

Afslutningsrapport

Indhold i dansk mælk af cis-, transkonjureret linolsyre (CLA) og vaccensyre og disse komponenters ernæringsmæssige betydning

Mejeribrugets ForskningsFond

Rapport nr. 2004-64

December 2004



mejeriforeningen

danish dairy board

Afslutningsrapport

Indhold i dansk mælk og mælkeprodukter af cis-,trans-konjugeret linolsyre (CLA) og vaccensyre og disse komponenters ernæringsmæssige betydning.

Marts 2001 – August 2004

Projektdeltagere:

Adjunkt Ellen Marie Straarup, Biocentrum-DTU, Biokemi og Ernæring, DTU
Lektor Tine Tholstrup, Institut for Human Ernæring, KVL
Forskningsleder Kristen Sejrsen, Afd for Husdyrernæring og –Fysiologi, DJF
Civilingeniør Pia Lund, Biocentrum-DTU, Biokemi og Ernæring, DTU
Lektor Huiling Mu, Biocentrum-DTU, Biokemi og Ernæring, DTU
Lektor Lars Hellgren, Biocentrum-DTU, Biokemi og Ernæring, DTU
Forskningsassistent Marianne Raff, Institut for Human Ernæring, KVL
Seniorforsker Søren Krogh Jensen, Afd for Husdyrernæring og –Fysiologi, DJF
Seniorforsker Bo Thomsen, Afdelingen for Husdyravl og Genetik, DJF
Seniorforsker Mogens Vestergaard, Afd for Husdyrernæring og –Fysiologi, DJF
Seniorforsker Martin Tang Sørensen, Afd for Husdyrernæring og –Fysiologi, DJF
Seniorforsker Stig Purup, Afd for Husdyrernæring og –Fysiologi, DJF

Finansiering:

Mejeribrugets ForskningsFond
FØTEK 3, Direktoratet for FødevareErhverv

Sammendrag

Dette projekt havde til formål at undersøge indholdet af ernæringsfaktorer, *cis*, *trans*-konjugeret linolsyre (CLA) og vaccensyre (18:1,11t/VA), i dansk mælk og i danske mejeriprodukter, samt at klarlægge relationerne mellem mælkeproduktionsbetingelser og indholdet af disse fedtsyrer, og at belyse den ernæringsmæssige betydning af disse fedtsyrers tilstedeværelse i mælkefedt.

Vi undersøgte niveau og variation i dansk mælks indhold af CLA, VA og andre transfedtsyrer, samt forskellige foderkomponenters indflydelse på mælks indhold af disse fedtsyrer. Effekten af type og niveau af tilskudsfordermiddel, grovfodertype og foderrationens fedtsammensætning blev undersøgt, og viste at højt indhold af solsikkefrø (linolsyre) i foderet resulterede i en kraftigere forøgelse af mælks indhold af CLA og VA end rapskager og sojabønner. Majsensilage i forhold til kløvergræsensilage og byg-helsædsensilage medførte et højere CLA og VA indhold i mælken i forsøg med lav energi foder.

Vha. fodringsstrategi, hvor foderets indhold af umættet fedt var højt blev der fremstillet smør med højt indhold af CLA og VA til brug i humanforsøget og i fodringsforsøget med rotter.

Årstidsvariationen viste, at mælk produceret om sommeren havde et højere indhold af CLA og VA i forhold til den produceret om vinteren. Denne effekt var mest udtalt i økologisk mælk. Dette skyldtes hovedsagligt årstidsbestemte forskelle i fodring, og var også afspejlet i mejeriprodukter indkøbt i supermarkedet. Forarbejdning af mælk til f.eks. yoghurt, creme fraiche eller ost havde kun lille eller ingen indflydelse på indholdet af CLA og VA.

Fodringens indflydelse på aktiviteten af forskellige enzymer i yveret blev undersøgt vha. genekspression, da type og mængde af fedt kan påvirke enzymer involveret i fedt-metabolismen. Resultaterne viste, at der ikke var en entydig sammenhæng mellem ekspressionen af lipogene enzymer (Δ^9 -desaturase, acetyl CoA Carboxylase og fedtsyresyntasen) og fedtindholdet i foderet.

I forsøg med rotter og mus undersøgte vi inkorporering og omdannelse af CLA og VA i forskellige væv. CLA fra mælkefedt (CLA c9,t11) blev hovedsaglig inkorporeret i neutrallipider (triglycerider), og derfor mest i fedtvæv, mens fordeling af VA var mere ligeligt fordelt mellem neutrallipider og phospholipider. Ved fodring med VA fandt vi en stigning i inkorporering af CLA c9,t11 i væv relativt til foderet, hvilket viser en omdannelse af VA til CLA, sandsynligvis gennem Δ^9 -desaturase aktivitet. I lever fandt vi en relativ højere inkorporering af CLA c9,t11 i phospholipidklassen phosphatidylethanolamin i forhold til phosphatidylcholin, som igen var højere end for phosphatidylinositol. Dog var der ikke forskel på inkorporering af CLA c9,t11 i organeller isoleret fra leverhomogenat.

I et humanforsøg undersøgte vi CLA's og VA's indflydelse på markører for knogleskørhed og hjerte-karsygdomme. Studiet var et enkelt-blindet randomiseret interventionsstudium med tre parallelle forløb, der varede i 5 uger. 60 unge mænd deltog i forsøget, og de blev tilfældigt udvalgt til en af tre interventionsgrupper, som fik hhv. 1) smør fra fodringsstrategi-forsøg (CLA/VA smør, gruppe V), 2) kontrolsmør beriget med CLA (c9,t11 og t10,c12 ca. 50:50, gruppe CLA) og 3) kontrolsmør (lavt indhold af CLA og VA, gruppe CO). Resultaterne fra dette studium viste i CLA-gruppen en stigning i 8-iso-PGF_{2α}-udskillelsen (hvilket indikerer en prooxidativ virkning) i forhold til kontrolgruppen. Der var ingen forskelle i knoglemarkørerne CrossLabs eller osteocalcin, arteriel elasticitet, C-reaktivt protein-, PAI-1- eller Faktor VII-koncentrationen, blodlipider, insulin- eller glukose koncentrationen mellem kontrol gruppen og CLA-gruppen. V-gruppen havde en 13% lavere HDL kolesterol koncentration efter interventionen i forhold til kontrol gruppen, hvorimod ratioen total kolesterol:HDL kolesterol, som anses for den vigtigste prognostiske risikomarkør mht hjerte-karsygdomme, ikke var forskellig i V og kontrolgruppen. Derudover var der ingen forskelle i effekten af V-kosten og kontrolkosten på ovennævnte parametre. Ratioen c9,t11-CLA:total trans fedt blev brugt som en surrogat markør for omdannelsen af VA til CLA, og ud fra denne kunne det tyde på, at om dannelsen fandt sted.

Effekten af CLA på cancer celler kan delvis forklares ved forøget apoptosis. Signallipidet ceramid spiller også en væsentlig rolle i signalleringen af apoptosis. CLA's indflydelse på ceramidomsætningen er derfor blevet undersøgt i FHS 74 Int Celler for at bestemme om CLA øger ceramid-niveauet i cellerne. Ceramid metabolismen i lever viste, at CLA c9,t11 markant forøgede nedbrydningen af ceramid, mens den ikke påvirkede syntese hastigheden.

English resumé

In the present project, we investigated the contents of the nutrition factors *cis*, *trans* conjugated linoleic acid (CLA) and vaccenic acid (VA) in Danish cow's milk and dairy products to examine the relations between conditions in production and the content of these fatty acids in the milk fat. Furthermore, to determine the nutritional value of these fatty acids found in cow's milk fat.

We investigated the level and variation in the content of CLA, VA and other trans fatty acids in Danish cow's milk, as well as the influence of different feed components on the content of CLA and VA in milk. The effect of type and level of supplemental feed, roughage type, and the fatty acid composition of the ration was examined, and showed that a high content of linoleic acid, as in sunflower seeds, in the feed resulted in higher contents of CLA and VA in cow's milk than did rapeseed cakes and soy beans. Corn silage compared to clover grass silage and barley whole crop silage resulted in higher contents of CLA and VA in the milk in experiments with low energy feed. By feeding the cattle diets high in unsaturated fatty acids (strategy feeding), we produced butter high in CLA and VA (CLA/VA butter). This butter was used in both the human and the animal study with rats.

Season variation was observed with higher CLA and VA contents in the milk produced in the summer compared to winter. This was more pronounced in organic milk than in non-organic milk. This difference was probably a result of season variation of feeding, and was reflected in the dairy products commercially available. The manufacture of milk to dairy products had no or little effect on the content of CLA and VA.

The influence of the type and amount of fat fed to the cattle on enzymes involved in the fat metabolism was examined as the gene-expression of Δ^9 -desaturase, acetyl CoA carboxylase and fatty acid synthase. There was no unambiguous connection between the expression of the enzymes and the fat content in the feed.

In feeding experiments with rats and mice, we examined the incorporation of CLA and VA into plasma and different tissues. CLA from cow's milk fat (CLA c9,t11) was primarily incorporated into neutral lipids (triglycerides) and therefore mostly in adipose tissue, whereas VA was more equally distributed between triglycerides and phospholipids. Feeding the animals a diet containing VA resulted in a relative increase in the incorporation of CLA c9,t11 into adipose tissue and organs compared to the content in the feed, indicating a conversion of VA to CLA c9,t11. In phospholipid classes isolated from rat liver, we found higher content of CLA in phosphatidyl ethanol amine than in phosphatidyl choline, which again was higher than in phosphatidyl inositol. However, there was similar content of CLA in isolated organelles from liver homogenate.

In a human study, we examined the influence of CLA and VA on markers for and arteriosclerosis and osteoporosis. The study was a blinded, randomised parallel intervention study with duration of 5 weeks. 60 young men participated in the study, and was randomly chosen to one of the three intervention groups, which was 1) butter from strategy feeding (CLA/VA butter, group V), 2) control butter added CLA mix (mix of CLA c9,t11 and t10,c12 50:50, group CLA) and 3) control butter (low content of CLA and VA, group CO). The results of this study showed that the CLA diet resulted in an increase in the excretion of the isoprostane 8-iso-PGF_{2α} (indicates a prooxidative influence) compared to the control group. There was no difference in the bone markers CrossLabs or osteocalcin, arterial elasticity, C-reactive protein-, PAI-1-, or factor VII- concentrations, blood lipids or insulin- or glucose concentrations between the CLA- and the control group. After the intervention there was a 13% lower HDL cholesterol concentration in the V group than in the control group, whereas ratio total cholesterol:HDL cholesterol, a better prognostic risk marker, did not differ. There were no further differences in the effect of the V diet and the control diet on the above-mentioned parameters. The ratio c9,t11-CLA: total trans fatty acids, used as a surrogate marker of VA conversion to CLA, was higher in cholesterol esters after V than control indicating a possible conversion of VA to CLA.

The effect of CLA on cancer cells can partly be explained by an increase in apoptosis. The signal lipid ceramide has an important role in the signalling pathway of apoptosis. We have examined the metabolism of ceramide to test if CLA increased the level of ceramide in the FHS 74 Int. cells. CLA c9,t11 had a marked influence on the degradation of ceramide, whereas as it had no effect on the rate of synthesis.

Baggrund

Konjugeret linolsyre (CLA) er en gruppe forskellige umættede fedtsyrer med stor biologisk aktivitet, som har påkaldt sig megen opmærksomhed i de seneste år, da disse fedtsyrer er vist at have en forebyggende virkning overfor nogle af de væsentligste sygdomme med ernæringsmæssig baggrund; hjerte- og karsygdomme, fedme, diabetes og cancer (Pariza 2004).

Den væsentligste CLA-fedtsyre i kosten er 9c,11t linolsyre, den findes naturligt i mælk og mejeriprodukter og kød fra drøvtyggere, og er vist at være særdeles anticarcinogen i celle- og dyremodeller. Det er muligt at påvirke indholdet af denne CLA i mælk ved at ændre fodringen således, at kørerne får mere umættet fedt i foderet, herved øges både mængden af CLA c9,t11 og vaccensyre (VA), som er den dominerende transfedtsyre i komælk (AbuGhazaleh *et al.* 2003). En anden betydningsfuld aktiv CLA-fedtsyre er 10t,12c linolsyre, som findes i syntetisk fremstillede produkter, der typisk har en fordeling på ca. 50:50 mellem isomererne 9c,11t og 10t,12c. Disse kommercielle produkter er anvendt i mange af de hidtil publicerede human-kost- og måltidsforsøg samt fodringsforsøg i dyr, hvorfor effekterne af de enkelte isomerer først de senere år er begyndt at blive belyst.

Dyrestudier har vist, at CLA kan forebygge udviklingen af fedtaflejringer i årevæggen, forbedre insulinfølsomheden og knoglemetabolismen, samt reducere mængden af kropsfedt (Pariza *et al.* 2001, Roche *et al.* 2001, Watkins *et al.* 2001), men dette er endnu ikke velundersøgt i mennesker. Vaccensyre (VA) er en transfedtsyre, der ikke er bevist at have samme ugunstige egenskaber som de transfedtsyrer, der dannes ved delvis hydrogenering, f.eks. elaidinsyre (Willet *et al.* 1993). I dyremodeller er det vist, at VA delvist omdannes til CLA c9,t11. Ydermere er VA også vist at øge serum koncentrationen af CLA c9,t11 i mennesker (Turpienen *et al.* 2002, Salminen *et al.* 1998). Derfor er det muligt, at VA via endogen omdannelse til CLA, kan have lignende positive egenskaber som CLA, som det er vist for brystkræft i dyrestudier (AbuGhazaleh *et al.* 2003). Begge fedtsyrer findes naturligt i mælkefedt, og indholdet kan øges ved fodringsstrategi, hvor foderets fedtsyresammensætning ændres til et indhold med mere umættet fedt.

Formål

Dette projekt havde til formål at undersøge indholdet af ernæringsfaktorerne, *cis*, *trans* konjugeret linolsyre (CLA) og VA, i dansk mælk og i danske mejeriprodukter, at klarlægge relationerne mellem produktionsbetingelser og indholdet af disse fedtsyrer, samt at belyse den ernæringsmæssige betydning af disse fedtsyrers tilstedeværelse i mælkefedt.

Vi har undersøgt:

1. Dansk mælks indhold af CLA, VA og andre transfedtsyrer.
2. Fodringens indflydelse på mælken indhold af CLA, VA og andre transfedtsyrer.
3. Variation i Δ^9 -desaturasens aktivitet.
4. Danske mejeriprodukters indhold af CLA, VA og andre transfedtsyrer.
5. VA's betydning for CLA-deponering i væv og organeller (mus og/eller rotter).
6. CLA og VA's effekt på lipidomsætningen i blodbanen hos mennesket.
7. CLA's cellulære virkningsmekanisme.

Resultater

1 og 2. Dansk mælks indhold af CLA, VA og andre transfedtsyrer og Fodringens indflydelse på mælken indhold af CLA, VA og andre transfedtsyrer.

Niveauet og variationen i dansk mælks indhold af CLA, VA og andre transfedtsyrer samt forskellige foderkomponenters indflydelse på mælken indhold af CLA og VA er belyst. Effekten af type og niveau af tilskudsfordermiddel, grovfodertype og foderrationens fedtsammensætning er undersøgt. Dansk Kvæg og FØJO II har finansieret en del af undersøgelserne og i alt 10 forsøg er gennemført. Oversigt over forsøgsbehandlingerne og deres effekt på mælken CLA- og VA-indhold fremgår af tabel 1.1.

Tabel 1.1 Oversigt over gennemførte undersøgelser og effekten på mælken indhold af CLA og VA

Forsøg	Undersøgt faktor	Andet	CLA (g/100g fedtsyrer)	Vaccensyre (g/100g fedtsyrer)	
I	Kontrol ^a	Intet tilskud	0,68	1,53	
	Rapskager ^a	3,96 kg/d	0,92	2,38	
	Sojabønner ^a	2,90 kg/d	0,79	2,04	
	Solsikkefrø ^a	1,56 kg/d	1,47	4,09	
	SDM/RDM ^b		1,17	2,75	
	Jersey ^b		0,76	2,27	
II	Solsikkefrø	Intet tilskud	0,49	1,07	
		1,0 kg/d	0,84	2,13	
		2,0 kg/d	1,20	3,47	
		3,0 kg/d	1,81	4,79	
III	Korn	4,0 kg	0,28	0,66	
		Rapskage	0,9 kg	0,28	0,72
		Rapsfrø+korn	1,2 kg+1,2 kg	0,39	1,13
IV	Rapsfrø	Intet tilskud	0,44	1,00	
		0,35 kg/d	0,51	1,15	
		0,70 kg/d	0,64	1,51	
V	Græsensilage	50 % af tørstof	0,52	1,49	
		Byg-helsædsensilage	50 % af tørstof	0,54	1,52
VI	Græsensilage	lav energi	0,90	1,73	
		høj energi	0,92	1,78	
		Majsensilage	lav energi	1,64	2,91
		høj energi	1,23	1,78	
VII	Sæsonvariation		0,50-1,26 (højest juni-september, lavest december-april)	1,04-3,36 (højest juni-september, lavest december-april)	
VIII	Laktations nr.		0,92, 0,77 og 0,89 for hhv. 1., 2. og 3. paritet	2,25, 1,90 og 2,25 for hhv. 1. 2. og 3. paritet	
	Afstand fra kælvning		ingen effekt	ingen effekt	
IX	Sæsonvariation		0,51-1,34 (højest juli-august, lavest november-december)	0,99-3,38 (højest juli-august, lavest november-december)	
		Variation mellem og indenfor 8 økologiske gårde		0,39-0,75 (mellem gårde)	0,78-1,64 (mellem gårde)
				0,51-0,97 (min. variation indenfor gårde)	0,81-1,46 (min. variation indenfor gårde)
			0,20-0,86 (max. variation indenfor gårde)	0,39-2,29 (max. variation indenfor gårde)	
X	Variation i tankmælk				
		7 konventionelle gårde	0,53-0,76	0,90-1,51	
		10 økologiske gårde	0,29-0,73	0,48-1,79	

^a Mælken indhold af CLA og VA er opgjort på tværs af race

^b Mælken indhold af CLA og VA er opgjort på tværs af de fire forsøgsbehandlinger

Anvendelse af solsikkefrø med et højt indhold af linolsyre (18:2) resulterede i en kraftigere forøgelse af mælkenes CLA-indhold end både rapskager og sojabønner. Derfor blev en fodringsstrategi med supplement af solsikkefrø anvendt til produktion af mælkefedt (smør) med et højt CLA/VA indhold til brug i et humanstudium og i dyreforsøg (se senere). Majsensilage forårsagede et højere CLA-indhold i mælk end græsensilage og byg-helsædsensilage, men samtidig blev der et andet forhold mellem de forskellige t18:1 isomerer, så 18:1,t10 og ikke VA blev den dominerende isomer. Denne ændring skyldtes sandsynligvis et skift i vommens flora ved fodringen med majsensilage. Desuden var der en kraftig årstidsvariation i mælkenes CLA indhold, hvilket hovedsagligt skyldtes årstidsbestemte forskelle i fodring. CLA indholdet var højest i forårs- og sommermånederne, mens det var lavest i vintermånederne hos staldfødte køer.

Variationen mellem besætninger var generelt stor. Den væsentligste årsag til variationen skyldtes primært forskelle i fodring idet fedtmængde og fedtkilde som det fremgår af tabel 1.1 har stor indflydelse på mælkenes CLA-indhold. Der ses ligeledes en stor variation mellem køer indenfor besætning. Årsagerne hertil er stadig ikke fuldstændig belyst, men tilskrives bl.a. genetiske forskelle og/eller forskelle i omsætning af umættet fedt i vommen. Samlet set viser resultaterne således, at der er stor variation i mælkenes indhold af CLA og at indholdet kan forøges 3-5 gange ved at ændre foderrationens sammensætning.

Smørret fremstillet ved fodringsstrategi med supplement af solsikkefrø havde et højere indhold af både CLA c9,t11 og VA end kontrolsmør (Tabel 1.2)

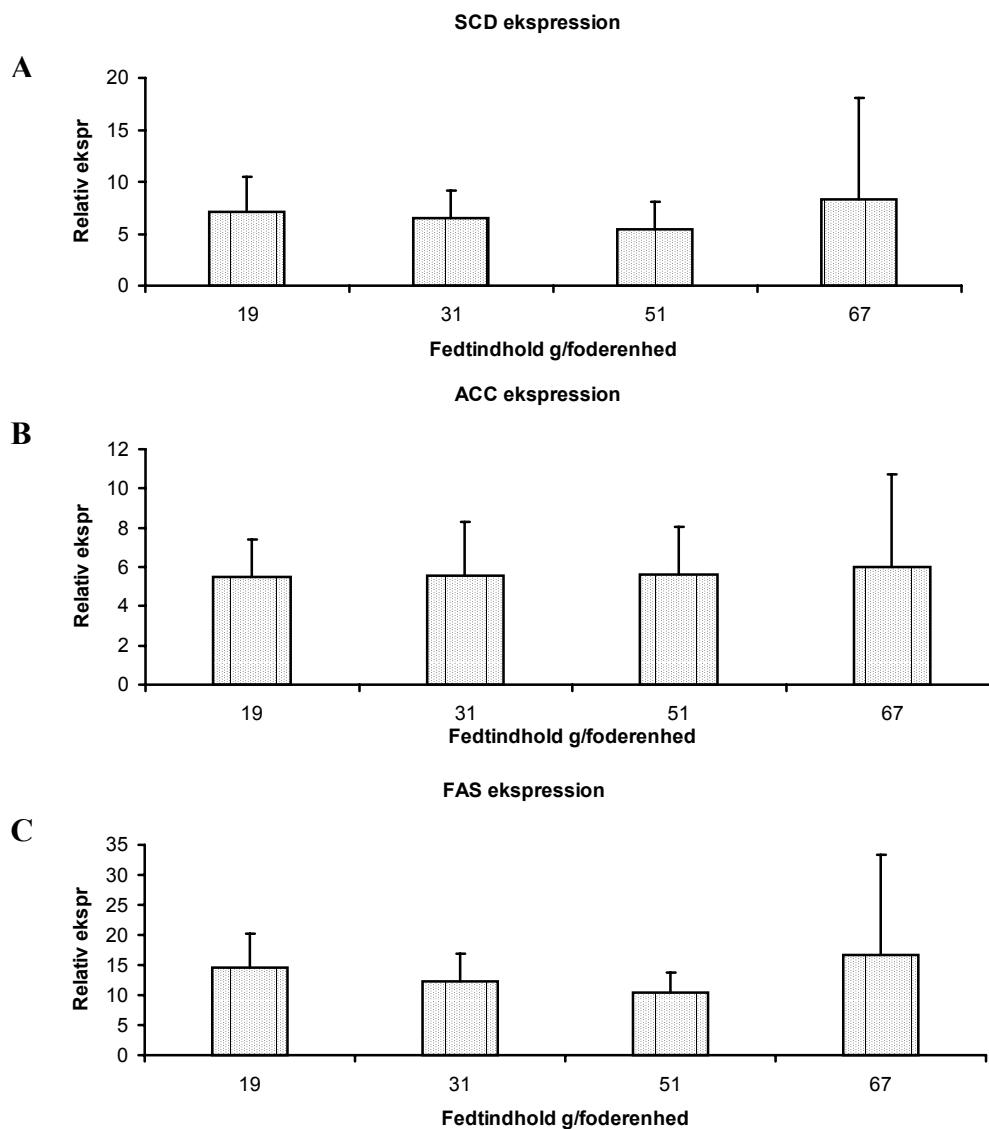
Det var dog ikke kun CLA og VA indholdet, der blev påvirket af denne fodring. Indholdet af andre transfedtsyrer blev også højere og indholdet af de ugunstige mættede fedtsyrer 14:0 og 16:0 blev delvis erstattet af den neutrale (i forhold til udvikling af hjerte-karsygdomme) 18:0. Samtidig steg indholdet af umættet fedt. Det betød, at vi havde to forskellige smørtyper, hvor ikke kun indholdet af CLA og VA var øget (Tabel 1.2).

Tabel 1.2 Fedtsyresammensætningen af smør produceret ved fodringsstrategi

	kontrolsmør	CLA/VA smør
	wt%	
C12:0	3.7	1.5
C14:0	11.7	6.9
C16:0	33.7	16.9
C16:1n-7	1.7	0.8
C18:0	6.6	16.6
t18:1	0.4	1.9
t18:1n-7/VA	0.5	3.6
C18:1n-9	13.9	26.9
C18:1n-7	0.5	1.0
C18:2n-6	1.5	2.0
C18:3 n-3	0.6	0.4
CLA c9,t11	0.3	1.5
Andre	24.9	20.0

3. Variation i Δ^9 -desaturasens aktivitet

I forsøg K-503 blev 4 hold køer blev givet stigende mængder fedt i form af solsikkefrø: 40 % af max fedtnorm (kontrol med sojaskrå); 70 % af max fedtnorm (solsikkefrø); 100 % af max fedtnorm (solsikkefrø); 130 % af max fedtnorm (solsikkefrø). Forsøget omfattede i alt 24 køer, det vil sige 6 på hver hold, og mængden af fedtsyrer øgedes gradvist fra 19 g pr. foderenhed på hold 1 til 67 g på hold 4. Grovfoderet bestod overvejende af kløvergræsensilage. I 5. forsøgsuge blev der udtaget en yverbiopsi, hvorfra der blev isoleret RNA til genekspressionsanalyse ved brug af Real Time RTPCR. Følgende gener er blevet undersøgt: SCD (Steroyl CoA Desaturase/ Δ^9 -desaturase), ACC (Acetyl CoA Carboxylase) og FAS (Fatty Acid Synthase), der alle spiller en rolle i fedtsyre syntese, samt generne ACT (beta-actin) og GAPDH (Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase), som bruges til normalisering af målingerne. Endvidere målt RNA concentrationen i hver prøve til brug for normalisering. Resultaterne (middelværdi og standardafvigelse for hvert hold) er sammenfattede i figur 3.1. Der ses ingen entydig sammenhæng mellem ekspression af de lipogene enzymer og fedtindholdet i foderet.



Figur 3.1 Genekspression målt i yverbiopsier. **A.** Steroyl CoA Desaturase (SCD). **B.** Acetyl CoA Carboxylase (ACC). **C** Fatty Acid Synthase (FAS). Ekspressionmålingerne er normaliseret mod total-RNA i prøverne.

4. Danske mejeriprodukters indhold af CLA, VA og andre transfedtsyrer

Indholdet af CLA c9,t11 og VA blev undersøgt i forskellige mejeriprodukter indkøbt i supermarkeder hhv. om vinteren og sommeren. Resultaterne viste et øget indhold af CLA og VA i mejeriprodukterne fra sommerperioden i forhold til vinterperioden, med undtagelse af fast ost lagret i ca. 12 uger, hvor tidspunktet for produktionen af mælken til osten er afspejlet i ostens fedtsyresammensætning. Den procesteknologiske forarbejdning af mælken havde kun ringe indflydelse på indholdet af CLA og VA. Derimod var der forskel på økologiske og traditionelt fremstillede produkter. Økologiske produkter havde generelt et højere indhold af CLA (0,8-1,1 %) og VA (2,2 –2,8%) end ikke økologiske produkter (CLA: 0,7-0,8%, VA: 1,5-2,0%) om sommeren, dette var dog ikke tilfældet om vinteren.

For produkterne indkøbt om vinteren, blev der lagt særlig vægt på at adskille t18:1 isomererne, og vi fandt 4 forskellige isomerer, som udgjorde ca. 2-3% af fedtet og indholdet af 18:1,t8, 18:1,t9 og 18:1,t10 svarede groft til ca. halvdelen af VA (18:1,t11) indholdet i produkterne.

5. VA's betydning for CLA-deponering i væv og organeller (rotter og mus)

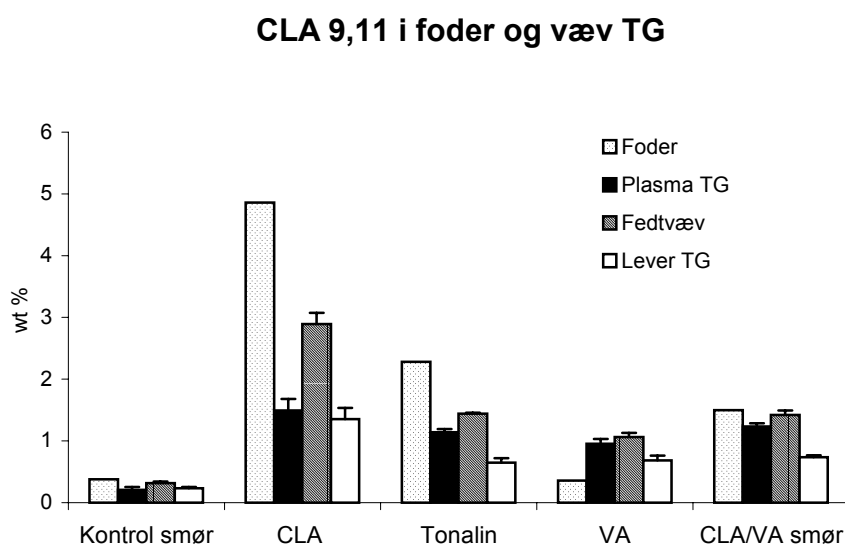
Rotteforsøget

Formålet med rottefodringsforsøget var at undersøge inkorporeringen af CLA og VA i forskellige organer samt undersøge omdannelsen af VA til CLA 9c,11t . Desuden blev indflydelsen af CLA på fedtsyresammensætningen belyst.

Forsøget omfattede 8 grupper rotter: En gruppe fik smør med et højt indhold af CLA og VA (CLA/VA smør, smør fra fodringsstrategiforsøget), og en gruppe fik smør med lavt indhold CLA og VA (kontrolsmør), mens de øvrige 6 grupper fik kontrolsmør, hvoraf 5% var erstattet af henholdsvis CLA 9c,11t, VA, linolsyre, oliesyre, Tonalin (produkt af alkalisk isomerisering af linolsyre ca. 80% CLA med næsten 50:50 indhold af CLA c9,t11 og CLA 10,12) eller tidselolie. Alle rotter fik 10% fedt i foderet.

Både CLA og VA blev inkorporeret i plasma og de undersøgte væv, derudover blev der ikke fundet forskelle i fedtsyreprofilerne, der kunne tilskrives foderets indhold af CLA eller VA.

Indholdet af CLA i triglycerider fra plasma og væv steg med stigende mængde CLA i foderet (Figur 5.1).

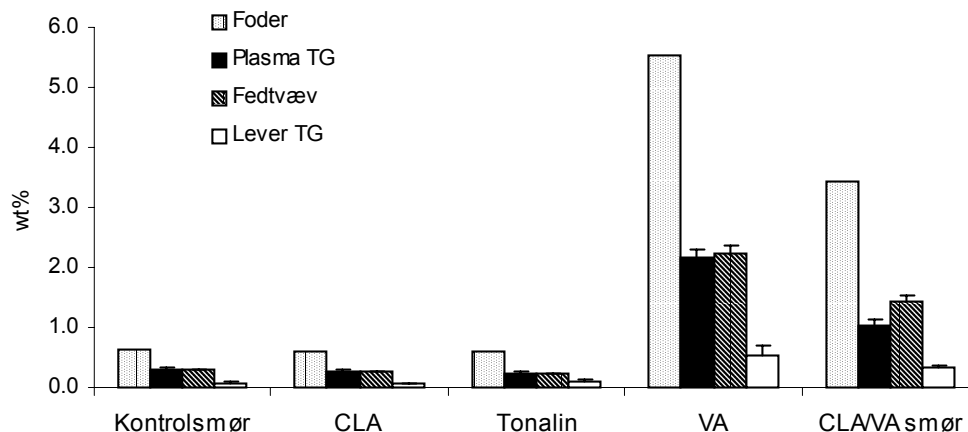


Figur 5.1 Indholdet af CLA c9,t11 i foder, fedtvæv, plasma TG og lever TG fra rotter

Den største inkorporering af CLA blev observeret i fedtvæv, hvor indholdet var 60% af foderets indhold, mens det i leveren kun var 30%. Det fremgår også af figuren, at et stort indhold af VA i foderet medførte en øget inkorporering af CLA (sammenligning af kontrol smør og kontrol smør tilsat VA). Hvilket viser, at der sker en omdannelse af VA til CLA 9c,11t i vævene.

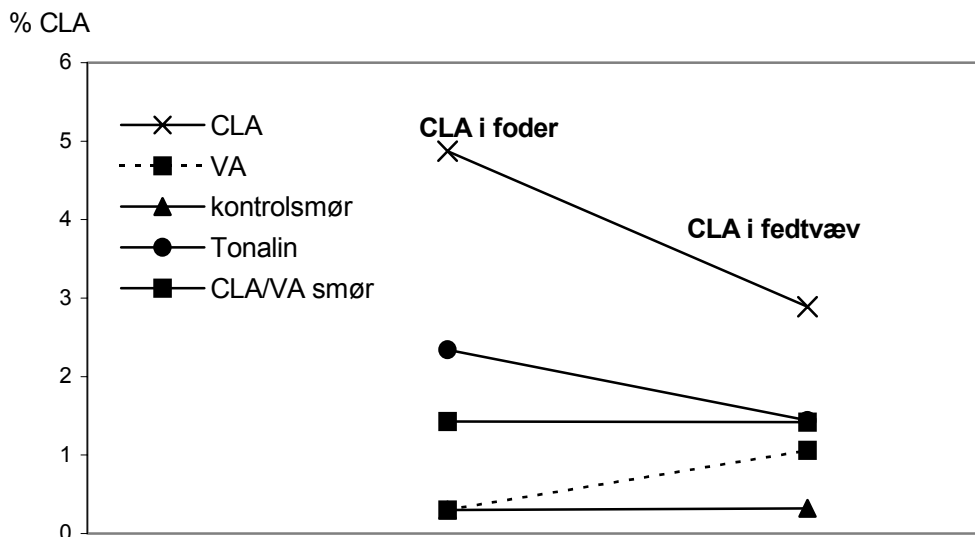
Efter fodring med stigende mængde VA (kontrol smør tilsat VA og CLA/VA smør) steg indholdet af VA i triglycerider fra plasma og væv. Den laveste inkorporering af VA blev observeret i lever triglycerider (Figur 5.2). Derimod var der en høj inkorporering af VA i lever phospholipider (0,2wt% i kontrolsmør, CLA og Tonalin grupperne; 1,0 og 0,7 wt% for VA og CLA/VA grupperne, respektivt).

VA i foder og væv TG



Figur 5.2 Indholdet af VA i foder, fedtvæv, plasma TG og lever TG fra rotter.

Desuden var der en relativ stigning i niveauet af CLA c9,t11 i vævet, når der også var VA i foderet (Figur 5.3).



Figur 5.3 Indhold af CLA c9,t11 i foderet relativt til CLA c9,t11 i fedtvæv. Testefedt i foderet udgjorde 5% af fedtet og var i: CLA gruppen CLA c9,t11, VA gruppen VA, Tonalin-gruppen (blanding af CLA c9,t11 og CLA t10,c12, CLA/VA. I gruppen der fik CLA/VA smør bestod alt fedtet af CLA/VA smør og kontrolsmør svarede til kommercielt tilgængeligt smør.

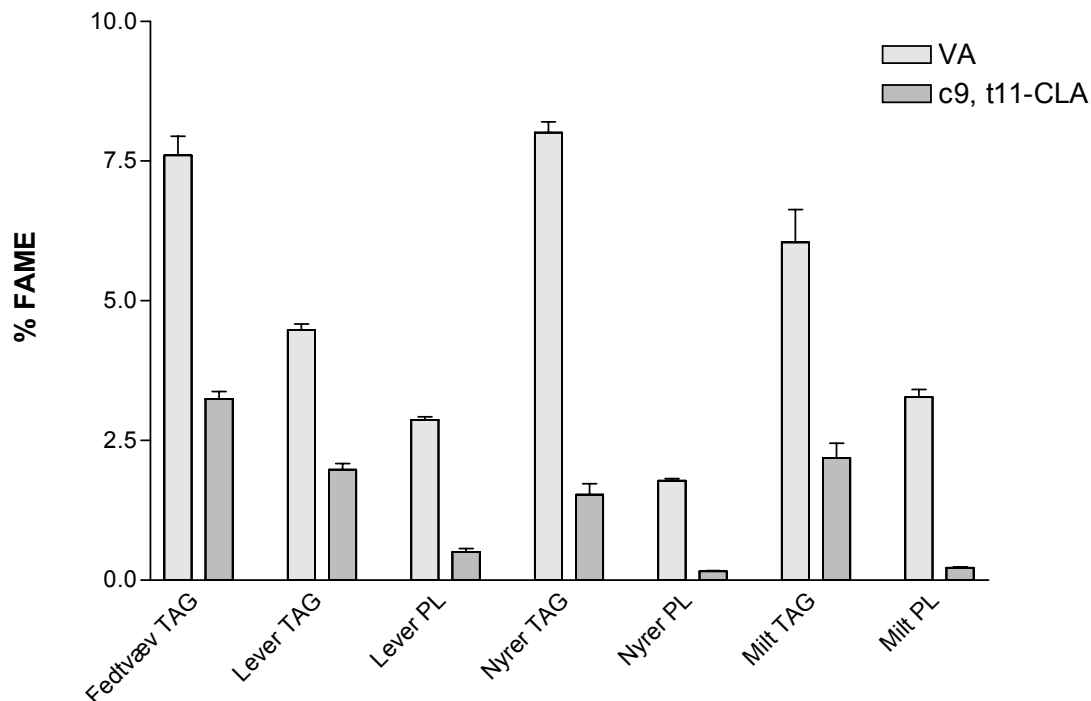
Fodring med Tonalin, der indeholdt de to CLA-isomerer c9,t11 og t10,c12 i større mængde viste, at begge isomerer blev inkorporeret i plasma og væv. I enterocytter var inkorporering af de to isomerer lige stor; mens der i plasma og de øvrige væv fandtes en væsentlig større inkorporering af CLA c9,t11 sammenlignet med CLA t10,c12. Dette antyder en diskriminering af inkorporering af de to isomerer, som først fandt sted efter tarmen og sandsynligvis allerede i blodbanen.

Museforsøget

Formålet med museforsøget var at undersøge desatureringen af VA til CLA ved at bestemme fedtsyreprofiler i lever, nyrer, milt samt fedtvæv og at se på desatureringsindekset som et mål for CLA's virkning på Δ^9 -desaturasen, samt at se på CLA's påvirkning af vævenes indhold af fedtsyrer udover CLA og VA.

Forsøget omfattede 5 grupper mus, der fik henholdsvis VA i to niveauer 5% og 12% af fedtet, 12% CLA mix, oliesyre (18:1n-9) eller linolsyre (18:2n-6). Alle mus fik 10% fedt i foderet.

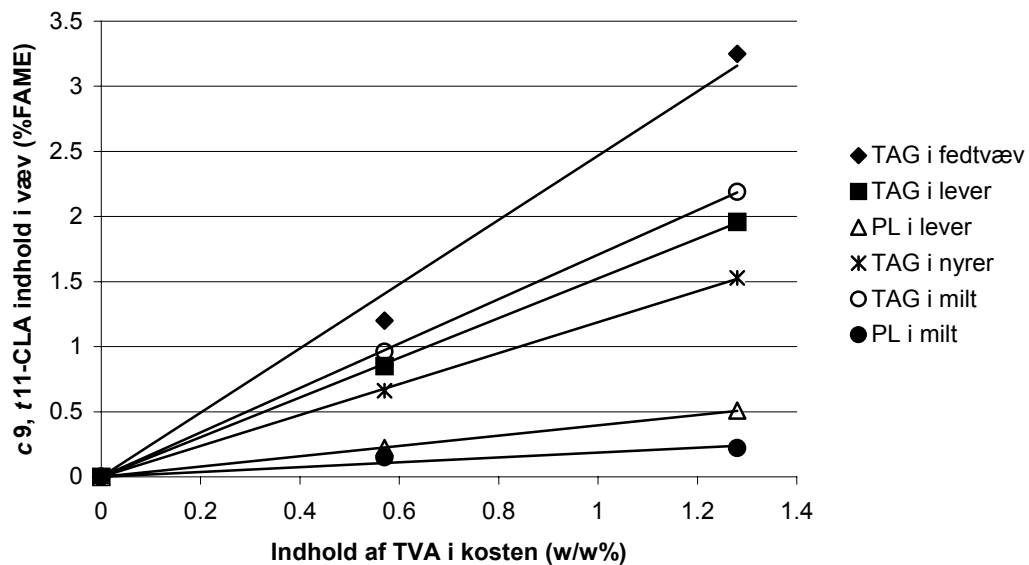
Både VA og CLA blev inkorporeret i vævene. Den højeste koncentration af CLA blev fundet i fedtvæv, som det også var tilfældet i rotteforsøget. Inkorporeringsmønsteret for de øvrige væv svarede også til det fundne i rottefodringsforsøget (figur 5.4).



Figur 5.4 Indholdet af VA og CLA c9,t11 i de analyserede væv fra gruppen af mus, som havde fået VA på højt niveau (12% af fedtet). Værdier er givet som gennemsnit \pm SEM.

FAME = Fatty Acid Methyl Esters (fedtsyremetylestre), TAG = Triglycerid, PL = Phospholipid.

Omdannelsen af VA til CLA c9,t11 var størst i fedtvæv og lever; mens der var mindst omdannelse i nyrerne. Sammenhængen mellem indholdet af VA i foderet og CLA c9,t11 i de analyserede væv er vist i figur 5.5. Denne figur indikerer om end på et spinkelt grundlag, at der er en lineær sammenhæng mellem indholdet af VA i kosten og inkorporeringen af CLA c9,t11 i forskellige væv. Der blev fundet et lavere indhold af arachidonsyre (20:4n-6) samt et lavere desatureringsindeks i væv fra gruppen, der havde fået CLA-mix. Disse effekter må tilskrives foderets indhold af CLA t10,c12, da VA i foderet ikke medførte tilsvarende observation. CLA-mix resulterede i en signifikant højere n-3/n-6 ratio sammenlignet med de andre grupper, mens linolsyregruppen havde den laveste ratio. Dette indikerer, at den observerede effekt skyldtes CLA t10,c12 og ikke CLA c9,t11 og muligvis er et resultat af det lavere indhold af arachidonsyre, som igen er et resultat af den hæmning af Δ^9 -desaturasen indikeret ved et lavere desatureringsindeks (Tabel 5.1).



Figur 5.5 Viser - om end på et spinkelt grundlag - en lineær sammenhæng mellem kostens indhold af VA og indholdet af CLA c9,t11 i de analyserede væv.

FAME = Fatty Acid Methyl Esters (fedtsyremetylestre), TAG = Triglycerid, PL = Phospholipid.

Tabel 5.1 Desatureringsindeks bestemt som forholdet (16:1n-7)/(16:0) og er et indirekte mål for aktivitet af Δ^9 -desaturasen

	oliesyre kontrol 1	VA 5%, lav	VA 12%, høj	CLA mix	linolsyre kontrol 2	SEM
Lever	0.069 ^b	0.091 ^a	0.079 ^{ab}	0.04 ^c	0.067 ^b	0.003
fedtvæv	0.173 ^a	0.195 ^a	0.181 ^a	0.066 ^b	0.155 ^a	0.005
nyrer	0.077 ^a	0.084 ^a	0.087 ^a	0.036 ^b	0.064 ^a	0.003
milt	0.020 ^{ab}	0.023 ^a	0.023 ^a	0.013 ^b	0.018 ^{ab}	0.008

Forskelligt bogstav angiver signifikant forskel mellem grupperne inden for samme vævstype ($P < 0.05$).

Desuden blev der påvist metabolitter af CLA i vævene, formodentlig konjurerede fedtsyrer i form af 18:3 og 20:3, men da vi ikke har apparatur til fuldstændig identifikation af disse fedtsyrer bliver det ved en stærk formodning.

Sammenholdt viser resultaterne fra fodringsforsøgene, at VA omdannes til CLA c9,t11 i flere væv i mus og rotter. CLA c9,t11 inkorporeres primært i neutrallipider, mens CLA t10,c12 i mindre grad men mere ligeligt blev inkorporeret i triglycerider og phospholipider. Dette kan evt. skyldes forskel i metabolismen af de to isomerer, som først sker efter tarmen, da inkorporeringen af de to isomerer var ens i enterocytterne. Desuden var effekterne af CLA på n-3 /n-6 ratio og desatureringsindeks sandsynligvis forårsaget af CLA t10,c12 og ikke CLA c9,t11.

Inkorporering af CLA i lever phospholipidklasser og leverorganeller

I et rottefodringsforsøg undersøgte vi inkorporeringen af CLA c9,t11 fra kontrolsmør og CLA/VA i phospholipidklasser og organeller fra lever, med henblik på at bestemme om der var større præference for inkorporering i bestemte phospholipider og organeller. Phospholipider var isoleret

fra total lever ekstrakt, og forskellige organeller blev isoleret fra leverhomogenat. De isolerede organeller var cellekernen, mitochondrier, lysosomer, det endoplasmatiske retikulum og peroxisomer. Inkorporeringen af CLA c9,t11 i total phospholipid var lavere (0,23 wt%) end i TG (0,73 wt%). Inkorporeringen var ens for alle organeller (ca. 0,2 wt%) svarende til det for total phospholipid. Indholdet i homogenatet var derimod højere (ca. 0,43 wt%), hvilket skyldes et bidrag fra TG. Inkorporering af CLA c9,t11 i forskellige phospholipidklasser viste at CLA c9,t11 i relativ højere grad blev inkorporeret i phosphatidylethanolamin (PE) end i phosphatidylcholine (PC), som igen havde et højere indhold end phosphatidylethanolamin (PI). For CLA t10,c12 var inkorporeringen højest i PC (0,12 wt%), fulgt af PE med ca. 0,08 wt%, mens den ikke blev detekteret i PI. Mængden af isoleret phosphatidylserin var så lav, at resultatet var behæftet med for mange fejl til at resultatet kunne anvendes.

Sammenholdt viser resultaterne, at der er større præference for inkorporering af CLA c9,t11 i PE end PC som igen havde højere indhold end PI, mens CLA t10,c12 havde præference for PC. Men dette var ikke afspejlet i de forskellige organeller.

6. CLA og VAs effekt på lipidomsætningen i blodbanen hos mennesket

Design

Studiet var et enkelt-blindet randomiseret interventionsstudie med tre parallelle forløb, der varede i 5 uger. 60 unge mænd deltog i forsøget, og de blev tilfældigt udvalgt til en af tre interventionsgrupper. De tre grupper fik henholdsvis kost V: rig på vaccensyre (CLA/VA smør), kost C: rig på CLA (hovedsagligt de to isomerer c9, t11 og t10, t12) eller kost CO: (kontrol = kontrolsmør) med et lavt indhold af både CLA og VA. I alt substituerede forsøgskosten 130g af forsøgspersonernes daglige fedtindtag. Der blev taget prøver ved start og slut af interventionen. Fedtsyresammensætningen i testfedtet, er vist i tabel 6.1. De tre kosttyper var identiske mht. indholdet af energi, protein, kulhydrat og den totale mængde fedt.

Tabel 6.1 Sammensætning af testfedtet i kost rig på CLA (C), vaccensyre (V) og af kontrol (CO)

Fedtsyre (mg/g total fedt)	C	V	CO
SUM C4:0-C12:0	167.7	117.4	164.4
C14:0	97.4	59.6	99.5
C16:0	280.26	146.8	283.3
C18:0	54.6	143.9	56.0
t18:1 øvrige	3.2	18.8	3.3
t18:1 n-7	4.5	31.6	4.7
C18:1n-9	115.7	234.1	115.1
CLA 9,11	21.5	12.7	2.8
CLA10,12	18.3	ND	ND
C18:2n-6	12.5	17.7	12.5
SUM C18:2-C20:3	62.0	21.7	34.7

ND = ikke målbar koncentration

Resultater

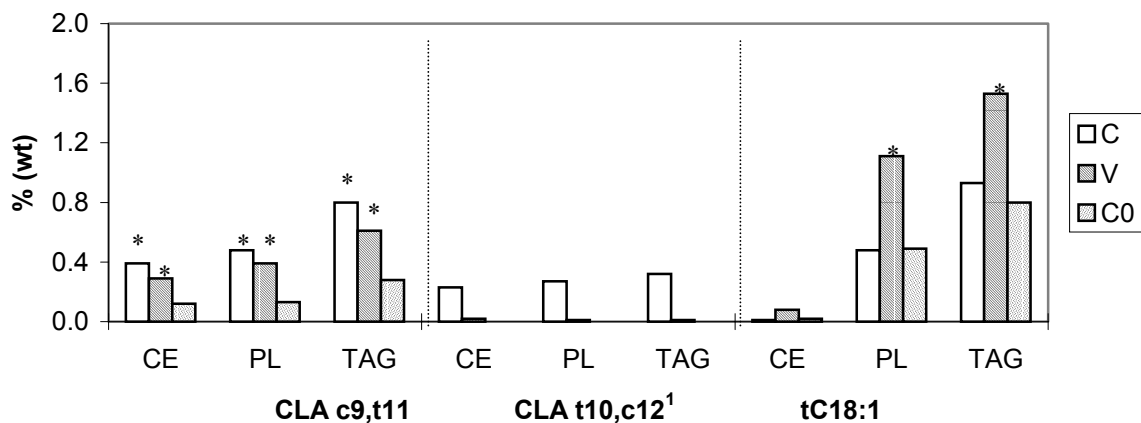
Fedtsyreprofilen af plasma kolesterolestre (CE), phospholipider (PL) og triglycerider (TG)

Indholdet af CLA c9,t11, CLA t10,c12 og trans-fedtsyrer i CE, PL, TAG er præsenteret i figur 6.1. C-kosten resulterede i højere indhold af CLA c9,t11 i CE, PL og TAG end CO-kosten, og V-kosten resulterede i højere indhold end CO-kosten.

Disse resultater afspejler, at C-kosten havde det højeste indhold af CLA c9,t11 og V-kosten et lidt højere indhold end CO-kosten. I V- og CO-gruppen var der kun få forsøgspersoner med målbare koncentrationer af t10,c12-isomerer i lipidfraktionerne, hvilket afspejler den ubetydelige mængde af CLA t10,c12 isomerer i disse gruppers forsøgskost.

Ratioen CLA c9,t11:total trans-fedt i lipidfraktionerne øgedes efter V- og CO-kost i CE i forhold til rationen i de respektive fedtstoffer i forsøgskosten ($P < 0,0001$ for begge), men ikke efter C-kosten (se figur 6.2), der havde et højt indhold af CLA c9,t11 i forhold til transfedt. Dette kunne tyde på, som vi har vist i dyreforsøgene, at en omdannelse af VA til CLA har fundet sted, men det kan ikke udelukkes, at andre mekanismer som f.eks. selektiv lagring eller oxidation ligger bag.

Fedtsyrer i lipidfraktioner

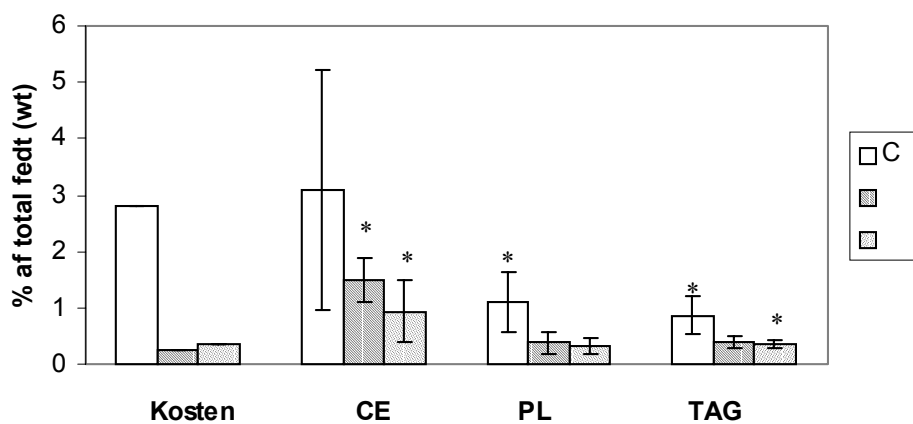


Figur 6.1 De gennemsnitlige koncentrationer af CLA c9,t11, CLA t10,c12 og total C18:1 transfedtsyrer i hhv. kolesterolestre (CE), phospholipider (PL) og triglycerider (TG) efter de to kosttyper rige på CLA (C), vaccensyre (V) eller kontrolkosten (CO).

* større end CO, $P < 0,0001$

¹ for få observationer til udførelse statistisk analyse.

C9,t11-CLA:total transfedt ratio



Figur 6.2 CLA c9,t11: total C18:1 transfedtsyrer ratio \pm SD i kosten og i kolesterolestre (CE), phospholipider (PL) og triglycerider (TG) for de to kosttyper rige på hhv. CLA (C), vaccensyre (V) eller kontrolkosten (CO).

* Forskellig fra kosten, $P < 0,04$. Det fremgår af figuren, at særligt efter V-kosten er denne ratio, og dermed indholdet af CLA c9,t11 større i CE end i kosten, hvilket kunne tyde på at en omdannelse af VA har fundet sted.

Kostregistreringer

Resultaterne fra de to fire-dages kostregistreringer er præsenteret i tabel 6.2.

Tabel 6.2 Sammensætningen af makronæringsstoffer i forsøgspersonkosten under interventionen. Gennemsnitsværdier \pm SD

	C	V	CO
Energi (MJ/dag)	16.56 \pm 2.36*	16.53 \pm 2.82*	13.89 \pm 3.41
Protein (g/MJ)	6.04 \pm 0.97	5.67 \pm 0.88	6.23 \pm 1.75
Kulhydrat (g/MJ)	25.26 \pm 2.90	24.63 \pm 3.25	25.93 \pm 4.29
Total fedt (g/MJ)	11.61 \pm 1.54	11.86 \pm 1.35	11.25 \pm 2.06
-mættet fedt (g/MJ)	6.79 \pm 0.98	6.09 \pm 0.89	6.91 \pm 1.90
-umættet fedt (g/MJ)	2.80 \pm 0.70	3.99 \pm 0.56*	2.69 \pm 0.53
-polyumættet fedt (g/MJ)	1.27 \pm 0.37**	1.01 \pm 0.23	0.98 \pm 0.28

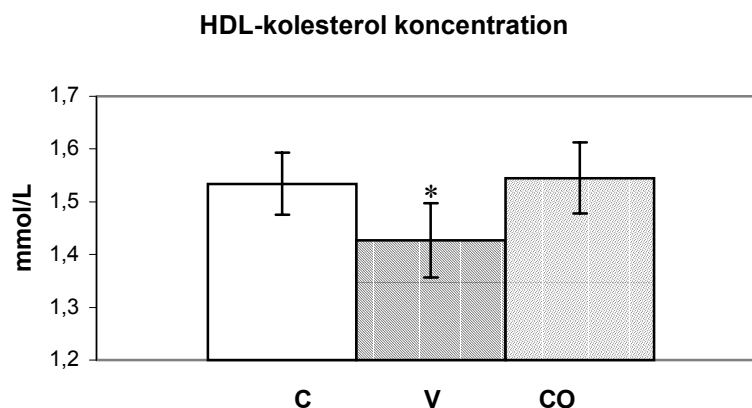
* Signifikant forskellig fra CO, $P < 0,01$

**Signifikant forskellig fra CO, $P < 0,05$

CO-gruppen indtog mindre energi under interventionen ($P < 0,01$ for dem begge) på trods af, at der ingen forskel var i energiindholdet i interventionskosten eller gruppernes antropometriske målinger eller vægt (hverken til start eller undervejs). Derfor kan det lave energiindtag i denne gruppe skyldes underrapportering, hvorfor kostregistreringen blev opgjort som g/MJ. V-gruppen havde et højere indtag af MUFA (monoumættede fedtsyrer) i forhold til CO ($P < 0,01$) og C-gruppen havde et højere indtag af PUFA (flerumættede fedtsyrer) også i forhold til CO ($P < 0,05$). Disse to forskelle kan forklares af fedtsyresammensætningen i testfedtet. Se evt. tabel 6.1.

Plasma blodlipider

V-kosten resulterede i en 13% lavere HDL-kolesterol koncentration i forhold til CO, $P = 0,004$ (se figur 6.3). Der var ingen forskel i effekten af de tre kosttyper på total kolesterol, LDL-kolesterol, TAG eller ratioen total kolesterol:HDL-kolesterol. Effekt på HDL-kolesterol koncentrationen skyldtes sandsynligvis det højere indhold af MUFA og det lavere indhold af mættede fedtsyrer (SFA) i V-kosten i forhold til CO-kosten (se tabel 6.1 for fedtsyresammensætningen i testfedtet). At mælke-transfedtsyrerne skulle have sænket HDL-kolesterol koncentrationen kan ikke udelukkes, men forekommer mindre sandsynligt, da den karakteristiske stigning i LDL-kolesterol-koncentrationen, som normalt forekommer efter transfedtsyrer, der er dannet ved delvis hydrogenering (primært elaidinsyre), ikke blev observeret.

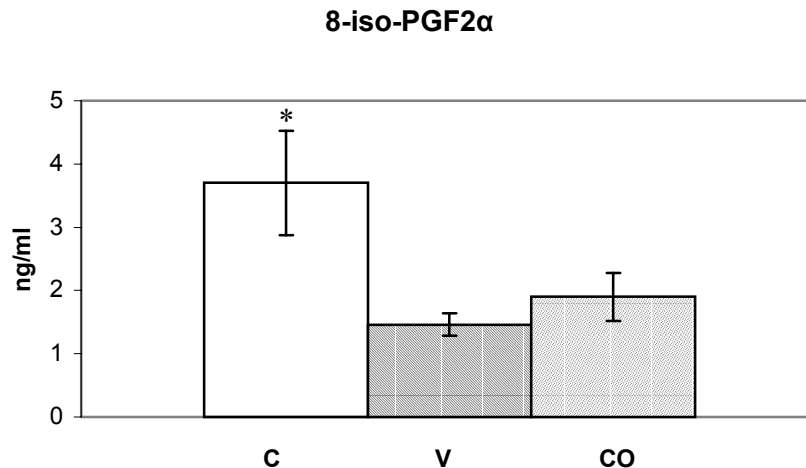


Figur 6.3 Viser de gennemsnitlige justerede slutværdier \pm SEM for HDL-kolesterol koncentrationen i plasma efter en kost rig på konjugeret linolsyre (C), vaccensyre (V) eller kontrolgruppen (CO).

* angiver signifikant lavere niveau i forhold til CO-gruppen ($P = 0,004$).

Oxidativt stress

C-kosten resulterede i en 66% højere udskillelse af 8-iso-prostaglandin $F_{2\alpha}$ (8-iso-PGF $_{2\alpha}$) i forhold til CO-kosten, $P=0,002$ (se figur 6.4). Dette indikerer, at CLA (blanding af de to isomerer CLA c9,t11 og CLA t10,c12) kan have en prooxidativ virkning *in vivo* i mennesker. Der var ingen forskel i effekten af V- og CO-kosten på urinudskillelsen af 8-iso-PGF $_{2\alpha}$.



Figur 6.4 De gennemsnitlige justerede koncentrationen af 8-iso-PGF $_{2\alpha}$ i urinen \pm SEM efter kost rig på CLA (C), t-vaccensyre (V) eller kontrolkost (CO).

* Angiver signifikant større værdi i forhold til CO ($P=0,002$).

CRP, PAI-1, FVIIc, arteriel elasticitet, knoglemarkører, insulin og glukose

Der var ingen forskel i effekten af de tre kosttyper på den inflammatoriske markør CRP (C-reaktivt protein), eller hæmostasemarkørerne PAI-1 og faktor VIIc (blodkoaguleringsfaktor), på arteriel elasticitet udtrykt som arteriel compliance, arteriel distensibilitet, arteriel volumen eller pulstrykket. Der var ydermere ingen forskel på blodtrykket, pulsen, på knoglemarkørerne Crosslabs og osteocalcin eller serum insulin og glukose koncentrationerne.

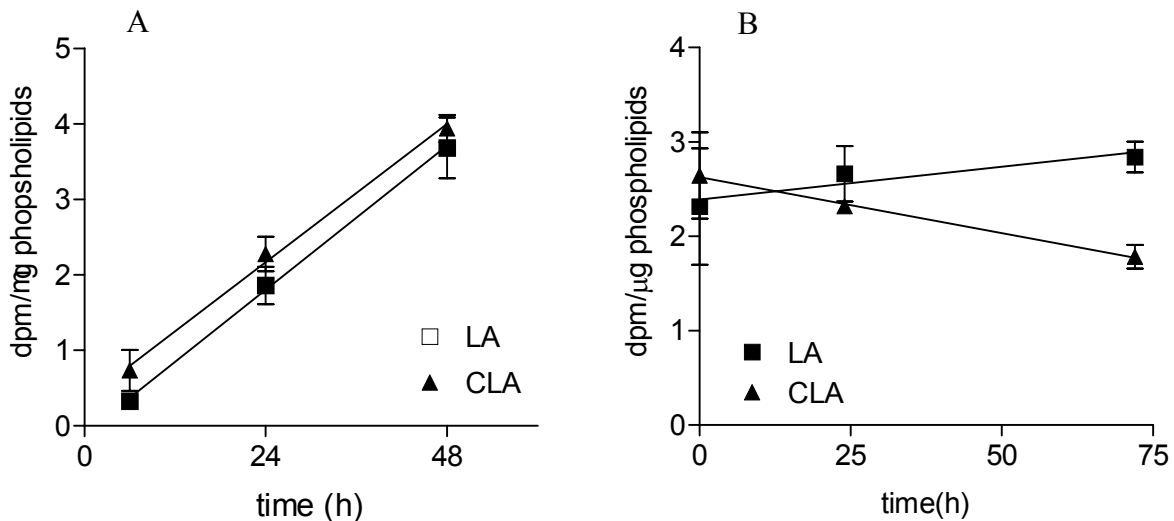
Konklusion

Smør med højt indhold af mælketransfedtsyrer (hovedsagelig VA) havde ikke forskellig virkning på total kolesterol, LDL-kolesterol, ratioen total kolesterol:HDL kolesterol og triglycerider i blodet, men resulterede i et lavere (og dermed ugunstigt) HDL-kolesterol, sammenlignet med almindeligt smør.

Dette skyldtes sandsynligvis, at smør med et højere indhold af transfedtsyrer har et langt højere indhold af umættede fedtsyrer end smør med lavt indhold af transfedtsyrer, samt at indholdet af de ugunstige mættede fedtsyrer 14:0 og 16:0 delvis er erstattet af den neutrale (i forhold til udvikling af hjerte-karsygdomme) 18:0. Til gengæld var ratioen total kolesterol:HDL kolesterol, som anses for den vigtigste prognostiske risikomarkør mht. hjerte-karsygdomme, ikke forskellig i V- og CO-grupperne. Virkning på nye risikomarkører for hjerte-karsygdomme var for C- og V-grupperne ikke forskellig fra kontrolsmør. Resultaterne kunne tyde på, at der sker en omdannelse af VA til CLA-isomeren c9, t11 i organismen, som vist i dyreforsøget. Supplementering med det kommercielle CLA-mix øgede det oxidative stress, hvilket anses for ugunstigt.

8. CLA's cellulære virkningsmekanisme

CLA har i mange studier vist sig at modvirke udviklingen af flere cancerformer, bl.a. gastrointestinal cancer. Ifølge litteraturen kan CLA's anticancerogene effekt delvis forklares ved en øget frekvens af programmeret celledød (apoptosis) hos cancerceller, som eksponeres for CLA isomerer, især CLA c9,t11. Da det også er vist, at signallipidet ceramid har en vigtig funktion i den intracellulære signalkæde der inducerer apoptosis, og at ceramid er en meget effektiv inducer af apoptosis i cancerceller, har vi afprøvet hypotesen om, at CLA c9,t11 virker ved at ændre omsætningen af ceramid i en retning, som øger ceramid-niveauet i cellerne. Hypotesen blev afprøvet i den humane tarmcellelinie FHS-74 Int. I en række forsøg har vi undersøgt om behandling med 5 mM CLA c9,t11 påvirkede nysyntese eller nedbrydning af ceramid eller om samme behandling påvirkede cellernes kapacitet til at udnytte ceramid som intracellulært signalmolekyle. Det sidstnævnte blev gjort ved at følge omsætningen af radioaktivt mærket sphingomyelin og ceramid efter stimulering med cytokinet TNF- α , da aktivering af receptoren for TNF- α bl.a. medfører en øget dannelse af ceramid gennem hydrolyse af sphingomyelin. Resultaterne viser, at CLA c9,t11 ikke påvirker ceramidsyntesen som respons på en TNF- α behandling (ikke vist) eller nysyntesehastigheden af ceramid i cellerne (figur 7.1).



Figur 7.1 A. Effekt af 5 mM CLA c9,t11 på nysyntese af ceramid fra ^3H -serin i den humane tarmcellelinie FHS-74 Int. **B.** Effekt af 5 mM CLA c9,t11 på omsætning af radioaktivt mærket ceramid i FHS-74 Int celler. CLA tilsættes til tiden 0. Resultaterne er blevet normaliseret til enheden μg total phospholipid i prøverne, for at kompensere for evt. forskel i celleantal.

n=4 og error bar viser standardafvigelse.

I figur **B** er hældningen for de to linier signifikant forskellig ($p=0,002$).

Figur 7.1B viser resultaterne fra et forsøg, hvor CLA's virkning på omsætningen af ceramid er blevet bestemt. Cellerne blev behandlet med 5mM CLA c9,t11 eller linolsyre, og ceramid i cellerne blev radioaktivt mærket ved at cellerne blev inkuberet med ^3H -serin i 48 timer. Herefter blev mediet udskiftet til et, hvori den radioaktive serin var udskiftet med en ikke-radioaktiv, hvorefter indholdet af radioaktivt mærket ceramid blev analyseret til tiderne 0, 24 og 72 timer. Denne metode giver mulighed at følge omsætningen af ceramid i cellerne fra de to behandlinger. CLA-behandlingen forårsagede en øget nedbrydning af ceramid ($p=0,002$). Hypotesen om, at CLA-c9,t11-behandling ændrer ceramidomsætningen i en retning, der vil øge ceramidkoncentrationen i tarmceller, kan derfor forkastes. Behandling med CLA c9,t11 forårsagede derimod en øget nedbrydning af ceramid i humane tarmceller, uden at påvirke nysyntesehastigheden. Grundet ceramids høje biologiske aktivitet, kan man forvente at dette vil påvirke bl.a. differentieringshastigheden i tarmcellerne.

Referencer

- AbuGhazaleh, A. A., Schingoethe, D. J., Hippen, A. R., & Kalsheur, K. F. (2003) Conjugated linoleic acid and vaccenic acid in rumen, plasma, and milk of cows fed fish oil and fats differing in saturation of 18 carbon fatty acids. *J.Dairy Sci.* 86: 3648-3660.
- Lock, A. L., Corl, B. A., Barbano, D. M., Bauman, D. E., & Ip, C. (2004) The anticarcinogenic effect of *trans*-11 18:1 is dependent on its conversion to *cis*-9,*trans*-11 CLA by Δ 9-desaturase in rats. *J.Nutr.* 134: 2698-2704.
- Pariza MW, Park Y, Cook ME (2001) The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Prog Lipid Res.*;40(4):283-98.
- Pariza, M. W. (2004) Prespective on the safety and effectiveness of conjugated linoleic acid. *Am.J.Clin.Nutr.* 79 (suppl): 1132S-1136S.
- RocheHM, Noone E, Nugent A, Gibney MJ (2001) Conjugated linoleic acid: a novel therapeutic nutrient? *Nutrient Research Reviews*; 14: 173-187.
- Salminen I, Mutanen M, Jauhiainen M, Aro A et al. (1998) Dietary trans fatty acids increase conjugated linoleic acid levels in human serum. *J Nutr Biochem* 9: 93-98.
- Turpienen AM, Mutanen M, Aro A, Salminen I, Basu S, Palmquist D L, Griinari JM et al. (2002). Bioconversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in humans. *Am J Clin Nutr* 76 (3): 504-510.
- Watkins BA, Lippmann HE, Bouteiller L, Li Y, Seifert MF (2001). Bioactive fatty acids: role in bone biology and bone cell function. *Prog Lipid Res.* 2001 Jan-Mar;40(1-2):125-48.
- Willet WC, Stampfer MJ, Manson JE, Colditz GA, Speizer FE, Rosner BA, Sampson LA, Hennekens CH (1993) Intake of trans fatty acids and risk of coronary heart disease among women. *Lancet.* 1993 Mar 6;341(8845):581-5.

Publikationer

Internationalt

1. T. S. Nielsen, K. Sejrsen, H. R. Andersen, P. Lund and E. M. Straarup. 2004. Effect of silage type and energy concentration on conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat from dairy cows. *J. Anim. Feed Sci.* 13, suppl. 1, 697-700
2. J. Gøttsche and E.M. Straarup. "Fatty acid profiles of tissues in mice fed CLA and Vaccenic acid (kidney,spleen, liver and liver)". Submitted to *Lipids*
3. T. S. Nielsen, H. R. Andersen, P. Lund, M. Straarup and K. Sejrsen. Effect of silage type and energy concentration on conjugated linoleic acid (CLA) and fat content in milk from dairy cows (under udarbejdelse).
4. T. S. Nielsen, T. Tholstrup, E. M. Straarup, S. Purup and K. Sejrsen. Proliferative response of MCF-7 cells to human serum obtained after intervention with conjugated linoleic acid or vaccenic acid. (under udarbejdelse).
5. P. Lund, K. Sejrsen og E.M. Straarup "Absorption and Incorporation of CLA and vaccenic acid into Phospholipids and Triacylglycerols in Plasma, Enterocytes and other tissues" (under udarbejdelse).

6. T. Tholstrup, M. Raff, S. Basu, P. Nonboe, K. Sejrsen, og E. M. Straarup. Working title: Bioconversion of vaccenic acid from milk fat to conjugated linoleic acid and effect on blood lipids, C-reactive protein, oxidative stress and insulin in healthy, young men. (under udarbejdelse).
7. T. Tholstrup, M. Raff, S. Basu, P. Nonboe, K. Sejrsen, og E. M. Straarup. Working title: Bioconversion of vaccenic acid from milk fat to conjugated linoleic acid and effect on blood lipids, C-reactive protein, oxidative stress and insulin in healthy, young men. (under udarbejdelse)
8. M. Raff, T. Tholstrup, K. Sejrsen, E. M. Straarup, og N. Wiinbjerg. Working title: Effect of conjugated linoleic acid CLA and vaccenic acid (VA) on arterial stiffness in healthy young men. (under udarbejdelse)
9. B. C. Søndergaard, T. Tholstrup, M. T. Sørensen og I. Byrjalsen. Working title: Effect of CLA and vaccenic acid on biochemical markers of bone metabolism in young men. (under udarbejdelse)

Nationalt

10. Sejrsen, K. 2001. Mælkefedts evne til at forebygge sygdomme hos mennesker. JordbrugsForskning nr. 3
11. Sejrsen, K. 2001. Afgræsning gør måske mælken sundere. Frøsalget August 2001.
12. Høy, C.-E., Tholstrup, T. & Sejrsen, 2002. K. Den ernæringsmæssige betydning af mælkeprodukters indhold af CLA. Mælkeritidende, 16, 378-379.
13. Sejrsen, K. 2002. Ernærings- og sundhedsmæssig kvalitet af økologisk mælk Økologisk Jordbrug nr. 278.
14. Andersen, H.R., Sejrsen, K., Sørensen, M.T. Kristensen, T. & Straarup, E.M. 2003. CLA-indhold i komælk. Nyhedsbrev fra Forskningscenter for Økologisk Jordbrug, August 2003, nr. 4

Rapporter

15. H.R. Andersen, T.S. Nielsen, M.T. Sørensen, T. Kristensen, E.M. Straarup, K. Sejrsen. CLA i dansk mælk. DJF rapport. (under udarbejdelse)
16. M.Sc. Thesis, Stud agro. Tina Skau Nielsen. Conjugated linoleic acid (CLA) in cows milk – influence of diet on milk content and effect of human CLA intake on breast cancer
17. M.Sc. Thesis, Jesper Gøtttsche “*trans*-vaccensyres omdannelse til konjureret linolsyre i mus, - og disse fedtsyrers inkorporering og påvirkning i vævet”
18. M.Sc. Thesis, Marianne Raff: ”Dietary CLA & and VA and arterial health.”
19. M.Sc. Thesis, Bodil-Cecilie Søndergaard: ”The effect of CLA and Vaccenic acid on biochemical markes of bone metabolism in young men”.
20. B.Sc. rapport, Nathalie T. Bendsen: ”Aflejring og omdannelse af *trans* vaccensyre og konjureret linolsyre i rotter”
21. B.Sc. rapport, Pernille Nonboe: ”CLAs indflydelse på blodlipider og lipidperoxidation hos unge mænd.”

22. ERASMUS-student rapport, Olga Pospisilova "Distribution of CLA in organelles of rat liver cells".

Præsentationer ved faglige kongresser, symposier o.l. internationalt og nationalt:

15th. International Symposium on Drugs affecting lipid metabolism, Venice, Italy, October 24-27 2004. Tholstrup T, Raff M, Basu S, Nonboe P, Straarup EM: "Effect of conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat on blood lipids, C-reactive protein, oxidative stress and arterial compliance in young men." Abstract book pp.103.

Department of Human Nutrition Research Congress, Den Kongelige Veterinær- og Landbohøjskole, Tåstrup, 3. November 2004. Raff M & Tholstrup T: "Effect of Conjugated linoleic acid (CLA) and Vaccenic acid (VA) in milk fat on blood lipids, C-reactive protein, oxidative stress and arterial elasticity in young men."

Videnskabelig betydning af projektet

Dette projekt har videnskabelig betydning bl.a. mht. de helbredsmæssige effekter af smør med højt indhold af VA, smør som vi igennem fodringsstrategi er i stand til at producere. Resultaterne viser, at der sker en omdannelse af VA til CLA c9,t11 i mus og rotter, og meget tyder på det også sker i den menneskelige organisme. Dette er også vist i et studium, hvor smør med højt VA-indhold kunne hæmme udviklingen af brystkræft i rotter, men ikke i det tilfældet hvor Δ^9 -desaturasen var hæmmet (Lock *et al.* 2004). Vi fandt også at CLA c9,t11, som er den CLA isomer, der findes naturligt i mælk, ingen indflydelse havde på desatureringsindekset (16:1n-7/16:0), n-3/n-6 ratioen, eller på genspressionen af ACC, SCD og FAS, hvilket viser, at CLA c9,t11 ikke som CLA t10,c12 påvirker enzymssystemer vigtige for lipidmetabolismen. Dette er vigtigt, da det muligvis er årsagen til de ugunstige effekter CLA t10,c12 har på udvikling af fedtlever og insulinresistens. Smørret fremstillet ved fodring med umættet fedt viste en bedre fedtsyresammensætning i forhold til traditionelt smør med lavere indhold af 16:0, som anses for at være ugunstig mht. risiko for udvikling af åreforkalkning. Samtidig havde det et højt indhold af VA og andre mælke trans-fedtsyrer, som ikke havde en ugunstig effekt i forhold til traditionelt smør på LDL kolesterol og den væsentligste risikomarkør ratio total kolesterol: HDL-kolesterol. Derimod var HDL-kolesterol lavere efter CLA/VA smør. Selvom det ud fra dette forsøg ikke er muligt at skelne imellem virkning af VA i sig selv og virkning af den samlede fedtsyresammensætning af fedtstoffet, bidrager resultaterne med viden om virkning af produkter med højt indhold af mælke-trans-fedtsyrer på risikomarkører for hjerte-karsygdomme, hvilket er væsentligt, da dette område er uudforsket.

Konklusion

Resultaterne fra dette projekt viser at årstiden spiller en rolle for indholdet af CLA og VA i mælkefedt, med det højeste niveau i sommerperioden. Desuden var det vha. fodringsstrategi med umættet (linolsyre) fedt muligt at øge mælkens indhold af CLA (hovedsagelig c9,t11) og VA 3 til 4 gange.

VA kan i gnavere og sandsynligvis også hos mennesket omdannes til CLA c9,t11 og inkorporeres i flere forskellige væv, hovedsagelig i neutrallipider. Dette betyder, at VA indirekte bidrager til vores indtag af CLA c9,t11.

Smør produceret ved fordringsstrategi havde ikke kun et højere indhold af CLA og VA, men også en ændret profil af mættet fedt med fald i 14:0 og 16:0, en stigning i 18:0 samt et øget indhold af monoumættet fedt i forhold til almindeligt smør (kontrolsmør). Dette giver smørret bl.a. et lavere smeltepunkt og dermed gør det mere smørbart. Samtidig resulterer det i, at der er flere faktorer, der er forskellige mellem kontrolsmørret og CLA/VA smørret, og som derfor gør det svært at konkludere hvilke faktorer, der er der påvirker blodmarkører og får HDL-kolesterolen til at falde hos forsøgspersonerne i CLA/VA smør gruppen i forhold til kontrolgruppen. Umiddelbart ville man have en idé om at CLA/VA smørret med det forhøjede indhold af umættet fedtsyrer ville være sundere end kontrolsmørret, men resultaterne fra humanforsøget viser næsten ens resultater for de to smørtyper.

