

## **REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **CONTROL NUTRICIONAL DEL CONTENIDO DE ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO (CLA) EN LECHE Y SU PRESENCIA EN ALIMENTOS NATURALES FUNCIONALES.**

#### **1. Efectos sobre la salud humana**

*Nutritional control of conjugated linoleic acid (CLA) content in milk and natural functional foods. 1. Effects on human health*

**GAGLIOSTRO<sup>1</sup>, G.A.**

Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Estación Experimental Balcarce

#### **RESUMEN**

Los ácidos linoleicos conjugados (**CLA**) resultan predominantemente consumidos en los productos lácteos y presentan propiedades benéficas sobre la salud humana (prevención del cáncer, atenuación de aterosclerosis y diabetes, efectos anti-obesidad,) demostradas en animales experimentales de laboratorio. El concepto de alimentos funcionales alto CLA, su aplicación en un contexto de alimentación saludable, la cuantificación del consumo de CLA en el ser humano y los potenciales efectos benéficos sobre la salud de los consumidores son revisados en el presente artículo.

**Palabras clave:** acido linoleico conjugado, salud humana, alimentos funcionales.

#### **SUMMARY**

*Conjugated linoleic acids are mainly consumed with dairy products and showed healthy properties (anticarcinogenic, antiatherogenic, diabetes prevention, lipid metabolism and body composition) when fed to experimental animal models. The concept of functional high CLA healthy foods, the ingestion of CLA by humans and their potential benefit effects on human health are reviewed in this article.*

**Key words:** conjugated linoleic acids, human health, functional foods.

Recibido: 06 de mayo de 2004

Aceptado: 14 de febrero de 2005

1. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Estación Experimental Balcarce. Área de Producción Animal. C.C. 276 (7620) Balcarce. Argentina. E-mail: ggagliostro@balcarce.inta.gov.ar

## 1. Introducción

La leche y los derivados lácteos representan una fuente valiosa de nutrientes como las proteínas, la energía, el calcio, las vitaminas y otros minerales. El término *genérico* de *alimento funcional* se utiliza para identificar alimentos y/o componentes de los mismos que poseen propiedades adicionales sobre la salud de los consumidores que superan al beneficio clásico de un aporte de nutrientes (Milner, 1999). Existe un reconocimiento general de que ciertos alimentos ejercen una acción preventiva frente a la aparición de ciertas enfermedades en el ser humano y la investigación se orienta actualmente hacia una "obtención natural no sintética" de dichos alimentos. La grasa de la leche bovina (o grasa butirosa, **GB**) contiene ácidos grasos (**AG**) reconocidos como "agentes estimuladores" de la salud y la modificación natural del perfil de AG de la GB puede aún incrementar esas propiedades benéficas. Dicha modificación resulta de interés debido a las propiedades que se le atribuyen a los ácidos linoleicos conjugados (**CLA**) los que resultan predominantemente consumidos en los productos lácteos (Chilliard, Ferlay, Loor, Rouel y Martin, 2000; Parodi, 1999). Como propiedades sobresalientes de los CLA pueden citarse la prevención del cáncer, la atenuación de aterosclerosis y de reacciones inmunitarias alérgicas, la disminución en la peroxidación de lípidos y los efectos anti-obesidad de los CLA. La investigación sobre el grado de magnitud

con el cual estas propiedades benéficas se expresan en el ser humano es un tema de actualidad que se encuentra en permanente expansión. Los efectos potencialmente favorables de los CLA sobre la salud se resumen en el Cuadro 1.

Los CLA representan una mezcla de isómeros del ácido linoleico (C<sub>18:2</sub>) con dobles ligaduras en las posiciones 7 y 9, 9 y 11, 10 y 12 ó 11 y 13 además de variaciones geométricas de tipo *cis-cis*, *cis-trans*, *trans-cis* o *trans-trans*. La forma biológicamente activa de los CLA estaría representada por el isómero *cis-9, trans-11* CLA (también llamado **ácido ruménico**) que representa entre el 75 al 85% del total de CLA en leche (Bauman, Cori, Baumgard y Griinari, 2001; Stanton, Murphy, McGrath y Devery, 2003). En orden de importancia le sigue el isómero *cis-9, trans-7* CLA que representa un 10% del anterior (*cis-9, trans-11* CLA). Luego le sigue el isómero *cis-12, trans-10* CLA cuya presencia en leches naturales es muy baja (Bauman y otros, 2001). Este último isómero (*trans-10 cis-12* CLA) ha sido asociado a una menor acumulación de tejido adiposo en roedores (efecto anti-obesidad no claramente demostrado aún en el ser humano) mientras que el isómero *cis-9, trans-11* CLA estaría asociado a la prevención del cáncer (Ip, Banni, Angioni, Carta, McGinley, Thompson, Barbano y Bauman, 1999). El isómero *trans-10 cis-12* CLA sería a su vez capturado en menor medida que el *cis-9, trans-11* CLA por parte de los tejidos del organismo (Ip y otros, 1999).

**CUADRO 1:** Algunos efectos benéficos de los CLA a partir de estudios biomédicos sobre animales de laboratorio.

**Table 1:** Some beneficial effects of CLA from biomedical studies in laboratory animals.

Efecto biológico

Anticancerígeno ( estudios **in vivo** e **in vitro**).

Anti aterogénico.

Alteración de la repartición de nutrientes y el metabolismo de los lípidos.

Antidiabéticos (diabetes tipo 2)

Efectos positivos sobre la respuesta inmunitaria

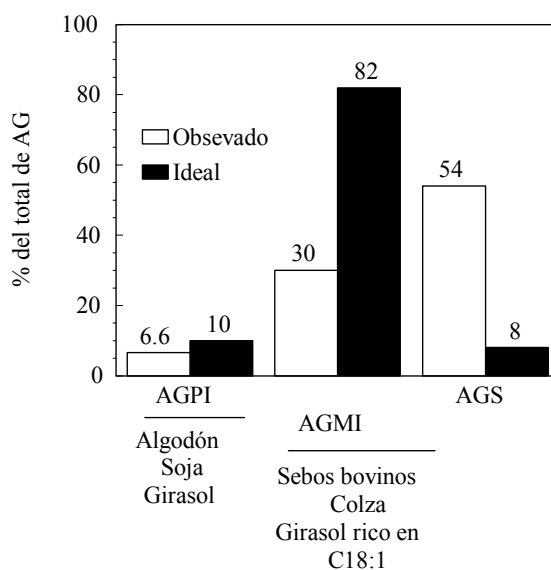
Favorecimiento de la mineralización ósea

Bauman y otros, 2001.

En el presente trabajo de revisión se presenta en primer término un análisis sobre los efectos de los diversos ácidos grasos sobre la salud humana con especial énfasis en los CLA. Aspectos relacionados al consumo natural de los CLA, sus efectos sobre el cáncer, la aterosclerosis, la diabetes de tipo 2 y las propiedades anti-obesidad de estos compuestos son brevemente discutidas en un contexto de obtención de alimentos naturales funcionales. El contenido de CLA en diferentes lácteos y las estrategias de alimentación de los animales tendientes a incrementar el valor nutricional del producto (CLA) son descriptas en las Partes II y III del presente trabajo de revisión.

## 2. Consumo de ácidos grasos y salud humana

La composición en AG de la leche es un factor determinante de la calidad de la misma ya que algunos de ellos presentan efectos altamente positivos sobre la salud humana y otros no (Sébédio, Gnadeig y Chardigni, 1999; Jensen, 2002; Stanton y otros, 2003). La composición de la GB obtenida en nuestros sistemas de producción (Figura 1) no resulta ideal debido al exceso en AG saturados (generadores de colesterol) y a un déficit en AG mono y poliinsaturados (Gagliostro, 2001) que



**FIGURA 1:** Composición de la grasa butirosa en ácidos grasos juzgada dietéticamente como ideal (Grumer, 1991) y composición observada en la Argentina (Maritano, Oxley y Fernández, 1986). AGPI = ácidos grasos (AG) poliinsaturados. AGMI = AG monoinsaturados. AGS = AG saturados.

**Figure 1:** Ideal fatty acid composition in milk fat for human health (Grumer, 1991) compared to that observed in Argentina (Maritano, Oxley y Fernández, 1986).

AGPI = polyunsaturated fatty acids. AGMI = monounsaturated fatty acids. AGS = saturated fatty acids.

son juzgados como más adecuados en nutrición humana (Schrezenmeir y Jagla, 2000).

El contenido de AG saturados en la GB es elevado lo cual resulta predisponente a la aparición de afecciones cardíacas (Stanton y otros, 2003). Entre los AG saturados cabe mencionar que los ácidos láurico ( $C_{12:0}$ ), mirístico ( $C_{14:0}$ ) y palmítico ( $C_{16:0}$ ) elevan el colesterol total y el colesterol asociado a las lipoproteínas de baja densidad (**LDL**) juzgadas como aterogénicas (Schrezenmeir y Jagla, 2000) mientras que el consumo de AG de cadena corta a media ( $C_{4:0}$  a  $C_{10:0}$ ) no estaría asociado a riesgos de muerte por afecciones coronarias (Hu, Stampfer, Manson, Aschreio, Colditz y Speizer, 1999). El ácido esteárico ( $C_{18:0}$ ) es considerado como neutro (sin peligro) sobre la salud humana mientras que el ácido oleico ( $C_{18:1}$ ) es un protector contra la aterogénesis debido a sus propiedades benéficas sobre la composición de los lípidos plasmáticos.

### 3. Los CLA integrados en alimentos funcionales: cuantificación del consumo de CLA en el ser humano y efectos terapéuticos

El reconocimiento de los CLA como componentes funcionales de los alimentos se produce en forma accidental cuando se descubren sus propiedades antimutagénicas en la carne bovina cocida buscando justamente agentes mutagénicos en la misma (Parizza, 1999). Las estimaciones del consumo de CLA en el ser humano oscilan entre 0,3 a 1,5 gramos por persona y por día. Algunos estudios han informado que dicho consumo sería superior en el hombre (0,212 g/día) respecto al registrado en la mujer (0,151 g/día) dependiendo también del balance entre el consumo de productos de origen animal y vegetal. Un relevamiento realizado sobre 57 mujeres jóvenes estudiantes (22 a 36 años) reveló un consumo del orden de 0,327 g/día de CLA (Watkins y Li, 2003). La ingestión diaria de CLA con los alimentos convencionales puede resultar insufi-

ciente para que los mismos puedan expresar sus potenciales efectos bioquímicos, moleculares y fisiológicos contra el cáncer, aterosclerosis y obesidad (Watkins y Li, 2003). Una adecuada alimentación del rumiante (vaca, cabra, novillo) puede permitirnos lograr sustanciales incrementos de CLA en el producto y desarrollar así los alimentos funcionales (ver Partes II y III).

Un aspecto de importancia práctica y no claramente dilucidado aún reside en la estimación de la cantidad efectiva mínima de compuesto (CLA) a consumir diariamente por un ser humano para obtener un efecto terapéutico o protector sobre la salud. En animales de laboratorio (ratas) se demostró que con concentraciones muy bajas de CLA en la ración total (0,1% de CLA) se lograba disminuir significativamente el número de tumores mamarios cancerígenos (ver Cuadro 7, Ip, Singh, Thompson y Scimeca, 1994). Para una rata de unos 350 g de peso vivo el consumo diario preventivo de CLA sería del orden de 0,015 g. Una extrapolación directa a un ser humano de 70 kg implicaría lograr un consumo de 3 g/día de CLA a fines de obtener el mismo efecto terapéutico o curativo sobre el cáncer. Sin embargo y para calcular una ingestión equivalente de CLA en el ser humano, resulta más adecuado utilizar el peso metabólico (peso <sup>0,75</sup>) en lugar del peso vivo directo. Dicho cálculo permite proponer que un consumo diario de 0,8 g de CLA podría ejercer un efecto terapéutico sobre el cáncer en una persona de unos 70 kg de peso vivo (Watkins y Li, 2003). Cabe comentar que el consumo juzgado preventivo de CLA sería aún unas diez veces menor al enunciado (Dr. Bauchart, D., comunicación personal). Los efectos reductores sobre la aterosclerosis se alcanzarían a partir de consumos diarios cercanos a los 0,25 g de CLA (ver punto 5.) y los efectos adelgazantes o anti-obesidad no están claramente establecidos (ver punto 6).

En conclusión y a partir del efecto anticancerígeno del CLA demostrado en la rata, se ha considerado que un consumo de entre 0,8 á 3 g de CLA por día podría aportar un efecto terapéutico en el ser humano (Parrish, Wie-

gand, Beitz, Ahn, Du y Trenkle, 2003). Esta es un área de investigación muy intensa actualmente y los valores informados deben ser tomados con suma prudencia. Este nivel de consumo diario de CLA sería más fácil de alcanzar si logramos enriquecer naturalmente los productos de origen animal (carnes, leches y derivados) en CLA. Si tomamos por ejemplo los valores de concentración mínimos (0,53 g/100g de grasa) y máximos (1,58 g/100 g de grasa) de CLA observados en los quesos de Francia (Parte 2), un contenido de grasa del orden del 50% para esos quesos y un tenor de materia seca del orden de 60% puede calcularse que sólo el consumo diario de queso promedio por habitante en Francia (80 g) podría satisfacer entre el 16 y el 48% del requerimiento diario de CLA. Si todos los potenciales efectos benéficos de los CLA son tenidos en cuenta en conjunto (cáncer, aterosclerosis, diabetes, obesidad) el interés de trabajar en el desarrollo de alimentos funcionales resulta evidente. Desarrollar estudios paralelos a mediano y largo plazo que involucren la salud de seres humanos voluntarios que hayan consumido dichos alimentos resulta también indispensable.

Puesto que la leche de rumiantes resulta la fuente más importante de CLA en el ser humano las condiciones más propicias de alimentación de los animales para lograr leches crudas alto CLA y poder alcanzar los consumos aconsejados será presentada en la Parte 2.

Es bien conocido que los consumidores prefieren los alimentos naturales a los modificados sintéticamente. Si bien es posible lograr un mayor consumo diario de CLA incrementando la ingestión de carne, leche y derivados lácteos esta estrategia puede traer aparejado un aumento paralelo en el consumo de grasa saturada y colesterol lo que no resulta compatible con el concepto de alimentación saludable. La alternativa a nuestro alcance es la de obtener un enriquecimiento natural en CLA de lácteos y carnes. Este procedimiento tiene además la ventaja de no modificar sustancialmente los hábitos alimenticios de la población, sumar

valor agregado a los productos finales a obtener (carnes y lácteos naturalmente diferenciados) y estimular el consumo de los mismos.

Investigadores de la Universidad de Iowa (Parrish y otros, 2003) han tratado de cuantificar el consumo diario de CLA por parte de un habitante americano con una dieta normal de productos no enriquecidos en CLA para conocer cuan lejos se encuentra dicho consumo respecto al nivel terapéutico anticáncer de 800 mg/día de CLA para el ser humano. Sus cálculos indicaron que dicho consumo estaría situado en tan sólo 150 mg/día de CLA representando por lo tanto un 19% de lo requerido (Cuadro 2). Luego utilizaron estrategias de alimentación de los animales para lograr carnes, leches y huevos enriquecidos en CLA. El consumo de esta nueva "dieta con alimentos funcionales" permitió alcanzar una ingestión de CLA del orden de 693 mg (un 87% del requerimiento diario de CLA) resultando ahora muy cercano a la dosis protectora buscada (Cuadro 2).

Puede concluirse que una manipulación en la alimentación de los animales puede permitirnos alcanzar los niveles de consumo terapéutico-preventivos del CLA a través del consumo de alimentos funcionales alto CLA.

#### **4. Los CLA y sus propiedades anticancerígenas.**

El ácido ruménico (*cis-9, trans-11CLA*) presente en la leche y la carne de los rumiantes constituye el único ácido graso capaz de inhibir la carcinogénesis en animales experimentales (Ip y otros, 1999). Los alimentos en general y los derivados lácteos en particular representan una vía efectiva y económica para aportar sustancias con propiedades preventivas contra el cáncer. Se ha sugerido que el consumo de alimentos naturalmente enriquecidos en CLA puede ser de interés para aquellas personas que procuran una alimentación preventiva contra el cáncer sin cambiar radicalmente sus

**CUADRO 2:** Estimación del consumo diario de ácido linoleico conjugado (CLA) ante la ingestión de alimentos convencionales o naturalmente enriquecidos en CLA.

**Table 2:** Estimation of daily intake of conjugated linoleic acid (CLA) with conventional or naturally enriched CLA foods.

Alimento	Consumo Diario (g)	CLA Normal (mg/g grasa)	CLA Enriquecido (mg/g grasa)	CLA dieta normal (mg)	Dieta alto CLA (mg)
Carne vacuna <sup>(1)</sup>	80,7	4,3	12,4	19,1	55,0
Carne de cerdo <sup>(2)</sup>	61,1	0,6	7,1	1,5	17,4
Carne de pollo <sup>(3)</sup>	64,2	0,9	17,8	1,7	34,3
Leche <sup>(4)</sup>	726	5,5	14,1	127,7	327,5
Huevos <sup>(5)</sup>	0,66	0,0	87,0	0,0	258,4
Consumo total de CLA <sup>(6)</sup>	-			150	692,6

<sup>(1)</sup> 5,5% de grasa <sup>(2)</sup> 4% de grasa <sup>(3)</sup> 3% de grasa <sup>(4)</sup> 3,2% de grasa <sup>(5)</sup> 4,5 g de grasa por huevo. El consumo diario de carne de pavo (17,7 g) no fue incluido en la tabla por el autor.

Fuente: Parrish y otros, 2003.

hábitos alimenticios (Ip y otros, 1999). Debe tenerse siempre en cuenta que las propiedades benéficas de los alimentos funcionales alto CLA sobre la salud humana sólo serán efectivas en el marco de una alimentación global saludable y balanceada. Se ha estimado también que la ingestión continua de productos alto CLA podría contribuir a lograr ahorros significativos por parte del Estado en el rubro inversión en gastos de salud pública (Programa Europeo BIOCLA, 2003-2006).

Hay dos aspectos que resultan de gran interés para la filial lechera en el marco de la presente revisión: 1) maximizar la aparición en leche cruda de los CLA en forma natural y no sintética y 2) asegurar que las propiedades benéficas naturalmente incorporadas a la leche cruda a nivel de tambo no se pierdan en el procesamiento de la misma hacia derivados de calidad diferenciada. Respecto a este último aspecto, se ha informado que el efecto anticancerígeno de los CLA permanece intacto aún luego del procesamiento de la leche cruda (Stanton y otros, 2003) lo que resulta relevante para la industria lechera en un marco de obtención de alimentos funcionales naturales ricos en CLA. El contenido de CLA en una amplia gama de derivados lácteos (yogurt descremado, yogurt entero, manteca, helados, crema de

leche, quesos Mozzarella, Gouda y Cheddar) resultó similar al de la leche que le dio origen (Shantha, Ram, O'Leary, Hicks y Decker, 1995) demostrando la ausencia de un efecto deletéreo de los procesos de elaboración de lácteos sobre los CLA. La obtención de manteca alto CLA a partir de leches naturalmente enriquecidas en CLA (Bauman, Barbano, Dwyer y Griinari, 2000) se presenta en el Cuadro 3.

La manteca alto CLA fue utilizada para evaluar su actividad biológica anticancerígena en la rata en comparación a mezclas sintéticas de isómeros CLA según los tratamientos que se describen en el Cuadro 4.

El efecto del suministro de las cuatro dietas presentadas en el Cuadro 4 sobre la densidad de desarrollo del epitelio mamario de la rata se presenta en el Cuadro 5.

El aporte de CLA en cualquiera de sus formas produjo una disminución cercana al 25% en la masa total de epitelio mamario y en la cantidad de epitelio por unidad de área adiposa. Los CLA disminuyen entonces la morfogénesis de tejido conectivo ejerciendo por lo tanto un efecto protector contra el cáncer. Este resultado estuvo a su vez acompañado de una disminución en la densidad de células terminales en el pezón juzgado como sitio

**CUADRO 3:** Perfil en ácidos grasos de una manteca natural alto CLA utilizada para evaluar los efectos anticancerígenos del CLA en ratas <sup>(1)</sup>.

**Table 3:** Fatty acid composition of a natural high CLA butter used to study the effects on cancer risk in rats.

Acido graso		Manteca	Manteca alto
		Control	CLA
		g/100 g del total de ácidos grasos	
Butírico	4:0	4,2	5,4
Capropico	6:0	2,5	1,4
Caprílico	8:0	1,5	0,7
Cáprico	10:0	3,5	1,5
Láurico	12:0	4,0	1,7
Mirístico	14:0	12,0	7,4
Miristoleico	14:1	1,2	0,9
Pentadecílico	15:0	1,1	0,6
Palmítico	16:0	28,6	17,8
Palmitoleico	16:1	1,4	1,7
Margárico	17:0	0,5	0,3
Esteárico	18:0	9,8	11,3
Oleico	c9-18:1	18,5	16,0
<i>Trans</i> -octadecanoico <sup>(2)</sup>	<i>Trans</i> -18:1	3,8	25,0
Linoleico	C9,c12-18:2	2,8	2,9
Linoleico conjugado <sup>(3)</sup>	DC-18:2	0,5	4,1
g-linolénico	18:3	0,4	0,2
Otros		3,7	1,1
Total		100	100

<sup>(1)</sup> La manteca fue obtenida en la Universidad de Cornell (USA) a partir de la leche de vacas Holstein alimentadas a base de silaje de maíz y concentrado suplementadas (CLA) o no (Control) con aceite de girasol al 5,3% de la ración base materia seca. La leche fue pasteurizada (79°C durante 19 segundos). La crema fue pasteurizada a 72°C durante 30 min y almacenada en frío durante 24 horas. Luego fue batida durante 30 min a -1°C para ser finalmente almacenada a -20°C hasta su utilización.

<sup>(2)</sup> Representa al total del *trans*-18:1 del cual el ácido vaccénico (*trans*-11 18:1) representó un 24,8% en la manteca control y un 48,7% en la manteca alto CLA.

<sup>(3)</sup> DC = dieno conjugado.

Fuente: Ip y otros, 1999.

primario en la inducción química del cáncer mamario en la rata. La actividad proliferativa de las células terminales del pezón fue evaluada a través de la expresión de un antígeno nuclear (PCNA) en dichas células. Los resultados se presentan en el Cuadro 6.

El suministro de CLA redujo en un 30% la densidad de células terminales del pezón y en un 25-30% la cantidad de células que expresaron el antígeno PCNA. El efecto del suministro de las diferentes raciones a las ratas y su efecto sobre la aparición de tumores ma-

**CUADRO 4:** Suplementación con distintas fuentes de ácido linoleico conjugado (CLA) utilizadas para evaluar sus efectos anticancerígenos en ratas experimentales.<sup>(1)</sup>

**Table 4:** *Different sources of conjugated linoleic acids (CLA) used in studies of cancer prevention in experimental rats.*

Tratamiento	CLA total En la dieta g/100 g	Identificación del tratamiento	Principales Isómeros CLA %	
Manteca control (A)	0,1	Control	83	c9t11
			6,1	t7, c9
Manteca alto CLA	0,8	Manteca-CLA	92	c9t11
			4,8	t7c9
(A) + 0,7% CLA Ma	0,8	Ma-CLA	81	c9t11
			17,5	c9c11
(A) + 0,7% CLA Nu	0,8	Nu-CLA	17,6	c11t13
			36,5	t10c12
			25,3	c9t11
			15,3	t8c10

<sup>(1)</sup> La proporción de manteca en la ración total fue de 20% en todos los tratamientos. El resto de la ración estuvo compuesto de caseína (23,5%), dextrosa (44,8%), mezcla mineral (4,1%) mezcla de vitaminas (1,2%), alfaced (5,9%), metionina (0,3%) y colina (0,2%)

Ma-CLA y Nu-CLA son mezclas comerciales sintéticamente obtenidas de los isómeros CLA.

Fuente : Ip y otros, 1999.

**CUADRO 5:** Densidad de desarrollo de epitelio mamario en ratas alimentadas con ácido linoleico conjugado (CLA) proveniente de distintas fuentes.

**Table 5:** *Density of mammary epithelium development after different sources of conjugated linoleic acid (CLA) feeding to experimental rats.*

Tratamiento	CLA en la Ración g/100g	Area de tejido adiposo cm <sup>2</sup>	Masa de Epitelio AUOD <sup>(1)</sup>	AUOD/área <sup>(1)</sup>
Control	0,1	11,8	1,34	113
Manteca-CLA	0,8	11,8	1,04*	88*
Ma-CLA	0,8	11,5	0,98*	85*
Nu-CLA	0,8	11,5	0,98*	85*

<sup>(1)</sup> AUOD = unidad arbitraria de densidad óptica. \* = p<0,01 respecto al control

Ma-CLA y Nu-CLA son mezclas sintéticamente obtenidas de los isómeros CLA.

Fuente: Ip y otros, 1999.

**CUADRO 6:** Densidad de células terminales del pezón (TEB) y grado de expresión del antígeno nuclear PCNA en ratas alimentadas con distintas fuentes de ácido linoleico conjugado (CLA).

**Table 6:** *Density of terminal end but (TEB) cells and expresión of the nuclear antigen PCNA in rats fed different sources of conjugated linoleic acid (CLA).*

Tratamiento	CLA en la Ración g/100g	Densidad de TEB n/mm <sup>2</sup>	Células positivas al PCNA en TEB %
Control	0,1	6,3	45,2
Manteca-CLA	0,8	4,4 *	31,7 *
Ma-CLA	0,8	4,4 *	34,4 *
Nu-CLA	0,8	4,6 *	32,8 *

\* p<0,05 respecto al grupo control.

Fuente : Ip y otros, 1999.



marios se presenta en el Cuadro 7.

La disminución en el riesgo de tumores mamarios inducida por los CLA fue en promedio del 53% con similares efectos por parte de los diferentes isómeros del CLA (Cuadro 7). Tomados en conjunto, los resultados presentados en los Cuadros 5 a 7 sugieren que los CLA reducen el crecimiento de células epiteliales, la población y proliferación de células terminales del pezón efectos que resultan atenuadores y coherentes con la disminución del cáncer

mamario. Merece finalmente destacarse que el consumo de un producto naturalmente enriquecido en CLA (manteca) tuvo un efecto muy superior al suministro de los CLA sintéticos en lo que respecta a la acumulación del CLA anticancerígeno en los tejidos. Este efecto protector resultó particularmente importante en la glándula mamaria (+405% respecto al control) y también en la grasa peritoneal (+649%) (Cuadro 8).

**CUADRO 7:** Efecto preventivo de los diferentes isómeros del ácido linoleico conjugado (CLA) sobre el cáncer mamario en ratas <sup>(1)</sup>.

**Table 7:** Preventive effects of different isomers of conjugated linoleic acid (CLA) on mammary cancer risk in rats.

Tratamiento	CLA en la Ración g/100g	Incidencia de Tumores	Total de Tumores
Control	0,1	28/30 (93%)	92
Manteca-CLA	0,8	15/30 (50%)*	43*
Ma-CLA	0,8	16/30 (53%)*	46*
Nu-CLA	0,8	17/30 (57%)*	48*

<sup>(1)</sup> Los CLA fueron suministrados desde el destete hasta los 30 días posteriores al mismo (desde los 23 a los 55 días de edad). En ese momento, los tumores fueron inducidos a través de la inyección de un agente cancerígeno (metil-nitroso-urea). Las ratas fueron alimentadas luego con una ración sin CLA para sacrificarlas unas 24 semanas más tarde.

\* p<0,05 respecto al grupo control.

Fuente: Ip y otros, 1999.

**CUADRO 8:** Contenido total de ácido linoleico conjugado (CLA) en tejidos de ratas alimentadas con diferentes fuentes de CLA.

**Table 8:** Total content of conjugated linoleic acid (CLA) in tissues of rats fed different sources of CLA.

Tratamiento	Hígado	Grasa Mamaria	Grasa Peritoneal	Plasma
		mg/mg de lípidos		
Manteca Control	2,6a	7,2a	8,8a	5,4a
Manteca-CLA	15,7c	36,5c	65,9d	23,3c
Ma-CLA	12,5bc	26,2b	42,6c	18,4c
Nu-CLA	10,2b	28,2b	33,4b	12,5b

<sup>(1)</sup> Los CLA fueron suministrados desde el destete hasta los 30 días posteriores al mismo (desde los 23 a los 55 días de edad).

a,b,c dentro de columna promedios con distinta letra difieren significativamente entre sí.

Fuente: Ip y otros, 1999.

La mayor acumulación de CLA en los tejidos de los animales alimentados con manteca alto CLA se explicaría por un mayor consumo de ácido *trans* vaccénico (t11-18:1) contenido en la manteca (ver Cuadro 3) y su posterior conversión a CLA en los tejidos. **Este hecho resalta la importancia para la cadena lácteos de trabajar en la obtención de productos naturales alto CLA y no sintéticos (agregado de *cis*-9, *trans*-11 CLA y de *trans*-10 *cis*-12 CLA).** Otros trabajos han demostrado la factibilidad técnica de obtener manteca rica en CLA a partir de leche natural alto CLA (Ramaswamy, Baer, Schingoethe, Hippen, Kasperson y Whitlock, 2001a; Baer, Ryali, Schingoethe, Kasperson, Donovan, Hippen y Franklin, 2001).

Existe aún muy poca información epidemiológica disponible y probatoria de que los CLA ejercen una actividad anticancerígena en el humano. Estudios recientes sugieren la existencia de una asociación positiva entre el consumo de CLA y la disminución del riesgo de contraer cáncer mamario en mujeres postmenopáusicas (Aro, Mannisto, Salminen, Ovaskainen, Kataja y Uusitupa, 2000). El trabajo mencionado concluye que al menos para este tipo de cáncer el consumo regular de productos alto CLA puede constituir una importante medida preventiva en el ser humano. En otro trabajo se informó sobre una disminución en la proliferación de células humanas cancerosas en función a diferentes dosis de leche bovina naturalmente enriquecida en CLA (O'Shea, Devery, Lawless, Murphy y Stanton, 2000). Un estudio realizado en Finlandia (25 años de datos, 4697 mujeres censadas) demostró una asociación positiva entre el consumo de leche y la disminución del cáncer mamario. Las mujeres con más alto consumo de leche presentaron un 66% menos de probabilidad de contraer cáncer mamario y esta conclusión no cambió cuando los datos fueron ajustados por covariable en función a número de partos, condición de fumador e índice de gordura corporal. Los estudios sobre prevención del cáncer utilizando métodos **in vivo** o cultivos celulares **in vitro** sugieren que el

agente anticancerígeno activo de la leche sería sin duda el CLA (Ip, Scimeca y Thompson, 1995; Thompson, Shu, Banni, Darcy, Loftus e Ip, 1997). Un estudio realizado en Francia sobre el contenido en CLA de tejido adiposo mamario humano (261 mujeres con cáncer mamario localizado y 99 con tumores incipientes) reveló que el *cis*-9 *trans*-11 CLA fue el isómero más abundante (85% de total de CLA). El contenido de CLA fue mayor en el tejido adiposo mamario de mujeres sin cáncer lo que indicaría un efecto protector del *cis*-9 *trans*-11 CLA sobre la enfermedad (ver Banni, Heys y Whale, 2003).

La acción citotóxica de los diferentes isómeros sintéticos de CLA sobre diferentes líneas de células tumorales humanas fue estudiada **in vitro** en el INRA de Clermont-Ferrand Theix. La potencia anticancerígena fue evaluada a través de la cantidad de células cancerosas destruidas luego de 48h de incubación de las mismas en presencia de una concentración 100 $\mu$  de los isómeros de ácidos grasos. Las diferentes líneas tumorales presentaron una sensibilidad diferente según el tipo de ácido graso considerado resultando las células del ovario altamente sensibles a todos los isómeros probados. Las células cancerosas provenientes de tejido mamario, colon y pulmones presentaron una sensibilidad media mientras que las células prostáticas no presentaron sensibilidad a los diferentes isómeros CLA. Los diferentes isómeros del CLA y sus derivados conjugados resultaron sistemáticamente citotóxicos siendo el *trans*-9 *trans*-11 CLA (específico de la leche y carne bovina) el más activo. El porcentaje de efectividad resultó de 50%, 45%, 14% y 62% para células cancerosas provenientes de seno, pulmón, ovario y colon respectivamente (De la Torre, Debitón, Gruffat, Chardigny, Sébédio, Peyron y Bauchart, 2004 comunicación personal).

Los CLA también pueden actuar como agentes co-terapéuticos en tratamientos anticancerígenos. La exposición de células mamarías cancerígenas humanas al CLA previo a la administración de una droga anticancerígena

(docetaxell) redujo la cantidad necesaria de medicamento para alcanzar el 50% de la actividad inhibitoria (ver Banni y otros, 2003). El resultado resulta de gran interés en tratamientos de quimioterapia ya que utilizar menores dosis de droga permitiría atenuar los efectos colaterales no deseados de las mismas sobre la salud del ser humano.

Una adecuada alimentación capaz de asegurar un óptimo crecimiento durante el primer año de vida contribuye a prevenir enfermedades posteriores en el ser humano (Parodi, 2003). En este contexto, los CLA también resultan de importancia en la alimentación de lactantes ya que se ha propuesto que el consumo de *cis*-9, *trans*-11 CLA representa un factor de crecimiento en animales jóvenes (Pariza, 1999). La presencia de CLA en la leche materna protegería al par madre-hija contra futuros riesgos de cáncer mamario programando fisiológicamente al niño contra la diabetes y la obesidad (McGuire, McGuire, Parodi y Jensen, 1999).

Se ha informado que el contenido de CLA en la leche materna humana puede variar desde un mínimo de 0,19 g/100 g de AG en mujeres de USA (Connecticut) hasta un máximo de 0,58 g/100 g en mujeres Australianas. La diferencia poblacional estaría explicada por un consumo de lácteos ricos en CLA en Australia debido al sistema predominante pastoril de alimentación de sus vacas lecheras (Parodi, 2003).

Si bien existen preparaciones sintéticas de CLA (mezclas de los isómeros *trans*-10 *cis*-12 CLA y *cis*-9 *trans*-11 CLA) que pueden utilizarse en la fabricación de leches artificiales, consumir leche o derivados lácteos naturalmente enriquecidos en CLA presenta ventajas adicionales. En primer término, un consumidor exigente tiende a rechazar un producto (leche) sintéticamente producido. En segundo lugar las leyes (Europa occidental) no permiten llamar leche a un producto sintéticamente producido o adulterado con aditivos (*trans*-10 *cis*-12 CLA y *cis*-9 *trans*-11 CLA). Tal manipulación adquiere la categoría de «bebida lacteada» pero no de una verdadera leche. En tercer lugar los productos artificiales o sintéticamente producidos

resultarían de difícil exportación (Dr. Chilliard, Y., comunicación personal). Desde el punto de vista de salud humana los estudios biomédicos han demostrado que el consumo de manteca natural alto CLA producía una mayor acumulación de CLA en los tejidos de animales experimentales en comparación a los animales alimentados con CLA sintético (Cuadro 8; Ip y otros, 1999). Este importante hallazgo estaría explicado por un mayor consumo del *trans*-11 C<sub>18:1</sub> aportado por la manteca y luego convertido a *cis*-9, *trans*-11 CLA dentro de los tejidos del consumidor. Las células mamarias de los mamíferos (y también las adiposas) serían capaces de sintetizar el *cis*-9, *trans*-11 CLA a partir del *trans*-11 C<sub>18:1</sub> y otros isómeros CLA por acción de la enzima <sup>a9</sup> desaturasa sobre los *trans*-C<sub>18:1</sub> (Griinari y Bauman, citado por Chilliard, Ferlay, Mansbridge y Doreau, 2000). Salminen, Mutanen, Jauhiainen y Aro (1998) demostraron un incremento en los niveles de CLA en plasma de personas que consumieron una dieta enriquecida en ácido *trans* vaccénico (*trans*-11 C<sub>18:1</sub>). El aporte de cantidades crecientes de *trans*-11 C<sub>18:1</sub> incrementó en forma lineal la concentración de CLA en el plasma de los consumidores humanos. La tasa promedio de conversión de *trans*-11 C<sub>18:1</sub> a CLA fue del orden de 19% (Turpeinen, Mutanen, Aro, Salminen, Basu, Palmquist y Griinari, 2002). Puesto que la producción natural de leche alto CLA va sistemáticamente acompañada de un enriquecimiento paralelo en *trans*-11 C<sub>18:1</sub> (Chilliard, Ferlay, Loor, Rouel y Martin, 2002) el consumidor de lácteos naturales alto CLA recibirá una dosis directa del CLA por absorción intestinal del producto y una indirecta por síntesis endógena a partir del isómero precursor *trans*-11 C<sub>18:1</sub>.

Estos argumentos nos impulsan fuertemente a obtener productos naturales alto CLA a través de la suplementación estratégica de la vaca. Los trabajos de investigación conducidos en el mundo y en la EEA Balcarce del INTA demuestran que es posible modificar el perfil de AG de la leche **previo al ordeño de la vaca o sea en forma natural a campo**. Las técnicas

de identificación de las mejores vacas productoras de CLA (estudios genéticos de expresión del gen del enzima estearil CoA desaturasa) en combinación con las mejores estrategias nutricionales disponibles deberían ponernos en condiciones de ofrecer a la cadena lácteos una leche alta CLA apta para el desarrollo de alimentos funcionales con propiedades notables sobre la salud de la población.

### 5. Los CLA como agentes antiaterogénicos

Si bien las propiedades anticancerígenas de los CLA han sido las más estudiadas estos compuestos ejercen propiedades curativas sobre otras enfermedades degenerativas como la aterosclerosis. Estudios conducidos sobre conejos (machos y hembras) demostraron que un consumo de 0,5 g/día de CLA disminuía el colesterol total en plasma, el colesterol presente en las LDL y la concentración de triacilglicéridos plasmáticos. La relación entre el colesterol de las LDL y el de las HDL fue significativamente

reducida en los animales que consumieron CLA (10,9) respecto a los control (15,5) lo que resulta favorable a la salud y el espesor de la placa aterosclerótica en la aorta abdominal fue un 27% menor para los animales que consumieron el CLA. (Lee, Kritchevsky y Pariza, 1994). Un ejemplo del efecto antiaterogénico de los CLA se presenta en el Cuadro 9. Los animales experimentales (conejos) fueron alimentados durante 90 días con una dieta aterogénica conteniendo un 0,2% de colesterol con o sin el agregado de CLA al 1% de la ración.

Si bien no se detectaron diferencias significativas en los lípidos serales, los conejos suplementados con CLA presentaron un 31% menos de severidad de ateromas en el arco aórtico y un 40% menos en la aorta torácica. El porcentaje de área arterial afectada resultó también menor en los conejos alimentados con CLA. Luego de 90 días de alimentación con la dieta aterogénica, se estudió también el efecto del CLA sobre la progresión o regresión de las lesiones inducidas por la dieta con colesterol alimentando a los animales afectados con una

**CUADRO 9:** Parámetros aterogénicos en conejos alimentados durante 90 días con una dieta conteniendo 0,2% de colesterol sin (Control) o con 1% de ácido linoleico conjugado (CLA).

**Table 9:** Atherogenic parameters in rabbits that received a diet containing 0,2% cholesterol for 90 days without (Control) or with 1% of conjugated linoleic acid (CLA).

Variables	Control	CLA
Ganancia de peso, g	822	742
Peso del hígado, g	109	111
Hígado, % del peso	3,13	3,24
Suero, mg/ml		
Colesterol	430	559
%HDL-C <sup>(1)</sup>	6,1	3,6
Triglicéridos	77	135
Ateroma en aorta (escala 0-4)		
Arco,	2,39	1,65*
Torácica	2,35	1,40*
Area arterial afectada, %	49	30*

<sup>(1)</sup> HDL-C : colesterol asociado a las lipoproteínas de alta densidad.

\* Diferente del control, p<0,05

Fuente: Kritchevsky, 2003

ración libre de colesterol con (CLA) y sin (Control) el agregado de ácido linoleico conjugado durante otros 90 días (Cuadro 10).

0,2% de colesterol) fue acompañada de dosis crecientes de CLA (0,1; 0,5 ó 1% de la dieta). Los resultados se presentan en el Cuadro 11.

**CUADRO 10:** Regresión de los parámetros aterogénicos en conejos con aterosclerosis establecida y alimentados durante 90 días con una dieta no aterogénica sin (Control) o con 1% de ácido linoleico conjugado (CLA).

**Table 10:** Regression of atherogenic parameters in atherosclerosis rabbits fed a non atherogenic diet over 90 days without (Control) or with adding 1% conjugated linoleic acid (CLA) to the diet.

Variables	Control	CLA
Ganacia de peso, g	461	246
Peso del hígado, g	99	83
Hígado, % del peso	2,33	2,31
Suero, mg/ml		
Colesterol	73	140
%HDL-C <sup>(1)</sup>	13,5	10,6
Triglicéridos	77	57
Ateroma en aorta (escala 0-4)		
Arco,	2,35	1,65
Torácica	2,30	1,65
Area arterial afectada, %	51	34

<sup>(1)</sup> HDL-C : colesterol asociado a las lipoproteínas de alta densidad.

Fuente: Kritchevsky, 2003

En comparación a los resultados del Cuadro 9 el colesterol sanguíneo representó un 83% el inicial en el grupo Control y un 75% del inicial en el grupo CLA. El porcentaje de HDL-colesterol (benéfico) aumentó en un 121% y en un 194% en los animales Control y CLA respectivamente. Los triglicéridos disminuyeron un 58% en los animales CLA sin cambios aparentes en los Control. El nivel de aterosclerosis prácticamente no cambió en los conejos Control pero la severidad en el arco aórtico (-31%) y en la arteria aorta-torácica (-30%) fue disminuida por el CLA en comparación a los Control. El área arterial afectada resultó un 31% menor en los conejos consumiendo CLA.

Una vez comprobadas las propiedades antiaterogénicas de los CLA, el siguiente paso fue estudiar la dosis mínima efectiva de CLA capaz de prevenir la expresión de la enfermedad. La alimentación aterogénica (dieta con

Aún ante la dosis más baja de CLA la severidad de la aterosclerosis fue disminuida tanto en el arco aórtico (-28%) como en la aorta torácica (-41%). Cuando el CLA fue suministrado al 0,5% y al 1% de la ración, la aterosclerosis resultó significativamente disminuida. El porcentaje de colesterol esterificado en aorta presentó la misma tendencia. Los conejos con aterosclerosis establecida por la dieta con 0,2% de colesterol fueron posteriormente alimentados con una dieta no aterogénica más el agregado de CLA al 0,0 (Control), 0,1; 0,5 ó 1% de ácido linoleico conjugado (CLA) para estudiar la regresión de las lesiones inducidas (ateromas). Los resultados se presentan en el Cuadro 12.

El agregado de CLA al 0,1 ó al 0,5% de la ración no tuvo efecto sobre la severidad de la lesión. Al 1% de la ración, el CLA redujo la severidad del ateroma de arco aórtico en un

**CUADRO 11:** Parámetros aterogénicos en conejos alimentados con una dieta conteniendo 0,2% de colesterol sin (Control) o con 0,1; 0,5 ó 1% de ácido linoleico conjugado (CLA).

**Table 11:** *Atherogenic parameters in rabbits fed a diet containing 0,2% cholesterol without (Control) or with the addition of 0,1; 0,5 ó 1% of conjugated linoleic acid (CLA).*

Variables	Control	0,1% CLA	0,5% CLA	1% CLA
Ganancia de peso, g	104	3	67	50
Peso del hígado, g	68	77	66	78
Hígado, % del peso	2,73	3,22	2,63	3,35
Suero, mg/dl				
Colesterol	983	1281	1263	1103
%HDL-C <sup>(1)</sup>	5,0	3,3	3,3	5,0
Triglicéridos	190	246	205	216
Ateroma en aorta (escala 0-4)				
Arco,	2,36bc	1,69d	0,88bd	1,00c
Torácica	2,21ef	1,31	0,75	0,94f
Área, %	44g	32h	11gh	18
Colesterol esterificado, % <sup>(2)</sup>	74,7	52,0	34,1	44,3

<sup>(1)</sup> HDL-C : colesterol asociado a las lipoproteínas de alta densidad.

<sup>(2)</sup> La presencia de colesterol esterificado en aorta es un parámetro utilizado para evaluar la severidad de la aterosclerosis.

b-h dentro de fila valores con al misma letra difieren entre sí.

Fuente : Kritchevsky, 2003

**CUADRO 12:** Regresión de los parámetros aterogénicos en conejos con aterosclerosis establecida y alimentados durante 90 días con una dieta no aterogénica sin (Control) o con 0,1; 0,5 ó 1% de ácido linoleico conjugado (CLA).

**Table 12:** *Regression of atherogenic parameters in rabbits with established atherogenesis and fed over a 90 days period with a non atherogenic diet without (Control) or with the addition of 0,1; 0,5 ó 1% of conjugated linoleic acid (CLA).*

Variables	Control	0,1% CLA	0,5% CLA	1% CLA
Ganancia de peso, g	312	265	298	242
Peso del hígado, g	52	58	64	47
Hígado, % del peso	1,82	2,05	2,28	1,75
Suero, mg/dl				
Colesterol	128ab	140cd	295ac	309bd
%HDL-C <sup>(1)</sup>	5,0	3,3	3,3	5,0
Triglicéridos	47ab	61	214a	105b
Ateroma en aorta (escala 0-4)				
Arco,	2,64	2,25	2,50	1,95
Torácica	2,29a	2,33	2,00b	1,25bd
Área, %	53	53	49	30

<sup>(1)</sup> HDL-C : colesterol asociado a las lipoproteínas de alta densidad.

a-b dentro de fila valores con al misma letra difieren entre sí.

Fuente : Kritchevsky, 2003

27% y el de la aorta torácica en un 45%. Los autores consideran que la regresión de las lesiones resulta mínima cuando el valor no resulta inferior a 2,3.

Se estudió posteriormente el efecto de los dos isómeros disponibles de CLA (*cis*-9 *trans*-11 y el *trans*-10 *cis*-12 CLA) sobre la aterogénesis a una dosis de 0,5% de la ración (Cuadro 13).

250 mg de CLA sería perfectamente alcanzable. Los datos presentados demuestran la capacidad de los CLA para inhibir la aterosclerosis inducida por el colesterol en conejos con la particularidad adicional de reducir las lesiones ya presentes en los tejidos aórticos como consecuencia de la ingestión de alimentos "alto colesterol". El mecanismo de acción es en cambio desconocido.

**CUADRO 13:** Efecto de diferentes isómeros del ácido linoleico conjugado (CLA) y de su mezcla sobre la aterosclerosis experimental en conejos <sup>(1)</sup>.

**Table 13:** Effects of different isomers of conjugated linoleic acid (CLA) and its mixture on the experimental atherogenesis in rabbits.

Variables	Control	Mezcla CLA	c9,t11 CLA	T10,c12 CLA
Ateroma en aorta (escala 0-4)				
Arco	2,39cde	1,10c	1,56d	1,10e
Torácica	1,17cd	0,25c	0,28d	0,50

<sup>(1)</sup> La mezcla de CLA y los diferentes isómeros fueron suministrados al 0,5% de la ración dentro de fila valores con al misma letra difieren entre sí.

Fuente : Kritchevsky, 2003

Puede observarse que ambos isómeros del CLA y la mezcla aportan el mismo nivel de protección sobre los parámetros analizados. Si bien los efectos antiaterogénicos de los CLA están demostrados a dosis farmacológicas resulta necesario que los mismos se manifiesten a dosis presentes en una alimentación normal. El autor demostró la existencia de una relación dosis-respuesta al suministro de CLA (0, 0,05, 0,075, 0,10 y 0,5% en la ración) sobre la reducción de severidad aterosclerótica la que resultó significativa para el arco aórtico ( $p < 0,01$ ) tendiendo a la significancia ( $p < 0,057$ ) para la arteria aorta torácica (Kritchevsky, 2003). Estos resultados permitieron concluir que los CLA ejercen un efecto protector aún a niveles tan bajos como el 0,05% de la ración.

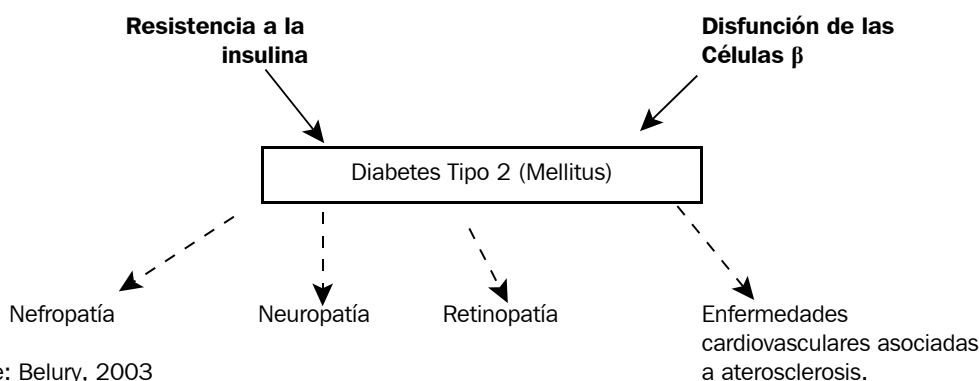
Para un humano que consume 0,5 kg de materia seca por día la dosis protectora de

## 6. Los CLA: su implicancia en la diabetes Tipo 2 y en el control de la obesidad

En países industrializados la diabetes suele afectar al 3-5% de la población. Un 10% de las personas afectadas manifiestan la llamada diabetes de Tipo 1 y el 90% restante la diabetes de Tipo 2. En la diabetes de Tipo 1 las células pancreáticas secretoras (*células  $\beta$* ) son destruidas por fenómenos de autoinmunidad a través de la acción de los linfocitos T, los macrófagos y los auto-anticuerpos. La enfermedad se asocia con otras patologías autoinmunes en un 15% de los casos lo que se denomina *síndrome de insuficiencia pluriglandular*. La aparición de la enfermedad está determinada por factores genéticos en un 30-40% de los casos y también por factores ambientales. La etiología asociada a la diabetes

de Tipo 2 no está en cambio aún bien establecida. La enfermedad forma parte de los denominados “síndromes metabólicos” que involucran también a la obesidad abdominal, a la hipertensión, a la dislipoproteinemia (hipertrigliceridemia y bajos niveles de HDL) y a la aterosclerosis precoz. Entre los riesgos asociados a la manifestación de la enfermedad se incluye la obesidad, la intolerancia a la glucosa, la raza, la edad avanzada, la diabetes asociada al embarazo, la genética familiar y el metabolismo lipídico alterado. La patología se caracteriza por la manifestación de resistencia a la insulina, hiperinsulinemia y disfunción de las células  $\beta$  (Figura 2).

una disminución significativa en el riesgo de desarrollo de la enfermedad en una población con alto riesgo de contraerla (ver Belury, 2003). Trabajar con una nutrición preventiva implica modificar tanto la cantidad como la calidad de los ácidos grasos dietarios que se ingieren. Toda reducción en la ingestión de grasa total, de grasa saturada y de ácidos grasos *trans* monoinsaturados ha sido invocada como medida beneficiosa. Alimentos ricos en ácidos grasos  $\omega$ -3 mejorarían el perfil lipídico sanguíneo en individuos con diabetes Tipo 2. Cabe también interrogarse sobre la capacidad de los CLA de reducir el peso y la masa adiposa corporal en el ser humano como elemento



Fuente: Belury, 2003

**FIGURA 2:** La diabetes de tipo 2 (mellitus): un desorden sistémico y progresivo que culmina en resistencia a la insulina, disfunción de las células  $\beta$  y otras alteraciones metabólicas.

**Figure 2:** Diabetes type 2 (mellitus) : a systemic and progressive disorder leading to insulin resistance,  $\beta$ -cells dysfunction and other metabolic alterations.

A causa de la destrucción de las células pancreáticas  $\beta$ , la diabetes de Tipo 1 requiere ser tratada con insulina. La diabetes de Tipo 2 debe ser tratada primero a través de una alimentación preventiva para posteriormente trabajar con medicamentos antidiabéticos orales. Por este motivo, se la ha denominado *diabetes Mellitus no dependiente de la insulina* (Schrezenmeir y Jagla, 2000).

Se ha informado que una ligera reducción del peso corporal cercana al 7% implicó

atenuador de la diabetes Tipo 2. Los CLA y - principalmente el isómero *trans*-10, *cis*-12, han demostrado reducir la adiposidad en animales normales no diabéticos (ratones, ratas, hamsters, pollos y cerdos) (Terpstra, 2004) con un efecto residual positivo en el caso de los ratones (ver Belury, 2003). Estos efectos positivos obtenidos en animales experimentales condujeron a la hipótesis de que los CLA podrían constituir herramientas valiosas para el manejo del peso corporal en el ser humano. La aparición

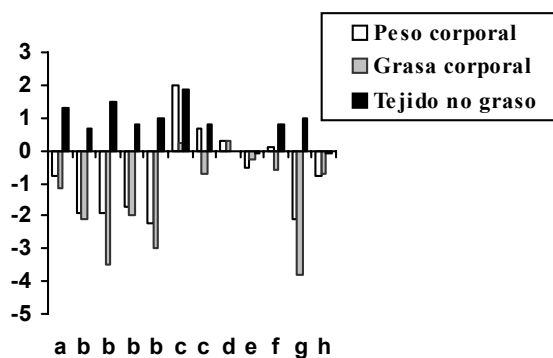


en el mercado argentino de leches no naturales enriquecidas en CLA invocan propiedades adelgazantes que paradójicamente no han sido claramente demostradas en el ser humano. Inclusive, el isómero *trans*-10, *cis*-12 (muy escaso en leches naturales pero presente en leches artificialmente enriquecidas en CLA) induce cuadros de hiperinsulinemia y resistencia a la insulina en ratones, efecto también observado en otros modelos experimentales (hamsters, y cerdos) (ver Terpstra, 2004). Incrementos en las concentraciones plasmáticas de glucosa asociadas al consumo del isómero *trans*-10, *cis*-12 CLA han sido también reportadas en animales experimentales y en el ser humano. Estos antecedentes destacan la importancia de consumir productos naturales y no sintéticamente enriquecidos en CLA.

Todos los estudios revisados por Terpstra (2004) sobre el efecto del isómero *trans*-10, *cis*-12 CLA en el ser humano (16 trabajos)

indicaron ausencia de efecto sobre el peso vivo o recuperación de peso vivo luego de la administración del compuesto. El efecto neto del CLA sobre el peso corporal y el peso de lípidos corporales fue calculado de la siguiente manera:  $(\text{Valor}_{f \text{ CLA}} - \text{Valor}_{i \text{ CLA}}) - (\text{V}_{f \text{ control}} - \text{Valor}_{i \text{ control}})$ , donde i = inicial y f = final. En sólo dos experimentos (b y g) se observaron efectos significativos del CLA sobre la reducción de grasa corporal y en ambos experimentos los pacientes participaron también de un programa de ejercicios extenuantes que pudo inducir efectos confundidos (Terpstra, 2004; Belury, 2003).

Puede concluirse que en el ser humano el efecto de los CLA sobre la pérdida de peso no está claramente establecido y los estudios arrojan resultados dispares (Figura 3). En el contexto del presente trabajo de revisión, resulta importante conocer si el efecto protector de los CLA se manifiesta a dosis ingestivas



Efecto neto del CLA (kg de cambio por kg del grupo control)

Efecto neto:  $(\text{Valor}_{f \text{ CLA}} - \text{Valor}_{i \text{ CLA}}) - (\text{V}_{f \text{ control}} - \text{Valor}_{i \text{ control}})$ , donde i = inicial y f = final. En sólo dos experimentos (b y g) los efectos sobre la reducción de la grasa corporal resultaron significativos respecto al control. Efecto neto del CLA (kg de cambio corregidos por kg del grupo control)

Fuente: Terpstra, 2004.

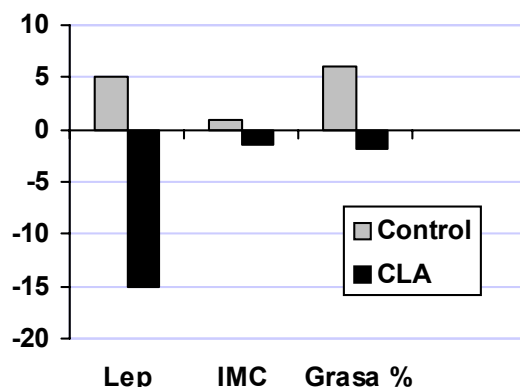
**FIGURA 3:** Efecto neto del ácido linoleico conjugado sobre el peso corporal, la grasa corporal y el tejido no graso en estudios con seres humanos.

**Figure 3:** Net effect of conjugated linoleic acid (CLA) on body weight, bodu fat, and lean body mass as observed in various human studies.

o a dosis farmacológicas del compuesto. El aporte de dosis farmacológicas de CLA (3,4-6,0 g/d) durante 12 semanas implicó una reducción significativa de masa adiposa en seres humanos obesos o con sobrepeso (Blankson, Stakstad, Fagertum, Thorn, Wadstein y Gudmunson, 2000) pero en otro experimento un consumo de 3 g/d de CLA durante 12 semanas no ejerció ningún efecto sobre el peso corporal o la adiposidad (Zambell, Keim, Van Loan, Gale, Benito, Kelley y Nelson, 2000). Es probable que factores como la dosis, la duración del tratamiento y los isómeros de CLA involucrados puedan explicar la variabilidad de respuesta observada en el ser humano. La adiposidad asociada a las vísceras estaría relacionada con la resistencia a la insulina y con la intolerancia a la glucosa (Despres, 1993). El aporte de una mezcla de CLA (4,2 g/d) durante cuatro semanas estuvo asociada a una disminución significativa del diámetro sagital abdominal en el ser humano (Riserus, Berglund y Vessby, 2001).

Bajo la hipótesis de que los CLA reducen la masa adiposa en mamíferos se han diseñado experimentos para investigar el rol de los CLA en la prevención de la diabetes Tipo 2 utilizando como modelo experimental la rata obesa-diabética llamada Zucker (ZDF; fa/fa). Este tipo de animal es el modelo elegido para el estudio de fenómenos de prediabetes asociados a la obesidad ya que junto a la misma desarrollan resistencia a la insulina y disfunción de las células  $\beta$  (Belury, 2003). Una mezcla de isómeros CLA (42% c9t11-CLA y 41% de t10c12-CLA) suministrados a razón de 1,5 g/día implicó una reducción significativa de la insulina plasmática, de los triglicéridos, de los ácidos grasos circulantes, del consumo de alimento y de la hormona llamada leptina. La concentración sanguínea de glucosa en condiciones de ayuno (marcador de gluconeogénesis hepática) fue disminuida. La acumulación de un marcador que inactiva la diferenciación del tejido adiposo (aP2 mRNA) fue incrementada por los CLA. Los investigadores también demostraron que

los efectos de los CLA no serían sólo atribuibles al menor consumo de alimento por parte de las ratas. Estos resultados positivos no fueron sin embargo obtenidos cuando los animales recibieron una manteca natural alto CLA conteniendo en forma esterificada al isómero c9t11-CLA en un 90% (Belury, 2003). Resulta por lo tanto muy probable que sea el isómero t10c12-CLA el realmente involucrado en la prevención o retraso del desarrollo de diabetes Tipo 2 al menos en este modelo experimental. Lamentablemente la presencia de este isómero en la leche natural y sus derivados es sumamente escasa. Cabe también comentar que en otros modelos experimentales de animales no diabéticos como el ratón y el cerdo una administración crónica de CLA sintético no tuvo efectos relevantes sobre parámetros asociados a la diabetes. En seres humanos (hombres) con síndromes metabólicos (obesidad abdominal, resistencia a la insulina, hipertensión y anomalías en lípidos plasmáticos) el aporte de t10,c12-CLA durante 12 semanas incrementó la resistencia a la insulina (Riserus, Armer, Brismar y Vessby, 2002). En cambio, otros resultados aún no publicados de la Universidad de Ohio (Dr. Belury, M.A., datos inéditos) demostraron una acumulación 7 veces superior de t10,c12-CLA en el plasma de seres humanos con diabetes Tipo II que recibieron una suplementación de 6,0 g por día de CLA durante 8 semanas. La disminución en la concentración sanguínea preprandrial de glucosa fue efectiva en un 81% de los individuos que recibieron el CLA aunque la concentración promedio de glucosa no difirió respecto a los individuos control. El aporte de CLA durante 8 semanas redujo significativamente las diferencias observadas entre los valores pre- y post tratamiento para las concentraciones plasmáticas de leptina ( $p < 0,03$ ) y el índice de masa corporal ( $p < 0,02$ ). La reducción en el % de grasa corporal de los individuos manifestó en cambio sólo una tendencia ( $p < 0,08$ ) (Figura 4).



Lep,  $p < 0,03$ ; IMC,  $p < 0,02$ ; Grasa %,  $p < 0,08$  respecto al control.  
Fuente: Belury, 2003.

**FIGURA 4:** Concentración seral de leptina (Lep, ng/ml), índice de masa corporal (IMC, kg/m<sup>2</sup>) y % de grasa corporal (Grasa, %) en seres humanos con diabetes de Tipo 2 suplementados (CLA) o no (Control) con 6,0 g/d de ácido linoleico conjugado (CLA) durante 8 semanas respecto a los valores pre-experimentales.

**Figure 4:** Serum leptine concentration ((Lep, ng/ml), body mass index (IMC, kg/ m<sup>2</sup> ) and % of body fat (Grasa, %) in diabetes tipe 2 humans supplemented (CLA) or not (Control) with 6,0 g/d of conjugated linoelic acid (CLA) during 8 weeks compared to pre experimental values.

Existen pocos estudios clínicos referidos al efecto de los CLA sobre la composición corporal en el ser humano. Los suplementos de CLA utilizados incluyeron mezclas equimoleculares de los isómeros t10,c12-CLA y c9,11t-CLA. Los resultados disponibles se presentan en el Cuadro 14.

En el primer ensayo<sup>(1)</sup> conducido en Noruega durante 12 semanas participaron individuos sanos y activos de un peso vivo normal. El grupo control recibió aceite de oliva y el grupo CLA fue suplementado con 1,8 g/d de una mezcla de CLA comercial (**Tonalin**®). Puede observarse que el CLA indujo una disminución en el porcentaje y en la cantidad de grasa corporal. El sexo no tuvo influencia en la respuesta al CLA. Los investigadores Noruegos condujeron un segundo ensayo<sup>(2)</sup> de 12 semanas de duración pero esta vez con varias dosis de CLA sobre personas obesas. La cantidad de grasa corporal resultó menor en los individuos que recibieron 3,4 ó 6,8 g/d de CLA.

La conclusión fue que una dosis diaria de 3,4 g de CLA durante 12 semanas resultaría suficiente para reducir la masa adiposa en humanos obesos o con sobrepeso. Un experimento<sup>(3)</sup> posterior conducido en USA (USDA Western Human Nutrition Reseachr Center, San Francisco) con mujeres normales no permitió confirmar los efectos encontrados con el CLA comercial (**Tonalin**®) en el trabajo noruego<sup>(2)</sup>. En este estudio americano, pudo comprobarse también que los CLA no modificaron ni la tasa metabólica, ni la oxidación total de lípidos, la tasa de lipólisis, la liberación de ácidos grasos desde el tejido adiposo o la reesterificación aparente de los AG sea en estado de reposo o de ejercicio por parte de las voluntarias. El siguiente experimento<sup>(4)</sup> fue conducido en Suecia (Uppasala University) y tuvo una duración de 3 meses. El aporte de CLA redujo el porcentaje corporal de grasa en un 1,1% sin cambios en el peso corporal. La pérdida de grasa corporal fue en promedio de 0,7 kg en el

**CUADRO 14:** Resumen de los estudios clínicos que evaluaron el efecto de los ácidos linoleicos conjugados (CLA) sobre la composición corporal en humanos.

**Table 14:** Summary of clinical studies evaluating the conjugated linoleic acid (CLA) effects on body composition in humans.

Dosis de CLA (g/d)	Sexo	Edad (años)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )	BMC (kg)	BFC (%)	Cambio de grasa corporal (kg)
Control <sup>(1)</sup>	5 H, 5 M	28 ± 3	23 ± 2	+0,2	+0,4	+0,4
1,8	5 H, 5 M	28 ± 3	23 ± 3	-1,9	-4,3 *	-3,4*
Control <sup>(2)</sup>	2 H, 8 M	44 ± 13	28 ± 2	+1,4	+1,2	+1,5
1,7	4 H, 8 M	47 ± 14	30 ± 3	-0,4	-1,1	-1,2
3,4	3 H, 5 M	43 ± 10	28 ± 2	-0,4	-2,0 *	-1,7 *
5,1	4 H, 7 M	48 ± 11	29 ± 3	-0,1	-0,4	-0,4
6,8	4 H, 7 M	44 ± 13	30 ± 3	-0,8	-1,1 *	-1,3 *
Control <sup>(3)</sup>	7 M	29 ± 7	22 ± 3	+0,5	+0,1	+0,01
3,9	10 M	27 ± 6	23 ± 2	-0,2	-0,7	-0,2
Control <sup>(4)</sup>	10 H, 14 M	48 ± 10	25 ± 4	+0,2	-0,4	-0,2
4,2	15 H, 11 M	43 ± 13	26 ± 4	+0,4	-1,1 *	-0,7 *
Control <sup>(5)</sup>	10 H	52 ± 8	32 ± 2	-0,4	¿?	¿?
4,2	14 M	54 ± 6	32 ± 3	-0,3		
Control <sup>(6)</sup>	¿?	¿?	¿?	-2,5	-0,2	-1,0
2,7	¿?	¿?	¿?	-2,5	0,0	-1

H = hombre, M = Mujer; BMI = índice de masa corporal; BMC = cambio de masa corporal; BFC = cambio de grasa corporal. ¿? = no informado.

\* Diferencia significativa respecto al Control,  $p < 0,05$ .

<sup>(1)</sup> Thom y otros, 2001. <sup>(2)</sup> Blankson y otros, 2000; <sup>(3)</sup> Zambell y otros, 2000. <sup>(4)</sup> Smedman y otros, 2001; <sup>(5)</sup> Diabetes Prevention Program Research Group, 2002; <sup>(6)</sup> Whigam y otros, 2000. (citados por Keim, 2003).

Fuente: Keim, 2003.

grupo CLA y de 0,2 en el control. El siguiente experimento <sup>(5)</sup> fue conducido también en Suecia durante 4 semanas sobre hombres con obesidad abdominal. El diámetro sagital abdominal resultó ligeramente reducido en los pacientes del grupo CLA sin una concomitante reducción en los niveles circulantes de insulina y glucosa. La conclusión fue que la reducción en la grasa visceral no resultó lo suficientemente importante como para aportar valor terapéutico. Un estudio final <sup>(6)</sup> de larga duración (6 meses) en la Universidad de Wisconsin-Madison (USA) no demostró ningún efecto aparente del CLA sobre la composición corporal (Cuadro 14).

Puede concluirse que el efecto anti-obesidad de los CLA no es un hecho claramente demostrado en el ser humano (Terpstra, 2004). Por otra parte, las dosis que han demostrado

ser efectivas en algunos trabajos (3,4 a 4,2 g de CLA/d) (Cuadro 14) se encuentran fuera de un rango de consumo normal de CLA (ver Cuadro 2) y pueden considerarse como dosis farmacológicas. Por lo expuesto, el autor de la presente revisión considera que este efecto anti-obesidad de los CLA no puede incluirse por el momento dentro de un contexto de producción de alimentos funcionales. El rol de los CLA como reguladores del peso, de la composición corporal y de la diabetes de Tipo 2 asociada a cuadros de obesidad parece ser bastante complejo. Los mecanismos de acción podrían involucrar cambios en la distribución de tejido adiposo, en el gasto energético y en pasos metabólicos en tejidos como el adiposo, muscular hepático, y otros. Puede concluirse que el efecto y significancia del consumo de mezclas de CLA o de su

isómero t10,c12-CLA en el ser humano como medida preventiva de cuadros de resistencia a la insulina, diabetes o reducción de la masa adiposa del organismo debe ser tomada con mucha reserva y debe ser investigada con mayor atención. El efecto adelgazante o reductor de grasa corporal de los CLA (ó del t12,c10-CLA) no ha sido aún confirmado en el ser humano y los resultados resultan aún insuficientes y contradictorios para obtener una conclusión válida. Por último, los posibles efectos benéficos del t10, c12CLA podrían estar contrapuestos a sus efectos cetogénicos en el ser humano ( $\beta$ -oxidación hepática, Belury y Banni, datos no publicados; Dr. Chilliard, Y. (comunicación personal)). Si bien la presencia del isómero *cis*-12, *trans*-10 CLA en leches naturales es muy baja (Bauman y otros, 2001) existen leches sintéticas parcialmente descremadas enriquecidas artificialmente con el isómero *cis*-12, *trans*-10 CLA (3,62 g/100 g de AG según análisis de muestra de góndola de supermercado realizado en INTA). Si asumimos una dosis terapéutica de 6 g/día de *cis*-12, *trans*-10 CLA (Belury y otros, 2003) y una concentración de 15 g/l de grasa butirosa puede calcularse que un ser humano debería ingerir diariamente unos 11 litros de leche para obtener un efecto hipotéticamente reductor y aún no demostrado sobre su masa adiposa. Si en cambio se tratase de una leche sintética no descremada (3,4% de grasa) el consumo debería ser de 4,9 litros por día. Los resultados presentados en el Cuadro 14 claramente demuestran que aún en los casos positivos de reducción de grasa corporal en adultos por parte de los CLA el efecto es muy pequeño. Resulta necesario profundizar la investigación antes de poder concluir con certeza sobre el efecto adelgazante de los CLA en el ser humano o utilizar tales argumentos con fines estrictamente comerciales. Las áreas de interés involucran la detección de los isómeros activos, solos o en combinación y también establecer las interacciones con otros componentes de la dieta capaces de afectar la biodisponibilidad de los CLA (Keim, 2003).

## 7. Conclusiones

Algunas propiedades benéficas sobre la salud humana asociadas a los alimentos denominados funcionales se encuentran en una activa etapa de investigación utilizando al ser humano como modelo experimental. Los resultados obtenidos sugieren que el consumo de alimentos funcionales enriquecidos naturalmente en CLA permitiría alcanzar dosis terapéuticas de CLA sobre enfermedades como el cáncer y la aterosclerosis. Las dosis preventivas a ingerir diariamente de estos alimentos resultarían desde luego mucho más bajas (al menos unas 10 veces menos) y por lo tanto más fáciles de obtener. Es importante destacar que el efecto benéfico de la ingestión de los alimentos funcionales (ej: alto CLA) sólo podrá ser efectivo en un marco global de alimentación y hábitos saludables de vida. En otras palabras, un consumo dirigido hacia alimentos funcionales alto CLA no debe ser interpretado como una terapia curativa sino como una medida preventiva entre otras a fin de atenuar la aparición de ciertas afecciones en el ser humano. La presencia de los CLA en productos lácteos elaborados (mantecas, quesos, yogures, leche en polvo) parecería estar garantizada si partimos de una materia prima original (leche natural) alto CLA. En una leche natural alto CLA, la presencia de su isómero precursor (*trans*-11 C 18:1) está también asegurada ya que ambos correlacionan positivamente. Este hecho se traduciría en una mayor acumulación de CLA total en los tejidos a través de la conversión endógena del ácido *trans* vaccénico (t11-18:1) a CLA. Este hecho resalta la importancia para la filial lechera de trabajar en la obtención de productos naturales alto CLA y no sintéticos a fin de optimizar la acumulación de CLA en los tejidos y con ello su efecto protector. Si bien la información acumulada sobre el efecto anticancerígeno de los CLA en el ser humano puede calificarse aún como insuficiente los resultados obtenidos son muy promisorios. La propiedad adicional de los CLA de permitir reducir las dosis necesarias de

drogas en los tratamientos de quimioterapia resultaría de gran utilidad en el paciente oncológico a fines de atenuar los efectos colaterales no deseados de dichas drogas sobre la salud humana. Las propiedades antiaterogénicas de los CLA podrían ser alcanzadas a través del consumo de alimentos naturales alto CLA. En cambio, el efecto adelgazante o reductor de grasa corporal de los CLA (o del isómero t12,c10-CLA) y el efecto atenuador de la diabetes tipo 2 no han sido aún satisfactoriamente confirmados en el ser humano y los resultados resultan aún insuficientes y contradictorios como para obtener una conclusión válida. Los resultados experimentales claramente demuestran que aún en los casos positivos de reducción de grasa corporal en adultos por parte de los CLA el efecto es muy pequeño. Resulta necesario profundizar la investigación antes de poder concluir con certeza sobre el efecto adelgazante de los CLA en el ser humano o utilizar tales argumentos con fines estrictamente comerciales. Las áreas de interés involucran la detección de los isómeros activos, sólo o en combinación y también establecer las interacciones con otros componentes de la dieta capaces de afectar la biodisponibilidad de los CLA.

## 8. Bibliografía

- ARO, A., MANNISTO, S., SALMINEN, I., OVASKAINEN, M.J., KATAJA, V. y UUSITUPA, M. 2000. Inverse association between dietary and serum conjugated linoleic acid and risk of breast cancer in postmenopausal women. *Nutr. Cancer* 38, 151-157.
- BAER, R.J., RYALI, J., SCHINGOETHE, D.J., KASPERSON, K.M., DONOVAN, D.C., HIPPEL, A.R. y FRANKLIN, S.T. 2001. Composition and properties of milk and butter from cows fed fish oil. *J. Dairy Sci.* 84, 345-353.
- BANNI, S., HEYS, S.D. y WAHLE, K.W.J. 2003. Conjugated linoleic acids as anticancer nutrients: Studies *in vivo* and cellular mechanisms. In: *Advances in Conjugated Linoleic Acid in Food*. Volume 2. J.L. Sébédio, W.W. Christie, R. Adloff (Eds.). AOCS Press, Champaign, Illinois. pp 267-282.
- BAUMAN, D.E., BARBANO, D.M., DWYER, D.A. y GRIINARI, J.M. 2000. Technical Note: Production of butter with enhanced conjugated linoleic acid for use in biomedical studies with animal models. *J. Dairy Sci.*, 83:2422-2425.
- , CORI, B.A., BAUMGARD, L.H. y GRIINARI, J.M. 2001. Conjugated linoleic acid (CLA) and the dairy cow. In: P.C. Garnsworthy and J. Wiseman (eds.) *Recent advances in Animal Nutrition*. Nottingham University Press, Nottingham, UK, pp 221-250.
- BELURY, M.A. 2003. Conjugated linoleic acids in Type diabetes melitus: implications and potential mechanisms. In: *Advances in Conjugated Linoleic Acid in Food*. Volume 2. J.L. Sébédio, W.W. Christie, R. Adloff (Eds.). AOCS Press, Champaign, Illinois. pp 302-315.
- BIOCLA 2003-2006. Production of CLA-enriched dairy products by natural means. A European Commission Shared Cost Research and Technological Development Project funded within the 5 th Framework Programme, Quality of life and management of living resources, key action I: Food nutrition and health. Contract NE QLKI-2002-02362.
- BLANKSON, H., STAKKSTAD, J., FAGERTUN, H., THORN, E., WADSTEIN, J. y GUDMUNSON, O. 2000. Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. *J. Nutr.*, 130, 2943-2848.
- CHILLIARD, Y., FERLAY, A., MANSBRIDGE, R.M. y DOREAU, M. 2000. Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. *Ann. Zootech.* 49, 181-205.
- , FERLAY, A., LOOR, J., ROUEL, J. y MARTIN, B. 2002. Trans and conjugated fatty acids in milk from cows and goats consuming pasture or receiving vegetable oils or seeds. *Ital. J. Anim. Sci.* (1), 243-254.
- DESPRES, J.P. 1993. Abdominal obesity as important component of insulin-resistance syndrome, *Nutrition* 9, 452-459.
- GAGLIOSTRO, G.A. 2001. Los Nutrientes Bypass en la Alimentación de la Vaca Lechera. Publicaciones INTA EEA Balcarce. 200 páginas.
- GRUMER, R.R. 1991. Effect of feed on the composition of milk fat. *J Dairy Sci.* 74: 3244-3257.
- HU, F.B., STAMPFER, M.J. MANSON, J.E., ASCHRE-RIO, A., COLDIZT, G.A. y SPEIZER, F.E. 1999.

- Dietary saturated fats and their food sources in relation to the risk of coronary heart disease in women. *J. Clin. Nutr.*, 70:1001-1008.
- IP, C., SINGH, M., THOMPSON, H.J. y SCIMECA, J.A. 1994. Conjugated linoleic acid suppresses mammary carcinogenesis and proliferative activity of the mammary gland in the rat. *Cancer Res.* 54, 1212-1215.
- , SCIMECA, J.A. y THOMPSON, H. 1995. Effect of timing and duration of dietary conjugated linoleic acid on mammary cancer prevention. *Nutr. Cancer* 24, 241-247.
- , BANNI, S., ANGIANI, E. CARTA, G., MCGINLEY, J., THOMPSON, H.J., BARBANO, D. y BAUMAN, D. 1999. Conjugated linoleic acid-enriched butter fat alters mammary gland morphogenesis and reduces cancer risk in rats. *J. Nutr.* 129:2135-2142.
- JENSEN, R.G. 2002. The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *J. Dairy Sci.* 85, 295-350.
- KEIM, N.L. 2003. Conjugated linoleic acid and body composition. In: *Advances in Conjugated Linoleic Acid in Food. Volume 2.* J.L. Sébédio, W.W. Christie, R. Adloff (Eds.). AOCS Press, Champaign, Illinois. pp 317-324.
- KRITCHEVSKY, D. 2003. Conjugated linoleic acid in experimental atherosclerosis. In: *Advances in Conjugated Linoleic Acid in Food. Volume 2.* J.L. Sébédio, W.W. Christie, R. Adloff (Eds.). AOCS Press, Champaign, Illinois. pp 292-301.
- LEE, K.N., KRITCHEVSKY, D. y PARIZA, M.W. 1994. Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis*, 108, 19-25.
- MARITANO, M., OXLEY, R. y FERNÁNDEZ, A.M. 1986. Composición y variaciones estacionales de leches crudas provenientes de los tambos de la cuenca de Lincoln, Buenos Aires. Publicación CITIL N° 22 INTI.
- McGUIRE, M.A., McGUIRE, M.K., PARODI, P.W. y JENSEN, R.G. 1999. Conjugated linoleic acids in human milk. In *Advances in conjugated linoleic acid research, Vol. 1* (Yurawecz, M.P., Mossoba, M.M., Kramer, J.K.G., Pariza M.W., Nelson, G.E. eds.) pp 296-306, AOCS Press, Champaign, IL.
- MILNER, J.A. 1999. Functional foods and health promotion. *J. Nutr.* 129, 1395S-1397S.
- O'SHEA, M., DEVERY, R., LAWLESS, F., MURPHY, J. y STANTON, C. 2000. Milk fat conjugated linoleic acid (CLA) inhibits growth of human mammary MCF-7 cancer cells, *Anticancer Res.* 20, 3591-3601.
- PARIZA, M.W. 1999. The biological activities of conjugated linoleic acid. In *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research, Volume 1* (Yurawecz, M.P., Mossoba, M.M., Kramer, J.K.G., Pariza, M.W. and Nelson, J.B., eds.) pp 12-20, AOCS Press, Champaign, IL.
- , PARK, Y. y COOK, M.E. 2001. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Prog. Lipid Res.* 40, 283-298.
- PARODI, P.W. 1999. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. *J. Dairy Sci.* 82, 1339-1349.
- , 2003. Conjugated linoleic acid in food. In: *Advances in Conjugated Linoleic Acid in Food. Volume 2.* J.L. Sébédio, W.W. Christie, R. Adloff (Eds.). AOCS Press, Champaign, Illinois. pp 101-122.
- PARRISH, Jr., F.C., WIEGAND, B.R., BEITZ, D.C., AHN, D.U., DU, M. y TRENKLE, A.H. 2003. Use of dietary CLA to improve composition and quality of animal-derived foods. In: *Advances in Conjugated Linoleic Acid in Food. Volume 2.* J.L. Sébédio, W.W. Christie, R. Adloff (Eds.). AOCS Press, Champaign, Illinois. Pp 189-217.
- RAMASWAMY, N., BAER, R.J., SCHINGOETHE, D.J., HIPPEN, A.R., KASPERSON, K.M. y WHITLOCK, L.A. 2001a. Composition and flavor of milk and butter from cows fed fish oil, extruded soybeans, or their combination. *J. Dairy Sci.* 84, 2144-2151.
- RISERUS, U., BERGLUND, L. y VESSBY, B. 2001. Conjugated linoleic acid (CLA) reduced abdominal adipose tissue in obese middle-aged men with signs of metabolic syndrome: a randomized controlled trial. *Int. J. Obes.* 25, 1129-1135.
- , ARMER, P., BRISMAR, K. y VESSBY, B. 2002. Treatment with dietary trans 10 cis 12 conjugated linoleic acid causes isomer-specific insulin resistance in obese men with the metabolic syndrome. *Diabetes Care* 25, 1516-1521.
- SALMINEN, I., MUTANEN, M. JAUHAINEN, M. y ARO, A. 1998. Dietary trans fatty acids increase conjugated linoleic acid levels in human serum. *J. Nutr. Biochem.* 9:93-98.
- SCHREZENMEIR, J. y JAGLA, A. 2000. Milk and diabetes. *Journal of the Am. College of Nutrition*, 19 (2), 176s-190S.
- SÉBÉDIO, J.L., GNADEIG, S. y CHARDIGNI, J.M. 1999. Recent advances in conjugated linoleic

- acid research. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*, 2, 499-506.
- SHANTHA, N.C., RAM, L.N., O'LEARY, J., HICKS, C.L. y DECKER, E.A. 1995. Conjugated linoleic acid concentrations in dairy products as affected by processing and storage. *J. Food Sci.*, 60, 694-697.
- STANTON, C., MURPHY, J., McGRATH, E. y DEVERY, R. 2003. Animal feeding strategies for conjugates linoleic acid enrichment of milk. *In: Advances in Conjugated Linoleic Acid in Food. Volume 2.* J.L. Sébédio, W.W. Christie, R. Adloff (Eds.). AOCS Press, Champaign, Illinois. Pp 123-145.
- TERPSTRA, A.H.M. 2004. Effect of conjugated linoleic acid on body composition and plasma lipids in humans: an overview of the literature. *Am. J. Clin. Nutr.* 79, 352-361.
- THOMPSON, H., SHU, Z., BANNI, S., DARCY, K., LOFTUS, T. e IP, C. 1997. Morphological and biochemical status of the mammary gland as influenced by conjugated linoleic acid : implication for a reduction in mammary cancer risk. *Cancer Res.* 57, 5067-5072.
- TURPEINEN, M.A., MUTANEN, M., ARO, A., SALMINEN, I., BASU, S. PALMQUIST, D.L. y GRIINARI, J.M. 2002. Bioconversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in humans. *Am. J. Clinical Nutr.* 76, 504-510.
- WATKINS, B.A. y LI, Y. 2003. CLA in functional food: enrichment of animal products. *In: Advances in Conjugated Linoleic Acid in Food. Volume 2.* J.L. Sébédio, W.W. Christie, R. Adloff (Eds.). AOCS Press, Champaign, Illinois. pp 174-188.
- ZAMBELL, K.L., KEIM, N.L., VAN LOAN, M.D., GALE, B., BENITO, P., KELLEY, D. y NELSON, G.J. 2000. Conjugated linoleic acid supplementation in humans: effects on body composition and energy expenditure. *Lipids*, 35, 777-782.