Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών
Τμήμα Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής και Υδατοκαλλιεργειών
Εργαστήριο φυσιολογίας Θρέψεως και Διατροφής

Επίδραση του υποσιτισμού και υπερσιτισμού στη σύνθεση των λιπαρών οξέων του γάλακτος και το ορμονικό προφίλ γαλακτοπαραγωγών αιγών.

ΧΡΥΣΟΛΟΥΡΗ ΧΑΡΙΚΛΕΙΑ

Αθήνα 2011

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών
Τμήμα Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής και Υδατοκαλλιεργειών
Εργαστήριο φυσιολογίας Θρέψεως και διατροφής

Διευθυντής : Καθηγητής Γ. Ζέρβας

Επίδραση του υποσιτισμού και υπερσιτισμού στη σύνθεση των λιπαρών οξέων του γάλακτος και το ορμονικό προφίλ γαλακτοπαραγωγών αιγών.

Μεταπτυχιακή μελέτη της
Χρυσολούρη Χαρίκλειας

Εξεταστική Επιτροπή:
Εισηγητής: Ζέρβας Γεώργιος, Καθηγητής
Μέλη: Φεγγερός Κωνσταντίνος, Καθηγητής
Χαδιώ-Μάντζαρη Στέλλα, Επίκουρη Καθηγήτρια

Αθήνα 2011

Αφιερώνεται στους γονείς μου, που με στήριξαν και με στηρίζουν στους δρόμους που επιλέγω να πραγματοποιώ τα βήματα της ζωής μου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες

Εισαγωγή

Περίληψη

SUMMARY

Κεφάλαιο Α: Βιβλιογραφική Ανασκόπηση

Α.1.Λιπαρά οξέα γάλακτος

Α.2.Συζευγμένο λινελαϊκό οξύ και ισομερή του

Α.2.1 Παραγωγή CLA στη μεγάλη κοιλία

Α.2.2 Σύνθεση CLA σε ιστούς

Α.3.Σχέση λιπαρών οξέων και υγείας του ανθρώπου

Α.3.1.CLA και υγεία ανθρώπου

Α.4.Παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή των λιπαρών οξέων στα μηρυκαστικά ζώα

Α.4.1.Παράγοντες που σχετίζονται με το ζώο

Α.4.2.Παράγοντες που σχετίζονται με τη διατροφή του ζώου

Α.5.Ορμόνες που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των λιπαρών οξέων

Α.5.1.Λεπτίνη

Α.5.2.Ινσουλίνη

Α.5.3.Λεπτίνη-Ινσουλίνη

Κεφάλαιο Β: Πειραματικό Μέρος

Β.1.Σκοπός πειράματος

Β.2.Υλικά και μέθοδοι

Β.2.1. Περιβάλλον που πραγματοποιήθηκε το πείραμα

Β.2.2. Ζωικό υλικό

Β.2.3. Σιτηρέσια

Β.2.4. Μέσα που χρησιμοποιήθηκαν για τη διεξαγωγή του πειράματος

Β.2.4.1 Αναλύσεις γάλακτος

Β.2.4.2 Σωματικό βάρος αιγών

Β.2.4.3 Αναλύσεις αίματος

Β.2.4.4 Ομαδοποιήσεις των λιπαρών οξέων του λίπους του γάλακτος, αθηρωματικός δείκτης και έμμεσος προσδιορισμός της Δ^{-9} αφυδρογονάσης

Β.2.4.5 Στατιστική ανάλυση

Β.3.Αποτελέσματα

Β.3.1 Σωματικό βάρος αιγών
Β.3.2 Ημερήσια παραγόμενη ποσότητα γάλακτος
Β.3.3 Χημική σύσταση γάλακτος
Β.3.3.α Λίπος
Β.3.3.β Λακτόζη
Β.3.3.γ Πρωτεΐνη
Β.3.3.δ Ολικά στερεά
Β.3.3.ε Ολικά στερεά άνευ λίπους
Β.3.4 Λιπαρά οξέα του λίπους του γάλακτος αιγών
Β.3.5 Λιπαρά οξέα του αίματος των αιγών
Β.3.6 Λεπτίνη και ινσουλίνη στο αίμα των αιγών
Β.4.Συζήτηση -Συμπεράσματα

Παράρτημα

Βιβλιογραφία

Ευχαριστίες

Ολοκληρώνοντας την εργασία μου για την απόκτηση του μεταπτυχιακού τίτλου σπουδών μου, από το Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, θα ήθελα να ευχαριστήσω, τα πρόσωπα που συνέβαλαν με τη βοήθειά τους στην επιτυχημένη ολοκλήρωσή της.

Οφείλω, πρώτον από όλους, να ευχαριστήσω τον Καθηγητή του Εργαστηρίου Φυσιολογίας Θρέψης και Διατροφής, κ. Ζέρβα Γεώργιο, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε για τη συγκεκριμένη μελέτη και τη βοήθειά του για τη πραγματοποίησή της αλλά και τη συγγραφή της.

Επιπλέον, θέλω να ευχαριστήσω τη Λέκτορα, κα. Τσιπλάκου Ελένη του Εργαστηρίου Φυσιολογίας Θρέψης και Διατροφής, για την άριστη συνεργασία που είχα μαζί της και για τη συνεχή επίβλεψη και καθοδήγηση την οποία είχα κατά τη διάρκεια της μεταπτυχιακής μου μελέτης.

Επίσης θέλω να ευχαριστήσω τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής, Καθηγητή κ. Φεγγερό Κωνσταντίνο και την Επίκουρη Καθηγήτρια κα. Χαδιώ-Μάντζαρη Στέλλα, γιατί είναι τιμή μου, που υπήρξα μαθήτρια τους, διότι οι γνώσεις και οι πολύτιμες συμβουλές τους διαμόρφωσαν τον επαγγελματικό χαρακτήρα μου και θα με συντροφεύουν για πάντα.

Θέλω ακόμα να ευχαριστήσω το Λέκτορα του Εργαστηρίου Φυσιολογίας Θρέψης και Διατροφής, κ. Παπαδομιχελάκη Γεώργιο για τη βοήθειά του στην εκμάθηση του προγράμματος SPSS αλλά και για τη βοήθεια του στη διαχείριση των ζώων.

Ένα ευχαριστώ χρωστάω και στον κ. Καλογιάννη Δημήτριο, του Εργαστηρίου Ανατομίας και Φυσιολογίας Αγροτικών Ζώων για τη βοήθεια στις ορμονικές αναλύσεις αλλά και τον κ. Πάσχο Θεόδωρο του Εργαστηρίου Γαλακτοκομίας για τη βοήθεια στις αναλύσεις του γάλακτος.

Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω τον εργατοτεχνίτη κ. Πετρόπουλο Χρήστο για τη βοήθεια του στη διαχείριση των ζώων στις πειραματικές εγκαταστάσεις του Εργαστηρίου Φυσιολογίας Θρέψης και Διατροφής.

Εισαγωγή

Το γάλα είναι μια πολυσύνθετη βιολογική έκκριση των θηλαστικών που προορίζεται για τη διατροφή των νεογέννητων ζώων και θεωρείται η πληρέστερη απλή τροφή που υπάρχει στη φύση. Η υψηλή διατροφική του αξία αποδίδεται κυρίως στις πρωτεΐνες, τους υδατάνθρακες, τις βιταμίνες αλλά και τα ανόργανα στοιχεία που περιέχει.(National Research Council, 1988; Miller et al., 2004).

Πρόσφατα όμως, και μετά από σειρά ερευνών, η επιστημονική κοινότητα, άρχισε να ασχολείται πολύ και με το λίπος του γάλακτος, καθώς αποδεικνύεται ότι περιέχει συστατικά, όπως για παράδειγμα τα ακόρεστα λιπαρά οξέα, που δρουν θετικά στην υγεία του ανθρώπινου σώματος. (National Research Council, 1996). Παρόλα αυτά το λίπος του γάλακτος, περιέχει και υψηλό ποσοστό κορεσμένων λιπαρών οξέων, τα οποία έχουν συνδεθεί με αρνητικές επιδράσεις στην υγεία του ανθρώπου.

Το λίπος, ωστόσο, είναι το πιο ευμετάβλητο συστατικό του γάλακτος και επηρεάζεται από αλλαγές στη διατροφή των ζώων, τόσο όσον αφορά τη συγκέντρωσή του στο γάλα, όσο και τη σύστασή του σε λιπαρά οξέα. (Bauman et al., 2006). Ακριβώς γι' αυτό το λόγο, η έρευνα γύρω από την προσπάθεια αλλαγής του προφίλ των λιπαρών οξέων του λίπους του γάλακτος των μηρυκαστικών, ώστε αυτό να καθίσταται πιο υγιεινό από διατροφικής άποψης, επικεντρώθηκε σε διάφορες διατροφικές επεμβάσεις και κυρίως μέσω της χορήγησης στα ζώα διαφόρων ζωοτροφών πλούσιων σε λιπαρές ουσίες, όπως για παράδειγμα, οι ελαιούχοι καρποί και τα φυτικής και ζωικής προέλευσης έλαια. Βέβαια τα αποτελέσματα που συλλέγονται από τις υπάρχουσες βιβλιογραφικές πηγές αφορούν κατά κύριο λόγο τις γαλακτοπαραγωγικές αγελάδες και δευτερεύοντος τα αιγοπρόβατα.

Σκοπός λοιπόν της παρούσας εργασίας ήταν να διερευνηθεί η επίδραση του υποσιτισμού και υπερσιτισμού στο προφίλ των λιπαρών οξέων του γάλακτος και το ορμονικό προφίλ γαλακτοπαραγωγών αιγών. Ιδιαίτερη έμφαση δόθηκε στο συζυγές λινελαϊκό οξύ (CLA) που τα τελευταία χρόνια έχει γίνει «διάσημο» χάρη στις θετικές επιδράσεις που φαίνεται να έχει στην υγεία του ανθρώπου. Ο λειτουργικός ρόλος του έγινε αποδεκτός από την Εθνική Ακαδημία Επιστημών το 1996, δηλώνοντας ότι «το CLA είναι το μόνο λιπαρό που αναμφίβολα παρεμποδίζει την καρκινογένεση σε πειραματόζωα». Επιπλέον, το CLA φαίνεται να μειώνει της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνες (LDL) (Lee et al.,1994;Lock et al., 2005), την εναπόθεση σωματικού λίπους (Collomp et al, 2006) και να ενισχύει το ανοσοποιητικό σύστημα(Ramirez-Santana et al, 2009). Για τους παραπάνω λόγους, η αύξηση του CLA στα γαλακτοκομικά προϊόντα και στο κρέας είναι επιθυμητή.

Για τη διενέργεια αυτής της εργασίας χρησιμοποιήθηκαν 24 αίγες εγχώριας φυλής που χωρίστηκαν σε τρεις ομάδες και διατρέφονταν στο 70%, 100% και 130% των αναγκών τους.

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΧΡΥΣΟΛΟΥΡΗ ΧΑΡΙΚΛΕΙΑΣ

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΥΠΟΣΙΤΙΣΜΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΥΠΕΡΣΙΤΙΣΜΟΥ ΣΤΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΚΑΙ ΤΟ ΟΡΜΟΝΙΚΟ ΠΡΟΦΙΛ ΓΑΛΑΚΤΟΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΑΙΓΩΝ

Επιβλέπων: Καθηγητής Γεώργιος Ζέρβας

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το γάλα είναι μια πολυσύνθετη βιολογική έκκριση των θηλαστικών που προορίζεται για τη διατροφή των νεογέννητων ζώων και θεωρείται η πληρέστερη απλή τροφή που υπάρχει στη φύση. Η υψηλή διατροφική του αξία αποδίδεται κυρίως στις πρωτεΐνες, τους υδατάνθρακες, τις βιταμίνες αλλά και τα ανόργανα στοιχεία που περιέχει.

Πρόσφατα όμως, και μετά από σειρά ερευνών, η επιστημονική κοινότητα άρχισε να ασχολείται πολύ και με το λίπος του γάλακτος καθώς αποδεικνύεται ότι περιέχει συστατικά, όπως για παράδειγμα τα ακόρεστα λιπαρά οξέα, που δρουν θετικά στην υγεία του ανθρώπινου σώματος. Παρόλα αυτά το λίπος του γάλακτος περιέχει και υψηλό ποσοστό κορεσμένων λιπαρών οξέων τα οποία έχουν συνδεθεί με αρνητικές επιδράσεις στην υγεία του ανθρώπου.

Το λίπος, ωστόσο, είναι το πιο ευμετάβλητο συστατικό του γάλακτος και επηρεάζεται από αλλαγές στη διατροφή των ζώων, τόσο όσον αφορά τη συγκέντρωσή του στο γάλα, όσο και τη σύστασή του σε λιπαρά οξέα. Ακριβώς γι' αυτό το λόγο η έρευνα στρέφεται γύρω από την προσπάθεια αλλαγής του προφίλ των λιπαρών οξέων του λίπους του γάλακτος των μηρυκαστικών, ώστε αυτό να καθίσταται πιο υγιεινό από διατροφικής άποψης με διάφορες επεμβάσεις στο σιτηρέσιο των ζώων.

Σκοπός, λοιπόν, της παρούσας εργασίας ήταν να διερευνηθεί η επίδραση του υποσιτισμού και υπερσιτισμού στη χημική σύσταση του γάλακτος, στο προφίλ των λιπαρών οξέων του γάλακτος και του πλάσματος του αίματος και το ορμονικό προφίλ γαλακτοπαραγωγών αιγών. Για τη διενέργεια αυτής της εργασίας χρησιμοποιήθηκαν 24 αίγες εγχώριας φυλής, οι οποίες χωρίστηκαν σε τρεις ομοιόμορφες ομάδες λαμβάνοντας υπόψη το σωματικό βάρος και τη γαλακτοπαραγωγή. Κάθε ομάδα διατρέφονταν με το ίδιο σιτηρέσιο, αλλά σε ποσότητα που κάλυπτε το 70% (ομάδα Α: υποσιτισμού), το 100% (ομάδα Β: μάρτυρας) και το 130% (ομάδα Γ: υπερσιτισμού) των αναγκών τους σε ενέργεια και αζωτούχες ουσίες.

Όλα τα ζώα αμέλγονταν δύο φορές την ημέρα και το γάλα ανά ομάδα ζυγιζόταν καθημερινά Ατομικά δείγματα γάλακτος λαμβάνονταν από τα ζώα ανά τακτά χρονικά διαστήματα τα οποία αναλύονταν με Milkoscan 133 όσον αφορά τη χημική τους σύσταση.

Κατά τη διάρκεια του πειράματος πραγματοποιήθηκαν και δύο ατομικές δειγματοληψίες γάλακτος από τα ζώα για προσδιορισμό των λιπαρών οξέων του γάλακτος. Επιπλέον, γινόταν μέτρηση του σωματικού βάρους των αιγών. Τέλος,

πραγματοποιήθηκαν δύο δειγματοληψίες αίματος από τη σφαγίτιδα φλέβα έκαστου ζώου για τον προσδιορισμό των λιπαρών οξέων του πλάσματος του αίματος και έξι δειγματοληψίες αίματος για τον προσδιορισμό των ορμονών λεπτίνης και ινσουλίνης. Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πακέτο SPSS έκδοσης 17.0.

Τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν ότι το σωματικό βάρος των αιγών της ομάδας Α (υποσιτισμός) μειώνονταν σταδιακά, ενώ αυτό των αιγών της ομάδας Γ (υπερισιτισμός) αυξάνονταν συγκριτικά με το σωματικό βάρος των αιγών της ομάδας Β (μάρτυρας).

Η μέση ημερήσια ποσότητα γάλακτος και των τριών ομάδων παρουσίασε σταδιακή πτώση λόγω της εξέλιξης της γαλακτικής περιόδου, αλλά η μείωση αυτή ήταν μικρότερη στην ομάδα Γ, ακολουθούμενη από την ομάδα Β και τέλος από την ομάδα Α. Όσον αφορά τη χημική σύσταση του γάλακτος, η συγκέντρωση της λακτόζης ήταν χαμηλότερη στο γάλα των αιγών της ομάδας Α σε σχέση με αυτήν των ομάδων Β και Γ. Η περιεκτικότητα του γάλακτος των αιγών σε πρωτεΐνη δεν παρουσίασε διαφορές μεταξύ των ομάδων, αλλά λόγω της διαφορετικής ποσότητας παραγόμενου γάλακτος η μέση παραγόμενη ημερήσια ποσότητα πρωτεΐνης ήταν υψηλότερη στην ομάδα Γ ακολουθούμενη από την ομάδα Β και αυτή από την ομάδα Α. Το αυτό ισχύει και για την μέση παραγόμενη ποσότητα λίπους παρά το γεγονός ότι η εκατοστιαία λιποπεριεκτικότητα ήταν υψηλότερη στο γάλα της ομάδας Α (υποσιτισμού).

Όσον αφορά τα επιμέρους λιπαρά οξέα τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας έδειξαν ότι τα ζώα που υποσιτίζονταν είχαν χαμηλότερη συγκέντρωση στα λιπαρά οξέα του λίπους του γάλακτος : $C_{10:0}$,$C_{12:0}$,$C_{13:0}$,$C_{14:0}$,$C_{14:1}$, VA,LA,CLA,EPA, $C_{24:0}$ σε σχέση με τις αίγες που υπερσιτίζονταν, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για τα: $C_{12:0}$,$C_{13:0}$,$C_{14:0}$,$C_{14:1}$ και VA. Υψηλότερες συγκεντρώσεις παρουσίασαν οι αίγες που υποσιτίζονταν στα λιπαρά οξέα: $C_{4:0}$,$C_{6:0}$,$C_{8:0}$, $C_{11:0}$, $C_{15:0}$,$C_{15:1}$, $C_{16:0}$, $C_{18:0}$,$C_{18:1}$, α LNA, LNA, $C_{20:0}$ και $C_{20:3}$ σε σχέση με τις αίγες που υπερσιτίζονταν, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για τα: $C_{4:0}$ και $C_{20:3}$. Στα ομαδοποιημένα λιπαρά οξέα και στις τιμές του λόγου κορεσμένα/ ακόρεστα και του αθηρωματικού δείκτη, οι αίγες που υποσιτίζονταν παρουσίασαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις στα: ΜΕΑ, Κ, ΠΟΛΑ, Κ/Α, ΑΔ σε σχέση με τις αίγες που υπερσιτίζονταν, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για τα ΜΕΑ. Επιπρόσθετα, οι αίγες που υποσιτίζονταν παρουσίασαν υψηλότερες συγκεντρώσεις στα: ΜΙΑ, ΜΑ και ΜΟΝΑ σε σχέση με τις αίγες που υπερσιτίζονταν, αλλά τα αποτελέσματα δεν ήταν στατιστικώς σημαντικά για κανένα από αυτά.

Η τάση που παρατηρήθηκε μεταξύ υποσιτισμού και υπερσιτισμού για τους λόγους της ενεργότητας της Δ^{-9} αφυδρογονάσης ήταν αύξηση των λόγων $C_{14:1}/C_{14:0}$, $C_{16:1}/C_{16:0}$ και μείωση των λόγων $C_{18:1}/C_{18:0}$, *cis*-9, *trans*-11CLA/VA με πολύ μικρές όμως διαφορές. Η μόνη στατιστικώς σημαντική διαφορά προέκυψε στο λόγο $C_{18:1}/C_{18:0}$ όπου στον υπερσιτισμό υπήρχε χαμηλότερη τιμή σε σχέση με το μάρτυρα.

Στα λιπαρά οξέα που μετρήθηκαν στο πλάσμα του αίματος των αιγών, τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις στα ζώα που υποσιτίζονταν παρουσίασαν τα λιπαρά οξέα: $C_{8:0}$,$C_{14:0}$, $C_{17:0}$,VA,LA, α-LNA, LNA, EPA, σε σχέση με τις αίγες που υπερσιτίζονταν, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για τα LA και α-LNA. Επιπρόσθετα, οι αίγες που υποσιτίζονταν παρουσίασαν υψηλότερες συγκεντρώσεις στα ΛΟ: $C_{4:0}$,$C_{6:0}$, $C_{15:0}$, $C_{16:0}$, $C_{18:0}$,$C_{18:1}$, $C_{20:3}$ και $C_{24:0}$ σε σχέση με τις αίγες που υπερσιτίζονταν, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για το $C_{18:1}$. Στο πλάσμα του αίματος των αιγών δεν ανιχνεύτηκε *cis*-9, *trans*-11 CLA ανεξαρτήτως πειραματικής φάσης.

Τέλος, η τάση της ινσουλίνης ήταν να αυξάνεται καθώς αυξάνονταν η ποσότητα της τροφής, με αποτέλεσμα να παρατηρηθεί η υψηλότερη τιμή της όταν οι αίγες διατρέφονταν στο 130% των αναγκών τους.

Σε αντίθεση με την ινσουλίνη, η λεπτίνη δεν παρουσίασε στατιστικώς σημαντική διαφορά ανάμεσα στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις.

Συμπερασματικά, το επίπεδο διατροφής (υπό- και υπερ-σιτισμός) επηρέασε το σωματικό βάρος των αιγών, τη μέση παραγόμενη ποσότητα και χημική σύσταση του γάλακτος και το προφίλ των λιπαρών οξέων του γάλακτος και του αίματος. Επιπλέον, η συγκέντρωση του $C_{18:0}$ λιπαρού οξέος θα μπορούσε να αποτελέσει έναν καλό δείκτη του επιπέδου διατροφής των αιγών.

Postgraduate study by Chrisoloury Charikleia

The effect of long term under-and over feeding on milk fatty acids profile and hormonal profile of dairy goats.

Supervisor: Professor Georgios Zervas

Summary

Milk is a multifold biological excretion from mammals that intends to be used by newborns and it is considered as the most complete and simple food that exists in the nature. Milk's high nutritional value is mainly attributed to its proteins, carbohydrates, vitamins but also minerals which contains.

Recently, after a long period of research, scientific community started to deal with milk's fat, as it is proved that consists components, like unsaturated fatty acids, which act positively on the health of human body. However, milk's fat contains a high proportion of saturated fatty acids which have been associated with adverse effects on human's health.

Fat, however, is the most volatile component of milk and it is affected by changes in animal's nutrition, both in terms of its concentration in milk, and its recommendation to fatty acids. Precisely, for this reason the investigation is focused on trying to change the profile of fatty acids in milk fat of ruminants, so that it becomes nutritionally healthier by various interventions in animal feeds.

Therefore, the purpose of the present study was to investigate the effects of under-and over-feeding on the chemical composition of milk, on the fatty acid profile of milk and blood plasma and hormonal profile of diary goats. To carry out this work, twenty-four diary goats of native breed were used. The goats were divided into three homogenous sub-groups (n=8) balanced by body weight and milk yield. Each group were fed the same ration but in quantities which covered 70% (under-feeding), 100% (control) and 130% (over-feeding) of their respective energy and crude protein requirements.

All animals were milked twice a day and their milk balanced for each group separately every day. Individual milk samples were collected from the goats in regular intervals, which were analyzed with Milkoscan 133 for chemical composition.

During the experiment two individual samples of milk from the animals took place for determination of fatty acids in milk. Furthermore, body weight of goats was measured.

Finally, two samples of blood, from the jugular vein of each animal were collected for determination of fatty acids in blood plasma and six blood samples for the determination of the hormones, leptin and insulin. Statistical analysis of results were accomplished by the statistical package SPSS, version17.0.

The results from the experiment showed that the weight of the goats that belong to the group A (under-feeding) was gradually reduced, whereas, the weight from the goats of group C (over-feeding) increased compared with the weight of the goats of group B (control).

The average daily quantity of milk for the three groups showed a gradual decline due to the evolution of lactation, but the decrease was smaller in group C, followed by Group B and finally by group A. Concerning the chemical composition of the milk, lactose concentration was lower in the milk of goats in Group A compared with that of groups B and C. The content of milk protein of goats showed no differences between groups, but due to different amounts of milk produced, the average daily amount of protein was higher in group C, followed by Group B and that of group A.
The same applies to the average quantity of fat despite the fact that the percentage fat content in milk was higher in group A (under-feeding).
As it concerns the results of individual fatty acids of this study showed that animals under-feeding had lower concentrations in fatty acids of milk fat: C10: 0, C12: 0, C13: 0, C14: 0, C14: 1, VA, LA, CLA, EPA, C24: 0 compared with goats over-feeding, but the results were statistically significant only for: C12: 0, C13: 0, C14: 0, C14: 1 and VA. Higher concentrations showed in goats underfeeding, in fatty acids: C4: 0, C6: 0, C8: 0, C11: 0, C15: 0, C15: 1, C16: 0, C18: 0, C18: 1, a LNA, LNA, C20: 0 and C20: 3 compare with goats over-feeding, but the results were statistically significant only for: C4: 0 and C20: 3. In aggregated fatty acids and in the ratios of saturated / unsaturated and atherogenic index, under-feeding goats showed lower concentrations in : MCFA, S, PUFA, S/U, AI compared with goats over-feeding, but the results were statistically significant only for MCFA. In addition, under-feeding goats exhibited higher concentrations in: SCFA, LCFA and MUFA compare with goats which were over-fed, but the results were not statistically significant for any of them.
The trend that observed between under-feeding and over-feeding for the ratio of activity of D-9 dehydrogenase was an increased in ratios of C14: 1/C14: 0, C16: 1/C16: 0 and lower ratios of C18: 1/C18: 0, cis -9, trans-11CLA/VA with very small differences. The only statistically significant difference emerged on the ratio C18: 1/C18: 0 where over-feeding had a lower price than control.
In fatty acids measured in plasma of goats, the lowest concentrations in under-feeding animals showed in fatty acids: C8: 0, C14: 0, C17: 0, VA, LA, a-LNA, LNA, EPA, in relation with goat over-feeding, but the results were statistically significant only for LA and a-LNA. In addition, under-feeding goats exhibited higher concentrations in fatty acids: C4: 0, C6: 0, C15: 0, C16: 0, C18: 0, C18: 1, C20: 3 and C24: 0 compared with goats overfeeding but the results were statistically significant only for the C18: 1. In blood plasma of goats was not detected cis-9, trans-11 CLA regardless experimental phase.
Finally, the tendency of insulin was to increase as the quantity of food was increased and as a result the highest value was observed when the goats were fed at 130% of their needs. In contrast to insulin, leptin showed no statistically significant difference among the three different dietary interventions.
In conclusion, the level of nutrition (under-and over-feeding) affected the weight of goats, the average quantity and chemical composition of milk and the fatty acid profile of milk and blood. Furthermore, the concentration of C18: 0 fatty acid could be a good indicator of the nutrition level of goats.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Α: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

Α.1. Λιπαρά οξέα

Το λίπος του γάλακτος είναι ένα μίγμα που αποτελείται από 97-98% τριγλυκερίδια και πολύ μικρά ποσά διγλυκεριδίων, μονογλυκεριδίων, φωσφολιπιδίων, χοληστερίνης, λιποειδών και ελεύθερων λιπαρών οξέων. Τα γλυκερίδια είναι εστέρες της γλυκερίνης με διάφορα λιπαρά οξέα (Ανυφαντάκης).

Τα λιπαρά οξέα είναι η πιο απλή μορφή λιπιδίων και έχουν ορισμένα κοινά χαρακτηριστικά: πρόκειται για μονοκαρβονικά οξέα συχνά με μια μη διακλαδισμένη αλειφατική αλυσίδα μονάδων $–CH_2$ (λιπαρά οξέα με διακλαδώσεις είναι σπάνια), συνήθως με άρτιο αριθμό ατόμων άνθρακα (επειδή στη βιοσύνθεσή τους εμπλέκεται το ακέτυλο-CoA, ένα ένζυμο που μεταφέρει μια ομάδα από δύο άτομα άνθρακα), κορεσμένα ή ακόρεστα, με έναν ή περισσότερους διπλούς δεσμούς είτε σε *cis* είτε σε *trans* γεωμετρική ισομέρεια. Κάθε λοιπόν λιπαρό οξύ αποτελείται από μια αλυσίδα ατόμων άνθρακα, μικρή ή μεγάλη που είναι ισχυρά μη πολική (ονομάζεται ουρά) και μια πολική καρβοξυλική ομάδα (Διαμαντίδης, 1994).

Οι φυσικές ιδιότητες των λιπαρών οξέων, καθώς και των εστέρων τους με αλκοόλες, εξαρτώνται από το μέγεθος της αλειφατικής τους αλυσίδας και τον αριθμό των διπλών δεσμών που φέρουν.

Υπάρχει ποικιλία λιπαρών οξέων. Μερικά θεωρούνται «θετικά» για τον ανθρώπινο οργανισμό και κάποια άλλα «αρνητικά». Για παράδειγμα το βουτυρικό, το ελαϊκό, τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και το CLA, σύμφωνα με μελέτες, πιθανώς να έχουν θετικές επιδράσεις στον ανθρώπινο οργανισμό ενώ τα κορεσμένα (λαυρικό, μυριστικό, παλμιτικό) έχουν συνδεθεί με αρνητικές (Chilliard, 2000).

Τα κορεσμένα λιπαρά καθώς και τα λιπαρά οξέα με trans διπλούς δεσμούς τείνουν να είναι στερεά σε θερμοκρασίες δωματίου. Αντίθετα τα φυσικά λιπαρά οξέα με cis διπλούς δεσμούς τείνουν να είναι υγρά.

Τα κορεσμένα ΛΟ δεν περιέχουν κανένα διπλό δεσμό ή άλλες λειτουργικές ομάδες κατά μήκος της αλυσίδας τους. Ο όρος «κορεσμένα» αναφέρεται στο υδρογόνο, δεδομένου ότι όλοι οι άνθρακες, εκτός από την καρβοξυλική ομάδα (-COOH) περιέχουν όσο το δυνατόν περισσότερα υδρογόνα. Με άλλα λόγια, το ωμέγα άκρο (n) περιέχει 3 υδρογόνα ($-CH_3$) και κάθε άνθρακας στην αλυσίδα περιέχει 2 υδρογόνα. Μερικά από τα κυριότερα κορεσμένα λιπαρά είναι το μυριστικό (14:0), το παλμιτικό (16:0), το στεατικό (18:0), το αραχιδικό (20:0).

Τα ακόρεστα ΛΟ είναι παρόμοιας μορφής, εκτός από το ότι μια ή περισσότερες αλκενυλικές λειτουργικές ομάδες υπάρχουν κατά μήκος της ανθρακικής αλυσίδας, με το κάθε αλκένιο να αντικαθιστά τον απλό δεσμό του «$-CH_2-CH_2-$» με διπλό δεσμό σε«-CH=CH-» (δηλαδή ένας άνθρακας διπλά συνδεδεμένος με έναν άλλο άνθρακα). Τα επόμενα δύο άτομα του άνθρακα εκατέρωθεν των συνδεδεμένων με διπλό δεσμό ατόμων άνθρακα στην αλυσίδα μπορούν να εμφανιστούν με γεωμετρική ισομέρεια *cis* ή *trans*. Διακρίνονται σε μονοακόρεστα και πολυακόρεστα. Τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα έχουν έναν διπλό δεσμό ανθράκων στην αλυσίδα, με όλους τους άλλους άνθρακες να είναι απλά συνδεδεμένοι. Μερικά από τα κυριότερα μονοακόρεστα ΛΟ είναι το παλμιτελαϊκό οξύ (16:1n7) και το ελαϊκό οξύ (18:1n9). Αντιθέτως με τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, τα πολυακόρεστα έχουν περισσότερους από έναν διπλούς δεσμούς ανθράκων στην αλυσίδα τους. Μερικά από τα κυριότερα

πολυακόρεστα ΛΟ είναι το λινελαϊκό (18:2n6c), το α-λινολενικό (18:3n3), το αραχιδονικό (20:4n6)(Διαμαντίδης, 1994).

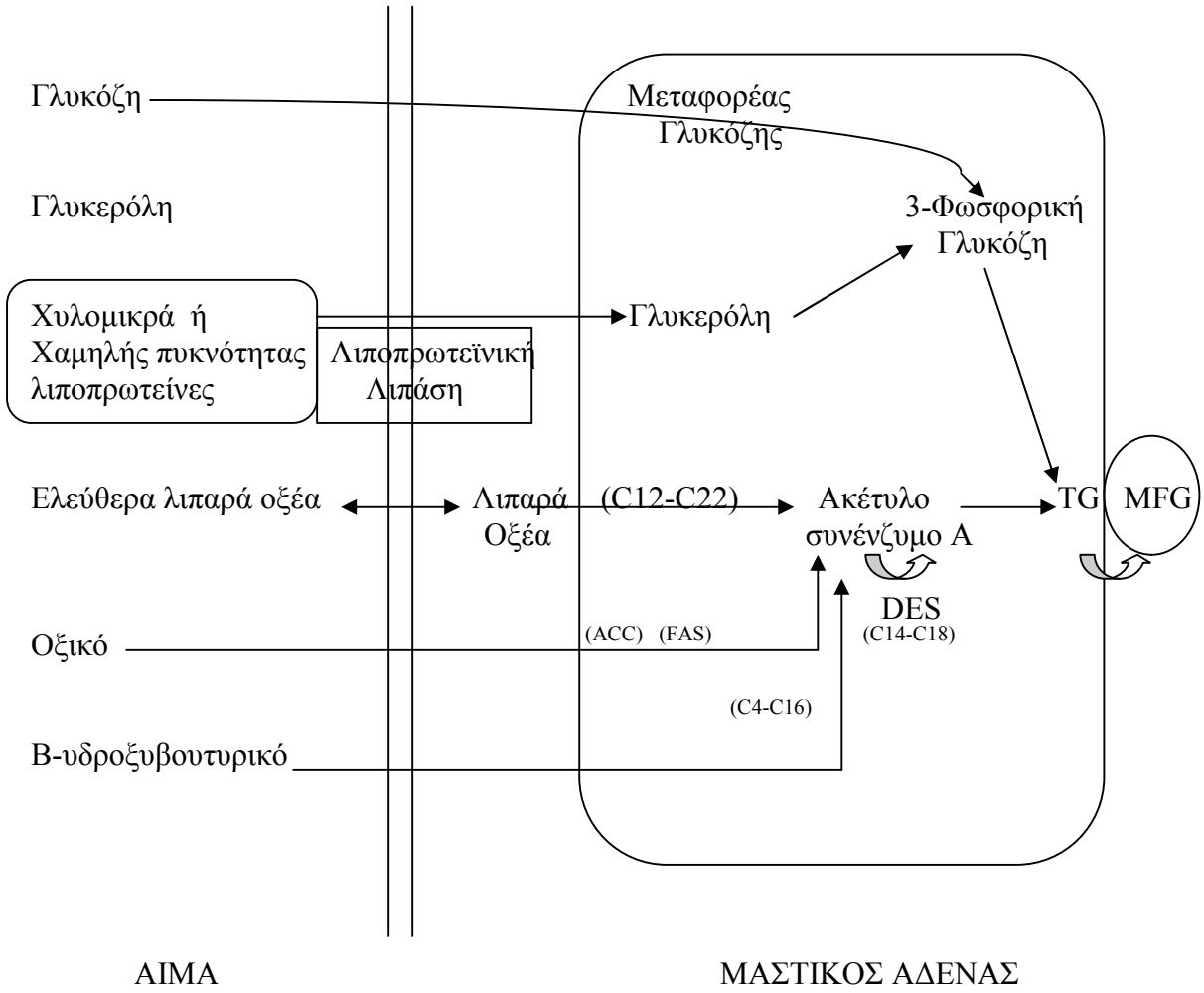
Εκτός από το διαχωρισμό των λιπαρών οξέων σε κορεσμένα και ακόρεστα, κατηγοριοποιούνται και με βάση το μέγεθος της ανθρακικής τους αλυσίδας. Έτσι, υπάρχουν μικρής, μεσαίας και μακράς αλύσου λιπαρά οξέα. Τα μικρής και μεσαίας αλύσου λιπαρά οξέα αποτελούν το 40-50% των συνολικών λιπαρών οξέων του λίπους του γάλακτος και συντίθενται αποκλειστικά ενδογενώς (de novo) στο μαστικό αδένα από το οξικό και το β- υδροξυβουτυρικό οξύ τα οποία παράγονται στη μεγάλη κοιλία από τη ζύμωση των υδατανθράκων. Από τα μεσαίας αλύσου λιπαρά οξέα μόνο η μισή ποσότητα του $C_{16:0}$ μπορεί να προέρχεται από την τροφή. (Τσιπλάκου Ε.,2008).

Τα μακράς αλύσου λιπαρά οξέα ($\geq C_{16:0}$) προέρχονται από το πλάσμα του αίματος στο οποίο απελευθερώνονται με τη δράση του ενζύμου της λιποπρωτεινικής λιπάσης (Barber et al., 1997) από τα τριγλυκερίδια (τα οποία μπορεί να βρίσκονται με τη μορφή είτε των χυλομικρών είτε των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών). Επιπλέον τα μακράς αλύσου λιπαρά οξέα μπορεί να προέρχονται και από τα μη εστεροποιημένα λιπαρά οξέα που υπάρχουν στο πλάσμα του αίματος. Τα μακράς αλύσου λιπαρά οξέα προέρχονται κυρίως από τη πέψη των λιπιδίων της τροφής και από πιθανόν καταβολισμό σωματικού λίπους (κυρίως στην αρχή της γαλακτικής περιόδου). Για παράδειγμα, το λινελαϊκό και το α-λινολαϊκό οξύ που θεωρούνται απαραίτητα λιπαρά οξέα γιατί δεν συντίθενται στους ιστούς των ζώων, αλλά τα λαμβάνουμε αυτούσια από την τροφή, είναι οι πρόδρομες ουσίες για να γίνει η βιοσύνθεση στον οργανισμό των ζώων, άλλων πολυακόρεστων λιπαρών οξέων , όπως το C_{20} και C_{22}.Επιπρόσθετα τα λιπαρά οξέα του λίπους του γάλακτος μπορεί να αφυδρογονώνονται αλλά όχι να επιμηκύνονται στα εκκριτικά επιθηλιακά κύτταρα του μαστικού αδένα.

Στο μαστικό αδένα των γαλακτοπαραγωγικών ζώων η ενδογενής σύνθεση των λιπαρών οξέων (μικρής και μεσαίας αλύσου) του λίπους του γάλακτος προϋποθέτει την απαραίτητη δράση δύο ενζύμων: της καρβοξυλάσης του ακέτυλου συνενζύμου Α και της συνθετάσης των λιπαρών οξέων ενώ, στην παραλαβή των μακράς αλύσου λιπαρών οξέων από την κυκλοφορία του αίματος και τη μεταφορά τους στο μαστικό αδένα εμπλέκεται το ένζυμο λιποπρωεϊνική λιπάση (Διάγραμμα Α.1).

Στη συνέχεια, στο μαστικό αδένα τα λιπαρά οξέα (μεσαίας και μακράς αλύσου), με τη δράση του ενζύμου της Δ^{-9} αφυδρογονάσης, μετασχηματίζονται σε cis-9 ακόρεστα λιπαρά οξέα.

Βιομηχανικά τα λιπαρά οξέα παράγονται από την υδρόλυση των τριγλυκεριδίων, με αφαίρεση της γλυκερίνης. Μία άλλη πηγή είναι τα φωσφολιπίδια . Τέλος μερικά λιπαρά οξέα παράγονται συνθετικά μέσω υδροκαρβοξυλίωσης των αλκενίων (Wikipedia 2011, Fatty acids).



Διάγραμμα Α.1. Σύνθεση και έκκριση λιπαρών του γάλακτος των μηρυκαστικών. TG=Τριγλυκερίδια, MFG=Μόριο λίπους γάλακτος, DES= Δ^{-9} αφυδρογονάση, ACC=Καρβοξυλάση του ακέτυλου συνενζύμου Α,FAS= Συνθετάση των λιπαρών οξέων. (Chilliard et al., 2000).

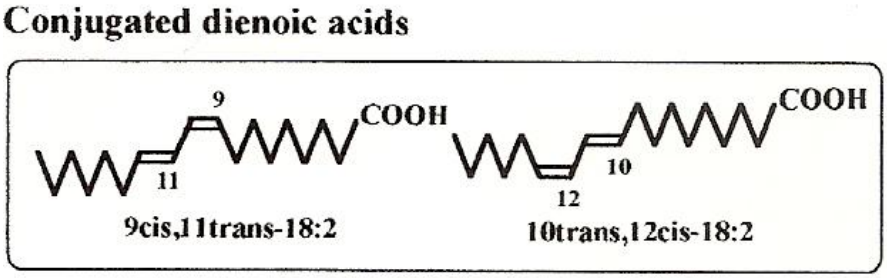
Α.2. Συζευγμένο λινελαϊκό οξύ και ισομερή του.

Το συζευγμένο λινελαϊκό οξύ (CLA), είναι ένας γενικός όρος που χρησιμοποιείται για να περιγράψει ένα σύνολο από διακριτά γεωμετρικά ισομερή και ισομερή θέσης του λινελαϊκού οξέος [cis-9, cis-12($C_{18:2}$)] (Belury, 2002;Collomb, et al.,2006; Meluchova et al., 2008).

Τα ισομερή του CLA περιλαμβάνουν δύο διπλούς δεσμούς που ξεχωρίζουν μεταξύ τους με έναν απλό δεσμό (Kelly, 2001)Κυρίως βρίσκουμε διπλούς δεσμούς του CLA στις θέσεις 9 και 11 ή 10 και 12 (Ha et al., 1987), ενώ έχουν αναφερθεί και ισομερή που έχουν διπλούς δεσμούς σε άλλες θέσεις (Christie et al.,1997; Dhiman et al., 2005).

Εκτός από τη μεγάλη ποικιλία που υπάρχει λόγω των διαφορετικών θέσεων που μπορεί να βρίσκονται οι διπλοί δεσμοί, παρατηρείται και γεωμετρική ποικιλία εξαιτίας του τρόπου διαμόρφωσης των διπλών δεσμών. Έτσι, υπάρχουν οι εξής πιθανοί σχηματισμοί: cis-cis, cis-trans, trans-cis, trans-trans. Από αυτούς τους σχηματισμούς οι trans διπλοί δεσμοί είναι οι πιο βιολογικά ενεργοί (Jensen, 2002).

Όλα τα ισομερή του CLA δεν εμφανίζονται σε ίσες ποσότητες, ενώ τα cis-9, trans-11 $C_{18:2}$ και trans-10,cis-12 $C_{18:2}$ είναι τα πιο βιολογικά ενεργά (Chin et al., 1992). Ο Parodi (1977), αναλύοντας το λίπος του γάλακτος, βρήκε ότι το cis-9, trans-11 $C_{18:2}$ αποτελούσε το 75 με 95% του ολικού CLA, το trans-7, cis-9 $C_{18:2}$ περιεχόταν σε ποσοστό περίπου 10% της συγκέντρωσης του cis-9 , trans-11 $C_{18:2}$, ενώ αναλογικά με τη συγκέντρωση του cis-9, trans-11 $C_{18:2}$ το trans-10,cis-12 $C_{18:2}$ εμφανιζόταν σε ποσοστό μικρότερο του 2%(Lock and Bauman, 2004).



Εικόνα Α.2. Δομή των πιο βιολογικά ενεργών ισομερών του συζευγμένου λινελαϊκού οξέος.

Το CLA είναι ένα λιπαρό οξύ που ανευρίσκεται κυρίως στο λίπος του γάλακτος και στα προϊόντα αυτού(βούτυρο, τυρί, γιαούρτι), στο κρέας αλλά και σε φυτικά έλαια (Nirvair et al., 2007; Kumar et al., 2009).

Οι ζωικές πηγές είναι πλουσιότερες σε CLA σε σχέση με τις φυτικές.(Kumar et al.,2009). Επίσης, τα προϊόντα των μηρυκαστικών ζώων είναι πλουσιότερα σε CLA από αυτά των μη μηρυκαστικών (Chin et al., 1991), αφού το λίπος τους περιέχει σε μεγάλες ποσότητες το ισομερές cis-9, trans-11 $C_{18:2}$ που ονομάζεται και ρουμενικό (rumenic acid). Τελικά, η μεγαλύτερη πηγή CLA για τους ανθρώπους είναι τα γαλακτοκομικά προϊόντα προερχόμενα από μηρυκαστικά ζώα (Kumar et al., 2009).

Μεγάλες διαφοροποιήσεις, όσον αφορά τις ποσότητες του CLA, υπάρχουν στα γαλακτοκομικά προϊόντα, εξαιτίας των διαφορετικών μεθόδων επεξεργασίας τους, όπως θερμοκρασίες παστερίωσης, αρχικές καλλιέργειες κ.α.(Lin et al.,1999). Στα τυριά για παράδειγμα, η ποσότητα του CLA κυμαίνεται από 3,59-7,69mg/g λίπους. Από τα τυριά, το Cheddar, το Edam, το Swiss και το μπλε τυρί χαρακτηρίζονται από υψηλή περιεκτικότητα σε CLA. Σχετικά υψηλές τιμές CLA συναντώνται και στα ζυμωθέντα γαλακτοκομικά προϊόντα που κυμαίνονται από 3,82-4,66 mg/g λίπους.

Παρά τις μεγάλες διακυμάνσεις της ποσότητας του CLA στις φυσικές τροφές, η κάλυψη των ημερήσιων αναγκών του οργανισμού του ανθρώπου σε CLA μόνο από τη διατροφή, καθίσταται δύσκολη, αφού σύμφωνα με τους Ip et al., (1994), ένας άνθρωπος που ζυγίζει 70 κιλά, θα πρέπει να καταναλώνει περίπου 3,0 g CLA ανά ημέρα, για να επιτύχει το βέλτιστο όφελος για την υγεία του.

Αρκετοί ερευνητές καταβάλουν προσπάθεια να αυξήσουν τα επίπεδα του CLA στις τροφές, αν και ο στόχος αυτός είναι δύσκολο να επιτευχθεί. Αυτό που συνιστάται είναι να συμπεριλαμβάνεται στη διατροφή υψηλής ποιότητας βούτυρο, βουτυρόγαλα, γιαούρτι, κρέας μηρυκαστικών ελευθέρας βοσκής και συμπληρωματικά κατασκευάσματα CLA για την κάλυψη των ημερήσιων αναγκών.

Εμπορικά σκευάσματα CLA συντίθενται μέσω αλκαλικού ισομερισμού του λινελαϊκού οξέος (Ando et al., 2008). Αναφορές για τεχνητή παραγωγή CLA από λινελαϊκό οξύ μέσω του Propionibacterium freudenreichii, του Lactobacillus acidophilus αλλά και του Lactobacillus plantarum γίνονται στην εργασία των Kumar et al.(2009).

Το CLA που ανευρίσκεται στο γάλα και στο κρέας μηρυκαστικών, προέρχεται από δύο πηγές. Μία πηγή σχηματισμού του CLA είναι στη μεγάλη κοιλία των μηρυκαστικών, από αναερόβια βακτήρια, ως ενδιάμεσο προϊόν της βιοϋδρογόνωσης του λινελαϊκού οξέος. Η δεύτερη πηγή σχηματισμού του CLA, είναι στους ιστούς των μηρυκαστικών ζώων, από το trans-11 $C_{18:1,}$ (το οποίο είναι ένα άλλο ενδιάμεσο προϊόν από την βιοϋδρογόνωση των ακόρεστων λιπαρών οξέων) και την επίδραση σε αυτό της Δ^9 –αφυδρογονάσης.

Α.2.1 Παραγωγή CLA στη μεγάλη κοιλία

Το CLA μπορεί να παραχθεί ως ενδιάμεσο προϊόν της βιοϋδρογόνωσης των λιπιδίων της τροφής εντός της μεγάλης κοιλίας. Τόσο η χλωρά νομή όσο και τα ελαιούχα σπέρματα που συμπεριλαμβάνονται στη διατροφή των μηρυκαστικών ζώων περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις πρόδρομων λιπαρών οξέων για την παραγωγή του CLA. Η χλωρά νομή περιέχει μεγάλες ποσότητες λινολενικού (cis-6,cis-9,cis-12 $C_{18:3}$) και λινελαϊκού οξέος (cis-9.cis-12 $C_{18:2}$), ενώ τα ελαιούχα σπέρματα περιέχουν κυρίως λινελαϊκό και ελαϊκό οξύ (cis-9 $C_{18:1}$) (Bauman et al.,1999).

Η πρώτη απόδειξη της βιοϋδρογόνωσης των λιπαρών οξέων στη μεγάλη κοιλία δόθηκε από τον Reiser (1951), όταν παρατήρησε ότι το σωματικό λίπος των μηρυκαστικών περιέχει μικρότερη ποσότητα λινολενικού οξέος από αυτό των αλόγων. Επειδή τόσο τα άλογα όσο και τα μηρυκαστικά κατανάλωναν σιτηρέσια με υψηλή περιεκτικότητα λινολενικού οξέος, ο Reiser τη διαφορά αυτή την απέδωσε σε « κάτι» που συνέβαινε στη μεγάλη κοιλία. Επώασε λινολενικό οξύ σε υγρό μεγάλης κοιλίας και παρατήρησε το σχηματισμό trans λιπαρών οξέων. Έπειτα, οι Shorland et al (1955), επιβεβαίωσαν την ύπαρξη trans λιπαρών οξέων ως αποτέλεσμα βιοϋδρογόνωσης στη μεγάλη κοιλία.

Οι Wilde και Dawson (1966) έδειξαν την παραγωγή C_{18} λιπαρών οξέων, με τη μορφή διαφόρων ισομερών θέσης και διενικών συζευγμένων δεσμών, ενώ οι Kepler

et al (1966) βρήκαν ότι από το λινελαϊκό οξύ, με την επίδραση των Butyrivibrio fibrisolvens, παράγεται cis-9,trans-11 CLA.

Ο τρόπος όμως που παράγονται τα ακόρεστα λιπαρά οξέα στη μεγάλη κοιλία παρέμενε άγνωστος, ώσπου οι Dawson και Kemp (1970), Keeney (1970) και Dawson et al (1977) απέδειξαν ότι τα. λιπίδια της τροφής υφίστανται δύο διαδοχικούς μετασχηματισμούς. Κατά τον πρώτο, γίνεται υδρόλυση των εστέρων με την επίδραση μικροβιακών λιπασών, βήμα προαπαιτούμενο για το δεύτερο μετασχηματισμό, όπου γίνεται βιοϋδρογόνωση των ακόρεστων λιπαρών οξέων.

Απαραίτητη προϋπόθεση για τους μετασχηματισμούς αυτούς θεωρείται η παρουσία των βακτηρίων. Η μεγάλη κοιλία είναι ένας χώρος με πολλά είδη βακτηρίων που συμβάλλουν στη διαδικασία της βιοϋδρογόνωσης. Οι Kemp et al (1984) ταξινόμησαν τα βακτήρια σε δύο ομάδες (Α και Β), βάσει του τρόπου με τον οποίο δρουν, καθώς και βάσει των τελικών προϊόντων της βιοϋδρογόνωσης. Έτσι, στην ομάδα Α συμπεριλαμβάνονται βακτήρια που υδρογονώνουν το λινολενικό και το α-λινολενικό οξύ, με το trans-11 $C_{18:1}$ να είναι το κύριο προϊόν παραγωγής τους, ενώ στην ομάδα Β συμπεριλαμβάνονται βακτήρια που χρησιμοποιούν το trans-11 $C_{18:1}$ ως υπόστρωμα και παράγουν ως τελικό προϊόν το στεατικό οξύ ($C_{18:0}$). Η βιοϋδρογόνωση του λινελαϊκού οξέος με την επίδραση των βακτηρίων περιλαμβάνει διαδοχικές βιοχημικές αντιδράσεις που αναλύονται στο *Διάγραμμα Α.2.1.* Αρχικά το λινελαϊκό οξύ υφίσταται μια ισομερίωση κατά την οποία ο διπλός δεσμός μεταφέρεται από τον άνθρακα της θέσης 12 στον άνθρακα της θέσης 11, με αποτέλεσμα να σχηματίζεται το ισομερές cis-9, trans-11 CLA. Στη συνέχεια ένα μέρος του cis-9, trans-11 CLA υφίσταται βιοϋδρογόνωση, οπότε φεύγει ο διπλός δεσμός και σχηματίζεται το VA. Τέλος το VA βιοϋδρογονώνεται και μετατρέπεται με τη σειρά του σε στεατικό οξύ.

Τα δύο πρώτα βήματα του μετασχηματισμού του λινελαϊκού οξέος πραγματοποιούνται με τη δράση των βακτηρίων που ανήκουν στην ομάδα Α, ενώ το τελευταίο βήμα της μετατροπής του βασσενικού σε στεατικό πραγματοποιείται με τη δράση των βακτηρίων της ομάδας Β. Τα βακτήρια της ομάδας Α εκκρίνουν ένα ένζυμο που ονομάζεται ισομεράση του λινελαϊκού οξέος και καταλύει την ισομερίωση του λινελαϊκού οξέος. Το ένζυμο αυτό βρίσκεται συνδεδεμένο στην κυτταρική μεμβράνη των βακτηρίων (Griinari και Bauman, 1999).

Παρόμοιους μετασχηματισμούς με το λινελαϊκό οξύ υφίσταται και το λινολενικό, το οποίο αρχικά ισομεριώνεται, με αποτέλεσμα ο διπλός δεσμός να μεταφέρεται από τον άνθρακα της θέσης 12 σε αυτόν της θέσης 11 και να σχηματίζεται το cis-9, trans-11,cis-15 $C_{18:3}$.Στη συνέχεια το cis-9, trans-11,cis-15 $C_{18:3}$ υδρογονώνεται οπότε ο δεσμός φεύγει από τη θέση 9 και δημιουργείται το trans-11,cis-15 $C_{18:2}$. Έπειτα ακολουθεί νέα υδρογόνωση οπότε ο διπλός δεσμός φεύγει από τη θέση 15 και σχηματίζεται το VA. Το VA με τη σειρά του υδρογονώνεται και μετατρέπεται σε στεατικό ($C_{18:0}$). Από όλα τα παραπάνω είναι φανερό ότι το cis-9,trans-11 CLA εντός της μεγάλης κοιλίας προκύπτει άμεσα μόνο από το λινελαϊκό οξύ.

Εκτός από το cis-9,trans-11 CLA, εντός της μεγάλης κοιλίας σχηματίζεται και το trans-10,cis-12 CLA. Οι Griinari et al (1998) παρατήρησαν ότι σιτηρέσια με χαμηλή περιεκτικότητα σε ινώδεις ουσίες προκαλούν αλλαγή στο προφίλ των trans-$C_{18:1}$ οξέων με αποτέλεσμα το trans-10 $C_{18:1}$ να είναι το κυρίαρχο λιπαρό οξύ στο λίπος του γάλακτος. Αυτό το γεγονός οδήγησε τους Griinari και Bauman(1999) να προτείνουν μία άλλη μεταβολική διαδικασία σύνθεσης του trans-10,cis-12 CLA εντός της μεγάλης κοιλίας (Διάγραμμα Α.2.2). Έτσι το λινελαϊκό οξύ με την επίδραση της βακτηριακής cis-9,trans-10 ισομεράσης μετατρέπεται σε trans-10,cis-12 CLA. Στη συνέχεια το trans-10,cis-12 CLA με την επίδραση της cis-12, trans-11 ισομεράσης,

που παράγεται από το Butyrivibrio fibriosolvens, υδρογονώνεται σε trans-10 $C_{18:2}$ (Kepler et al., 1966).

Α.2.2 Σύνθεση CLA σε ιστούς

Το CLA που παράγεται στη μεγάλη κοιλία των μηρυκαστικών προέρχεται κατά κύριο λόγο από τη βιοϋδρογόνωση του λινελαϊκού οξέος από τα βακτήρια. Η ποσότητα όμως του CLA που παράγεται με αυτόν τον τρόπο είναι περιορισμένη και δεν αντιπροσωπεύει μεγάλο ποσοστό του συνολικού CLA που ανευρίσκεται στο λίπος του γάλακτος ή το κρέας (Khanal and Dhiman, 2004).

Οι Bartlett και Chapman (1961) είχαν διατυπώσει την ύπαρξη γραμμικής σχέσης μεταξύ των trans-$C_{18:1}$ καί των συζευγμένων διπλών δεσμών στο λίπος του γάλακτος. Όμως, η σχέση αυτή δεν μπορούσε να εξηγήσει το μηχανισμό παραγωγής CLA από το trans-11 $C_{18:1}$ που παράγεται στη μεγάλη κοιλία.

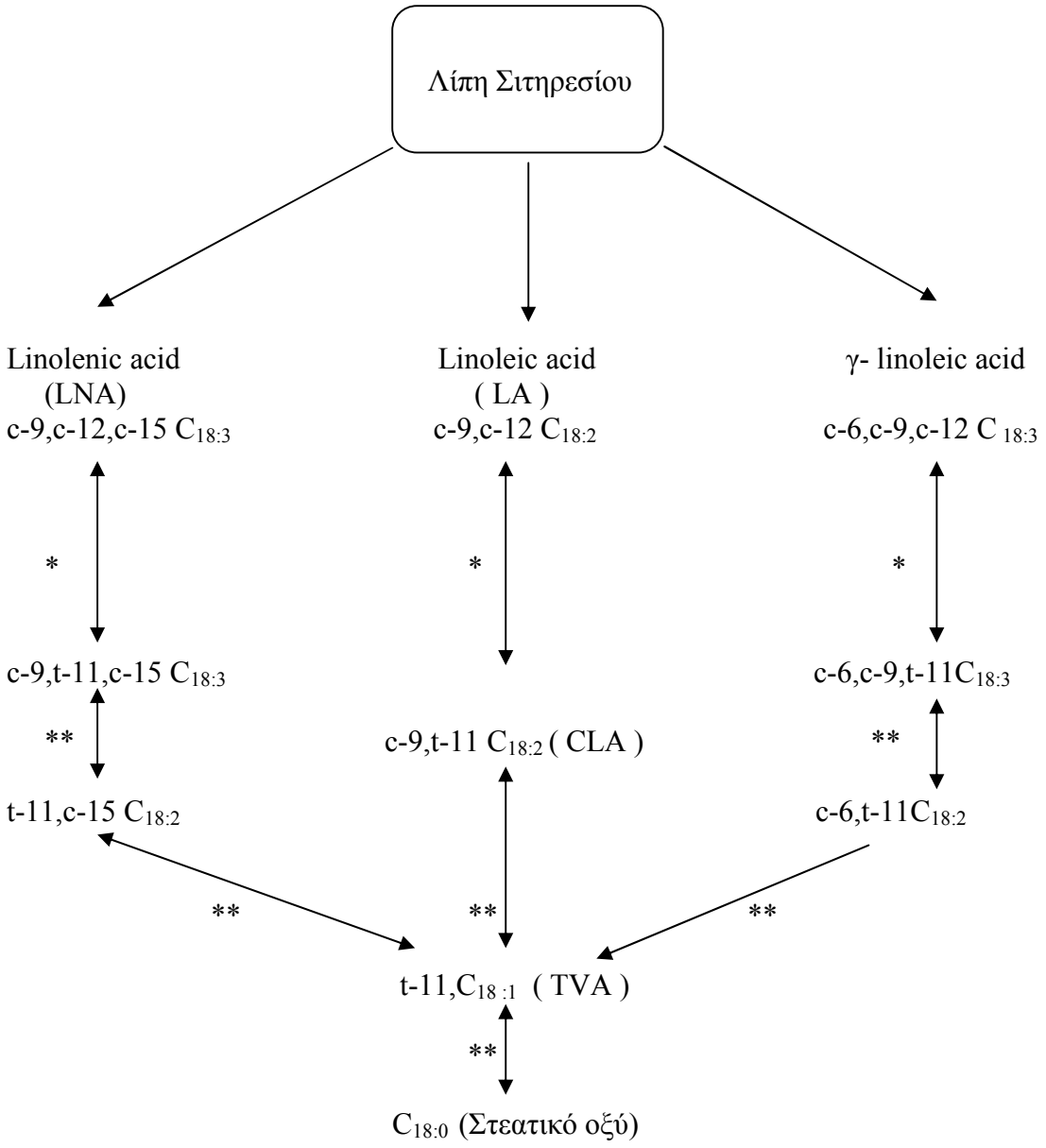
Οι Bicherstaff και Annison (1970) και αργότερα ο Kinsella (1972) διατύπωσαν την άποψη ότι ο μαστικός αδένας των γαλακτοπαραγωγών μηρυκαστικών πρέπει να είναι η βασική θέση παραγωγής cis-9, trans-11 $C_{18:2}$ CLA από το VA με την επίδραση της Δ^9-αφυδρογονάσης, χωρίς όμως να μπορούν να το αποδείξουν. Πρώτοι οι Griinari et al (2000), κάνοντας έγχυση στο ήνυστρο 12.5 gr VA/ημέρα σε γαλακτοπαραγωγι-κές αγελάδες, διαπίστωσαν αύξηση 31 % του cis-9, trans-11 $C_{18:2}$ CLA στο λίπος του γάλακτος. Η εργασία αυτή των Griinari et al (2000), απέδειξε την ύπαρξη ενδογενούς μηχανισμού σύνθεσης του cis-9, trans-11 $C_{18:2}$ CLA, αλλά η ποσοστιαία συμβολή της στο συνολικά παραγόμενο cis-9, trans-11 $C_{18:2}$ CLA συνέχισε να παραμένει άγνωστη.

Το ποσοστό συμβολής του ενδογενώς παραγόμενου cis-9, trans-11 $C_{18:2}$ CLA στο λίπος του γάλακτος υπήρξε αντικείμενο πολλών ερευνών και έγιναν προσπάθειες να υπολογιστεί είτε άμεσα, μέσω της χρησιμοποίησης παρεμποδιστών της Δ^9-αφυδρογονάσης, είτε έμμεσα μέσω ειδικών δεικτών που υπολογίζουν το ρυθμό ροής του cis-9, trans-11 $C_{18:2}$ CLA από τη μεγάλη κοιλία. Αργότερα, οι Lock και Garnsworthy (2002) απέδειξαν ότι πάνω από το 80% του παραγόμενου CLA στο λίπος του γάλακτος είναι προϊόν ενδογενούς προέλευσης. Στο ίδιο συμπέρασμα κατέληξαν και οι Piperova et al (2002) όταν συλλέγοντας δείγματα από το δωδεκαδάκτυλο αγελάδων διαπίστωσαν ότι το CLA που συντίθεται στη μεγάλη κοιλία κυμαίνεται μεταξύ 4 και 7%. Επίσης οι Kay et al (2002) απέδειξαν ότι το 100% του CLA είναι ενδογενούς προέλευσης. Το συμπέρασμα αυτό ενίσχυσαν τα πειράματα των Khanal et al (2002), που έδειξαν ότι δεν υπάρχει καθόλου CLA ή υπάρχει σε ασήμαντα ποσά στον ορό του αίματος αγελάδων που διατηρούνται στη βοσκή.

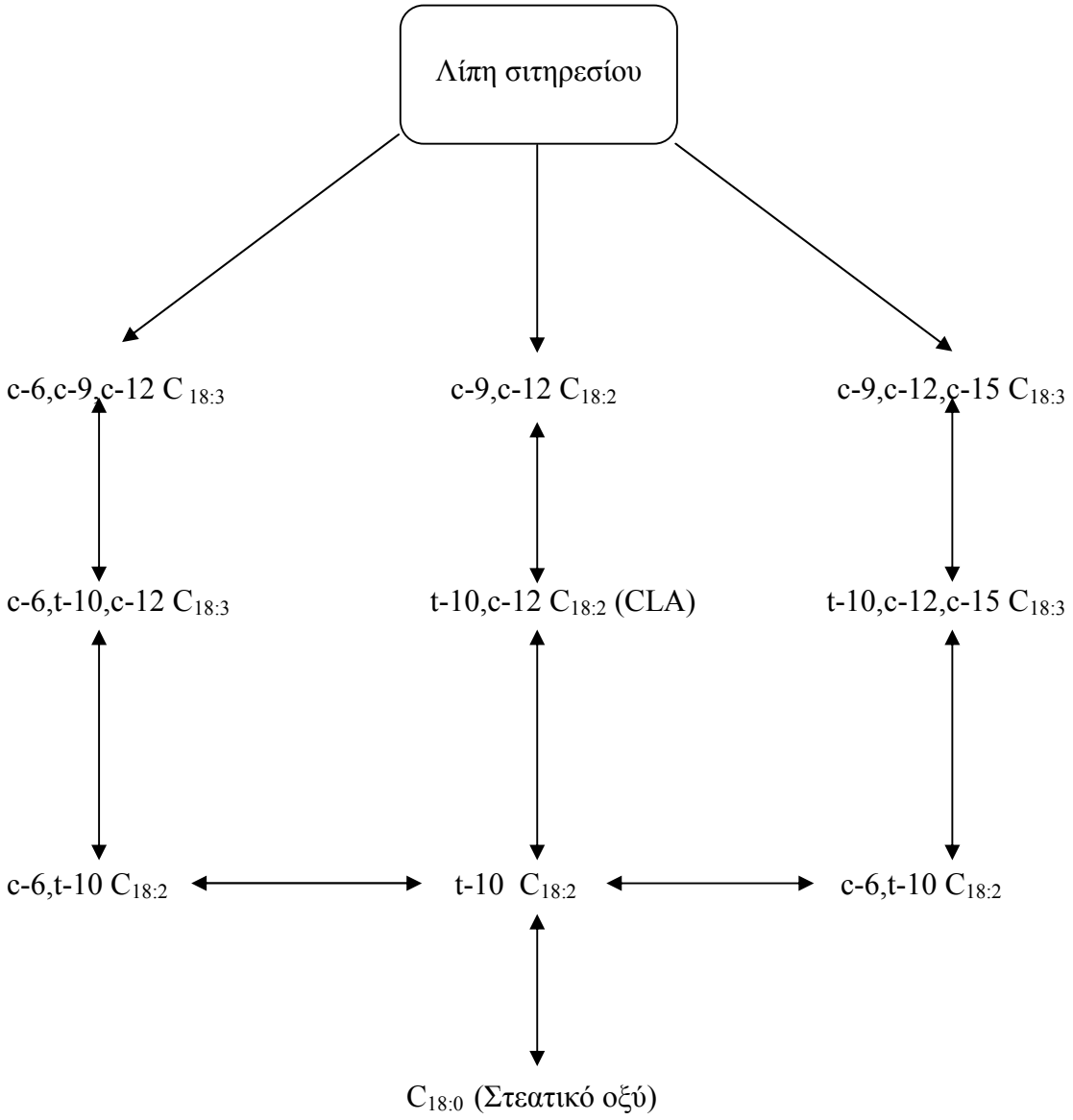
Την κυριαρχία του VA στο αίγειο γάλα μελέτησαν οι Le Doux et al (2002), ενώ οι Chilliard et al (2003) βρήκαν υψηλή συσχέτιση (r =0,99) στο αίγειο γάλα μεταξύ του VA και του CLA. Τέλος, οι Bauman et al (2003) έκαναν έγχυση στερκουλικού ελαίου (περιέχει στερκουλικό καί μαλβαλικό οξύ) σε γαλακτοπαραγωγικές αγελάδες που παρεμποδίζει τη δράση της Δ^9 -αφυδρογονάσης και παρατήρησαν όχι μόνο μείωση του CLA στο γάλα κατά 45%, αλλά και μείωση των προϊόντων που παράγονται από την Δ^9-αφυδρογονάση, όπως το cis-$C_{14:1}$, cis-$C_{16:1}$,cis-$C_{18:1}$.

Μεταξύ των διαφόρων ειδών ζώων υπάρχουν διαφορές ως προς τον τρόπο κατανομής της Δ^9-αφυδρογονάσης στους ιστούς. Οι Chang et al (1992) και Cameron et al (1994) διαπίστωσαν υψηλή ενεργότητα της Δ^9-αφυδρογονάσης στο λιπώδη ιστό αναπτυσσόμενων βοοειδών και προβάτων. Εκτός από την αυξημένη ενεργότητα του ενζύμου στο λιπώδη ιστό αναπτυσσόμενων μηρυκαστικών οι Ntambi et al (1995),

βρήκαν υψηλές τιμές mRNA στο ήπαρ τρωκτικών. Αντίθετα, μείωση της ποσότητας mRNA στο λιπώδη ιστό προβάτων και αντίστοιχη αύξησή της στο μαστικό αδένα, στην έναρξη της γαλακτοπαραγωγής, διαπίστωσαν οι Ward et al (1998). Οι ίδιοι ερευνητές απέδειξαν ότι η ινσουλίνη εμπλέκεται στην έκφραση του γονιδίου της Δ^9-αφυδρογονάσης ενώ οι Ntambi et al (1995) παρατήρησαν ότι η διατροφή, το φυσιολογικό στάδιο και η ορμονική κατάσταση των ζώων καθορίζουν την ενεργότητα του ενζύμου και την έκφραση του mRNA.



Διάγραμμα Α.2.1. Επικρατέστερες μεταβολικές διαδικασίες της βιοϋδρογόνωσης του λινελαϊκού και λινολενικού οξέος στη μεγάλη κοιλία (Harfoot and Hazlewood, 1988).
* : Ισομεράση
** :Υδρογονάση



Διάγραμμα Α.2.2. Επικρατέστερες μεταβολικές διεργασίες της βιοϋδρογόνωσης του λινελαϊκού και λινολενικού οξέος στη μεγάλη κοιλία με την επίδραση της c-9,t-10 ισομεράσης (Griinari και Bauman, 1999).

Α.3. Σχέση λιπαρών οξέων και υγείας του ανθρώπου

Τα λιπαρά οξέα επιδρούν στην υγεία του ανθρώπου ποικιλοτρόπως. Η επίδραση που θα έχουν εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το μήκος της ανθρακικής τους αλυσίδας και την ύπαρξη ή όχι διπλών δεσμών. Είναι ευρέως αποδεκτό ότι τα κορεσμένα λιπαρά οξέα, προκαλούν την αύξηση της ολικής χοληστερόλης του αίματος με ταυτόχρονη αύξηση της αναλογίας LDL/HDL και επομένως ευνοούν τις συνθήκες εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων (Ascherio & Willet, 1995). Αντίθετα, τα ακόρεστα λιπαρά οξέα προκαλούν τη μείωση της παραπάνω αναλογίας των λιπιδίων του αίματος.

Η αναλογία όμως κορεσμένων/ακόρεστων λιπαρών οξέων ενός τροφίμου από μόνη της, δεν αρκεί για να προσδιορίσει το βαθμό επικινδυνότητας πρόκλησης καρδιαγγειακών νοσημάτων ως αποτέλεσμα της κατανάλωσης αυτού του τροφίμου.(Ulbricht & Southgate, 1991). Ο λόγος που συμβαίνει αυτό, είναι γιατί λιπαρά οξέα της ίδιας κατηγορίας (π.χ. κορεσμένα ΛΟ) μπορεί να έχουν διαφορετική επίδραση στα λιπίδια του αίματος. Για παράδειγμα, ενώ τα κορεσμένα λιπαρά οξέα λαυρικό (12:0), μυριστικό (C14:0) και παλμιτικό (C16:0) αυξάνουν τα επίπεδα των LDL στο αίμα, το στεατικό (C18:0) έχει ουδέτερη επίδραση σε αυτά.

Επιπρόσθετα, ενώ μονοακόρεστα λιπαρά οξέα όπως το ελαϊκό (*cis*-9 C18:1) μειώνουν τα επίπεδα των LDL στο αίμα, τα περισσότερα *trans* C18:1 ΛΟ (π.χ. το ελαϊδικό οξύ, *trans*-9 C18:1) έχουν την ακριβώς αντίθετη επίδραση (Kris-Etherton & Yu, 1997). Αυτός ήταν και ο λόγος που οδήγησε τους Ulbricht & Southgate (1991) προκειμένου να συνοψίσουν τις διαφορετικές επιδράσεις των κυριότερων λιπαρών οξέων των τροφίμων, να προτείνουν τον υπολογισμό των δεικτών αθηρωμάτωσης (atherogenicity index, AI) και θρομβογένεσης (thrombogenicity index, TI). Οι παραπάνω δείκτες υπολογίζονται με τους εξής τύπους.

AI = [C12:0+(4 x C14:0)+ C16:0)/(MUFA + PUFA), και

TI = (C14:0+C16:0+C18:0)/[(0,5 x MUFA)+(0,5 x n-6)+(3 x n-3)+(n-3/n-6)]

Σύμφωνα με τους παραπάνω ερευνητές, όσο μεγαλύτεροι είναι οι παραπάνω δείκτες ενός τροφίμου, τόσο περισσότερο αυξάνει και η πιθανότητα εμφάνισης στον άνθρωπο αθηρωματικών αλλοιώσεων και θρόμβων στα αγγεία του κυκλοφορικού συστήματος.

Τα n-3 (π.χ. EPA, DHA, α-λινολενικό οξύ) και τα n-6 (π.χ. αραχιδονικό οξύ, λινελαϊκό οξύ) λιπαρά οξέα θεωρούνται πολύ σημαντικά για τον ανθρώπινο οργανισμό καθώς συμμετέχουν σε μεταβολικές διεργασίες.(Simopoulos, 1999; Ricardo Uauy et al., 1996). Τα πολυακόρεστα, λινελαϊκό και α-λινολενικό έχουν αποδειχθεί «απαραίτητα» στη διατροφή. Επειδή δεν μπορούν να συντεθούν από τον οργανισμό πρέπει να λαμβάνονται μέσω των κανονικών ή εμπλουτισμένων τροφίμων. Ο οργανισμός μπορεί να παράγει από λινελαϊκό οξύ ω-6 λιπαρά οξέα (γ-λινολενικό οξύ - GLA, δι-ομο γ-λινολε-νικό οξύ - DGLA και αραχιδονικό οξύ - AA) και από α-λινολενικό οξύ ω-3 λιπαρά οξέα (εικοσιπενταεοϊκό οξύ - EPA με 20C, 5δ.δ. και εικοσιδυοεξαενοϊ-κό οξύ - DHA με 22C, 6δ.δ.). Αν απουσιάζουν το λινελαϊκό και το α-λινολενικό τα ω-6 και ω-3 απαραίτητα λιπαρά οξέα αντίστοιχα δεν μπορούν να παραχθούν.

Η δράση των ω-3 λιπαρών οξέων έχει μελετηθεί στον οργανισμό και έχει αποδειχθεί η θετική τους επίδραση σε διάφορους επικίνδυνους παράγοντες, όπως υπέρταση στο αίμα, γλυκερίδια, ψηλά επίπεδα χοληστερόλης και καταστροφή

αιμοφόρων αγγείων από θρομβώσεις και αποθέσεις, αθηροσκλήρωση ή σε ασθένειες, όπως τον καρκίνο και τις καρδιαγγειακές παθήσεις.(Τζια Κωνσταντίνα).

Επιπλέον σύμφωνα με τους Willet και Hu, 2009, το λινολαικό οξύ είναι το πιο άφθονο πολυακόρεστο που μπορεί να βρεθεί σε μια τροφή. Σε πειράματα που έγιναν με τροφή πλούσια σε πολυακόρεστα n-6(π.χ. λινολαικό) λιπαρά οξέα βελτιώθηκε η ινσουλινοευαισθησία όταν συγκρίθηκε με χορήγηση τροφής πλούσιας σε κορεσμένα λιπαρά οξέα. Μία άλλη σημαντική έυρεση ήταν η μείωση του σπλαχνικού λίπους όταν έγινε αντικατάσταση στη διατροφή των κορεσμένων από πολυακόρεστα λιπαρά οξέα .

Σύμφωνα με τους Scheppach et al., 1995, τα μικράς αλύσου λιπαρά οξέα (οξικό, προπιονικό, βουτυρικό) διεγείρουν την παραγωγή κυττάρων που βρίσκονται στο έντερο, ενώ το βουτυρικό και σε λιγότερο βαθμό το προπιονικό απαγορεύουν την ανάπτυξη καρκινικών κυττάρων στο κόλον του εντέρου.

Τέλος δεν πρέπει να ξεχνάμε ότι τα λιπαρά οξέα είναι σημαντική πηγή καυσίμου για τον οργανισμό, αφού ο μεταβολισμός τους, παράγει μεγάλες ποσότητες ATP.

Α.3.1 CLA και υγεία ανθρώπου

Παρακάτω θα γίνει εκτενής αναφορά στο CLA, που τα τελευταία χρόνια, έχει γίνει αντικείμενο πάρα πολλών ερευνών, κυρίως λόγω της ευεργετικής δράσης που πιστεύεται ότι έχει στην ανθρώπινη υγεία. Τα πλεονεκτήματα του αυτά έχουν διαπιστωθεί μέσω πειραμάτων που έχουν γίνει κυρίως σε διάφορα είδη ζώων και λιγότερο στον ίδιο τον άνθρωπο.

- Παχυσαρκία

Μελέτες που διεξήχθησαν σε ζώα, υποστηρίζουν ότι το CLA επηρεάζει τη σύνθεση του σώματος, αφού μειώνει το σωματικό βάρος και το σωματικό λίπος, ενώ, αυξάνει σχετικά την άπαχη σωματική μάζα(μυϊκός και οργανικός ιστός). Αποτελέσματα όμως από μελέτες σε ανθρώπους, δεν υποστηρίζουν μείωση σωματικού βάρους οφειλόμενη στο CLA, αλλά υποδηλώνουν μείωση σωματικού λίπους, σχετιζόμενη με την αύξηση της άπαχης σωματικής μάζας (Nagao and Yanagita, 2005 ; Collomb et al., 2006). Για παράδειγμα, χορήγηση συμπληρώματος CLA για 24 μήνες σε υγιή και υπέρβαρα άτομα, μείωσε το σωματικό λίπος τους, κυρίως κατά τη διάρκεια των πρώτων 6 μηνών (Gaullier et al., 2005).

Οι διαφορές που παρουσιάζονται στην επίδραση του CLA στο σωματικό λίπος σε έρευνες που έχουν γίνει σε ανθρώπους και ζώα, πιθανόν να οφείλονται σε κάποιο από τους παρακάτω λόγους: (Park and Pariza, 2007)

Α)Διαφορετικές χορηγούμενες δοσολογίες. Για παράδειγμα τα ποντίκια ταΐζονταν με διατροφή που περιείχε 0.5 w/w% CLA, το οποίο είναι ισοδύναμο με περίπου 56 g CLA/ημέρα για 70 κιλά άνθρωπο, ενώ οι δόσεις που χρησιμοποιήθηκαν σε ανθρώπους κυμαίνονταν μεταξύ 0.7g-6.8g ανά ημέρα , δηλαδή πολύ χαμηλότερες από ότι στα ποντίκια.

Β) Διαφορετικός μεταβολισμός. Το γεγονός ότι, τα ποντίκια έχουν υψηλότερο ρυθμό διακίνησης λίπους, από ότι άλλα είδη, μπορεί να εξηγεί γιατί το CLA ήταν πιο αποτελεσματικό σε αυτά.

Γ) Χρήση διαφορετικών ισομερών του CLA. Το trans-10, cis-12 CLA ισομερές είναι πιο γνωστό για την επίδρασή του στη μείωση του σωματικού λίπους.

Δ)Φάση που βρίσκεται ο οργανισμός. (ανάπτυξη, ενήλικας, υπέρβαρος, αδύνατος, κ.α)

Ε)Διατροφή που ακολούθησαν. (ελεύθερη, περιορισμένων θερμίδων, κ.α)

ΣΤ)Αριθμός ατόμων που εφαρμόστηκε η έρευνα.

Η) Χρονική διάρκεια πειράματος.

Στον πίνακα Α.3.1 συνοψίζονται μελέτες που έγιναν σε ανθρώπους όσον αφορά την επίδραση του CLA στο σωματικό λίπος (Park and Pariza, 2007).

Πίνακας Α.3.1
Περίληψη για την επίδραση του CLA στη σωματική μάζα, από μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε ανθρώπους.

References	Dose (g/d)	Subjects (BMI, kg/m^2)	*n*	Duration	Results[a]
Atkinson (1999)	2.7	MF (28–30)	80	6 months	↓ BF, – BW, ↓ BFG
Blankson et al. (2000)	1.7, 3.4, 5.1, 6.8	MF (25–35)	47	12 wk	↓ BF, – BMI, ↑ FFM with 6.8 g
Berven et al. (2000)	3.4 (4.5 g 80%)	MF (27–39)	55	12 wk	↓ BW, ↓ BMI
Zambell et al., 2000	1.95	F	17	8 wk	– FFM, – BF, slight ↓ BW – energy expenditure
Riserus et al. (2001)	4.2	M (32)	24	4 wk	↓ SAD, – BMI, – BW
Smedman and Vessby (2001)	4.2	MF (25)	53	12 wk	↓ BF, – BW, – BMI, – SAD
Mougios et al. (2001)	0.7 and 1.4	MF (<30)	22	4wk each Total 8wk	↓ BF
Thom et al. (2001)	1.08	MF (<25)	10	12 wk	↓ BF, – BW, – BMI
Riserus, Arner, et al. (2002)	3.4, mix or 10,12	M (27–39)	57	12 wk	↓ BF, ↓ SAD, – BMI, – BW (↓ BW, ↓ BMI for *t*10,*c*12 only)
Kreider et al. (2002)	3.9	M [exercise]	23	4 wk	– BM, – FFM, – BF, – bone M, no benefit of exercise
Noone et al. (2002)	3 (50:50, 80:20)	MF (<25)	51	8 wk	– BW [exercise]
Kamphuis et al. (2003a)	1.8 or 3.6	MF (28)	54	13 wk	– BWG, favorable appetite effects
Kamphuis et al. (2003b)	1.8 or 3.6	MF (28)	54	13 wk	– BWG, ↑ FFM gain, ↓ BF ↑ resting metabolic rate
Belury et al. (2003)	6	MF [T2DM][b]	21	8 wk	↓ BW, ↓ BF with *t*10,*c*12
Gaullier et al. (2004)	3.4, TG, FFA	MF (25–30)	180	1 yr	↑ FFM, ↓ BW, ↓ BMI, ↓ BF ↓ Bone Mass
Malpuech-Brugere et al. (2004)	1.5 or 3 g of *c*9,*t*11 or *t*10,*c*12	MF (overweight)	81	18 wk	Slight ↓ BF (both isomers) – BW, slight ↓ BF
Riserus, Vessby, Arner, et al. (2004)	3.4, mix or 10,12	MF (30)	57	12 wk	Slight ↓ BMI
Riserus, Vessby, Arnlov, et al. (2004)	3 (83% mainly *c*9,*t*11)	MF (27–35)	25	12 wk	Slight ↓ BMI, ↓ BW, – BF
Eyjolfson et al. (2004)	3	MF	16	8 wk	– BW, – BMI, – BF
Whigham et al. (2004)	6	MF (27–35)	47	16 wk+ 24 wk	– BW, – BF
Gaullier et al. (2005)	3.4	MW	134	2 yrs	↓ BF, ↓ BW, ↓ BMI
Larsen et al. (2006)	3.4	MW (>28)	83	1 yr	– BWG, – BFG, – FFM (weight gain period)

[α] ↑= αύξηση, ↓= μείωση, - = καμία αλλαγή, M= άνδρας, F=γυναίκα, TG=τριγλυκερίδιο , FFA=ελεύθερα λιπαρά οξέα, BW=σωματικό βάρος,BMI=δείκτης σωματικής μάζας, BF=σωματικό λίπος, FFM=μάζα ελεύθερη λιπών, BWG=σωματικό βάρος που αποκτήθηκε, FMG=μάζα λίπους που αποκτήθηκε, slight= υποδηλώνει μη-σημαντική αλλαγή.
[b] Τύπος 2 σακχαρώδη διαβήτη

- Καρκίνος

Μέσα από έρευνες που πραγματοποιήθηκαν σε διάφορα είδη ζώων, άρχισε να γίνεται γνωστός ο τρόπος δράσης του CLA στις διάφορες μορφές καρκίνου. Οι Ha et al. (1990) παρατήρησαν στα ποντίκια ότι το CLA επιβράδυνε την ανάπτυξη του καρκίνου και εμπόδιζε τη μετάστασή του στον πνεύμονα και στο μυελό των οστών, όταν βρισκόταν στην τροφή τους σε ποσότητα ακόμα και μικρότερη του 1%. Παράλληλα άρχισαν οι έρευνες να επεκτείνονται και στους ανθρώπους, με τις περισσότερες όμως μελέτες να γίνονται in vitro(εργαστηριακά)(Nagao and Yanagita, 2005). Οι Knekt et al(1996) παρατήρησαν ανάστροφη σχέση μεταξύ κατανάλωσης γάλακτος και εμφάνισης καρκίνου του μαστού των γυναικών, ενώ οι Larsson et al (2005) παρατήρησαν ανάστροφη σχέση μεταξύ CLA και εμφάνισης ορθοκολικού καρκίνου σε γυναίκες που μελετήθηκαν επί 15ετίας.

Στις αρχές πίστευαν ότι από κοινού το cis-9, trans-11-CLA, το οποίο είναι το ισομερές του CLA με την υψηλότερη παρουσία στο λίπος του γάλακτος, καθώς και το trans-10,cis-12-CLA, του οποίου η παρουσία είναι σε πολύ χαμηλότερα ποσοστά, είχαν την ίδια επίδραση, όσον αφορά την αναστολή καρκινογένεσης. Παρόλα αυτά, πρόσφατες in vitro (εργαστηριακές) μελέτες απέδειξαν ότι το trans-10,cis-12-CLA είναι αποδοτικότερο σε σχέση με το cis-9, trans-11-CLA, εξηγώντας ότι είναι πιθανό, ακόμα και όταν χρησιμοποιηθεί το trans-10,cis-12-CLA σε χαμηλές δόσεις in vivo (σε ζωντανούς οργανισμούς), να έχει καλή δραστικότητα και χαμηλή τοξικότητα (Beppu et al., 2006). Επιπλέον, ο Yamasaki κ.α. (2002), ανέφεραν ότι το trans-10,cis-12-CLA έδειξε ισχυρή κυτταροτοξική επίδραση σε κύτταρα από ηπάτωμα αρουραίου ενώ το cis-9, trans-11-CLA, όχι.

Ενώ όμως υπάρχουν πολλές μελέτες για την αντικαρκινική δραστηριότητα των cis-9, trans-11-CLA και trans-10,cis-12-CLA, λίγα είναι τα στοιχεία για άλλα φυσικά ισομερή του CLA. Σε μια έρευνα των Beppu κ.α. (2006), μελετήθηκε η επίδραση 4 ισομερών του CLA στην ανάπτυξη ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων του κόλον. Από αυτή την έρευνα αποδείχτηκε ότι την υψηλότερη ανασταλτική επίδραση στα καρκινικά κύτταρα την είχε το t9,t11-CLA ισομερές ακολουθούμενο από το t10,c12-CLA, το c9,c11-CLA και τέλος το c9,t11-CLA.

Αν και οι μηχανισμοί δράσης της αντικαρκινικής δραστηριότητας του CLA παραμένουν άγνωστοι, γνωρίζουμε ότι τα ισομερή του CLA μπορούν να επιφέρουν αλλαγές σε μία από τις 4 φάσεις(έναρξη, προαγωγή, εξέλιξη, μετάσταση) των κακοήθη όγκων. Αυτές οι αλλαγές συνήθως αποδίδονται στην αύξηση της υπεροξείδωσης των λιπιδίων και σε αλλαγές στη σύνθεση των κυτταρικών λιπαρών οξέων, στο μεταβολισμό των εικοσανοειδών, στη γονιδιακή έκφραση, στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και της απόπτωσης (Kelley et al., 2007).

- Διαβήτης

Η γλυκόζη είναι η κύρια πηγή ενέργειας των κυττάρων , η οποία κινητοποιείται με τη δράση της ορμόνης ινσουλίνης. Αν το πάγκρεας δε παράγει ινσουλίνη, τότε τα κύτταρα δεν είναι σε θέση να χρησιμοποιούν τη γλυκόζη, η περίσσεια της οποίας είναι υπεύθυνη για την εμφάνιση του διαβήτη.

Έρευνες που έχουν γίνει σε ανθρώπους και ζώα βρήκαν αντί-διαβητική επίδραση του CLA και πρότειναν το trans-10,cis-12 ισομερές ως κυρίως υπεύθυνο για τη μείωση του επιπέδου της γλυκόζης στο αίμα και την αύξηση της ινσουλινο-

ευαισθησίας(House-Knecht et al., 1998; Belury, 2002; Moloney et al., 2004; Khanal, 2004).

Σε αντίθεση όμως με αυτές τις έρευνες, άλλες μελέτες υποστηρίζουν αντίθετα αποτελέσματα οφειλόμενα στη δράση του trans-10,cis-12 ισομερές, όπως αύξηση της ινσουλινο- αντοχής (Riserous et al., 2002; Moloney et al., 2004).

Περαιτέρω μελέτες πρέπει να πραγματοποιηθούν για να αποσαφηνιστεί αυτό το θέμα και να βρεθεί ο μηχανισμός δράσης του CLA όσον αφορά το διαβήτη.

Καρδιαγγειακές παθήσεις

Τα τελευταία χρόνια αυξήθηκαν οι θάνατοι ανθρώπων σε ολόκληρο τον κόσμο, που οφείλονταν σε καρδιαγγειακές παθήσεις. Τα αίτια που τις προκαλούν είναι γενετικά αλλά και διατροφικά. Ο Berner (1993) και οι Chisholm et al (1996) διαπίστωσαν ότι τα κορεσμένα λιπαρά οξέα που βρίσκονται στις τροφές προκαλούν καρδιαγγειακά προβλήματα. Η ανάγκη για πρόληψη και προστασία από τα καρδιαγγειακά προβλήματα έστρεψε το ενδιαφέρον των ερευνητών προς το CLA.

Μελέτες που έγιναν σε διάφορα είδη ζώων έδειξαν, ότι με αύξηση της ποσότητας του CLA στα χορηγούμενα σιτηρέσια, προκαλείται μείωση των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (LDL)(κακή χοληστερόλη)και της ολικής χοληστερόλης.(Lee et al.,1994; Nicolosi et al.,1997; Lock et al.,2005; Park, 2009). Είναι γνωστό άλλωστε ότι οι LDL οξειδώνονται και επικάθονται στα εσωτερικά τοιχώματα των αρτηριών, προκαλώντας το φράξιμό τους. Το CLA καθιστά τις λιποπρωτεΐνες πιο σταθερές και λιγότερο ευάλωτες στην οξείδωση.

Σε αντίθεση με έρευνες που έγιναν σε ζώα, μελέτες που διεξήχθησαν σε ανθρώπους απέδειξαν ότι το CLA, μείωσε την LDL, αλλά όχι σε κλινικά σημαντικό βαθμό (Blankson et al., 2000; Terpstra, 2004).

Περαιτέρω έρευνες, τόσο στα ζώα, όσο και στον άνθρωπο, για το μηχανισμό δράσης του CLA στη καλή λειτουργία της καρδιάς είναι αναγκαίες.

- Ανοσοποιητικό Σύστημα

Το 1998 οι Sugano et al., μελέτησαν την επίδραση του CLA στο ανοσοποιητικό σύστημα αρουραίων. Αφού τάισαν τους αρουραίους με διατροφή που περιείχε 1% CLA, παρατήρησαν ότι, τα σπληνικά επίπεδα των ανοσοσφαιρινών IgA,IgG και IgM αυξήθηκαν, ενώ των IgE (γνωστές για την αλλεργική δράση τους) μειώθηκαν. Έρευνες σε αρουραίους αλλά και σε άλλα είδη ζώων, κατέληξαν στο ίδιο συμπέρασμα. Το CLA είχε θετική επίδραση στο ανοσοποιητικό σύστημα. (Hayek et al., 1999; Ramirez-Santana et al.,2009).

Παράλληλα μελέτες σε ανθρώπους άρχισαν να πραγματοποιούνται. Σύμφωνα με αυτές, το CLA είχε θετική επίδραση:

- σε συγκεκριμένους τύπους αλλεργιογόνων (O'Shea et al., 2004; Turpeinen et al., 2008)
- σε φλεγμονές (O'Shea et al., 2004; Park, 2009)
- στο ανοσοποιητικό σύστημα γενικότερα (Song et al., 2005; Park, 2009).

Η θετική αυτή επίδραση του CLA οφείλεται στο ότι μειώνει τους παράγοντες TNF-α, IFN-γ και την ανοσοσφαιρίνη IgE, αλλά αυξάνει τις ανοσοσφαιρίνες IgA, IgG και IgM.

Συμπερασματικά λοιπόν, οι περισσότερες μελέτες, έδειξαν, ότι ο ρόλος του CLA στο ανοσοποιητικό σύστημα, είναι θετικός.

- Οστά

Η οστεοπόρωση, η αρθρίτιδα και οι φλεγμονές στις αρθρώσεις, ταλαιπωρούν σήμερα πολλούς ανθρώπους μεγάλης ηλικίας. Το CLA αφενός παρεμποδίζει την παραγωγή φλεγμονωδών κυτοκινών που εμποδίζουν την ανάπτυξη των χόνδρων στις αρθρώσεις και ευνοούν τη φθορά τους, αφετέρου εμποδίζει την παραγωγή της προσταγλανδίνης PGE2 που συνδέεται με την οστεοπόρωση και την αρθρίτιδα(Watkins et al., 2000; Hur and Park, 2007).

Όταν ερευνητές χορήγησαν σε ζώα CLA διαπίστωσαν ότι μειώθηκαν οι φλεγμονές στους χόνδρους και ευνοήθηκε ο σχηματισμός οστών. Ο ρυθμός σχηματισμού των οστών βρέθηκε ότι ήταν στενά συνδεδεμένος με τα επίπεδα του CLA στο χορηγούμενο σιτηρέσιο(Belury et al., 2002). Οι Rahman et al., (2008), υποστηρίζουν ότι το ισομερές που συμβάλει περισσότερο στην προστασία της οστικής μάζας, μέσω ρύθμισης της οστεοκλαστογένεσης, είναι το trans-10,cis-12CLA. Το 2008, οι Park et al, πραγματοποίησαν πείραμα σε ποντίκια, από το οποίο συμπέραναν ότι με την έξτρα χορήγηση ασβεστίου στη διατροφή των ποντικών, βελτιωνόταν η επίδραση του CLA στην οστική μάζα. Παρομοίως, οι Kelly et al,(2003), απέδειξαν ότι το CLA, βελτιώνει την απορρόφηση ασβεστίου, στους αρουραίους.

Παρόλα αυτά σε δύο ανθρώπινες κλινικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν, δεν υπήρξε θετική επίδραση του CLA στην οστική μάζα (Gaullier et al.,2004; Kreider et al., 2002). Οι Brownbill et al., (2005), όμως, ανέφεραν θετική επίδραση του CLA στην οστική μάζα μετακλημακτηριακών γυναικών.

Συμπερασματικά, απαιτούνται περισσότερες μελέτες για να γίνει σαφή η επίδραση του CLA στα οστά.

-Άλλες δράσεις του CLA

Έπειτα από μελέτες το CLA φαίνεται να:

-έχει αντιοξειδωτική δράση (Hur et al., 2007; Kumar et al., 2009)

-ρυθμίζει την αρτηριακή πίεση (Nagao and Yanagita, 2005)

-διαμεσολαβεί στην έκφραση (ορισμένων)γονιδίων (Kumar et al., 2009)

Α.4.Παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή των Λ.Ο στο λίπος του γάλακτος μηρυκαστικών ζώων

Α.4.1 Παράγοντες που σχετίζονται με το ζώο:

Είδος ζώου

Διαφορές ανάλογα με το είδος του ζώου επισήμαναν ότι υπάρχουν στην παραγωγή των λιπαρών οξέων οι Chilliard et al., (2003). Σε αυτό συμφώνησαν και οι Park et al.,(2007), που ανέφεραν ότι τα επίπεδα των μικράς και μεσαίας αλύσου λιπαρών οξέων είναι σημαντικά υψηλότερα στο γάλα προβάτων και αιγών σε σχέση με το αγελαδινό.

Το 2006(α) οι Tsiplakou et al παρατήρησαν παραλλακτικότητα στη συγκέντρωση του CLA μεταξύ προβάτων και αιγών που διατρέφονταν αποκλειστικά με βοσκή. Οι στατιστικώς υψηλότερες συγκεντρώσεις του CLA του λίπους του γάλακτος των προβατινών σε σχέση με αυτό των αιγών αποδόθηκαν στις διαφορετικές διατροφικές προτιμήσεις των δύο ειδών ζώων. Άλλωστε είναι γνωστό ότι τα πρόβατα προτιμούν την ποώδη βλάστηση ενώ οι αίγες τη θαμνώδη και ότι η θαμνώδη βλάστηση έχει αυξημένες ίνες σε σύγκριση με τη ποώδη.

Παραλλακτικότητα όμως διαπιστώθηκε από τους Tsiplakou et al (2008a) μεταξύ προβάτων και αιγών, όταν το σιτηρέσιο τους συμπεριλαμβάνονταν ελαιόφυλλα και στέμφυλα οινοποιίας. Παρόλο που τα δύο είδη ζώων κατανάλωναν διαφορετική ποσότητα σιτηρεσίου λόγω των διαφορετικών αναγκών τους, εμφάνισαν διαφορετική ανταπόκριση στα συγκεκριμένα σιτηρέσια όσον αφορά τις συγκεντρώσεις του CLA και του VA του λίπους του γάλακτος. Τα αποτελέσματα της εργασίας αυτής ενισχύουν την υπόθεση της ύπαρξης διαφορών μεταξύ των διαφόρων ειδών ζώων, την οποία εισήγαγαν πρώτοι οι Jahreis et al (1999), αλλά το πειραματικό τους σχέδιο ήταν τέτοιο που δεν μπορεί να αποσαφηνιστεί πλήρως αν το είδος του ζώου ή η διαφορετική καταναλισκόμενη ποσότητα του κάθε σιτηρεσίου ήταν υπεύθυνα για τις διαφορές που παρατηρήθηκαν μεταξύ προβάτων και αιγών. Οι Jahreis et al παρατήρησαν ότι η παραγωγή CLA μειωνόταν με την εξής σειρά: πρόβατα>αγελάδες>κατσίκες. Με αυτή τη σειρά συμφωνούν και οι Reklewska και Bernatowicz (2002)οι οποίοι αναφέρονται από τους Grega et al (2005).

Φυλή ζώου

Οι απόψεις για το αν η παραγωγή των λιπαρών οξέων στο λίπος του γάλακτος των μηρυκαστικών ζώων επηρεάζεται από τη φυλή του ζώου δεν είναι ξεκάθαρες. Οι Kelsey et al., (2003) υποστηρίζουν ότι η φυλή έχει πολύ μικρή επίδραση στην παραγωγή των λιπαρών οξέων του γάλακτος αγελάδων. Σε έρευνα των Talpur et al (2009) αποδείχτηκε ότι η φυλή έχει σημαντική επίδραση στη σύνθεση των λιπαρών οξέων του γάλακτος αιγών και προβάτων που έλαβαν την ίδια τροφή και διέμεναν σε χώρο υπό τις ίδιες συνθήκες. Τέλος οι Signorelli et al (2008) επισήμαναν ότι δεν υπάρχει διαφορά μεταξύ των φυλών για τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, ενώ για τα μονοακόρεστα υπάρχει.

Όσον αφορά το CLA ειδικότερα, υπάρχει ποικιλομορφία απόψεων και πάλι. Οι Barbosa et al (2003) μελέτησαν την επίδραση της φυλής των ζώων σε δύο φυλές προβάτων της Πορτογαλίας(Bordaleira of Entre Douro e Minho και Serra da Estrela), οι οποίες διατηρούνταν σε διαφορετικά ποίμνια και η διατροφή τους γινόταν αποκλειστικά με βοσκή καθ'όλη τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου. Οι ερευνητές αυτοί δε διαπίστωσαν καμία επίδραση της φυλής και του αριθμού τοκετών στο παραγόμενο CLA. Καμία επίσης, επίδραση στο παραγόμενο CLA μεταξύ των φυλών Tsigay και Karakachan, οι οποίες διατηρούνταν στη βοσκή αλλά σε

διαφορετικά ποίμνια, διεπίστωσαν και οι Mihaylova et al (2004).Αντίθετα όταν οι Secchiari et al (2001) ερευνησαν την επίδραση της φυλής στο παραγόμενο CLA σε τρεις φυλές προβάτων (Garfagnima, Massese και Sarda) οι οποίες διατηρούνταν στη βοσκή, αλλά σε διαφορετικά ποίμνια κατά τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου, διαπίστωσαν ότι η φυλή Sarda παρήγαγε στατιστικώς σημαντικά χαμηλότερη ποσότητα CLA από τις άλλες δύο.

Το γεγονός ότι σε όλες τις παραπάνω εργασίες, οι υπό εξέταση φυλές διατηρούνταν σε διαφορετικά ποίμνια και διατρέφονταν αποκλειστικά με βοσκή καθ'όλη τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου, καθιστά τη σύγκρισή τους αν όχι αμφίβολη, τουλάχιστον όχι απόλυτα αξιόπιστη. Αυτό όπως έχουν δείξει πρόσφατες έρευνες οφείλεται στην ύπαρξη ενός αριθμού παραγόντων που συμβάλουν στη μεταβολή της σύστασης των λιπαρών οξέων της βοσκή όπως είναι οι κλιματικές συνθήκες, τα είδη των φυτών που την αποτελούν, το βλαστικό στάδιο στο οποίο βρίσκονται τα φυτά και η διαχείριση στην οποία ενδεχομένως υπόκειται ο βοσκότοπος (Cabiddu et al., 2003).

Το 2006(b) οι Tsiplakou et al διερεύνησαν συστηματικά την επίδραση της φυλής στην παραγωγή του CLA στο λίπος του γάλακτος τεσσάρων φυλών προβάτων(Awwasi, Lacaune, Φρισλανδίας και Χίου) οι οποίες διατηρούνταν στο ίδιο ποίμνιο το οποίο εκτρέφονταν με κατανάλωση σανού μηδικής και μίγματος συμπυκνωμένων ζωοτροφών καθ'όλη τη διάρκεια του έτους (αφού τα ζώα παρέμεναν εντός του στάβλου χωρίς καθόλου βοσκή). Στην εργασία αυτή, αποκλείοντας με τον παραπάνω τρόπο την επίδραση της διατροφής, που θεωρείται ο σημαντικότερος παράγοντας στην παραγωγή του CLA, διαπιστώθηκε ότι η φυλή των προβατίνων δεν επηρεάζει στατιστικώς σημαντικά την παραγωγή του CLA στο λίπος του γάλακτος. Παρομοίως και οι Signorelli et al (2008) σε πείραμα που πραγματοποίησαν σε Ιταλικές φυλές προβάτων (Altumurana,Gentile di Puglia, Sarda) οι οποίες βρίσκονταν στο ίδιο κοπάδι και διατρέφονταν με βοσκή και συμπληρωματική τροφή, παρατήρησαν ότι η φυλή δεν επηρέασε τη παραγωγή του CLA στο λίπος του γάλακτος.

Μπορεί η επίδραση της φυλής στην παραγωγή του CLA του λίπους του γάλακτος να μην είναι στατιστικώς σημαντική, η δράση της όμως δε μπορεί να αγνοηθεί και αυτό γιατί διαπιστώθηκε ότι υπάρχει στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση της φυλής και της διατροφής των ζώων όσον αφορά τη συγκέντρωση του CLA στο λίπος του γάλακτος τεσσάρων φυλών προβάτων (Awwasi, Lacaune, Φρισλανδίας και Χίου)οι οποίες διατρέφονταν το χειμώνα εντός του στάβλου με σανό μηδικής και μίγμα συμπυκνωμένων ζωοτροφών και την άνοιξη αποκλειστικά με βοσκή(Tsiplakou et al., 2008).

Υπάρχουν όμως εργασίες όπως των Reklewska et al (2005), Kelsey et al (2003) και White et al (2001) που πραγματοποιήθηκαν σε φυλές αγελάδων που διατρέφονταν με συγκεκριμένο σιτηρέσιο, οι οποίες υποστηρίζουν ότι υπήρχαν διαφορές στην παραγωγή του CLA μεταξύ των φυλών. Επιπλέον και οι Talpur et al (2009), σε πείραμα που διεξήγαγαν ανάμεσα σε φυλές αιγών(Pateri και Kamori)και προβάτων (Kachi και Kooka)που είχαν την ίδια διατροφή παρατήρησαν διαφορές στην παραγωγή του CLA στο γάλα. Συγκεκριμένα το cis-9,trans-11CLA ήταν στατιστικά υψηλότερο στις κατσίκες Kamori σε σύγκριση με τις Pateri(0,54vs0,42g/100g), ενώ στις προβατίνες, οι Kooka παρήγαγαν περισσότερο CLA από τις Kachi(0,83vs 0,71g/100g). Πρέπει όμως να επισημάνουμε ότι σε αυτή την εργασία τα ζώα διατρέφονταν όλα μαζί (μία ομάδα) σε βοσκή και επιπλέον λάμβαναν συμπλήρωμα διατροφής τις πρωινές ώρες.

Συμπερασματικά θα μπορούσαμε να πούμε ότι η φυλή μπορεί να επηρεάζει τη παραγωγή του CLA στο γάλα αλλά σε πολύ μικρό βαθμό, σύμφωνα με τις μέχρι τώρα έρευνες.

Στάδιο της γαλακτικής περιόδου

Σύμφωνα με τους Kelsey et al., 2003, το στάδιο της γαλακτικής περιόδου επηρεάζει αλλά σε πολύ μικρό βαθμό την παραγωγή των λιπαρών οξέων του γάλακτος. Πιο ειδικά οι Signorelli et al., 2008, σε πείραμα που πραγματοποίησαν παρατήρησαν ότι τα πολυακόρεστα αλλά και τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα είναι υψηλότερα στο τέλος της γαλακτικής περιόδου των προβατινών, ενώ τα κορεσμένα λιπαρά οξέα είναι χαμηλότερα.

Το ίδιο ισχύει και για το CLA όπου φαίνεται το στάδιο της γαλακτικής περιόδου να επηρεάζει σε μικρό ποσοστό την παραγωγή του CLA στο λίπος του γάλακτος προβατίνων (Tsiplakou et al.,2006b). Σε αυτό συμφωνούν και οι Signorelli et al (2008), οι οποίοι υποστηρίζουν ότι το CLA είχε μέγιστες τιμές στο τέλος της γαλακτικής περιόδου των προβάτων.

Σε μελέτη των Kelsey et al (2003) αναφέρεται ότι υπήρξε μικρή αύξηση του CLA σε γαλακτοπαραγωγές αγελάδες, από 7,9mg/g λιπαρών οξέων στην αρχή της γαλακτικής περιόδου σε 9,7 mg/g λιπαρών οξέων στο τέλος της γαλακτικής περιόδου.

Σε μελέτη που έγινε το 2005 σε αίγες από τους Impemba et al επισημάνθηκε ότι δεν υπήρξαν ουσιώδης διαφορές κατά τη διάρκεια της γαλακτικής περιόδου.

Τέλος υπήρξαν και έρευνες όπως των Stanton et al (1997) και Grega et al (2005) που ανέφεραν ότι το στάδιο γαλακτικής περιόδου δεν επηρέασε το CLA στο λίπος του γάλακτος αγελάδων.

Ηλικία

Μελέτες για την επίδραση της ηλικίας στη παραγωγή των λιπαρών οξέων δεν υπάρχουν παρά μόνο για το CLA. Σύμφωνα με τους Dhiman et al (2005), οι υπάρχουσες έρευνες που έχουν γίνει σε αγελάδες για να δουν αν η ηλικία επηρεάζει την παραγωγή του CLA ποικίλουν στα αποτελέσματα.

Όταν αγελάδες εκτρέφονταν με διατροφή που βασιζόταν σε χόρτα, αυτές που βρίσκονταν στην $5^{η}$ γαλακτογονία ή υψηλότερη, είχαν περισσότερο CLA στο γάλα τους(0,59% του λίπους) από αυτές που ήταν στη $2^{η}$ έως $4^{η}$ (0,41% του λίπους). Παρόλα αυτά όταν αγελάδες εκτρέφονταν με σιτηρέσια που περιείχαν σπόρους ελαιοκράμβης δε φαινόταν να υπάρχει συσχετισμός μεταξύ παραγωγής CLA στο γάλα και αριθμού γαλακτογονίας(κατ'επέκταση ηλικίας).

Σε μια άλλη μελέτη, αγελάδες μεγάλης ηλικίας(>7 γαλακτογονία) είχαν υψηλότερο CLA στο γάλα τους από ότι αγελάδες μικρότερης ηλικίας(1-3 γαλακτογονίες)(Lal and Narayanan, 1984). Οι διαφορές στο περιεχόμενο CLA στο γάλα που παρουσιάζονται λόγω ηλικίας, μπορεί να οφείλονται στη διαφορετική δράση του ενζύμου αφυδρογονάση ή στο διαφορετικό μεταβολισμό των λιπαρών οξέων και σύνθεση αυτών που υπάρχει μεταξύ νέων και γηραιότερων αγελάδων.

Μελέτη σε πρόβατα από τους Tsiplakou et al (2006b) απέδειξε ότι ο αριθμός των τοκετών που έχει κάνει στη ζωή της μια προβατίνα (έμμεσα δηλαδή η ηλικία της), δεν επηρεάζει την παραγωγή του CLA.

Πολυδυμία

Δεν υπάρχει στατιστικώς σημαντικός συσχετισμός μεταξύ πολυδυμίας και παραγωγής λιπαρών οξέων στο λίπος του γάλακτος σύμφωνα με τις περισσότερες έρευνες.(Tsiplakou et al., 2006b; Kelsey et al., 2003; Barbosa et al., 2003).

Ιδιαιτερότητα κάθε ζώου

Δεν υπάρχουν μελέτες για την επίδραση που μπορεί να έχει η ατομικότητα κάθε ζώου στη παραγωγή των λιπαρών οξέων παρά μόνο για το CLA.Την ύπαρξη παραλλακτικότητας ως προς τις τιμές που παίρνει το CLA στο λίπος του γάλακτος, εντός ποιμνίων αιγοπροβάτων, που διατρέφονταν με βοσκή ή εντός στάβλου, μελέτησαν οι Tsiplakou et al(2006a,2006b), οι οποίοι διαπίστωσαν ότι το CLA μπορεί να πάρει ακόμα και τριπλάσια τιμή από τη χαμηλότερη που καταγράφεται εντός του ποιμνίου. Σε αυτό συμφωνούν και άλλες έρευνες όπως των Kelsey et al (2003) και Kelly et al (1998a,1998b). Αυτές οι διαφορές μπορεί να οφείλονται στη διαφορετική ενεργότητα του ενζύμου αφυδρογονάση, στην ηλικία των ζώων, στο διαφορετικό μεταβολισμό εντός της μεγάλης κοιλίας ή ακόμα και άλλους άγνωστους παράγοντες.(Dhiman et al.,2005).

Παραγωγή γάλακτος

Από πείραμα των Signorelli et al., 2008, σε πρόβατα, φαίνεται η παραγωγή γάλακτος καθώς και η περιεκτικότητα σε λίπος να επηρεάζουν αρκετά τα λιπαρά οξέα. Πιο συγκεκριμένα, όταν αυξήθηκε η παραγωγή γάλακτος, το μυριστικό αλλά και τα κορεσμένα λιπαρά οξέα μειώθηκαν, ενώ τα πολυακόρεστα αυξήθηκαν. Τα μικρής και μεσαίας αλύσου λιπαρά οξέα επηρεάστηκαν αρνητικά από το ποσοστό του λίπους στο γάλα, ενώ το στεατικό οξύ επηρεάστηκε θετικά. Ειδικότερα για το CLA, σύμφωνα με τους Kelsey et al (2003), το περιεχόμενο του στο λίπος του γάλακτος επηρεάζεται σε πολύ μικρό βαθμό ή και καθόλου από την παραγωγή γάλακτος, το ποσοστό λίπους στο γάλα και τη παραγωγή λίπους γάλακτος. Σε αυτό συμφωνούν και οι Tsiplakou et al (2006b)αλλά και οι Signorelli et al (2008), που ανέφεραν ότι το περιεχόμενο CLA επηρεάζεται αρνητικά (όχι όμως στατιστικώς σημαντικά) από το περιεχόμενο λίπος στο γάλα, στα πρόβατα και στις αγελάδες. Στις αίγες αυτός ο συσχετισμός δε παρατηρήθηκε σύμφωνα με τους Tsiplakou et al (2006b) πιθανώς λόγω των μη σημαντικών αλλαγών στο λίπος του γάλακτος κατά τη διάρκεια του πειράματος.

Α.4.2 Παράγοντες που σχετίζονται με τη διατροφή του ζώου:

Όπως παρατηρήσαμε παραπάνω η επίδραση που έχει το ίδιο το ζώο στη παραγωγή των λιπαρών οξέων δεν είναι πολύ μεγάλη. Σύμφωνα με μελέτες, όπως θα δούμε παρακάτω ο σημαντικότερος παράγοντας που επηρεάζει τη παραγωγή των λιπαρών οξέων είναι η διατροφή!

Βοσκή

Όλα τα λιπαρά οξέα σύμφωνα με τους Urso et al., (2008), επηρεάζονται από τη βοσκή και έμμεσα από την εποχή. Σύμφωνα με τους Atti et al., (2006) προβατίνες που έβοσκαν, είχαν μείωση στο περιεχόμενο των μεσαίας αλύσου λιπαρών οξέων του γάλακτος και αύξηση στο $C_{18:3}$ και CLA. Οι Pondini et al.,(2009), μετά από έρευνα σε αγελάδες κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η φρέσκια βοσκή αυξάνει το CLA, το ελαϊκό οξύ και τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα ενώ μειώνει τα κορεσμένα. Τέλος η Tsiplakou et al.,(2008), μετά από πολύμηνη έρευνα έδωσαν τα εξής αποτελέσματα:

Α)Όταν τα πρόβατα που εκτρέφονταν ενσταβλισμένα με ισόρροπα σιτηρέσια κατά τη διάρκεια του χειμώνα βγήκαν την άνοιξη στη βοσκή (χωρίς πρόσθετη τροφή), παρουσιάσθηκαν αλλαγές στα παραγόμενα λιπαρά οξέα του γάλακτος.

Συγκεκριμένα μειώθηκαν το $C_{6:0}$, $C_{8:0}$, $C_{10:0}$, $C_{12:0}$, $C_{14:0}$, $C_{14:1}$ και αυξήθηκαν τα $C_{17:1}$, $C_{18:0}$, $C_{18:1}$, $C_{18:2n6c}$, $C_{18:3n3}$ και $C_{18:3n6}$.

Β)Η βοσκή σε σύγκριση με το χορηγούμενο σιτηρέσιο μείωσε τα κορεσμένα και αύξησε τα ακόρεστα λιπαρά οξέα του λίπους του γάλακτος.

Η βοσκή περιέχει λινολενικό οξύ, σε ποσοστό 40% των ολικών λιπαρών οξέων, που είναι πρόδρομη ένωση για την παραγωγή του CLA. Αύξηση της συγκέντρωσης του CLA στο λίπος του πρόβειου γάλακτος, όταν οι ανάγκες των ζώων καλύπτονταν αποκλειστικά από τη βοσκή, έχει διαπιστωθεί από Tsiplakou et al (2006a) και Atti et al (2006).

Το μέγεθος της αύξησης της συγκέντρωσης του CLA στο λίπος του γάλακτος επηρεάζεται από το είδος και το βλαστικό στάδιο των φυτών της βοσκής που την αποτελούν (Cabiddu et al., 2003; Addis et al., 2005). Η βοσκή νωρίς την Άνοιξη(νεαρό βλαστικό στάδιο) περιέχει λινολενικό οξύ σε ποσοστό πάνω από 40% των ολικών λιπαρών οξέων, ενώ στο τέλος της Άνοιξης (ώριμο βλαστικό στάδιο) το λινολενικό οξύ μειώνεται. Πρόβατα που κατανάλωναν βοσκή σε νεαρό βλαστικό στάδιο, εμφανίζουν υψηλότερες συγκεντρώσεις CLA στο λίπος του γάλακτος, από όταν καταναλώνουν βοσκή σε ώριμο βλαστικό στάδιο (Tsiplakou et al., 2006a). Συγκεκριμένα σύμφωνα και με τους Mel'uchova et al (2008), το περιεχόμενο CLA στο λίπος γάλακτος προβατίνων, απέκτησε υψηλές τιμές στην αρχή της περιόδου βόσκησης(Απρίλιος- Μάιος) και από το Μάιο ως τον Αύγουστο μειωνόταν σταδιακά έως ότου έρθει ο Σεπτέμβρης όπου έχουμε αναγέννηση της χλωρίδας (Ostrowsky et al., 2009), η οποία ξανάφερε το περιεχόμενο CLA στο λίπος του γάλακτος σε παρόμοια επίπεδα με την αρχή της βοσκήσιμης περιόδου(Απρίλιος).

Φυσικό είναι, οι αλλαγές που επέρχονται στη παραγωγή του CLA σε ζώα που ήταν έγκλειστα και βγαίνουν στη βοσκή την Άνοιξη να απαιτούν τη πάροδο κάποιων ημερών και να μη γίνονται απευθείας. Ο λόγος είναι ότι απαιτείται το πέρασμα κάποιου χρόνου έως ότου ο μικροβιακός πληθυσμός της μεγάλης κοιλίας αλλά και η φυσιολογία σύνθεσης των λιπαρών οξέων να προσαρμοστεί στη νέα διατροφή (Khanal and Olson, 2004).

Το πόσο σημαντικό ρόλο παίζει η βοσκή φαίνεται και στη μελέτη των Thorsdottir et al (2004), όπου παρατηρήθηκε χαμηλότερη συγκέντρωση CLA στο λίπος αγελάδων Σκανδιναβικών χωρών σε σχέση με το CLA στο λίπος αγελάδων από Ευρωπαϊκές χώρες. Η πιθανή εξήγηση που δόθηκε για αυτή τη διαφορά ήταν ότι στις Σκανδιναβικές χώρες έχουν μικρότερα καλοκαίρια (περίοδοι βόσκησης των ζώων) και μεγαλύτερους χειμώνες σε σχέση με τις Ευρωπαϊκές χώρες.

Βέβαια το προφίλ των λιπαρών οξέων της βοσκής δεν μπορεί να εξηγήσει απόλυτα τις μεγάλες μεταβολές που παρατηρούνται στη συγκέντρωση του CLA του λίπους του γάλακτος. Εικάζεται ότι και άλλοι παράγοντες ή συστατικά της βοσκής προκαλούν αύξηση του ποσοστού παραγωγής του VA στη μεγάλη κοιλία. Για παράδειγμα το είδος των βακτηρίων που ζουν στη μεγάλη κοιλία ή ακόμα και το pH (pH κάτω από 6 ισοδυναμεί με προβλήματα όσον αφορά την παραγωγή CLA) της μπορεί να επηρεάζονται θετικά από τη βόσκηση ως προς τη παραγωγή του VA (Tsiplakou et al., 2008). Αύξηση της συγκέντρωσης του CLA στο λίπος του γάλακτος αιγών, που κατανάλωναν βοσκή και θαμνώδη βλάστηση νεαρού βλαστικού σταδίου σε σχέση με συμπληρωματική διατροφή, διαπίστωσαν οι Tsiplakou et al (2006a), χωρίς όμως τα αποτελέσματα να είναι στατιστικώς σημαντικά.

Πρόσθετα διατροφής

Λίπη, έλαια και ελαιούχα σπέρματα είναι μόνο μερικά πρόσθετα στη διατροφή των μηρυκαστικών που έχει αποδειχτεί ότι επηρεάζουν την παραγωγή λιπαρών οξέων

στο γάλα αιγών και προβάτων. (Chilliard et al., 2003, Park et al., 2007). Συγκεκριμένα τα παραπάνω είναι πλούσια σε λινελαϊκό και λινολενικό οξύ, δηλαδή, πρόδρομες ενώσεις για το σχηματισμό του CLA. Για την αύξηση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων στο γάλα αιγών, επιτυχία σημείωσαν η προσθήκη στη διατροφή των ζώων ελαίων καθώς και παραγόντων που μείωναν την υδρογόνωση στη μεγάλη κοιλία.

Υποσιτισμός-Υπερσιτισμός

Στις χώρες της Μεσογείου, όπου ανήκει και η Ελλάδα, τα αιγοπρόβατα υπόκεινται σε περιόδους υποσιτισμού λόγω των εποχιακών αλλαγών, που επηρεάζουν τη διαθεσιμότητα, το είδος της βοσκής αλλά και τα προϊόντα αυτής. Επιπλέον, και ιδιαίτερα στις υψιπαραγωγικές φυλές, η αρχή της γαλακτικής περιόδου, όπου υπάρχουν υψηλές διατροφικές ανάγκες, συνοδεύεται έμμεσα από υποσιτισμό, αφού τα ζώα, δε μπορούν να φάνε τις πρώτες μέρες τόσο πολύ όσο θα έπρεπε για να καλύψουν τις ανάγκες τους (ακόμα και όταν υπάρχει επάρκεια τροφής).

Αυτό το αρνητικό ισοζύγιο ενέργειας που προκαλείται από τον υποσιτισμό, έχει ως συνέπεια τη μείωση του σωματικού βάρους, της παραγωγής γάλακτος και των πρωτεϊνών και την αύξηση των λιπών του γάλακτος.(Bocquier et al.,1999; Ζέρβας Γ. 2005). Επιπρόσθετα, επειδή στην αρχή της γαλακτικής περιόδου, το ζώο για να καλύψει τις αυξημένες διατροφικές του ανάγκες, καταβολίζει σωματικό λίπος, αυξάνονται τα ελεύθερα λιπαρά οξέα στο αίμα και έμμεσα το λίπος του γάλακτος. Πιο συγκεκριμένα σύμφωνα με τους Garnsworthy et al., (2006), λιπαρά οξέα, όπως το 18:1c9 και 18:0 βρέθηκαν σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις σε αγελάδες που βρίσκονταν στην αρχή της γαλακτικής περιόδου.

Από την άλλη πλευρά υπάρχουν και ζώα που υπερσιτίζονται. Ένα παράδειγμα είναι στην ομαδική διατροφή όπου τα κυρίαρχα ζώα φαίνεται να τρώνε συχνά περισσότερο από αυτό που τους αναλογεί. Σύμφωνα με μελέτες (Bocquier et al., 1999), ο υπερσιτισμός προκαλεί μείωση του λίπους του γάλακτος και αύξηση των πρωτεϊνών.

Με εξαίρεση ελάχιστες εργασίες, οι οποίες όμως έχουν γίνει σε αγελάδες, η επίδραση του υπερσιτισμού και υποσιτισμού στο προφίλ των λιπαρών οξέων δεν έχει μελετηθεί σε αιγοπρόβατα. Με αφορμή λοιπόν αυτή την έλλειψη για το παρών θέμα πραγματοποιήθηκε και η παρούσα μελέτη σε αίγες.

Α.5.Ορμόνες που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των λιπαρών οξέων

Ορμόνη καλείται κάθε ουσία που εκκρίνεται από ένα κύτταρο και δρα σε ένα άλλο κύτταρο, αφού συνδεθεί με τους κατάλληλους υποδοχείς. Οι ορμόνες επιφέρουν αυτό το αποτέλεσμα με μοναδικές χημικές δομές που αναγνωρίζονται από συγκεκριμένους υποδοχείς στα κύτταρα-στόχους, από τα σχέδια εκκρίσεως και από τις συγκεντρώσεις τους στη περιφερική ή σε τοπική κυκλοφορία. (Χαδιώ, 2006). Οι περισσότερες ορμόνες παράγονται από ενδοκρινείς αδένες και παίρνουν μέρος στη κυκλοφορία του αίματος. Έτσι επηρεάζουν άμεσα ή έμμεσα τις περισσότερες από τις λειτουργίες των διαφόρων οργανισμών. Υπάρχουν μάλιστα ορισμένες ορμόνες, όπως για παράδειγμα τα κορτικοειδή και η ινσουλίνη που είναι απολύτως απαραίτητα για τη ζωή. Η ινσουλίνη και η λεπτίνη είναι δύο ορμόνες που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των λιπαρών οξέων και για αυτό θα αναφερθούμε σε αυτές εκτενέστερα.

Α.5.1.Λεπτίνη

Η υπόθεση ύπαρξης κάποιου περιφερικού παράγοντα που ενημερώνει τον εγκέφαλο για την ενεργειακή κατάσταση του οργανισμού προτάθηκε αρχικά τη δεκαετία του 1950 (Kennedy GC, 1953; Friedman, 1998), αλλά μόλις το 1994 αναλύθηκε η δομή του γονιδίου που παράγει το παράγοντα αυτό ο οποίος ονομάστηκε λεπτίνη από τον Zhang Y (1994).

Η λεπτίνη προέρχεται από την ελληνική λέξη ¨λεπτός¨ και ως πολυπεπτιδική ορμόνη είναι πρωτεΐνη μοριακού βάρους 16-kDa, η οποία συντίθεται από 167 αμινοξέα. (Saladin et al.,1995; de Luis DA et al., 2009).Είναι προϊόν του ob γονιδίου (από την αγγλική λέξη obese, που σημαίνει παχύς). Έχει παρατηρηθεί ότι σε επίμυες που προέρχονται από ob/ob γονείς εκδηλώνεται παχυσαρκία , υπερφαγία, δυσανεξία στη γλυκόζη, αντίσταση στην ινσουλίνη και στειρότητα. Τα χαρακτηριστικά αυτά παρουσιάζονται επειδή οι επίμυες αυτοί δεν μπορούν να παράγουν λεπτίνη εξαιτίας γενετικής μετάλλαξης. Όλα αυτά τα χαρακτηριστικά συμπτώματα εξαφανίζονται με την εξωγενή χορήγηση της λεπτίνης. Το ποσοστό του λίπους στο σώμα επανέρχεται στα φυσιολογικά επίπεδα και το βάρος αποκαθίσταται. Επιπλέον, οι συγκεντρώσεις της ινσουλίνης και της γλυκόζης στον ορό του αίματος διαμορφώνονται στις φυσιολογικές τιμές αλλά και η στειρότητα εξαφανίζεται. Επιπρόσθετα, αυξάνεται η θερμοκρασία του σώματος, ο μεταβολικός ρυθμός και το επίπεδο της δραστηριότητας του οργανισμού. (Zhang et al., 1994 ; Campfield et al., 1995). Από τις παραπάνω δράσεις της λεπτίνης συμπεραίνουμε την πολύπλοκη καθώς και τη σημαντική δράση της σε πολλά συστήματα του οργανισμού.

Ο λευκός λιπώδης ιστός εκτός από αποθήκη ενέργειας του οργανισμού, αποτελεί και έναν ενδοκρινή αδένα, καθώς είναι η κύρια πηγή παραγωγής της πολυπεπτιδικής ορμόνης λεπτίνης. Παρόλα αυτά, γονίδια λεπτίνης εκφράζονται, σε χαμηλότερα όμως επίπεδα, στον πλακούντα, σε εμβρυικούς ιστούς, στο επιθήλιο του μαστού, στο στόμαχο, στους σκελετικούς μυς, στο φαιό λιπώδη ιστό, στον εγκέφαλο κ.α. (Ζέρβας, 2005; Chilliard et al., 2005).

Ο ρόλος της λεπτίνης είναι πολυσχιδής και ενώ έχουν γίνει πάρα πολλές έρευνες στα τρωκτικά και στον άνθρωπο για τη φυσιολογία αλλά και τη δράση της, στα μηρυκαστικά πρόσφατα άρχισε να μελετάται.

Με δράσεις που αφορούν σε ποικίλους βιολογικούς μηχανισμούς, όπως στο ανοσοποιητικό και αναπαραγωγικό σύστημα, στην αιμοποίηση, στην αγγειογένεση, στις νεφρικές λειτουργίες, στην κυτταρική διαφοροποίηση και πολλαπλασιασμό αλλά και αλλού, καταφέρνει να εμπλέκεται στη γενικότερη ομοιοστασία ενός οργανισμού. (Chilliard et al., 2005). Είναι η πρωτεΐνη που δίνει το σήμα σε καίρια ρυθμιστικά κέντρα του εγκεφάλου για την αναστολή της πρόσληψης τροφής , τη ρύθμιση του σωματικού βάρους, αλλά και της ενεργειακής ομοιοστασίας. Επιπλέον ειδοποιεί τον εγκέφαλο για το ποσό και την καταλληλότητα των θρεπτικών συστατικών του λιπώδους ιστού. (Ahima et al., 1996).

Όσο περισσότερο λίπος υπάρχει στο σώμα, τόσο περισσότερη λεπτίνη βρίσκεται στο αίμα, στέλνοντας το σήμα στον εγκέφαλο ότι πρέπει να μειωθεί η πρόσληψη τροφής και να αυξηθεί η κατανάλωση ενέργειας, ώστε να ρυθμιστεί η ισορροπία ενέργειας και βάρους στο ζώο. Στην κυκλοφορία του αίματος η λεπτίνη ανευρίσκεται με δύο μορφές, τη συνδεδεμένη με πρωτεΐνη αλλά και την ελεύθερη μορφή. Το σήμα της λεπτίνης παραλαμβάνεται από τον υποθάλαμο του εγκεφάλου που ρυθμίζει το ενδοκρινικό και το αυτόνομο νευρικό σύστημα, παράγοντας στους νευρώνες του μόρια που ονομάζονται νευροπεπτίδια, τα οποία στέλνει εκτός του εγκεφάλου για να σταματήσουν την όρεξη και να διατηρηθεί η ισορροπία μεταξύ προσλαμβανόμενης ενέργειας από τη τροφή και κατανάλωσής της από τις δραστηριότητες του οργανισμού. Η λεπτίνη, δρώντας στους υποδοχείς της στον υποθάλαμο, διεγείρει την παραγωγή ανορεξιογόνων πεπτιδίων, όπως η προοπιομελανοκορτίνη (POMC) και τα ρυθμιζόμενα από την κοκαΐνη και αμφεταμίνη μετάγραφα(CART) , ενώ αναστέλλει την παραγωγή ορεξιγόνων πεπτιδίων, όπως το νευροπεπτίδιο Y (NPY) και η Agouti-related protein(AgRP).

Πιο συμπερασματικά ο ρόλος της λεπτίνης σε έναν οργανισμό είναι να:

(Block et al., 2003: Chilliard et al., 2005; Houseknecht et al., 1998), (σχήμα 1).

Α) Μειώνει την ινσουλίνη και τα γλυκοκορτικοειδή και αυξάνει την ινσουλινοευαισθησία. Έχει βρεθεί ότι η λεπτίνη μειώνει τη συγκέντρωση της ινσουλίνης περιφερικά, εξασθενώντας την δραστικότητά της στα δικά της κύτταρα υποδοχής.

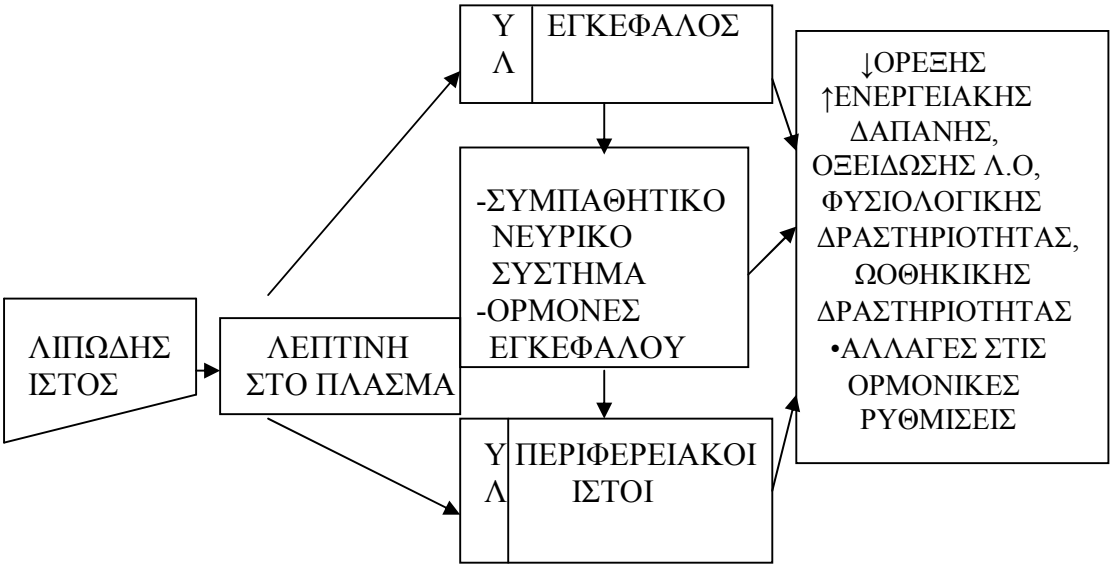
Β) Ερεθίζει την έκκριση της ορμόνης ανάπτυξης (Growth hormone – GH), των κατεχολαμίνων και της ορμόνης του θυρεοειδούς.

Γ) Αυξάνει την ενεργειακή δαπάνη από τους ιστούς, την λιπόλυση και μειώνει τη λιπογένεση.

Δ) Αυξάνει τη χρησιμοποίηση γλυκόζης. Σε αντίθεση με την ινσουλίνη, η γλυκόζη και η σύνθεσή της αυξάνουν ύστερα από την έκθεση μυϊκών κυττάρων σε λεπτίνη (Berti et al., 1997).

Ε) Αυξάνει την οξείδωση λιπαρών οξέων που συνεπάγεται την μείωση των λιπαρών οξέων. Η οξείδωση των λιπαρών οξέων που προκαλείται από τη λεπτίνη είναι πιθανόν το κλειδί για την ινσουλινοευαισθησία αλλά και τη μείωση του λιπώδη ιστού που προκαλούνται από τη λεπτίνη.

Στ) Βοηθάει τα ζώα να προσαρμοστούν σε περιόδους υποσιτισμού. Στα ζώα που υποσιτίζονται, η μείωση της λεπτίνης μπορεί να είναι ένα σήμα που ερεθίζει την έκκριση γλυκοκορτικοειδών και μειώνει τη θυρεοειδική δραστηριότητα, τις ενεργειακές δαπάνες, την ινσουλινοευαισθησία, τη σύνθεση πρωτεϊνών και τέλος μπλοκάρει το αναπαραγωγικό σύστημα.



Σχήμα 1. Φυσιολογικές επιδράσεις της λεπτίνης που εκκρίνεται από το λιπώδη ιστό στα τρωκτικά. (ΥΛ= Υποδοχείς λεπτίνης).(Chilliard Y et al., 2001)

Η παραγωγή της λεπτίνης εξαρτάται από τους εξής παράγοντες:

1)Υπερσιτισμός. Τα ζώα που υπερσιτίζονται έχουν αύξηση λεπτίνης, σύμφωνα με τους Chilliard et al, 2001.

2) Υποσιτισμός. Τα ζώα που υποσιτίζονται έχουν μείωση λεπτίνης. Αυτό έδειξαν μελέτες που έγιναν σε αγελάδες (Block S. et al, 2003) αλλά και πρόβατα (Marie M et al, 2001).

3)Το προϋπάρχων λίπος στο ζωικό οργανισμό. Η απάντηση της λεπτίνης στο αίμα ανάλογα με το επίπεδο διατροφής, εξαρτάται από το λίπος που ήδη υπάρχει στο σώμα. Για παράδειγμα, υπήρξε ξεκάθαρη μείωση της λεπτίνης σε χρόνια υποσιτιζόμενα ζώα που είχαν όμως μέση σωματική κατάσταση, αλλά καθόλου σε ζώα που ήταν πολύ αδύνατα. (Chilliard et al. 2001).

4)Την ηλικία του ζώου. Σύμφωνα με τον Chilliard (2005), οι αντιδράσεις της λεπτίνης στα διαφορετικά σιτηρέσια, ήσαν μεγαλύτερης ευαισθησίας για τα νεαρά αρνιά σε σχέση με τα ενήλικα.

5) Στάδιο εγκυμοσύνης και γαλακτοπαραγωγής. Στο πρώτο μισό της εγκυμοσύνης η λεπτίνη είναι αυξημένη ενώ στο υπόλοιπο της εγκυμοσύνης και κατά τη διάρκεια της γαλακτοπαραγωγής μειώνεται σταδιακά, με αποτέλεσμα στο τέλος της γαλακτοπαραγωγικής περιόδου να εμφανίζονται οι πιο χαμηλές τιμές της λεπτίνης. (Chilliard et al. 2001).

6)Η γλυκόζη, η κορτιζόλη και η ινσουλίνη φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της λεπτίνης (διεγείρουν την έκκρισή της) στα μηρυκαστικά. Επίσης τα

λιπαρά οξέα παίζουν ρόλο και κυρίως το λινολαϊκό οξύ που φαίνεται να διεγείρει την έκφραση της λεπτίνης.

7)Η διάρκεια της ημέρας. Παρατηρήθηκε αύξηση λεπτίνης σε πρόβατα που παρέμειναν σε μεγαλύτερη διάρκεια ημέρας σε αντίθεση με πρόβατα που παρέμειναν σε μικρότερη διάρκεια ημέρας.

Α.5.2.Ινσουλίνη

Η ινσουλίνη είναι πολυπεπτιδική ορμόνη, η οποία εκκρίνεται απευθείας στην κυκλοφορία του αίματος από το πάγκρεας (ενδοκρινής ορμόνη). Πιο ειδικά, η παραγωγή της γίνεται στα νησίδια Langerhans του παγκρέατος. Το όνομα της, προέρχεται από το λατινικό insula που σημαίνει νησί.

Η ιστορία της ινσουλίνης ξεκίνησε το 1869. Ένας φοιτητής ιατρικής του Πανεπιστημίου του Βερολίνου, ο Paul Langerhans εξετάζοντας στο μικροσκόπιο τομές παγκρεατικού ιστού εντόπισε κάποιες άγνωστες μέχρι τότε συστάδες κυττάρων, αλλά δεν μπόρεσε να διαπιστώσει το φυσιολογικό τους ρόλο. Οι συστάδες αυτές ονομάστηκαν αργότερα νησίδια του Langerhans και είναι συναθροίσεις κυττάρων κάποια από τα οποία παράγουν και εκκρίνουν (μεταξύ άλλων) ινσουλίνη. Η ινσουλίνη εκκρίνεται μέσω των αιμοφόρων αγγείων απ' ευθείας στο αίμα, σε αντίθεση με τη μέχρι τότε γνωστή έκκριση παγκρεατικού υγρού (μίγμα πεπτικών ενζύμων) στο δωδεκαδάκτυλο. Τα επόμενα χρόνια συνεχίζονται οι έρευνες στο πάγκρεας, αλλά μόλις το 1921, οι επιστήμονες Frederick Banting, Charles Best, John James Richard Macleod και James Collip καταφέρνουν να ανακαλύψουν την ινσουλίνη και το ρόλο της.

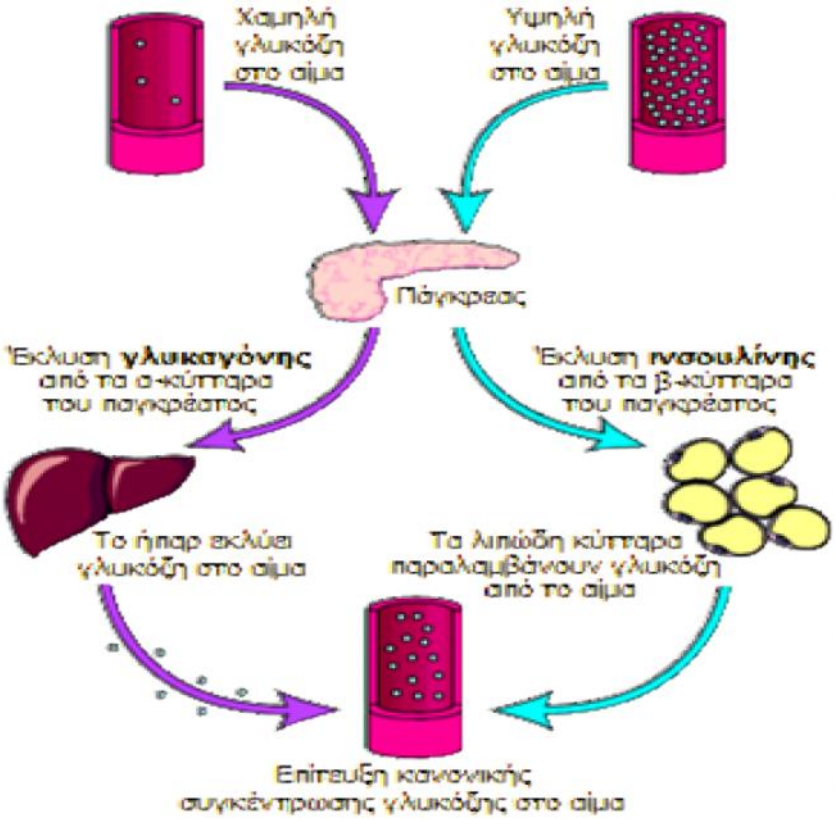
Η ινσουλίνη είναι πολυπεπτιδική ορμόνη, με μοριακό βάρος 5808 Da, που αποτελείται από δύο πεπτιδικές αλυσίδες (Α και Β) που περιέχουν συνολικά 51 αμινοξέα, 21 αμινοξέα στην Α αλυσίδα και 30 αμινοξέα στη Β αλυσίδα. Από τα 20 κοινά αμινοξέα των πρωτεϊνών δεν διαθέτει τα αμινοξέα θρυπτοφάνη (Try) και μεθειονίνη (Met). Διαθέτει τρεις δισουλφιδικές γέφυρες (-S-S-) από τις οποίες οι δύο συγκρατούν τις δύο αλυσίδες. Οι δύο αλυσίδες μπορούν να χωρισθούν εύκολα με διάνοιξη των -S-S- γεφυρών με οξείδωση. Καμία από τις δύο αλυσίδες χωριστά δεν εμφανίζει κάποια φυσιολογική δραστικότητα και επομένως η δράση της ινσουλίνης οφείλεται στη συνολική διαμόρφωση του μορίου της (τριτοταγής δομή) και όχι στα επιμέρους συστατικά της πεπτίδια ή αμινοξέα.

Η ινσουλίνη και η γλυκαγόνη είναι πολυπεπτιδικές ορμόνες οι οποίες εκκρίνονται απ' ευθείας στην κυκλοφορία του αίματος από το πάγκρεας (ενδοκρινείς ορμόνες). Με τις δύο αυτές ορμόνες ρυθμίζεται η συγκέντρωση γλυκόζης στο αίμα. Και οι δύο ορμόνες παράγονται στα νησίδια Langerhans του παγκρέατος και έχουν ακριβώς αντίθετη δράση, γεγονός στο οποίο οφείλεται και η ρυθμιστική τους ικανότητα. Ένα αρκετά απλουστευμένο σχήμα που δείχνει τον κεντρικό ρόλο του παγκρέατος στη ρύθμιση της γλυκόζης παρουσιάζεται στο σχήμα 2. (James Norman. Endocrine Web.com).

Η ινσουλίνη εκκρίνεται από τα β-κύτταρα που αποτελούν το 60-85% των κυττάρων των νησιδίων Langerhans. Τα β-κύτταρα "διεγείρονται" από τα μόρια γλυκόζης και η δράση της είναι ξεκάθαρα αναβολική. Όσο αυξάνει η συγκέντρωση γλυκόζης στο αίμα, τόσο αυξάνει ο ρυθμός έκκρισης ινσουλίνης. Με τη σειρά της η ινσουλίνη διευκολύνει την πρόσληψη γλυκόζης από τα περισσότερα είδη κυττάρων του οργανισμού, όπως τα μυϊκά κύτταρα, τα ερυθρά αιμοσφαίρια και τα λιπώδη

κύτταρα. Χωρίς την ινσουλίνη τα κύτταρα αυτά δεν μπορούν να προσλάβουν γλυκόζη που αποτελεί την κύρια πηγή χημικής ενέργειας. Επιπλέον, η ινσουλίνη προκαλεί την "αποταμίευση" γλυκόζης στα κύτταρα και κυρίως στο ήπαρ υπό τη μορφή γλυκογόνου, ενώ μειώνει το ρυθμό αποδόμησης του γλυκογόνου σε γλυκόζη (γλυκογονόλυση).

Εάν το ήπαρ "κορεσθεί" σε γλυκογόνο, η γλυκόζη αρχίζει να κατευθύνεται στα λιπώδη κύτταρα όπου χρησιμοποιείται για τη σύνθεση λιπαρών οξέων και γλυκερόλης και τελικά τριγλυκεριδίων. Η ινσουλίνη "καθοδηγεί" τα κύτταρα, όταν αυτά αναζητούν ενέργεια, να καταναλώσουν γλυκόζη αντί λιπαρών οξέων και επομένως εμπλέκεται στους μηχανισμούς συσσώρευσης λίπους στο σώμα. Πέραν της εμπλοκής της ινσουλίνης στο ισοζύγιο σακχάρου/λίπους, η ινσουλίνη διευκολύνει την πρόσληψη αμινοξέων για σχηματισμό πρωτεϊνών, ενώ η έλλειψή της (όπως π.χ. σε καταστάσεις νηστείας) οδηγεί σε κατανάλωση και αλλοίωση των ενδοκυτταρικών πρωτεϊνών.



Σχήμα 2. Ρύθμιση γλυκόζης στον οργανισμό από το πάγκρεας

Πιο συνοπτικά, ο ρόλος της ινσουλίνης στο μεταβολισμό είναι :

1) Έλεγχος της πρόσληψης ορισμένων ουσιών και κυρίως της γλυκόζης από τους μυϊκούς και τους λιπώδεις ιστούς.

2) Ενίσχυση των μηχανισμών αντιγραφής του DNA και της πρωτεϊνοσύνθεσης μέσω ελέγχου της πρόσληψης αμινοξέων.

3) Τροποποίηση της δραστικότητας πολλών ενζύμων.

Στα κύτταρα είναι:

1) Ενίσχυση του μηχανισμού σύνθεσης γλυκογόνου και αποθήκευσής του.

2) Ενίσχυση των μηχανισμών σύνθεσης λιπαρών οξέων και τριγλυκεριδίων στα λιπαρά κύτταρα. Η σημαντική επίδραση της ινσουλίνης στο μεταβολισμό των λιπιδίων είναι ότι αυξάνει την αποθήκευση λίπους και παρεμποδίζει τόσο την κινητοποίησή του όσο και την οξείδωση των λιπαρών οξέων. (Mc Donald, 1980; Bizelis J.A,1990)

3) Περιορίζει τη διάσπαση των πρωτεϊνών.

4) Περιορίζει το σχηματισμό γλυκόζης από μη υδατανθρακικά μόρια.

5) Περιορίζει τις βλάβες που υφίστανται οργανίδια των κυττάρων.

6) Βελτιώνει την πρόσληψη αμινοξέων.

7) Βοηθά στην πρόσληψη καλίου από τα κύτταρα και έτσι μειώνει τη συγκέντρωσή του στο αίμα.

8) Χαλαρώνει το μυικό τόνο, αυξάνει τη ροή αίματος ιδιαίτερα μέσω των μικροαρτηριών.

9) Βοηθά στην έκκριση υδροχλωρικού οξέος από τα επιθηλιακά καλυπτήρια κύτταρα του στομάχου.

(Colorado State University).

Υποδοχείς ινσουλίνης εκφράζονται από νευρώνες του υποθαλάμου, οι οποίοι διαδραματίζουν κάποιο ρόλο στη ρύθμιση της ενεργειακής ομοιοστασίας και της πρόσληψης τροφής. Αυτός ο ρόλος της ινσουλίνης ως παράγοντας κορεσμού είναι σύμφωνος με παρατηρήσεις κατά τις οποίες ενδοεγκεφαλική χορήγηση ινσουλίνης αναστέλλει τη πρόσληψη τροφής σε φυσιολογικούς επίμυες και αναστρέφει το σύνδρομο υπερφαγίας των ζώων με ανεπάρκεια ινσουλίνης.(Kronenberg, 2008).

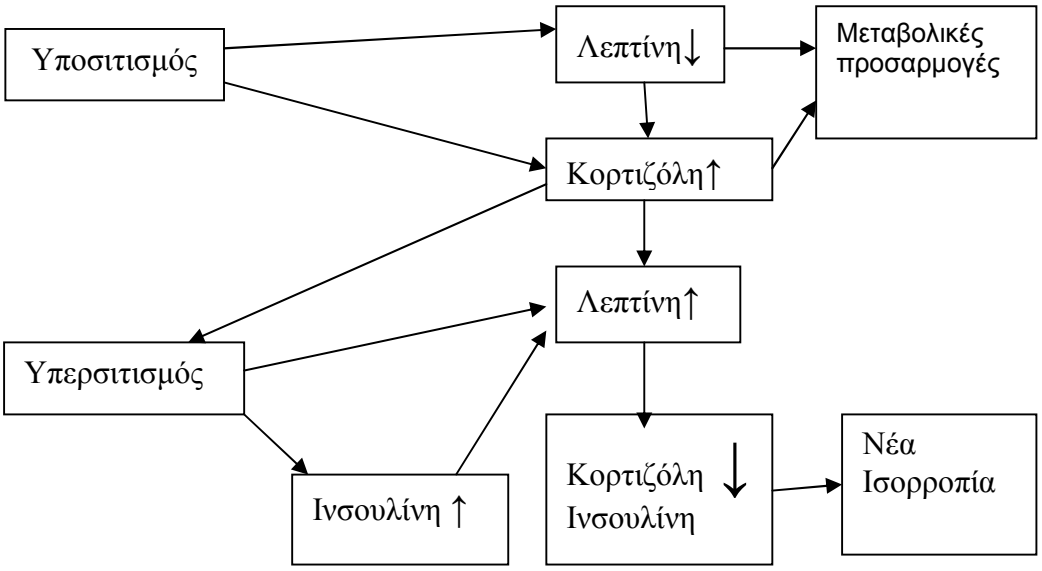
Θεωρείται ότι η ινσουλίνη μεταφέρει στον εγκέφαλο την πληροφορία για τη διατροφική κατάσταση του ζώου και ότι ρυθμίζει τη πρόσληψη τροφής και την αναπαραγωγική δραστηριότητα. Η έκκριση της ινσουλίνης επηρεάζεται από τη διαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών όπως η γλυκόζη, τα αμινοξέα και τα πτητικά λιπαρά οξέα (Kacsoh, 2000).

Τα επίπεδα της ινσουλίνης στο πλάσμα του αίματος επηρεάζονται από το επίπεδο διατροφής. Σε πείραμα που πραγματοποίησαν οι Caldeira et al, (2007), σε προβατίνες, μελέτησαν την επίδραση του υποσιτισμού και υπερσιτισμού στο ορμονικό προφίλ τους. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο υπερσιτισμός επηρεάζει τη συγκέντρωση της ινσουλίνης, προκαλώντας την αύξησή της. Σε παρόμοια συμπεράσματα κατέληξαν και οι Block et al, (2003), που πραγματοποίησαν πείραμα σε αγελάδες και παρατήρησαν ότι ο υποσιτισμός προκαλεί μείωση στη συγκέντρωση ινσουλίνης στο πλάσμα αίματος. Συμπερασματικά, ζώα που υπερσιτίζονται παρουσιάζουν αύξηση της συγκέντρωσης της ινσουλίνης στο πλάσμα του αίματος, σε αντίθεση με ζώα που υποσιτίζονται, που παρουσιάζουν μείωση.

Α.5.3 Λεπτίνη- Ινσουλίνη

Οι δύο αυτές ορμόνες δεν δρουν ανεξάρτητα, αλλά η μία επηρεάζει την άλλη.

Σε συνθήκες υποσιτισμού και υπερσιτισμού που πραγματοποιήθηκε και το παρών πείραμα, οι αλληλεπιδράσεις τους φαίνονται στο σχήμα 3.



Σχήμα 3. Σχέσεις μεταξύ λεπτίνης πλάσματος , κορτιζόλης και ινσουλίνης κατά τη διάρκεια υποσιτισμού και υπερσιτισμού σε μηρυκαστικά. (Chilliard et al., 2001)

Πιο συγκεκριμένα, ο υποσιτισμός μειώνει τη λεπτίνη, η οποία με τη σειρά της συνεισφέρει στην αύξηση της κορτιζόλης. Αυτή η αύξηση της κορτιζόλης οδηγεί σε μεταβολικές προσαρμογές για τον υποσιτισμό. (κίνηση πρωτεϊνών, γλουκονεογένεση κ.τ.λ) και διεγείρει τη συμπεριφορά του ζώου για υπερσιτισμό. Ο υπερσιτισμός έπειτα διεγείρει την έκκριση ινσουλίνης, η οποία στη παρουσία υψηλής παρουσίας κορτιζολεμίας διεγείρει την έκκριση λεπτίνης. Η υψηλή λεπτινεμία έπειτα φέρνει σε φυσιολογικά επίπεδα την κορτιζολεμία και την ινσουλινεμία εγκαθιστώντας μια νέα ισορροπία στην ομοιοστασία. Οπότε, η αλληλεπιδράσεις μεταξύ κορτιζόλης-ινσουλίνης-λεπτίνης μπορεί να παίζουν ένα σπουδαίο ρόλο στην προσαρμογή των μηρυκαστικών σε καταστάσεις υποσιτισμού ή υπερσιτισμού.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Β: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ

Β.1.Σκοπός πειράματος

Μετά από εμπεριστατωμένη βιβλιογραφική ανασκόπηση, παρατηρήθηκε η ύπαρξη ελάχιστων στοιχείων όσον αφορά την επίδραση του επιπέδου διατροφής στο προφίλ των λιπαρών οξέων του γάλακτος αιγών.

Με αφορμή αυτή την έλλειψη στοιχείων πραγματοποιήθηκε πείραμα κατά τη διάρκεια των μηνών, Μαρτίου-Απριλίου-Μαΐου, στις εγκαταστάσεις του Εργαστηρίου Φυσιολογίας Θρέψης και Διατροφής του τμήματος Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής και Υδατοκαλλιεργειών του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Σκοπός ήταν η μελέτη της επίδρασης του υποσιτισμού και υπερσιτισμού στο προφίλ των λιπαρών οξέων του γάλακτος αλλά και στο ορμονικό προφίλ, γαλακτοπαραγωγών αιγών.

Β.2.Υλικά και μέθοδοι

Β.2.1.Περιβάλλον που πραγματοποιήθηκε το πείραμα

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε στις πειραματικές εγκαταστάσεις του Εργαστηρίου Φυσιολογίας Θρέψης και Διατροφής του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών σύμφωνα με την ισχύοντα νομοθεσία για την ευζωία των πειραματόζωων.

Τα ζώα χωρίστηκαν σε τρεις ομάδες και διέμεναν σε κελιά. Κάθε κελί είχε περίπου 5 μέτρα μήκος και πλάτος και φιλοξενούσε 8 αίγες. Τα ζώα είχαν στη διάθεση τους καθημερινά φρέσκο νερό αλλά και ομαδική διατροφή κατά μερίδες. Η ομάδα Α διατρέφονταν στο 70% των αναγκών της, ενώ η Β και η Γ στο 100% και 130% αντίστοιχα. Επιπλέον το κάθε κελί είχε σκέπαστρο 2 μέτρων ώστε τα ζώα να έχουν στη διάθεση τους σκιά και ήλιο όποτε θελήσουν αλλά και προστασία από βροχή.

Το κυρίως πείραμα διενεργήθηκε τους ανοιξιάτικους μήνες και συγκεκριμένα από της 26 Μαρτίου έως και της 17 Μαΐου του 2009. Υπήρξε όμως και προπειραματική περίοδος από της 5 Μαρτίου έως και της 25 Μαρτίου ώστε οι ομάδες των ζώων να προσαρμοστούν στα σιτηρέσια (τα ζώα χωρίστηκαν αρχικά σε τρεις ισοδύναμες ομάδες, λαμβάνοντας υπόψη το σωματικό τους βάρος, τη παραγωγή αλλά και το λίπος του γάλακτος).

Β.2.2.Ζωικό υλικό

Το ζωικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε στο πείραμα ήταν 24 αίγες εγχώριας φυλής, ηλικίας 3 έως 4 ετών, οι οποίες είχαν τοκετούς τον Ιανουάριο μήνα και συνεπώς κατά τη διάρκεια του πειράματος είχαν γαλακτοπαραγωγή. Το μέσο βάρος των αιγών της Α ομάδας ήταν στην αρχή του πειράματος (ζύγιση όλων των αιγών στης 27 Μαρτίου) 49,1kg, της Β ομάδας 52,6kg και της Γ ομάδας 53,6kg.

Β.2.3.Σιτηρέσια

Από την προπειραματική περίοδο έως και το τέλος του πειράματος πραγματοποιήθηκαν ανά περιόδους αλλαγές στο σιτηρέσιο των ζώων για να προσαρμόζεται η διατροφή με τις εκάστοτε ανάγκες συντήρησης και γαλακτοπαραγωγής των ζώων(Ζέρβας κ.α.,2004), λαμβάνοντας υπόψη το μέσο σωματικό βάρος, την παραγόμενη ποσότητα και λιποπεριεκτικότητα του γάλακτος, σε σχέση με τη διατροφή που ακολουθούσε η κάθε ομάδα.

Οι τροφές που χρησιμοποιήθηκαν στο σιτηρέσιο ήταν μηδική και μίγμα συντήρησης. Τόσο η μηδική όσο και το μίγμα συντήρησης ελέχθησαν για την ποσότητα τέφρας, ινωδών ουσιών, λίπους και αζωτούχων ουσιών πριν την κατάρτιση των σιτηρεσίων στο Εργαστήριο Φυσιολογίας Θρέψης και Διατροφής του τμήματος Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής και Υδατοκαλλιεργειών του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών με τη μέθοδο Weende.

Το μίγμα συντήρησης περιείχε τα εξής συστατικά τροφής(+/- 15%): Καλαμπόκι(52%), πίτυρα σίτου(20%), κριθάρι(13,5%), βαμβακόπιτα(10%), μαρμαρόσκονη (2%), φωσφορικό διασβέστιο (1,50%), αλάτι(0,50%), πρόμιγμα βιταμινών και ιχνοστοιχείων(0,50%).

Τα σιτηρέσια χορηγούνταν στα ζώα 2 φορές την ημέρα σε δύο ίσα γεύματα (στις 08:00 και 16:00) με το σύστημα ομαδικής διατροφής κατά μερίδες και ενώ η ομάδα Α (υποσιτισμός) δεν άφηνε υπολείμματα τροφής μετά από κάθε χορήγηση σιτηρεσίου, οι ομάδες Β και Γ μερικές φορές, άφηναν μια αμελητέα ποσότητα, με τη Γ (υπερσιτισμός) ομάδα να αφήνει πάντα το περισσότερο.

Στον πίνακα Β.2.3 συνοψίζονται οι αλλαγές που έγιναν ανά περίοδο στο σιτηρέσιο κατά τη διάρκεια του κυρίως πειράματος. Οι αλλαγές στα σιτηρέσια γινόντουσαν κάθε απόγευμα.

Πίνακας Β.2.3.Σιτηρέσια που χορηγήθηκαν ανά ομάδα και ανά περίοδο.

Ομάδες αιγών	***Είδος τροφής***	***Καταναλισκόμενη ποσότητα(kg) τροφής ανά περίοδο.***				
		26/3/09-29/3/09	**29/3/09-10/4/09**	**10/4/09-16/4/09**	**16/4/09-8/5/09**	**8/5/09-18/5/09**
Α ομάδα 70%	Μηδική	3	2,5	2,1	2	2
	Μίγμα συντήρησης	3	2,5	2,1	2	2
Β ομάδα 100%	Μηδική	4,25	3,35	3,1	3	2.9
	Μίγμα συντήρησης	4,25	3,35	3,1	3	2,9
Γ ομάδα 130%	Μηδική	5,5	4,5	4,2	4	3,9
	Μίγμα συντήρησης	5,5	4,5	4,2	4	3,9

Β.2.4.Μέσα που χρησιμοποιήθηκαν για τη διεξαγωγή του πειράματος

Β.2.4.1. Αναλύσεις γάλακτος

Όλα τα ζώα αμέλγονταν δύο φορές την ημέρα με το χέρι.(στις 09:00 και 17:00). Το γάλα από κάθε ομάδα μαζευόταν καθημερινώς και ζυγιζόταν σε ζυγό ακριβείας 0,1g.

Ανά 10 περίπου ημέρες όμως, ατομικά δείγματα γάλακτος λαμβάνονταν από τα ζώα, ακολουθώντας τους κανόνες δειγματοληψίας (ανάμειξη της πρωινής και της απογευματινής ποσότητας αμελχθέντος γάλακτος και λήψη δείγματος σε ποσοστό 5%

της εκάστοτε αμελχθείσας ποσότητας).Κάθε ατομικό δείγμα γάλακτος αναλυόταν από το μηχάνημα Milcoscan 133 για να βρεθεί η χημική σύσταση του γάλακτος (λίπος, πρωτεΐνη, λακτόζη, ολικά στερεά άνευ λίπους και ολικά στερεά).

Κατά τη διάρκεια του πειράματος πραγματοποιήθηκαν και δύο ατομικές δειγματοληψίες γάλακτος από τα ζώα (22-4-09 και 12-5-09), ώστε να γίνει προσδιορισμός των λιπαρών οξέων του γάλακτος. Παρακάτω θα αναλύσουμε τη μέθοδο προσδιορισμού των λιπαρών οξέων στο γάλα.

α)Παραλαβή λίπους γάλακτος

Για τη παραλαβή του λίπους του γάλακτος εφαρμόστηκε η μέθοδος των Jiang et al.(1996). Σύμφωνα με την αρχή της μεθόδου, σε δοκιμαστικό σωλήνα τύπου Falcon τοποθετούνται 8,5 ml γάλακτος, 15 ml ισοπροπανόλης και 11,25 ml εξανίου τα οποία αναδεύονται σε αναδευτήρα (vortex) για 3 min. Κατόπιν τοποθετούνται για φυγοκέντρηση στις 4000 rpm(2520g) για 5min στους 5°C. Μετά τη φυγοκέντρηση παρατηρείται διαχωρισμός δύο φάσεων. Στη συνέχεια παραλαμβάνονται 10 ml από το υπερκείμενο και τοποθετούνται σε νέο δοκιμαστικό σωλήνα. Στο υποκείμενο προστίθενται 11,25 ml εξανίου και μετά από ανάδευση (vortex) φυγοκεντρείται εκ νέου στις ίδιες συνθήκες. Συλλέγονται εκ νέου 10 ml από το υπερκείμενο και ακολουθεί και νέα έκπλυση με 11,25 ml εξανίου. Έπειτα, στις συλλεχθείσες υπερκείμενες φάσεις προστίθενται 7,5 ml διαλύματος θειικού νατρίου (Na_2SO_4) 0,47M και επέρχεται διαχωρισμός φάσεων. Συλλέγονται 20 ml από το υπερκείμενο και τοποθετούνται σε ποτήρι ζέσεως. Το ποτήρι ζέσεως μεταφέρεται σε κλίβανο στους 30°C για την παραλαβή του λίπους μετά την εξάτμιση του εξανίου (περίπου 20 ώρες).

β)Μεθυλεστεροποίηση του λίπους του γάλακτος

Για τη μεθυλεστεροποίηση του λίπους εφαρμόστηκε η μέθοδος των Kelly et al.(1998). Σύμφωνα με την αρχή της μεθόδου, σε δοκιμαστικό σωλήνα τοποθετούνται 40 mg λίπους, 2 ml εξανίου και 40μl οξικού μεθυλίου. Ακολουθεί καλή ανάδευση (vortex). Στη συνέχεια προστίθενται 40μl αντιδραστηρίου που παρασκευάζεται με την εξής αναλογία: 1,75ml μεθανόλης και 0,4 ml μεθυλικού νατρίου (sodium methylate) 5,4 M. Αφού αναμειχθούν αφήνονται για επώαση για 10 min. Στη συνέχεια προστίθενται 60 μl διαλύματος που παρασκευάζεται διαλύοντας 1g οξαλικού οξέος σε 30ml διαιθυλαιθέρα. Κατόπιν γίνεται φυγοκέντρηση για 5 min στις 5000 στροφές. Παραλαμβάνονται 90μl από την υγρή φάση και μαζί με 10μl εσωτερικού πρότυπου διαλύματος (standard) σφραγίζονται κατάλληλα για ανάλυση στον αέριο χρωματογράφο (GC), μοντέλο Autosystem XL, με λογισμικό Turbochrom.

Β.2.4.2. Σωματικό βάρος αιγών

Ανά 10 περίπου μέρες γινόταν μέτρηση του σωματικού βάρους των αιγών. Η μέτρηση γινόταν με ζυγό ακριβείας 0,1 kg και πάντα πρωινές ώρες προτού γίνει τάισμα ή άμελξη των ζώων.

Β.2.4.3.Αναλύσεις αίματος

α)Για λιπαρά οξέα

Στις 22 Απριλίου και 13 Μαΐου πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες αίματος από τη σφαγίτιδα φλέβα έκαστου ζώου. Το αίμα συλλεγόταν σε σωληνάρια που περιείχαν ηπαρίνη (αντιπηκτικό) και στη συνέχεια τοποθετούνταν για φυγοκέντριση (15΄λεπτά, 3500 στροφές/λεπτό, θερμοκρασία 4°C) προκειμένου να διαχωριστεί το πλάσμα από τα ερυθροκύτταρα. Έπειτα με πιπέτα λαμβάνονταν το πλάσμα του αίματος το οποίο

τοποθετούνταν σε μικρά σωληνάρια (eppendorfs) και αποθηκευόταν στη συνέχεια στους -80°C για μελλοντικό προσδιορισμό των λιπαρών οξέων.

Για τον προσδιορισμό των λιπαρών οξέων του πλάσματος του αίματος εφαρμόστηκε η μέθοδος των Bondia-Pons et al.(2004). Σύμφωνα με την αρχή της μεθόδου, σε πυρίμαχο δοκιμαστικό σωλήνα τοποθετούνται 1 ml πλάσματος αίματος, 10μl εσωτερικού πρότυπου διαλύματος (standard) και 2ml μεθυλικού νατρίου(0,5%w/v) τα οποία θερμαίνονται στους 100°C για 15 λεπτά. Στη συνέχεια, αφού κρυώσουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, προστίθενται 20 ml τριφθορικού βαρίου και θερμαίνονται εκ νέου στους 100°C για 15 λεπτά. Έπειτα, αφού κρυώσουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, προστίθεται 1 ml εξανίου και ακολουθεί ανάμειξη για 15 λεπτά. Μετά, προστίθενται 2 ml κορεσμένου διαλύματος χλωριούχου νατρίου και ακολουθεί φυγοκέντριση για 8 λεπτά στις 5000 στροφές. Τέλος, αφού τελειώσει η φυγοκέντριση ακολουθεί προσθήκη άνυδρου θειικού νατρίου και η επάνω στρώση χρησιμοποιείται για ανάλυση σε αέριο χρωματογράφο.

β)Για ορμόνες

Πραγματοποιήθηκαν έξι δειγματοληψίες (9/4, 15/4, 22/4, 29/4, 6/5, 13/5) αίματος από τη σφαγίτιδα φλέβα έκαστου ζώου για τον προσδιορισμό των ορμονών. Το αίμα συλλεγόταν σε σωληνάρια που περιείχαν EDTA (αντιπηκτικό) και στη συνέχεια τοποθετούνταν για φυγοκέντριση (15΄λεπτά, 3500 στροφές/λεπτό, θερμοκρασία 4°C) προκειμένου να διαχωριστεί το πλάσμα από τα ερυθροκύτταρα. Έπειτα με πιπέτα λαμβάνονταν το πλάσμα του αίματος το οποίο τοποθετούνταν σε μικρά σωληνάρια (eppendorfs) και αποθηκευόταν στη συνέχεια στους -80°C για μελλοντικό προσδιορισμό των ορμονών.

Για τη μέτρηση της λεπτίνης χρησιμοποιήθηκε το Multi-Species Leptin Ria KIT της Linco Research με ευαισθησία 1,0 ng/ml και διακύμανση προσδιορισμών εντός της μεθόδου (Intra Assay Variance) 3,1 % CV και διακύμανση μεταξύ των προσδιορισμών (Inter Assay Variance) 7,8 % CV.

Για τη μέτρηση της ινσουλίνης χρησιμοποιήθηκε το Rat Insulin RIA KIT της Linco Research το οποίο έχει ειδίκευση αντισώματος (specificity) για την ινσουλίνη του προβάτου 100%.Η ευαισθησία της μεθόδου είναι 0,1 ng/ml.Η διακύμανση προσδιορισμών εντός της μεθόδου (Intra Assay Variance) είναι 4,3% CV και η διακύμανση μεταξύ των προσδιορισμών (Inter Assay Variance) 8,5% CV.

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των ορμονών είναι η ραδιοανοσοδοκιμασία. Στην ραδιοανοσοδοκιμασία, μια σταθερή συγκέντρωση σημασμένου ανιχνευτή αντιγόνου, επωάζεται με μια σταθερά αραιωμένη του αντιορού έτσι ώστε η συγκέντρωση του αντιγόνου στη θέση δεσμεύσεως στο αντίσωμα να είναι περιορισμένη. Για παράδειγμα, μόνο το 50% της συγκέντρωσης του ολικού ανιχνευτή, μπορεί να δεσμευτεί από το αντίσωμα. Αν μη-σημασμένο αντιγόνο προστεθεί στο σύστημα, θα υπάρξει ανταγωνισμός μεταξύ σημασμένου ανιχνευτή και μη-σημασμένου αντιγόνου για τον περιορισμένο και σταθερό αριθμό των θέσεων προσδέσεως στο αντίσωμα. Έτσι, η ποσότητα του δεσμευμένου ανιχνευτή στο αντίσωμα θα μειώνεται όσο η συγκέντρωση του μη σημασμένου αντιγόνου θα αυξάνεται.

Η μέτρηση μπορεί να γίνει, μετά το διαχωρισμό δεσμευμένου αντισώματος από τους ελεύθερους ανιχνευτές και μετρώντας τον έναν ή τον άλλο ή και τα δύο κλάσματα. Μια πρότυπος καμπύλη δημιουργείται με την αύξηση των συγκεντρώσεων του πρότυπου μη-σημασμένου αντιγόνου και από αυτή τη καμπύλη, το ποσό του αντιγόνου σε άγνωστα δείγματα μπορεί να υπολογιστεί. Συμπερασματικά, τα τέσσερα βασικά πράγματα που χρειάζονται για την ραδιοανοσοδοκιμασία, είναι: να μετρηθεί ένας συγκεκριμένος αντιορός στο αντιγόνο, η διαθεσιμότητα μιας ραδιενεργού

σημασμένης μορφής αντιγόνου, μια μέθοδος μέσο της οποίας μπορεί να διαχωριστεί δεσμευμένος ανιχνευτής αντισώματος από μη δεσμευμένο ανιχνευτή και τελικά ένα όργανο να μετρήσει τη ραδιενέργεια. Στο παρών πείραμα χρησιμοποιήθηκε σταθερή ποσότητα λεπτίνης και σταθερή ποσότητα ινσουλίνης σημασμένων με ^{125}I που ανταγωνίζονται με τη λεπτίνη και την ινσουλίνη αντίστοιχα, των προς μέτρηση δειγμάτων για σταθερή ποσότητα θέσεων αντισωμάτων.

Β.2.4.4.Ομαδοποιήσεις των λιπαρών οξέων του λίπους του γάλακτος, αθηρωματικός δείκτης και έμμεσος προσδιορισμός της Δ^{-9} αφυδρογονάσης.

Οι ομαδοποιήσεις των λιπαρών οξέων του γάλακτος έγιναν ως εξής:

-Μικρής αλύσου λιπαρά οξέα (ΜΙΑ) ή (SCFA) = $C_{6:0}+C_{8:0}+C_{10:0}+C_{11:0}$

-Μεσαίας αλύσου λιπαρά οξέα (ΜΕΑ) ή (MCFA)=$C_{12:0}+C_{13:0}+C_{14:0}+C_{15:0}$

-Μακράς αλύσου λιπαρά οξέα (ΜΑ) ή (LCFA)=$C_{16:0}+C_{18:0}+C_{20:0}+C_{22:0}+C_{23:0}+C_{24:0}$

-Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (ΠΟΛΑ) ή (PUFA) = CLA+ $C_{18:2n6c}$ + $C_{18:2n6t}$+ $C_{18:3n3c}$ +$C_{18:3n6c}$+$C_{20:2}$+$C_{20:3n3c}$+$C_{20:3n6c}$+$C_{20:4}$+$C_{20:5}$+$C_{22:2}$

-Μονοακόρεστα λιπαρά οξέα (ΜΟΝΑ) ή (MUFA) = $C_{14:1}$ +$C_{15:1}$+$C_{16:1}$ +$C_{17:1}$ +$C_{18:1}$+VA +$C_{20:1}$

-Ακόρεστα λιπαρά οξέα (Α) ή (UFA)=ΠΟΛΑ+ΜΟΝΑ

-Κορεσμένα/ Ακόρεστα (Κ/Α) ή (S/U) = (ΜΙΑ+ΜΕΑ+ΜΑ)/(ΠΟΛΑ+ΜΟΝΑ)

-CLA= cis-9,trans-11 $C_{18:2}$

-VA=trans-11 $C_{18:2}$

-Ο αθηρωματικός δείκτης (ΑΔ) ή (AI) υπολογίστηκε ως ($C_{12:0}$+4$C_{14:0}$+$C_{16:0}$)/A, όπως περιγράφεται από τους Ulbricht και Southgate (1991).

-Ο προσδιορισμός της Δ_{-9} αφυδρογονάσης γίνεται έμμεσα, μέσω των λόγων των λιπαρών οξέων: d1= $C_{14:1}/C_{14:0}$, d2=$C_{16:1}/C_{16:0}$, d3=$C_{18:1}/C_{18:0}$ και d4=cis-9, trans-11CLA/VA.

Β.2.4.5. Στατιστική ανάλυση

Όλα τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέσοι όροι (±SEM). Τα αποτελέσματα αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας το γραμμικό μοντέλο (GLM) των επαναλαμβανόμενων μετρήσεων της ανάλυσης διασποράς (ANOVA) με στόχο να μελετηθούν οι επιδράσεις της διατροφής (70%, 100%, 130%) και των ημερών δειγματοληψίας, καθώς και η αλληλεπίδραση της διατροφής με τις ημέρες δειγματοληψίας στα λιπαρά οξέα γάλακτος και αίματος αιγών.

Επιπλέον αναλύθηκαν τα αποτελέσματα από τη λεπτίνη και την ισνουλίνη στο αίμα των αιγών, από τα σωματικά βάρη των αιγών, τη γαλακτοπαραγωγή, καθώς και τη χημική σύσταση του γάλακτος των αιγών. Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πακέτο SPSS έκδοσης 17.0.

Β.3.Αποτελέσματα

Β.3.1 Σωματικό βάρος αιγών

Στον πίνακα Β.3.1 καθώς και στο διάγραμμα Β.3.1. παρουσιάζεται η εξέλιξη του σωματικού βάρους των αιγών. Το μέσο σωματικό βάρος των αιγών κατά τη διάρκεια της εξέλιξης του κυρίως πειράματος, ανά ομάδα διαφορετικής διατροφικής επέμβασης, παραμένει σχεδόν σταθερό, με σταδιακή μείωση στην ομάδα υποσιτισμού και αύξηση στην ομάδα υπερσιτισμού. Εκεί αποδίδεται και η εμφάνιση στατιστικώς σημαντικών διαφορών τις τελευταίες εβδομάδες, ανάμεσα στην ομάδα υποσιτισμού (χαμηλό σωματικό βάρος) και υπερσιτισμού(αυξημένο σωματικό βάρος).

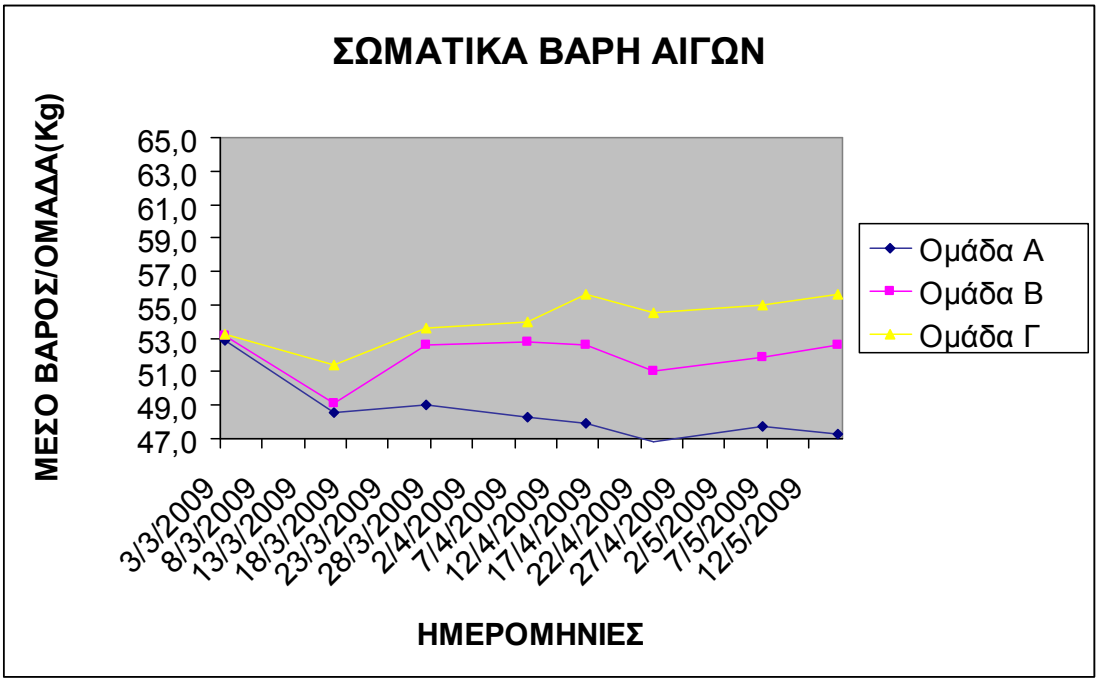
Πίνακας Β.3.1. Μέσο σωματικό βάρος (kg) (±SEM)[1] αιγών στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις σε σχέση με την ημερομηνία δειγματοληψίας.

	Διατροφική επέμβαση		
Ημερομηνία δειγματοληψίας	**Α (70%)**	**Β (100%)**	**Γ (130%)**
3/3/2009	52,87±1,890	53,12±1,890	53,25±1,890
16/3/2009	48,56±2,110	49,12±2,110	51,43±2,110
27/3/2009	49,06±2,422	52,63±2,422	53,63±2,422
8/4/2009	48,31±2,196	52,75±2,196	54,00±2,196
15/4/2009	47,88 [a] ± 2,328	52,63 [ab] ±2,328	55,63 [b] ±2,328
23/4/2009	46,81 [a] ±2,162	51,06 [ab] ±2,162	54,56 [b] ±2,162
6/5/2009	47,69 [a] ±2,263	51,94 [ab] ±2,263	55,00 [b] ±2,263
15/5/2009	47,25 [a] ±2,131	52,63 [ab] ±2,131	55,63 [b] ±2,131

[1]SEM = Τυπικό σφάλμα των μέσων

Μέσοι όροι με διαφορετικούς εκθέτες (a, b) σε κάθε στήλη διαφέρουν σημαντικά (P≤0,05).

Διάγραμμα Β.3.1. Μέσο σωματικό βάρος (kg) αιγών ανά ομάδα και ανά ημερομηνία ζύγισης.



Β.3.2.Ημερήσια παραγόμενη ποσότητα γάλακτος

Στον πίνακα Β.3.2 καθώς και στο διάγραμμα Β.3.2 παρουσιάζεται η εξέλιξη της γαλακτοπαραγωγής των αιγών. Η τάση που παρατηρείται στην εξέλιξη του πειράματος είναι η μείωση της γαλακτοπαραγωγής και στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις. Η μεγαλύτερη μείωση παρατηρήθηκε στις αίγες που υποσιτίζονταν με στατιστικώς όμως σημαντική διαφορά μόνο στης 15/4/2009 ανάμεσα στον υποσιτισμό και στον υπερσιτισμό.

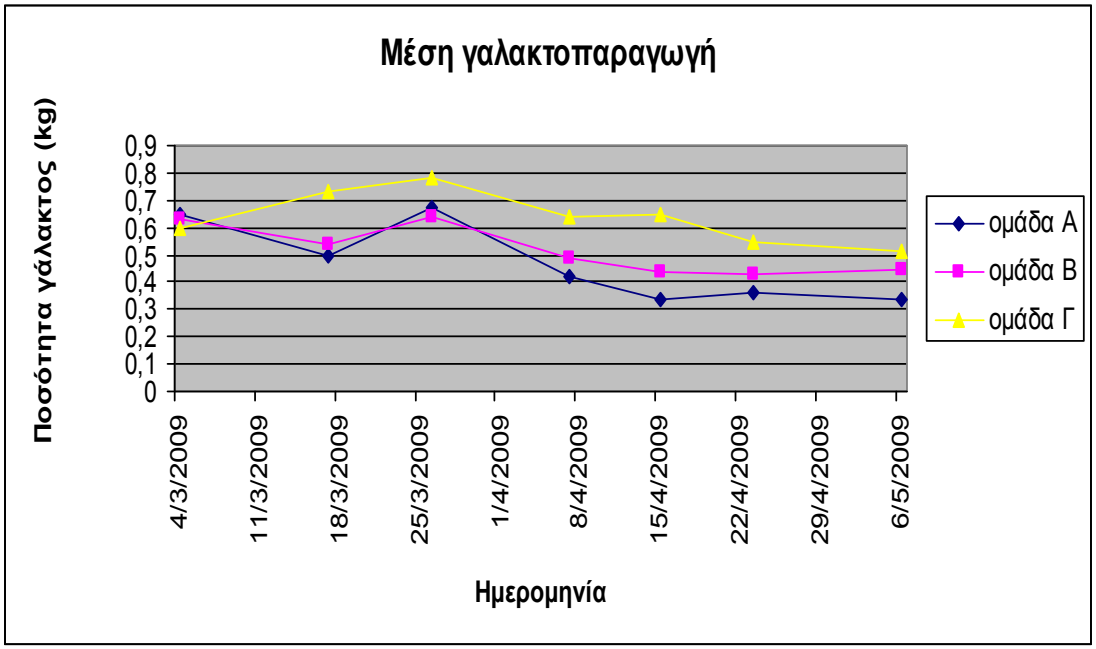
Πίνακας Β.3.2. Μέση παραγόμενη ποσότητα γάλακτος (kg) (±SEM)[1] αιγών στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις σε σχέση με την ημερομηνία δειγματοληψίας.

	Διατροφική επέμβαση		
Ημερομηνία δειγματοληψίας	**Α**	**Β**	**Γ**
3/3/2009	0,65±0,067	0,63±0,067	0,60±0,067
16/3/2009	0,53±0,073	0,54±0,073	0,71±0,073
26/3/2009	0,67±0,090	0,64±0,090	0,78±0,090
7/4/2009	0,42±0,078	0,49±0,078	0,64±0,078
15/4/2009	0,34 [a] ±0,077	0,44 [ab] ±0,077	0,65 [b] ±0,077
23/4/2009	0,36±0,081	0,43±0,081	0,55±0,081
6/5/2009	0,34±0,061	0,45±0,061	0,51±0,061

[1]SEM = Τυπικό σφάλμα των μέσων

Μέσοι όροι με διαφορετικούς εκθέτες (a, b) σε κάθε στήλη διαφέρουν σημαντικά (P≤0,05).

Διάγραμμα Β.3.2. Μέση παραγόμενη ποσότητα γάλακτος (kg) (±SEM)[1] αιγών στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις σε σχέση με την ημερομηνία δειγματοληψίας.



Β.3.3.Χημική σύσταση γάλακτος

Στους πίνακες 4,5,6,7,8 παρουσιάζεται η μέση περιεκτικότητα του γάλακτος σε λίπος, λακτόζη, πρωτεΐνη, ολικά στερεά και ολικά στερεά άνευ λίπους αντίστοιχα.

Β.3.3.α Λίπος

Στον πίνακα Β.3.3.α παρουσιάζεται η εξέλιξη του λίπους του γάλακτος των αιγών. Τόσο στο μάρτυρα (100%) όσο και στον υπερσιτισμό το λίπος του γάλακτος παρέμεινε σχεδόν σταθερό. Στον υποσιτισμό όμως, παρατηρήθηκε μια ελαφρά αύξηση του λίπους του γάλακτος, η οποία προκαλεί κατά την εξέλιξη του κυρίως πειράματος την εμφάνιση στατιστικώς σημαντικών διαφορών, ανάμεσα στον υποσιτισμό (υψηλές τιμές) και τον υπερσιτισμό (χαμηλές τιμές) και ανάμεσα στον υποσιτισμό (υψηλές τιμές) και το μάρτυρα (χαμηλές τιμές).

Πίνακας Β.3.3.α. Μέση περιεκτικότητα του γάλακτος σε λίπος (%)(±SEM)[1] στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις.

	Διατροφική επέμβαση		
Ημερομηνία δειγματοληψίας	**Α**	**Β**	**Γ**
26/3/2009	5,83±0,406	5,09±0,406	4,88±0,406
7/4/2009	6,02 [a] ±0,396	4,95 [ab] ±0,396	4,12 [b] ±0,396
15/4/2009	5,85 [a] ±0,400	4,64 [b] ±0,400	4,01 [b] ±0,400
23/4/2009	6,04 [a] ±0,316	5,47 [ab]±0,316	4,64 [b] ±0,316
6/5/2009	6,11 [a] ±0,307	4,65 [b] ±0,307	4,68 [b] ±0,307

[1]SEM = Τυπικό σφάλμα των μέσων

Μέσοι όροι με διαφορετικούς εκθέτες (a, b) σε κάθε στήλη διαφέρουν σημαντικά (P≤0,05).

Β.3.3.β Λακτόζη

Στον πίνακα Β.3.3.β παρουσιάζεται η εξέλιξη της λακτόζης στο γάλα των αιγών. Η λακτόζη στο γάλα των αιγών παρέμεινε σχεδόν σταθερή κατά τη διάρκεια του κυρίως πειράματος και στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις. Ο υποσιτισμός παρουσίαζε σχεδόν πάντα στατιστικώς σημαντικά χαμηλότερες τιμές λακτόζης σε σχέση με την ομάδα του ελέγχου αλλά και τον υπερσιτισμό.

Πίνακας Β.3.3.β. Μέση περιεκτικότητα του γάλακτος σε λακτόζη (%)(±SEM)[1] στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις.

	Διατροφική επέμβαση		
Ημερομηνία δειγματοληψίας	**70%**	**100%**	**130%**
26/3/2009	4,52 [a] ±0,065	4,75 [b] ±0,065	4,82 [b] ±0,065
7/4/2009	4,24 [a] ±0,082	4,61 [b] ±0,082	4,62 [b] ±0,082
15/4/2009	4,34 [a] ±0,068	4,59 [b] ±0,068	4,70 [b] ±0,068
23/4/2009	4,38 [a] ±0,085	4,79 [b] ±0,085	4,75 [b] ±0,085
6/5/2009	4,27 [a] ±0,083	4,49 [a b] ±0,083	4,60 [b] ±0,083

[1]SEM = Τυπικό σφάλμα των μέσων

Μέσοι όροι με διαφορετικούς εκθέτες (a, b) σε κάθε στήλη διαφέρουν σημαντικά (P≤0,05).

Β.3.3.γ Πρωτεΐνη

Στον πίνακα Β.3.3.γ παρουσιάζεται η εξέλιξη της πρωτεΐνης στο γάλα των αιγών. Η πρωτεΐνη στο γάλα των αιγών παρέμενε σχεδόν σταθερή κατά τη διάρκεια του κυρίως πειράματος και στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις.

Πίνακας Β.3.3.γ. Μέση περιεκτικότητα του γάλακτος σε πρωτεΐνη (%)(±SEM)[1] στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις

	Διατροφική επέμβαση		
Ημερομηνία δειγματοληψίας	**70%**	**100%**	**130%**
26/3/2009	4,75 [ab] ±0,144	4,85 [a] ±0,144	4,33 [b] ±0,144
7/4/2009	4,99±0,211	4,81±0,211	4,41±0,211
15/4/2009	4,42±0,167	4,57±0,167	4,29±0,167
23/4/2009	4,25±0,169	4,31±0,169	4,20±0,169
6/5/2009	4,32±0,209	4,61±0,209	4,42±0,209

[1]SEM = Τυπικό σφάλμα των μέσων

Μέσοι όροι με διαφορετικούς εκθέτες (a, b) σε κάθε στήλη διαφέρουν σημαντικά ($P \leq 0,05$).

Β.3.3.δ Ολικά στερεά

Στον πίνακα Β.3.3.δ παρουσιάζεται η εξέλιξη των ολικών στερεών του γάλακτος των αιγών. Τα ολικά στερεά στο γάλα των αιγών παρέμεναν σχεδόν σταθερά κατά τη διάρκεια του κυρίως πειράματος και στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις. Μια στατιστικώς σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε μόνο την περίοδο από 7/4/2009 έως 23/4/2009 όπου στον υποσιτισμό παρατηρήθηκαν υψηλότερες τιμές σε σχέση με τον υπερσιτισμό.

Πίνακας Β.3.3.δ. Μέση περιεκτικότητα του γάλακτος σε ολικά στερεά (%)(±SEM)[1] στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις

	Διατροφική επέμβαση		
Ημερομηνία δειγματοληψίας	**70%**	**100%**	**130%**
26/3/2009	15,90±0,474	15,49±0,474	14,83±0,474
7/4/2009	16,04 [a] ±0,451	15,16 [ab] ±0,451	13,96 [b] ±0,451
15/4/2009	15,39 [a] ±0,431	14,60 [ab] ±0,431	13,80 [b] ±0,431
23/4/2009	15,47 [a] ±0,355	15,36 [ab] ±0,355	14,40 [b] ±0,355
6/5/2009	15,49±0,344	14,56±0,344	14,50±0,344

[1]SEM = Τυπικό σφάλμα των μέσων

Μέσοι όροι με διαφορετικούς εκθέτες (a, b) σε κάθε στήλη διαφέρουν σημαντικά ($P \leq 0,05$).

Β.3.3.ε. Ολικά στερεά άνευ λίπους

Στον πίνακα Β.3.3.ε παρουσιάζεται η εξέλιξη των ολικών στερεών άνευ λίπους του γάλακτος των αιγών. Τα ολικά στερεά άνευ λίπους στο γάλα των αιγών παραμένουν σχεδόν σταθερά κατά τη διάρκεια του κυρίως πειράματος και στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις.

Πίνακας Β.3.3.ε. Μέση περιεκτικότητα του γάλακτος σε ολικά στερεά άνευ λίπους(%)(±SEM)[1] στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις

	Διατροφική επέμβαση		
Ημερομηνία δειγματοληψίας	**70%**	**100%**	**130%**
26/3/2009	10,07 [ab] ±0,132	10,4 [a] ±0,132	9,95 [b] ±0,132
7/4/2009	10,02±0,324	10,26±0,324	9,83±0,324
15/4/2009	9,54±0,148	9,96±0,148	9,78±0,148
23/4/2009	9,43±0,166	9,89±0,166	9,75±0,166
6/5/2009	9,38 [a] ±0,170	9,90 [b] ±0,170	9,82 [ab] ±0,170

[1]SEM = Τυπικό σφάλμα των μέσων
Μέσοι όροι με διαφορετικούς εκθέτες (a, b) σε κάθε στήλη διαφέρουν σημαντικά ($P \leq 0,05$).

Β.3.4.Λιπαρά οξέα του λίπους του γάλακτος των αιγών

Α)Τα *επιμέρους* λιπαρά οξέα του λίπους του γάλακτος των αιγών στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις (70%, 100%, 130%) παρουσιάζονται στον πίνακα Β.3.4.1.

Υποσιτισμός σε σχέση με το Μάρτυρα.

Τα αποτελέσματα του πίνακα Β.3.4.1 δείχνουν ότι οι αίγες που υποσιτίζονταν παρουσίασαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις στα Λ.Ο: $C_{12:0}$,$C_{13:0}$,$C_{14:0}$,$C_{14:1}$, $C_{16:0}$, $C_{16:1}$,$C_{17:1}$, EPA, $C_{24:0}$ σε σχέση με τις αίγες που διατρέφονταν στο 100% των αναγκών τους, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για τα: $C_{16:0}$, $C_{24:0}$.

Επιπλέον, τα αποτελέσματα του πίνακα Β.3.4.1 δείχνουν ότι οι αίγες που υποσιτίζονταν παρουσίασαν υψηλότερες συγκεντρώσεις στα Λ.Ο: $C_{4:0}$,$C_{6:0}$,$C_{8:0}$,$C_{10:0}$,$C_{11:0}$, $C_{15:0}$,$C_{15:1}$, $C_{18:0}$, $C_{18:1}$,VA, LA, LNA, CLA $C_{20:0}$, $C_{20:3}$, σε σχέση με τις αίγες που διατρέφονταν στο 100% των αναγκών τους, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για τα: $C_{18:0}$, $C_{20:0}$,$C_{20:3}$.

Υπερσιτισμός σε σχέση με το Μάρτυρα.

Τα αποτελέσματα του πίνακα Β.3.4.1 δείχνουν ότι οι αίγες που υπερσιτίζονταν παρουσίασαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις στα Λ.Ο: $C_{4:0}$,$C_{6:0}$, $C_{15:1}$, $C_{16:0}$.,$C_{16:1}$,$C_{17:1}$, $C_{18:1}$, α LNA, $C_{24:0}$ σε σχέση με τις αίγες που διατρέφονταν στο 100% των αναγκών τους, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για το $C_{16:0}$.

Αντίθετα, οι αίγες που υπερσιτίζονταν παρουσίασαν υψηλότερες συγκεντρώσεις στα Λ.Ο: $C_{8:0}$,$C_{10:0}$,$C_{11:0}$, $C_{12:0}$,$C_{13:0}$,$C_{14:0}$,$C_{14:1}$, $C_{15:0}$,$C_{18:0}$,VA,LA, ,LNA,CLA, $C_{20:0}$,$C_{20:3}$, EPA σε σχέση με τις αίγες που διατρέφονταν στο 100% των αναγκών τους, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για τα: $C_{12:0}$,VA,CLA.

Υποσιτισμός σε σχέση με Υπερσιτισμό.

Τα αποτελέσματα του πίνακα Β.3.4.1 δείχνουν ότι οι αίγες που υποσιτίζονταν παρουσίασαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις στα Λ.Ο: $C_{10:0}$,$C_{12:0}$,$C_{13:0}$,$C_{14:0}$,$C_{14:1}$, VA,LA,CLA,EPA, $C_{24:0}$ σε σχέση με τις αίγες που υπερσιτίζονταν, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για τα: $C_{12:0}$,$C_{13:0}$,$C_{14:0}$,$C_{14:1}$, VA.

Επιπρόσθετα, οι αίγες που υποσιτίζονταν παρουσίασαν υψηλότερες συγκεντρώσεις στα Λ.Ο: $C_{4:0}$,$C_{6:0}$,$C_{8:0}$, $C_{11:0}$, $C_{15:0}$,$C_{15:1}$, $C_{16:0}$, $C_{18:0}$,$C_{18:1}$, α LNA, LNA, $C_{20:0}$,$C_{20:3}$ σε σχέση με τις αίγες που υπερσιτίζονταν, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για τα: $C_{4:0}$, $C_{20:3}$.

Πίνακας Β.3.4.1. Μέση συγκέντρωση (±SEM)[1] λιπαρών οξέων (% των ολικών λιπαρών οξέων) στο λίπος του γάλακτος αιγών στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις και στις δύο διαφορετικές ημέρες δειγματοληψίας.

ΑΙΓΕΣ	ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΕΠΕΜΒΑΣΗ(Δ)				ΗΜΕΡΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ(Η)			ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ		
Λ.Ο	70%	100%	130%	SEM	28η ημέρα	49η ημέρα	SEM	Δ	Η	Δ(Χ)Η
$C_{4:0}$	3,33^{a}	3,12^{ab}	2,91^{b}	0,158	3,13	3,11	0,189	*	NS	NS
$C_{6:0}$	2,93	2,79	2,73	0,118	2,80	2,84	0,096	NS	NS	NS
$C_{8:0}$	3,31	3,11	3,26	0,152	3,18	3,27	0,124	NS	NS	NS
$C_{10:0}$	10,57	10,53	11,18	0,638	10,4	11,12	0,521	NS	NS	NS
$C_{11:0}$	0,86	0,11	0,13	0,022	0,10	0,11	0,018	NS	NS	NS
$C_{12:0}$	4,42^{a}	4,76^{a}	5,69^{b}	0,404	4,77	5,15	0,330	**	NS	NS
$C_{13:0}$	0,04^{a}	0,06^{ab}	0,10^{b}	0,022	0,07	0,06	0,018	*	NS	NS
$C_{14:0}$	8,37^{a}	9,25^{ab}	10,29^{b}	0,557	8,80^{a}	9,81^{b}	0,455	**	*	NS
$C_{14:1}$	0,12^{a}	0,17^{ab}	0,18^{b}	0,029	0,12^{a}	0,20^{b}	0,023	NS	**	NS
$C_{15:0}$	1,04	0,91	1,01	0,083	0,95	1,02	0,068	NS	NS	NS
$C_{15:1}$	0,05	0,02	0,01	0,022	0,03	0,02	0,018	NS	NS	NS
$C_{16:0}$	25,65^{a}	27,92^{b}	25,31^{a}	1,056	25,25^{a}	27,34^{b}	0,862	*	*	NS
$C_{16:1}$	0,80	0,84	0,80	0,048	0,76^{a}	0,87^{b}	0,040	NS	*	NS
$C_{17:1}$	0,25	0,27	0,25	0,035	0,24	0,27	0,028	NS	NS	NS
$C_{18:0}$	9,07^{a}	7,45^{bc}	8,37^{ac}	0,684	8,65	7,94	0,558	NS	NS	NS
$C_{18:1}$	20,45	18,10	17,70	1,533	19,14	18,36	1,268	NS	NS	NS
VA	1,35^{a}	1,19^{a}	1,65^{b}	0,112	1,46	1,33	0,091	***	NS	NS
LA	2,95	2,63	2,97	0,201	2,94	2,76	0,164	NS	NS	NS
αLNA	0,04	0,04	0,03	0,023	0,04	0,03	0,019	NS	NS	NS
LNA	0,33	0,29	0,32	0,039	0,32	0,31	0,032	NS	NS	NS
CLA	0,52^{ab}	0,45^{a}	0,63^{b}	0,052	0,56	0,50	0,043	**	NS	NS
$C_{20:0}$	0,26^{a}	0,18^{bc}	0,23^{ac}	0,029	0,22	0,23	0,023	*	NS	NS
$C_{20:3}$	0,30^{a}	0,18^{b}	0,22^{b}	0,037	0,22	0,24	0,030	*	NS	NS
EPA	0,01	3,30E-19	4,34E-19	0,007	0,01	3,28E-19	0,006	NS	NS	NS
$C_{24:0}$	3,76^{a}	5,64^{b}	4,04^{ab}	0,852	5,84^{a}	3,13^{b}	0,696	NS	***	NS

[1]SEM = Τυπικό σφάλμα των μέσων

Μέσοι όροι με διαφορετικούς εκθέτες (a, b) σε κάθε στήλη διαφέρουν σημαντικά ($P \leq 0,05$).

Β) Οι συγκεντρώσεις των *ομαδοποιημένων* Λ.Ο (ΜΙΑ, ΜΕΑ, ΜΑ, Κ, ΠΟΛΑ, ΜΟΝΑ) και οι τιμές του λόγου Κ/Α και του ΑΔ στο λίπος του γάλακτος των αιγών στις 3 διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις, παρουσιάζονται στον πίνακα Β.3.4.2.

Υποσιτισμός σε σχέση με το Μάρτυρα.

Τα αποτελέσματα του πίνακα Β.3.4.2 δείχνουν ότι οι αίγες που υποσιτίζονταν παρουσίασαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις στα: ΜΕΑ, ΜΑ, Κ, Κ/Α, ΑΔ, σε σχέση με τις αίγες που διατρέφονταν στο 100% των αναγκών τους, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για τα: ΜΑ και ΑΔ.

Επιπλέον, τα αποτελέσματα του πίνακα Β.3.4.2 δείχνουν ότι οι αίγες που υποσιτίζονταν παρουσίασαν υψηλότερες συγκεντρώσεις στα: ΜΙΑ, ΜΟΝΑ, ΠΟΛΑ σε σχέση με τις αίγες που διατρέφονταν στο 100% των αναγκών τους, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για τα ΠΟΛΑ.

Υπερσιτισμός σε σχέση με το Μάρτυρα.

Τα αποτελέσματα του πίνακα Β.3.4.2 δείχνουν ότι οι αίγες που υπερσιτίζονταν παρουσίασαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις στα: Κ, Κ/Α, ΑΔ, ΜΑ σε σχέση με τις αίγες που διατρέφονταν στο 100% των αναγκών τους, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για τα ΜΑ. Αντίθετα, οι αίγες που υπερσιτίζονταν παρουσίασαν υψηλότερες συγκεντρώσεις στα: ΜΕΑ, ΠΟΛΑ, ΜΙΑ, ΜΟΝΑ σε σχέση με τις αίγες που διατρέφονταν στο 100% των αναγκών τους, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για τα: ΜΕΑ, ΠΟΛΑ.

Υποσιτισμός σε σχέση με Υπερσιτισμό.

Τα αποτελέσματα του πίνακα Β.3.4.2 δείχνουν ότι οι αίγες που υποσιτίζονταν παρουσίασαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις στα: ΜΕΑ, Κ, ΠΟΛΑ, Κ/Α, ΑΔ σε σχέση με τις αίγες που υπερσιτίζονταν, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για τα ΜΕΑ. Επιπρόσθετα, οι αίγες που υποσιτίζονταν παρουσίασαν υψηλότερες συγκεντρώσεις στα: ΜΙΑ, ΜΑ, ΜΟΝΑ σε σχέση με τις αίγες που υπερσιτίζονταν, αλλά τα αποτελέσματα δεν ήταν στατιστικώς σημαντικά για κανένα από αυτά.

Πίνακας Β.3.4.2. Μέση συγκέντρωση (±SEM)[1] των ομαδοποιημένων λιπαρών οξέων (% των ολικών λιπαρών οξέων) στο λίπος του γάλακτος αιγών στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις και στις δύο διαφορετικές ημέρες δειγματοληψίας.

ΑΙΓΕΣ	ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΕΠΕΜΒΑΣΗ(Δ)				ΗΜΕΡΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ(Η)			ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ		
Λ.Ο	70%	100%	130%	SEM	28η ημέρα	49η ημέρα	SEM	Δ	Η	Δ(Χ)Η
ΜΙΑ	20,23	19,65	20,21	0,97	19,61	20,45	0,792	NS	NS	NS
ΜΕΑ	13,87[a]	14,98[a]	17,08[b]	0,945	14,59	16,04	0,771	**	NS	NS
ΜΑ	38,74[a]	41,19[b]	37,95[a]	0,856	39,95	38,64	0,699	**	NS	NS
Κ	72,84	75,83	75,24	1,798	74,15	75,15	1,468	NS	NS	NS
ΠΟΛΑ	4,15[a]	3,59[b]	4,17[a]	0,273	4,1	3,84	0,223	NS	NS	NS
ΜΟΝΑ	23,02	20,58	20,59	1,593	21,75	21,04	1,3	NS	NS	NS
Κ/Α	2,84	3,35	3,05	0,262	3,06	3,11	0,214	NS	NS	NS
ΑΔ	2,51[a]	3,11[b]	2,93[ab]	0,287	2,72	2,98	0,23	NS	NS	NS

[1]SEM = Τυπικό σφάλμα των μέσων

Μέσοι όροι με διαφορετικούς εκθέτες (a, b) σε κάθε στήλη διαφέρουν σημαντικά ($P \leq 0,05$).

Γ) Οι *λόγοι της ενεργότητας της Δ^{-9}αφυδρογονάσης* στις αίγες κατά της 3 διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις παρουσιάζονται στον πίνακα Β.3.4.3.
Η τάση που παρατηρήθηκε μεταξύ υποσιτισμού και υπερσιτισμού είναι να αυξάνεται ο λόγος $C_{14:1}/C_{14:0}$, $C_{16:1}/C_{16:0}$ και να μειώνεται ο λόγος $C_{18:1}/C_{18:0}$, cis-9, trans-11CLA/VA με πολύ μικρές όμως διαφορές. Η μόνη στατιστικώς σημαντική διαφορά προέκυψε στο λόγο $C_{18:1}/C_{18:0}$, όπου στον υπερσιτισμό είχαμε χαμηλότερη τιμή σε σχέση με το μάρτυρα.

Πίνακας Β.3.4.3. Οι μέσες τιμές (±SEM)[1] των λόγων της ενεργότητας της Δ^{-9} αφυδρογονάσης στο γάλα των αιγών στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις και στις δύο διαφορετικές ημέρες δειγματοληψίας.

ΑΙΓΕΣ	ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΕΠΕΜΒΑΣΗ(Δ)				ΗΜΕΡΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ(Η)			ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ		
Λ.Ο	70%	100%	130%	SEM	28η ημέρα	49η ημέρα	SEM	Δ	Η	Δ(Χ)Η
$C_{14:1}/C_{14:0}$	0,014	0,017	0,019	0,003	0,013[a]	0,020[b]	0,002	NS	**	NS
$C_{16:1}/C_{16:0}$	0,031	0,030	0,032	0,002	0,030	0,032	0,002	NS	NS	NS
$C_{18:1}/C_{18:0}$	2,262[ab]	2,484[a]	2,175[b]	0,136	2,250	2,370	0,111	NS	NS	NS
cis-9, trans-11CLA/VA.	0,385	0,381	0,379	0,021	0,383	0,380	0,017	NS	NS	NS

[1]SEM = Τυπικό σφάλμα των μέσων
Μέσοι όροι με διαφορετικούς εκθέτες (a, b) σε κάθε στήλη διαφέρουν σημαντικά ($P \leq 0,05$).

Δ) Μεταξύ των δύο διαφορετικών δειγματοληψιών(22-4-09/12-5-09) στατιστικώς σημαντικές διαφορές παρουσιάστηκαν στα *επιμέρους* Λ.Ο: $C_{14:0}$,$C_{14:1}$, $C_{16:0}$, $C_{16:1}$, τα οποία είχαν υψηλότερες τιμές στην $2^{η}$ δειγματοληψία σε σχέση με την $1^{η}$, αλλά και στο $C_{24:0}$ λιπαρό οξύ, το οποίο είχε χαμηλότερη τιμή στη $2^{η}$ δειγματοληψία σε σχέση με την $1^{η}$. (Βλέπε πίνακα Β.3.4.1).
Όσον αφορά τα *ομαδοποιημένα* λιπαρά οξέα, καθώς και τις τιμές του λόγου Κ/Α και του ΑΔ στο λίπος του γάλακτος των αιγών δεν παρουσιάστηκε καμία στατιστικώς σημαντική διαφορά. (Βλέπε πίνακα Β.3.4.2).
Τέλος, στατιστικώς σημαντική διαφορά παρουσιάστηκε στο *λόγο $C_{14:1}/C_{14:0}$ της Δ^{-9} αφυδρογονάσης*, όπου παρατηρήθηκε υψηλότερη τιμή στη $2^{η}$ δειγματοληψία σε σχέση με την $1^{η}$. Οι υπόλοιποι λόγοι της Δ^{-9} αφυδρογονάσης δεν παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές. (Βλέπε πίνακα Β.3.4.3).

Ε) Η επίδραση της διατροφικής επέμβασης, με το χρόνο δειγματοληψίας δεν παρουσίασε στατιστικώς σημαντικές διαφορές.(Βλέπε πίνακες Β.3.4.1, Β.3.4.2, Β.3.4.3).

Β.3.5.Λιπαρά οξέα του αίματος των αιγών

Α)Τα *επιμέρους* λιπαρά οξέα στο αίμα των αιγών στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις (70%, 100%, 130%) παρουσιάζονται στον πίνακα Β.3.5.

Υποσιτισμός σε σχέση με το Μάρτυρα.

Τα αποτελέσματα του πίνακα Β.3.5. δείχνουν ότι οι αίγες που υποσιτίζονταν παρουσίασαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις στα Λ.Ο: $C_{6:0}$,$C_{8:0}$, $C_{17:0}$,VA,LA,LNA,EPA σε σχέση με τις αίγες που διατρέφονταν στο 100% των αναγκών τους, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για το LA.

Επιπλέον, τα αποτελέσματα του πίνακα Β.3.5 δείχνουν ότι οι αίγες που υποσιτίζονταν παρουσίασαν υψηλότερες συγκεντρώσεις στα Λ.Ο: $C_{4:0}$,$C_{14:0}$,$C_{15:0}$,$C_{16:0}$,$C_{16:1}$,$C_{18:0}$,$C_{18:1}$,α LNA, $C_{20:3}$, $C_{24:0}$, σε σχέση με τις αίγες που διατρέφονταν στο 100% των αναγκών τους.

Υπερσιτισμός σε σχέση με το Μάρτυρα.

Τα αποτελέσματα του πίνακα Β.3.5 δείχνουν ότι οι αίγες που υπερσιτίζονταν παρουσίασαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις στα Λ.Ο: $C_{6:0}$, $C_{8:0}$, $C_{15:0}$, $C_{16:0}$.,$C_{18:0}$,$C_{18:1}$, VA σε σχέση με τις αίγες που διατρέφονταν στο 100% των αναγκών τους.

Αντίθετα, οι αίγες που υπερσιτίζονταν παρουσίασαν υψηλότερες συγκεντρώσεις στα Λ.Ο: $C_{4:0}$,$C_{14:0}$,LA, ,αLNA, LNA,$C_{20:3}$, EPA, $C_{24:0}$ σε σχέση με τις αίγες που διατρέφονταν στο 100% των αναγκών τους, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για το: α LNA.

Υποσιτισμός σε σχέση με Υπερσιτισμό.

Τα αποτελέσματα του πίνακα Β.3.5 δείχνουν ότι οι αίγες που υποσιτίζονταν παρουσίασαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις στα Λ.Ο: $C_{8:0}$,$C_{14:0}$, $C_{17:0}$,VA,LA, αLNA, LNA, EPA, σε σχέση με τις αίγες που υπερσιτίζονταν, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για τα: LA, αLNA.

Επιπρόσθετα, οι αίγες που υποσιτίζονταν παρουσίασαν υψηλότερες συγκεντρώσεις στα Λ.Ο: $C_{4:0}$,$C_{6:0}$, $C_{15:0}$, $C_{16:0}$, $C_{18:0}$,$C_{18:1}$, $C_{20:3}$, $C_{24:0}$ σε σχέση με τις αίγες που υπερσιτίζονταν, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για το: $C_{18:1}$.

Β) Μεταξύ των δύο διαφορετικών δειγματοληψιών(22-4-09/13-5-09) στατιστικώς σημαντικές διαφορές παρουσίασε μόνο το Λ.Ο: $C_{6:0}$, το οποίο είχε υψηλότερη τιμή στην $2^{η}$ δειγματοληψία σε σχέση με την $1^{η}$. (Βλέπε πίνακα Β.3.5).

Γ) Η επίδραση της διατροφικής επέμβασης, με το χρόνο δειγματοληψίας δεν παρουσίασε στατιστικώς σημαντικές διαφορές.(Βλέπε πίνακα Β.3.5).

Πίνακας Β.3.5. Μέση συγκέντρωση (±SEM)[1] λιπαρών οξέων (% των ολικών λιπαρών οξέων) στο αίμα των αιγών στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις και στις δύο διαφορετικές ημέρες δειγματοληψίας.

ΑΙΓΕΣ	ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΕΠΕΜΒΑΣΗ (Δ)				ΗΜΕΡΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ (Η)			ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ		
Λ.Ο	70%	100%	130%	SEM	28η ημέρα	49η ημέρα	SEM	Δ	Η	Δ (Χ) Η
$C_{4:0}$	0,62	0,52	0,57	0,231	0,48	0,65	0,188	NS	NS	NS
$C_{6:0}$	0,19	0,20	0,16	0,037	0,15[a]	0,22[b]	0,030	NS	*	NS
$C_{8:0}$	0,06	0,08	0,07	0,018	0,06	0,08	0,015	NS	NS	NS
$C_{14:0}$	0,44	0,41	0,47	0,109	0,43	0,44	0,089	NS	NS	NS
$C_{15:0}$	0,63	0,60	0,54	0,109	0,55	0,64	0,089	NS	NS	NS
$C_{16:0}$	18,14	18,11	17,81	0,393	18,08	17,96	0,321	NS	NS	NS
$C_{16:1}$	0,58	0,49	0,58	0,110	0,49	0,61	0,090	NS	NS	NS
$C_{17:0}$	0,93	1,06	1,06	0,110	0,99	1,04	0,090	NS	NS	NS
$C_{18:0}$	24,98	24,42	24,24	0,592	24,88	24,22	0,483	NS	NS	NS
$C_{18:1}$	16,38[a]	15,28[ab]	14,66[b]	0,672	15,13	15,75	0,548	*	NS	NS
VA	1,16	1,30	1,28	0,158	1,29	1,20	0,129	NS	NS	NS
LA	25,56[a]	28,31[b]	28,60[b]	1,015	27,36	27,63	0,828	*	NS	NS
αLNA	0,23[a]	0,22[a]	0,48[b]	0,085	0,28	0,34	0,069	*	NS	NS
LNA	1,21	1,33	1,42	0,148	1,24	1,40	0,121	NS	NS	NS
$C_{20:3}$	7,00	6,15	6,36	0,473	6,65	6,36	0,386	NS	NS	NS
EPA	0,43	0,48	0,60	0,161	0,56	0,44	0,131	NS	NS	NS
$C_{24:0}$	1,03	0,75	0,92	0,325	1,11	0,69	0,266	NS	NS	NS

[1]SEM = Τυπικό σφάλμα των μέσων

Μέσοι όροι με διαφορετικούς εκθέτες (a, b) σε κάθε στήλη διαφέρουν σημαντικά ($P \leq 0,05$).

Β.3.6. Λεπτίνη και ινσουλίνη στο αίμα των αιγών

Στον πίνακα 13 παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις (μέσοι όροι) των ορμονών, λεπτίνης και ινσουλίνης, που περιείχε το πλάσμα αίματος, των αιγών στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις. Σύμφωνα με τα στοιχεία του πίνακα, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις, όσον αφορά τη λεπτίνη στο πλάσμα του αίματος των αιγών. Σε αντίθεση η ινσουλίνη παρουσιάζει στατιστικώς σημαντικές διαφορές ανάλογα με τη διατροφική επέμβαση. Η τάση της ινσουλίνης ήταν να αυξάνεται καθώς αυξάνεται και η ποσότητα τροφής, με αποτέλεσμα να παρατηρείται η υψηλότερη τιμή της όταν οι αίγες διατρέφονταν στο 130% των αναγκών τους.

Πίνακας 13. Μέση συγκέντρωση (±SEM)[1] λεπτίνης και ινσουλίνης στο πλάσμα του αίματος των αιγών στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις.

Διατροφική επέμβαση	Λεπτίνη	Ινσουλίνη
Α	1,59±0,113	$0,58^{a}$±0,117
Β	1,44±0,113	$0,79^{ac}$±0,117
Γ	1,57±0,113	$1,01^{bc}$±0,117

[1]SEM = Τυπικό σφάλμα των μέσων

Μέσοι όροι με διαφορετικούς εκθέτες (a, b) σε κάθε στήλη διαφέρουν σημαντικά ($P \leq 0,05$).

Β.4. Συζήτηση-Συμπεράσματα

Σύμφωνα με ένα πλήθος ερευνητικών εργασιών, που έχουν μελετήσει τους παράγοντες που επηρεάζουν τη παραγωγή και το προφίλ των λιπαρών οξέων, στο λίπος του γάλακτος μηρυκαστικών ζώων (Chilliard et al, 2003; Kelsey et al, 2003; Dhiman et al, 2005; Tsiplakou et al, 2006 a), η διατροφή θεωρείται ο σημαντικότερος παράγοντας.

Στο παρών πείραμα μελετήθηκε η επίδραση του υποσιτισμού και υπερσιτισμού στο προφίλ των λιπαρών οξέων του γάλακτος αιγών. Αυτό επετεύχθη αποκλείοντας άλλους παράγοντες που πιθανών να επηρέαζαν τα αποτελέσματα. Έτσι επιλέχθηκαν αίγες, συγκεκριμένης ηλικίας (3-4 ετών), που είχαν πραγματοποιήσει τοκετούς το μήνα Ιανουάριο και βρίσκονταν όλες στο ίδιο στάδιο γαλακτικής περιόδου. Επιπλέον, οι αίγες διέμεναν σε κελιά, όπου είχαν φρέσκο νερό καθημερινά και ομαδική διατροφή κατά μερίδες που βασιζόταν σε συγκεκριμένο σιτηρέσιο που αποτελούνταν αποκλειστικά από μηδική και μίγμα συντήρησης.

Καθώς το πείραμα εξελισσόταν με το πέρασμα των ημερών, η σταδιακή μείωση του σωματικού βάρους στην ομάδα Α (υποσιτισμός) και η αύξηση στην ομάδα Γ (υπερσιτισμός), σε σύγκριση με το σωματικό βάρος στην ομάδα του μάρτυρα Β (διατροφή στο 100% των αναγκών των αιγών), υποδείκνυε την ορθότητα στη χρήση των σιτηρεσίων για την επίτευξη υποσιτισμού και υπερσιτισμού στις αίγες. Αυτό συνέβαινε, διότι στον υποσιτισμό, το σωματικό βάρος μειώνεται λόγω της κινητοποίησης του λιπώδους ιστού προς κάλυψη αναγκών σε ενέργεια, ενώ αντίθετα στον υπερσιτισμό το σωματικό βάρος αυξάνεται λόγω της εναπόθεσης λίπους, που προέρχεται από το υψηλό επίπεδο διατροφής (Ζέρβας Γ. 2005). Ο μάρτυρας δε μετέβαλε καθόλου το βάρος του, αφού το επίπεδο διατροφής που λάμβανε ήταν προσαρμοσμένο στις ακριβείς του ανάγκες. Σε αυτό το συμπέρασμα συμφωνούν και τα αποτελέσματα από την ημερήσια παραγόμενη ποσότητα γάλακτος που γενικώς με το πέρασμα των ημερών μειωνόταν σε όλες τις ομάδες, διότι οι αίγες βρίσκονταν προς το τέλος της γαλακτικής περιόδου. Τη μεγαλύτερη όμως μείωση στη παραγωγή γάλακτος τη παρουσίαζε η ομάδα Α που υποσιτίζονταν. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, το μέγιστο της γαλακτοπαραγωγής παρατηρείται συνήθως την έκτη εβδομάδα μετά τον τοκετό, όπου διατηρείται για τέσσερις περίπου εβδομάδες και στη συνέχεια ακολουθεί σταδιακή μείωση κατά 2,5-3% ανά εβδομάδα. Οι αίγες που υποσιτίζονταν, στην προσπάθεια να συντηρήσουν τον οργανισμό τους και να διατηρήσουν τη γαλακτοπαραγωγή, εξαναγκάστηκαν σε καταβολισμό των σωματικών αποθεμάτων τους. Σε αντίθεση, τα ζώα που υπερσιτίζονταν δεν εξαναγκάστηκαν σε καταβολισμό σωματικής ύλης για να συντηρήσουν τον οργανισμό τους και η πλεονάζουσα ενέργεια εναποτέθηκε υπό μορφή λίπους στο σώμα των ζώων και δε χρησιμοποιήθηκε για την αύξηση της γαλακτοπαραγωγής, διότι βρίσκονταν στο τελευταίο στάδιο και όχι στη $1^{η}$ φάση της γαλακτικής περιόδου (Ζέρβας Γ. 2005).

Επιπρόσθετα, η λιποπεριεκτικότητα του γάλακτος, αλλάζει, με εμφάνιση υψηλότερων τιμών λίπους στο γάλα αιγών που υποσιτίζονται και χαμηλότερες τιμές λίπους στο γάλα αιγών που υπερσιτίζονται, κάτι απολύτως φυσιολογικό σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, αφού επικρατεί η άποψη περί αρνητικής συσχέτισης ενεργειακού ισοζυγίου και λιποπεριεκτικότητας (Bocquier et al, 1999; Chilliard et al, 2003).

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η καμπύλη περιεκτικότητας σε λακτόζη, ακολουθεί σε γενικές γραμμές την καμπύλη γαλακτοπαραγωγής (Ζέρβας Γ., 2005). Η μέση

γαλακτοπαραγωγή στην εξέλιξη του κυρίως πειράματος μειωνόταν σταδιακά, με τη μεγαλύτερη μείωση όμως, να παρουσιάζεται στην ομάδα του υποσιτισμού. Έτσι εξηγείται και η στατιστικώς σημαντική διαφορά που παρατηρήθηκε στην περιεκτικότητα του γάλακτος σε λακτόζη ανάμεσα στον υποσιτισμό (χαμηλή συγκέντρωση λακτόζης) και τις άλλες δύο ομάδες (υψηλή συγκέντρωση λακτόζης).

Οι πρωτεΐνες που εμπεριέχονται στο γάλα σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, αυξάνονται στον υπερσιτισμό και μειώνονται στον υποσιτισμό. Επιπλέον, στο τέλος της γαλακτικής περιόδου έχουν την τάση να αυξάνονται (Garnsworthy et al., 2006; Bocquier F. and Caja G., 1999). Στο παρών πείραμα η πρωτεΐνη στο γάλα των αιγών παρέμεινε σχεδόν σταθερή κατά τη διάρκεια του κυρίως πειράματος και στις τρεις διαφορετικές επεμβάσεις με μια μικρή τάση μείωσης του ποσοστού πρωτεΐνης γάλακτος στον υποσιτισμό και μια μικρή αύξηση στον υπερσιτισμό.

Όσον αφορά τα επιμέρους λιπαρά οξέα τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας έδειξαν ότι τα ζώα που υποσιτίζονται είχαν χαμηλότερη συγκέντρωση στα λιπαρά οξέα : $C_{10:0}$,$C_{12:0}$,$C_{13:0}$,$C_{14:0}$,$C_{14:1}$, VA,LA,CLA,EPA, $C_{24:0}$ σε σχέση με τις αίγες που υπερσιτίζονταν, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για τα: $C_{12:0}$,$C_{13:0}$,$C_{14:0}$,$C_{14:1}$, VA. Ενώ υψηλότερες συγκεντρώσεις παρουσίασαν οι αίγες που υποσιτίζονταν στα λιπαρά οξέα: $C_{4:0}$,$C_{6:0}$,$C_{8:0}$, $C_{11:0}$, $C_{15:0}$,$C_{15:1}$, $C_{16:0}$, $C_{18:0}$,$C_{18:1}$, α LNA, LNA, $C_{20:0}$,$C_{20:3}$ σε σχέση με τις αίγες που υπερσιτίζονταν, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για τα: $C_{4:0}$, $C_{20:3}$. Σε παρόμοια συμπεράσματα κατέληξαν και οι Garnsworthy et al, (2006), σε πείραμα που έκαναν σε αγελάδες, οι οποίες βρίσκονταν στο αρχικό στάδιο γαλακτικής περιόδου και έμμεσα σε υποσιτισμό. Το μεγαλύτερο ποσοστό παραγωγής του cis-9, trans-11 CLA , όπως έχει ήδη αναφερθεί στην εισαγωγή, είναι προϊόν ενδογενούς προέλευσης στο μαστικό αδένα από το VA με την επίδραση της Δ^{-9} αφυδρογονάσης. Είναι λοιπόν λογικό να είναι χαμηλή η συγκέντρωσή του CLA , αφού είναι και του VA. Η υψηλή συγκέντρωση του $C_{18:1}$ συνδέεται άμεσα με την υψηλή συγκέντρωση του $C_{18:0}$, αφού το μεγαλύτερο ποσοστό παραγωγής του $C_{18:1}$ του λίπους του γάλακτος παράγεται στο μαστικό αδένα από το $C_{18:0}$ με την επίδραση της Δ^{-9} αφυδρογονάσης, με αποτέλεσμα όσο μεγαλύτερη είναι η ποσότητα του υποστρώματος ($C_{18:0}$) που έχει στη διάθεσή του το ένζυμο τόσο μεγαλύτερη ποσότητα προϊόντος να παράγεται ($C_{18:1}$).

Στα ομαδοποιημένα λιπαρά οξέα και στις τιμές του λόγου Κ/Α και του ΑΔ, οι αίγες που υποσιτίζονταν παρουσίασαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις στα: ΜΕΑ, Κ, ΠΟΛΑ, Κ/Α, ΑΔ σε σχέση με τις αίγες που υπερσιτίζονταν, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για τα ΜΕΑ. Επιπρόσθετα, οι αίγες που υποσιτίζονταν παρουσίασαν υψηλότερες συγκεντρώσεις στα: ΜΙΑ, ΜΑ, ΜΟΝΑ σε σχέση με τις αίγες που υπερσιτίζονταν, αλλά τα αποτελέσματα δεν ήταν στατιστικώς σημαντικά για κανένα από αυτά.

Η τάση που παρατηρήθηκε μεταξύ υποσιτισμού και υπερσιτισμού για τους λόγους της ενεργότητας της Δ^{-9} αφυδρογονάσης είναι να αυξάνεται ο λόγος $C_{14:1}/C_{14:0}$, $C_{16:1}/C_{16:0}$ και να μειώνεται ο λόγος $C_{18:1}/C_{18:0}$, cis-9, trans-11CLA/VA με πολύ μικρές όμως διαφορές. Η μόνη στατιστικώς σημαντική διαφορά προέκυψε στο λόγο $C_{18:1}/C_{18:0}$, όπου στον υπερσιτισμό είχαμε χαμηλότερη τιμή σε σχέση με το μάρτυρα.

Μεταξύ των δύο διαφορετικών δειγματοληψιών(22-4-09/12-5-09) στατιστικώς σημαντικές διαφορές παρουσιάστηκαν στα *επιμέρους* Λ.Ο: $C_{14:0}$,$C_{14:1}$, $C_{16:0}$, $C_{16:1}$, τα οποία είχαν υψηλότερες τιμές στην $2^{η}$ δειγματοληψία σε σχέση με την $1^{η}$, αλλά και στο $C_{24:0}$ λιπαρό οξύ, το οποίο είχε χαμηλότερη τιμή στη $2^{η}$ δειγματοληψία σε σχέση με την $1^{η}$. Όσον αφορά τα *ομαδοποιημένα* λιπαρά οξέα, καθώς και τις τιμές του λόγου Κ/Α και του ΑΔ στο λίπος του γάλακτος των αιγών δεν παρουσιάστηκε καμία στατιστικώς σημαντική διαφορά. Τέλος, στατιστικώς σημαντική διαφορά

παρουσιάστηκε στο *λόγο $C_{14:1}/C_{14:0}$ της Δ^{-9} αφυδρογονάσης*, όπου παρατηρήθηκε υψηλότερη τιμή στη 2η δειγματοληψία σε σχέση με την 1η. Οι υπόλοιποι λόγοι της Δ^{-9} αφυδρογονάσης δεν παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές.

Η επίδραση της διατροφικής επέμβασης, με το χρόνο δειγματοληψίας δεν παρουσίασε στατιστικώς σημαντικές διαφορές.

Στα λιπαρά οξέα που μετρήθηκαν στο πλάσμα του αίματος των αιγών, τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις στα ζώα που υποσιτίζονταν παρουσίασαν τα λιπαρά οξέα: $C_{8:0}$,$C_{14:0}$, $C_{17:0}$,VA,LA, αLNA, LNA, EPA, σε σχέση με τις αίγες που υπερσιτίζονταν, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για τα: LA, αLNA.

Επιπρόσθετα, οι αίγες που υποσιτίζονταν παρουσίασαν υψηλότερες συγκεντρώσεις στα Λ.Ο: $C_{4:0}$,$C_{6:0}$, $C_{15:0}$, $C_{16:0}$, $C_{18:0}$,$C_{18:1}$, $C_{20:3}$, $C_{24:0}$ σε σχέση με τις αίγες που υπερσιτίζονταν, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για το: $C_{18:1}$. Στο πλάσμα του αίματος των αιγών δεν ανιχνεύτηκε cis-9, trans-11 CLA ανεξαρτήτως πειραματικής φάσης.

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία (Caldeira et al, 2007; Block et al, 2003), ζώα που υπερσιτίζονται παρουσιάζουν αύξηση της συγκέντρωσης της ινσουλίνης στο πλάσμα του αίματος, σε αντίθεση με ζώα που υποσιτίζονται , που παρουσιάζουν μείωση. Σε αυτό συμφωνούν και τα αποτελέσματα από το παρών πείραμα, καθώς η τάση της ινσουλίνης ήταν να αυξάνεται καθώς αυξάνεται και η ποσότητα τροφής, με αποτέλεσμα να παρατηρείται η υψηλότερη τιμή της όταν οι αίγες διατρέφονταν στο 130% των αναγκών τους.

Σε αντίθεση με την ινσουλίνη, η λεπτίνη δεν παρουσίασε στατιστικώς σημαντική διαφορά ανάμεσα στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις. Σύμφωνα με τους Chilliard et al (2001), και Marie M et al (2001) στον υπερσιτισμό τα ζώα έχουν αύξηση λεπτίνης και στον υποσιτισμό μείωση λεπτίνης. Στο παρών πείραμα, δε παρατηρήθηκε αυτό το φαινόμενο. Οι πιθανοί λόγοι είναι οι εξής:

Α) Το προϋπάρχων λίπος στις αίγες ήταν πολύ λίγο. Ο Chilliard et al (2001) ανέφερε ότι η απάντηση της λεπτίνης στο αίμα ανάλογα με το επίπεδο διατροφής, εξαρτάται από το λίπος που ήδη υπάρχει στο σώμα. Για παράδειγμα, υπήρξε ξεκάθαρη μείωση της λεπτίνης σε χρόνια υποσιτιζόμενα ζώα που είχαν όμως μέση σωματική κατάσταση, αλλά καθόλου σε ζώα που ήταν πολύ αδύνατα. Πολύ πιθανό οι αίγες να ήταν πολύ αδύνατες στο παρών πείραμα.

Β) Οι αίγες βρίσκονταν στο τέλος της γαλακτικής περιόδου, όπου σύμφωνα με τη βιβλιογραφία εμφανίζονται οι πιο χαμηλές τιμές της λεπτίνης. (Chilliard et al, 2005).

Συμπερασματικά, μπορούμε να καταλήξουμε στο ότι ο υποσιτισμός και υπερσιτισμός στη παρούσα μελέτη επηρέασε στις αίγες:

-το Σ.Β.

-τη παραγόμενη ποσότητα και τη χημική σύσταση του γάλακτος

-το προφίλ των Λ.Ο του γάλακτος και του πλάσματος του αίματος

-τη συγκέντρωση της ινσουλίνης στο πλάσμα του αίματος

Παράρτημα

Πίνακας 1. Σωματικό βάρος έκαστης αίγας και μέσος όρος κάθε ομάδας ανά ημερομηνία δειγματοληψίας.

Ομάδα Α								
Αριθμός ζώου	*3/3/2009*	*16/3/2009*	*27/3/2009*	*8/4/2009*	*15/4/2009*	*23/4/2009*	*6/5/2009*	*15/5/2009*
40	57	54,5	56	56	57	56	56,5	58
42	56	52,5	54	52	52,5	49,5	51,5	51
43	50	46	47	48,5	47	45	46,5	46
48	55	49	51	51	51	49,5	53,5	47,5
52	60	53	52,5	50	47	47	46,5	45,5
53	58	54,5	57,5	54,5	55	53,5	53	53,5
55	43	40	39,5	40	39	39	40	41,5
60	44	39	35	34,5	34,5	35	34	35
Μέσος	52,9	48,6	49,1	48,3	47,9	46,8	47,7	47,3
Ομάδα Β								
Αριθμός ζώου	*3/3/2009*	*16/3/2009*	*27/3/2009*	*8/4/2009*	*15/4/2009*	*23/4/2009*	*6/5/2009*	*15/5/2009*
44	53	53	56,5	56	57	56	57	58
46	48	43,5	44	47	47,5	47	48,5	49
47	52	47	51,5	50,5	50	47	49	50,5
50	52	46	50	51	48	46	46,5	50
54	57	53,5	59,5	56	58,5	56	56,5	53,5
59	60	58,5	62	62,5	61,5	59,5	61	61
62	61	56	57,5	58	57	55,5	55	56
63	42	35,5	40	41	41,5	41,5	42	43
Μέσος	53,1	49,1	52,6	52,8	52,6	51,1	51,9	52,6
Ομάδα Γ								
Αριθμός ζώου	*3/3/2009*	*16/3/2009*	*27/3/2009*	*8/4/2009*	*15/4/2009*	*23/4/2009*	*6/5/2009*	*15/5/2009*
41	50	51	52	53	53,5	50,5	52	52
45	54	53	55,5	54	57	56	55,5	56
49	53	50	52,5	53	55	53,5	52	53,5
51	54	52	55,5	57	58,5	58,5	60	61
56	55	53,5	52	54	55	55	54,5	53
57	51	47,5	48,5	48,5	51	50	50,5	52,5
58	57	57	62	61,5	65	63	64,5	65,5
61	52	47,5	51	51	50	50	51	51,5
Μέσος	53,3	51,4	53,6	54,0	55,6	54,6	55,0	55,6

ΕΙΚΟΝΑ 1. Τα κελιά που διέμεναν οι αίγες από τη πειραματική εγκατάσταση του Εργαστηρίου Φυσιολογίας Θρέψης και Διατροφής του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξένη βιβλιογραφία

1. Addis M, Cabiddu A, Pinna G, Decandia M, Piredda G, Pirisi A, Molle G (2005). Milk and cheese fatty acid composition in sheep fed Mediterranean forages with reference to conjugated linoleic acid cis-9,trans-11.J.of Dairy Sci.88,3443-3454.
2. Ahima RS, Prabakaran D,Mantzoros C, Qu D, Lowell B, Maratos-Flier E, Flier JS (1996). Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. Nature 382:250-252
3. Ando.A, Ogawa.J, Sugimoto. S, Kishino. S, Sakuradani.E, Yokozeki.K, Shimizu.S. (2008) Selective production of cis-9,trans-11 isomer of conjugated linoleic acid from trans-vaccenic acid methylester by Delacroixia coronata. Journal of Applied microbiology ISSN 1364-5072
4. Atti N, Rouissi H, Othmane M.H (2006). Milk production, milk fatty composition and conjugated linoleic acid content in dairy ewes raised on feedlot or grazing pasture. Liv.Sci,104,121-127.
5. Barber M.C, Clegg R.A, Travers M.T, Vernon R.G (1997).Lipid metabolism in the lactating mammary gland. Bioch. Et Biophys.Acta 1347, 101-126
6. Barbosa E, Oliveira C, Casal S, Soares L, Vale A.P, Lopes J.C, Brito N.V (2003). Quantification and variability of conjugated linoleic acids levels in sheep milk of two Portuguese breeds. EJEAFCHE 2(4), 493-497.http:/ejeafche
7. Bartlett J.C, Chapman D.G (1961). Detection of hydrogenated fats in butter fat by measurement of cis-trans conjugated unsaturation. Agric.Food. Chem 9. 50-53.
8. Bauman D.E, Baumgard L.H, Corl B.A, Griinari J.M (1999). Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. American society of animal science.
9. Bauman D.E,Corl B.A, Peterson D.G (2003). The biology of conjugated linoleic acid in ruminants. In J. Sebedio W.W. Christie and R. Adolf (Ed)Advances in Conjugated linoleic Acid Research, Vol 2,146-173. Aocs press, Champaign, IL.
10. Bauman, D. E., I. H. Mather, R. J. Wall and A. L. Lock,(2006) Major Advances Associated with the Biosynthesis of Milk. J. Dairy Sci., 89:1235–1243.
11. Belury MA (2002) Dietary conjugated linoleic acid in health: physiological effects and mechanisms of action. Ann. Rev.Nutr., 22, 505-531.
12. Belury, M.A., (1995). Conjugated dienoic linoleate: a polyunsaturated fatty acid with unique chemo protective properties. Nutr. Rev. 53, 83-89
13. Beppu F.,Hosokawa M., Tanaka L., Kohno H., Tanaka T., Miyashita K. (2006) Potent inhibitory effect of trans9,trans11 isomer of conjugated linoleic acid on the growth of human colon cancer cells. Journal of nutritional biochemistry 17, 830-836.
14. Berner LA (1993) Round table discussion on milk fat, dairy foods and coronary heart disease risk. Journal of nutr. 123, 1175-1184.
15. Berti L., Kellerer M., Capp E. and Häring H. U.(1997).Leptin stimulates glucose transport and glycogen synthesis in C2C12 myotubes: evidence for a PI3-kinase mediated effect. Diabetologia Volume 40, Number 5, 606-609
16. Bickerstaff R, Annison E.F (1970). The desaturase activity of goat and sow mammary tissue. Comp. Biochem. Physiol.35, 653-665.
17. Bizelis J.A, Deligiorgis S.G and Rogdakis E. (1990) Puberty attainment and reproductive characteristics in ewe lambs of Chios and Karagouniki breeds raised on two planes of nutrition. Department of animal breeding and husbandry, Agricultural University of Athens. Animal reproduction science,23, 197-212. Elsevier science publishers B.V Amsterdam
18. Blankson H, Stakkestad J.A, Fagertun H (2000) Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. J.Nutr.130, 2943-2948.
19. Block S.S , Rhoads R.P, Bauman D.E, Ehrhardt R.A, McGuire M.A , Crooker B.A et al., (2003). Demonstration of a role for insulin in the regulation of leptin in lactating dairy cows. American dairy science association. J.Dairy Sci. 86:3508-3515
20. Bocquier Francois and Caja Gerardo (1999). Effects of nutrition on ewes' milk quality. PROCEEDINGS OF THE 5TH GREAT LAKES DAIRY SHEEP SYMPOSIUM November 4-6, 1999 BRATTLEBORO, VERMONT, USA

21. Bondia-Pons I, Castellote M, Lopez-Sabater M (2004). Comparison of conventional and fast gas chromatography in human plasma fatty acid determination. J. of Chrom.B 809,339-344
22. Brownbill R.A, Petrosian M., Hich J.Z. (2005) Association between dietary conjugated linoleic acid and bone mineral density in postmenopausal women. J.Am. Coll. Nutr.24, 177-181
23. Cabiddu A, Carta G, Molle G, Decandia M, Addis M, Piredda G, Delogu A, Pirisi A, Lai V, Cera V, Taras L, Lallai C,Banni S (2003). Relationship between feeding regime and content of conjugated linoleic acid in sheep milk and cheese. First Joint Seminar of Sub-Networks FAO-CIHEAM on sheep and goat nutrition and on mountain and Mediterranean pastures "Sustainable grazing, Nutritional utilization and Quality of sheep and goat products " Canada (Spain)
24. Caldeira R.M, Belo A.T, Santos C.C, Vazques M.I, Portugal A.V (2007) The effect of long term feed restriction and over nutrition on body condition score, blood metabolites and hormonal profiles in ewes.
25. Cameron P.J, Rogers M, Oman J, May S.G, Luut D.K,Smith S.B (1994). Stearoylcoenzyme A desaturase enzyme activity and mRNA levels are not different in subcutaneous adipose tissue from Angus and American Wagyusteers.J.Annue.Sci.72, 2624-2628.
26. Campfield L, Smith FJ, Guisez Y, Devos R(1995). Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks-Science, - sciencemag.org
27. Chang J.H.P, Lunt D.K, Smith S.B (1992). Fatty acid composition and fatty acid elongase and stearoyl-CoA desaturase activities in tissues of steers fed high oleate sun flower seed.J.Nutr.122, 2074-2020.
28. Chilliard Y, Bonet M, Delavaud C et al., (2001) Leptin in ruminants. Gene expression in adipose tissue and mammary gland, and regulation of plasma concentration. Domestic animal endocrinology Volume 21 Issue4, Pages 271-295.
29. Chilliard Y, Ferlay A, Mansbridge R.M, Doreau M (2000). Ruminant milk fat plasticity: Nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids.Ann.Zootech.49, 181-205
30. Chilliard Y, Ferlay A, Rouel J, Lamberet G (2003). A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. J.of Dairy Sci. 86,1751-1770.
31. Chilliard Y., Delavaud C., Bonnet M.(2005).Leptin expression in ruminants: nutritional and physiological regulations in relation with energy metabolism .Domestic Animal Endocrinology .Volume 29, Issue 1, Pages 3-22 (July 2005)
32. Chin S.F.,Liu W, Storkson JM, Ha YL, Pariza MW, (1992). Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognised class of anticarcinogens. J.Food Comps.Anal.5, 185-197
33. Chin SF, Storkow JM, Liu W, Pariza MW (1991). Dietary sources of the anticarcinogen CLA. Faseb J. 5:A1444.
34. Chisholm A, Mann J, Sutherland DW, Duncan A, Skeaff M, Frampton C (1996) Effect on lipoprotein profile of replacing butter with margarine in a low fat diet: randomised cross-over study with hypercholesterolaemic subjects. Brit.Medical J.312, 931-934.
35. Christie, W.W., Dobson, G., and Gunstone, F.D.(1997). Isomers in commercial samples of conjugated linoleic acid. Lipids.32:1231-1232
36. Collomb Marius, Schmid Alexandra, Sieber Robert, Wechsler Daniel, Ryhanen Eeva-Liisa (2006) Conjugated linoleic acid in milk fat: Variation and physiological effects. International dairy journal 16 , 1347-1361.
37. Colorado State University: "Physiologic Effects of Insulin".
38. Dawson R.M.C, Hemington N, Hazlewood G.P (1977). On the role of higher plant and microbial lipases in the ruminant hydrolysis of grass lipids. Brit.J. Nutr.38, 225-232.
39. Dawson R.M.C, Kemp P (1970). Bio hydrogenation of dietary fats in ruminants. In A.T Phillipson (Ed.) Physiology of digestion and metabolism in the ruminant. Pp504-518. Oriel press Newcastle upon Tyne, U.K.
40. de Luis DA, Perez Castrillón JL, Dueñas A.(2009).Leptin and obesity. - ncbi.nlm.nih.gov.Minerva Med. 2009 Jun;100(3):229-36. Epub 2008 Apr 4..
41. Dhiman T.R, Nam S, Ure A.L (2005). Factors affecting conjugated linoleic acid content in milk and meat. Critical reviews in food science and nutrition 45:43-482.

42. Dhiman Tilak R, Nam Seung-hee, Ure Amy L (2005) Factors affecting conjugated linoleic acid content in milk and meat. Critical reviews in food science and nutrition, 45: 463-482
43. Friedman JM, Halaas JL.(1998). Leptin and the regulation of the body weight in mammals. Nature:395:763-70
44. Garnsworthy P.C, Masson L.L , Lock A.L, Mottramt T.T (2006). Variation of milk citrate with stage of lactation and de novo fatty acid synthesis in dairy cows. American dairy science association. J.Dairy Sci.89:1604-1612
45. Gaullier J.M., Halse,J., Hoye, K., Kristiansen, K., Fagertum, H., Vic, H., Gudmundsen O.(2005) Supplementation with conjugated linoleic acid for 24 months is well tolerated by and reduces body fat mass in healthy, overweight humans. Journal of nutrition. 135, 778-784
46. Gaullier J.M., Halse,J., Hoye, K., Kristiansen, K., Fagertum, H., Vic, H.,Gudmundsen O (2004). Conjugated linoleic acid supplementation for 1 y reduces body fat mass in healthy overweight humans. Am.J.Clin.Nutr 79, 1118-1125
47. Grega T, Sady M, Najgebauer D, Domagala J, Pustkowiak H,Faber B (2005). Factors affecting the level of conjugated linoleic acid in milk from different cow's breeds. Biotechnology in animal husbandry 2(5-6),p 241-244.
48. Griinary J.M, Bauman D.E (1999). Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk ruminants. In:M.P.Yaraweez, M.M .Mossoba, J.K.G. Kramer, M.W.Pariza and G.J.Nelson(Ed.). Advances in conjugated linoleic acid research, Vol 1, AOCS Press, Champaign, IL. pp.180-200
49. Griinary J.M, Corl B.A, Lacy S.H, Chovinard P.Y, Nurmela K.V.V, Bauman D.E (2000). Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by 9-desaturase. J.Nutr.130, 2285-2291.
50. Griinary J.M, Dwyer D.A, Mc Guire M.A, Bauman D.E, Palmquist DL, Nurmala KVV (1998). Trans- octadenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 81, 1251-1261.
51. Ha YL, Storkson JS, Pariza MW (1990). Inhibition of benzo (a) pyreneindused mouse forestomach neoplasia by conjugated linoleic acid. Cancer Res. 50, 1097-1101.
52. Ha,Y.L., Grimm, N.K. and Pariza, M.W.(1987) Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid. Carcinogenesis 8:1881-1887
53. Hayek M.G, Han S.N, Wu D, Watkins B.A, Meydani M, Dorsey J.L, Smith D.E, Meydani S.N (1999). Dietary conjugated linoleic acid influences the immune response of young and old C57BL/6NCrlBR mice. J.Nutr.129:32-38.
54. Houseknecht K. L, . Baile C. A, Matteri R. L. and Spurlock M. E. (1998)The biology of leptin: a review.. Journal of Animal Science, Vol 76, Issue 5 1405-1420, Copyright by American Society of Animal Science
55. House-Knecht KL, Vander Heuvel JP, Moya Camarena SY, Portocarrero CP, Peck LW, Nickel KP, Belury MA (1998) Dietary conjugated linoleic acid normalises impaired glucose tolerance in the Zuckler diabetic fatty fa/fa rat. Biochem. Biophys. Res.Commun. 244, 678-682.
56. Hur Jin Sun and Park Yeonhwa (2007) Effect of conjugated linoleic acid on bone formation and rheumatoid arthritis. European journal of pharmacology 568, 16-24.
57. Impemba G, Cifuni G.F, Trana A Di (2005). Influence of feeding system, stage of lactation and genetic types on Δ9-desaturase activity in caprine milk. Options Mediterranean's Series A, No 74
58. Ip C., H.J.Thompson and J.A.Scimeca (1994). Conjugated linoleic acid suppresses mammary carcinogenesis and proliferative activity of the mammary gland in the rat. Cancer Res.54:1212-1215
59. Jahreis G, Fritsche J, Mockel P, Schone G, Moller U, Streinhart H (1999). The potential anticarcinogenic conjugated linoleic acid cis-9,trans-11 C18:2, in milk of different species:cow,goat,ewe,sow,mare,woman.Nutr.Res.19, 1541-1549.
60. Jensen R.G.,(2002). The composition of bovine milk lipid: January 1995 to December 2000.J.Dairy Sci.85,295-350
61. Jiang J,Bjoerck L, Fonden R, Emanuelson M (1996). Occurrence of conjugated cis-9, trans-11-octadecadienoic acid in bovine milk: effects of feeds and dietary regimen J.of Dairy Sci 79,438-445
62. Kacsoh B. (2000) Endocrine physiology. The McGraw-Hill Companies, Inc: New York

63. Kay J.K, Mackle T.R, Auldist M.J, Thompson N.A, Bauman D.E (2002). Endogenous synthesis of cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid in pasture-fed dairy cows. J. Dairy Sci.85 (suppl.1),176 (Abstr.).
64. Keeney M (1970). Lipid metabolism in the rumen. In:A.T.Philipson (Ed.) Physiology of digestion and metabolism in the ruminant.pp.489-503. Oriel Press, Newcastle upon Tyne, U.K.
65. Kelley N.S, Hubbard N.E and Erickson K.L (2007) Conjugated linoleic acid isomers and cancer. Journal of nutrition 137:2599-2607.
66. Kelly GS, (2001). Conjugated linoleic acid : a review. Altern Med Rev.6(4), 367-382
67. Kelly M.L, Kolver E.S, Bauman D.E, Van Amburgh M.E, Muller L.D (1998a). Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating cows. J. Dairy Sci., 81:1630-1636
68. Kelly M.L,Berry J.R,Dwyer D.A, Griinari J.M,Chouinard P.Y, Bauman D.E, Van Amburgh M.E, (1998b). Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating diary cows. J.Nutr.,128:881-885.
69. Kelly ML, Berry JR, Dwyer DA, Griinari JM,Chouinard PY,Van Amburgh ME, Bauman DE (1998). Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows. J.Nutr.128,881-885
70. Kelly O., Cusack S., Jewell C., Cashman K.D. (2003) The effect of polyunsaturated fatty acids, including conjugated linoleic acid, on calcium absorption and bone metabolism and composition in young growing rats. Br.J. Nutr.90,743-750
71. Kelsey J.A, Corl B.A, Collier R.J, Bauman D.E (2003).The effect of breed, parity and stage of lactation on conjugated linoleic acid in milk fat from dairy cows. J. Dairy Sci., 86:2588-2597
72. Kemp P, Lauder D.J, Gunstone F.D (1984). The hydrogenation of some cis- and trans- octadecenoic acids to stearic acid by a rumen Fusocillus sp. Br.J.Nutr.52:165-170.
73. Kennedy GC (1953). The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in rat. Proc Roy Soc Lond:140:579-92
74. Kepler C.R, Hirous K.P, McNeill J.J, Tove S.B (1966). Intermediates and products of the bio hydrogenation of linoleic acid by Butyrivibrio fibrisolvens. J.Biol.Chem,241, 1350-1354
75. Khanal R.C (2004). Potential health benefits of conjugated linoleic acid: A REVIEW. Asian- Australasian journal of animal sciences 17, 1315-1328
76. Khanal R.C and Olson K.C (2004). Factors affecting conjugated linoleic acid content in milk, meat and egg: A review. Pakistan Journal of Nutrition 3(2): 82-98.
77. Khanal R.C, Dhiman T.R (2004). Biosynthesis of conjugated linoleic acid (CLA): A review. Pakistan journal of nutrition 3 (2) : 72-81.
78. Khanal R.C, Dhiman T.R, McMahon D.J, Boman R.L (2002). Influence of diet in conjugated linoleic acid content of milk, cheese and blood serum. J.Dairy Sci.85, (suppl 1),142 (Abstr.).
79. Kinsella J.E (1972). Stearyl CoA as a precursor of oleic acid and glycerolipids in mammary microsomes from lactating bovine: possible regulatory step in milk triglyceride synthesis. Lipids 7:349-355.
80. Knekt P, Jarvinen R, Seppanen R, Pukkala E, Aromaa A (1996) Intake of dairy products and the risk of breast cancer. British journal of cancer 73, 687-691.
81. Kronenberg H.(2008). Williams textbook of Endocrinology 11th edition. Saunders
82. Kumar R, Bhatia A, Arora D (2009). Health benefits of conjugated linoleic acid :A review. Journal of clinical and diagnostic research 3:1953-1967
83. Lal D, Narayanan K.M (1984). Effect of lactation number on the polyunsaturated fatty acids and oxidative stability of milk fats. Indian J.Dairy Sci., 37:225-229
84. Larsson S.C, Bergkvist L, Wolk A (2005) High-fat dairy food and conjugated linoleic acid intakes in relation to colorectal cancer incidence in the Swedish Mammography Cohort. The American journal of clinical nutrition 82, 894-900.
85. Le Doux M, Rouzeau A, Bas P, Sauvant D (2002). Occurrence of trans-C18:1 fatty acids isomers in goat milk: effect of two dietary regiment .J.Dairy Sci.85, 190-197.
86. Lee K.N, Kritchevsky D, Pariza M.W (1994) Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. Atherosclerosis,108, 19-25.
87. Lin T.Y., Lin C.W. and Lee C.H (1999). Conjugated linoleic acid concentration as affected by lactic cultures and added linoleic. Food Chem. 67:1-5.

88. Lock A.L, Bauman D.E (2004). Modifying milk fat composition of dairy cows to enhance fatty acids beneficial to human health. Lipids,39, 1197-1206.
89. Lock A.L, Horne C.A.M, Bauman D.E, Salter A.M (2005) Butter naturally enriched in conjugated linoleic acid and vaccenic acid alters tissue fatty acids and improves the plasma lipoprotein profile in cholesterol-fed hamsters. Journal of nutr.135, 1934-1939.

90. Lock AL,Bauman DE,(2004). Modifying milk fat composition of dairy cows to enhance fatty acids beneficial to human health. Lipids, 39 1197-1206
91. Mc Donald J.K (1980) In veterinary endocrinology and reproduction . Ed LE Mc Donald Philadelphia
92. Meluchova B, Blasko J, Kubinec R, Gorova R, Dubravska J, Margetin M, Sojak L (2008) Seasonal variations in fatty acid composition of pasture forage plants and CLA content in ewe milk fat. Small ruminant research 78, 56-65
93. Meng Li, Qingzhang Li* and Xuejun Gao.(2010).Expression and function of leptin and its receptor in dairy goat mammary gland .Journal of Dairy Research 77 213–219. f Proprietors of Journal of Dairy Research 2010 213 doi:10.1017/S0022029910000063
94. Mihaylova G, Gerchev G, Moeckel P, Jahreis G (2004). Comparative study on fatty acid content in milk of Tsigay and Karakachan sheep. Bulgarian J OF Veterinary Medicine 7.No3,181-187.
95. Miller G.D, Jarvis J.K, Mc Bean L.D (2004). Handbook of dairy foods and nutrition (Second edition) CRC Press, New York 423 pp.
96. Moloney F, Yeow T.P,Mullen A, Nolan J.J, Roche H.M (2004) Conjugated linoleic acid supplementation, insulin sensitivity and lipoprotein metabolism in patients with type 2 diabetes mellitus. American Journal Clinical Nutrition. 80:887-95
97. Moloney F, Yeow T.P,Mullen A, Nolan J.J, Roche H.M (2004) Lipoprotein metabolism in patients with type 2 diabetes mellitus. Am.J.Clin.Nutr. 80(4):887-95
98. Nagao Koji and Yanagita Teruyoshi (2005). Conjugated fatty acids in food and their health benefits. Journal of bioscience and bioengineering Vol 100. No 2. 152-157
99. National Research Council (1988). Designing foods: Animal product options in the marketplace. National academy press, Washington, D.C.,376
100. National Research Council (1996). Carcinogens and Ant carcinogens in the human diet. National academy press, Washington, D.C 417
101. Nicolosi R.J, Rogers E.J, Kritchevsky D, Scimeca J.A, Huth P.J (1997) Dietary conjugated linoleic acid reduces plasma lipoproteins and early aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic hamsters. Artery,22, 266-277.
102. Nirvair S.Kelley, Neil E.Hubbard and Kent L.Erickson (2007). Conjugated linoleic acid isomers and cancer. J. Nutr.137:2599-2607
103. Norman James. EndocrineWeb.com: "The important roles of insulin and glucagon: Diabetes and Hypoglycemia". Normal Regulation of Blood Glucose.
104. Ntambi J.M (1995). The regulation of stearoyl-CoA desaturase 9SCD. Prog.Lipid Res.34, 139-150.
105. O'Shea M and Bassaganya-Riera J, Mohede I.C.M (2004) Immunomodulatory properties of conjugated linoleic acid. Am.J. of Clinical.Nutr.79: 1199S-1206S.
106. Ostrovsky I, Pavlikova E, Blasko J, Gorova R, Kubinec R, Margetin M, Sojak L (2009). Variation in fatty acid composition of ewes milk during continuous transition from dry winter to natural pasture diet. International dairy journal 19, 545-549.
107. Park Y., Pariza M.W., Park Y. (2008) Co supplementation of dietary calcium and conjugated linoleic acid improves bone mass in mice. Journal of food science Vol.73 Issue 7 Pages:C556-C560
108. Park Y.W, Juarez.M, Ramos M., Haenlein G.F.W.,(2007). Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. Small ruminant research 68. 88-113.
109. Park Yeonhwa (2009) Conjugatel linoleic acid(CLA): Good or bad trans fat? Review. Journal of food composition and analysis 22S, S4-S12.
110. Park Yeonhwa, Pariza Michael W (2007) Mechanisms of body fat modulation by conjugated linoleic acid. Foos research international 40, 311-323.
111. Parodi PW, (1997). Conjugated octadecadienic acids of milk fat. J.Dairy Sci.60, 1550-1553.
112. Piperova L.S,Sampugna J, Teter B.B, Kalscheur K.F, Yuraweez M.P, Ku Y., Morehouse K.M, Erdman R.A (2002). Duodenal and milk trans octadecenoic acid and conjugated linoleic acid CLA isomers indicate that postabsorptive synthesis is the

predominant source of cis-9 containing CLA in lactating dairy cows. J.Nutr.132, 1235-1241.
113. "Prandini Aldo,Sigolo Samantha, Cerioli Carla,Piva Gianfranco''.(2009).Survey on conjugated linoleic acid (CLA) content and fatty acid composition of Grana Padano cheese produced in different seasons and areas. Ital.J.anIm.Scl. vol. 8, 531-540
114. Rahman M., Bhattacharya A., Halade G., Banu J., Fernandes G. (2008). t10c12CLA isomer prevents age associated bone loss by modulating osteoclastogenesis. The FASEB journal 22:442.3
115. Ramirez-Santana Carolina, Castellote C, Castell M, Rivero M, Rodriguez-Palmero M, Franch A, Perez-Cano F.J (2009) Long- term feeding of the cis-9, trans-11 isomer of conjugated linoleic acid reinforces the specific immune response in rats. J.Nutr.139, 76-81.
116. Reiser R (1951). Hydrogenation of polyunsaturated fatty acids by the ruminant. Federation Proceedings 10, 236
117. Reklewska B, Bernatowicz E, Reklewski Z, Kuczynska B, Zdziarski K, Sakowski T, Sloniewski K (2005). Functional components of milk produced by polish Black and White, Polish RED and Simmental cows. Electronic journal of polish agricultural universities. Volume 8 Issue 3 Topic: animal husbandry.
118. "Ricardo Uauy, Patricio Peirano, Dennis Hoffman, Patricia Mena, David Birch and Eileen Birch.(1996).Role of essential fatty acids in the function of the developing nervous system . Lipids Volume 31, Number 1, S167-S176, DOI: 10.1007/BF02637071. springer.com
119. Riserus U, Arner P, Brismar K, Vessby B (2002) Treatment with dietary trans10,cis12 conjugated linoleic acid causes isomer - specific insullin resistance in obese men with the metabolic syndrome. Diabetes care 25: 1516-21
120. Saladin R., VOS DE(1995).Transient increase in obese gene expression after food intake or insulin administration - Nature, - cat.inist.fr
121. Secchiary P.M, Mele A, Serra A, Buccioni M, Antongiovanni G, Ferruzzi F, Paoletti A.L (2001). Conjugated linoleic acid content in milk of three dairy sheep breeds. Progr.Nutr3, 37-42.
122. Shorland F.B, Weenink R.O, Johns A.T (1955). Effect of the rumen on dietary fat. Nature 175:1129-1130
123. Signorelli F, Contarini G, Annicchiarico G, Napolitano F, Orru L, Catillo G, Haenlein G, Moioli B (2008). Breed differences in sheep milk fatty acid profiles: Opportunities for sustainable use of animal genetic resources. Small ruminant research 78, 24-31.
124. Song H.J, Grant I, Rotondo D, Mohede I, Sattar N, Heys S.D, Wahle K.W.J (2005). Effect of CLA supplementation on immune function in young healthy volunteers. European journal of clinical nutrition 59, 508-517.
125. Stanton C, Lawless F, Kjellmer G, Harrington D, Devery R,Connolly L.F, Murphy L (1997). Dietary influences on bovine milk cis-9,trans-11 conjugated linoleic acid content.J. Food Sci.62,1083-1086.
126. Sugano M, Tsujita A, Yamasaki M, Noguchi M, Yamada K (1998) Conjugated linoleic acid modulates tissue levels of chemical mediators and immunoglobulin's in rats. Lipids,33 , 521-527.
127. Talpur F.N, Bhanger M.I, Memon N.N (2009). Milk fatty acid composition of indigenous goat and ewe breeds from Sindh, Pakistan. Journal of food composition and analysis 22,59-64.
128. Terpstra A.H (2004) Effect of conjugated linoleic acid on body composition and plasma lipids in humans:An overview of the literature. American journal of clinical nutrition.79, 352-361.
129. Thorsdottir I, Hill J, Ramel A (2004). Short communication: Seasonal variation in cis-9,trans-11 conjugated linoleic acid content in milk fat from nordic countries. J. Dairy Sci.87:2800-2802.
130. Tsiplakou E, Kominakis A, Zervas G (2008). The interaction between breed and diet on CLA and fatty acids content of milk fat of four sheep breeds kept indoors or at grass. Small ruminant research 74:179-187.
131. Tsiplakou E, Mountzouris K.C, Zervas G (2006a) Concentration of conjugated linoleic acid in grazing sheep and goat milk fat. Liv.Sci.103,74-78

132. Tsiplakou E, Mountzouris K.C, Zervas G (2006b). The effect of breed, stage of lactation and parity on sheep milk fat CLA content under the same feeding practices. Livt.Sci 105, 162-167.
133. Tsiplakou E, Zervas G (2008a). The effect of dietary inclusion of olive tree leaves and graprmarc on the content of conjugated linoleic acid and vaccenic acid in the milk of dairy sheep and goats. J.Dairy Res.75(3),270-278
134. Tsiplakou E, Zervas G (2008b). Comparative study between sheep and goats on rumenic acid and vaccenic acid in milk fat under the same dietary treatments. Liv.Sci
135. Turpeinen A.M, Ylonen N, von Willebrand E, Basu S, Aro A (2008) Immunological and metabolic effects of cis-9,trans-11 conjugated linoleic acid in subjects with birch pollen allergy. The British journal of nutrition 100, 112-119.
136. Ulbricht TLV, Southgate DAT (1991). Coronary heart disease: Seven dietary factors. Lancet 338, 985-992.
137. Urso S, Cutrignelli MI, Calabro S, Bovera F, Tudisco R, Piccolo V, Infascelli F (2008). Influence of pasture on fatty acid profile of goat milk. PubMed
138. "W. Scheppach, H. P. Bartram and F. Richter.(1995).Role of short-chain fatty acids in the prevention of colorectal cancer European Journal of Cancer. Volume 31, Issues 7-8, July-August 1995, Pages 1077-1080 . Colorectal Cancer: From Gene to Cure
139. Ward R.J, Travers M.T, Richards S.E, Vermon R.G, Salter A.M, Buttery P.J, Barder M.C (1998). Stearoyl-CoA desaturase mRNA is transcribed from a single gene in the ovine genosome. Biochim Biophys. Acta 1931, 145-156.
140. Watkins B.A and Seifert M.F (2000). Conjugated linoleic acid and bone biology. J.Am. Coll.Nutr.Aug 19(4), 4785-4865.
141. White S.L, Bertrand J.A, Wade M.R, Washburn S.P, Green J.T, Jenkins T.C (2001)Comparison of fatty acid content of milk from Jersey and Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. J.Dairy Sci.84,2295-2301.
142. Wikipedia-Fatty acids. 2011.
143. Wilde P.F, Dawson RMC (1966). The bio hydrogenation of a-linolenic acid and oleic acid by rumen micro-organisms. Biochem.J. 98,469-475.
144. Yamasaki M, Chjo H, Koga Y, Oishi A, Rikimaru T, Shimada M et al (2002) Potent cytotoxic effect of the trans10, cis12 isomer of conjugated linoleic acid on rat hepatoma dRLh-84 cells. Cancer lett188:171-80.
145. Zhang Y., Proenca R., Maffei M.,Barone M.,Leopold L.,Friedman GM.,(1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. Nature:372:425-32

Ελληνική βιβλιογραφία

1. Ανυφαντάκης Εμμ. Μ. Σημειώσεις εργαστηριακών ασκήσεων του μαθήματος <Γεωργικών βιομηχανιών> Σημειώσεις γαλακτοκομίας
2. Διαμαντίδης, Γ., (1994). Εισαγωγή στη Βιοχημεία. Εκδόσεις University Studio Press.Θεσσαλονίκη.
3. Ζέρβας Γ, Καλαισάκης Π. και Φεγγερός Κ (2004). Φυσιολογία θρέψης παραγωγικών ζώων. Εκδόσεις Σταμούλη, Αθήνα
4. Ζέρβας Γεώργιος Π. (2005). Φυσιολογία θρέψης παραγωγικών ζώων. Εκδόσεις Σταμούλης, Αθήνα
5. Τζια Κωνσταντίνα. Λειτουργικά τρόφιμα: Τεχνολογία, προοπτικές, χρήσεις. Αναπλ. Καθηγήτρια ΕΜΠ, Εργαστήριο Τεχνολογίας Τροφίμων, Σχολή Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ
6. Τσιπλάκου Ελένη (2008). «Συγκριτική μελέτη παραγωγής Συζευγμένου λινελαϊκού οξέος (CLA) μεταξύ προβατινών και αιγών».Διδακτορική μελέτη .
7. Χαδιώ Σ. (2006).Σημειώσεις στους μεταπτυχιακούς φοιτητές του τμήματος Ζωικής Παραγωγής της κατεύθυνσης της φυσιολογίας της αναπαραγωγής.