

P. SECCHIARI, M. MELE,
A. SERRA

L'acido linoleico coniugato nella carne e nel latte dei ruminanti: principali fattori di variazione genetici ed alimentari

PROGRESS IN NUTRITION
VOL. 9, N. 2, 108-123, 2007

TITLE

Conjugated linoleic acid in meat and milk from ruminants: genetic and dietary sources of variation

KEY WORDS

CLA, polyunsaturated fatty acids, stearoyl CoA-desaturase, meat, milk

PAROLE CHIAVE

CLA, acidi grassi polinsaturi, stearoil CoA desaturasi, latte, carne

Summary

The conjugated linoleic acid (CLA) isomers refer to a group of fatty acids contained in milk and meat from ruminants. Numerous physiological properties have been attributed to CLA including action as an antiadipogenic, antidiabetogenic, anticarcinogenic and antiatherosclerotic agent. In light of the potential benefits to long-term human health, there is considerable interest in developing strategies to enhance CLA content in food. The milk and meat content from ruminants is highly variable and several dietary and genetic factors concur to affect it. Several investigations have highlighted that some diet characteristics (polyunsaturated fatty acid content, forage:concentrate ratio; carbohydrate:protein ratio; type of the forage) are able to significantly affect the CLA synthesis. Concerning the genetic sources of variation, a few knowledges are available. Some investigations highlighted a wide variability in the milk CLA content, when animals are fed with the same dietary regimen. This finding has been proposed to be related to a potential genetic variability. A putative role may be played by the genetic polymorphism of Δ^9 desaturase gene. This gene encodes for the homonymous enzyme that is responsible of the endogenous synthesis of the main CLA isomer in milk and meat: the cis-9, trans-11, also namely rumenic acid.

Riassunto

Gli isomeri coniugati dell'acido linoleico (CLA) sono un gruppo di acidi grassi che caratterizzano il latte e la carne dei ruminanti in quanto la loro origine è strettamente connessa con i fenomeni di bioidrogenazione che avvengono nel ruminante a carico degli acidi grassi insaturi presenti nella dieta degli animali. Da alcuni anni l'interesse della comunità scientifica nei confronti di queste sostanze è legato alle evidenze sperimentali che dimostrano un'interessante attività biologica di alcuni degli isomeri CLA come fattori di prevenzione rispetto ad alcune importanti patologie dell'uomo come il cancro, il diabete, l'obesità e l'aterosclerosi. A fronte di queste proprietà è sorto un notevole interesse per aumentare il contenuto di CLA negli alimenti. Il contenuto di CLA nel latte e nella carne è estremamente variabile in quanto più fattori di natura alimentare e genetica concorrono ad influenzarlo. Gli aspetti legati alla composizione della dieta sono quelli

Dipartimento di Agronomia e Gestione dell'Agroecosistema, Università di Pisa

che certamente agiscono in maniera più marcata determinando variazioni importanti del contenuto di CLA nel latte e nella carne. I fattori alimentari che più interferiscono con il contenuto di CLA nel latte e nella carne sono la presenza di fonti lipidiche nella dieta ricche in acidi grassi polinsaturi, il diverso rapporto foraggi/concentrati della dieta, l'equilibrio fra proteine e carboidrati della dieta e la natura della componente foraggera della dieta. Dal punto di vista genetico le conoscenze sono meno vaste in quanto solo recentemente è stato affrontato questo aspetto. Alcune evidenze sperimentali hanno messo in luce una notevole variabilità individuale a parità di regime alimentare che, probabilmente, è legata ad una variabilità genetica. Una probabile fonte di variazione è quella legata al polimorfismo genetico del gene che codifica per l'enzima Δ^9 desaturasi, responsabile della sintesi endogena dell'isomero CLA più rappresentato nel latte e nella carne: il cis-9, trans-11 o acido rumenico

Introduzione

Gli isomeri coniugati dell'acido linoleico (CLA) rappresentano un gruppo di acidi grassi caratterizzati dall'aver due doppi legami adiacenti ($R-CH=CH-CH=CH-R$) con isomeria geometrica e posizionale variabile. Teoricamente è possibile ipotizzare l'esistenza di un numero rilevante di isomeri CLA; il diene coniugato può presentarsi infatti in diverse posizioni della catena carboniosa (composta, nel caso dei CLA, da 18 atomi di carbonio). I doppi legami si possono trovare in corrispondenza della coppia di carboni 7-9, come pure di quelle 8-10, 9-11, 10-12 e così via. Inoltre, ognuno di questi isomeri di posizione, si può differenziare in ulteriori quattro isomeri geometrici, in funzione della posizione reciproca assunta nello spazio dagli idrogeni

posti in corrispondenza dei carboni interessati dai doppi legami. Si possono presentare, pertanto, le seguenti combinazioni: *cis-trans*, *trans-cis*, *cis-cis*, *trans-trans*. La presenza di questi acidi grassi negli alimenti ottenuti dai ruminanti è nota da molto tempo. Già nel 1935, infatti, Booth et al. pubblicano su *Journal of Biochemistry* un lavoro sulle variazioni stagionali della composizione del burro in cui osservano un notevole assorbimento a 230 nm nell'ultravioletto (lunghezza d'onda alla quale si massimizza l'assorbimento del diene coniugato), che aumenta nel caso il burro provenga da latte di animali alimentati al pascolo. Il grande sviluppo della ricerca riguardo la presenza di CLA negli alimenti, tuttavia, ha origine da un'occasionale scoperta di Michael Pariza, un ricercatore americano che nel 1979 rileva la

presenza nella carne di hamburger di una sostanza con attività antimutagena, che, testata sui ratti, si dimostra in grado di inibire alcune forme di tumore chimicamente indotte. Poco tempo dopo lo stesso Pariza identificherà questa sostanza come una serie di isomeri posizionali e geometrici dell'acido linoleico contenenti due doppi legami coniugati; per semplicità questo gruppo di molecole viene chiamato con l'acronimo di CLA. A partire da questa evidenza scientifica, un numero sempre crescente di gruppi di ricerca si cimenta nello studio da un lato degli effetti biologici dei CLA sulla salute umana e, dall'altro, dei meccanismi biochimici e fisiologici che determinano la presenza più o meno elevata di queste sostanze nel latte e nei tessuti dei ruminanti.

Effetti biologici del CLA

L'interesse della comunità scientifica verso questo composto è legato, pertanto, alla sua attività biologica. Secondo la National Academy of Science (NCR, 1996) il CLA è "l'unico acido grasso che mostra in maniera inequivocabile attività anticarcinogena in esperimenti realizzati su animali".

E' stato dimostrato, inoltre, che questa molecola può evidenziare attività immunomodulante oltre che essere attiva anche in altre patologie come l'aterosclerosi, il diabete e l'obesità. Queste proprietà sono state inizialmente dimostrate in studi in vitro ed in vivo su animali da laboratorio, ma per alcune di esse sono attualmente disponibili alcune evidenze anche relative a studi sull'uomo (1).

Riguardo le modalità con le quali il CLA agisce, è stato presto messo in evidenza che la sua attività biologica è da attribuirsi ai singoli isomeri piuttosto che all'intero pool. Per quanto riguarda l'attività anticarcinogena, solo gli isomeri *cis*-9, *trans*-11 e *trans*-10, *cis*-12 si sono rivelati attivi e probabilmente non è da escludere un'azione sinergica dei due (2). Studi su ratti hanno evidenziato che, nel caso del carcinoma della mammella, l'azione del CLA è dose dipendente e i migliori risultati si ottengono se l'assunzione avviene durante il periodo dello sviluppo di questo tessuto (3). Gli

stessi risultati sono stati ottenuti nel caso del tumore all'intestino e alla prostata (2, 4). Il meccanismo d'azione non è ben noto, soprattutto perché si esplica durante stadi diversi dello sviluppo del cancro, tuttavia i risultati di numerosi studi in vitro suggeriscono che il CLA modula i segnali molecolari che influiscono sul ciclo cellulare, regolando così la proliferazione cellulare (5). Si sa con certezza che il CLA compete con l'acido linoleico (LA) riducendo la formazione dell'acido arachidonico (AA), precursore degli eicosanoidi che svolgono un ruolo importante nella carcinogenesi. Il CLA, infatti, può essere metabolizzato come il LA originando altri acidi a lunga catena che mantengono la coniugazione ed interferiscono con la sintesi degli eicosanoidi e della prostaglandina E (6). Esperimenti su cavie da laboratorio hanno permesso di osservare la distribuzione del CLA all'interno dei lipidi evidenziando un'esterificazione preferenziale nei trigliceridi, in posizione sn2, piuttosto che nei fosfolipidi (6). Analogo comportamento è tenuto dai suoi metaboliti, fatta eccezione per il C20:4 coniugato che si dispone nei fosfolipidi, per la precisione nella fosfatidilserina, a differenza dell'acido arachidonico, suo isomero posizionale, che si trova nella fosfatidilcolina (6). I risultati ottenuti utilizzando sia il *cis*-9, *trans*-11 sia il *trans*10, *cis*12 non differiscono in

maniera significativa, ma è da notare che diverso è il loro comportamento nella cascata dei metaboliti. Mentre il *cis*-9, *trans*-11, infatti, arriva fino alla sintesi del C20:4, nel caso dell'isomero *trans*-10, *cis*-12 si ha un accumulo dell'acido linolenico coniugato, dovuto ad un blocco dell'enzima elongasi (6). Anche quando il CLA è ossidato, sembrerebbe avere un'attività anticarcinogena a causa della sua citotossicità (7).

Il *cis*9 *trans*11, oltre a modulare l'incorporazione dell'acido arachidonico, induce anche l'aumento di retinolo (Vitamina A). L'attività di questo isomero CLA sulla sintesi degli eicosanoidi e sull'aumento di retinolo tissutale potrebbero rappresentare i fattori chiave per spiegare i suoi effetti pleiotropici (8).

Alcune prove sperimentali effettuate su ratti, dimostrerebbero che l'isomero *cis*-9, *trans*-11 è un promotore della crescita agendo positivamente sull'efficienza di utilizzo dei nutrienti, senza modificare la composizione corporea. Al contrario, l'isomero *trans*10, *cis*12 modifica la composizione corporea facendo aumentare la massa magra e riducendo quella grassa (9). Esso, infatti, impedirebbe l'introduzione dei lipidi nelle cellule degli adipociti interferendo con l'attività degli enzimi lipoproteinlipasi e stearoyl-CoA desaturasi; in quest'ultimo caso, oltre ad agire direttamente sull'enzima inibendolo, impedirebbe anche

la trascrizione del gene con un meccanismo al momento sconosciuto. L'attività esercitata da questi isomeri non sembrerebbe essere collegata ai loro metaboliti, ma esplicita mediante azione diretta di loro stessi nei confronti dei rispettivi target (4).

Fra le attività dei CLA (isomeri *cis*9, *trans*11 e *trans*10, *cis*12) si ritrovano anche quella antiaterogena ed ipocolesterolemica in quanto è stata osservata una diminuzione del tasso di colesterolo LDL nel plasma con conseguente decremento della formazione di placche aterosclerotiche in ratti alimentati con diete arricchite con questo acido grasso. Anche in questo caso il meccanismo non è del tutto chiaro, ma sembra che il CLA, in competizione con l'arachidonico, che è responsabile della sintesi di fattori promotori dell'aggregazione delle placche aterosclerotiche (TXA₂), inibisca la ciclossigenasi che è un enzima attivo nella cascata dell'arachidonico (1).

Gli effetti positivi sul diabete sono correlati al miglior utilizzo del glucosio presente nel plasma ed ad una maggiore efficienza dell'insulina, ma anche in questo caso il meccanismo non è noto. Alcuni studi effettuati su di un gruppo di 127 volontari umani, hanno evidenziato una correlazione positiva fra la quantità di *cis*9, *trans*11 presente nel sangue e nel tessuto adiposo ed il consumo di latte (1).

Nei ratti un elevato consumo di CLA nella dieta, fornito sotto forma di burro arricchito, comporta un arricchimento in questo acido grasso nei tessuti, anche dovuto alla desaturazione dell'acido vaccenico (VA, *trans*11 C18:1) ad opera della Δ^9 desaturasi. Questo fenomeno è stato osservato anche nell'uomo a seguito dell'assunzione di formaggio (Banni, comunicazione personale).

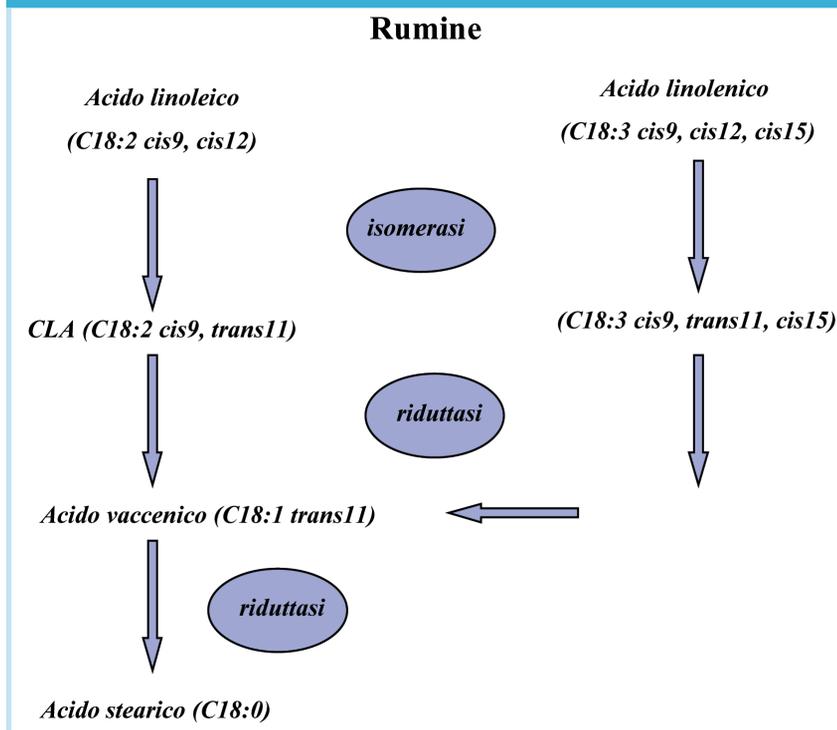
I CLA nel latte e nella carne

I CLA sono acidi grassi caratteristici del latte e della carne dei ruminanti in quanto è nel rumine che si creano le condizioni affinché queste sostanze si originino, a partire dagli acidi grassi insaturi a 18 atomi di carbonio presenti nei lipidi della dieta degli animali. All'interno del rumine, infatti, si trova un consorzio di microrganismi di natura assai differente (batteri, protozoi, alghe, funghi), la cui composizione può variare in funzione della dieta. Alcuni batteri sono in grado di operare la lipolisi dei trigliceridi della dieta e, successivamente, la riduzione dei doppi legami eventualmente presenti sulla catene carboniose degli acidi grassi. Questo processo prende il nome di bioidrogenazione ruminale e porta all'accumulo nel rumine di C18:0 (acido stearico) a partire dagli acidi grassi polinsaturi *cis*-9, *cis*-12 C18:2 (aci-

do linoleico) e *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15 C18:3 (acido alfa-linolenico, LNA) (Fig. 1). Gli studi effettuati su colture cellulari pure hanno mostrato che l'intero processo di bioidrogenazione non è realizzato da un singolo microorganismo, ma piuttosto da un pool di batteri che gestiscono i vari step di reazione. In tal senso, i batteri ruminanti possono essere divisi in due gruppi: il gruppo A che riduce il LA e il LNA ad acido vaccenico (VA) ed il gruppo B che conclude la sequenza delle idrogenazioni riducendo il VA ad acido stearico (10).

Benché il processo di bioidrogenazione ruminale del LA preveda la formazione come prodotto intermedio dell'isomero *cis*-9, *trans*-11 CLA, nel liquido ruminale è stato identificato un numero piuttosto elevato di altri isomeri posizionali e geometrici dei CLA. I due doppi legami, infatti, si possono ritrovare dalla posizione 6-8 a quella 13-15 con disposizione *cis* e *trans* variabile. Al contrario di quanto è stato ipotizzato inizialmente, gli isomeri CLA che si formano durante il processo di bioidrogenazione ruminale del LA concorrono solo in minima parte alla presenza di queste sostanze nel latte e nella carne, ciò a causa del fatto che l'intera reazione di bioidrogenazione avviene molto velocemente fino alla formazione di VA, mentre lo step successivo è significativamente più lento e può portare ad accumuli nel rumi-

Figura 1 - Processo di bioidrogenazione ruminale a carico degli acidi grassi polinsaturi presenti nella dieta (10)



ne, con conseguente transito nei successivi tratti dell'apparato digerente, proprio di quest'ultimo acido grasso, piuttosto che di CLA. In realtà, come osservato da Parodi già nel 1977 (11), l'isomero naturalmente presente nel latte e nella carne in quantità più elevate (di norma superiori al 70%) è il *cis-9, trans-11* CLA, al quale è stato assegnato il trivial name di acido rumenico (RA).

La presenza di RA nel latte e nella carne è fortemente correlata con quella del *trans-11* C18:1 (acido vaccenico, VA) in quanto questo aci-

do grasso rappresenta il precursore del RA nella reazione di desaturazione operata dall'enzima stearoil Co-A desaturasi (SCD). Questo enzima, presente in maniera ubiquitaria nei mammiferi, è particolarmente attivo nel tessuto lipidico dei ruminanti nella fase di accrescimento ed ingrasso e nelle cellule alveolari della ghiandola mammaria degli animali in lattazione. È proprio l'attività desaturasica dell'enzima SCD a carico del VA a contribuire in maniera maggiore a determinare il contenuto totale di CLA nel latte e nella carne dei ruminanti, mentre l'ap-

porto delle bioidrogenazioni ruminanti (cui è legata effettivamente la presenza degli isomeri CLA diversi dal RA) rappresenta quantità che vanno dal 10 al 30% del contenuto totale di CLA, in funzione anche dei diversi regimi alimentari cui l'animale è sottoposto.

I CLA contenuti nel latte e nella carne, pertanto, sono rappresentati per almeno due terzi da un solo isomero, il *cis-9, trans-11*. La presenza di questo isomero è legata in minima parte alla sua formazione a livello ruminale e, in maniera assai più significativa, alla neosintesi tessutale da parte dell'enzima SCD, che desatura il VA. Dato che il VA origina dal processo di bioidrogenazione ruminale del LA e LNA, appare evidente che il contenuto di CLA nel latte e nella carne è strettamente legato sia ai fattori in grado di influenzare il processo di bioidrogenazione ruminale e quindi l'accumulo di VA nel rumine (apporto di LA e LNA con la dieta, composizione chimico nutrizionale della dieta, composizione della popolazione microbica ruminale, pH del liquido ruminale, velocità di transito del bolo ruminale, ecc.) sia ai fattori che determinano l'attività desaturasica dell'enzima SCD nei tessuti. Alla luce di quanto esposto si può comprendere il motivo per cui il contenuto di CLA nel latte e nella carne dei ruminanti si caratterizza per una notevole variabilità (Tab. 1).

Tabella 1 - Variabilità del contenuto totale di CLA nel latte e nella carne dei ruminanti (g/100 g di lipidi totali)

	Latte (min. - max.)	Carne (min. - max.)
Bovini	0.5 - 2.0	0.2 - 1.8
Ovini	0.5 - 2.5	0.5 - 2.0
Caprini	0.5 - 3.0	0.5 - 2.0
Bufalini	0.5 - 1.5	

Fattori di variazione dei CLA nel latte e nella carne

Effetti dell'alimentazione

Come illustrato in precedenza, l'andamento del processo di bioidrogenazione ruminale svolge un ruolo fondamentale nel determinare la quantità di VA e di una quota variabile di isomeri CLA che esce dal rumine e, attraverso la via dell'assorbimento intestinale, raggiunge i tessuti, per essere incorporata nel grasso.

Numerosi studi hanno evidenziato che il regime alimentare è il fattore che più di altri concorre ad influenzare l'andamento delle bioidrogenazioni ruminali (12). In particolare la presenza di fonti lipidiche nella dieta ricche in LA e LNA, il diverso rapporto foraggi/concentrati della dieta, l'equilibrio fra proteine e carboidrati della dieta e la natura della componente foraggera della dieta sono i fattori il cui effetto è stato maggiormente studiato nelle diverse specie di ruminanti, anche se indubbiamente la quantità di dati disponibile per la

specie bovina è decisamente superiore a quella delle altre specie.

Allo stato attuale delle conoscenze è possibile affermare che i maggiori incrementi di CLA nel latte si sono ottenuti mediante l'utilizzo di fonti lipidiche nella dieta come gli oli vegetali ad alto contenuto di LA e di LNA (olio di girasole, olio di soia, olio di lino, olio di cartamo) e l'olio di pesce. Buoni risultati, anche se certamente inferiori a quelli ripor-

tati per gli oli sopra ricordati, sono stati ottenuti anche con oli ad elevato contenuto di acido oleico come l'olio di colza e l'olio di oliva (Figg. 2-5). Gli incrementi più significativi si ottengono allorché l'integrazione di lipidi della dieta supera il 4% della sostanza secca totale ingerita dall'animale.

Anche i semi interi delle stesse specie vegetali sopra ricordati consentono di ottenere significativi incrementi del contenuto di CLA nel latte e nella carne, anche se, a parità di specie vegetale, il valore di tali incrementi è inferiore a quello ottenibile con l'uso del solo olio. I semi oleosi sottoposti a trattamenti come l'estrusione consentono di ottenere risultati intermedi tra quelli riscontrabili con l'uso del seme non trattato e l'olio puro (13).

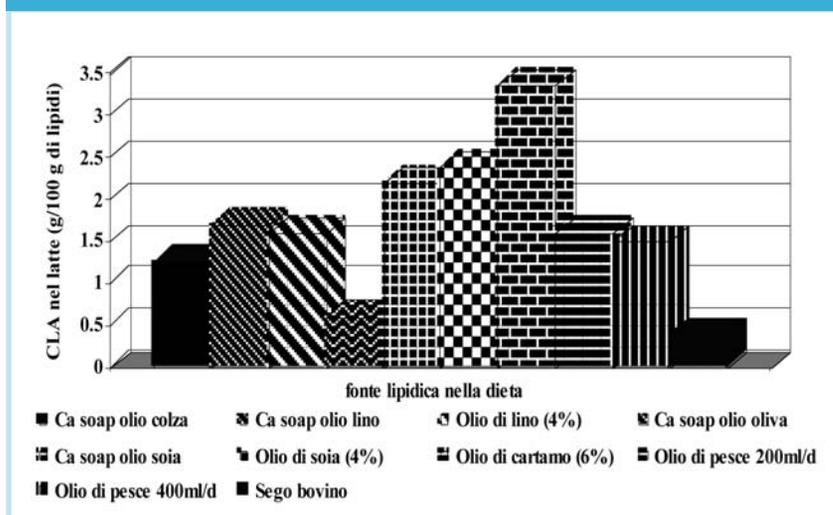
Figura 2 - Effetto dell'integrazioni lipidiche nella dieta con grassi animali e vegetali sul contenuto in CLA del latte bovino (37, 38)

Figura 3 - Effetto dell'integrazione lipidica della dieta con semi oleosi sul contenuto in CLA del latte bovino (37, 38)

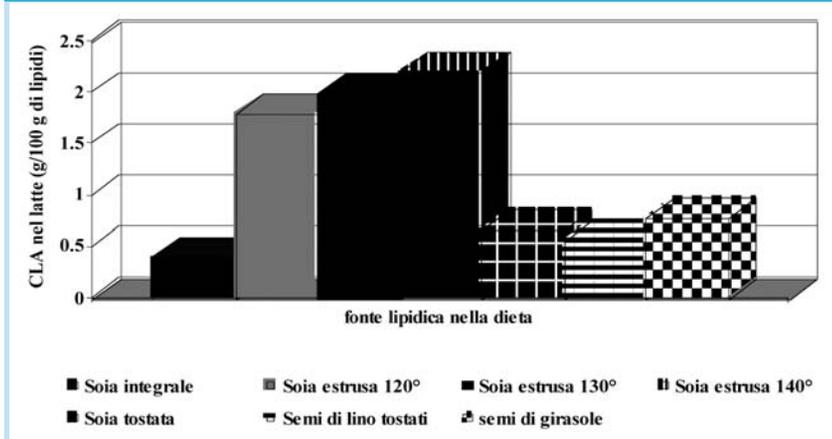
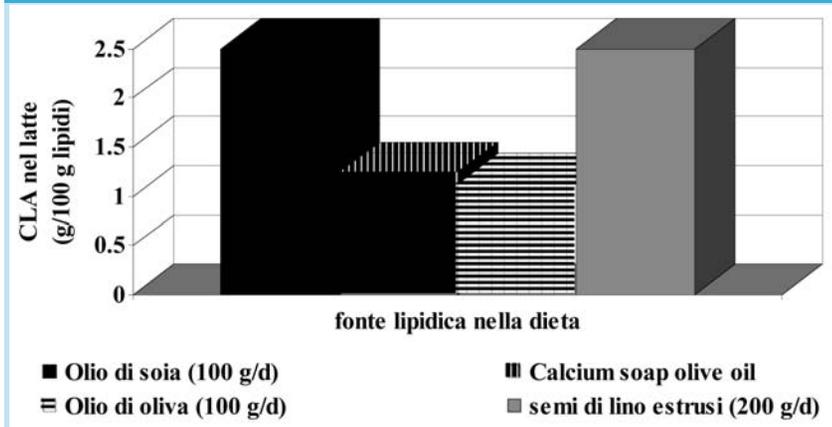


Figura 4 - Effetto dell'integrazione lipidica della dieta sul contenuto in CLA del latte ovino (12, 20).



E' importante ricordare che, in riferimento all'utilizzo di oli ad alto contenuto di acidi grassi polinsaturi (PUFA), i risultati riportati in letteratura, a parità di quantità di olio somministrato con la dieta, variano in funzione della specie utilizzata, dell'attitudine produttiva (latte o carne) e anche dell'interazione con

le altre componenti della dieta. Un ruolo particolare, a questo proposito, sembra essere svolto sia dalle caratteristiche della base foraggera della dieta (erba fresca, fieno, insilato) sia dal rapporto foraggio/concentrato (Fig. 6). Questi fattori sembrano essere importanti soprattutto nel determinare i diversi rapporti che si

instaurano fra gli isomeri CLA e gli isomeri trans del C18:1. Diete a più alto contenuto di concentrato o nelle quali la base foraggera è costituita da insilati, sembrano favorire l'accumulo di più elevate quantità di *trans*-10 C18:1 e *trans*-10, *cis*-12 CLA a spese del contenuto di VA e di RA (14). Nella bovina da latte l'aumento della produzione ruminale dei primi due acidi grassi è stato messo in relazione alla comparsa della sindrome della depressione del grasso nel latte, a causa di un loro effetto inibitorio sugli enzimi lipogenici mammari (15).

La presenza di erba fresca nella razione degli animali garantisce, di norma, un sufficiente apporto di LNA tale da garantire contenuti di VA e di RA nel latte e nella carne in alcuni casi comparabili con quelli ottenibili con l'aggiunta di oli ad alto contenuto di PUFA (Tabb. 2, 3). In questo caso, tuttavia, un ruolo molto importante è svolto anche dalla modalità di assunzione dell'erba stessa, dalla composizione floristica del cotico erboso e dallo stadio di maturazione delle essenze foraggere stesse. In generale l'erba fresca assunta tramite pascolamento consente di massimizzare l'apporto di LNA al rumine rispetto al caso in cui si somministri sfalcata, in quanto si evitano le perdite dovute all'ossidazione di LNA ad opera delle lipossigenasi della pianta (16). Diversi studi hanno evidenziato che il contenuto di CLA nel latte, a

Figura 5 - Effetto dell'integrazione lipidica della dieta sul contenuto in CLA del latte di capra (14; 39)

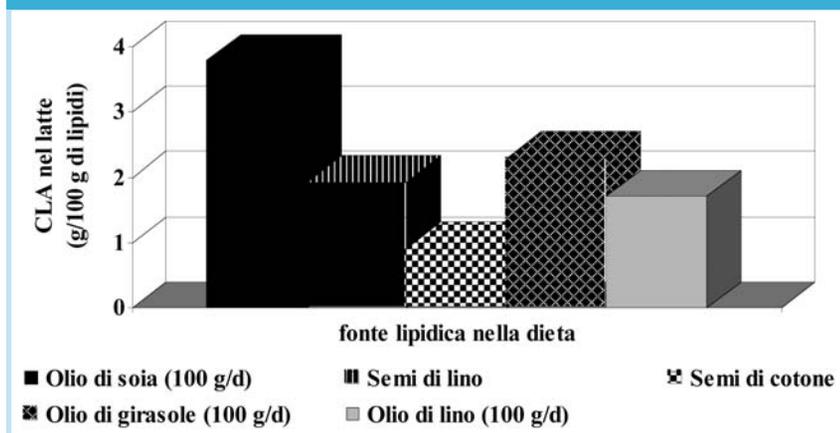
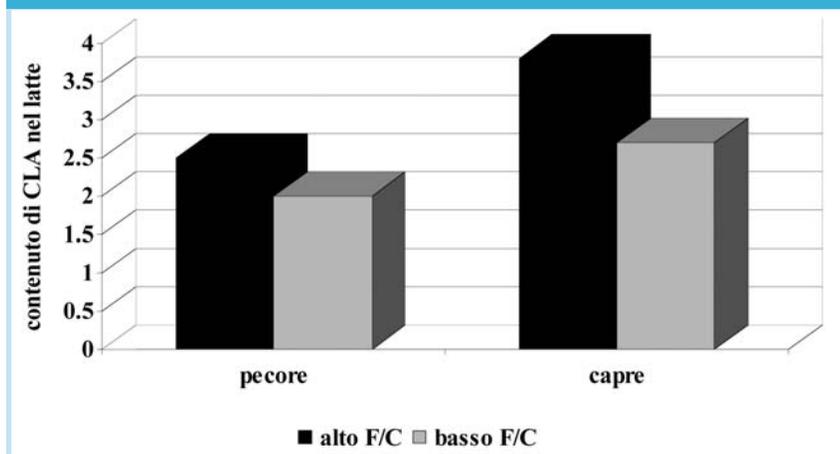


Figura 6 - Effetto dell'integrazione con olio di soia (100 g/capo/giorno) in pecore e capre in lattazione, al variare del rapporto foraggio/concentrato (F/C) (39; 40)



parità di erba ingerita, è anche funzione della composizione floristica del cotico erboso. In particolare la presenza di trifogli è spesso associata a più elevati contenuti di CLA rispetto a pascoli di sole graminacee o con essenze appartenenti ad altre famiglie botaniche (17, 18).

Infine, la presenza contemporanea nella dieta degli animali di oli ricchi in PUFA e di erba fresca non sempre ha manifestato un effetto sinergico (19, 20) e, quando tale effetto è stato osservato, il contenuto totale di grasso del latte ha subito una significativa riduzione (21). I

motivi che stanno alla base di questo fenomeno, tuttavia, non sono ancora stati chiariti, anche se, probabilmente, il grado di insaturazione dei lipidi aggiunti alla dieta, insieme alla qualità e alla quantità di erba ingerita, giocano un ruolo importante nel determinare gli effetti sopra osservati (22). Per quanto riguarda il grasso della carne bovina, al contrario, l'introduzione nella dieta di fonti lipidiche polinsature, in animali allevati al pascolo, ha portato ad un significativo aumento del contenuto di CLA (23).

Per quanto riguarda la carne derivante dai piccoli ruminanti, un ruolo importante è giocato dalla tecnica di allevamento adottata. Qualora gli animali siano macellati ad età molto precoci, entro il primo mese di vita, il contenuto di CLA nella carne è, di norma, piuttosto elevato in quanto il regime alimentare di questi animali è basato sulla quasi esclusiva assunzione di latte materno. Dato il carattere di estensività della maggior parte degli allevamenti ovini e caprini, che vede gli animali alimentati al pascolo per molti mesi l'anno, di norma il contenuto di CLA nel latte di pecora e capra è sufficientemente da garantire un buon trasferimento di questa sostanza anche al tessuto muscolare degli agnelli e dei capretti allattati (24).

In definitiva, allo stato attuale delle conoscenze è possibile affermare che esistono sufficienti evidenze sperimentali per applicare con suc-

Tabella 2 - Effetto del pascolo sul contenuto di CLA nel latte bovino

	<i>g/100 g lipidi</i>
Pascolo di avena	1.9
Pascolo su miscuglio graminacee e trifoglio (100% razione)	2.2
Pascolo su miscuglio graminacee e trifoglio (66% razione)	1.4
Pascolo su miscuglio graminacee e trifoglio (30% razione)	0.9
Pascolo su miscuglio di loietto e trifoglio	1.2
Pascolo su miscuglio di loietto e trifoglio + olio di girasole	1.2

Tabella 3 - Contenuto di CLA nella carne bovina in funzione del tipo di alimentazione

	<i>g/100 g lipidi intramuscolari</i>
Finissaggio in stalla	0.5
Finissaggio al pascolo (40 giorni)	0.5
Finissaggio al pascolo (100 giorni)	0.6
Finissaggio al pascolo (160 giorni)	0.7
Finissaggio al pascolo + olio di girasole (250 g/capo/giorno)	1.8
Finissaggio al pascolo + olio di lino (250 g/capo/giorno)	1.3

cesso specifiche strategie di arricchimento del latte e della carne, relativamente al contenuto di CLA, in funzione del livello che si vuole ottenere. Esistono, tuttavia, ancora alcuni ambiti da approfondire in merito alla possibilità di ottenere livelli di arricchimento stabili durante l'intera lattazione nelle specie lattifere più importanti. Se da un lato, infatti, nella specie ovina è stato dimostrato essere possibile mantenere livelli di arricchimento medio alti per quasi tre mesi di lattazione (20), di contro nella vacca da latte dopo poche settimane di trattamento alimentare si osserva un rapido decremento del livello di

RA a favore di altri isomeri CLA tra cui il *trans-10*, *cis-12* (25). Al momento nella specie caprina non sono ancora stati pubblicati dati relativi a prove sperimentali di lungo periodo (superiori alle 8 settimane di lattazione).

Un altro aspetto che merita di essere approfondito è quello relativo al fatto che le strategie di arricchimento sopra ricordate comportano, come effetto associato all'aumento del RA nel latte e nella carne, anche un aumento del VA e di altri isomeri *trans* del C18:1 e di isomeri non coniugati del C18:2 e C18:3 (13). Nonostante l'isomero *trans* predominante rimanga il VA che,

come è già stato sottolineato, rappresenta anche nei tessuti umani un precursore del RA e, pertanto, da considerarsi in maniera differente rispetto agli altri isomeri *trans* C18:1, di fatto, se si considera l'intero gruppo degli acidi grassi *trans* (alla stregua di quanto previsto per l'indicazione in un'eventuale etichetta nutrizionale del prodotto), l'incremento di CLA nel latte e nella carne è sempre accompagnato da incrementi significativi degli isomeri *trans* del C18:1 (26). Questo fatto va attentamente valutato e considerato ai fini della valorizzazione dei prodotti e di una loro eventuale immissione sul mercato. Infine, è necessario tenere in considerazione che, a parità di strategia nutrizionale, i risultati ottenibili nelle diverse specie e razze di animali lattiferi non sempre sono omogenei, in quanto esistono specifici effetti individuali, di razza e di specie, spiegabili, almeno in parte, anche con una variabilità genetica associata al contenuto di CLA nel latte e nella carne. Questo aspetto, che verrà preso in considerazione nel prossimo paragrafo, non consente di poter escludere anche possibili effetti di interazione fra strategie nutrizionali e tipo genetico.

Effetti genetici

Per molto tempo la modificazione della qualità del grasso del latte e della carne si è basata esclusivamen-

te sulla differenziazione delle tecniche di alimentazione e di allevamento, alla luce anche del fatto che tali fattori consentono modifiche sostanziali del contenuto di acidi grassi (in alcuni casi aumentando o diminuendo di due o tre volte il contenuto di alcuni acidi grassi) e in tempi brevi. L'approccio legato al miglioramento genetico è sempre stato poco considerato per più motivi. Innanzitutto i metodi di miglioramento genetico tuttora applicati si basano in larga misura sulle basi teoriche della genetica quantitativa che, partendo dalla misurazione del fenotipo di interesse in un numero molto alto di individui nella popolazione di riferimento, prevede di stimare attraverso opportuni sistemi matematico-statistici, noti i parametri di ereditabilità del carattere nella popolazione e quello della parentela tra gli individui, il valore genetico dei riproduttori. Poiché solo negli ultimi anni lo sviluppo della tecnologia informatica da un lato e la diffusione di metodologie cromatografiche di più rapida e semplice applicazione dall'altro, hanno consentito di contenere i prezzi e i tempi di analisi degli acidi grassi del latte e della carne entro limiti ragionevoli, è relativamente recente l'interesse della comunità scientifica verso lo studio delle possibilità di migliorare la qualità del grasso del latte e della carne attraverso metodi di miglioramento genetico.

A questo si deve aggiungere il gros-

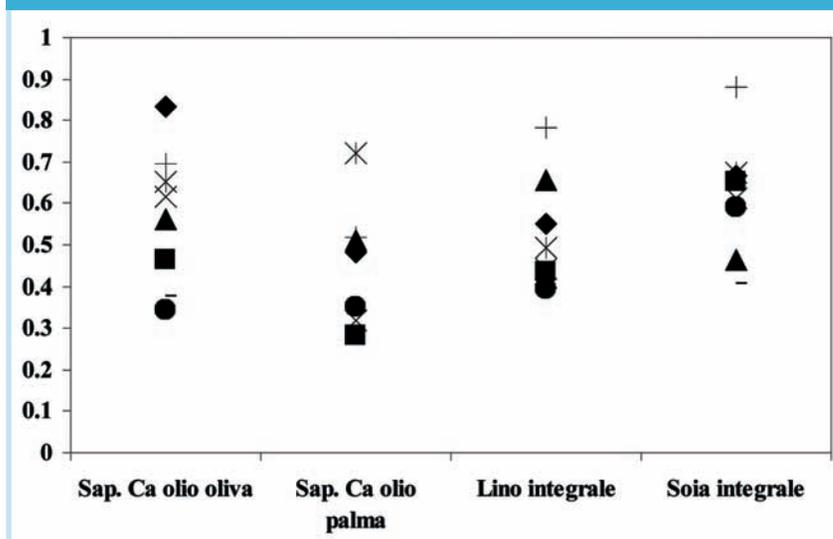
so sviluppo delle conoscenze a proposito del genoma delle specie di interesse zootecnico, che hanno consentito di acquisire informazioni importanti in merito alla presenza e alla struttura di geni polimorfi direttamente coinvolti nel metabolismo lipidico dei ruminanti. Questo ha aperto la possibilità di selezionare gli animali non solo in base ai risultati della valutazione genetica operata con metodi quantitativi, ma anche, qualora si giungesse ad associare determinate forme geniche a vantaggi nella composizione degli acidi grassi, sulla base della presenza o assenza di un determinato marcatore (la cosiddetta marker assisted selection).

L'ipotesi che il contenuto di CLA nel latte e nella carne potesse essere legato anche ad una variabilità di

tipo genetico è stata presa in considerazione fin dai primi risultati sperimentali, ottenuti da prove di alimentazione in cui gruppi differenti di animali venivano sottoposti a trattamenti alimentari mirati ad aumentare il contenuto di CLA nel latte e nella carne. Molti autori hanno evidenziato che, al di là dell'effetto medio del trattamento, una notevole variabilità individuale caratterizzava costantemente la distribuzione dei dati di contenuto di CLA attorno alla media del gruppo sperimentale (Fig. 7).

In merito al contenuto di CLA nel latte e nella carne, il gene SCD, che codifica per l'omonimo enzima, responsabile, come già evidenziato, della desaturazione del VA ad RA a livello tissutale, è considerato un possibile gene candidato, il cui stu-

Figura 7 - Variabilità individuale del contenuto di CLA a parità di regime alimentare in vacche da latte (38).



dio ha già fornito alcune interessanti indicazioni in merito alla possibilità di modificare la composizione degli acidi grassi del latte.

La Stearoil-CoA Desaturasi (SCD) (EC 1.14.99.5) è un enzima appartenente alla super-famiglia delle desaturasi di acili, presente nel mondo animale e vegetale e responsabile dell'inserimento di un doppio legame *cis*- in posizione Δ^9 . I substrati dell'enzima sono molteplici, ma quelli che manifestano una maggiore specificità, sono l'acido palmitico (C16:0) e l'acido stearico (C18:0), che sono convertiti rispettivamente in palmitoleato (C16:1 n-7) e oleato (C18:1 n-9) (27). L'acido palmitoleico e l'acido oleico sono i composti maggiormente rappresentati nei fosfolipidi di membrana, quindi la SCD svolge un ruolo determinante nel definire la fluidità delle membrane cellulari e regolare le interazioni tra due cellule contigue (28; 27). Il sistema Δ^9 desaturasi è costituito da tre elementi, di cui uno è la SCD che è coadiuvata dalla *Citocromo b5-reduttasi* e dal *Citocromo b5*. Il processo di desaturazione è consentito da una catena di trasporto di elettroni che vede come donatore iniziale il NADH e come accettore finale l'ossigeno che viene convertito in acqua (28) (Fig. 8). La proteina è costituita da tre regioni dette "istidiniche" per via dell'elevato numero di residui istidinici (1^a regione= HxxxxH, 2^a regione= HxxHH, 3^a regione= HxxHH). Le tre regioni, nell'insie-

me, rappresentano il sito di catalisi dell'enzima, dove si lega lo ione ferri-co. La conferma viene dal fatto che le tre regioni sono altamente conservate in tutte le specie (28). Per quanto riguarda la struttura del gene SCD negli animali di interesse zootecnico, nel bovino è stato sequenziato il gene completo (29), mentre nella pecora (30) nella capra (31), nel suino (32) e nel pollo (33) solo il cDNA. Riguardo la regione del promotore, è stata isolata e sequenziata quella dell'uomo, del topo, del pollo e del bovino. In tutti i casi citati, è stata notata la presenza di una regione altamente conservata, la PUFA

response element (PUFA-RE). Questa regione svolge un ruolo importante nella regolazione dell'espressione del gene (34). L'espressione del gene SCD è regolata da numerosi fattori che comprendono cambiamenti della dieta, il bilancio ormonale, cambiamenti della temperatura, presenza di metalli, alcoli, steroli, acidi grassi polinsaturi e composti fenolici (Tab. 4) (35).

Nella specie bovina il gene SCD è localizzato sul cromosoma 26q21 ed ha una lunghezza di 17,088 kb. La sequenza nucleotidica del gene è stata pubblicata in banca dati da Medrano et al nel 2003 (29). La

Figura 8 - Catena di trasporto degli elettroni nel sistema Δ^9 desaturasi

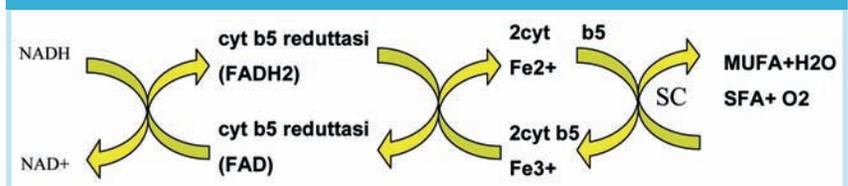


Tabella 4 - Fattori che regolano l'espressione della SCD (35)

Fattori della dieta	Ormoni	Altri
↑ glucosio	↑ insulina	↑ perossisomi
↑ fruttosio	↑ ormone della crescita	↑ temperatura
↑ vitamina A	↑ estrogeni	↑ ferro
↓ colesterolo	↑ androgeni	↑ agonisti dell'accettore X del fegato
↑ vitamina D	↓ leptina	↑ TGF-β
↓ PUFA	↓ glucagone	↑ luce
↑↓ alcol	↓ ormone tiroideo	↓ β-amiloidi
↑↓ CLA	↑↓ deidroepiandrosterone	↓ cadmio
		↓ TNF-α
		↓ acido sterculico

proteina SCD è lunga 359 aa come in altre specie, e mostra un'alta omologia con quella di capra (93.9%), di pecora (93.6%), uomo (87.2%) e topo (80.5%) (Fig. 9) (36). A livello del quinto esone sono noti tre polimorfismi del tipo SNP (generati cioè dalla sostituzione di un singolo nucleotide) (29). I primi due polimorfismi non comportano sostituzioni di aminoacidi nella sequenza proteica, mentre il terzo determina la sostituzione di una valina con una alanina a livello del 293° residuo della proteina (Fig. 9). I tre SNP vengono ereditati contemporaneamente (linkage disequilibrium), pertanto vanno a costituire un alotipo. Il confronto tra le sequenze peptidiche di alcune specie di mammiferi, mostra che la valina, nel 293° residuo, è altamente conservata; questo fa supporre che sia l'aminoacido ancestrale. Al mo-

mento, i due alotipi sono stati individuati in differenti razze (Holstein, Brown Suisse, Jersey e Japanese Black Cattle). In seguito sono stati individuati altri 5 SNP nella regione 3'UTR del cDNA: al 1905° bp (G/A), al 3143° bp (C/T), al 3351° bp (A/G), al 3537° bp (A/G) e al 4736° bp (A/G) (36).

Lo studio sul gene SCD degli ovini non è stato così approfondito come quello condotto sui bovini. Il gene è localizzato sul cromosoma 22q21 (31) e, al momento, è stato isolato e sequenziato solo il cDNA, da individui di razza Finn Dorset (30). L'assenza del tratto poli-A e motivi di poliadenilazione all'estremità 3', suggeriscono che la sequenza di cDNA riportata sia incompleta, soprattutto nella regione 3'UTR (31). La SCD ovina manifesta un'espressione, decisamente ubiquitaria, anche se i tessuti che mostrano un

maggiore livello di mRNA sono il tessuto adiposo, il fegato e la ghiandola mammaria durante il periodo lattazione (30).

Anche nella specie caprina allo stato attuale delle conoscenze è stato sequenziato solamente il cDNA, estratto a livello della ghiandola mammaria (N° di accesso alla GeneBank AF325499) (31). L'omologia della sequenza del cDNA di capra è molto alta con quelle degli ovini, dei bovini e dei suini, mentre è piuttosto bassa con quelle di uomo e di topo (31). Pur non conoscendo la sequenza completa del gene, è stato ipotizzato che siano presenti cinque introni e sei esoni, secondo la struttura già individuata nei topi, nell'uomo e nei bovini. Il gene SCD è posto sul cromosoma 26q21, l'individuazione è stata possibile grazie alla tecnica dell'ibridazione in situ (FISH). Il trascritto

Figura 9 - Polimorfismo del gene SCD nel bovino. Le basi sottolineate mostrano la sostituzione nucleotidica. Il box grigio mostra la sostituzione nucleotidica che causa lo scambio di aminoacidi da valina ad alanina

Aplotipo V:

```
gtactacaaacctggtgtcctggtgtgtgcttcacactcgtgccatggtatctgtgggatgaa
acgtttcaaaacagcctgttttttgccacctattccggtatgcccctgggctcaacgtcacctggctggtga
atagtgtgcccataatgtatggataccgcccttatgacaagaccatcaacccccgagagaaatattctggtttc
cctgggagctggg
```

Aplotipo A:

```
gtactacaaacctggtgtcctggtgtgtgcttcacactcgtgccatggtatctgtgggatgaa
acgtttcaaaacagcctgttttttgccacctattccggtatgcccctgggctcaacgtcacctggctggtga
atagtgtgcccataatgtatggataccgcccttatgacaagaccatcaacccccgagagaaatattctggtttc
cctgggagctggg
```

del gene *scd* caprino è lungo 5,1 kb con un ORF di 1080 nucleotidi e la 3'UTR di 3,8 kb. Bernard et al. (31) hanno rilevato la presenza di un polimorfismo a livello della regione 3'UTR. Al contrario della SCD bovina, in questo caso non si tratta di SNP, ma della presenza o assenza del motivo trinucleotidico TGT, posto tra il 3178 e il 3180 bp. Sulla base di queste conoscenze sono stati eseguiti alcuni studi, soprattutto nella specie bovina, per verificare l'esistenza di effetti significativi tra i polimorfismi noti per il gene SCD e la composizione degli acidi grassi del latte e della carne. In particolare, due studi, uno sulla razza giapponese di bovini da carne Blake Cattle (36) e uno sulla razza da latte Frisona Italiana (18), hanno messo in evidenza una maggiore distribuzione dell'allele A rispetto all'allele V (0.59 vs. 0.41 e 0.57 vs.

0.43, rispettivamente per l'allele A e per l'allele V nei bovini di razza Black Cattle o in quelli di razza Frisona Italiana). La maggiore distribuzione dell'allele A, nelle razze bovine in cui sono stati rilevati i due aplotipi, suggerisce che anche a livello di specie ci sia una maggiore frequenza di A su V. Tenendo conto che l'aplotipo V è quello ancestrale, allora si può concludere che il processo di selezione nella specie bovina ha favorito lo sviluppo dell'aplotipo A, che è comparso successivamente. L'effetto della sostituzione aminoacidica conseguente al differente aplotipo ha evidenziato in entrambi i casi un maggior contenuto di acidi grassi monoinsaturi nel grasso ed è interessante notare che la differenza tra la media del genotipo AA e quella del genotipo VV risultava prossima al 2%, a testimoniare che l'effetto di sostitu-

zione allelica si è mantenuto nell'ambito della specie anche in razze ad indirizzo produttivo diverso e in tessuti differenti (Tab. 5). Tra le associazioni significative riscontrate è interessante anche quella relativa al valore del rapporto acido miristico/acido miristico che rappresenta un mezzo empirico per stimare l'attività desaturasi dell'enzima SCD nella ghiandola mammaria. Il genotipo AA è risultato associato ad una maggiore attività desaturasi che, per altro, spiegherebbe anche il maggior contenuto di acidi grassi monoinsaturi. Nell'ambito dello studio svolto sulla razza Frisona Italiana è stato preso in considerazione anche un eventuale effetto sul contenuto in RA nel grasso del latte, tuttavia, pur evidenziandosi una tendenza ad un maggior contenuto di questo acido grasso nel latte delle vacche con allele A,

Tabella 5 - Relazione del polimorfismo SCD con la composizione in acidi grassi del latte (20)

<i>Acidi grassi</i>	<i>Genotipo SCD</i>			<i>P<F</i>
	<i>AA</i>	<i>AV</i>	<i>VV</i>	
	<i>n=80</i>	<i>n=179</i>	<i>n=38</i>	
C14	8.50 ± 0.257	8.85 ± 0.177	8.88 ± 0.310	0.293
C16	23.92 ± 0.603	24.12 ± 0.413	23.17 ± 0.725	0.447
C18	8.70 ± 0.351	8.91 ± 0.241	8.58 ± 0.422	0.677
C18-1 t11	0.76 ± 0.033	0.77 ± 0.023	0.74 ± 0.039	0.625
C14-1	0.75 ± 0.041 a	0.68 ± 0.029 b	0.61 ± 0.050 b	0.036
C16-1	1.17 ± 0.055	1.16 ± 0.037	1.10 ± 0.066	0.607
C18-1 c9	18.43 ± 0.442 A	17.68 ± 0.304 A	17.50 ± 0.532 B	0.034
C18-2 c9t11	0.37 ± 0.015	0.36 ± 0.010	0.33 ± 0.018	0.190
MUFA	20.72 ± 0.475 A	20.30 ± 0.326 A	18.95 ± 0.572 B	0.021

a,b=P<0.05; A,B=P<0.01

la differenza fra i due genotipi non è risultata significativa. Ulteriori studi sono necessari per verificare questo risultato, alla luce anche di un numero più elevato di animali che, nella ricerca citata era di circa 300.

Conclusioni

Allo stato attuale delle conoscenze si può affermare che è possibile modificare il contenuto di CLA nel latte e nella carne dei ruminanti agendo sulla composizione della dieta degli animali. Grazie al contributo di un numero sempre crescente di gruppi di ricerca, è possibile disporre di una gran mole di informazioni, soprattutto nella specie bovina, ma negli ultimi anni anche per quella ovina e caprina, sulle diverse strategie alimentari applicabili al fine di ottenere latte e carne con i contenuti di CLA desiderati. Sicuramente è necessario compiere ulteriori studi circa la possibilità di mantenere costante il livello di arricchimento desiderato, una volta che sia stato raggiunto. Altri aspetti che richiedono ulteriori approfondimenti riguardano i possibili effetti di lungo periodo dell'applicazione di strategie di arricchimento sul benessere degli animali e sulla stabilità del prodotto arricchito. Allo stesso modo andrebbe chiarito meglio il ruolo degli acidi grassi trans nella salute umana anche nel caso

essi derivino da una fonte come il grasso del latte e della carne dove l'isomero predominante è il VA. Questo aspetto assume un ruolo ancora più importante alla luce del fatto che le strategie di arricchimento in CLA normalmente applicate comportano un generale innalzamento del contenuto di acidi grassi trans del latte e della carne.

Gli studi sulla possibilità di agire per via genetica sul contenuto di CLA nel latte e nella carne sono sicuramente meno numerosi, ma è in aumento l'interesse della comunità scientifica verso questo aspetto della qualità nutrizionale degli alimenti, alla luce anche del crescente numero di informazioni che pervengono dalla sempre maggiore conoscenza del genoma degli animali di interesse zootecnico. Sicuramente, l'applicazione al miglioramento genetico dei risultati delle ricerche in corso e di quelle future non può prescindere dal supporto della comunità scientifica che si occupa dello studio degli effetti biologici del CLA sull'uomo, in quanto è necessario conoscere con esattezza quali livelli di arricchimento è necessario raggiungere al fine di qualificare compiutamente il prodotto finale.

Bibliografia

1. Belury M.A., (2002). Dietary conjugated linoleic acid in health: physiological effects and mechanisms of action. *Ann. Rev. Nutr.* 22: 505-531.
2. McGuire M.A., McGuire M.K. (1999) - Conjugated linoleic acid: a ruminant fatty acid with beneficial effects on human health. *Proc. American Soc. Anim. Sci.* 118 - 128.
3. Ip C., Jiang C., Thompson H.J. and Scimeca A.J. (1997) - Retention of conjugated linoleic acid in the mammary gland is associated with tumor inhibition during the post initiation phase of carcinogenesis. *Carcinogenesis* 18: 755-759.
4. Pariza M.W., Park Y., Cook M.E. (2001) - The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Prog. Lipid Res.* 40: 283.
5. Ip C., Dong Y., Thompson H.J., Bauman D.E., Ip M.M. (2001). Control of rat mammary epithelium proliferation by conjugated linoleic acid. *Nutr. Cancer.* 39: 233-238.
6. Banni S., Carta G., Angioni E., Murru E., Scanu P. (2001a). Distribution of conjugated linoleic acid and metabolites in different lipid fractions in the rat liver. *J. Lipid Res.* 42: 1056-1061.
7. Basu S., Smedman A., Vessby B. (2000) - Conjugated linoleic acid induces lipid peroxidation in humans. *FEBS Lett.* 468: 33-36.
8. Banni S. Angioni E., Carta G., Melis M.P., Murru M.E., Scanu P., Dessi M.A., Vargiolu S., Corongiu F.P. (2001b) - Modulazione del metabolismo lipidico e dei livelli di vitamina A tramite alimenti arricchiti in acido linoleico coniugato. *Progress in Nutrition* 3(2): 64-66.
9. Park Y., Storkson J.M., Albright K.J., Liu K.J., and Pariza M.W. (1999) - Evidence that the trans-10,cis-12 isomer of conjugated linoleic acid induces body composition changes in mice. *Lipids* 34: 235-241.
10. Harfoot C.G., and Hazlewood G.P. (1988) - Lipid metabolism in the rumen. In: P.N. Hobson (Ed.) *The rumen microbial ecosystem*. Elsevier Applied Science Publishers, London. 285-322.

11. Parodi PW. (1977) - Conjugated octadecadienoic acids of milk fat. *J. Dairy Sci.* 60: 1550-1553.
12. Antongiovanni, M., Buccioni, A., Petacchi, F., Secchiari, P., Mele, M., Serra, A. (2003). Upgrading the lipid fraction of foods of animal origin by dietary means: rumen activity and presence of trans fatty acids and CLA in milk and meat. *I. J. Anim. Sci.* 2: 3-28.
13. Chilliard, Y., Ferlay, A. (2004) Dietary lipids and forages interactions on cow and goat milk fatty acid composition and sensory properties. *Repr. Nutr. Dev.* 44: 467-492.
14. Chilliard, Y., Ferlay, A., Rouel, J., Lamberet, G. (2003) A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. *J. Dairy Sci.* 86: 1751-1770.
15. Baumgard, L.H., Corl, B.A., Dwyer, D.A., Saebo, A., Bauman, D.E. (2000) Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. *Am. J. Phys. Reg. Integ. Comp. Phys.* 278: R179-R184.
16. Secchiari P., Campanile G., Mele M., Zicarelli F., Serra A., Del Viva M., Amante L. (2004). Fatty acid composition and CLA content of milk fat from Italian Buffalo. In Hocquette J.F. and Gigli S. (Eds.) *Indicators of milk and beef quality*. Wageningen Pers. Wageningen, The Netherland. Vol. 112: 339-343.
17. Wu Z., Lahlou M.N., Setter L.D., Massingil L., Pariza M.W. (1998). Increased conjugated linoleic acid in milk fat of grazing cows is not explained by more CLA production in the rumen. *Research summaries of US dairy forage research center*. Pp. 96-97.
18. Mele, M., Macciotta, N.P.P., Serra, A., Pollicardo, A., Secchiari, P. (2007a) Fatty acid composition of milk and cheese from sheep fed rough or cultivated pasture. *Proceedings of 5th International Symposium on the Challenge to Sheep and Goats Milk Sectors*. Alghero, Italy, (in press).
19. Kay J.K., Macule T.R., Auldlist M.J., Thomson N.A., Bauman D.E. (2004). Endogenous synthesis of cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid in dairy cow fed fresh pasture. *J. Dairy Sci.* 87: 369-378.
20. Mele M., Serra A., Conte G., Pollicardo A., Del Viva M., Secchiari P. (2007b) Whole extruded linseed in the diet of dairy ewes during early lactation: effect on the fatty acid composition of milk and cheese. *I. J. Anim. Sci.* (in press).
21. Schroeder G.F., Delahoy J. E., Vidaurreta I., Bargo F, Gagliostro G. A., Muller L. D. (2003). Milk Fatty Acid Composition of Cows Fed a Total Mixed Ration or Pasture plus Concentrates Replacing Corn with Fat. *J. Dairy Sci.* 86:3237-3248.
22. Schroeder G.F., Gagliostro G.A., Bargo F., Delahoy J.E., Muller L.D. (2004). Effects of fat supplementation on milk production and composition by dairy cows on pasture: a review. *Liv. Prod. Sci.* 86: 1-18.
23. Noci F, French P, Monahan FJ, Moloney AP. (2007). The fatty acid composition of muscle fat and subcutaneous adipose tissue of grazing heifers supplemented with plant oil-enriched concentrates. *J Anim Sci.* 85:1062-1073.
24. Serra A., Mele M., Secchiari P. (2005). Composizione degli acidi grassi e prodotti dell'ossidazione dei lipidi del grasso intramuscolare di Longissimus dorsi in agnelli di razza Massese in funzione dell'età/peso di macellazione. *Progress in Nutrition.* 7(1): 36-42.
25. Shingfield K.J., Reynolds C.K., Hervas G., Griinari J.M., Grandison A.S., Beever D.E. (2006). Examination of the persistency of milk fatty acid composition responses to fish oil and sunflower oil in the diet of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89: 714-732.
26. Griinari J.M., Bauman D.E. (1999) - Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. In *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, Vol. 1. M. P. Yurawecz, M. M. Mossoba, J. K. G. Kramer, M. W. Pariza, and G. J. Nelson (eds.). Champaign, IL, AOCS Press. Pp. 180-200.
27. Ntambi J.M. (1995): The regulation of stearoyl-CoA desaturase (SCD). *Prog. Lipid Res.*, 34: 139-150.
28. Heinemann F.S., Ozols J. (2003): Stearoyl-CoA desaturase, a short-lived protein of endoplasmic reticulum with multiple control mechanisms. *Prostaglandins Leukotrienes and Fatty Acids*, 68: 123-133.
29. Medrano J.F., Islas-Trejo A.D., Johnson A.M., De Peters E.J. (2003). Genomic structures and expression of the bovine stearoyl CoA desaturase gene. *GenBank*, accession number AY241933, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/GenBank/index.html>.
30. Ward R.J., Travers M.T., Richards S.E., Vernon R.G., Salter A.M., Buttery P.J., Barber M.C. (1998): Stearoyl-CoA desaturase mRNA is transcribed from a single gene in the ovine genome. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1391: 145-156.
31. Bernard L., Leroux C., Hayes H., Gautier M., Chilliard Y., Martin P. (2001): Characterization of the caprine stearoyl-CoA desaturase gene and its mRNA showing an unusually long 3'-UTR sequence arising from a single exon. *Gene*, 281: 53-61.
32. Ren J., Knorr C., Huang L., Brenig B. (2004): Isolation and molecular characterization of the porcine stearoyl-CoA desaturase gene. *Gene*, 340: 19-30.
33. Lefevre P., Tripon E., Plumelet C., Douaire M., Diot C (2001): Effects of polyunsaturated fatty acids and clofibrate on chicken stearoyl-CoA desaturase 1 gene expression. *Biochem Biophys Res Commun*, 280: 25-31.
34. Keating A.F., Stanton C., Murphy J.J., Smith T.J., Ross R.P., Cairns M.T. (2005): Isolation and characterization of the bovine stearoyl-CoA desaturase promoter and analysis of polymorphism in the promoter region in dairy cows. *Mammalian Genome*, 16: 184-193.

35. Ntambi J.M., Miyazaki M. (2004): Regulation of stearoyl-CoA desaturases and role in metabolism. *Progress in Lipid Research*, 43: 91-104.
36. Taniguchi M., Utsugi T., Oyama K., Mannen H., Kobayashi M., Tanabe Y., Ogino A., Tsuji S. (2004): Genotype of stearoyl-CoA desaturase is associated with fatty acids composition in Japanese Black cattle. *Mammalian Genome*, 14: 142-148.
37. Chouinard P.Y., Corneau L., Butler W.R., Chilliard Y., Drackley J.K., Bauman D.E. (2001) Effect of dietary lipid source on conjugated linoleic acid concentrations in milk fat. *J. Dairy Sci.* 84: 680-690.
38. Secchiari P., Antongiovanni M., Mele M., Serra A., Buccioni A., Ferruzzi G., Paoletti F., Petacchi F. (2003). Effect of kind of dietary fat on the quality of milk fat from Italian Friesian cows. *Livest. Prod. Science.* 83: 43-52.
39. Mele M., Del Viva M., Serra A., Conte G., Secchiari P. (2006). Effect of forage:concentrate ratio and soybean supplementation on C18:1 and CLA isomers in milk fat from Saanen goats. *Proc. 4th Eurofed lipids congress, Madrid, Spain.* p. 584.
40. Mele M., A. Buccioni, F. Petacchi, A. Serra, S. Banni, M. Antongiovanni, P. Secchiari. (2006). Effect of forage/concentrate ratio and soybean oil supplementation on milk yield, and composition from Sarda ewes. *Anim. Res.* 55: 273-285.