physiological effects and mechanisms of action. *Annu. Rev. Nutr.* 22: 505-531, 2002.
- Bhattacharya, A., Banu, J., Rahman, M., Causey, J., Fernandes, G.: Biological effects of conjugated linoleic acid in health and disease. *J. Nutr. Biochem.* 17: 789-810, 2006.
- Bissonauth, V., Chouinard, Y., Marin, J., Leblanc, N., Richard, D., Jacques, H.: The effects of t19, c12 CLA isomer compared with C9, t11 CLA isomer on lipid metabolism and body composition in hamsters. *J. Nutr. Biochem.* 17: 597-603, 2006.
- Chalupa, W., Kutches, A.J.: Biohydrogenation of linoleic-1-¹⁴C acid by rumen protozoa. *J. Anim. Sci.* 27: 1502-1508, 1968.
- Chin, S.F., Liu, W., Storkson, J.M., Ha, Y.L., Pariza, M.W.: Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. *J. Food Comp. Anal.* 5: 185-197, 1992.
- Chin, S.F., Storkson, J.M., Albright, K.J., Pariza, M.W.: Conjugated linoleic-acid (9,11-octadecadienoic and 10,12- octadecadienoic acid) is produced in conventional but not germ-free rats fed linoleic-acid. *J. Nutr.* 124: 694-701, 1994.
- Corino, C., Filetti, F., Gambacorta, M., Manchisi, A., Magni, S., Pastorelli, G., Rossi, R., Maiorano, G.: Influence of dietary conjugated linoleic acids (CLA) and age at slaughtering on meat quality and intramuscular collagen in rabbits. *Meat Sci.* 66: 97-103, 2003.
- Corino, C., Lo Fiego, D.P., Macchioni, P., Pastorelli, G., Di Giancamillo, A., Domeneghini, C., Rossi, R.: Influence of dietary conjugated linoleic acids and vitamin E on meat quality, and adipose tissue in rabbits. *Meat Sci.* (v tisku).
- Corino, C., Mourot, J., Magni, S., Pastorelli, G., Rosi, F.: Influence of dietary conjugated linoleic acid on growth, meat quality, lipogenesis, plasma leptin and physiological variables of lipid metabolism in rabbits. *J. Anim. Sci.* 80: 1020-1028, 2002.
- Corino, C., Pastorelli, G., Douard, V., Rossi, R., Musella, M., Mourot, J.: Conjugated linoleic acid in pig nutrition. *Prod. Anim.* 19: 39-46, 2006.
- Czauderna, M., Kowalczyk, J., Niedźwiedzka, K.M., Wąsowska, I., Pastuszewska, B., Bulska, E., Ruszczynska, A.: Liver and body mass gain, content of conjugated linoleic acid (CLA) isomers and other fatty acids in the liver of rats fed CLA isomers and selenium. *J. Anim. Feed Sci.* 13: 353-369, 2004.
- Czauderna, M., Kowalczyk, J., Wąsowska, I., Niedźwiedzka, K.M., Pastuszewska, B.: The effects of selenium and conjugated linoleic acid (CLA) isomers on fatty acid

- composition, CLA isomer content in tissues, and growth of rats. *J Anim Feed Sci* 12: 865-881, 2003.
- Daniel, Z.C.T.R., Richards, S.E., Salter, A.M., Buttery, P.J.: Insulin and hexamethazone regulate stearoyl-CoA desaturase mRNA levels and fatty acid synthesis in ovine adipose tissue. *J. Anim. Sci.* 82: 231-237, 2004a.
- Daniel, Z.C.T.R., Wynn, R.J., Salter, A.M., Buttery, P.J.: Differing effects of forage and concentrate diets on the oleic acid and conjugated linoleic acid content of sheep tissues: The role of stearoyl-CoA desaturase. *J. Anim. Sci.* 82: 747-758, 2004b.
- Dannenberger, D., Neurnberg, G., Scollan, N., Schabbel, W., Steinhart, H., Ender, K., Neurnberg, K.: Effect of diet on the deposition of *n*-3 fatty acids, conjugated linoleic and C 18:1 *trans* fatty acid isomers in muscle lipids of German Holstein bulls. *J. Agr. Sci.* 52: 6607-6615, 2004.
- De Deckere, E.A., Van Amelsvoort, J.M., McNeil, G.P., Jones, P.: Effects of conjugated linoleic acid (CLA) isomers on lipid levels and peroxisome proliferation in the hamster. *Br. J. Nutr.* 82: 309-317, 1999.
- De La Torre, A., Gruffat, D., Durand, D., Micol, D., Peyron, A., Scislowski, V., Bauchart, D.: Factors influencing proportion and composition of CLA in beef. *Meat Sci.* 73: 258-268, 2006.
- Demirel, G., Wood, J.D., Enser, M.: Conjugated linoleic acid content of the lamb muscle and liver fed different supplements. *Small Rumin. Res.* 53: 23-28, 2004.
- Du, M., Ahn, D.U.: Dietary CLA affects lipid metabolism in broiler chicks. *Lipids* 38: 505-511, 2003.
- Dufey, P.A.: Fleisch ist eine CLA-Nährungsquelle. *Agrarforschung* 6: 177-180, 1999.
- Engelke, C.F., Siebert, B.D., Gregg, K., Wright, A.D.G., Vercoe, P.E.: Kangaroo adipose tissue has higher concentrations of cis9, trans11-conjugated linoleic acid than lamb adipose tissue. *J. Anim. Feed Sci.* 13: 689-692, 2004.
- Enser, M., Scollan, N.D., Choi, N.J., Kurt, E., Hallett, K., Wood, J.D.: Effect of dietary lipid on the content of conjugated linoleic acid (CLA) in beef muscle. *Anim. Sci.* 69: 143-146, 1999.
- Faulconnier, Y., Arnal, M.A., Mirand, P.P., Chardigny, J.M., Chilliard, Y.: Isomers of conjugated linoleic acid decrease plasma lipids and stimulate adipose tissue lipogenesis without changing adipose Weight in post-prandial adult sedentary or trained Wistar rat. *J. Nutr. Biochem.* 15: 741-748, 2004.

- Gatlin, L.A., See, M.T., Larick, D.K., Lin, X., Odle, J.: Conjugated linoleic acid in combination with supplemental dietary fat alters pork fat quality. *J. Nutr.* 132: 3105-3112, 2002.
- Gaullier, J., Halse, J., Hoye, K., Kristiansen, K., Fagertun, H., Vik, H., Gudmundsen, O.: Conjugated linoleic acid supplementation for 1 y reduces body mass in healthy overweight humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 79: 1118-1125, 2004.
- Gaullier, J., Halse, J., Hoye, K., Kristiansen, K., Fagertun, H., Vik, H., Gudmundsen, O.: Supplementation with conjugated linoleic acid for 24 months is well tolerated by and reduces body fat mass in healthy, overweight humans. *J. Nutr.* 135, 778-784, 2005.
- Gavino, V.C., Gavino, G., Leblanc, M.J., Tuchweber, B.: An isomeric mixture of conjugated linoleic acids but not pure cis-9, trans-11-octadecadienoic acid affects body weight gain and plasma lipids in hamsters. *J. Nutr.* 130: 27-29, 2000.
- Gulati, S.K., McGrath, S., Wynn, P.C., Thomson, P.C., Scott, T.W.: Rumen protected fat reverses the conjugated linoleic acid induced low milk fat content in dairy cows. *Can. J. Anim. Sci.* 86, 63-70, 2006.
- Ha, Y.L., Grimm, N.K., Pariza, M.W.: Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis* 8: 1881-1887, 1987.
- Husvéth, F., Kovács, G., Wágner, L., Pál, P.: Effect of dietary conjugated linoleic acid on the fatty acid composition of egg yolk, liver and adipose tissue in laying hens. *Arch Geflügelk* 69: 213-218, 2005.
- Inoue, N., Nagao, K., Hirata, J., Wang, Y.M., Yanagita, T.: Conjugated linoleic acid prevents the development of essential hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 323: 679-684, 2004.
- Ip, C., Chin, S.F., Scimeca, J.A., Pariza, M.W.: Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivate of linoleic acid. *Cancer Res.* 51: 6118-6124, 1991.
- Ivan, M., Mir, P.S., Koenig, K.M., Rode, L.M., Neill, L., Entz, T, et al.: Effects of dietary sunflower seed oil on rumen protozoa population and tissue concentration of conjugated linoleic acid in sheep. *Small Rumin. Res.* 41: 215-227, 2001.
- Kellens, M.J., Goderis, H.L., Tobback, P.P.: Biohydrogenation of unsaturated fatty acids by a mixed culture of rumen microorganisms. *Biotechnol. Bioeng.* 28: 1268-1276, 1986.
- Kelley, D.S., Bartolini, G.L., Warren, J.M., Simon, V.A., Mackey, B.E., Erickson, K.L.: Contrasting effects of t10, c12- and c9, t11- conjugated linoleic acid isomers on the fatty acid profiles of mouse liver lipids. *Lipids* 39: 135-141, 2004.

- Kepler C.R., Tove, S.B.: Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. III. Purification and properties of a linoleate Δ^{12} -*cis*, Δ^{11} -*trans*-isomerase from *Butyrivibrio fibrisolvens*. J. Biol. Chem. 242: 5686-5692, 1967.
- Kim, E.J., Holthuizen, P.E., Park, H.S., Ha, Y.L., Jung, K.C., Park, J.H.: *Trans*-10, *cis*-12-conjugated linoleic acid inhibits Caco-2 colon cancer cell growth. Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 283: G357, 2002.
- Kim, H.K., Kim, S.R., Ahn, J.Y., Cho, I.J., Yoon, C.S., Ha, T.Y.: Dietary conjugated linoleic acid reduces lipid peroxidation by increasing oxidative stability in rats. J. Nutr. Sci. Vitam. 51: 8-15, 2005.
- Kramer, J.K.G., Sehat, N., Dugan, M.E.R., Mossoba, M.M., Yurawecz, M.P., Roach, J.A.G., Eulitz, K., Aalhus, J.L., Schaefer, A.L., Ku, Y.: Distributions of conjugated linoleic acid (CLA) isomers in tissue lipid classes of pigs fed a commercial CLA mixture determined by gas chromatography and silver ion high-performance liquid chromatography. Lipids 33: 549-558, 1998.
- Kritchevsky, D., Tepper, S.A., Wright, S., Tso, P., Czarnecki, S.K.: Influence of conjugated linoleic acid (CLA) on establishment and progression of atherosclerosis in rabbits. J. Am. Coll. Nutr. 19: 472S-477S, 2000.
- Kudrna, V., Marounek, M.: The influence of feeding rapeseed cake and extruded soyabean on the performance of lactating cows and the fatty acid pattern of milk. J. Anim. Feed Sci. 15: 361-370, 2006.
- Lauridsen, C., Mu, H., Henckel, P.: Influence of dietary conjugated linoleic acid (CLA) and age at slaughtering on performance, slaughter- and meat quality, lipoproteins, and tissue deposition of CLA in barrows. Meat Sci. 69, 393-399, 2005.
- Lee, K.N., Kritchevsky, D., Pariza, M.W.: Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. Atherosclerosis 108: 19-25, 1994.
- Lin, T.Y.: Conjugated linoleic acid production by cells and enzyme extract of *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* with additions of different fatty acids. Food Chem. 94: 437-441, 2006.
- Lock, A.L., Garnsworthy, P.C.: Independent effects of dietary linoleic and linoleic fatty acids on the conjugated linoleic acid content of cows' milk. Anim. Sci. 74: 163-176, 2002.
- Lock, A.L., Garnsworthy, P.C.: Seasonal variation in milk conjugated linoleic acid and Δ^9 -desaturase activity in dairy cows. Livestock Prod. Sci. 79, 47-59, 2003.

- Loor, J.J., Herbein, J.H.: Alterations in blood plasma and milk fatty acid profiles of lactating Holstein cows in response to ruminal infusion of a conjugated linoleic acid mixture. *Anim. Res.* 50: 463-476, 2001.
- Loor, J.J., Herbein, J.H.: Dietary canola or soybean oil with two levels of conjugated linoleic acids (CLA) alter profiles of 18:1 and 18:2 isomers in blood plasma and milk fat from dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 103: 63-83, 2003.
- Loor, J.J., Soriano, F.D., Lin, X., Herbein, J.H., Polan, C.E.: Grazing allowance after the morning or afternoon milking for lactating cows fed a total mixed ration (TMR) enhances *trans*-11-18:1 and *cis*9, *trans*11-18:2 (rumenic acid) in milk fat to different extents. *Anim. Feed Sci. Technol.* 109: 105-119, 2003.
- Loor, J.J., Ueda, K., Ferlay, A., Chilliard, Y., Doreau, M.: Intestinal flow and digestibility of *trans* fatty acids and conjugated linoleic acids (CLA) in dairy cows fed a high-concentrate diet supplemented with fish oil, linseed oil, or sunflower oil. *Anim. Feed Sci. Technol.* 119, 203-225, 2005.
- Ma, D.W.L., Wierzbicki, A.A., Field, C.J., Clandinin, M.T.: Conjugated linoleic acid in Canadian dairy and beef products. *J. Agr. Food Chem.* 47: 1956-1960, 1999.
- Marounek, M., Dokoupilová, A., Skřivanová, V., Berladyn A.: Conjugated linoleic acid (CLA) and selenium (Se) content of meat of rabbits fed diets enriched with CLA and Se. *Annals 3rd Rabbit Congress of the Americas (CD ROM)*. Maringa City, Brazil, 21. – 23. 8. 2006.
- Martin, J.C., Valeille, K.: Conjugated linoleic acids: all the same or to everyone its own function? *Reprod. Nutr. Dev.* 42: 525-536, 2002.
- Mills, S.C., Scott, T.W., Russell, G.R., Smith, R.M.: Hydrogenation of C₁₈ unsaturated fatty acids by pure cultures of a rumen micrococcus. *Aust. J. Biol. Sci.* 23: 1109-1113, 1970.
- Mir, P.S., Ivan, M., He, M.L., Pink, B., Okine, B., Goonewardene, L., McAllister, T.A., Weselake, R., Mir, Z.: Dietary manipulation to increase conjugated linoleic acids and other desirable fatty acids in beef: A review. *Can. J. Anim. Sci.* 83: 673-685, 2003.
- Mitchell, P.L., Langille, M.A., Currie, D.L., McLeod, R.S.: Effect of conjugated linoleic acid isomers on lipoproteins and atherosclerosis in the Syrian Golden hamster. *Biochim. Biophys. Acta-Mol. Cell Biol. Lipids* 1734: 269-276, 2005.
- Mougiou, V., Matsakas, A., Petridou, A., et al.: Effect of supplementation with conjugated linoleic acid on human serum lipids and body fat. *J. Nutr. Biochem.* 12: 585-594, 2001.

- Müller, H.L., Kirchgessner, M., Roth, F.X., Stangl, G.I.: Effect of conjugated linoleic acid on energy metabolism in growing-finishing pigs. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 83: 85-94, 2000.
- Munday, J.S., Thompson, K.G., James, K.A.C.: Dietary conjugated linoleic acids promote fatty streak formation in the C57BL/6 mouse atherosclerosis model. *Br. J. Nutr.* 81: 251-255, 1999.
- Navarro, V., Zabala, A., Macarulla, M.T., Fernandez-Quintela, A., Rodriguez, V.M., Simon, E., Portillo, M.P.: Effects of conjugated linoleic acid on body fat accumulation and serum lipids in hamsters fed an atherogenic diet. *J. Physiol. Biochem.* 59: 193-199, 2003.
- Nicolosi, R.J., Rogers, E.J., Kritchevsky, D., Scimeca, J.A., Huth, P.J.: Dietary conjugated linoleic acid reduces plasma lipoproteins and early aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic hamsters. *Artery* 22: 266-277, 1997.
- Noci, F., O'Kiely, P., Monahan, F.J., Stanton, C., Moloney, A.P.: Conjugated linoleic acid concentration in *M. longissimus dorsi* from heifers offered sunflower oil-based concentrates and conserved forages. *Meat Sci.* 69: 509-518, 2005.
- Ochoa, J.J., Farquharson, A.J., Grant, I., Moffat, L.E., Heys, S.D., Wahle, K.W.: Conjugated linoleic acids (CLAs) decrease prostate cancer cell proliferation: different molecular mechanisms for *cis*-9, *trans*-11 and *trans*-10, *cis*-12 isomers. *Carcinogenesis* 25: 1185-1191, 2004.
- Pariza, M.W., Ashoor, S.H., Chu, F.S., Lund, D.B.: Effect of temperature and time on mutagen formation in pan-fried hamburger. *Cancer Lett.* 7: 63-69, 1979.
- Pariza, M.W., Hargraves, W.A.: A beef-derived mutagenesis modulator inhibits initiation of mouse epidermal tumors by 7, 12-dimethyl-benz[a]anthracene. *Carcinogenesis* 6: 591-593, 1985.
- Park, H.S., Ryu, J.H., Yeong, L.H., Park, J.H.Y.: Dietary conjugated linoleic acid (CLA) induces apoptosis of colonic mucosa in 1,2-dimethylhydrazine-treated rats: a possible mechanism of the anticarcinogenic effect of CLA. *Br. J. Nutr.* 86: 549-555, 2001.
- Park, Y., Albright, K.J., Storkson, J.M., Liu, W., Cook, M.E., Pariza, M.W.: Changes in body composition in mice during feeding and withdrawal of conjugated linoleic acid. *Lipids* 34: 243-248, 1999.
- Perfield II, J.W., Delamonte, P., Lock, A.L., Yurawecz, M.P., Bauman, D.E.: *Trans*-10, *trans*-12 conjugated linoleic acid does not affect milk fat yield but reduces Δ^9 -desaturase index in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89: 2559-2566, 2006.

- Petridou, A., Mougios, V., Sagredos, A.: Supplementation with CLA: isomer incorporation into serum lipids and effect on body fat of women. *Lipids* 38: 805-811, 2003.
- Raes, K., Balcaen, A., Dirinck, P., De Winne, A., Claeys, E., Demeyer, D., et al.: Meat quality, fatty acid composition and flavour analysis in Belgian retail beef. *Meat Sci.* 65: 1235-1246, 2003.
- Raes, K., Huyghebaert, G., De Smet, S., Nollet, L., Arnouts, S., Demeyer, D.: The deposition of conjugated linoleic acids in eggs by laying hens fed diets varying in fat level and fatty acid profile. *J. Nutr.* 132: 182-189, 2002.
- Ramsay, T.G., Evock-Clover, C.M., Steele, N.C., Azain, M.J.: Dietary conjugated linoleic acid alters fatty acid composition of pig skeletal muscle and fat. *J. Anim. Sci.* 79: 2152-2161, 2001.
- Risérus, U., Berglund, L., Vessby, B.: Conjugated linoleic acid (CLA) reduced abdominal adipose tissue in obese middle-aged men with signs of the metabolic syndrome: a randomised controlled trial. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 25: 1129-1135, 2001.
- Ryder, J.W., Portocarrero, C.P., Song, X.M., Cui, L., Yu, M., et al.: Isomer-specific antidiabetic properties of conjugated linoleic acid. *Diabetes* 60: 1149-1157, 2001.
- Salminen, I., Mutanen, M., Jauhiainen, M., Aro, A.: Dietary *trans* fatty acids increase conjugated linoleic acid levels in human serum. *Nutr. Biochem.* 9: 93-98, 1998.
- Schmid, A., Collomb, M., Sieber, R., Bee, G.: Conjugated linoleic acid in meat and meat products: A review. *Meat Sci.* 73: 29-41, 2006.
- Shantha, N.C., Crum, A.D., Decker, E.A.: Evaluation of conjugated linoleic-acid concentrations in cooked beef. *J. Agr. Food Chem.* 42: 1757-1760, 1994.
- Shantha, N.C., Ram, L.N., O'Leary, J., Hicks, C.L., Decker, E.A.: Conjugated linoleic acid concentrations in dairy products as affected by processing and storage. *J. Food Sci.* 60: 695-697, 1995.
- Simon, E., Macarulla, M.T., Churrua, I., Fernandez-Quintela, A., Portillo, M.P.: Trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid prevents adiposity but not insulin resistance induced by an atherogenic diet in hamsters. *J. Nutr. Biochem.* 17: 126-131, 2006.
- Sirri, F., Tallarico, N., Meluzzi, A., Franchini, A.: Fatty acid composition and productive traits of broiler fed diets containing conjugated linoleic acid. *Poult. Sci.* 82:1356-1361, 2003.
- Skřivanová, E., Marounek, M., De Smet, S., Raes, K.: Influence of dietary selenium and vitamin E on quality of veal. *Meat Sci.* (přijato k publikaci v r. 2007).
- Smith, S.B., Hively, T.S., Cortese, G.M., Han, J.J., Chung, K.Y., Casteñada, P., Gilbert, C.D., Adams, V.L., Mersmann, H.J.: Conjugated linoleic acid depresses the Δ^9 desaturase

- index and stearyl coenzyme A desaturase enzyme activity in porcine subcutaneous adipose tissue. *J. Anim. Sci.* 80: 2110-2115, 2002.
- Stangl, G.I., Müller, H. Kirchgessner, M.: Conjugated linoleic acid effects on circulating hormones, metabolites and lipoproteins, and its proportion in fasting serum and erythrocyte membranes of swine. *Eur. J. Nutr.* 38: 271-277, 1999.
- Szymczyk, B., Pisulewski, P., Szczurek, W., Hanczakowski, P.: The effects of feeding conjugated linoleic acid (CLA) on rat growth performance, serum lipoproteins and subsequent lipid composition of selected rat tissues. *J. Sci. Food Agric.* 80: 1553-1558, 2000.
- Szymczyk, B., Pisulewski, P.: Effects of dietary conjugated linoleic acid on fatty acid composition and cholesterol content of hen egg yolks. *Br. J. Nutr.* 90: 93-99, 2003.
- Szymczyk, B., Pisulewski, P.M., Szczurek, W. Hanczakowski, P.: Effects of conjugated linoleic acid on growth performance, feed conversion efficiency, and subsequent carcass quality in broiler chickens. *Br. J. Nutr.* 85: 465-473, 2001.
- Terpstra, A.H.M., Beynen, A.C., Everst, H., Kocsis, S., Katan, M.B., Zock, P.L.: The decrease in body fat in mice fed conjugated linoleic acid is due to increases in energy expenditure and energy loss in the excreta. *J. Nutr.* 132: 940-945, 2002.
- Thiel-Cooper, R.L., Parrish, F.C.Jr., Sparks, J.C., Wiegand, B.R. Ewan, R.C.: Conjugated linoleic acid changes swine performance and carcass composition. *J Anim Sci* 79: 1821-1828, 2001.
- Thom, E., Wadstein, J., Gudmundsen, O.: Conjugated linoleic acid reduces body fat in healthy exercising humans. *J. Int. Med. Res.* 29: 392-396, 2001.
- Toomey, S., Harhen, B., Roche, H.M., Fitzgerald, D., Belton, O.: Profound resolution of early atherosclerosis with conjugated linoleic acid. *Atherosclerosis* 187: 40-49, 2006.
- Tricon, S., Burdge, G.C., Kew, S. et al.: Opposing effects of *cis*-9, *trans*-11 and *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid on blood lipids in healthy humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 80: 614-620, 2004.
- Tsuzuki, T., Igarashi, M., Miyazawa, T.: Conjugated eicosapentaenoic acid (EPA) inhibits transplanted tumor growth via membrane lipid peroxidation in nude mice. *J. Nutr.* 134: 1162-1166, 2004.
- Tsuzuki, T., Kawakami, Y., Nakagawa, K., Miyazawa, T.: Conjugated docosahexaenoic acid inhibits lipid accumulation in rats. *J. Nutr. Biochem.* 17: 518-524, 2006.

- Wargent, E., Sennitt, M.V., Stocker, C., et al.: Prolonged treatment of genetically obese mice with conjugated linoleic acid improves glucose tolerance and lowers plasma insulin concentration: possible involvement of PPAR activation. *Lipids Health Dis.* 4: 3, 2005.
- West, D.B., Delany, J.P., Camet, P.M., Blohm, F., Truett, A.A., Scimeca, J.: Effects of conjugated linoleic acid on body fat and energy metabolism in the mouse. *Amer. J. Physiol. – Reg. Integ. Comp. Physiol.* 275: R667-R672, 1998.
- Wiegand, B.R., Parrish, F.C.Jr., Swan, J.E., Larsen, S.T., Baas, T.J.: Conjugated linoleic acid improves feed efficiency, decreases subcutaneous fat, and improves certain aspects of meat quality in Stress-Genotype pigs. *J. Anim. Sci.* 79: 2187-2195, 2001.
- Wilson, T.A., Nicolosi, R.J., Saati, A., Kotyla, T., Kritchevsky, D.: Conjugated linoleic acid isomers reduce blood cholesterol but not aortic cholesterol accumulation in hypercholesterolemic hamsters. *Lipids* , 41, 41-48, 2006.
- Yamazaki, S., Tove, S.B.: Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. Presence of dithionite and an endogenous electron donor in *Butyrivibrio fibrisolvens*. *J. Biol. Chem.* 254: 3812-3817, 1979.
- Yang, L., Huang, Y., Wang, H.Q. Chen, Z.-Y.: Isomeric distribution of conjugated linoleic acid (CLA) in the tissues of layer hens fed a CLA diet. *J. Agric. Food Chem.* 51: 5654-5660, 2003.
- Zambell, K.L., Keim, N.L., Van Loan, M.D. et al.: Conjugated linoleic acid supplementation in humans: effects on body composition and energy expenditure. *Lipids* 35: 777-782, 2000.