



Risques et bénéfices,
pour la santé
des **acides gras *trans***
apportés par les aliments

RECOMMANDATIONS



AGENCE FRANÇAISE
DE SÉCURITÉ SANITAIRE
DES ALIMENTS



AGENCE FRANÇAISE
DE SÉCURITÉ SANITAIRE
DES ALIMENTS

**Risques et bénéfices pour la santé des acides gras *trans*
apportés par les aliments - Recommandations**

***Health risks and benefits of trans fatty acids in food -
Recommendations (synthesis)***

- Avril 2005 -

Composition du groupe de travail

Le groupe de travail est constitué d'experts membres du Comité d'experts spécialisé Nutrition humaine de l'Afssa, de chercheurs émanant de divers organismes (Inra, Inserm, universités...) ainsi que de scientifiques de l'Afssa.

- **Président :**

M. Léger Claude-Louis (Inra, Université Montpellier 1, Montpellier)

- **Coordination scientifique :**

M^{me} Razanamahefa Landy (Afssa, Maisons-Alfort)

- **Membres du groupe de travail :**

M^{me} Baelde Dominique (DGCCRF, Paris)

M. Berta Jean-Louis (Afssa, Maisons-Alfort)

M. Bougnoux Philippe (Inserm, Tours)

M. Chardigny Jean-Michel (Inra, Dijon)

M. Clouet Pierre (Faculté des sciences, Dijon)

M^{me} Combe Nicole (Iterg, Talence)

M^{me} Du Chaffaut Laure (Afssa, Maisons-Alfort)

M^{me} Gerber Mariette (Centre de Recherche en cancérologie, Inserm-CRLC, Montpellier)

M. Juaneda Pierre (Inra, Dijon)

M. Lafay Lionel (Afssa, Maisons-Alfort)

M. Lagarde Michel (Inserm/ Insa, Lyon)

M. Laloux Laurent (Afssa, Maisons-Alfort)

M. Ledoux Martial (Afssa, Maisons-Alfort)

M. Legrand Philippe (Inra, Rennes)

M^{me} Quignard-Boulangé Annie (Inserm, Paris)

M. Schmitt Bernard (Centre hospitalier de Bretagne Sud, Lorient)

M. Sebedio Jean-Louis (Inra, Dijon)

- **Ont été auditionnés ou consultés :**

Professeur RP Mensink (Department of human biology, Maastricht, The Netherlands)

Professeur Klaus Wahle (Human Nutrition & Health, School of Life Sciences, The Robert Gordon University, UK)

Docteur Ulf Riséus (Université d'Oxford, UK)

Association Bleu-Blanc-Cœur

Fédération nationale des corps gras

Syndicat de l'industrie laitière

Groupe Cognis

Groupe Danone

Groupe Loders-Crocklaans

Groupe Nestlé

Liste des abréviations

AG : AG
Ag-CCM : CCM aux ions argent (Ag)
Ag-CLHP : CLHP aux ions argent (Ag)
AG-cis : AG *cis*
AGE : AG Essentiels
AGI : AG Insaturés
AGL : AG Libres
AGMI : AG Monoinsaturés
AGPI : AG Polyinsaturés
AGS : AG Saturés
AG trans : AG *trans*
AG totaux : AG Totaux
ALnC : Acides Linoléniques Conjugués
AFNOR : Agence Française de NORmalisation
AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments
AOAC : Association of Official Analytical Chemists
AOCS : American Oil Chemists' Society
c : *cis*
CIQUAL : Centre Informatique sur la qualité des aliments
CEN : Comité Européen de Normalisation
CCM : Chromatographie sur Couche Mince
CLHP : Chromatographie Liquide de Haute Performance
CPG : Chromatographie en Phase gazeuse
CPG-DIF : CPG - Détection à Ionisation de Flamme
CT : Cholestérol total
DGCCRF : Direction Générale de la Consommation, de la Concurrence et de la Répression des Fraudes
EBAG : Ester Butylique d'AG
EIPAG : Ester IsoPropylique d'AG
EMAG : Ester Méthylique d'AG
FDA : Food and Drug Administration
HDL : High density lipoproteins
HPPH : Huile de Poisson Partiellement Hydrogénée
HVPH : Huile Végétale Partiellement Hydrogénée
INCA : Enquête Individuelle Nationale de Consommation Alimentaire
INRA : Institut National de la Recherche Agronomique
IR : InfraRouge
IRTF : InfraRouge à Transformée de Fourier
IRTF-RTA : IRTF à Réflexion Totale Atténuée (Attenuated Total Reflection ATR)
MGL : Matière Grasse Laitière
MI : Méthylène Interrompue
MCV : Maladies cardio-vasculaires
NMI : Non-Méthylène Interrompue
t : *trans*
TAG : TriAcylGlycérol
VLDL : Very low density lipoproteins

> Sommaire

Introduction générale	11
A. Avant-propos	11
B. Contexte général	11
C. Cadre de la réflexion.....	13
D. Les thèmes de réflexion.....	13
E. Méthodologie de travail.....	14
I. Définition, origines et méthodologies analytiques	15
1. Définition du terme « AG <i>trans</i> »	15
1.1. Nomenclature des AG.....	15
1.2. Isomérisation des AG	17
1.2.1. Isomérisation géométrique et Isomérisation positionnelle	17
1.2.2. Cas des différents types d'AG insaturés	17
1.3. Définitions des AG <i>trans</i>	19
1.3.1. Définition en chimie organique.....	19
1.3.2. Définitions réglementaires adoptées à ce jour.....	19
1.3.3. Définition réglementaire adoptée par le groupe de travail	19
1.4. Définition des isomères conjugués de l'acide linoléique (CLA).....	19
1.5. Propriétés des AG <i>trans</i>	20
1.6. Propriétés des isomères conjugués de l'acide linoléique (CLA).....	20
2. Origines des AG <i>trans</i>	21
2.1. Biohydrogénation ruminale.....	21
2.2. Hydrogénation catalytique partielle.....	23
2.3. Traitements thermiques.....	25
2.4. AG <i>trans</i> présents dans les aliments d'après la littérature.....	26
2.5. Isomères conjugués de l'acide linoléique obtenus par synthèse.....	26
3. Méthodes d'analyse des AG <i>trans</i> et des CLA	27
3.1. Dérivation des AGV	27
3.2. Analyse des AG <i>trans</i> en Infra-rouge (IR).....	28
3.2.1. Spectrométrie Infra-rouge (IR)	28
3.2.2. Spectrométrie Infra-rouge à Transformée de Fourier (IRTF).....	29
3.2.3. Spectrométrie IRTF à réflexion totale atténuée (RTA).....	31
3.2.4. Spectrométrie IRTF couplée à la CPG	32
3.3. Chromatographie en phase gazeuse (CPG « directe »).....	32
3.4. Analyse des AG <i>trans</i> après fractionnement.....	37
3.4.1. Fractionnement par chromatographie liquide haute performance (CLHP)	37
3.4.2. Fractionnement par chromatographie au nitrate d'argent.....	38
3.5. Méthodes officielles d'analyse des AG <i>trans</i>	41
3.5.1. Méthode CPG à détection par ionisation de flamme.....	41
3.5.2. Méthodes spectrométriques infra-rouge.....	43
3.6. Schéma général d'analyse des AG <i>trans</i> et CLAs.....	44
4. Conclusions et recommandations	45
II. Données composition des aliments et de consommation	47
1. État des connaissances	47
1.1. Les principaux aliments contributeurs	47
1.1.1. Les aliments provenant des ruminants	47
1.1.2. Huiles végétales et margarines	52
1.1.3. Produits de transformation	54
1.2. Facteurs d'influence sur la composition en AG <i>trans</i> et en CLA	56
1.2.1. Facteurs saisonniers	56
1.2.2. La température	56

2. Évaluation des apports en AG <i>trans</i> et CLA dans la population française. Données de composition des aliments.....	57
2.1. Objectifs	57
2.2. Méthodologie.....	57
2.2.1. L'enquête INCA.....	57
2.2.2. Table de composition en CLA et en AG <i>trans</i>	57
2.2.3. Croisement des données INCA avec la table de composition en CLA et en AG <i>trans</i>	58
2.3. Apports caloriques et lipidiques observés	58
2.4. Apports en CLA, aliments contributeurs et forts consommateurs.....	60
2.4.1. Apports en CLA par sexe et classe d'âge.....	60
2.4.2. Aliments contributeurs des apports en CLA	63
2.4.3. Groupes d'aliments contributeurs des apports en CLA.....	63
2.4.4. Les forts consommateurs de CLA.....	64
2.5. Apports en AG 18:1 <i>trans</i> et aliments contributeurs.....	66
2.5.1. Apports en 18:1 <i>trans</i> par sexe et classe d'âge.....	66
2.5.2. Aliments contributeurs des apports en 18:1 <i>trans</i>	68
2.5.3. Groupes d'aliments contributeurs des apports en 18:1 <i>trans</i>	68
2.6. Apports en AG 18:2 <i>trans</i> et aliments contributeurs.....	69
2.6.1. Apports en 18:2 <i>trans</i> par sexe et classe d'âge.....	69
2.6.2. Aliments contributeurs des apports en 18:2 <i>trans</i>	72
2.6.3. Groupes d'aliments contributeurs des apports en 18:2 <i>trans</i>	72
2.7. Apports en AG <i>trans</i> totaux, aliments contributeurs et forts consommateurs.....	73
2.7.1. Apports en AG <i>trans</i> totaux par sexe et classe d'âge	73
2.7.2. Aliments contributeurs des apports en AG <i>trans</i> totaux	76
2.7.3. Groupes d'aliments contributeurs des apports en AG <i>trans</i> totaux.....	76
2.7.4. Les forts consommateurs d'AG <i>trans</i> totaux	77
3. Données de composition des aliments en AG <i>trans</i> et CLA	79
3.1. Apports en CLA	79
3.2. Apports en AG <i>trans</i> (hors CLA).....	80
3.2.1. Les estimations des apports en France.....	80
3.2.2. Les estimations des apports à l'étranger.....	82
3.2.3. Comparaison aux apports de notre étude	83
4. Marqueurs de consommation	84
5. Conclusions et recommandations.....	85
III. Métabolisme et toxicité des AG <i>trans</i>.....	89
1. Études réalisées chez l'homme.....	89
1.1. Incorporation des AG <i>trans</i> et des CLA dans les tissus	89
1.1.1. Les AG <i>trans</i> monoinsaturés.....	89
1.1.2. Les AG <i>trans</i> polyinsaturés.....	89
1.1.3. Les CLA.....	89
1.2. Bioconversion	90
1.3. Métabolisme oxydatif.....	90
1.3.1. Les AG <i>trans</i> monoinsaturés	90
1.3.2. Les AG <i>trans</i> polyinsaturés	90
1.4. AG <i>trans</i> chez le fœtus et développement fœtal.....	91
1.4.1. Les AG <i>trans</i> non conjugués.....	91
1.4.2. Les CLA.....	92
2. Études réalisées chez l'animal	92
2.1. Incorporation dans les tissus.....	92
2.1.1. Les AG <i>trans</i> monoinsaturés	92
2.1.2. Les AG <i>trans</i> polyinsaturés	93
2.1.3. Les CLA	93
2.2. Bioconversion.....	93
2.3. Métabolisme oxydatif	95
2.3.1. Les AG <i>trans</i> monoinsaturés.....	95
2.3.2. Les AG <i>trans</i> polyinsaturés.....	95
2.3.3. Les CLA.....	95
2.3.4. CLA et métabolisme oxydatif des AG	95
2.4. AG <i>trans</i> et nouveau-né.....	97

3. Études <i>in vitro</i>	98
3.1. Désaturation des isomères 18:1 <i>trans</i>	98
3.2. Désaturation des isomères 18:2 et 18:3 <i>trans</i>	99
3.3. Bioconversion des isomères de CLA	99
3.4. Impact des AG <i>trans</i> sur la bioconversion des autres AG	100
3.5. CLA et désaturation	101
3.6. Métabolisme oxydatif des AG <i>trans</i>	101
3.6.1. Les AG <i>trans</i> monoinsaturés	101
3.6.2. Les CLA	103
3.6.3. Conclusions	105
4. Toxicité des AG <i>trans</i>	106
4.1. Toxicité des CLA chez l'homme	106
4.2. Études chez l'animal	107
4.3. Cas particulier de l'acide eleostéarique	107
5. AG <i>trans</i> et immunité	107
5.1. Études chez l'homme	107
5.2. Études chez l'animal	109
5.3. Études <i>in vitro</i>	110
5.4. CLA et eicosanoïdes	110
6. Conclusions et recommandations	111
IV. AG <i>trans</i>, CLA et obésité et syndrome métabolique	113
1. Effets des CLA sur la composition corporelle	115
1.1. Effets des CLA sur la composition corporelle chez l'homme	115
1.2. Effets des CLA sur la composition corporelle chez l'animal	117
1.3. Conclusion	119
2. Résistance à l'insuline	119
2.1. Résistance à l'insuline chez l'homme	119
2.2. Résistance à l'insuline chez l'animal	120
3. Syndrome métabolique	124
3.1. Études chez l'homme	124
3.2. Études chez l'animal	125
4. Mécanisme d'action de l'effet anti-obésité des CLA : effets sur l'adipocyte	125
5. Conclusions et recommandations	128
V. AG <i>trans</i>, CLA et maladies cardio-vasculaires	131
1. L'athérosclérose, la pathogénie et les marqueurs de risque	131
1.1. Importance de l'athérosclérose dans l'étiologie des MCV	131
1.2. La pathogénie	132
1.2.1. Les différents stades du processus athérosclérotique	132
1.2.2. Le rôle des cellules endothéliales, musculaires lisses vasculaires et des macrophages dans la formation de la plaque au niveau de l'intima	132
1.2.3. Les processus oxydatifs et les LDL oxydées	133
1.2.4. Le cholestérol circulant : un facteur de risque crucial dans l'athérosclérose	133
1.2.5. Les marqueurs de risque de l'athérosclérose indépendants du cholestérol	133
2. Monoènes <i>trans</i> , polyènes <i>trans</i> non conjugués et risques MCV	134
2.1. Études épidémiologiques	135
2.1.1. Études écologiques	135
2.1.2. Études cas-témoins	135
2.1.3. Études prospectives	139
2.1.4. Études prenant en compte les marqueurs intermédiaires de risque MCV	141
2.2. Études d'intervention nutritionnelle	142
2.2.1. AG <i>trans</i> et cholestérol plasmatique	142
2.2.2. AG <i>trans</i> et triglycérides plasmatiques	145
2.2.3. AG <i>trans</i> et lipoprotéine (a)	145
2.2.4. AG <i>trans</i> et hémostase	145
2.3. Études réalisées chez l'animal	145
2.3.1. AG <i>trans</i> et cholestérol plasmatique	145
2.3.2. AG <i>trans</i> et activité des récepteurs hépatiques spécifiques de l'apo-E des LDL	146

2.4. Études <i>in vitro</i>	146
2.4.1. AG <i>trans</i> et activité de la Cholesteryl Ester Transfer Protein (CETP)	146
2.4.2. AG <i>trans</i> et lipoperoxydation des LDL	146
2.5. Conclusions	146
2.6. Cas particuliers des polyènes <i>trans</i> non conjugués et risques MCV	147
2.6.1. Études d'intervention nutritionnelle	147
2.6.2. Études <i>in vitro</i>	147
3. CLA et risques MCV	148
3.1. Effets des CLA en mélange sur l'athérosclérose	148
3.1.1. Études d'intervention nutritionnelle	148
3.1.2. Études chez l'animal	148
3.2. Effets des isomères séparés de CLA	150
3.2.1. Études chez l'homme	150
3.2.2. Études chez l'animal	151
3.3. CLA et eicosanoïdes	151
4. Conclusions et recommandations	153
VI. AG <i>trans</i>, CLA et cancers	157
1. La cancérogenèse	157
2. Généralités sur les relations entre AG alimentaires et cancers	157
3. Données épidémiologiques	158
3.1. Méthodes d'évaluation des études épidémiologiques	158
3.2. Cancer du sein	158
3.2.1. Les facteurs de risque	158
3.2.2. Les études épidémiologiques	159
3.3. Cancer du colon	159
3.3.1. Les facteurs de risque	159
3.3.2. Les études épidémiologiques	160
3.4. Conclusions	160
4. Données expérimentales chez l'animal	160
4.1. CLA et tumorigenèse mammaire	160
4.2. AG <i>trans</i> non conjugués, tumeurs mammaires et coliques	161
5. Conclusions et recommandations	161
Conclusions générales et recommandations	165
A. Définition réglementaire des AG <i>trans</i> proposée	165
B. Les points clés de ce rapport	165
C. Recommandations	170
Annexes	174
Bibliographie	177
I. General introduction	203
A. Introduction	203
B. General context	203
C. Review scope	204
D. Themes of the working group	205
E. Work methodology	205
II. General conclusions and recommendations	207
A. Proposed regulatory definition of <i>trans</i> FAs	207
B. Key points of the report	207
C. Recommendations	211

A. Avant-propos

Quatre vingt quinze pour cent des lipides alimentaires sont des triglycérides (ou triacylglycérols), eux-mêmes constitués pour 95 % d'acides gras (AG). Après un repas, les triglycérides sont hydrolysés, leurs produits d'hydrolyse sont absorbés au niveau de l'intestin par les entérocytes qui les utilisent à leur tour pour les exporter sous forme de triglycérides véhiculés dans le sang par des lipoprotéines. Sous l'action de la lipoprotéine lipase, les acides gras des lipoprotéines sont libérés et pénètrent dans les cellules de différents tissus (adipeux, hépatique, musculaire...). Leurs rôles sont nombreux et souvent essentiels. Il est établi aujourd'hui qu'ils interviennent non seulement comme pourvoyeurs d'énergie et éléments structuraux de base des membranes biologiques, mais aussi – eux-mêmes, leurs esters ou leurs métabolites – dans la signalisation cellulaire et dans la modulation de l'expression de nombreux gènes.

Les acides gras sont des molécules organiques constituées d'une chaîne carbonée portant un groupement carboxyle à l'une de ses extrémités. Cette chaîne carbonée peut être dépourvue de toute double liaison et, dans ce cas, les acides gras sont dits saturés (AGS). Elle peut présenter une ou plusieurs double(s) liaison(s), les acides gras sont alors désignés sous les termes de monoinsaturés (AGMI, ou AG monoènes) ou polyinsaturés (AGPI, ou AG polyènes).

Il existe deux familles (ou séries) importantes d'AGPI : les AGPI de la série n-6 (ou oméga 6) et ceux de la série n-3 (ou oméga 3) qui ont leur première double liaison positionnée respectivement à 6 et 3 carbones de l'extrémité méthyle (opposée à l'extrémité portant le groupement carboxyle). Les précurseurs des séries oméga 6 et oméga 3 – l'acide linoléique (LA, 18:2 n-6) et l'acide alpha-linolénique (ALA, 18:3 n-3) – sont dits « acides gras indispensables » car ils ne peuvent pas être synthétisés par les organismes du règne animal et doivent donc être apportés à l'homme par l'alimentation. Par une succession d'élongation et de désaturation, ces acides gras sont bioconvertis en acides gras à chaînes carbonées plus longues et plus insaturées que l'on retrouve en grande quantité dans l'organisme.

Les acides gras insaturés des aliments possèdent d'une façon générale des doubles liaisons de configuration *cis*. Cependant, une très faible proportion d'entre eux possède au moins une double liaison *trans*. Fréquemment dénommés acides gras *trans* (AG *trans*) par simplification, ils ont plusieurs origines : naturelle, industrielle ou ménagère.

Le présent rapport a pour objet d'établir un inventaire des connaissances actuelles sur les AG *trans* alimentaires en liaison avec la santé. Il prendra en compte tous les AG *trans*, quelle que soit leur origine ou leur structure. Ceci suppose résolu les problèmes analytiques qui, de ce fait, seront examinés avec la plus grande attention. La qualité de l'analyse conditionne notamment la « finesse » des données de consommation. Des résultats récents, quelquefois non encore publiés, ont un intérêt particulier car ils permettent de mieux connaître les aliments contributeurs des AG *trans*. Cet inventaire devant déboucher sur des préoccupations de santé publique, plusieurs chapitres seront consacrés à l'influence des AG *trans* sur des pathologies dont la prévalence est notoire : l'obésité, les maladies cardiovasculaires, le cancer. L'utilisation de l'ensemble de ces données permettra de formuler des propositions (recommandations, mises en garde...) visant à prévenir des consommations préjudiciables à la santé.

B. Contexte général

Les AG *trans* d'origine naturelle présents dans les aliments sont essentiellement issus de la biohydrogénation ruminale des ruminants. Le plus important quantitativement est l'acide vaccénique (18:1 11*t*). Les acides gras *trans* d'origine technologique sont produits au cours de processus tels que (1) l'hydrogénation partielle, qui conduit à des matières grasses alimentaires présentant des propriétés physiques particulières, et (2) la désodorisation, qui est une des étapes du raffinage des huiles. Le plus important quantitativement est généralement l'acide élaïdique (18:1 9*t*). L'isomère conjugué de l'acide linoléique (CLA) de structure 10-*trans*,12-*cis* (voir le Chapitre 1) est un AG *trans* très minoritaire lorsqu'il est d'origine naturelle, contrairement à un autre isomère conjugué de l'acide linoléique, le CLA de structure 9-*cis*,11-*trans* ou acide ruménique, produit par les

ruminants et que l'on retrouve notamment dans la matière grasse laitière en quantités beaucoup plus importantes que le CLA 10-*trans*,12-*cis*. En revanche, le CLA 10-*trans*,12-*cis* est présent sous forme de mélange équipondéral avec l'acide ruménique dans des préparations commerciales, obtenues par synthèse, destinées à être incorporées dans les aliments et en particulier les compléments alimentaires.

Différentes instances, aux États-Unis, au Canada et au Danemark ont avancé des définitions « réglementaires » des AG *trans*. En 2002, le Food and Nutrition Board de l'Institute of Medicine des États-Unis inclut tous les acides gras contenant au moins une double liaison de configuration *trans* dans la définition qu'il propose. Les CLA sont explicitement inclus dans cette définition. En 2003, la Food and Drug Administration (FDA) aux États-Unis, le Gouvernement Canadien et le Danish Nutrition Council incluent dans leur définition tous les AG *trans* monoinsaturés et tous les AG *trans* polyinsaturés à doubles liaisons non conjugués ou isolées (États-Unis, Canada), ou à doubles liaisons « méthylène interrompues » (Danemark). Ceci revenait à exclure les AG polyinsaturés *trans* à doubles liaisons « non-méthylène interrompues » (et parmi ceux-là les AG polyinsaturés *trans* conjugués), principalement représentés par les CLA. Il sera mentionné plus loin que l'arrêté pris par les Autorités danoises sur la teneur maximale en AG *trans* des aliments restreint davantage encore la notion d'AG *trans*.

La 26^e Session du Comité du Codex Alimentarius sur la Nutrition et les Aliments Diététiques ou de Régime (CCNFSDU) s'est tenue en novembre 2004. Le Comité a adopté la définition des acides gras *trans* suivante: « Aux fins des Directives du Codex concernant l'étiquetage nutritionnel et d'autres normes et directives correspondantes du Codex, les acides gras *trans* sont définis comme étant tous les isomères géométriques d'acides gras monoinsaturés et polyinsaturés ayant des doubles liaisons carbone-carbone non conjuguées interrompues par au moins un groupe méthylène (-CH₂-CH₂-) dans la configuration *trans* ». La définition exclut donc les acides gras polyinsaturés *trans* à doubles liaisons « non méthylène interrompues ». Elle comporte en outre une inexactitude : « un groupe méthylène (-CH₂-CH₂-) » est inexact chimiquement, et devrait être remplacé par la formulation « un groupe méthylène (-CH₂-) ».

Le 31 mars 2003, les Autorités danoises décident d'adopter une réglementation, avec prise d'effet au 1 juin 2003, visant à limiter le taux d'AG *trans* des lipides totaux présents dans les aliments vendus au consommateur à 2 %. Les AG *trans* pris en compte dans l'arrêté sont uniquement d'origine industrielle. L'arrêté exclut les AG *trans* d'origine naturelle et les CLA. Cette décision restreint *de facto* la définition des AG *trans* adoptée par les mêmes Autorités danoises, qui inclut tous les AG monoènes *trans*, donc les AG monoènes *trans* d'origine naturelle. Faisant suite à cette décision, et notant que celle-ci suscite des observations de différents états membres laissant apparaître des divergences de vue, la Commission de l'Union européenne saisit l'European Food Safety Authority (EFSA) (EFSA-Q-2003-022) de la question de « la présence d'AG *trans* dans les aliments et l'effet sur la santé humaine de la consommation d'AG *trans* ». Il lui est demandé de :

- prendre en compte tous les AG *trans* présents dans les aliments (incluant les ingrédients alimentaires) : aussi bien ceux d'origine naturelle que ceux d'origine industrielle (produits par l'hydrogénation par exemple) ;
- donner son opinion sur l'existence ou non d'effets des AG *trans* sur la santé et, si ces effets existent, sur la possibilité qu'ils diffèrent en fonction de leur origine et par rapport aux effets d'autres types d'AG ;
- dire, dans le cas où les effets sur la santé existent, si les effets observés sont liés à un niveau de consommation d'AG *trans* dans le contexte d'une alimentation normale ;
- dire si des méthodes d'analyse existent pour distinguer les AG *trans* présents naturellement dans les lipides de ceux formés au cours des processus technologiques de transformation des graisses, des huiles ou des aliments contenant des lipides.

L'EFSA fait connaître sa réponse à la saisine de la Commission en Juillet 2004. Elle souligne la relation positive entre consommation d'AG *trans* et risque cardio-vasculaire. Elle remarque que cette relation n'est pas établie pour les autres pathologies à haute prévalence. Elle remarque également que cette consommation doit être rapportée à celle des AG saturés – largement plus élevée que celle des AG *trans* et également associée à une augmentation du risque cardio-vasculaire – et qu'elle doit être examinée pays par pays, car les différences de consommation entre pays sont grandes, notamment en Europe. Elle constate que la consommation d'AG *trans* a néanmoins diminué au cours des dernières années en raison notamment d'une meilleure maîtrise des procédés industriels. Elle regrette l'absence de données épidémiologiques sur les AG *trans* d'origine naturelle. Elle relève l'absence de données convergentes sur les propriétés des CLA obtenus par synthèse. Elle estime et souligne enfin qu'il n'existe pas actuellement de méthodes d'analyse fiables permettant de distinguer les AG *trans* formés naturellement de ceux formés au cours de processus industriels.

C. Cadre de la réflexion

1. La réflexion du groupe de travail

- Elle se situe dans le cadre général des discussions en cours au niveau international et européen, soit respectivement :
 - au niveau du Codex alimentarius (Comités Etiquetage et Nutrition) ;
 - au niveau de la Commission de l'Union européenne dans le cadre de la révision de la directive étiquetage CE/90/496 et de sa saisine de l'EFSA rappelée ci-dessus.
- Elle est initiée sur saisine de l'Afssa par la Direction générale de la concurrence et de la répression des fraudes (DGCCRF).
- La saisine porte sur une demande d'appui technique concernant la réglementation sur l'étiquetage nutritionnel. La principale question posée est la pertinence de « l'indication de la teneur en acides gras (AG) *trans* » sur l'étiquetage des denrées alimentaires et il est demandé à l'Afssa de traiter spécifiquement les aspects suivants :
 - définition, nature des AG *trans* ;
 - source des AG *trans* dans l'alimentation ;
 - teneur en AG *trans* dans les produits alimentaires ;
 - influence des procédés de fabrication ou stockage sur la production d'AG *trans* ;
 - niveau de consommation en France et dans les autres pays européens ;
 - impact sur la santé des consommateurs ;
 - information du consommateur sur la présence d'AG *trans* dans les produits alimentaires.

2. Le mandat du groupe de travail

Il a été formulé au regard de la saisine de l'Afssa émanant de la DGCCRF et de celle de l'EFSA émanant de la Commission de l'UE. Ce mandat fixe au groupe de travail les objectifs suivants :

- procéder à l'évaluation des propriétés de tous les types d'acides gras *trans* présents dans l'alimentation et à l'évaluation de leurs effets sur la santé ; il a été expressément notifié que ces évaluations s'étendaient aux isomères conjugués de l'acide linoléique (CLA) ;
- aboutir à des propositions en termes de recommandations, voire de réglementation, si les données scientifiques le justifient.

L'avis du groupe de travail, validé par le CES Nutrition humaine de l'AFSSA, aurait vocation à représenter la contribution française à la réflexion actuellement lancée au niveau européen par la Commission européenne.

D. Les thèmes de réflexion du groupe de travail

Ils portent sur :

- la définition des différents AG *trans*, leur source et leur nature dans l'alimentation : les AG *trans* naturellement présents dans l'alimentation ; les AG *trans* générés par les procédés de fabrication (l'hydrogénation partielle des huiles par exemple) ; les AG *trans* présents dans des préparations commerciales ;
- la détermination des teneurs en AG *trans* dans les aliments ;
- la consommation de ces AG, l'évaluation actualisée, si cela s'avère possible, dans la population française ainsi que le rappel des données obtenues dans différents pays européens ;
- les méthodes d'analyse, si elles existent, permettant de distinguer les AG *trans* d'origine naturelle de ceux formés au cours de procédés technologiques ;
- l'influence des procédés de fabrication ou de stockage sur la présence d'AG *trans* dans les aliments ;
- l'examen des effets sur la santé et des mécanismes d'action des AG *trans*, en portant une attention particulière, si les données le permettent, à la démonstration de différences qui seraient liées à la nature ou à l'origine de ces AG. Cet examen pourrait inclure la comparaison avec d'autres AG (saturés par exemple) ;
- l'élaboration de recommandations de niveau(x) de consommation fondée(s) sur ces connaissances tenant compte des sources alimentaires des AG *trans* ainsi que du contexte alimentaire global dans la population française et, éventuellement, d'autres pays européens ;
- l'opportunité d'informer le consommateur sur la présence d'AG *trans*, dans un aliment ou une denrée alimentaire, et l'opportunité, dans le cas où cette information devrait être délivrée, d'introduire des notions faisant intervenir la nature de ces AG et la catégorie d'aliment dans lequel ils se trouvent.

E. Méthodologie de travail

Afin d'organiser la réflexion du Groupe de Travail, des sous-groupes (SG) ont été créés, animés par des coordinateurs :

- SG-1 Définition, origines et méthodes d'analyse (M. Ledoux- coordinateur, P. Juanéda et J-L Sébédio) ;
- SG-2 Consommation et composition des aliments (L. Laloux- coordinateur, L. Lafay, L. Du Chaffaut et L. Razanamahefa) ;
- SG-3 Métabolisme et toxicité (J-M. Chardigny- coordinateur, P. Clouet, B. Schmitt, N. Combe et A. Quignard-Boulangé) ;
- SG-4 Surpoids, obésité et syndrome métabolique (A. Quignard-Boulangé- coordinatrice, B. Schmitt et P. Clouet) ;
- SG-5 Maladies cardio-vasculaires (N. Combe- coordinatrice, P. Clouet, J-M Chardigny, M. Lagarde et C.L. Léger) ;
- SG-6 Cancers (P. Bougnoux et M. Gerber).

Les chapitres du présent rapport reprendront l'ordre de présentation de ces sous-groupes.

La définition réglementaire des AG *trans* proposée par le Groupe de travail sera présentée dans la conclusion de ce rapport.

I. Définition, origines et méthodologies analytiques

M. Ledoux, P. Juanéda et J-L. Sébédio

1. Définition du terme « acide gras *trans* »

Dans le cadre d'un étiquetage des produits alimentaires, le terme « AG *trans* » doit être défini précisément et sans équivoque, à l'aune de l'impact de chaque acide gras *trans* sur la santé publique. Pour permettre au groupe de travail de définir ce terme, les points suivants seront successivement traités dans ce chapitre :

- les définitions possibles du terme « AG *trans* », illustrée par un rappel de la nomenclature et de l'isomérisation des AG, et des propriétés différentielles provoquées par les isomérisations géométriques ;
- les causes de formation des AG *trans* dans les aliments ; AG *trans* « naturels » et influence des procédés ;
- un inventaire non exhaustif des AG *trans* alimentaires rapportés dans la littérature ;
- les méthodologies analytiques publiées pour le dosage des AG *trans*, et notamment des isomères conjugués de l'acide linoléique (ou *conjugated linoleic acids*, CLA), dans les produits alimentaires ; limites et précautions d'emploi ; méthodes « officielles » de dosage des AG *trans* dans les aliments.

1.1. Nomenclature des AG

Il existe plusieurs manières de désigner un acide gras (tableau 1 et figure 1) :

En **nomenclature normalisée** de chimie organique (tableau 1), les AG sont désignés à partir du radical alkyl correspondant (nombre d'atomes de carbone en terminologie grecque), la structure de la chaîne carbonée (nature des liaisons, et nombre, position et configuration des doubles ou triples liaisons s'il y a lieu) et enfin la nature de la fonction (acide). Éventuellement, un substituant ou une fonction secondaire est signalé avant le nom du radical alkyl par le nom du substituant ou de la fonction secondaire avec indication du rang de l'atome carbone porteur (Naudet, 1992).

Ainsi, l'acide octadécadiène *9cis,12cis* oïque est un acide (terminaison « oïque ») à 18 atomes de carbone (octadéca), à 2 (di) doubles liaisons (ène) positionnées sur les carbones 9 et 12 en comptant à partir de la fonction carboxylique (acide), de configurations géométriques *cis*.

L'**appellation courante** (tableau 1) désigne souvent les principaux AG communs selon des critères plus « affectifs » (produit dans lequel l'acide gras a été découvert ou extrait ou identifié pour la première fois, produit où l'acide gras se trouve en grande quantité, produit pour lequel l'acide gras est caractéristique, etc.). L'acide octadécadiène *9cis,12cis* oïque est couramment appelé acide linoléique.

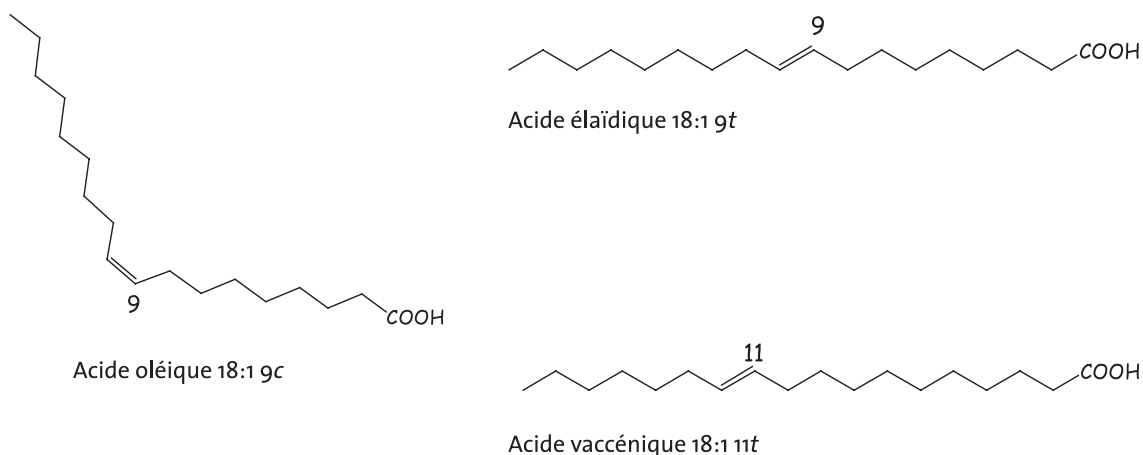
La **numérotation abrégée** (tableau 1), reprenant la nomenclature normalisée, désigne un acide gras par son nombre de carbone, le nombre de doubles liaisons, et la position et la géométrie de ces liaisons. L'acide octadécadiène *9cis,12cis* oïque ou acide linoléique devient le 18:2 Δ *9cis,12cis* ou plus souvent 18:2 *9c,12c* (figure 1).

Pour mettre l'accent sur la fonction physiologique de certains AG, les biochimistes et nutritionnistes ont introduit une variante de cette numérotation abrégée, qui consiste à numéroter les atomes de carbone à partir du méthyle terminal, et non plus du carboxyle. L'acide linoléique devient alors le 18:2 n-6 (n étant le nombre de carbone, et 6 la position portant la 1^{re} insaturation comptée à partir du méthyle terminal). On trouve encore parfois l'ancienne nomenclature utilisant le « ω » : l'acide linoléique était abrégé 18:2 ω 6. Cette numérotation fait ressortir la notion de « famille » d'AG n-6 (ω 6) et n-3 (ω 3), découlant respectivement de l'acide linoléique et de l'acide linoléique (ou acide octadécatriène *9cis,12cis,15cis* oïque, abrégé en 18:3 *9c,12c,15c* ou 18:3 n-3 (ω 3)).

Tableau 1 : principaux AG alimentaires.

Nomenclature Normalisée (acide...)	Nomenclature Triviale	Nomenclature abrégée	
		Chimie	Physiologie
SATURÉS			
butanoïque	butyrique	4:0	
hexanoïque	caproïque	6:0	
octanoïque	caprylique	8:0	
décanoïque	caprique	10:0	
dodécanoïque	laurique	12:0	
tétradécanoïque	myristique	14:0	
pentadécanoïque	pentadécylique	15:0	
hexadécanoïque	palmitique	16:0	
heptadécanoïque	margarique	17:0	
octadécanoïque	stéarique	18:0	
eïcosanoïque	arachidique	20:0	
docosanoïque	béhénique	22:0	
tétracosanoïque	lignocérique	24:0	
hexacosanoïque	cérotique	26:0	
MONO-INSATURÉS			
dodécèn 9c oïque	laurooléique	12:1 Δ9c	n-3 (ω3)
tétradécèn 9c oïque	myristoléique	14:1 Δ9c	
hexadécèn 9c oïque	palmitoléique	16:1 Δ9c	
octadécèn 9c oïque	oléique	18:1 Δ9c	n-9 (ω9)
octadécèn 9t oïque	élaïdique	18:1 Δ9t	
octadécèn 11t oïque	vaccénique	18:1 Δ11t	
eïcosén 9c oïque	gadoléique	20:1 Δ9c	
docosén 9c oïque	cétoléique	22:1 Δ9c	
docosén 13c oïque	érucique	22:1 Δ13c	n-9 (ω9)
POLY-INSATURÉS			
octadécadièn 9c, 12c oïque	linoléique	18:2 Δ9c, 12c	n-6 (ω6)
octadécadièn 9c, 11t oïque	ruménique	18:2 Δ9c, 11t	
octadécatrièn 9c, 12c, 15c oïque	α-linolénique	18:3 Δ9c, 12c, 15c	n-3 (ω3)
octadécatrièn 6c, 9c, 12c oïque	γ-linolénique	18:3 Δ6c, 9c, 12c	n-6 (ω6)
eïcosatétraèn 5c, 8c, 11c, 14c oïque	arachidonique	20:4 Δ5c, 8c, 11c, 14c	n-6 (ω6)
eïcosapentaèn 5c, 8c, 11c, 14c, 17c oïque	EPA	20:5 Δ5c, 8c, 11c, 14c, 17c	n-3 (ω3)
docosahexaèn 4c, 7c, 10c, 13c, 16c, 19c oïque	DHA	22:6 Δ4c, 7c, 10c, 13c, 16c, 19c	n-3 (ω3)

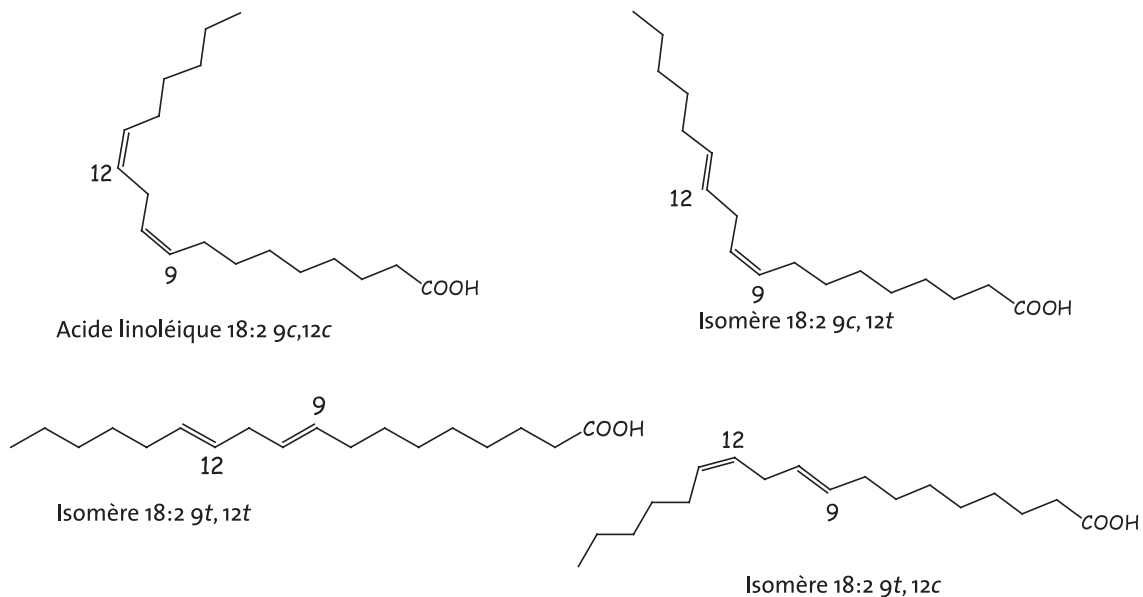
Figure 3 : Isomères géométriques et positionnels de l'acide oléique.



1.2.2.2. Cas des AG polyinsaturés

Les AG polyinsaturés (AGPI) possèdent plusieurs doubles liaisons qui peuvent être chacune de géométrie soit *cis*, soit *trans* : les AGPI pourront donc être soit tout *cis*, soit tout *trans*, soit combinés *cis/trans*. Par exemple, l'acide linoléique 18:2 9c,12c, acide octadécadiénoïque le plus souvent rencontré dans les aliments, a 3 isomères géométriques 9c, 12t ; 9t, 12c et 9t, 12t (figure 4).

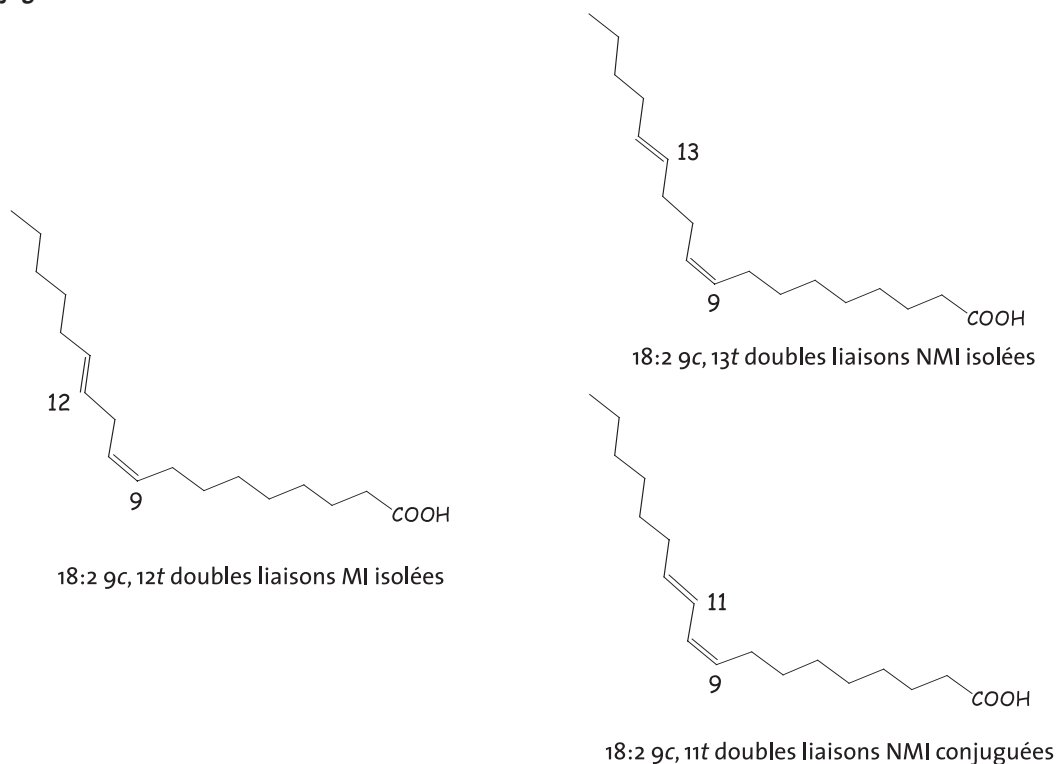
Figure 4 : Isomères géométriques de l'acide linoléique 18:2 9c,12c.



Les doubles liaisons des AG polyinsaturés peuvent se situer en différents points de la chaîne carbonée. Les positions les plus courantes sont, à l'instar des isomères géométriques de l'acide linoléique, des doubles liaisons « isolées » du type « méthylène interrompues » (MI), les deux doubles liaisons sont séparées par une séquence « liaison simple/carbone/liaison simple ».

Il arrive cependant de rencontrer des doubles liaisons « non-méthylène interrompues » (NMI), soit « isolées », c'est-à-dire séparées par plusieurs carbones, soit « conjuguées », c'est-à-dire séparées par une seule simple liaison, sans carbone intermédiaire (figure 5) (Naudet, 1992).

Figure 5 : Isomères géométriques et positionnels de l'acide linoléique 18:2 9c, 12c.
 Comparaison des liaisons Méthylène Interrompues (MI) vs. Non-Méthylène Interrompues (NMI), et isolées vs. conjuguées.



Ces quelques rappels permettent maintenant de comprendre les subtilités des diverses définitions des AG *trans* et des isomères conjugués de l'acide linoléique.

1.3. Définition des AG *trans*

1.3.1. Définition en chimie organique

Un **Acide Gras *trans*** (AG *trans*) est un acide gras insaturé possédant une ou plusieurs doubles liaisons de configuration géométrique *trans*, c'est-à-dire dont les substituants (ou les atomes d'hydrogène) se situent de part et d'autre du plan de la liaison (Adrian *et al.*, 1999).

Cette définition est purement « chimiste » et très générale, mais rigoureuse. Elle englobe tous les types d'isomères dont l'une des doubles liaisons au moins est de configuration *trans*.

1.3.2. Définitions réglementaires adoptées à ce jour

Il en existe plusieurs : celles de l'IOM, de la FDA, du Codex Alimentarius, du Danish Nutrition Council et de l'EFSA pour l'Union Européenne (se reporter au paragraphe sur le contexte général (voir Introduction générale)).

1.3.3. Définition réglementaire adoptée par le Groupe de travail

Celle-ci sera présentée dans la conclusion de ce rapport. Elle doit en effet prendre en considération les différents champs de connaissance présentés dans ce rapport.

1.4. Définition des isomères conjugués de l'acide linoléique

Les **isomères conjugués de l'acide linoléique** (*Conjugated Linoleic Acids CLA*) sont des isomères conjugués octadécadiénoïques, AG à 18 atomes de carbone et 2 doubles liaisons conjuguées de positions et de géométries variables. Les positions relatives des deux doubles liaisons sont définies par la conjugaison.

En comptant 14 positions absolues ($\Delta_{2,4}$ à $\Delta_{15,17}$) et 4 combinaisons géométriques (*cis,cis,cis,trans*, *trans,cis*, et *trans,trans*), 56 isomères sont théoriquement possibles. Actuellement, une vingtaine d'acides octadécadiénoïques conjugués seulement ont été identifiés dans des aliments bruts ou préparés, ou dans des produits de synthèse : $\Delta_{7,9}$ à $\Delta_{12,14}$, *c,c*, *c/t*, et *t,t* (Ha *et al.*, 1989, Kraft *et al.*, 2003, Lavillonnière *et al.*, 1998, Roach *et al.*, 2000, Sehat *et al.*, 1998a, Sehat *et al.*, 1999, Yurawecz *et al.*, 1998).

À l'origine, la dénomination « acide linoléique conjugué » provient de la découverte dans des viandes grillées d'AG 18:2 $\Delta_{9c,11t}$ et 18:2 $\Delta_{10t,12c}$, isomères directs de l'acide linoléique 18:2 *9c,12c* (Ha *et al.*, 1989). La relation directe entre certains CLA et l'acide linoléique est parfois très hypothétique, pour ne pas dire inexistante. Pour cela, la dénomination d'acides octadécadiénoïques conjugués serait plus exacte, et d'aucuns pensent réserver l'appellation acides linoléiques conjugués aux isomères directes de l'acide linoléique (une des deux liaisons π en position Δ_9 ou Δ_{12}) ou aux seuls isomères doués de propriétés biologiques intéressantes pour la santé humaine (Kramer et Zhou, 2001).

Des « isomères conjugués de l'acide alpha-linolénique » (Conjugated Linolenic Acids CLnA), isomères conjugués d'acides octadécatriénoïques (parents de l'acide linoléique 18:3 *9c, 12c, 15c*), sont également retrouvés dans certains produits alimentaires, mais à l'état de traces. On pourra se reporter au chapitre III pour l'acide éléostéarique.

1.5. Propriétés des AG *trans*

La configuration géométrique *trans* des doubles liaisons conserve approximativement à la chaîne carbonée insaturée non conjuguée la linéarité des AG saturés. La chaîne insaturée est en revanche plus rigide que la chaîne saturée car les doubles liaisons insaturées restreignent les mouvements des carbones impliqués dans la liaison. Au contraire des doubles liaisons *trans*, les doubles liaisons *cis* provoque l'incurvation des chaînes carbonées (cf. fig. 2, 3, et 4).

La présence de la configuration *trans* permet d'augmenter le point de fusion d'un acide gras insaturé. À titre d'exemple, les valeurs relevées pour la série des 18:1 sont données dans le tableau 2.

Tableau 2 : point de fusion des AG de la série C18 (The Merck Index 20^e éd., 1996).

AG	Pt Fusion
18:0	69-70°C
18:1 <i>9-trans</i>	44-45°C
18:1 <i>11-trans</i>	42-44°C
18:1 <i>9-cis</i>	4°C

La présence d'une configuration *trans* change également d'autres paramètres « physico-chimiques » de la molécule tels que la polarité globale de l'acide gras, ce qui permet dans certaines conditions chromatographiques de séparer les isomères *cis* des isomères *trans*. Les liaisons *trans* modifient également les propriétés spectrométriques (absorption UV, infrarouge, etc.) des AG, point intéressant pour leur identification.

De plus, les liaisons *trans* influent sur les propriétés biochimiques et physiologiques des AG ; ces points seront développés dans les autres chapitres du rapport.

1.6. Propriétés des isomères conjugués de l'acide linoléique (CLA)

Les points de fusion des CLA sont différents d'un type d'isomère à l'autre, avec un gradient *t,t* > *c/t* > *c,c*. Les doubles liaisons conjuguées absorbent dans l'UV à 233 nm, quelle que soit la position absolue et la géométrie des liaisons (Kramer et Zhou, 2001). Les CLA de configuration *c/t* absorbent dans l'infrarouge à 949 et 988 cm^{-1} , ce qui est pratique pour les quantifier globalement mais distinctement des isomères *t,t* et *c,c* (Mossoba *et al.*, 1999).

Les AG conjugués ne présentent pas la même sensibilité à l'oxydation ; le taux d'oxydation augmente en fonction du type d'isométrie géométrique *c,c* > *c,t* > *t,t* (Yurawecz *et al.*, 2003).

2. Origines des AG *trans*

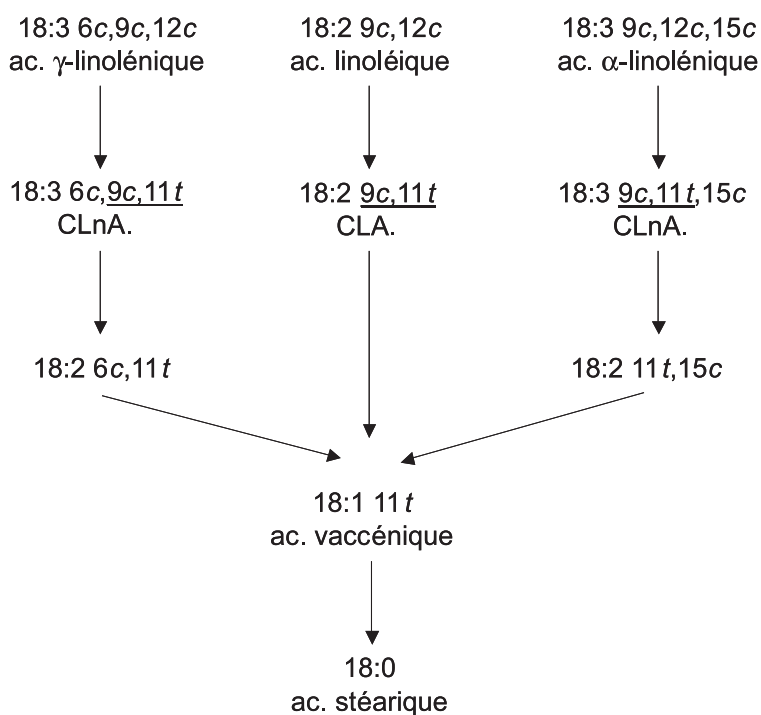
Selon la littérature, les AG *trans* présents dans les aliments proviennent de trois origines principales :

- la **biohydrogénation ruminale** et différentes réactions enzymatiques annexes, responsables de la présence d'AG *trans* dans le lait et les denrées alimentaires issues des ruminants (viande, produits d'origine laitière) ;
- l'**hydrogénation catalytique** partielle d'huiles ou de graisses, responsable de la présence d'AG *trans* dans les huiles partiellement hydrogénées et les « shortenings » (margarines et mélanges de matières grasses anhydres destinés principalement à l'industrie) ;
- les **traitements thermiques**, sont responsables de la formation d'AG *trans* dans les huiles, les graisses, et tout aliment contenant des corps gras. Ils peuvent être d'origine technologique ou domestique.

2.1. Biohydrogénation ruminale

La biohydrogénation ruminale, résultant de l'action d'enzymes de la flore ruminale sur les AG de la ration des ruminants, conduit à la transformation des AG insaturés en AG saturés. Les 3 voies présentées à la figure 6 sont parmi les plus étudiées (Chilliard *et al.*, 2001, Chilliard *et al.*, 2003, Griinari et Bauman, 1999).

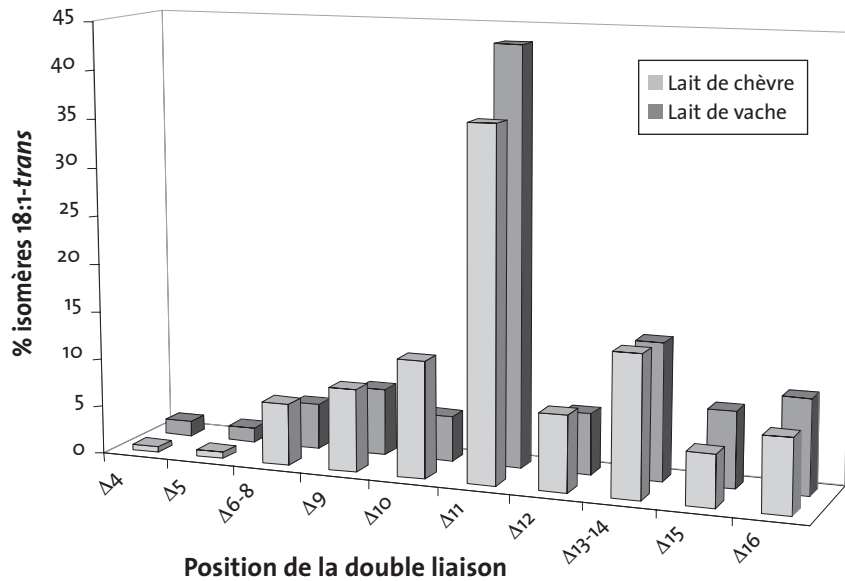
Figure 6 : Voies principales de la biohydrogénation ruminale des acides octadécénoïques.



La dernière étape de ces voies (transformation 18:1-*trans* en 18:0), sous contrôle d'une enzyme propre aux ruminants, est une étape limitante. L'augmentation d'AG polyinsaturés dans la ration provoque donc une augmentation de tous les AG produits au long de ces voies métaboliques, et surtout des AG 18:1-*trans* puisque la production d'acide stéarique est faible et lente.

Parmi ces isomères 18:1-*trans*, l'acide vaccénique 18:1 11t est majoritaire et compose 30 à 50 % des 18:1-*trans* totaux ; les autres isomères se répartissent de façon quasi équimolaire pour les 18:1 9t à 16t ; les isomères dont la liaison est antérieure à la position $\Delta 9$ sont en proportions plus faibles (figure 7) (Ledoux *et al.*, 2000a, Precht, 1995).

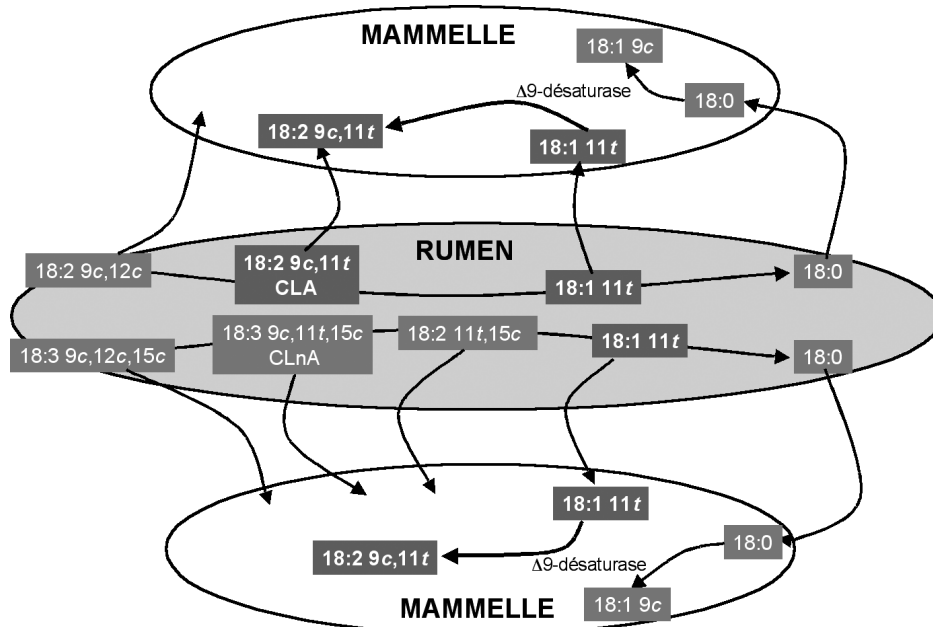
Figure 7 : Répartition des isomères 18:1-trans dans la matière grasse laitière d'après Ledoux *et al.* (2002), et Precht et Molkentin (1997a).



Les AG *trans* formés au cours du métabolisme ruminal sont absorbés à toutes les étapes de chacune des voies, passent dans le sang, puis dans les tissus, notamment dans les tissus mammaires. Tous ces AG seront excrétés et retrouvés dans le lait.

Au niveau mammaire, d'autres réactions enzymatiques produisent de nouveaux AG *trans* ou modifient ceux précédemment formés dans le rumen, notamment sous l'action de la Δ9-désaturase.

Figure 8 : Biohydrogénation ruménique, absorption et transformation tissulaire des acides linoléique et linoléénique, et de leurs dérivés (Griinari et Bauman, 1999, Griinari *et al.*, 2000).



Il a été démontré que la $\Delta 9$ -désaturase de liposome de foie de rats est capable de désaturer *in vitro* pratiquement tous les 18:1-*trans* (sauf les 8*t*, 9*t*, et 10*t*), donnant des isomères de l'acide linoléique soit conjugués comme les 18:2 CLA 9*c*,11*t* et 7*t*,9*c*, soit isolés méthylène-interrompus comme le 9*c*,12*t* ou non méthylène-interrompus comme le 9*c*,13*t* (Mahfouz *et al.*, 1980, Pollard *et al.*, 1980). La transformation de l'acide vaccénique 18:1 11*t* en acide ruménique 18:2 9*c*,11*t* par une $\Delta 9$ -désaturase a été mise en évidence *in vivo* dans le tissu mammaire (figure 8) (Griinari *et al.*, 2000). L'inhibition *in vivo* de la $\Delta 9$ -désaturase conduit à des baisses de 44-71 % des teneurs en 18:2 7*t*,9*c* et de 25-65 % des taux d'acide ruménique 9*c*,11*t* dans le lait (Corl *et al.*, 2002). Cette voie explique la prépondérance de l'acide ruménique sur les autres acides linoléiques conjugués dans la matière grasse laitière (voir tableau 13, chapitre II) et la deuxième place en terme quantitatif du 18:2 7*t*,9*c*. Si ces deux CLA sont principalement produits au niveau mammaire, les autres acides octadécadiénoïques conjugués semblent provenir surtout de la biohydrogénation ruminale (Piperova *et al.*, 2002). Les acides octadécatriénoïques (18:3) de la ration alimentaire des ruminants ne sont pas des précurseurs directs de CLA, mais participent à leur production dans la matière grasse laitière par cette voie de la $\Delta 9$ -désaturase mammaire, puisque leur biohydrogénation aboutit à la formation d'AG 18:1-*trans*.

On trouve également dans le lait des AG *trans* directement absorbés à partir des végétaux de l'alimentation des ruminants, comme l'acide hexadécénique (16:1 3*t*) (Destailats *et al.*, 2000). Enfin dans les tissus, certains AG *trans* formés dans le rumen sont transformés en d'autres AG lors de la β -oxydation (exemple : 18:1 11*t* transformé en 16:1 9*t*). La multiplicité de ces réactions explique la grande diversité des AG *trans* dans le lait de ruminants et, subséquemment, dans les produits laitiers.

2.2. Hydrogénation catalytique partielle

Ce procédé industriel permet de réduire l'insaturation des acides gras pour rendre les huiles plus concrètes et moins sensibles à l'oxydation (Perkins et Smick, 1987). Pendant ce traitement, des AG *trans* sont formés lors d'isomérisation inhérentes aux procédés industriels puisque les graines oléagineuses et les huiles vierges contiennent peu d'AG *trans* à l'origine (Brühl, 1995, Fernandez San Juan, 1996).

Les taux d'AG *trans* rapportés dans la littérature s'étalent de 1 à 2 % pour les margarines ménagères de formulation récente, de 15 à 18 % pour des margarines de basses qualités, et jusqu'à 40 à 60 % pour certaines margarines destinées aux industries alimentaires. Les taux d'AG *trans* et la distribution des différents isomères dépendent de plusieurs paramètres tels que (Ackman et Mag, 1998) :

- la nature et la composition des AG insaturés des huiles ;
- la nature du catalyseur ;
- les conditions d'hydrogénation (température, pression, agitation) ;
- le degré de dureté atteint.

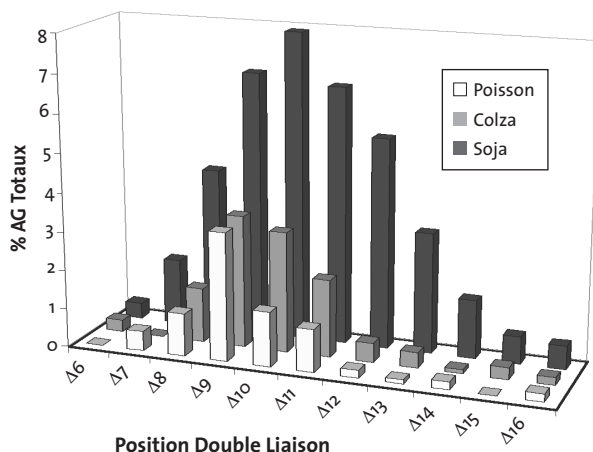
Lors de l'hydrogénation catalytique partielle des huiles végétales, les isomères *trans* formés sont principalement des isomères géométriques et positionnels de l'acide oléique 18:1 9*c* (tableau 4).

Tableau 4 : répartition des AG *trans* dans une huile végétale partiellement hydrogénée d'après Ledoux *et al.* (2000a).

AG <i>trans</i>	Taux (en % AG <i>trans</i> totaux)
18:1- <i>trans</i>	85 – 95 %
18:2- <i>trans</i> (MI)	5 – 15%
18:3- <i>trans</i> (MI)	< 1%
16:1- <i>trans</i>	≈ 0.04%

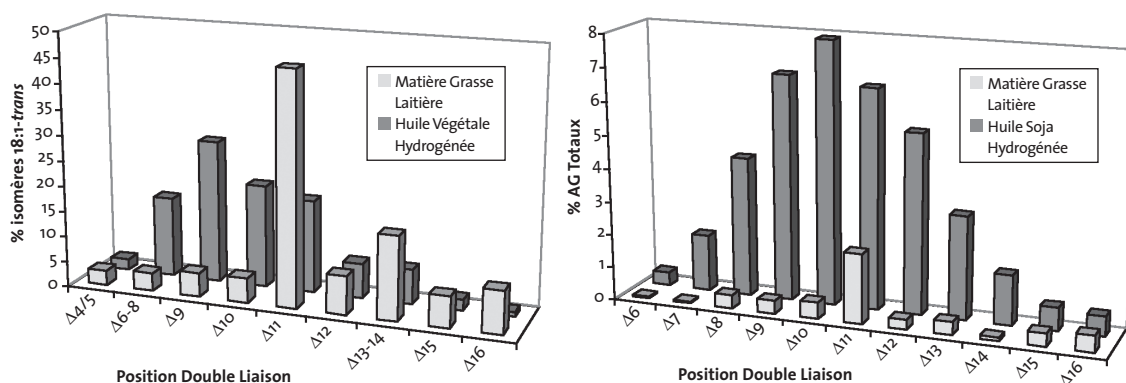
Dans le cas des acides mono-énoïques comme l'acide oléique, l'hydrogénation catalytique provoque conjointement l'isomérisation des liaisons *cis* en configuration *trans* et leur migration le long de la chaîne carbonée. Les huiles végétales partiellement hydrogénées (HVPH) présentent ainsi une distribution typique des différents isomères 18:1-*trans*, distribution plus ou moins gaussienne souvent centrée autour de la position originale ($\Delta 9$), parfois autour du $\Delta 10$ (selon le type d'huile ou le procédé d'hydrogénation) (figure 9) (Aro *et al.*, 1998, Molquentin et Precht, 1996, Wolff *et al.*, 2000).

Figure 9 : Distribution des isomères 18:1-*trans* dans des huiles partiellement hydrogénées d'après Aro *et al.* (1998).



Cette distribution est très différente de celle produite par la biohydrogénation ruminale (Figure 10).

Figure 10 : Comparaison des distributions des isomères 18:1-*trans* entre matière grasse de ruminant et huile végétale partiellement hydrogénée : A. en % 18:1-*trans* d'après Wolff *et al.* (2000). B. en % AG totaux d'après Aro *et al.* (1998).



La formation d'isomères *trans* d'acides gras polyinsaturés au cours de l'hydrogénation catalytique est faible.

Les isomères 18:2 9c,12t et 9t,12c représentent 85 % des isomères 18:2-*trans* dans les margarines et les huiles hydrogénées (contre 9,3 % dans les matières grasses laitières) (Precht et Molquentin, 1997b).

Cependant, des isomères *trans* « mineurs » de l'acide linoléique sont rapportés dans des huiles hydrogénées par différents auteurs. Ratnayake (2001) fait état de la présence d'isomères NMI « isolés » de l'acide linoléique dans des huiles de canola partiellement hydrogénées dans des conditions très douces (sans précision des taux de ces AG dans l'huile d'origine) ; ces isomères tendent à disparaître quand les conditions d'hydrogénation se radicalisent. Mossoba *et al.* (1991) rapportent la présence d'isomères NMI conjugués de l'acide linoléique dans des huiles partiellement hydrogénées et dans des margarines végétales. La présence de CLA dans des huiles végétales partiellement hydrogénées (soja – palme) est confirmée par Banni *et al.* (1995), mais les teneurs ne sont pas précisées ; les principaux isomères rencontrés seraient les isomères 18:2 9c,11t / 9t,11c, et 18:2 10t,12c (par comparaison avec des standards de CLA de synthèse). Dans leur étude des taux d'isomères conjugués linoléiques dans divers aliments, Chin *et al.* (1992) rapportent la présence de trace de CLA dans différentes huiles végétales commerciales pour fritures non hydrogénées. Les teneurs rapportées s'étagent de 0,01 à 0,07 g/100 g en fonction des huiles. Les deux isomères principaux étaient toujours les 18:2 9c,11t (38 à 47 %) et 10t,12c (37 à 44 %). Les parts originelle (huiles végétales) et néoformée (hydrogénation catalytique) des CLA dans des huiles végétales partiellement hydrogénées et dans des margarines restent à déterminer.

Toutefois, il est possible que la présence d'acides octadécadiénoïques conjugués soient des artéfacts de méthylation lors de l'analyse de la composition des huiles hydrogénées (Mossoba *et al.*, 1991, Yurawecz *et al.*, 1994) ; il faut donc prêter attention aux conditions analytiques lors de l'étude de ces AG particuliers (cf. §4.1).

Des faibles teneurs d'isomères α -18:3-*trans* (*t,c,c* ; *c,c,t* ; *t,t,c*) ont été détectées dans des huiles de soja partiellement hydrogénées (Perkins et Smick, 1987).

L'utilisation de procédés industriels « modérés » telle la transestérification pour la fabrication des margarines ménagères a largement contribué à abaisser les taux d'AG *trans* dans ces produits (Ackman et Mag, 1998, Precht et Molkentin, 2000a, Ratnayake *et al.*, 1998). Cependant, les produits alimentaires industriels contenant des huiles végétales partiellement hydrogénées présentent encore des taux d'AG *trans* relativement élevés (Wolff *et al.*, 2000).

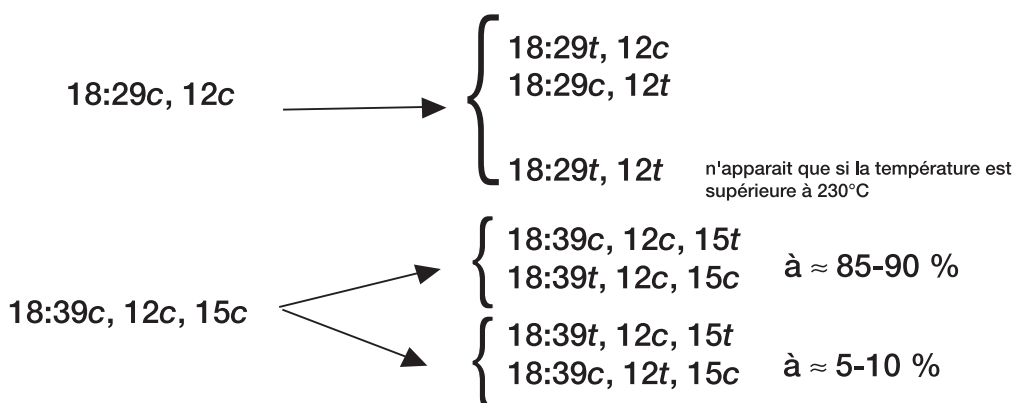
2.3. Traitements thermiques

Les traitements thermiques des huiles et graisses (désodorisation lors du raffinage, cuisson, fritures, grillades, etc.) génèrent aussi des AG *trans*. Contrairement à l'hydrogénation catalytique, le chauffage induit peu d'isomères 18:1-*trans*, mais surtout des acides di- et tri-énoïques mono- voire di-*trans*. Les traitements thermiques produisent surtout des isomères géométriques, peu d'isomères positionnels : les doubles liaisons migrent peu ou pas, mais s'isomérisent de *cis* en *trans* (Wolff et Sébédio, 1991, Wolff, 1993c).

La littérature mentionne principalement l'effet du chauffage sur l'acide linoléique 18:2 9c,12c (n-6) et l'acide α -linoléique 18:3 9c,12c,15c (n-3) (Ackman *et al.*, 1974, Sébédio *et al.*, 1988, Sébédio et Chardigny, 1998, Wolff, 1995a). Cependant certaines publications font état de l'isomérisation de l'acide γ -linoléique 18:3 6c,9c,12c (Wolff et Sébédio, 1994). Les isomères formés et les taux d'AG *trans* produits dépendent surtout de la température atteinte, mais également du temps d'application du traitement (Devinat *et al.*, 1980, Grandgirard, 1992, Wolff, 1995a).

L'acide α -linoléique est plus sensible à l'isomérisation que l'acide linoléique (Sébédio et Chardigny, 1998) et la probabilité de formation des isomères géométriques 18:3-*trans* est 12 à 14 fois supérieure à celle des 18:2-*trans* (Wolff, 1993c, 1995a). Il semble exister un rapport « degré d'insaturation α -linoléique/degree d'insaturation linoléique » relativement constant, indépendant des conditions thermiques et du contenu initial des huiles. En ce qui concerne cet acide α -linoléique, ce sont toujours les quatre mêmes isomères qui sont formés sur les sept théoriquement possibles. Les isomères 18:3 9c,12c,15t et 9t,12c,15c sont les deux constituants majeurs et représentent 85-90 % des 18:3-*trans* ; les deux autres, 18:3 9t,12c,15t et 9c,12t,15c, constituent 10-15 % de ces isomères 18:3-*trans* (Ackman *et al.*, 1974, Wolff, 1993b, c, 1995a). Les proportions relatives de ces quatre isomères semblent être assez constantes et indépendantes du taux initial en acide α -linoléique. Les isomères 18:3-*trans* peuvent représenter jusqu'à 3,5 % des AG totaux, les taux maximaux semblent être trouvés dans les huiles de colza et soja (figure 11) (Wolff, 1995a). Les isomères de l'acide linoléique 18:2 9c,12c sont en proportions moindres (jusqu'à 1 % des AG totaux des huiles raffinées), et sont surtout des mono-*trans* : 18:2 9t,12c, et 9c,12t. L'isomère di-*trans* 18:2 9t,12t n'est retrouvé que dans des cas de températures très élevées ou dans des huiles de fritures très utilisées (figure 11) (Precht et Molkentin, 1997b, Sébédio et Chardigny, 1998, Wolff, 1993c).

Figure 11 : Isomères des acides linoléique et alpha-linolénique formés lors de chauffage.



L'isomérisation thermique de l'acide γ -linoléique ressemble à celle de l' α -linoléique sous plusieurs aspects : mêmes types et même nombre d'isomères formés, degrés d'isomérisation atteints similaires dans des conditions identiques de chauffage, augmentation du taux d'isomères avec l'augmentation de la température et de la durée du traitement. Les deux isomères principaux sont le 18:3 6*c*,9*c*,12*t* et le 18:3 6*t*,9*c*,12*c*, accompagnés de 2 isomères mineurs 18:3 6*c*,9*t*,12*c* et 18:3 6*t*,9*c*,12*t*. Il semble donc que la réactivité des doubles liaisons vis-à-vis de l'isomérisation *cis-trans* soit liée à la position relative des liaisons (externe ou centrale) plutôt qu'à une position absolue ($\Delta 6, 9, 12$ ou 15) (Wolff et Sébédio, 1994).

Juanéda *et al.* (2001) font état de la présence de CLA dans des huiles végétales (arachide, tournesol, colza) ayant servi pour des fritures. Les taux vont de 0,3 à 0,5 % des AG totaux ; les isomères di-*trans* représentent 50 % des CLA parmi lesquels le 18:2 9*t*,11*t* (18 – 28 %) et le 18:2 10*t*,12*t* (14 – 27 %) sont prépondérants. L'acide ruménique représente 5 à 8 % des CLA, c'est à dire environ 0,04 % des AG totaux. Ces huiles végétales présentent en outre de forts taux de composés polaires et d'isomères di-*trans* 18:3, témoins probables d'une surchauffe ou d'une trop longue utilisation.

Une étude récente (Juaneda *et al.*, 2003) a montré que les graines de tournesol et l'huile vierge qui en est issue sont exemptes d'AG conjugués. Les procédés de raffinage (neutralisation et décoloration) ne provoquent pas l'apparition de ces AG. En revanche, des CLA sont détectés après l'étape de désodorisation (0,1 % des AG totaux). Au cours de cette étude expérimentale, cette huile a été chauffée une dizaine de fois à deux températures de friture : à 180°C, le taux d'isomères conjugués de l'acide linoléique passe de 0,1 % à 0,2 % des acides gras totaux ; à 220°C, ce taux monte à 1,3 %. Les isomères formés sont surtout des 18:2 $\Delta 10,12$ et $\Delta 9,11$ de configuration *trans,trans*.

Le chauffage des viandes peut aussi induire des phénomènes d'isomérisation. Ainsi, Ha *et al.* (1987) rapportent la formation d'isomères conjugués de l'acide linoléique (CLA 18:2 9*t*,11*t*, 9*c*,11*t*, 10*t*,12*t*, et 10*t*,12*c*) lors de grillades de viandes de bovins. L'identification des isomères lors de cette étude demande à être confirmée puisque les connaissances en matière de CLA et de leur analyse ont beaucoup évolué depuis cette époque.

Dans des matières grasses d'origine laitière maintenues à des températures de 200 – 225°C pendant 15 min, Precht *et al.* (1999) rapportent peu de changement de composition : légère diminution du taux d'AG 18:1-*trans*, tendance à la baisse des taux de CLA plus marquée pour des laits d'hiver que pour des laits d'été. Ce traitement représente des conditions compatibles avec celles que l'on rencontre lors de la cuisson ou de la friture de produits contenant ces matières grasses.

Les CLA semblent être des molécules stables lors de la conservation réfrigérée. Aucune différence significative des teneurs en CLA totaux n'est noté après 6 semaines de conservation à 4°C de beurres, après 32 semaines de conservation à 4°C de fromages, après 6 mois de conservation à – 20°C de crèmes glacées (5 et 10 % de matière grasse), et de beurres (Shantha *et al.*, 1995).

2.4. AG *trans* présents dans les aliments d'après la littérature

Un inventaire non exhaustif des AG *trans* des aliments est rapporté en annexe. Des données chiffrées seront présentées dans le chapitre II.

2.5. Isomères conjugués de l'acide linoléique obtenus par synthèse

La synthèse par voie chimique n'est pas à proprement parler une source de CLA dans les aliments. Cependant, cette voie de synthèse doit être citée car ces mélanges d'AG sont utilisés d'une part dans les compléments alimentaires commercialisés et d'autre part lors des études des propriétés biologiques des CLA, que ce soit en expérimentation animale ou dans les études cliniques.

Ces synthèses partant des acides linoléique ou ricinoléique aboutissent à des mélanges de différents isomères conjugués en proportions variables sans rapport avec la composition en CLA des aliments. Se pose donc la question d'une part des propriétés individuelles de chaque isomère et d'autre part de l'innocuité de chaque isomère. Le tableau 6 résume les compositions des différents mélanges utilisés lors des expérimentations rapportées dans la littérature.

Tableau 6 : Composition des mélanges de CLA (% CLA totaux) utilisés lors d'études expérimentales.

8t,10c	9c,11t	10t,12c	11c,13t	8c,10c	9c,11c	10c,12c	11c,13c	8t,10t	9t,11t	10t,12t	11t,13t	autres CLA	Production	Auteurs	
	43,3 +9t,11c	45,3			1,9	1,4			2,6			traces	NuChekPrep	(Ip et al., 1994)*	
	42,6 +9t,11c	44,8			2,1	1,4			2,8			traces	NuChekPrep	(Ip et al., 1995)*	
35,5		24,9	19,9	1,2	2,7	3,5	1,6		8,7		1,5	0,8 9t,11c	Natural Lipids	(Kramer et al., 1998)*	
	42,0 +9t,11c	44,0			< 1,0				13,6				Natural Lipids	(Li et Watkins, 1998)	
	81				17								traces	Matreya	(Ip et al., 1999)*
15,3	25,3	36,5	17,6										traces	NuChekPrep	(Ip et al., 1999)*
13,8 c/t	24,5 c/t	30,4 c/t	18,3 c/t	ND	3,2	2,6	0,8	2,9	2,0	0,4	0,2		Natural Lipids	(Ostrowska et al., 1999)	
	41,0	44,0										15	Natural Lipids	(Chuang et al., 2001)	
	47,6	47,7			1,7	1,2						1,8 t,t	Natural Lipids	(Risérus et al., 2001)	
16,6	17,6	22,6	23,6						7,7			11,9	Pharmanutrients	(Zambell et al., 2001)*	
	47,2	48,2										4,6	Seah Internation.	(Bouthergourd et al., 2002)*	

Va Valeurs exprimées en % d'acides linoléiques conjugués totaux dans le mélange. ND = Non Détecté.

* Ces auteurs précisent que les données sont issues de leurs propres analyses de composition des gélules.

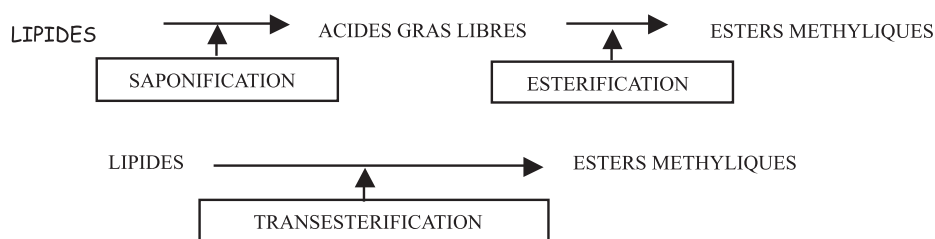
3. Méthodes d'analyses des AG *trans* et des CLA

3.1. Dérivation des AG

La dérivation des AG en abaissant leur point de fusion et en diminuant leur polarité permet de réduire le temps d'analyse et d'obtenir de meilleures séparations des pics, surtout avec des colonnes de hautes polarités et de grandes longueurs (100 – 120 m).

En chromatographie en phase gazeuse (CPG), la dérivation la plus usuelle est la trans-estérification (figure 12), excepté pour les AG libres et les AG des sphingolipides.

Figure 12 : schéma d'estérification des AG.

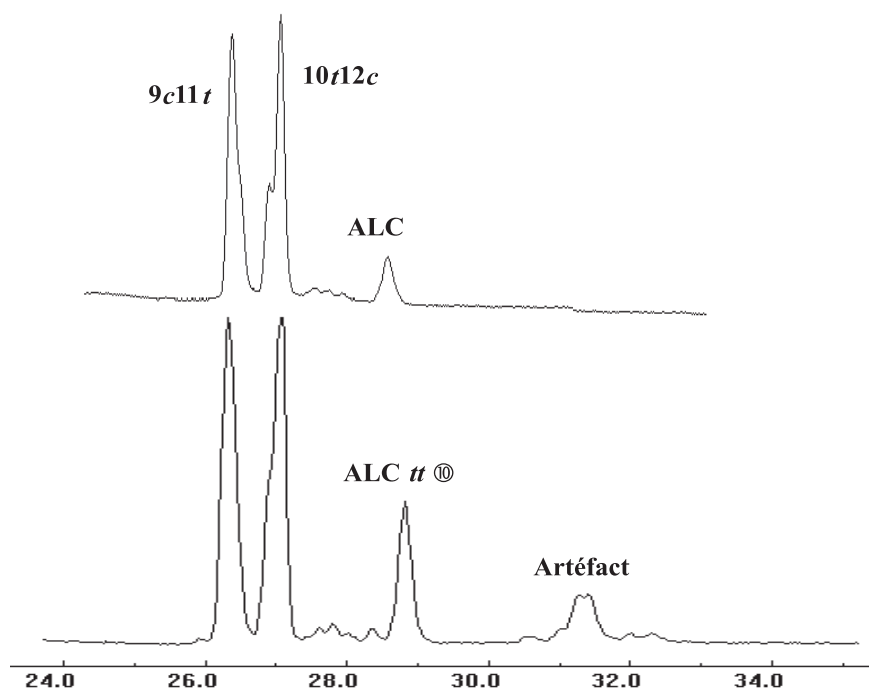


> Sommaire

La meilleure méthode d'estérification sera déterminée en fonction du produit étudié, puisque tous les AG ne peuvent être dérivés suivant le même protocole selon le type de lipide. Les AG libres sont estérifiés directement (pas de transestérification possible) en milieu acide ou avec du diazométhane. Les lipides simples (triglycérides, esters de cholestérol) et certains complexes (phospholipides) sont le plus souvent transestérifiés soit en milieu acide (souvent à fortes températures en présence de H₂SO₄, ou HCl, ou BF₃/méthanol) soit en milieu alcalin (à températures plus basses, de température ambiante à 40-50°C, le plus souvent avec du méthanolate de sodium). Dans les cas particuliers d'aliments riches en AG courts, on peut avoir recours à des esters butyliques ou isopropyliques d'AG ou des esters de diazométhane pour retarder l'élution des AG les plus courts qui ont tendance à co-éluer avec le solvant d'injection. Les sphingolipides ne peuvent être transestérifiés (les AG sont liés à la sphingosine par liaisons amides, et non par liaisons esters).

Les CLA sont sensibles à la chaleur et au pH, et s'isomérisent dans certaines conditions de méthylation (Kramer et Zhou, 2001, Park *et al.*, 2001, Shantha *et al.*, 1993, Werner *et al.*, 1992, Yamasaki *et al.*, 1999, Yurawecz *et al.*, 1994). Si on recherche les isomères conjugués de l'acide linoléique, il convient d'utiliser une transestérification basique à température modérée pour éviter l'isomérisation des formes *cis* en formes *trans*, et les pertes de CLA en dérivés méthoxy (figure 13) (Berdeaux *et al.*, 1998, Kramer *et al.*, 1997, Kramer et Zhou, 2001).

Figure 13 : Influence du type de transestérification sur l'analyse des CLA (haut : méthylation basique CH₃ONa, 50°C ; bas : méthylation acide BF₃/méthanol 90°C) (Berdeaux *et al.*, 1998).



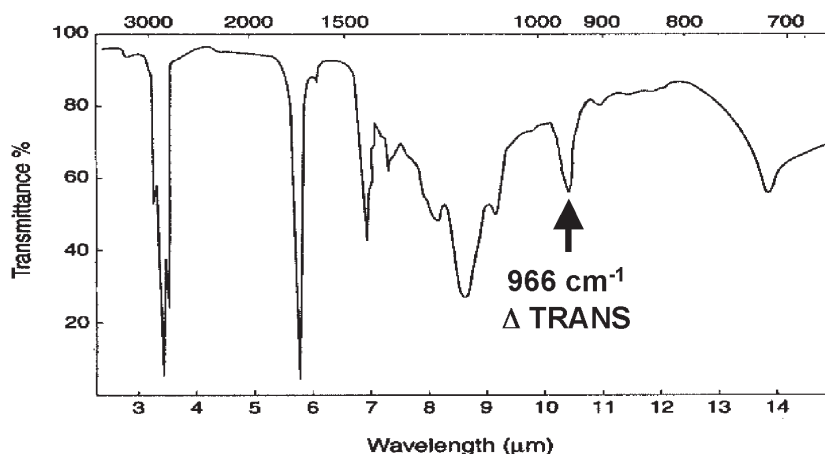
L'emploi de la spectrométrie de masse pour l'analyse des AG demande la formation d'autres types de dérivés que les esters méthyliques d'AG. Ces dérivations utilisent des composés comme le 4,4-diméthylloxazoline (DMOX) ou le 3-hydroxy-méthyl pyridinyl (Berdeaux *et al.*, 1998).

3.2. Analyse des AG *trans* en Infra-Rouge

3.2.1. Spectrométrie InfraRouge (IR)

Les liaisons *trans*-éthyléniques « isolées » (méthylène interrompues ou non) absorbent dans l'infrarouge entre 976 et 956 cm⁻¹ avec un maximum d'absorption à 966 cm⁻¹ (10,3 μm) (figure 14). Cette absorption correspond à la déformation hors du plan de la liaison C-H (Firestone et Sheppard, 1992, Mossoba *et al.*, 2003). La spectrométrie en IR a donc été utilisée très tôt pour le dosage des taux de liaisons *trans* isolées dans les huiles hydrogénées.

Figure 14 : Spectres Infra-Rouge d'une huile hydrogénée (Juanéda, non publié).



La détermination du taux de liaisons *trans*-éthyléniques est rapide, facile à mettre en œuvre et adaptée aux analyses de routine. Cependant, cette technique ne donne d'indication que sur la teneur globale en doubles liaisons de type *trans* dans un produit donné ; elle ne fournit aucune indication sur les isomères *trans* présents : ni sur la longueur de leurs chaînes carbonées, ni sur le nombre de liaisons *trans* sur une chaîne donnée, ni sur leurs positions.

Cependant, les résultats obtenus par spectrométrie IR de corps gras alimentaires sont toujours supérieurs à ceux obtenus par chromatographie. La répétabilité et la reproductibilité sont notablement meilleures en CPG qu'en IR, surtout pour les produits de faibles teneurs en AG *trans*. Plusieurs raisons ont été avancées pour expliquer ces écarts :

- la bande caractéristique des *trans* apparaît sur une partie du spectre pentue et élevée, l'intégration des pics d'AG *trans* dans cette pente n'est pas aisée, en particulier quand le signal des AG *trans* est de faible intensité (cas des faibles teneurs). Ces biais d'intégration des spectres peuvent être une source d'erreur non négligeable, notamment à des teneurs en AG *trans* inférieures à 15 % (Ulberth et Haider, 1992) ;
- la présence de certaines matières grasses peut également interférer avec le dosage des AG *trans* : c'est le cas des triglycérides, qui absorbent à 970 cm⁻¹ (surestimation des AG *trans* de 2 à 3 %) et des AG libres dont la déformation hors du plan de l'OH du carboxyle absorbe dans une bande à 943 - 935 cm⁻¹. Ces biais peuvent être évités en adoptant des facteurs de correction, en utilisant des techniques de spectrométrie IR différentielle, ou en mesurant l'absorption des esters méthyliques des AG *trans* bien que l'estérification interfère aussi légèrement avec la mesure (sous-estimation de 1 à 3 %) (Firestone et Sheppard, 1992) ;
- les doubles liaisons conjuguées mono-*trans* (*cis, trans* et *trans, cis*) ou di-*trans* absorbent dans des bandes (990 et 950 cm⁻¹) proches de celle des AG *trans* isolées (966 cm⁻¹). Les méthodes de spectrométrie IR développées pour le dosage des *trans* isolées ne sont pas utilisables pour des produits présentant des teneurs en AG *trans* conjugués supérieures à 5 % ;
- les méthodes IR sont calibrées sur l'absorbance de l'ester méthylique de l'acide élaïdique 18:1 *gt*, il faut donc admettre que toutes les liaisons *trans* ont la même absorbance. Ceci semble vrai pour les AG monoinsaturés, mais non pour les AG polyinsaturés mono- ou di-*trans*, ce qui est une source d'erreur supplémentaire (Firestone et Sheppard, 1992).

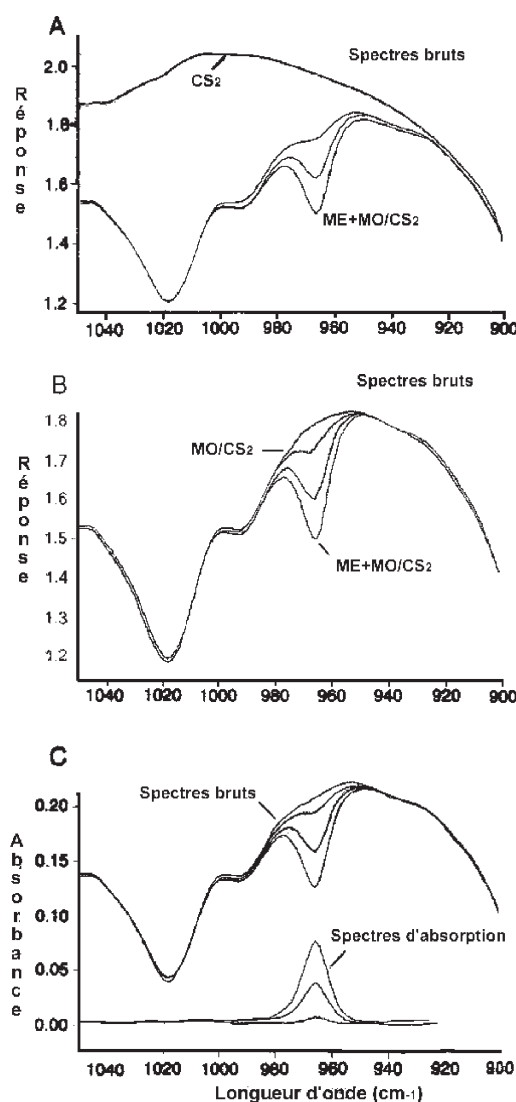
Ces écarts ont pu être réduits, voire supprimés, par le développement des nouvelles technologies de spectrométrie IR.

3.2.2. Spectrométrie InfraRouge à Transformée de Fourier (IRTF)

L'apparition de la spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) a permis d'augmenter les capacités des spectromètres à infrarouge et d'améliorer les performances de cette méthode d'analyse. La spectrométrie IRTF offre plusieurs avantages sur les autres méthodes : rapport signal/bruit élevé grâce au moyennage de nombreuses mesures, précision des longueurs d'onde, augmentation du débit de lumière et acquisition rapide des données (grâce au principe de l'interféromètre de Michelson), haute résolution, automatisation et possibilité de manipulations informatiques des données telle que la soustraction de spectre assistée par ordinateur (Firestone et Sheppard, 1992, Ulberth et Haider, 1992).

Ainsi, la soustraction proportionnée du spectre de transmission d'un matériel de référence « bruit de fond » du spectre de transmission de l'échantillon permet l'obtention d'un spectre d'absorbance symétrique, de ligne de base plane (figure 15). Cette opération permet de s'affranchir des biais inhérents d'une part à la forte pente des spectres de transmission dans les bandes des AG *trans*, et d'autre part aux méthodes d'intégration des pics utilisées en IR « classique » (Mossoba *et al.*, 1996, Ulberth et Haider, 1992). La justesse de cette méthode dépend beaucoup du choix du matériel de référence « bruit de fond » et de son adéquation avec la matrice étudiée. Ce matériel doit être libre de tout AG *cis*, soit des esters méthyliques d'AG *cis*, soit des triglycérides d'AG *cis*, soit enfin des huiles vierges ou peu transformées, pour des préparations, respectivement, d'AG *trans*, d'EMAG *trans*, de triglycérides *trans* ou d'huiles végétales partiellement hydrogénées. Le problème reste délicat pour des produits plus complexes comme les matières grasses d'origine laitière.

Figure 15 : Spectrométrie IRTF de standards d'AG *trans*.



- A : Spectres bruts de transmission du disulfure de carbone (CS_2) (bruit de fond) et de solutions de méthyle élaïdate (Me) à 1, 4, et 7 % dans du méthyle oléate (MO) dilué dans le CS_2 .
- B : Idem avec utilisation d'une solution de méthyle oléate (MO) dans du disulfure de carbone comme bruit de fond.
- C : Obtention de spectres d'absorption par soustractions proportionnées du spectre brut MO/CS_2 des spectres bruts $ME+MO/CS_2$. L'utilisation de cette fonction mathématique possible en spectrométrie IRTF permet l'obtention de spectres de lignes de base planes dont l'intégration est plus aisée et juste (Mossoba *et al.*, 1996) (figure reproduite avec l'aimable autorisation de M.M. Mossoba et de l'AOCS Press).

Les résultats obtenus en spectrométrie IRTF restent cependant décalés par rapport aux valeurs mesurées en CPG, même si les écarts sont considérablement réduits par rapport à la spectrométrie IR (Lanser et Emken, 1988, Toschi *et al.*, 1993, Ulberth et Haider, 1992). Ces écarts sont probablement inhérents aux incertitudes de chacune des deux méthodes.

En revanche, la spectrométrie IRTF utilisant la soustraction proportionnée de spectres donne de bons résultats pour la mesure du taux de liaisons *trans* dans les huiles raffinées et partiellement hydrogénées, avec une répétabilité et une reproductibilité acceptables (Sedman *et al.*, 1998).

Cette méthode a été validée pour l'analyse des teneurs en AG *trans* isolés d'huiles végétales et de margarines par une analyse collaborative menée par l'AOCS, et adoptée comme méthode officielle par l'AOCS et l'AOAC (voir paragraphe 3.5.2.1.).

3.2.3. Spectrométrie IRTF à Réflexion Totale Atténuée (RTA)

Les conditions de réflexion interne totale s'appliquent quand la lumière traversant un milieu de haut index de réfraction (cristal comme diamant ou ZnSe) frappe l'interface entre ce milieu et un autre milieu de faible index de réfraction (corps gras liquide par exemple) avec un angle d'incidence particulier. Lors de ce phénomène, l'intensité de la lumière infrarouge est atténuée par absorption d'une partie de cette lumière par certains composés à des longueurs d'onde caractéristiques, par exemple par des AG *trans* à 966 cm^{-1} (Mossoba *et al.*, 2003).

Ce phénomène de réflexion interne, appelé « Réflexion Totale Atténuée » (RTA, ou *Attenuated Total Reflection ATR*), a été appliqué à la spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF). La spectrométrie IRTF-RTA a d'abord été utilisée pour suivre l'évolution des teneurs en AG *trans* lors de l'hydrogénation partielle des huiles végétales (Belton *et al.*, 1988, Dutton, 1974). Par la suite Mossoba *et al.*, 1996) ont perfectionné cette technologie pour l'analyse des taux d'AG *trans* dans des huiles végétales hydrogénées en couplant cette technique avec la soustraction de spectres pour en améliorer les performances. Cette technique a été essayée sur plusieurs types d'aliments à base d'huiles végétales partiellement hydrogénées ou non (Ali *et al.*, 1996)

La justesse, la répétabilité et la reproductibilité de cette technique ont été testées sur des standards de triélaïdine et de méthyle élaïdate, sur des huiles raffinées, sur des huiles végétales partiellement hydrogénées ou non hydrogénées, et sur des huiles supplémentées avec de la triélaïdine (Ali *et al.*, 1996, Adam *et al.*, 1998, Adam *et al.*, 1999). La répétabilité et la reproductibilité sont satisfaisantes pour des teneurs moyennes ou élevées en AG *trans*, mais baissent lorsque les taux de liaisons *trans* approchent la limite inférieure de quantification de la méthode (1 % d'AG *trans* en p.100 d' AG totaux). Sur un grand nombre d'aliments à base d'huiles végétales raffinées ou partiellement hydrogénées analysés, l'IRTF-RTA donne des résultats de même ordre de grandeurs que la CPG directe ; les écarts observés entre les deux méthodes semblent acceptables.

La technologie IRTF-RTA permet la détermination rapide (5 minutes) des teneurs en AG *trans* directement sur la matière grasse liquéfiée, sans méthylation, ni fractionnement, ni purification, et surtout sans utilisation de solvants toxiques tel que le CS_2 . Toutefois, la matière grasse doit être extraite des aliments et déshydratée avant la mesure. L'analyse peut également se faire sur les esters méthyliques d'AG (EMAG) ; la reproductibilité de la méthode en est améliorée.

Cette technique a fait l'objet d'une étude collaborative sous l'égide de l'AOCS et de l'AOAC qui l'ont validée comme méthode officielle (voir paragraphes 3.5.2.3. et 3.5.2.4.). En revanche, cette technique n'a pas été validée pour l'analyse des AG *trans* dans des matières grasses à teneurs plus élevées en AG polyinsaturés poly-*trans* (par exemple dans les huiles chauffées).

Par ailleurs, les premiers résultats d'analyses des teneurs en AG *trans* dans la matière grasse d'origine laitière sont décevants. Plusieurs raisons sont avancées :

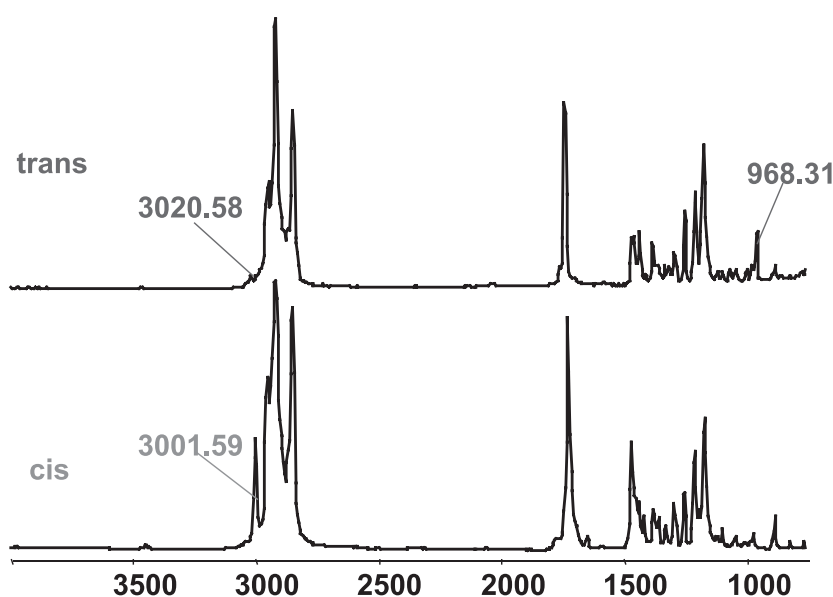
- les faibles taux d'AG *trans* rencontrés dans les produits laitiers ;
- la multiplicité des AG porteurs d'une liaison *trans* dans ces produits ;
- la difficulté de trouver une matière de référence "bruit de fond" pour ce type de produits.

De plus, cette méthode ne permet pas de séparer les isomères conjugués *c/t* et *t,t* des AG *trans* isolés, ce qui peut être un inconvénient dans les pays où la réglementation écarte les acides gras conjugués de la définition des acides gras *trans*. Récemment Mossoba *et al.* (2001b) ont proposé une technique « d'addition de standards » pour faire face à ces difficultés. Cette technique semble prometteuse mais des investigations supplémentaires s'avèrent nécessaires, notamment sur un plus grand nombre d'échantillons et une plus grande variété de produits laitiers. De plus, une étude comparée des taux obtenus par cette méthode et par la CPG après fractionnement est indispensable pour évaluer la justesse de ces méthodes appliquées aux matières grasses d'origine laitière.

3.2.4. Spectrométrie IRTF couplée à la Chromatographie en Phase Gazeuse

Le couplage CPG-IRTf a été réalisé pour caractériser la géométrie des doubles liaisons directement en sortie du chromatographe. L'avantage de ce couplage est d'obtenir les spectres infrarouges directement sur chacun des pics d'esters méthyliques d'AG. Mais cette technique est récente et compte peu d'applications actuellement (Le Quéré et Sémon, 1998). La Figure 16 présente les spectres infrarouge des acides *cis* et *trans*. Ces spectres ont été obtenus après une séparation en CPG sur colonne BPX70 (120m x 0,25mm) (Juanéda, 2002). Le spectre du 18:1 11-*trans* (acide vaccénique) montre la présence d'une bande à 968 cm⁻¹ et son absence pour le 18:1 11-*cis* conformément aux travaux de Mossoba *et al.* (1997) et Sémon *et al.* (1998).

Figure 16 : spectres infrarouge des AG 18:1 Δ 11-*trans* (haut) et -*cis* (bas) après séparation en CPG (colonne BPX70, 120 m x 0,25 mm) (Juanéda, 2002).



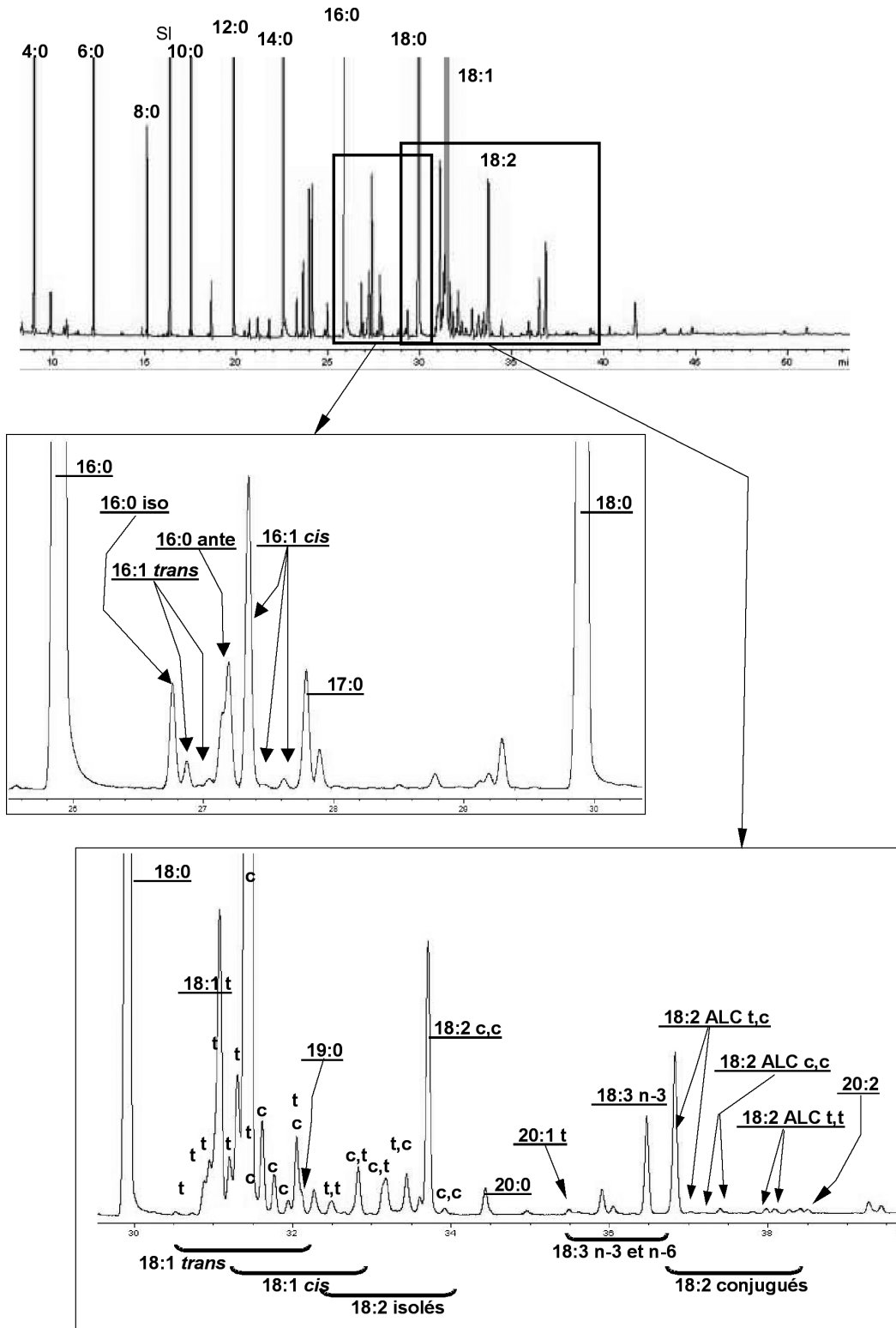
3.3. Chromatographie en Phase Gazeuse « directe » des AG

La Chromatographie en phase gazeuse (CPG) équipée d'un détecteur à ionisation de flamme (DIF) est la méthode d'analyse la plus couramment utilisée pour le dosage des AG en général, et des AG *trans* et des CLA en particulier. Il convient cependant de souligner qu'une séparation complète de chaque isomère *trans* ou conjugué exige le plus souvent le couplage de la CPG avec un autre système chromatographique au préalable.

En effet, en injectant directement en CPG-DIF un extrait estérifié d'un corps gras dont la composition en AG est simple, on peut, dans la plupart des cas, doser facilement les AG principaux de cette matière grasse avec justesse. Ceci devient beaucoup plus difficile avec une matrice complexe comme la matière grasse laitière par exemple, et encore plus compliqué si on veut doser de manière précise les isomères *trans* que ce soit dans les produits laitiers ou dans les huiles hydrogénées.

Pour illustrer ceci, la figure 17 montre à titre d'exemple un chromatogramme d'une matière grasse laitière obtenue sur une colonne capillaire de haute polarité et de grande longueur (100 m).

Figure 17 : Chromatogramme d'esters méthyliques d'AG de beurre (lait de vache), analysés sur CPSil 88 100 m, 60°C (5 mn) ↗14°C/mn 165°C (1 mn), ↗2°C 225°C (17 mn), 16okPa, (hydrogène) (Ledoux, non publié).



En optimisant les conditions opératoires (tableau 7), un groupe composé des isomères 18:1 $\Delta 4t$ -11t apparaît isolé et quantifiable ; mais les autres isomères 18:1-*trans* ($\Delta 12t$ -16t) co-éluent avec leurs homologues *cis*, notamment avec l'acide oléique (18:1 *9cis*). Dans la zone chromatographique immédiatement adjacente, des AG mineurs *trans,cis,cis,trans*, et *trans,trans* « isolés » (MI ou NMI non conjugués), isomères de l'acide linoléique (18:2 *9cis,12cis*) co-éluent avec d'autres isomères 18:1-*cis* et avec certains AG mineurs particuliers comme le 17:0-cyclo, 19:0 et le 19:1 (Collomb et Büllher, 2000, Precht et Molkentin, 1997b, 1999a, b, Ulberth et Henninger, 1994, Wolff *et al.*, 1998).

Tableau 7 : Type de colonne et programmes de températures utilisés pour l'analyse des AG dans des matières grasses de lait.

Esters	Colonne		Programme température ¹	Temps	Références
	Référence ⁴	Longueur			
EMAG	CPSil 88	100 m	45°C (1 mn) ↗5°C/mn 225°C (25 mn)	62 mn	(Precht et Molkentin, 1996)
EMAG	SP2560	100 m	70°C (4 mn) ↗13°C/mn 175°C ↗4°C/mn 215°C (31 mn)	80 mn	(Kramer <i>et al.</i> , 1997)
EMAG	Supelcowax	60 m	50°C ↗10°C/mn 190°C (41,5 mn)	56 mn	(Chouinard <i>et al.</i> , 1999)
EMAG	CPSil 88	100 m	60°C (5 mn) ↗14°C/mn 165°C (1 mn) ↗2°C/mn 225°C (17 mn)	60 mn	(Collomb et Büllher, 2000)
EMAG	CPSil 88	100 m	75°C (2 mn) ↗5°C/mn 170°C (40 mn) ↗5°C/mn 220°C (20 mn)	91 mn	(Roach <i>et al.</i> , 2000)
EBAG	SP 2380	100 m	60°C (5 mn) ↗3°C/mn 165°C (10 mn) ↗5°C/mn 220°C (28 mn)	89 mn	(Baer <i>et al.</i> , 2001)
EMAG	Supelcowax	60 m	65°C (1 mn) ↗13°C/mn 195°C (50 mn) ↗15°C/mn 240°C (50 mn)	87,7 mn	(Kramer <i>et al.</i> , 2002)
EMAG	CPSil 88	100 m	45°C (4 mn) ↗13°C/mn 175°C (27 mn) ↗4°C/mn 215°C (35 mn)	86 mn	(Kramer <i>et al.</i> , 2002)
EMAG ²	CPSil 88	100 m	60°C (1 mn) ↗20°C/mn 170°C (60 mn) ↗20°C/mn 220°C 10 mn	78 mn	(Ledoux <i>et al.</i> , 2003)
EIPAG ³	BPX 70	60 m	60°C (5 mn) ↗7°C/mn 180°C (25 mn) ↗20°C/mn 210°C (10 mn)	88,6 mn	(Ledoux <i>et al.</i> , 2003)

1. Isotherme (maintenue) ↗rampe isotherme (maintenue) ↗rampe etc.

2. Analyse des AG > C18.

3. Analyse des AG de 4:0 à 18:0.

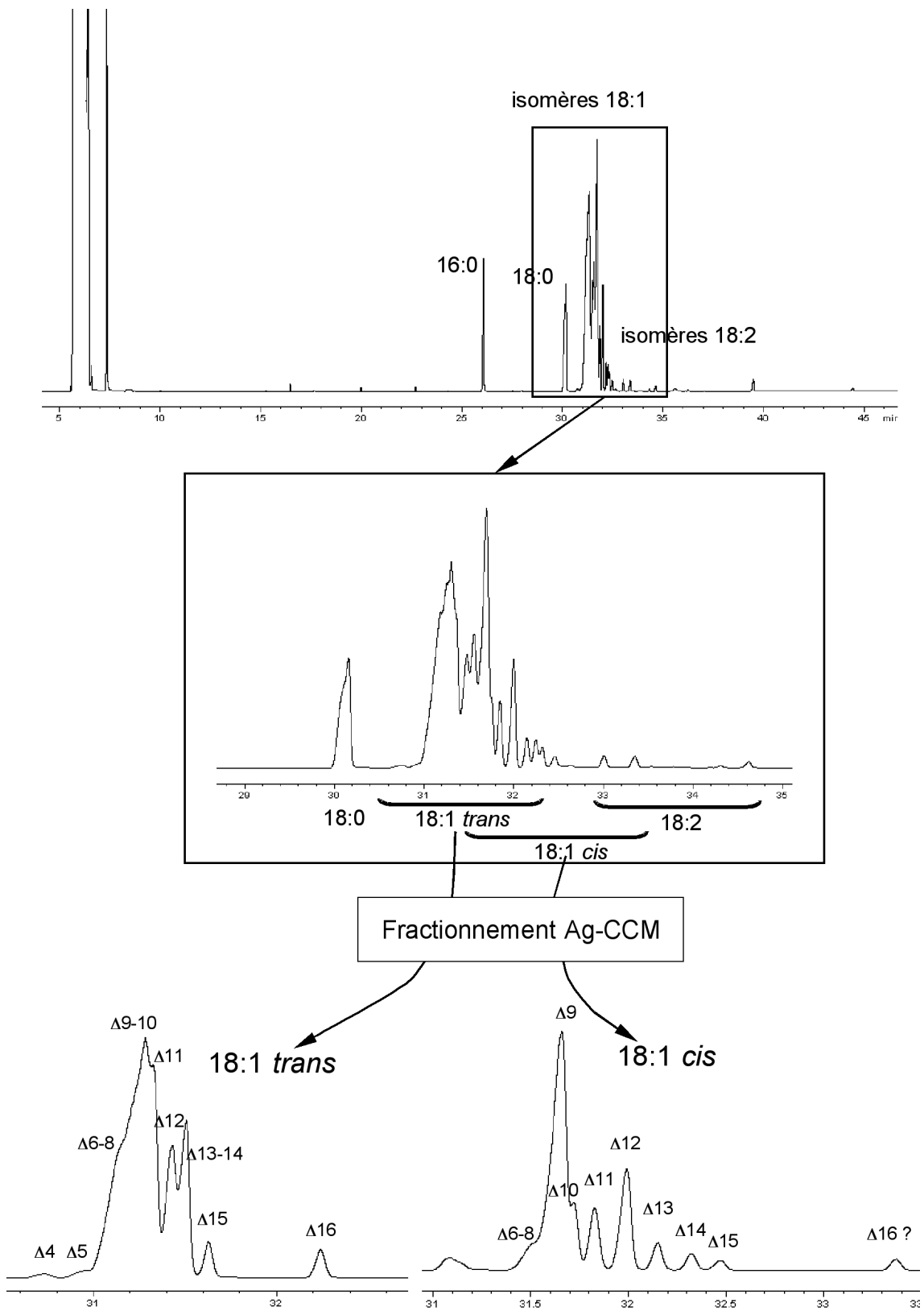
4. Elle renseigne sur la phase stationnaire utilisée pour le tapissage interne de la colonne.

Les isomères 16:1-*trans* posent les mêmes problèmes analytiques que les 18:1-*trans*. La Figure 17 montre les recouvrements de pics et les difficultés d'identification et de quantification de ces AG *trans* dans la matière grasse laitière (Destailats *et al.*, 2000, Molkentin et Precht, 1997, Precht et Molkentin, 2000b).

D'autres co-élutions AG *trans*-AG *cis* sont également observées. On peut citer notamment les isomères 20:1-*trans* qui éluent dans la même région que leurs homologues 20:1-*cis* et que les acides α - et γ -linoléique (respectivement 18:3 *6c,9c,12c* et *9c,12c,15c*) et leurs éventuels isomères *trans*.

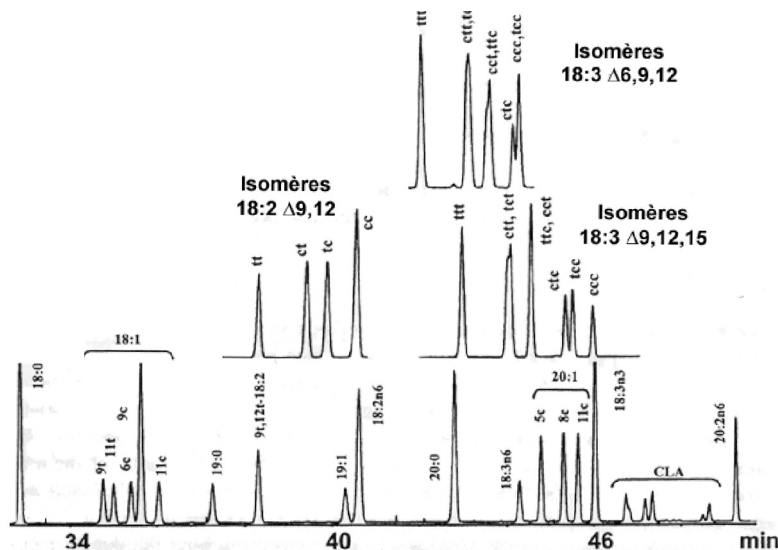
Si l'analyse chromatographique des AG totaux d'une huile partiellement hydrogénée est moins délicate que celle de la matière grasse laitière (diversité moindre des AG, notamment pas d'AG à courtes et moyennes chaînes, pas de branchés, etc.), le dosage CPG des AG *trans* présente les mêmes difficultés inhérentes aux co-élutions des AG *trans* avec des AG *cis* (figure 18).

Figure 18 : Chromatogramme d'esters méthyliques d'AG d'une huile de tournesol oléique partiellement hydrogénée, analysées en CPG sur colonne CPSil 88 100 m, 60°C (5 mn) ↗14°C/mn 165°C (1 mn), ↗2°C 225°C (17 mn), 160kPa, (hydrogène) (Ledoux, non publié).



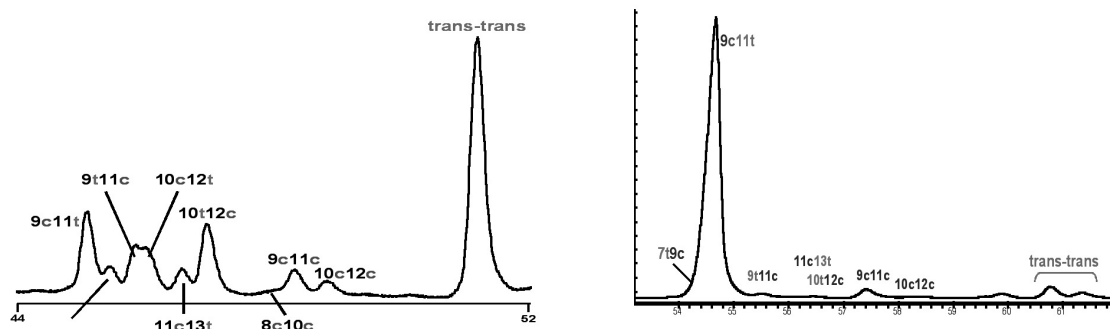
L'analyse de l'évolution de la composition en AG *trans* d'huiles ayant subi un traitement thermique peut également poser des problèmes de co-élution des isomères *trans* de l'acide linoléique et des isomères mono-, di- et tri-*trans* des acides α - et γ -linoléique avec des AG saturés ou insaturés *cis*. De plus, les différents isomères du 18:3 présentent des inter-recouvrements (figure 19).

Figure 19 : Chromatogramme partiel de la région 18:0 à 20:2 sur colonne CPSil 88 100 m, 45°C (4 mn) \nearrow 13°C/mn 175°C (27 mn), \nearrow 4°C 215°C (60 mn), 175kPa, (hydrogène) d'un standard d'EMAG (Kramer *et al.*, 2002) (figure reproduite avec la permission de J.K.G. Kramer et de l'AOCs Press).



Quant à l'analyse des isomères conjugués de l'acide linoléique, elle se heurte également à des problèmes de co-élution avec des AG non octadécadiènes et non conjugués, même si c'est à un moindre degré. Selon le type de colonne utilisée et la matière grasse étudiée, l'analyste pourra rencontrer des problèmes de recouvrement des pics des 18:2 conjugués avec celui du 21:0 et ceux d'isomères du 20:1. De plus, en CPG « directe », des co-élutions isomériques sont inévitables (Christie *et al.*, 2001). Même dans des conditions chromatographiques optimisées, les acides linoléiques conjugués apparaissent en 3 groupes (*trans/cis*, *cis/cis*, puis *trans/trans* dans l'ordre d'élution). Chaque groupe est constitué de plusieurs pics contenant chacun plusieurs isomères conjugués. Ainsi, l'acide ruménique 18:2 9c,11t co-élue avec les CLA 9C,11T 8:2 7t,9c et 8t,10c. De plus, les CLA *trans/cis* d'élution tardive co-éluent avec les CLA *cis/cis* les plus précoces (figure 20).

Figure 20 : Chromatogrammes partiels de la région des CLA d'EMAG de lait (à gauche) et d'huile de tournesol (à droite) sur colonne CPSil88 (100 m x 0.25 mm D.I., 0.20 μ m film), 60°C - 20°C/mn 170°C (55 mn), hydrogène 0.7ml/mn à 60°C.



Enfin, l'analyse quantitative des AG *trans* et des CLA reste délicate car ces AG représentent souvent des pourcentages très faibles (exception faite de certaines huiles végétales partiellement hydrogénées) dans les matières grasses, ce qui constitue également un problème analytique. La quantification des 18:1-*trans* requiert une injection de l'extrait gras en quantité suffisamment faible pour permettre un retour à la ligne de base entre les isomères 18:1 11*t* et 18:1 12*t*, ce qui joue à l'inverse en défaveur de la quantification des AG mineurs (ce qui est le cas, par exemple, des AGPI de la matière grasse d'origine laitière) (Kramer *et al.*, 2002, Wolff, 1994b, Wolff *et al.*, 1998).

Il est donc très difficile d'identifier et de quantifier précisément et individuellement les AG *trans* et les CLA en CPG directe. Ainsi Wolff *et al.* (1998) rapportent une sous-estimation des taux de 18:1-*trans* jusqu'à 43 % lors d'analyses en CPG « directe » d'aliments et de tissus humains. L'apparition sur le marché de colonnes très polaires et de grandes longueurs a sans conteste amélioré la qualité des études de composition en AG des matières grasses, mais des erreurs subsistent dans le dosage des AG *trans* en CPG directe. L'utilisation d'un mode isotherme plutôt que d'une programmation de température permet d'améliorer sensiblement la séparation de certains isomères. Cependant, une quantification acceptable de ces isomères nécessite des temps d'analyse très longs, peu compatibles avec des analyses de routine. Pour obtenir des résultats justes et fiables, il faut donc fractionner les matières grasses sur d'autres systèmes chromatographiques avant l'analyse en CPG. Ces manipulations augmentent le coût et la durée de l'analyse, mais pour un résultat et probant. Plusieurs solutions peuvent être envisagées.

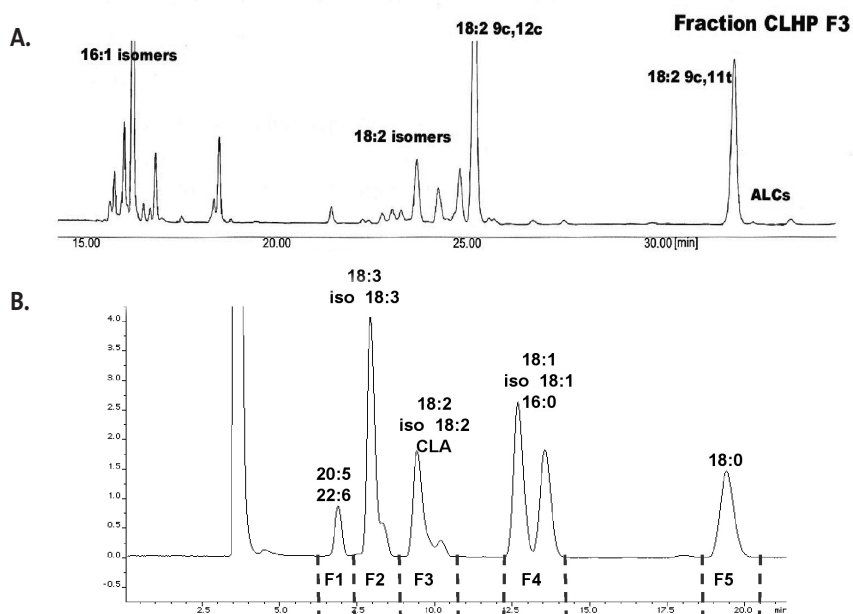
3.4. Analyse CPG des AG *trans* après fractionnement

Pour doser les AG *trans* et les CLA individuellement et précisément par CPG, il faut au préalable les séparer des AG qui co-éluent avec eux. Plusieurs techniques de chromatographies en phase liquide sur couche mince ou sur colonne sont proposées pour cette séparation ; aucune technique ne permet actuellement d'arriver à un résultat satisfaisant en un seul fractionnement. L'utilisation de l'une ou l'autre des techniques dépendra notamment de la matrice alimentaire analysée et des AG à doser.

3.4.1. Fractionnement par Chromatographie Liquide Haute Performance

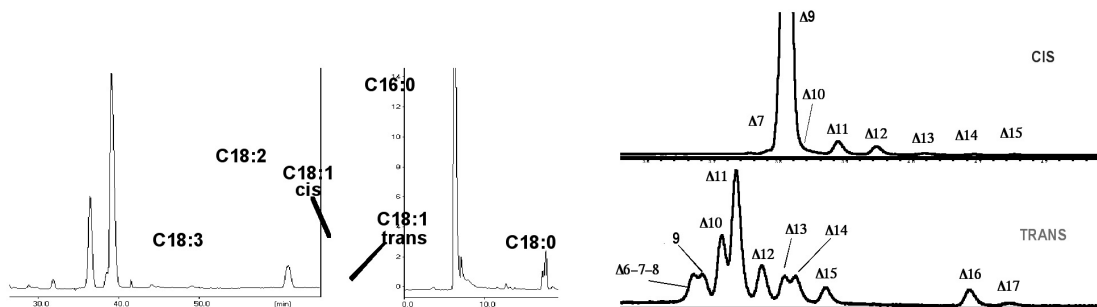
La chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP) de phase inverse C18 permet de séparer les AG selon un nombre « apparent » de carbones, correspondant au nombre réel de carbones réel moins 2 fois le nombre de doubles liaisons. Ainsi les AG 14:0, 16:1 et 18:2 (correspondant à 14 carbones « apparents ») seront séparés dans une même fraction ; les AG 16:0 et 18:1 (16 carbones « apparents ») seront séparés dans une autre fraction. Il est donc possible de séparer ainsi les acides 18:1 des acides 18:2 (figure 21A) ; chaque fraction peut ensuite être injectée en CPG pour doser individuellement chacun des AG (cf. figure 21B pour exemple).

Figure 21 : A. Fractionnement des AG en CLHP de phase inverse C18 sur colonne Nucleosil-C18 (25 cm x 4,6 mm D.I., 5µm), éluant acétonitrile à 4 mL/mn, détection par réfractomètre (Christie *et al.*, 2001) ; **B.** CPG de la fraction F3 sur colonne CPSil 88 (100 m x 0,25 mm D.I., 0,20 µm film), 60°C - 20°C/mn 190°C (35mn), hydrogène à 0,7 ml/mn à 60°C.



En couplant deux colonnes en série, il est possible de subdiviser la fraction de 16 carbones « apparents » en deux sous-fractions, l'une comportant les isomères 18:1-*cis*, l'autre comportant les isomères 18:1-*trans* et le 16:0 (Juanéda, 2002). En injectant ces fractions en CPG (figure 22), on peut alors quantifier séparément les isomères 18:1-*trans* et 18:1-*cis*. L'évaluation globale du taux de 18:1-*trans* et de chaque isomères peut se faire en utilisant le 16:0 comme standard commun entre la fraction *trans* et le chromatogramme total.

Figure 22 : Fractionnement des esters méthyliques d'AG de lait par CLHP C18 (à gauche) sur 2 colonnes en série Kromasil-C18 (25 cm x 4,6 mm D.l., 5µm), éluant acétonitrile à 4 ml/mn, détection par réfractomètre. Chromatogrammes partiels (à droite) des fractions collectées par CPG sur colonne BPX70 (120 m x 0,25 mm, 0,25µm épaisseur), 60°C - 20°C/mn 160°C (50mn), hydrogène à 34,5 cm/s à 60°C (Juanéda, 2002).



Cette méthode de fractionnement en CLHP ne permet cependant pas de séparer les isomères 16:1-*trans* et 16:1-*cis*, ni d'autres isomères géométriques mineurs rencontrés dans les produits laitiers (20:1, etc.). Cette séparation peut s'effectuer sur un système (CLHP, plaque chromatographique) utilisant l'ion argent (voir paragraphe 3.4.2).

De nombreux isomères de l'acide linoléique (18:2) peuvent également être séparés par cette méthode, notamment les *trans/cis* MI et NMI non conjugués qui éluent en CPG directe juste avant l'acide linoléique et co-éluent avec des isomères 18:1, 19:0 et 19:1, AG mineurs de certaines matières grasses (cf. figure 17). De même, les CLA sont séparés des AG longs, saturés ou non (21:0, 20:1, 20:2) qui ont des temps de rétention très voisins, en revanche cette technique ne permet pas de séparer les différents CLA. Ainsi, dans le cadre d'une analyse des AG *trans*, les CLA *cis,trans, trans,cis* ou *trans,trans* ne peuvent être parfaitement isolés des isomères 18:2 conjugués de configuration *cis,cis*. Cette séparation peut s'effectuer en CLHP à base d'ions argent (voir paragraphe 3.4.2.2).

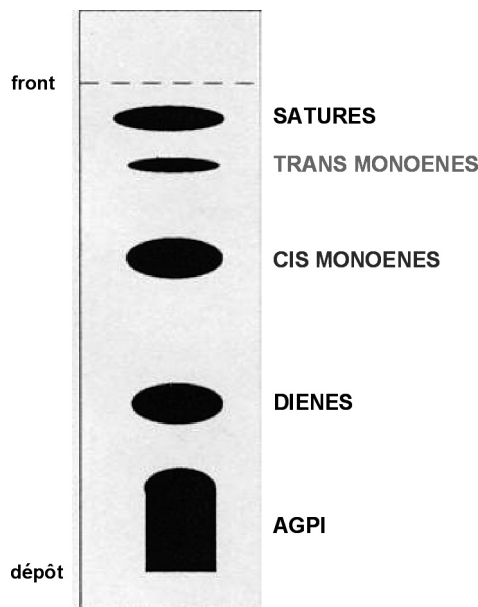
3.4.2. Fractionnement par chromatographie au nitrate d'argent

La séparation en chromatographie de phase liquide (CPL) au nitrate d'argent des isomères géométriques est basée sur la propriété des isomères *trans* de former avec les sels d'argent des composés différents et plus instables que ceux formés avec les isomères *cis* ; ce principe a été appliqué pour la première fois par Nichols en 1952 (Nikolova-Damyanova, 1992). Le volume de rétention dépend essentiellement de la conformation géométrique des doubles liaisons, mais également du degré d'insaturation et de la position des doubles liaisons sur la chaîne carbonée. Ce principe peut être appliqué en chromatographie sur couche mince (CCM) ou en chromatographie liquide de haute performance (CLHP).

3.4.2.1 .Chromatographie sur couche mince au nitrate d'argent (Ag-CCM)

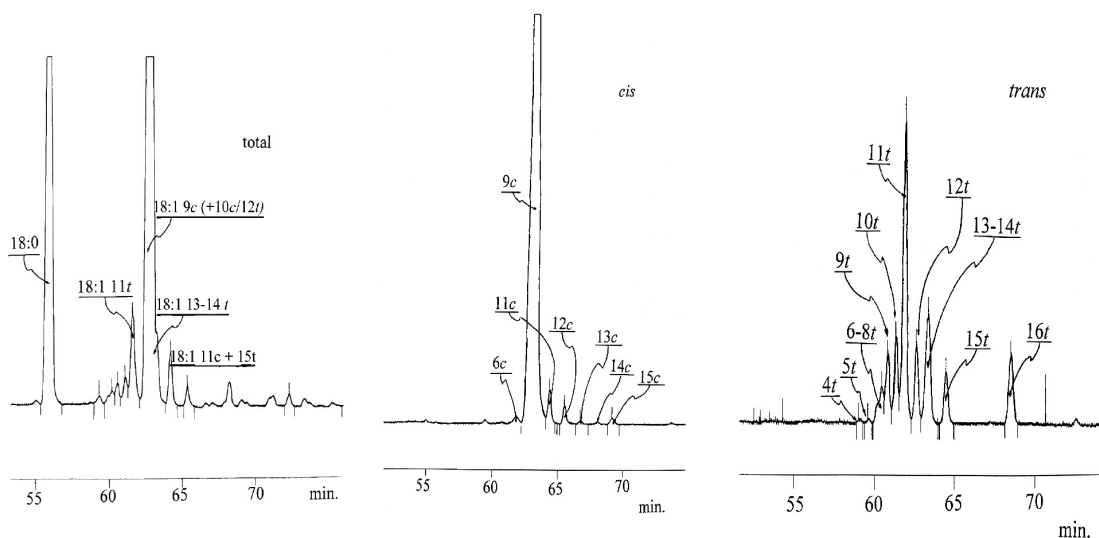
De manière classique, la chromatographie sur couche mince au nitrate d'argent (Ag-CCM) d'un extrait d'esters méthyliques d'AG (EMAG) avec un système solvant hexane / diéthyléther [90:10, v/v] conduit à l'obtention de quatre bandes principales correspondant aux AGPI, aux AGMI-*cis*, aux AGMI-*trans*, et aux AGS (dans l'ordre croissant des Rf). Pour les détails des conditions opératoires, on se reportera aux travaux de Precht et Molkenint (1999a et de Wolff *et al.* (1995).

Figure 23 : Séparation sur CCM de gel de silice G imprégnée à 10 % de Nitrate d'argent d'EMAG. Phase mobile : hexane/dietyl ether 9/1,v/v. (Christie, 1989).



Après migration et révélation des plaques de chromatographie sur couche mince (Ag-CCM) (figure 23), la silice est grattée et les AG des différentes fractions sont extraits par un solvant organique, puis injectés en chromatographie en phase gazeuse (CPG) sur des colonnes de fortes polarités et de grandes longueurs. Cette analyse CPG peut se faire en programmation de température pour l'analyse des AG *trans* totaux (cf. figure 18) ; en revanche, la quantification individuelle de chaque isomère nécessite l'utilisation d'une température constante comprise entre 125 et 160°C, ce qui conduit à des temps d'analyse conséquents (figure 24). Les taux d'isomères *trans* ou *cis* peuvent être rapportés aux taux d'AG totaux en mélangeant une partie de la fraction d'AG saturés (AGS) à la fraction AG *trans* et à la fraction AG-*cis*, puis en utilisant le pic d'acide stéarique (18:0) comme référence (Ledoux *et al.*, 2000b).

Figure 24 : Chromatogrammes partiel d'esters isopropyliques d'AG (EIPAG) d'une matière grasse de lait de chèvre, colonne CPSil 88 100 m (Chrompack), isotherme 160°C, 220 kPa (hélium). total = EIPAG avant séparation sur Ag-CCM ; *cis* = fraction des acides *cis*-monoénoïques et ; *trans* = fraction des acides *trans*-monoénoïques obtenus en fractionnant la matière grasse sur Ag-CCM (Ledoux *et al.*, 2000b).



> Sommaire

Cette technique est facile à mettre en œuvre et répétable, en revanche elle n'est pas automatisable et allonge les temps d'analyse d'une à deux journées.

L'adaptation des conditions d'élution (notamment le choix du solvant d'élution) permet d'obtenir plus spécifiquement des bandes distinctes en fonction de l'insaturation ; les AG di-insaturés peuvent être ainsi plus ou moins séparés et analysés indépendamment. Wolff (1992) obtient des fractions des isomères géométriques 18:2 et 18:3 correspondant au degré d'isomérisation *trans*, avec dans l'ordre croissant de migration : 18:2 *t,t*, puis 18:2 *t,c* et *c,t*, et 18:3 *t,t,t*, puis 18:3 di-*trans*, puis 18:3 mono-*trans*, et enfin l'acide linoléique, 18:3 *c,c,c*.

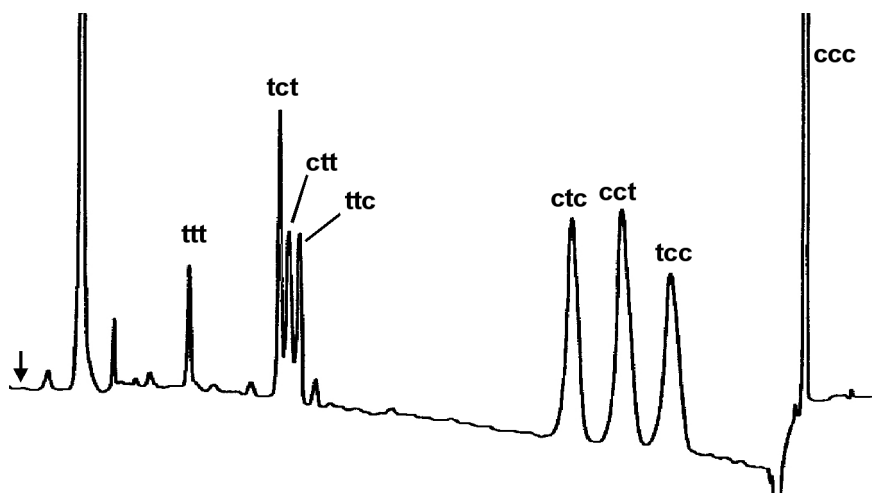
3.4.2.2. Chromatographie Liquide Haute Performance imprégnée au nitrate d'argent (Ag-CLHP)

Plusieurs tentatives ont été menées pour adapter la technique du nitrate d'argent à la chromatographie en phase liquide, le problème majeur étant l'obtention de la phase stationnaire (Adlof, 1994, Adlof *et al.*, 1995, Adlof et Lamm, 1998, Christie, 1989, Christie et Mcg Breckenridge, 1989). Actuellement, une colonne commerciale ChromSpherlipids® (Chrompack) semble donner des résultats satisfaisants (Adlof et Lamm, 1998), mais ce type de colonne est très coûteux et très fragile.

Une analyse collaborative (Buchgraber et Ulberth, 2001) a montré que l'Ag-CLHP est robuste, répétable et reproductible, et donne des résultats comparables à ceux de l'Ag-CCM pour le fractionnement des acides *trans* octadécénoïques (18:1-*trans*). On pourra toutefois regretter que cette étude n'ait été entreprise que sur des huiles végétales partiellement hydrogénées, supplémentées ou non avec du méthyle élaïdate ou de la triélaïdine. Aucune matière grasse laitière n'était incluse dans le protocole.

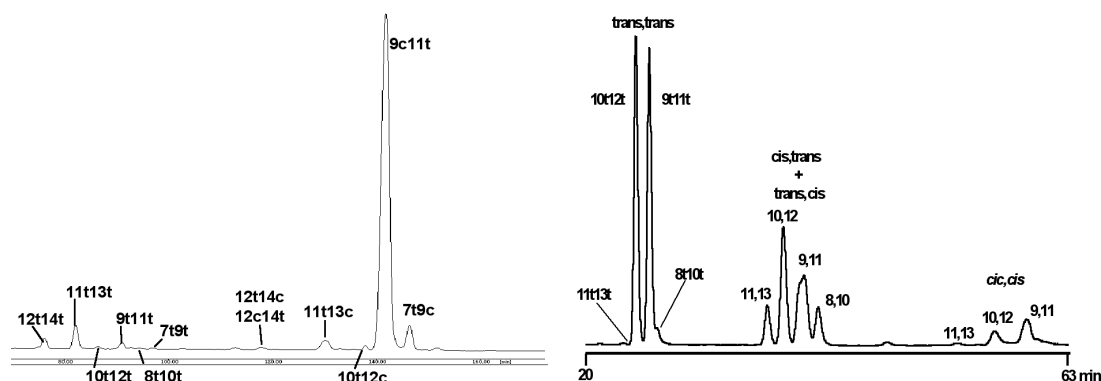
Le fractionnement par Ag-CLHP apporte peu à la séparation des isomères géométriques de l'acide linoléique (Adlof, 1994). En revanche, les isomères de l'acide linoléique peuvent être complètement séparés et quantifiés (figure 25) alors que la CPG, même couplée à l'Ag-CCM, entraîne des co-élutions de différents isomères 18:3-*trans* (Juanéda et Sébédio, 1994).

Figure 25 : Séparation des dérivés phénacyl d'AG par Ag-CLHP sur colonne Nucleosil 5SA (25 cm x 4,6 mm D.I.) imprégnée par 10 % de nitrate d'argent, Détection UV, éluant en gradient d'élution dichlorométhane/méthanol, débit = 1ml/mn (Juanéda et Sébédio, 1994).



En revanche, la séparation et l'identification des isomères de position, notamment des CLA, sont grandement améliorées par Ag-CLHP, mais au prix d'une augmentation conséquente du coût (2 à 6 colonnes en série pour une bonne séparation) et du temps d'analyse (figure 26) (Eulitz *et al.*, 1999, Juanéda et Sébédio, 1994, Rickert *et al.*, 1999, Sehat *et al.*, 1998a, Sehat *et al.*, 1998b, Sehat *et al.*, 1999). L'utilisation de l'Ag-CLHP combinée avec la CPG directe sur colonne polaire de grande longueur permet une quantification individuelle précise de la plupart des isomères CLA de la matière grasse laitière (Cruz-Hernandez *et al.*, 2004). L'Ag-CLHP peut également être utilisée en association avec d'autres systèmes chromatographiques pour l'étude des métabolites *trans* des CLA (Juanéda et Sébédio, 1999).

Figure 26 : Chromatogrammes partiels (région des CLA) d'EMAG de lait (à gauche) et d'huile de tournesol (à droite) sur 2 colonnes en série Chromspher5 Lipids (25 cm x 4,6 mm D.I.), débit : 1 ml/mn, éluant : hexane/ acétonitrile 0,1 %, détection : barrette de diodes (Juanéda *et al.*, 2003).



Contrairement à l'Ag-CCM, cette technique peut être automatisée. Cependant, les colonnes sont coûteuses et fragiles. Il semble de plus difficile d'obtenir une bonne répétabilité d'une colonne à l'autre.

3.5. Méthodes « officielles » d'analyse des AG *trans*

On entendra par méthodes officielles, toute méthode reconnue comme telle par une entité officielle nationale, communautaire, ou internationale, et ayant fait l'objet d'une validation comportant une analyse collaborative publiée ou rapportée.

À notre connaissance, 9 méthodes correspondent à cette définition pour ce qui concerne l'analyse des AG *trans*. Aucune méthode n'est mentionnée pour les isomères conjugués de l'acide linoléique.

3.5.1. Méthodes CPG à détection par ionisation de flamme

3.5.1.1. Méthode AOAC 996.06

Méthode d'analyse de la matière grasse (totale, saturée et insaturée) dans les aliments (1ère action 1996, révision 2000).

Brièvement, les lipides sont extraits de la matrice par un système éther éthylique – éther de pétrole, après hydrolyse acide pour tous les aliments sauf les produits laitiers, après hydrolyse basique pour les produits laitiers, suivie d'une hydrolyse acide pour les fromages. Après évaporation des solvants, les AG sont méthylés à chaud (100°C 45 mn) par le BF₃ en milieu méthanolique. Les AG sont extraits par l'hexane et injectés sur une colonne capillaire de haute polarité et de moyenne longueur (60 m). La quantification est effectuée par ajout d'un standard interne.

Cette méthode comporte quelques inconvénients, notamment :

- 1) c'est une CPG « directe », avec tous les problèmes de co-élution des formes *cis* et *trans* décrits précédemment (cf. § 4.3.), surtout en utilisant une colonne de 60 m, mais la méthode doit pouvoir être facilement adaptée à l'utilisation de colonnes longues (100 et 120 m) (N.B. ceci aurait été recommandé lors de la révision 1 (2002) de la 17^e édition (1997) des Méthodes d'Analyse de l'AOAC) ;
- 2) cette méthode n'est pas spécifiquement destinée à l'analyse des AG *trans*. Les auteurs considèrent que la méthode est transposable aux AG *trans*, mais aucune analyse collaborative n'a permis de le confirmer ;
- 3) les conditions de méthylation ne protègent pas la structure des isomères conjugués de l'acide linoléique.

La FDA (*Federal Register*, 2003, 68(133) 21 CFR Part 101, p. 41462) reconnaît cette méthode adaptée* selon le §101.9(g)2 pour déterminer la conformité aux clauses d'étiquetage nutritionnels pour les AG *trans*.

(*NDA : dans le cadre de la définition restrictive des AG *trans* par cette administration !).

3.5.1.2. Méthode AOCS Ce 1f-96

Méthode d'analyse des AG *trans* dans les huiles et les graisses par CPG capillaire .

Brièvement, les triacylglycérol sont transméthylés par le BF₃ en milieu méthanolique (les conditions ne sont pas précisées, la méthode renvoie à 2 autres méthodes officielles AOCS et IUPAC). Les esters méthyliques sont injectés sur des colonnes capillaires hautement polaires de moyennes longueurs (50-60 m) en isotherme (170 – 198°C selon le type de colonne). La méthode spécifie les conditions chromatographiques pour chaque type de colonne et détaille les résultats à obtenir en terme de séparation de pics.

L'analyse des AG *trans* est restreinte à la somme des isomères 18:1-*trans* éluant avant l'acide oléique (18:1 9-*cis*), et aux isomères géométriques de l'acide linoléique (18:2 9c,12c) et de l'acide linoléique (18:3 9c,12c,15c).

Cette méthode présente également quelques inconvénients, notamment :

- 1) comme la précédente, c'est une CPG « directe », et malgré l'application d'isothermes, la co-élution d'isomères *cis* et *trans* est inévitable. L'utilisation de colonne de moyenne longueur (50 – 60 m) augmente ce handicap ;
- 2) cette méthode est restreinte à l'analyse des huiles et graisses pures, raffinées ou partiellement hydrogénées, dont les compositions initiales en AG sont simples. Elle est inadaptée à l'analyse des aliments complexes, comme les produits laitiers par exemple ;
- 3) l'absence des conditions opératoires de l'estérification ne permet de juger si la structure des CLA est sauvegardée ;
- 4) de plus, l'utilisation de conditions chromatographiques à température constante entre 170 °C et 198°C ne permet probablement pas de séparer les AG à courtes chaînes présents dans les produits d'origine laitière ;
- 5) aucune mention n'est faite de l'utilisation d'un standard interne, obligatoire pour évaluer le poids d'un acide gras dans le produit analysé.

3.5.1.3. Méthode CEN EN ISO 15304: 2002

Détermination de la teneur en isomères *trans* d'AG de corps gras d'origine végétale.

Cette norme définit :

- la teneur en isomères *trans* d'AG de corps gras raffinés (à haute température) comme la somme des esters méthyliques 18:1-*trans*, 18:2-*trans* et 18:3-*trans* d'AG, exprimée en fraction massique des tous les esters méthyliques d'AG.
- la teneur en isomères *trans* d'AG de corps gras partiellement hydrogénés comme la somme de tous les esters méthyliques *trans* d'AG contenant une double liaison, exprimée en fraction massique des esters méthyliques d'AG.

Brièvement, les triacylglycérols sont transestérifiés (conditions non précisées dans la norme, celle-ci renvoie à la norme ISO 5509 ou aux méthodes Ce 2-66 AOCS ou 2.301 IUPAC). La norme ISO 5509 serait cependant à préférer dans le cas d'huile vierge car il n'y aurait pas de chauffage. Les esters méthyliques sont injectés dans des colonnes capillaires de hautes polarités de longueurs moyennes ou grandes (50 – 120m) en isotherme. Les pics correspondants aux AG *trans* sont sommés selon les modalités définies pour chaque type d'huile.

Cette méthode semblant presque la copie conforme de la précédente présente les mêmes inconvénients. Cependant, elle introduit l'utilisation de colonne de grandes longueurs et d'un matériau de référence du Bureau Communautaire de Référence de l'UE (Bruxelles).

3.5.1.4. Méthode AOCS Ce 1g-96

Analyse des AG *trans* par Ag-CLHP.

Brièvement, les AG (sous forme d'esters méthyliques) sont fractionnés selon leur insaturation (nombre et géométrie des doubles liaisons) sur une résine échangeuse d'ions greffée au nitrate d'argent. Les différents fractions sont ensuite injectées en CPG pour identification et quantification des AG *trans*.

Plus qu'une méthode officielle, il s'agit ici en fait de recommandations pratiques pour effectuer un fractionnement sur CLHP au nitrate d'argent.

3.5.2. Méthodes spectrométriques infrarouge

3.5.2.1. Méthodes AOAC 994.14

Teneurs en AG insaturés *trans* isolés des matières grasses partiellement hydrogénées.

Brièvement, les matières grasses solides sont fondues et filtrés si nécessaire. Les triglycérides et AG sont transformés en esters méthyliques, dilués dans le CS₂ pour mesure de la transmission ou de l'absorbance en spectrométrie IR contre une gamme étalon de méthyle élaïdate (concentrations croissantes) dans du méthyle oléate. La mesure est effectuée de 1050 à 900 cm⁻¹. Les AG *trans* apparaissent avec un maximum d'absorption à 967 cm⁻¹. L'intégration est effectuée par tangente aux minima d'inflexion du pic d'absorption à 967 cm⁻¹.

Cette méthode présume que l'acide élaïdique est le composé *trans* principal des corps gras à analyser. Elle est applicable à tout corps gras contenant plus de 5 % d'AG *trans*. Elle n'est pas applicable aux corps gras contenant plus de 5 % d'AG conjugués ou contenant des groupements qui modifient l'intensité de la déformation des C-H aux environs des liaisons *trans*, comme l'acide ricinoléique de l'huile de ricin.

L'analyse collaborative conduite sous l'égide de l'AOAC a été effectuée uniquement sur des margarines fabriquées à partir d'huiles végétale.

3.5.2.2. Méthodes AOCS Cd 14-95 et 14-96, et AOAC 965.34

AOCS Cd 14-95, 47-96 : méthode spectrométrique infrarouge pour l'analyse des isomères *trans* isolés (méthode officielle et pratique recommandée).

AOAC 965.3 : méthode spectrométrique infrarouge pour l'analyse des isomères *trans* isolés dans les margarines ménagères et destinées aux industries alimentaires

Brièvement, les AG de la matière grasse à analyser sont méthylés, puis une prise d'essai est pesée précisément et diluée de façon adéquate (solution à 0.02 g/ml) dans le sulfure de carbone (CS₂). Le spectre infrarouge de cette solution est tracé de 1050 à 900 cm⁻¹ avec une résolution de 4 cm⁻¹. Le calcul de la concentration en doubles liaisons *trans* est effectué à l'aide de deux courbes de calibration réalisées respectivement avec des concentrations ≤ 0 % et > 10 % de méthyle élaïdate dans du méthyle oléate en solution dans le CS₂.

L'avenant Cd 14-96 recommande l'utilisation de la soustraction de spectre en utilisant une huile non hydrogénée proche de celle analysée et/ou une cellule de réflexion interne.

Cette méthode présume que l'acide élaïdique est le composé *trans* principal des corps gras à analyser. Elle est applicable à tout corps gras contenant plus de 0,5 % d'AG *trans* à longues chaînes carbonées, sous forme d'AG libres, d'esters ou de triglycérides. Elle n'est pas applicable aux corps gras contenant plus de 5 % d'AG conjugués ou contenant des groupements qui modifient l'intensité de la déformation des C-H aux environs des liaisons *trans*, comme l'acide ricinoléique de l'huile de castor.

La méthode AOCS Cd 14-96, adaptée de la méthode officielle AOCS Cd 14-95, est une méthode recommandée pour l'analyse des taux de liaisons *trans* directement dans les triglycérides, sans méthylation préalable. Il est à noter que la présence du glycérol peut interférer avec la mesure de la déformation des C-H aux environs des liaisons *trans*.

L'analyse collaborative conduite sous l'égide de l'AOCS a été effectuée uniquement sur des huiles d'origine végétale. Le libellé de la méthode AOAC est à cet égard plus précis que celui de l'énoncé de l'AOCS.

3.5.2.3. Méthode AOCS Cd14d-99

Détermination rapide des isomères géométriques *trans* isolés dans les graisses et les huiles par spectrométrie infrarouge à réflexion totale atténuée.

Les huiles ou graisses (fondues si concrètes) sont déposées directement sur la cellule de lecture. La mesure de transmission IRTF est effectuée à 966 cm⁻¹ (intégration entre 990 et 945 cm⁻¹). Les spectres de transmission sont convertis en absorbance en utilisant une huile de référence adéquate (*sic*) comme « bruit de fond » et le % d'AG *trans* est obtenu par conversion des résultats sur une courbe étalon établie au préalable par mesures de concentrations croissantes de triélaïdine dans la trioléine.

Cette méthode est rapide et simple à mettre en œuvre car elle demande peu de manipulation (pas de dilution d'échantillon, pas de dérivivation des AG, éventuellement séchage sur sulfate si présence d'eau). En revanche, elle nécessite un matériel sophistiqué : spectromètre IRTF à 4cm⁻¹ de résolution, équipé d'un système d'acquisition capable de la conversion des spectres en absorbance, d'un détecteur de type TGS ou DGTS et d'une cellule IR de réflexion avec thermisation à 65°C. Les résultats obtenus lors d'une analyse collaborative (Adam *et al.*, 2000) montrent que cette méthode est juste, répétable, et reproductible (AG *trans* isolés > 1 %) pour la mesure des taux

de liaisons *trans* isolées dans des huiles végétales (l'analyse collaborative ne comportait que des huiles végétales ou des mélanges d'huiles végétales, raffinées ou hydrogénées).

En revanche, il est peu probable que cette méthode puisse être utilisée pour l'analyse des AG *trans* de produits plus complexes comme des plats cuisinés ou la matière grasse laitière par exemple.

3.5.2.4. Méthode AOAC 2000.10

Cette norme n'est pas accessible à ce jour. Cependant, divers documents (Cf. par ex. Mossoba *et al.*, 2003) semblent indiquer qu'elle est identique à la précédente. Elle est publiée sous la forme des documents de l'AOAC et non selon les exigences de l'AACS.

3.5.2.5. Méthode AOAC 994.15

Composition globale en AG totaux et en isomères *trans*- et *cis*-octadécénoïques des huiles végétales partiellement hydrogénées et des graisses animales.

Le taux de doubles liaisons *trans* est présumé être la somme des AG 18:1-*trans*, 18:2 mono- et di-*trans*, et 18:3 mono-*trans* (liaisons *trans* isolées dans le cas des AGPI). Le taux global de liaisons *trans* est déterminé par spectrométrie infrarouge (% méthyle élaïdate vs. méthyle oléate), et les taux individuels de 18:2 mono-, et di-*trans*, et de 18:3 mono-*trans* sont déterminés par CPG directe (colonne capillaire de 100m haute polarité). Les taux de 18:1-*trans* sont déduits par calcul mathématique.

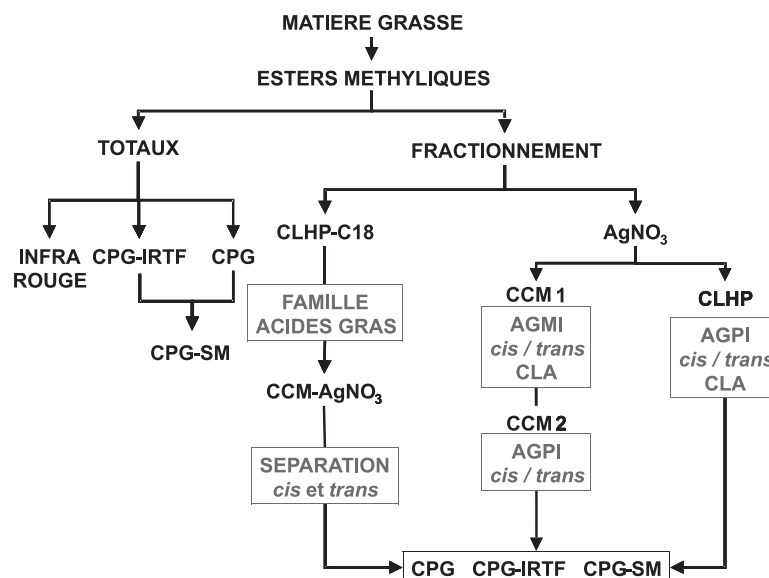
Cette méthode est décrite comme applicable aux huiles végétales partiellement hydrogénées et aux graisses d'animaux terrestres contenant plus de 5 % d'AG *trans* (cependant, l'analyse collaborative de validation de cette méthode comprenait uniquement des huiles végétales partiellement hydrogénées et ne comprenait aucune graisse animale). Elle n'est pas applicable aux huiles de poissons partiellement hydrogénées. Il n'est fait aucune mention des produits laitiers. Cependant, d'une part ces produits contiennent souvent moins de 5 % d'AG *trans* isolés (qualitativement les AG *trans* de la matière grasse laitière dépasse la somme définie dans cette méthode) et d'autre part les conditions de température de la CPG ne sont pas adaptées à l'analyse de la composition en AG *trans* des matières grasses laitières.

Les résultats de cette méthode sont donnés en % d'AG totaux (pas d'utilisation de standard interne en CPG). De plus, il faut veiller à l'utilisation d'une colonne qui permette la résolution des isomères 18:2 mono- et di-*trans*, et des isomères 18:3 mono-*trans*.

3.6. Schéma général d'analyse des AG *trans* et des CLAs

Le schéma figure 27 résume l'ensemble des méthodes décrites dans ce chapitre pour l'analyse précise et fiable des acides gras *trans* dans les aliments.

Figure 27 : Schéma d'analyse des AG *trans* d'une matière grasse alimentaire.



La teneur globale de doubles liaisons de configuration *trans* peut être estimée par une analyse spectrométrique IR la mieux adaptée au produit à analyser (§ 4.2.), éventuellement couplée à une CPG directe pour certains produits (cf. § 5.2.5.).

Une première approche de la composition en AG totaux et en AG *trans* peut être effectuée en CPG « directe » couplée à l'ionisation de flamme, à la spectrométrie IR, ou à la spectrométrie de masse.

L'étude de la composition précise et juste en AG *trans* (nombre de carbone de l'AG *trans*, taux d'insaturation, positions absolues et relatives des liaisons *trans*, etc.) demande un ou plusieurs fractionnements sur des systèmes chromatographiques complémentaires, plus ou moins complexes en fonction de la composition de la matière grasse et du but de l'étude. Les différentes fractions sont ensuite analysés sur un système chromatographique adéquat.

4. Conclusions et recommandations

Conclusions

D'un point de vue purement chimique, les acides gras *trans* sont des acides gras possédant au moins une double liaison de configuration géométrique *trans* (par opposition à la configuration géométrique *cis*). Certains pays (USA, Canada, DK) restreignent la définition réglementaire des acides gras *trans* en faisant abstraction des isomères conjugués de l'acide linoléique (CLA Conjugated Linoleic Acid) de configuration *trans/cis* et *trans/trans*, quelle que soit la position des doubles liaisons. Les CLA sont des isomères de l'acide linoléique dont les deux doubles liaisons sont conjugués, c'est-à-dire séparées entre elles par une seule simple liaison, que la configuration de ces liaisons soit *trans* ou *cis*.

Les acides gras *trans* sont naturellement présents dans les mondes végétal et animal ; on les retrouve donc de façon naturelle dans un certain nombre d'aliments. La principale source de production naturelle d'acides gras *trans* est la biohydrogénation ruminale et la synthèse mammaire. Cependant, certains procédés ménagers (friture, grillades) et technologiques (hydrogénation partielle, thermisations) de traitement des aliments sont à l'origine de productions supplémentaires et « artificielles » d'acides gras *trans*.

Lors du dosage des acides gras *trans* dans les aliments, de nombreux paramètres sont à prendre en compte. La complexité de la matrice influe sur le type d'extraction et sur la détermination (en %) de la matière grasse ; la nature des lipides d'un aliment (neutres ou polaires) conditionne également la méthode d'extraction (nature des lipides). De plus, la nature des lipides complexes (triacylglycérol, phospholipides, esters de cholestérol, etc.), la présence d'AG libres, mais aussi la nature des AG eux-mêmes, déterminent le choix de l'estérification pour les récupérer tous quantitativement et sous leurs formes d'origine (sans isomérisation artificielle) ; la complexité des AG d'une matrice donnée conditionne la séparation chromatographique des isomères *trans* de leurs homologues *cis*, et influe sur la qualité du dosage des AG totaux.

L'hétérogénéité des matrices alimentaires, la nature des lipides et la diversité en AG réduisent les possibilités d'utiliser une seule méthodologie analytique « universelle » pour tout type d'aliment.

La séparation et la quantification en CPG des isomères *trans* d'AG dans les aliments a fait des progrès considérable avec l'apparition des colonnes de grandes longueurs et de fortes polarités. Cependant, même avec ces nouvelles colonnes, la CPG directe sous-estime les taux d'AG *trans* totaux à cause de co-élutions de certains isomères *trans* avec des isomères *cis* ou des AG saturés. Cet inconvénient peut être surmonté en effectuant des fractionnements de la matière grasse sur Ag-CCM, en Ag-CLHP, ou en CLHP de phase inversée. Malheureusement, aucune de ces techniques ne permet l'obtention de chaque type d'AG-*trans* (AGMI, 18:2, α - et γ -18:3, etc.) en un seul fractionnement ; chaque type d'AG *trans* réclame un fractionnement plus ou moins spécifique et une injection individuelle en CPG de la fraction concernée pour arriver à une quantification du taux de chaque groupe d'AG *trans*, et en final à la somme totale des AG *trans*. L'analyse précise des différentes formes isomériques des acides linoléiques conjugués sont un exemple typique de ces difficultés analytiques (Christie *et al.*, 2001). Ces techniques élaborées sont précises et justes, et donnent d'excellents résultats même pour des matrices très complexes. En revanche, elles sont coûteuses en temps, en investissement, en fonctionnement et en personnel qualifié. Ces techniques sont donc essentiellement dévolues à la recherche et mal adaptées aux contrôles de routine, notamment dans le cadre d'un étiquetage de produits alimentaires pour leurs teneurs en AG *trans*.

Les nouvelles techniques utilisant des spectromètres infrarouges à transformée de Fourier munis de cellule de réflexion interne et des fonctions mathématiques de soustraction de spectres semblent mieux adaptées à l'appréciation globale du taux de doubles liaisons de configuration *trans* dans les matières grasses. En revanche

aucune indication sur le type d'AG *trans* ou la position des liaisons n'est obtenue par ces méthodes. Ces techniques sont coûteuses à l'investissement, mais peu au fonctionnement. Elles sont rapides et facilement mises en place et semblent bien adaptées à la détermination des teneurs en AG *trans* d'aliments en vue de leur étiquetage nutritionnel. Cependant elles n'ont, pour l'instant, été évaluées que dans le cadre d'analyse de liaisons *trans* isolées et seulement dans des huiles végétales ou dans des margarines. Il conviendrait donc de tester ces techniques sur des produits laitiers et des aliments complexes sur toutes les formes de liaisons *trans*, isolées ou conjuguées, si la définition « chimiste » des *trans* est adoptée par la réglementation. Si les CLA ne sont pas considérés dans le cadre de cette réglementation, ces techniques devraient être testées sur les *trans* isolés seulement, et avec la méthode d'addition de standard pour les produits relativement riche en AG conjugués. Il convient de rappeler que ces méthodes ne font pas de distinction quant au type d'AG impliqués par ces doubles liaisons *trans*, mais ne donne qu'une indication de la charge en liaisons de configuration *trans*.

Recommandations

En termes d'analyses : plusieurs techniques analytiques ont été proposées pour le dosage des AG *trans* dans les matrices alimentaires. Le choix de l'une ou l'autre des méthodes dépendra :

- de la définition retenue pour les AG *trans* ;
- de la matrice alimentaire et de la complexité de sa composition en AG en général, en AG *trans* en particulier, et notamment de la présence ou non d'AG *trans* conjugués ;
- de la précision demandée.

La spectrométrie en infrarouge à transformée de Fourier et réflexion totale atténuée semble la mieux adaptée dans le cas de la détermination globale du taux d'AG *trans* dans les aliments, dans la limite d'un minimum détectable. Cette méthode devra cependant être validée pour la détermination du taux d'AG *trans* dans les produits laitiers. En revanche, un dosage plus détaillé, notamment la quantification individuel d'isomères ou la détermination d'ajouts de CLA de synthèse, exigera l'emploi de méthodes de chromatographie en phase gazeuse couplées ou non à des techniques de chromatographie liquide en vue d'une séparation préalable.

En termes de recherches à développer : application et validation de la méthode de spectrométrie IRTF-RTA au dosage des AG *trans* dans les produits laitiers, avec ou sans technique de soustraction des isomères conjugués de l'acide linoléique (selon la définition adoptée pour les AG *trans*).

II. Données de composition des aliments et de consommation

L. Laloux, L. du Chaffaut, L. Lafay, et L. Razanamahefa

Pour évaluer la relation entre santé et consommation d'AG *trans* et des dérivés conjugués de l'acide linoléique, il est primordial d'estimer le niveau de consommation de ces AG, en France, et si possible dans les autres pays européens.

Dans un premier temps, une revue de la littérature permet de faire le point sur les données de composition des aliments et de consommation en AG *trans*. Comme ces données sont parfois anciennes, il est important de prendre en compte les évolutions de ces dix dernières années tant sur le plan de la validité des techniques d'analyses que sur les modifications de formulations des denrées alimentaires. Seules les données récentes obtenues par des techniques reconnues sur des aliments représentatifs de la consommation actuelle ont été retenues dans cette analyse. Dans un deuxième temps, un travail original d'évaluation des niveaux de consommation en France a été réalisé dans le cadre de cette réflexion. Pour ce faire, les données issues de l'enquête INCA (enquête individuelle nationale de consommation alimentaire) ont été confrontées avec les données de composition des aliments recueillies par le Ciqua (Centre informatique sur la qualité des aliments) dans le cadre de cette réflexion.

Cette analyse permet donc d'estimer les niveaux de consommation et d'identifier les principaux aliments contribuant à ces apports. Enfin, les « forts consommateurs » sont identifiés selon des caractéristiques socio-démographiques, nutritionnelles et d'habitudes alimentaires.

1. État des connaissances sur les données de composition des aliments en AG *trans* et CLA

Il convient de rappeler que les AG *trans* peuvent avoir différentes origines : la biohydrogénation ruminale, l'hydrogénation catalytique et les traitements thermiques (Voir chapitre 1, paragraphe 2). Ces AG *trans* sont naturellement présents dans les aliments bruts ou peuvent apparaître lors des procédés de production, de fabrication, de transformation, de préparation (notamment la cuisson) et de conservation des aliments.

Il est donc possible d'identifier les principaux aliments contributeurs.

1.1. Les principaux aliments contributeurs

Il s'agit principalement des aliments issus de ruminants et des matières grasses issues de la transformation industrielle. Il est possible, compte tenu de l'utilisation de ces aliments en tant qu'ingrédients (notamment les huiles partiellement hydrogénées) de retrouver des AG *trans* dans de nombreux produits manufacturés (tels que les biscuits, les snacks, les viennoiseries...).

1.1.1. Les aliments provenant des ruminants

Les AG *trans* formés au cours du métabolisme ruminal sont absorbés tout au long de ce métabolisme, passent dans le sang, puis dans les tissus (gras et maigre), notamment dans les tissus mammaires et musculaires et sont également excrétés dans le lait.

1.1.1.1. Le lait et les produits laitiers

La matière grasse laitière a particulièrement bien été étudiée pour ses teneurs en AG *trans* (tableau 8).

Tableau 8 : Composition moyenne en acide gras trans (% des AG totaux) de la matière grasse laitière (d'après Ledoux *et al.* 1999, Wolff *et al.* 1998, Precht *et al.* 2000).

Acide gras trans	Moyenne	Min-Max	en % des AG trans totaux
14:1	0,22	0,02-0,32	4,08
15:1	0,03		0,56
16:1	0,27	0,08-0,52	5,01
17:1	0,02		0,37
18:1	3,90	2,70-5,53	72,36
18:2	0,91	0,5-1,54	16,88
20:1	0,04		0,74
Total	5,39		

On constate donc que les AG *trans* de la matière grasse sont représentés en moyenne à 72 % [64 % ; 79 %] par les AG 18:1 *trans*. Il est donc logique de trouver davantage de données sur ces AG *trans* majoritaires, notamment concernant la distribution de leurs isomères de position.

Tableau 9 : Distribution des différents isomères du 18:1 *trans* dans des beurres français (n = 36) en % des 18:1 *trans* totaux (d'après Wolff *et al.* 1998) [Pour indication, la teneur totale en 18:1 *trans* (% des AG totaux) est de 3,7 ± 0,7]

$\Delta 6-\Delta 9$	$\Delta 10-\Delta 11$	$\Delta 12$	$\Delta 13-\Delta 14$	$\Delta 15$	$\Delta 16$
8,3 ± 1,2	52,3 ± 3,5	8,0 ± 0,7	16,8 ± 1,3	6,4 ± 0,6	8,3 ± 1,0

Tableau 10 : Distribution des isomères géométriques du 18:1 *trans* dans des matières grasses de lait de vache (n = 1 756) en % des AG totaux (d'après Precht *et al.*, 1996)

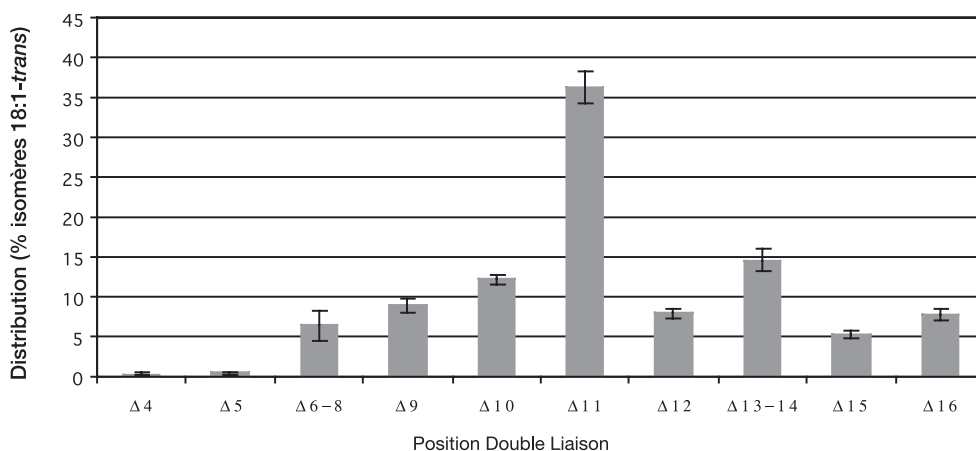
Position	Moyenne	Ecart Type
$\Delta 4$	0,05	0,007
$\Delta 5$	0,05	0,008
$\Delta 6-8$	0,16	0,040
$\Delta 9$	0,23	0,026
$\Delta 10$	0,17	0,031
$\Delta 11$	1,72	0,976
$\Delta 12$	0,21	0,031
$\Delta 13/14$	0,49	0,088
$\Delta 15$	0,28	0,081
$\Delta 16$	0,33	0,060
Total	3,69	

L'isomère $\Delta 11$ du 18:1 *trans* représente approximativement près de 50 % de l'ensemble des isomères (tableau 10). Cependant il existe également des variations saisonnières importantes dues au type d'alimentation du bétail. Selon la nourriture ; le taux de 18:1 $\Delta 11$ *trans* peut varier de 1 g (ensilage) à 3 g (pâturage) pour 100 g d'AG totaux. Les matières grasses d'origine laitière présentent des teneurs variables en 18:1 *trans* selon les espèces laitières. Le tableau 11 montre les teneurs moyennes en 18:1 *trans* des laits dans différentes espèces et la figure 28 la distribution de ses isomères pour le lait de chèvre.

Tableau 11 : Comparaison de la teneur en 18:1 *trans* des laits de différentes espèces de ruminants (d'après Wolff *et al.*, 1998)

	Brebis	Vache	Chèvre
Teneur en 18:1 <i>trans</i> (% des AG totaux)	4,53 ± 1,11	3,73 ± 0,68	2,68 ± 0,88

Figure 28 : Distribution des différents isomères du 18:1 *trans* dans de la matière grasse de lait de chèvre en % des 18:1 *trans* totaux (d'après Ledoux *et al.* 2002).



Les produits laitiers sont une source importante de CLA. Plusieurs publications permettent d'obtenir des données de composition des différents produits laitiers en CLA, elles sont reportées dans le tableau 12. Ces données sont à prendre avec précautions car, en fonction des auteurs, elles peuvent tenir compte soit de l'ensemble des isomères du CLA soit uniquement de l'isomère majoritaire, à savoir le 18:2 9c,11f.

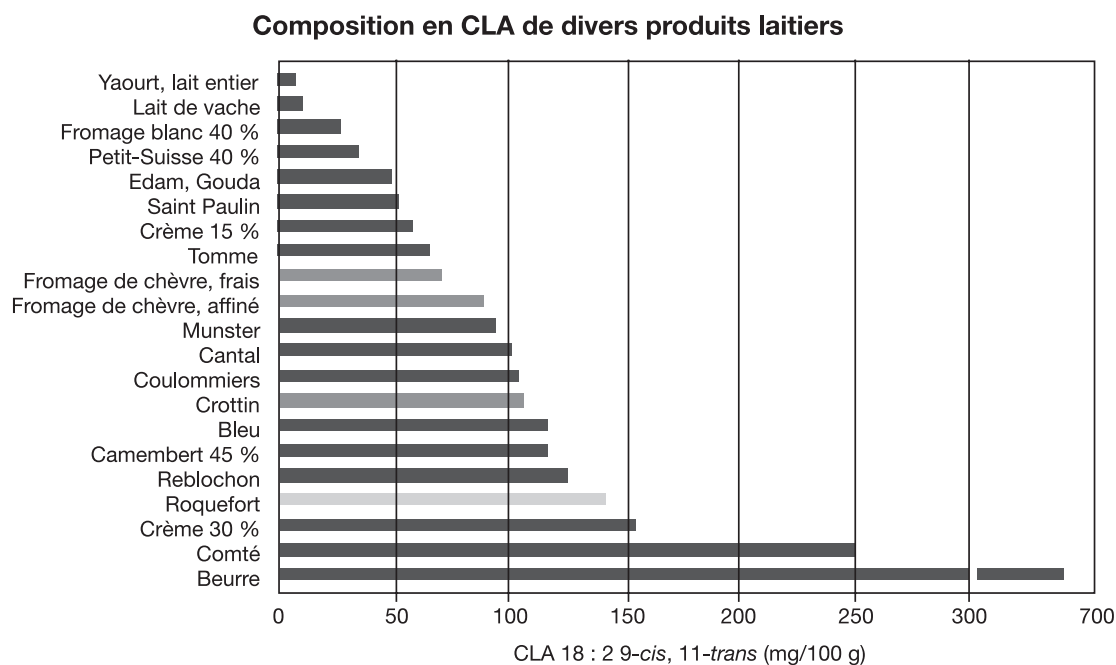
Tableau 12 : Synthèse des données bibliographiques portant sur les teneurs en CLA de différents produits laitiers.

Aliments	Teneur en CLA		Source
	% d'EMAG	g/100g de MG	
Lait cru	1,16	0,45	Fritsch <i>et al.</i> , 1998 Lin <i>et al.</i> , 1995
Lait Pasteurisé	0,98	0,55	Fritsch <i>et al.</i> , 1998 Chin <i>et al.</i> , 1992
Lait UHT	0,80		Fritsch <i>et al.</i> , 1998
Crème	0,77		Fritsch <i>et al.</i> , 1998
Beurre	0,94 %	0,45 à 0,80	Fritsch <i>et al.</i> , 1998 Ledoux <i>et al.</i> , 2003
Lait concentré	0,63	0,70	Fritsch <i>et al.</i> , 1998 Chin <i>et al.</i>
Yaourt	0,69	0,48 0,38	Fritsch <i>et al.</i> , 1998 Chin <i>et al.</i> , 1992 Lin <i>et al.</i> , 1995
Lait fermenté	1,05		Fritsch <i>et al.</i> , 1998
Gouda	0,40		Fritsch <i>et al.</i> , 1998
Comté	0,93		Fritsch <i>et al.</i> , 1998
Emmental	1,16		Fritsch <i>et al.</i> , 1998
Emmental vieux	1,70		Fritsch <i>et al.</i> , 1998
Brie	0,49		Fritsch <i>et al.</i> , 1998
Fromage fondu	1,11	0,32 à 0,89, 0,32 à 0,89	Fritsch <i>et al.</i> , 1998 Shantha <i>et al.</i> , 1992
Fromage de brebis	0,50		Fritsch <i>et al.</i> , 1998
Fromage de chèvre	1,01		Fritsch <i>et al.</i> , 1998

EMAG = Esters méthyliques d'AG.

Des études récentes ont permis de compléter les tables de composition en CLA pour de nombreuses denrées alimentaires (données non publiées). Ces données ont largement contribué à alimenter la table de composition qui sera présentée en paragraphe 2 de ce chapitre. La figure 29 en présente un extrait pour les produits laitiers.

Figure 29 : Composition en CLA (18:2 9c, 11t) de différents produits laitiers (résultats non publiés).



De plus, le détail des isomères des CLA commence également à être connu. Le tableau 13 présente la répartition des CLA dans des fromages français.

Tableau 13 : Répartition des isomères conjugués de l'acide linoléique (% CLA totaux) dans des fromages français (Lavillonnière *et al.*, 1998)

	9c,11t 8c,10t*	9c,11c 10c,12t	10t,12c	8c,10t 9c,11c	10c,12c 11c,13c	11t,13t	9t,11t 8t,10t 10t,12t
Camembert	90,0	1,3	0,4	2,2	0,5	1,1	4,5
Comté	87,0	0,8	0,6	4,9	0,5	1,7	4,5
Chèvre	87,1	1,7	1,4	3,8	1,4	0,7	3,9

* isomère minoritaire par rapport au couple mentionné.

Il est intéressant de comparer les teneurs en AG *trans* des laits de femmes aux teneurs des laits de ruminants. Ainsi, Chardigny *et al.* (1995 et 1996) ont reporté après l'analyse de 10 laits de femmes françaises une teneur en acide gras 18:1 *trans* de 2 % des AG totaux environ, l'acide vaccénique étant l'isomère majoritaire. Les auteurs estiment que ces AG *trans* sont majoritairement issus des produits laitiers qui ont été consommés. Des données canadiennes (Ratnayake *et al.*, 1996, Chen *et al.*, 1995) ont rapporté des teneurs plus élevées en AG *trans* totaux, 7,2 ± 3 % des AG totaux. Les auteurs estiment également que ces AG *trans* proviennent majoritairement des huiles végétales partiellement hydrogénées consommées.

En ce qui concerne les CLA, Mc Guire *et al.* (1997) ont analysé 14 laits de femme, ils ont constaté que l'isomère 9c,11t a une teneur de 0,002 à 0,030 g/100g de lait et représente de 83 à 100 % des CLA présents dans le lait.

1.1.1.2. Les viandes de ruminants

Les AG *trans* se retrouvent dans les lipides des muscles et notamment dans les viandes consommées par l'homme.

Comme pour les produits laitiers, les AG 18:1 *trans* des viandes sont majoritaires et varient en fonction de l'espèce.

Tableau 14 : Teneur en 18:1 *trans* de la viande de différentes espèces (d'après Wolff *et al.*, 1998)

	Brebis (n = 4)	Vache (n = 10)	Buffle (n = 3)	Renne (n = 3)
Teneur en 18:1 <i>trans</i> (% des AG totaux)	4,0 ± 1,4	1,9 ± 0,9	2,9 ± 0,5	0,7 ± 0,2

Dans la viande de bœuf, la distribution des isomères du 18:1 *trans* est également connue (Tableau 15)

Tableau 15 : Distribution des différents isomères du 18:1 *trans* dans des viandes de boeuf (n = 5) en % des 18:1 *trans* totaux (d'après Wolff *et al.*, 1998) [Pour indication, la teneur totale en 18:1 *trans* (% des AG totaux) est de 1,9 ± 0,9]

$\Delta 6-\Delta 9$	$\Delta 10^*-\Delta 11$	$\Delta 12$	$\Delta 13-\Delta 14$	$\Delta 15$	$\Delta 16$
11,5 ± 1,0	62,0 ± 2,7	7,9 ± 2,2	8,8 ± 0,3	5,2 ± 1,7	4,5 ± 0,3

* isomère minoritaire par rapport au couple mentionné.

Les viandes de ruminants contiennent également des CLA en quantités plus importantes que les autres types de viandes (de 1,20% des AG totaux pour la viande d'agneau contre 0,11 % des AG totaux pour la viande de lapin).

Tableau 16 : Synthèse des données bibliographiques sur les teneurs en CLA de différentes viandes de ruminants.

Aliments	Teneur en CLA		Source
	% d'EMAG	g/100g de MG	
Agneau	1,20	0,56	Fritsch <i>et al.</i> , 1998 Chin <i>et al.</i> , 1992
Muscle de bœuf	0,65	0,31 à 0,85 0,43	Fritsch <i>et al.</i> , 1998 Shantha <i>et al.</i> , 1994 Chin <i>et al.</i> , 1992
Foie de bœuf	0,43 %		Fritsch <i>et al.</i> , 1998
Veau		0,27	Chin <i>et al.</i> , 1992

EMAG = Esters méthyliques d'AG.

Par ailleurs, le chauffage des viandes peut aussi induire des phénomènes d'isomérisation. Ainsi, (Ha *et al.*, 1987) rapportent la formation d'isomères conjugués de l'acide linoléique (CLA 18:2 9*t*,11*t*, 9*c*,11*t*, 10*t*,12*t*, et 10*t*,12*c*) lors de grillades de viandes de bovins. L'identification des isomères lors de cette étude demande à être confirmée puisque les connaissances en matière de CLAs et de leur quantification ont beaucoup évolué depuis cette époque. Ces auteurs postulent que la transformation en isomères conjugués est une des premières étapes de l'oxydation thermique de l'acide linoléique.

1.1.1.3. Autres matières grasses animales

La matière grasse animale source d'AG *trans* autre que la matière grasse laitière est essentiellement le suif. Le suif n'est pas une matière grasse d'utilisation ménagère courante mais on la retrouve en tant qu'ingrédient dans de nombreux produits dans certains pays. Aussi, nous ne rappellerons que brièvement la composition en AG *trans* de cette matière grasse car sa consommation sera estimée par l'étude des apports en AG *trans* par les produits de transformation.

Selon Wolff *et al.* (1998), le suif contiendrait en moyenne 4,9 % de 18:1 *trans* totaux (en % des AG totaux) avec un minimum de 3,4 % et un maximum de 6,2 %.

Les teneurs en CLA sont peu disponibles, mais revêtent peu d'importance compte tenu des faibles consommations du suif en l'état.

1.1.2. Huiles végétales et margarines

Les taux d'AG *trans* rapportés dans la littérature varient de 1 à 2 % pour les margarines ménagères récentes, entre 15 à 18 % pour les margarines de moins bonne qualité, jusqu'à 40 à 60 % dans certaines margarines industrielles et certaines huiles végétales partiellement hydrogénées.

Il est à noter que, ces dernières années, l'utilisation de procédés industriels « modérés » telle que la transestérification, pour la fabrication des margarines ménagères a largement contribué à abaisser le taux d'AG *trans* dans ces produits (Ackman et Mag, 1998, Precht et Molquentin, 2000a, Ratnayake *et al.*, 1998, Busson, 2000). Cependant, les produits alimentaires industriels contenant des huiles végétales partiellement hydrogénées présentent encore des taux d'AG-*trans* relativement élevés. À titre d'exemple, 36,6 % des AG totaux d'une brioche sont des AG 18:1 *trans* (Wolff *et al.*, 2000).

1.1.2.1. Les huiles végétales et huiles partiellement hydrogénées

Si les huiles végétales vierges ou raffinées contiennent peu d'AG *trans* (de 0 à 1 %). En revanche, les huiles à usage de friture et les huiles partiellement hydrogénées peuvent contenir des quantités importantes d'AG *trans*.

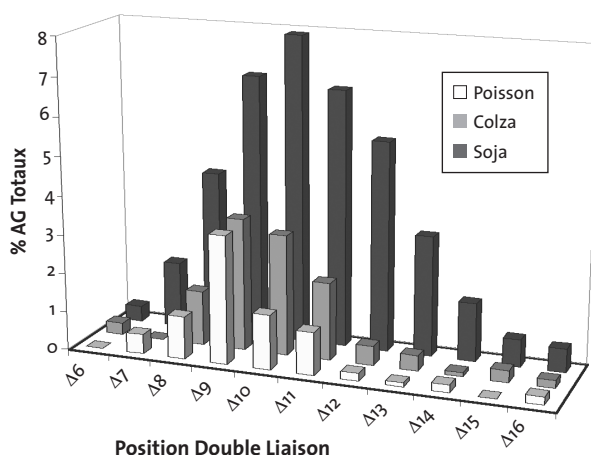
Comme pour le suif, les matières grasses partiellement hydrogénées sont considérées comme des ingrédients et leur consommation par le biais de l'étude des produits de transformations sera abordée ultérieurement.

Il est difficile de déterminer un taux moyen d'AG *trans* dans ces produits tant la diversité est importante. Selon certains auteurs (Ovesen *et al.* 1998, Ratnayake *et al.* 1998), les teneurs en 18:1 *trans* pourraient varier de 16,6 % à 43,7 % des AG totaux.

Les isomères *trans* formés dans ces huiles sont principalement des isomères positionnels de l'acide élaïdique, 85 à 95 % des AG *trans* (Voir tableau 4 du chapitre 1 - paragraphe 2.2).

La distribution et la composition des isomères de l'acide gras *trans* majoritaire sont très sensibles à l'origine de la matière première.

Figure 30 : Distribution des isomères 18:1-*trans* dans des huiles partiellement hydrogénées d'après (Aro *et al.*, 1998).



Ces huiles présentent une distribution totalement différente de celle des matières grasses d'origine laitière avec une prépondérance des isomères en $\Delta 9$ et $\Delta 10$ (voir figure 10 du chapitre 1 - paragraphe 2.2).

Les huiles de friture contiennent également des taux importants en AG *trans*. Ovesen et al (1998) ont rapporté que certaines huiles danoises à usage de fritures pouvaient contenir des taux de 18:1 *trans* de 21,9 % des AG totaux.

Les CLA sont présents à l'état de traces dans les huiles végétales (teneur inférieure à 0,01 %) (Fristche *et al.* 1998), ainsi que dans des huiles partiellement hydrogénées. Banni *et al.* (1995) confirment leur présence à l'état de traces dans des HVPH (soja et palme). Juanéda *et al.*, (2001) font état de la présence de CLA dans des huiles végétales (arachide, tournesol, colza) ayant servi pour des fritures. Les taux vont de 0,3 à 0,5 % des AG totaux ; les isomères di-*trans* représentaient 50 % des CLA parmi lesquels le 18:2 9*t*,11*t* (18 – 28 %) et le 18:2 10*t*,12*t* (14 - 27 %) sont prépondérants. Le 18:2 9*c*,11*t* représente 5 à 8 % des CLA. Ces huiles présentaient en outre de forts taux de composés polaires et d'isomères di-*trans* 18:3, témoins probables d'une surchauffe ou d'une trop longue utilisation.

Si on se réfère aux données de Chin *et al.*, (1992) les teneurs en CLA de certaines huiles raffinées varient de 0,01 à 0,07 g/100 g (huile d'arachide : 0,02 g/100 g ; huile de tournesol : 0,04 g/100 g ; huile de colza : 0,05 g/100 g). Les taux rapportés par (Juanéda *et al.*, 2003) dans de l'huile de tournesol soumise à une simulation de 10 chauffages sont plus élevés que dans des huiles fraîches (environ un facteur 10) en revanche, les profils isomériques des CLA sont identiques (dont 9*c*,11*t* et 10*t*,12*c* : 12 à 13 %, 9*t*,11*t* et 10*t*,12*t* : 23 % respectivement).

1.1.2.2. Les margarines ménagères et celles destinées à l'industrie

Les margarines sont des aliments transformés qui contiennent des quantités parfois importantes d'ingrédients telles que des huiles partiellement hydrogénées. Leur composition en AG *trans* reflète globalement la composition en AG *trans* des huiles hydrogénées utilisées pour fabriquer la margarine.

On constate des différences importantes de composition en AG *trans* en fonction de l'utilisation finale de la margarine (ménage ou industrie), de la gamme de prix, de sa texture (tendre ou dure) ainsi qu'en fonction des pratiques des différents pays.

Tableau 17 : Composition en AG *trans* de margarines françaises (d'après le rapport d'activités ITERG, 2000).

	Nombre de produits analysés	AG <i>trans</i> en % des AG totaux			AG <i>trans</i> en g/100 g de produit		
		Moy.	Min.	Max.	Moy.	Min.	Max.
Margarine premier prix	3	16,8	15,2	18,1	12,8	11,5	13,8
Margarine de marque	11	1,1	0,1	3,6	0,6	0,1	2

Les teneurs en 18:1 *trans* des margarines sont liées à la teneur en acide linoléique c'est à dire de la dureté de la margarine, les margarines les plus dures ont des taux de 18:1 *trans* plus élevés que les margarines tendres. Les margarines destinées à l'industrie ont des teneurs en 18:1 *trans* sensiblement plus élevées que la plus dure des margarines ménagères.

Tableau 18 : Composition en AG *trans* (% d'AG totaux) de margarines danoises (d'après Ovesen *et al.*).

	Margarines ménagères			Margarines industrielles
	< 20 % de linoléique	De 20 % à 40 % de linoléique	> 40 % de linoléique	< 20 % de linoléique
<i>Trans</i> 16:1	0,4 ± 1,0	0,3 ± 0,7	-	0,6 ± 1,3
<i>Trans</i> 18:1	4,1 ± 3,8	3,1 ± 3,3	0,4 ± 0,8	6,7 ± 2,3

Une étude canadienne (Ratnayake *et al.*, 1998) montre également une relation entre dureté et teneur en AG *trans* mais à des taux beaucoup plus élevés. Les margarines dures ont un taux moyen en AG *trans* de 34,3 % (% des AG totaux) avec un minimum à 16,3 % et un maximum à 43,7 %, alors que les margarines tendres auraient un taux moyen en AG *trans* de 18,8 % avec un minimum à 0,9 % et un maximum à 46,4 %. Les margarines qui ne sont pas préparées à partir de matières grasses hydrogénées ont des taux en AG *trans* beaucoup moins importants (inférieur à 2,5 %).

Ces données, déjà anciennes, ne reflètent pas l'évolution importante des pratiques de production des margarines ces dernières années. Les taux en AG *trans* ont nettement diminués et les données de composition récentes présentées ci-après reportent des teneurs moyennes en AG *trans* de 2 g/100 g pour l'ensemble des margarines françaises.

Pour ce qui concerne les CLA, les auteurs (Ratnayake *et al.* 1998, Mossoba *et al.* 1991) ont trouvé une large gamme de concentrations de CLA dans les margarines, pouvant aller de 0,2 % à 7 % des AG totaux en fonction de la matière première et du degré d'hydrogénation de la margarine.

Tableau 19 : Synthèse de données bibliographiques sur les teneurs en CLA de la margarine.

Aliments	Origine (Pays et huile majoritaire utilisée)	Teneur en CLA	Source
Margarines	États-Unis (soybean oil) Canada (Canola oil)	0,2 % des AG totaux jusqu'à 7 % des AG totaux	Mossoba <i>et al.</i> , 1991 Ratnayake <i>et al.</i> , 1998

1.1.3. Produits de transformation

Les matières grasses industrielles sont des ingrédients incontournables des formulations agro-alimentaires. Elles interviennent dans de nombreuses fabrications industrielles en tant que structurant, exhausteur de goût, agent technologique, et par leur capacité à résister à l'oxydation.

Les matières grasses proposées aux industriels sont nombreuses. Elles sont formulées principalement à partir d'huiles végétales partiellement hydrogénées, plus rarement à partir d'huiles de poisson partiellement hydrogénées. Des matières grasses industrielles à base d'huiles végétales totalement hydrogénées ou de matières grasses « tropicales » (comme les huiles de carthame, palme, coprah...) sont également employées.

L'utilisation de ces matières grasses introduit dans la composition globale de l'aliment des AG *trans* dont il est encore difficile de cerner la quantité exacte. Ratnayake *et al.* (1998) estiment que la plus grande partie de la consommation d'AG *trans* au Canada provient de la consommation de denrées alimentaires à base d'huiles végétales partiellement hydrogénées (viennoiseries, pizza, gateaux,...) et de leurs matières grasses « cachées » plutôt que des margarines.

En France, Wolff *et al.* (2000) ont étudié 37 aliments de consommation courante mentionnant sur leur étiquetage l'utilisation d'huiles végétales partiellement hydrogénées. Il s'agit principalement de soupes déshydratées, de gateaux, de biscuits type « crackers », de viennoiseries, de pâtes à pizza.

Les teneurs en 18:1 *trans* de ces aliments varient de 0,1 % (crackers) à 61,0 % (pâte feuilletée) des AG totaux. Il existe également une très grande variation des teneurs pour un même type d'aliment.

Tableau 20 : Teneur en 18:1 *trans* (en % des AG totaux) de différents aliments français contenant des huiles végétales partiellement hydrogénées (d'après Wolff *et al.* 2000).

Analyses effectuées sur des produits commercialisés en France en 1999			
Produits	Nombre	Minimum	Maximum
Pain /Sandwich	5	3,7	21,2
Céréales	4	2,0	52,1
Viennoiseries	2	24,5	34,8
Crackers	5	0,1	17,4
Pâte à pizza /feuilletée	2	16,6	61,0
Gâteaux	8	12,6	35,9
Soupes déshydratées	11	4,3	27,0

Les profils en isomères du 18:1 *trans* sont en revanche relativement similaires d'un produit à l'autre. Comme pour les produits dont ils sont issus, les isomères du 18:1 *trans* ont des profils comparables aux ingrédients utilisés, à savoir une prédominance du $\Delta 9$ de 15,2 % à 46,1 % des 18:1 *trans* totaux (moyenne $27,9 \pm 7,2$ %) suivi du $\Delta 10$ (moyenne $21,3 \pm 2,7$ %) et du groupe $\Delta 6$ - $\Delta 8$ ($17,5 \pm 5,2$ %).

Tableau 21 : Distribution des isomères du 18:1 *trans* (en % des 18:1 *trans* totaux) dans des denrées alimentaires françaises à base d'huiles végétales partiellement hydrogénées (d'après Wolff *et al.* 2000).

Analyses effectuées sur 37 aliments de 1995 à 1999				
Isomères	Moyenne	Écart type	Minimum	Maximum
$\Delta 4$	1,0	1,0	0,1	3,5
$\Delta 5$	1,6	2,3	0,3	10,9
$\Delta 6$ - $\Delta 8$	17,5	5,2	8,6	38,5
$\Delta 9$	27,9	7,2	15,2	46,1
$\Delta 10$	21,3	2,7	11,6	27,4
$\Delta 11$	13,3	3,9	0,4	25,0
$\Delta 12$	7,4	2,1	2,2	11,7
$\Delta 13$ - $\Delta 14$	7,1	3,8	0,9	22,0
$\Delta 15$	1,8	3,0	ND	18,6
$\Delta 16$	1,0	0,8	ND	3,2

Si l'on considère :

- que les AG *trans* présents dans ces aliments proviennent principalement des huiles végétales partiellement hydrogénées, de margarines ou de matières grasses d'origine laitières ;
- que les AG 18:1 *trans* représentent en moyenne 80 % de l'ensemble des AG *trans* dans ces ingrédients.

Une estimation d'une teneur moyenne en AG *trans* totaux autour de 15 % [min 0,13 % - max 76 %] des AG totaux dans ce type de produit peut être faite. Ce chiffre est un raccourci rapide car il ne tient pas compte de la diversité des ingrédients utilisés pour un même type de produit ainsi que de l'apparition éventuelle d'AG *trans* 18:2 et 18:3 lors des traitements thermiques.

Les produits à base d'ingrédients laitiers en contiennent des quantités non négligeables de CLA. Les niveaux de CLA dépendent de la qualité et de la quantité des matières grasses incorporées.

Tableau 22 : Synthèse de données bibliographiques sur les teneurs en CLA de différents produits élaborés d'après Fritsche *et al.*, 1998.

Aliments	Teneur en CLA
Chips	< 0,01 % d'EMAG
Chips au fromage	0,25 % d'EMAG
Chocolat	0,14 % d'EMAG
Nougat	0,09 % d'EMAG
Biscuit au beurre	0,47 % d'EMAG
Pâte feuilletée	0,55 % d'EMAG
Gaufre	0,09 % d'EMAG

EMAG = Esters méthyliques d'AG.

1.2. Facteurs influant sur la composition en AG *trans* et en CLA

1.2.1. Facteurs saisonniers (pour les denrées d'origine animale)

La saison a une grande influence sur les teneurs en AG *trans* pour tous les produits issus des ruminants et en particulier des matières grasses laitières. À partir d'un travail sur les 18:1 *trans*, il a été montré que les taux de ces AG *trans* pouvaient varier du simple au double, de 4,3 % des AG totaux en mai-juin à 2,4 % des AG totaux en janvier-février. Ces différences sont essentiellement dues à la nature de l'alimentation du bétail et de la disponibilité d'une nourriture à base d'herbe fraîche (source d'AGPI et notamment d'acide α -linoléinique). La race ainsi que le stade de lactation peuvent également avoir une influence.

Les ovins et les caprins semblent présenter des variations saisonnières dans la composition en AG *trans* encore plus importantes que les bovins (Wolff *et al.*, 1998).

Comme pour l'ensemble des AG *trans*, les CLA sont également sujets à des variations saisonnières (tableau 23). Les taux les plus élevés sont rencontrés au début de l'été.

Tableau 23 : Variations saisonnières des taux de CLA (g/100 g de beurre) dans le beurre en France (d'après Ledoux *et al.*, 2003).

	CLA 9c,11t		CLA c,c		CLA t,t		CLAs totaux	
	Moyenne	Écart-type	Moyenne	Écart-type	Moyenne	Écart-type	Moyenne	Écart-type
Hiver	0,40 ^a	0,058	0,02 ^a	0,006	0,03 ^a	0,002	0,45 ^a	0,062
Printemps	0,52 ^b	0,169	0,03 ^b	0,011	0,03 ^b	0,003	0,58 ^b	0,177
Été	0,74 ^c	0,162	0,03 ^b	0,008	0,03 ^c	0,008	0,80 ^c	0,168

Différents exposants dans une même colonne indiquent des différences significatives ($P < 0,001$).
Dans les produits laitiers le CLA 10t, 12c est à l'état de trace.

1.2.2. La température

(Precht *et al.*, 1999) rapportent que la composition en matières grasses du lait porté à des températures de 200 – 225°C pendant 15 minutes varie peu (conditions réalistes dans le cadre de procédés de cuisson ou fritures de produits contenant des matières grasses laitières). Juaneda *et al.* (2003) ont montré que la température avait un impact sur les teneurs en CLA d'une huile de tournesol chauffée, plus l'huile est chauffée plus la teneur en CLA est élevée (1,3 % des AG totaux pour un chauffage à 220°C contre 0,2 % pour un chauffage à 180°C)

Les traitements thermiques peuvent avoir également un effet sur la teneur en AG *trans* des huiles utilisées en friture. Ovesen *et al.* (1998), ont étudié ces teneurs dans les huiles de friture utilisées en restauration rapide au Danemark. Des changements de composition en AG *trans* interviennent, après de nombreuses utilisations, par rapport à la composition initiale de l'huile sans pour autant pouvoir dégager des tendances sur cette évolution.

La figure 11 du chapitre 1 – paragraphe 2.3 rappelle les différents isomères formés à partir des AG essentiels lors d'un chauffage.

Selon Shantha *et al.* (1992), la température lors de cuisson (four, vapeur, friteuse, micro-ondes) a peu d'influence sur la teneur en CLA quelle qu'en soit la forme.

2. Évaluation des apports en AG *trans* (totaux, dérivés de 18:1 et 18:2) et des CLA dans la population française. Données de composition des aliments

Pour faire suite à ce recensement des données de la littérature sur la composition des aliments en AG *trans*, un travail original a été réalisé spécifiquement dans ce groupe de travail pour collecter, à travers différents projets, les données de composition les plus récentes. Ce travail s'appuie sur la table de composition des aliments du Centre informatique sur la qualité des aliments (Ciqual) et permettra une liaison facile avec les données de l'enquête alimentaire INCA qui seront utilisées pour l'estimation de la consommation.

2.1. Objectifs

Les objectifs de ce travail étaient :

- de déterminer dans la population française par classes d'âge et sexe, les paramètres principaux des distributions des apports en CLA et AG *trans* totaux (hors CLA) et de deux sous-fractions majeures des AG *trans* : les 18:1 *trans* et les 18:2 *trans* ;
- de déterminer les principaux aliments contributeurs de ces apports par grands groupes de population (garçons, filles, hommes, femmes) ainsi que les principaux groupes d'aliments contributeurs ;
- d'étudier les caractéristiques majeures, socio-démographiques, nutritionnelles et de consommation des plus « forts consommateurs » de CLA et d'AG *trans* totaux.

2.2. Méthodologie

Les estimations ont été obtenues par croisement entre les données de consommation individuelles recueillies lors de l'enquête INCA en 1998/99 et les données de composition en CLA, AG *trans* totaux, 18:1*t* et C18:2*t*.

2.2.1. L'enquête INCA

L'enquête Inca est une étude de la consommation alimentaire individuelle portant sur un échantillon représentatif (stratification par régions géographiques et tailles d'agglomération et méthode des quotas) de la population française effectuée en 1998 - 1999. La consommation alimentaire a été évaluée par la méthode du carnet sur 7 jours consécutifs (avec utilisation de photographies pour identifier les portions d'aliments). Les participants devaient inscrire chaque jour l'intitulé de chacun des aliments consommés au cours des 3 repas principaux, du goûter et de l'ensemble des autres prises en dehors de celles-ci. Les quantités étaient estimées à l'aide du manuel de photographies développé pour l'étude SUVIMAX. Des indications sur le lieu et l'heure du repas étaient également mentionnées. Les caractéristiques socio-démographiques ainsi que les poids et taille étaient rapportés sur des questionnaires remplis par l'enquêté ou avec l'aide d'un enquêteur. L'étude a porté sur 1 985 adultes (> 15 ans) et 1 018 enfants et adolescents, et a été réalisée sur 11 mois pour intégrer les effets de saisonnalité ; 25 % des adultes ont été exclus car considérés comme sous-déclarants. Les sous-déclarants étaient les sujets dont le rapport « apport calorique / métabolisme de base » était trop bas pour considérer l'apport calorique suffisant par rapport aux besoins de base (Goldberg et coll., 1991). Le métabolisme de base était estimé à l'aide des équations de Schofield (1985). Finalement, le présent travail a porté sur 530 garçons et 488 filles de moins de 15 ans et sur 672 hommes et 802 femmes de 15 ans et plus.

2.2.2. Table de composition en CLA et en AG *trans*

Les données de composition des aliments en CLA et en AG *trans* utilisées sont celles de la banque de données française de composition nutritionnelle : le Répertoire Général des Aliments (Régal). Les données portant spécifiquement sur ces lipides ont été complétées, mises à jour et compilées en 2004, à cet effet (voir chapitre 2).

Les CLA n'ont été inclus ni dans le calcul des AG 18:2 *trans*, ni dans celui des AG *trans* totaux.

En l'absence de données, des teneurs en AG (18:1*t* ; 18:2*t* ; AG *trans* totaux ; CLA totaux) ont été calculées pour certains aliments d'après leur propre teneur en lipides et le profil en AG d'un aliment similaire (ex : yaourt nature et yaourt aux fruits).

Une description détaillée de la méthodologie suivie pour le recueil des données de composition des aliments figure en annexe 1.

2.2.3. Croisement des données INCA avec la table de composition en CLA et en AG *trans*

Au cours de l'enquête INCA, 895 aliments différents ont été codés et bénéficient d'une composition nutritionnelle validée pour 33 nutriments. Comme les teneurs en CLA et en AG *trans* totaux, 18:1 *trans*, 18:2 *trans* ne font pas partie de ces 33 nutriments, une table spécifique a été créée par le Ciqual selon une méthodologie détaillée précédemment. Il convient de souligner que le croisement des données a été fait entre de données de consommation recueillies en 1998/99 et des données de composition mesurées dans des produits après 1998/99, jusqu'en 2003 pour certains. Par conséquent les estimations fournies ne correspondent ni aux valeurs de 1998/99 ni réellement à celles de 2003 sauf si la consommation alimentaire n'a pas varié depuis 1998/99.

2.3. Apports caloriques et lipidiques observés

Comme les apports en AG *trans* et en CLA seront exprimés non seulement en grammes par jour mais également en proportions de l'apport calorique et des AG totaux, il est utile de rappeler par classes d'âge et sexe les principaux caractéristiques de ces apports.

Quelle que soit la classe d'âge, l'apport calorique est toujours plus élevé dans la population masculine que dans la population féminine (tableau 25). Dans ces deux populations, l'apport calorique augmente durant l'enfance pour atteindre un pic entre 25 et 44 ans et diminuer ensuite.

Tableau 25 : Apport calorique (en kcal) par classe d'âge et sexe.

Sexe	Classes d'âge	n	Moy ± sd	Médiane	2,5° P	5° P	95° P	97,5° P
Masculin	3-5	132	1 600 ± 402	1 566	941	962	2 300	2 422
	6-8	140	1 925 ± 474	1 854	986	1 267	2 777	2 914
	9-11	125	2 105 ± 573	2 027	1 236	1 267	3 105	3 351
	12-14	133	2 377 ± 829	2 201	1 254	1 386	3 614	4 473
	Total garçons***	530	2 000 ± 653***	1 895	979	1 180	3 168	3 460
	15-24	114	2 383 ± 543	2 380	1 285	1 454	3 425	3 512
	25-44	263	2 601 ± 591	2 483	1 785	1 866	3 733	4 207
	45-64	183	2 597 ± 578	2 494	1 872	1 937	3 686	4 023
	65 et plus	112	2 298 ± 574	2 159	1 547	1 592	3 521	3 710
Total hommes***	672	2 513 ± 589***	2 426	1 600	1 758	3 573	3 917	
Féminin	3-5	111	1 550 ± 406	1 518	768	934	2 462	2 558
	6-8	129	1 793 ± 447	1 754	1 069	1 181	2 594	2 957
	9-11	113	1 851 ± 489	1 798	977	1 054	2 680	3 182
	12-14	135	1 940 ± 545	1 865	1 021	1 063	2 963	3 237
	Total filles***	488	1 792 ± 497	1 748	976	1 069	2 680	3 021
	15-24	140	1 862 ± 446	1 815	1 071	1 150	2 698	2 951
	25-44	323	2 012 ± 402	1 953	1 430	1 486	2 710	2 904
	45-64	206	1 960 ± 408	1 892	1 396	1 432	2 528	2 871
	65 et plus	133	1 836 ± 426	1 735	1 287	1 360	2 756	2 883
Total femmes***	802	1 944 ± 421	1 877	1 360	1 412	2 688	2 908	

Moy : moyenne, sd : écart-type, P : percentile ; *** : p < 0,001 entre les 2 sexes pour le même groupe (enfants/adultes) (effet sexe) ; ** : p < 0,01 entre les classes d'âge d'un groupe (effet âge).

L'apport brut de lipides (tableau 26) par sexe et classe d'âge présente des caractéristiques similaires à celui de l'apport calorique avec cependant des différences hommes/femmes moins marquées. L'apport lipidique augmente avec l'âge chez les garçons et les filles puis poursuit son augmentation pour atteindre un pic entre 25 et 44 ans avant de décroître. Excepté chez les garçons, l'effet de l'âge demeure significatif après ajustement sur l'apport calorique. La différence filles/garçons n'est plus significative après prise en compte de l'apport calorique alors que la différence hommes/femmes s'inverse, avec des apports lipidiques plus élevés chez les femmes à apport calorique identique. Des résultats similaires sont observés lorsqu'on étudie la contribution lipidique à l'apport calorique (tableau 27). Chez les filles, la contribution moyenne est voisine de 38,9 % contre 38,5 % chez les garçons et dans la population adulte, ces contributions moyennes sont respectivement de 39,5% et 37,8 % (p < 0,001). La différence étant plus marquée à l'âge adulte. Globalement, quels que soient le sexe et la classe d'âge, les contributions sont nettement supérieures aux recommandations.

Tableau 26 : Apport lipidique (en g/j) par classe d'âge et sexe.

Sexe	Classe d'âge	n	Moy ± sd	Médiane	2,5° P	5° P	95° P	97,5° P
Masculin	3-5	132	68 ± 18	66	37	39	107	110
	6-8	140	82 ± 22	81	46	51	118	130
	9-11	125	90 ± 25	86	54	56	136	148
	12-14	133	101 ± 35	93	55	59	157	197
	Total garçons^{***}	530	83 ± 28^{***}	79	39	46	133	147
	15-24	114	103 ± 27	102	54	60	155	168
	25-44	263	111 ± 27	108	69	75	156	182
	45-64	183	107 ± 27	104	65	67	164	176
	65 et plus	112	89 ± 26	82	51	55	138	152
Total hommes^{***}	672	100 ± 27^{***}	98	55	61	149	164	
Féminin	3-5	111	65 ± 17	63	30	36	100	106
	6-8	129	76 ± 22	74	41	44	118	130
	9-11	113	81 ± 24	80	43	48	119	145
	12-14	135	85 ± 25	82	41	48	138	146
	Total filles^{***}	488	75 ± 23	72	38	44	120	130
	15-24	140	82 ± 23	80	43	50	125	131
	25-44	323	88 ± 20	86	56	60	124	130
	45-64	206	87 ± 22	84	54	56	123	142
	65 et plus	133	77 ± 21	74	48	52	109	134
Total femmes^{***}	802	82 ± 22	79	48	51	117	129	

Moy : moyenne, sd : écart-type, P : percentile ; *** : p < 0,001 entre les 2 sexes pour le même groupe (enfants/adultes) (effet sexe) ; ** : p < 0,01 entre les classes d'âge d'un groupe (effet âge).

Tableau 27 : Apport lipidique (en % apport calorique) par classe d'âge et sexe.

Sexe	Classe d'âge	n	Moy ± sd	Médiane	2,5° P	5° P	95° P	97,5° P
Masculin	3-5	132	38,3 ± 5,2	38,5	29,2	29,8	46,6	48,2
	6-8	140	38,3 ± 5	38,3	29	30,1	46,5	47,5
	9-11	125	38,8 ± 4,2	38,7	32,1	33	45,8	46
	12-14	133	38,6 ± 5,2	38,6	27,8	29,8	47,4	50,2
	Total garçons^{***}	530	38,5 ± 4,9	38,4	29,2	30,1	46,4	47,8
	15-24	114	39,2 ± 5,8	39,6	23,3	28,7	47,7	49,8
	25-44	263	38,7 ± 5,4	39,2	26,8	29	46,7	48,7
	45-64	183	37,3 ± 6,1	37,5	25,5	27,7	46,8	50,3
	65 et plus	112	35,2 ± 7	34	24,2	24,8	47,2	51,5
Total hommes^{***}	672	37,8 ± 6,1^{***}	38,4	25,5	27,3	47	49,8	
Féminin	3-5	111	38,1 ± 4,5	37,9	28,5	31	46,6	47,6
	6-8	129	38,1 ± 4,5	37,5	29,9	31,3	46,5	47,3
	9-11	113	39,6 ± 4,8	39,2	31,4	32,5	48,5	51
	12-14	135	39,7 ± 5	39,8	29,6	30,1	47,5	47,9
	Total filles^{***}	488	38,9 ± 4,8	38,5	29,9	31,2	47,3	48
	15-24	140	39,8 ± 5,3	39,7	30,1	31,4	48,5	49,3
	25-44	323	39,6 ± 5,1	39,6	30,3	31,3	47,5	49,2
	45-64	206	39,8 ± 5,8	39,9	29,3	30,6	49,5	51,2
	65 et plus	133	38,2 ± 6,6	38,2	25,8	27,6	49,2	51,8
Total femmes^{***}	802	39,5 ± 5,6	39,4	28,9	30,5	48,5	49,9	

Moy : moyenne, sd : écart-type, P : percentile ; *** : p < 0,001 entre les 2 sexes pour le même groupe (enfants/adultes) (effet sexe) ; ** : p < 0,01, * : p < 0,05 entre les classes d'âge d'un groupe (effet âge).

La consommation des 3 types d'AG (saturés, monoinsaturés et polyinsaturés) augmente avec l'âge avec une prédominance très nette des AG saturés qui représentent entre 48 et 50 % des AG totaux, devant les monoinsaturés (38 à 40 %) et les polyinsaturés (environ 12 %).

Tableau 28 : Apport en AG saturés, monoinsaturés et polyinsaturés (en g/j) par classe d'âge et sexe.
(moyenne ± écart-type)

Sexe	Classe d'âge	n	AGS	AGMI	AGPI
Masculin	3-5	132	30 ± 9	23 ± 7	7 ± 4
	6-8	140	36 ± 11	27 ± 8	8 ± 3
	9-11	125	39 ± 12	30 ± 9	10 ± 4
	12-14	133	43 ± 16	34 ± 11	11 ± 5
	Total garçons^{***}	530	37 ± 13^{***}	29 ± 10^{***}	9 ± 4^{***}
	15-24	114	43 ± 14	36 ± 9	11 ± 4
	25-44	263	46 ± 13	38 ± 10	12 ± 4
	45-64	183	43 ± 12	36 ± 10	11 ± 5
	65 et plus	112	38 ± 13	29 ± 9	9 ± 4
	Total hommes^{***}	672	44 ± 13^{***}	36 ± 10^{***}	11 ± 5^{***}
Féminin	3-5	111	29 ± 8	22 ± 6	6 ± 2
	6-8	129	33 ± 11	26 ± 8	8 ± 3
	9-11	113	35 ± 11	28 ± 8	9 ± 5
	12-14	135	36 ± 12	29 ± 9	9 ± 3
	Total filles^{***}	488	33 ± 11	26 ± 8	8 ± 4
	15-24	140	35 ± 11	29 ± 9	9 ± 3
	25-44	323	37 ± 10	30 ± 7	9 ± 4
	45-64	206	35 ± 10	30 ± 8	9 ± 4
	65 et plus	133	32 ± 10	25 ± 8	8 ± 5
	Total femmes^{***}	802	35 ± 10	29 ± 8	9 ± 4

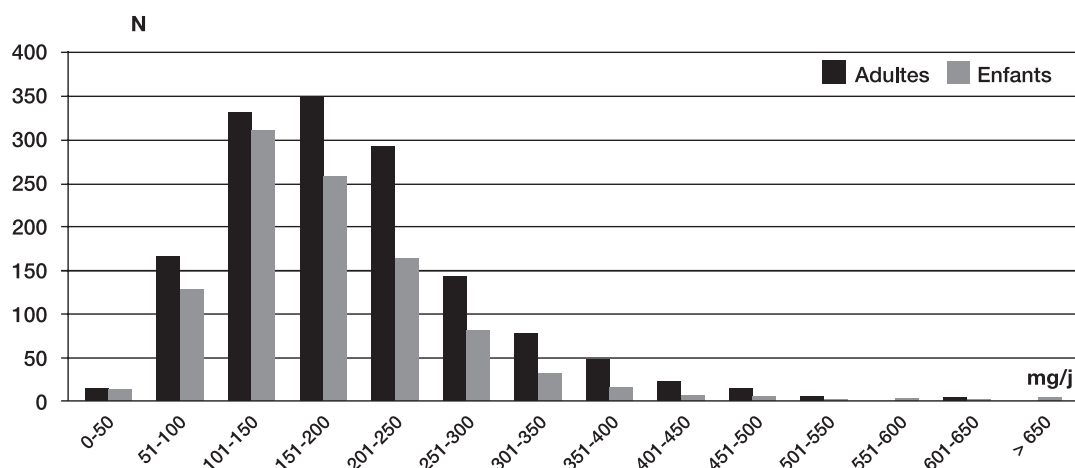
*** : p < 0,001 entre les 2 sexes pour le même groupe (enfants/adultes) (effet sexe).

2.4. Apports en CLA, aliments contributeurs et forts consommateurs

2.4.1. Apports en CLA par sexe et classe d'âge

La figure 31 montre la distribution des apports en mg/jour chez les adultes et les enfants. La distribution des apports est nettement plus large chez les enfants avec plusieurs valeurs extrêmes supérieures à 500 mg/j.

Figure 31 : Distribution des apports en CLA chez les enfants et les adultes - Étude INCA.



> Sommaire

À l'aide d'une analyse de variance, il a été possible d'estimer la variabilité intra-individuelle des apports. Le coefficient de variation intra-individuelle (c'est-à-dire la variabilité d'un jour à l'autre de l'apport pour un même individu) était proche de 60 % chez les adultes, de 64 % chez les filles et de 66 % chez les garçons. Une précision de l'apport individuel de l'ordre de 30 % nécessiterait ainsi entre 14 et 18 jours d'enquête, ce qui est relativement proche des valeurs estimées par exemple pour le cholestérol. Par conséquent, les résultats présentés sont relativement peu précis en particulier pour définir les « forts » consommateurs.

Les tableaux 29 à 31 présentent les apports en CLA respectivement en milligrammes par jour, en % de l'apport calorique et en % des AG totaux.

L'apport brut moyen en CLA (tableau 29) est de 183 mg/j chez les garçons, 170 mg/j chez les filles, 213 mg/j chez les hommes et 178 mg/j chez les femmes. La variabilité de cet apport est plus importante chez les garçons et chez les hommes. L'apport moyen augmente pendant l'enfance, de manière plus marquée chez les garçons, et demeure relativement stable à l'âge adulte avant de diminuer après 65 ans. Après prise en compte de l'apport calorique, les différences liées à l'âge disparaissent dans chaque groupe. L'apport brut de CLA est significativement plus élevé dans la population masculine que féminine. Néanmoins, après prise en compte de l'apport calorique, la différence n'est plus significative chez les enfants et elle s'inverse chez les adultes, c'est à dire qu'à apport calorique identique, les femmes adultes ont un apport moyen en CLA un peu plus élevé ($p < 0,02$) que les hommes adultes.

En termes de contribution à l'apport calorique (tableau 30), on observe des différences similaires à celles observées après ajustement des apports bruts sur l'apport calorique : pas de différences selon l'âge dans chaque groupe et une contribution supérieure dans la population féminine, surtout à l'âge adulte.

Par rapport à l'ensemble des AG, la part des CLA (tableau 31) diminue pendant l'enfance (significativement uniquement chez les filles) avant d'augmenter à nouveau chez l'adulte pour atteindre son maximum après 65 ans (0,27 % chez les hommes et 0,26 % chez les femmes). En revanche, il n'y a pas de différences selon le sexe chez les enfants et chez les adultes (tableau 29).

Tableau 29 : Apports en CLA en mg/j par sexe et classe d'âge.

Sexe	Classe d'âge	n	Moy ± sd	Médiane	2,5 ^e P	5 ^e P	95 ^e P	97,5 ^e P
Masculin	3-5	132	150 ± 57	143	42	56	258	270
	6-8	140	181 ± 88	170	62	76	351	396
	9-11	125	189 ± 92	177	67	78	352	442
	12-14	133	211 ± 130	181	77	88	429	578
	Total garçons^{***}	530	183 ± 98*	168	60	75	352	429
	15-24	114	197 ± 97	194	67	75	409	446
	25-44	263	221 ± 97	213	63	82	393	449
	45-64	183	216 ± 88	207	80	92	365	429
	65 et plus	112	203 ± 95	190	71	76	400	470
	Total hommes^{***}	672	213 ± 95^{***}	204	70	81	393	439
Féminin	3-5	111	155 ± 60	142	49	73	256	310
	6-8	129	172 ± 71	162	66	80	285	304
	9-11	113	168 ± 72	158	52	73	315	337
	12-14	135	181 ± 79	169	66	78	314	400
	Total filles^{***}	488	170 ± 72	158	55	74	291	321
	15-24	140	166 ± 80	148	48	67	322	382
	25-44	323	188 ± 83	177	67	81	349	399
	45-64	206	176 ± 73	167	71	82	321	349
	65 et plus	133	171 ± 81	158	50	63	294	335
	Total femmes^{***}	802	178 ± 80	166	61	73	332	368

Moy : moyenne, sd : écart-type, P : percentile ; ***, * : $p < 0,001$, $p < 0,05$ entre les 2 sexes pour le même groupe (enfants/adultes) (effet sexe) ; ***, * : $p < 0,001$, $p < 0,05$ entre les classes d'âge d'un groupe (effet âge).

Tableau 30 : Apports en CLA en % de l'apport calorique par sexe et classe d'âge.

Sexe	Classe d'âge	n	Moy ± sd	Médiane	2,5° P	5° P	95° P	97,5° P
Masculin	3-5	132	0,085 ± 0,028	0,084	0,028	0,04	0,132	0,149
	6-8	140	0,084 ± 0,031	0,08	0,037	0,039	0,139	0,151
	9-11	125	0,08 ± 0,028	0,075	0,038	0,041	0,136	0,14
	12-14	133	0,078 ± 0,029	0,074	0,035	0,038	0,129	0,139
	Total garçons^{***}	530	0,082 ± 0,029*	0,078	0,035	0,039	0,134	0,149
	15-24	114	0,074 ± 0,029	0,071	0,024	0,033	0,131	0,133
	25-44	263	0,077 ± 0,03	0,074	0,026	0,033	0,128	0,143
	45-64	183	0,076 ± 0,029	0,071	0,03	0,035	0,128	0,144
	65 et plus	112	0,08 ± 0,034	0,074	0,029	0,035	0,145	0,15
Total hommes^{***}	672	0,076 ± 0,03^{***}	0,073	0,028	0,033	0,131	0,147	
Féminin	3-5	111	0,09 ± 0,028	0,086	0,044	0,055	0,143	0,169
	6-8	129	0,086 ± 0,024	0,08	0,05	0,055	0,134	0,147
	9-11	113	0,082 ± 0,025	0,082	0,032	0,042	0,126	0,133
	12-14	135	0,084 ± 0,027	0,08	0,043	0,045	0,14	0,144
	Total filles^{***}	488	0,085 ± 0,026	0,082	0,042	0,047	0,134	0,147
	15-24	140	0,079 ± 0,031	0,075	0,03	0,04	0,132	0,153
	25-44	323	0,084 ± 0,033	0,08	0,033	0,04	0,138	0,162
	45-64	206	0,081 ± 0,03	0,08	0,032	0,039	0,142	0,153
	65 et plus	133	0,084 ± 0,033	0,08	0,03	0,036	0,138	0,165
Total femmes^{***}	802	0,083 ± 0,032	0,079	0,032	0,039	0,138	0,157	

Moy : moyenne, sd : écart-type, P : percentile ; *** , * : p < 0,001, p < 0,05 entre les 2 sexes pour le même groupe (enfants/adultes).

Tableau 31 : Apports en CLA en % de l'apport d'AG totaux par sexe et classe d'âge.

Sexe	Classe d'âge	n	Moy ± sd	Médiane	2,5° P	5° P	95° P	97,5° P
Masculin	3-5	132	0,254 ± 0,08	0,25	0,085	0,115	0,37	0,426
	6-8	140	0,251 ± 0,08	0,246	0,126	0,131	0,398	0,422
	9-11	125	0,237 ± 0,077	0,233	0,116	0,136	0,384	0,421
	12-14	133	0,234 ± 0,079	0,227	0,108	0,13	0,382	0,407
	Total garçons^{***}	530	0,244 ± 0,079	0,239	0,108	0,131	0,384	0,421
	15-24	114	0,213 ± 0,076	0,206	0,09	0,112	0,378	0,417
	25-44	263	0,229 ± 0,081	0,225	0,082	0,108	0,385	0,408
	45-64	183	0,242 ± 0,086	0,234	0,089	0,119	0,39	0,433
	65 et plus	112	0,267 ± 0,092	0,263	0,099	0,126	0,392	0,414
Total hommes^{***}	672	0,236 ± 0,085	0,229	0,089	0,112	0,386	0,411	
Féminin	3-5	111	0,27 ± 0,072	0,268	0,151	0,17	0,397	0,418
	6-8	129	0,258 ± 0,068	0,259	0,139	0,153	0,365	0,403
	9-11	113	0,238 ± 0,069	0,25	0,082	0,118	0,342	0,369
	12-14	135	0,243 ± 0,073	0,238	0,116	0,127	0,386	0,402
	Total filles^{***}	488	0,252 ± 0,071	0,252	0,116	0,139	0,368	0,403
	15-24	140	0,229 ± 0,08	0,221	0,098	0,105	0,368	0,409
	25-44	323	0,246 ± 0,085	0,243	0,108	0,119	0,407	0,428
	45-64	206	0,239 ± 0,078	0,236	0,093	0,118	0,385	0,395
	65 et plus	133	0,26 ± 0,089	0,259	0,086	0,109	0,405	0,438
Total femmes^{***}	802	0,244 ± 0,084	0,241	0,098	0,115	0,394	0,422	

Moy : moyenne, sd : écart-type, P : percentile *** , ** , * : p < 0,001, p < 0,01, p < 0,05 entre les classes d'âge d'un groupe (effet âge).

Les corrélations entre les apports en CLA et ceux en AG saturés totaux ont été étudiées spécifiquement. Le tableau 32 présente les coefficients de corrélations de Spearman, par groupe et sexe, selon l'expression des apports et selon quelques critères d'ajustement. Les apports en CLA (en mg/j) sont fortement liés aux apports en AG saturés (en g/j). En effet, après ajustement sur l'âge, le coefficient de corrélation de Spearman varie de 0,68 chez les femmes à 0,76 chez les filles. Comme ces apports sont également fortement liés à l'apport calorique, un ajustement sur ce facteur a été réalisé : la corrélation est réduite mais demeure importante, supérieure à 0,50. La corrélation entre les contributions à l'apport calorique des deux types d'AG montre des résultats similaires ; celle entre les contributions aux AG totaux est légèrement réduite, entre 0,42 et 0,54. L'étude des aliments contributeurs devrait confirmer ces observations.

Tableau 32 : Corrélations (Spearman) entre les apports en AG saturés et en CLA.

Corrélation	CLA en mg/j et AGS en g/j		CLA et AGS en % ACT	CLA et AGS en % acides gras totaux
	Âge	Âge et apport calorique	Âge	Âge
Hommes	0,70	0,59	0,59	0,52
Femmes	0,68	0,56	0,56	0,54
Garçons	0,70	0,49	0,5	0,42
Filles	0,76	0,51	0,52	0,43

AGS : AG saturés ; ACT : apport calorique total.

2.4.2. Aliments contributeurs des apports en CLA

En termes d'aliments, respectivement 125 et 123 aliments contribuent chez les filles et les garçons à l'apport en CLA. Chez les adultes, ce nombre augmente avec 145 et 133 aliments respectivement chez les femmes et les hommes. Les annexes 2 et 3 présentent l'ensemble des aliments contributeurs classés par ordre décroissant, par sexe, chez les enfants et les adultes. Quels que soient le sexe et la catégorie d'âge, le beurre doux est toujours le premier contributeur, représentant à lui seul 29 % des apports des enfants et jusqu'à 36 % de ceux des femmes adultes. Le second contributeur est le lait demi-écrémé chez les enfants avec près de 12 % des apports et le camembert à 45 % de matières grasses chez les adultes avec 13 % et 10 % des apports respectivement chez les hommes et les femmes. Le troisième contributeur est le lait demi-écrémé chez les adultes avec 4,9 % et 6,6 % des apports respectivement chez les hommes et les femmes, et la brioche chez les enfants, 10 % et 7 % des apports respectivement chez les garçons et les filles. Le quatrième contributeur est la brioche chez l'adulte avec un apport compris entre 4,5 et 6,5 % et le camembert à 45% de matières grasses chez l'enfant avec 6 à 7 % des apports. Le 5^e contributeur est le même pour 3 des 4 groupes de population (garçons, filles et femmes) : le steak haché avec 15 % de matières grasses qui apporte près de 5 % des CLA des enfants et près de 3 % de ceux des adultes. Chez les hommes, cette place est occupée par le fromage de type « Roquefort ».

Au total, les 5 principaux aliments contributeurs apportent entre 60 % et 63 % des CLA. Après ces 5 aliments, chez les enfants, des aliments de type viennoiseries et biscuits (croissants, pains au chocolat, brownies...) ainsi que les crèmes desserts et les glaces, constituent des contributeurs importants. Chez les adultes, les fromages (à pâte molle...) et la viande (agneau et bœuf) occupent une place plus importante.

2.4.3. Groupes d'aliments contributeurs des apports en CLA

L'ensemble des beurres, principal groupe contributeur dans les 4 sous-populations, contribue globalement à hauteur de 29 % (chez les enfants) à 35 % (chez les adultes) des apports en CLA. Chez les adultes, les fromages apportent environ le quart des CLA (davantage chez les hommes que chez les femmes) et les viandes environ 10-11 % à égalité avec le groupe des viennoiseries. Ces 4 groupes représentent plus de 80 % des apports totaux des adultes. Chez les enfants, le groupe des viennoiseries est le second contributeur (15-16 % des apports). Le groupe de fromages et celui du lait apportent tous deux entre 13 et 14 % des CLA des enfants. Ces quatre groupes représentent environ 71 % des apports en CLA des enfants. La contribution du lait est deux fois moins importante chez les adultes. Les produits de type yaourts (ultra-frais laitiers) apportent entre 7 et 9 % des CLA. La part des biscuits et des entremets est nettement plus importante chez les enfants (plus du double pour les biscuits) que chez les adultes. Près de 95 % et 92 % des apports respectivement des adultes et des enfants proviennent de seulement 6 groupes d'aliments.

Tableau 33 : Groupes d'aliments contributeurs de CLA et leurs contributions selon l'âge et le sexe. Contribution aux apports de CLA (%).

	Adultes				Enfants		
	Moyenne adulte	Hommes	Femmes		Moyenne enfants	Garçons	Filles
Beurre	35,35	34,79	35,83	Beurre	29,46	30,04	28,83
Fromages	24,25	26,70	22,19	Viennoiseries	15,53	15,90	15,12
Viennoiseries	10,25	9,70	10,70	Fromages	13,54	12,82	14,31
Viandes	10,48	11,22	9,86	Lait	14,02	13,84	14,20
Ultra frais laitiers	7,70	6,50	8,70	Viandes	10,13	10,41	9,84
Lait	6,86	5,84	7,73	Ultra frais laitiers	8,82	8,66	8,99
Biscuits	2,40	2,21	2,56	Biscuits	5,53	5,47	5,60
Plats composés	1,30	1,62	1,03	Pommes de terre	1,18	1,16	1,20
Pommes de terre	0,84	0,86	0,83	Plats composés	0,97	0,95	0,99
Entremets	0,19	0,16	0,22	Entremets	0,34	0,24	0,46
Pizzas, quiches...	0,18	0,20	0,16	Chocolat	0,20	0,20	0,21
				Pizzas, quiches	0,17	0,20	0,13

2.4.4. Les « forts » consommateurs de CLA

Seuls les adultes ont été étudiés pour cette analyse. Les forts consommateurs ont été définis comme les sujets dont les apports en CLA étaient supérieurs à la valeur du 95^e percentile de la distribution par sexe, c'est à dire au-delà de 332 mg/j chez les femmes et de 393 mg/j chez les hommes.

Au niveau des facteurs socio-démographiques, aucune différence significative n'a été mise en évidence. Cependant, on observait un apport moyen plus élevé dans l'Ouest de la France et chez les agriculteurs (cependant peu représentés dans notre échantillon). Des effectifs faibles et une forte variabilité ne permettaient pas d'atteindre les seuils de significativité. Un effet « saison » est également perceptible avec des apports un peu plus élevés chez les sujets enquêtés en février-mars ou en fin d'automne.

Par conséquent, seuls les facteurs quantitatifs en particulier nutritionnels ont été comparés. Les forts consommateurs de CLA étaient légèrement plus jeunes (0,7 et 0,5 ans de moins en moyenne chez les « forts » consommateurs hommes et femmes respectivement) et avaient un indice de masse corporelle similaire aux autres sujets. En termes nutritionnels, les forts consommateurs avaient des apports caloriques nettement plus élevés (plus de 27 à 28 %). Leurs apports lipidiques étaient également plus importants, aboutissant à des contributions moyennes (avec alcool) de 41,5 % chez les forts consommateurs hommes et de 43 % chez les femmes. Les contributions des AG saturés et monoinsaturés étaient également augmentées alors que celle des polyinsaturés était réduite -de manière significative uniquement chez les femmes. Les contributions des glucides et protides étaient dans le même temps réduites mais la différence n'était significative que chez les femmes. La part des glucides simples n'était pas modifiée. Les « forts » consommateurs de CLA étaient également de « forts » consommateurs d'AG *trans* (totaux, 18:1 *trans* et 18:2 *trans*) et de cholestérol. Les apports en minéraux (calcium, phosphore et sodium) et en certaines vitamines (vitamine B6, thiamine...) étaient également plus élevés chez les forts consommateurs de CLA. L'ajustement sur l'apport calorique ne modifiait pas les relations avec les 3 types d'AG *trans*, ni avec le cholestérol, ni avec le potassium et le fer dans les deux sexes. En revanche, la relation avec le sodium, la thiamine et la vitamine B6 disparaissait dans les 2 sexes. Les autres relations disparaissaient dans un sexe uniquement.

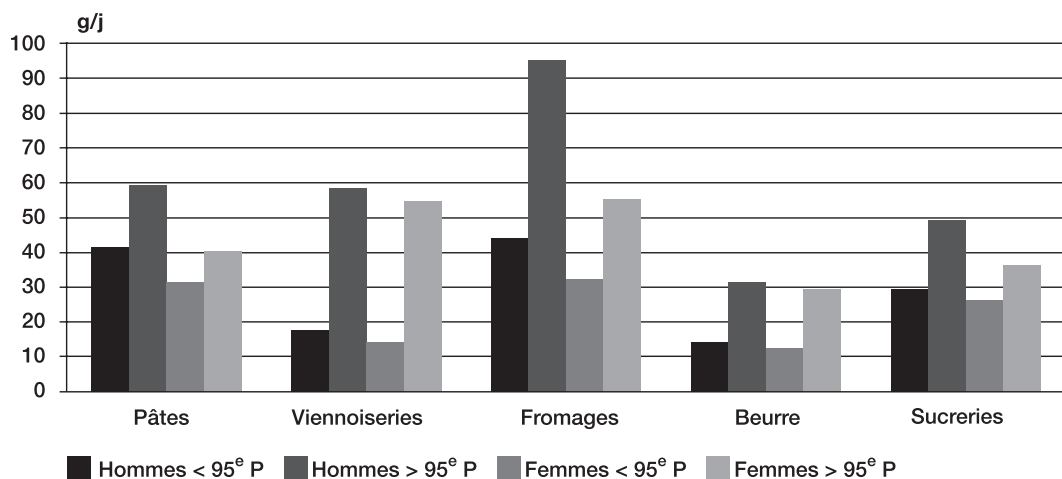
Tableau 34 : Comparaison des « forts » consommateurs de CLA aux autres sujets selon le sexe.

	Hommes		Femmes	
	< 95 ^e P	>= 95 ^e P	< 95 ^e P	>= 95 ^e P
n	639	33	764	38
Acide gras CLA (mg/j)	0,2 ± 0,08	0,45 ± 0,05***	0,17 ± 0,06	0,4 ± 0,07***
Âge	43,7 ± 17,8	42,4 ± 18,8	42,5 ± 18,3	42 ± 15,1
IMC (kg/m ²)	24 ± 3,5	24 ± 4,4	23 ± 4	23 ± 4,3
Apport calorique total (kcal/j)	2480 ± 564	3153 ± 698***	1917 ± 398	2452 ± 510***
Lipides (% ACT)	37,5 ± 6,2	41,5 ± 4,9***	39,5 ± 5,6	43,5 ± 5,3***
Acides gras saturés (% ACT)	15 ± 3	19 ± 3,5***	16 ± 2,8	21 ± 3,7***
Acides gras monoinsaturés (% ACT)	13 ± 2,5	13 ± 2	13 ± 2,5	14 ± 2,2*
Acides gras polyinsaturés (% ACT)	4,1 ± 1,4	3,6 ± 1,4	4,2 ± 1,5	3,6 ± 1***
Acides gras <i>trans</i> 18:1 (g/j)	2,24 ± 0,95	4,49 ± 2,03***	1,86 ± 0,84	3,61 ± 1,12***
Acides gras <i>trans</i> 18:2 (g/j)	0,23 ± 0,09	0,44 ± 0,19***	0,18 ± 0,07	0,32 ± 0,11***
Acide gras <i>trans</i> totaux (g/j)	3,2 ± 1,2	6,1 ± 2,4***	2,7 ± 1	4,8 ± 1,4***
Cholestérol (mg/j)	476 ± 155	641 ± 227***	384 ± 125	540 ± 146***
Protides (% ACT)	16,8 ± 2,9	15,8 ± 2,8	16,7 ± 2,9	15,7 ± 3,1*
Glucides (% ACT)	41,7 ± 7,5	38,7 ± 6,1	42,7 ± 7,1	38,7 ± 6,8**
Glucides simples (% GT)	39 ± 11	38 ± 10	43 ± 11	42 ± 11
Alcool (% ACT)	5,5 ± 6,3	4,0 ± 5,2	2,5 ± 4,0	2,2 ± 3,3
Sodium (mg/j)	3551 ± 1143	4783 ± 1652***	2698 ± 839	3320 ± 974***
Potassium (mg/j)	3264 ± 825	3615 ± 899*	2744 ± 694	3036 ± 816*
Calcium (mg/j)	891 ± 318	1269 ± 386***	810 ± 267	989 ± 307***
Fer (mg/j)	15,2 ± 4,6	16,9 ± 4,9*	11,3 ± 3,1	12,8 ± 3,8*
Thiamine (mg/j)	1,39 ± 0,41	1,62 ± 0,51**	1,13 ± 0,34	1,32 ± 0,35***
Riboflavine (mg/j)	1,84 ± 0,5	2,39 ± 0,64***	1,54 ± 0,45	1,9 ± 0,43***
Vitamine B6 (mg/j)	2 ± 0,5	2,3 ± 0,6**	1,6 ± 0,4	1,9 ± 0,5***

*, **, *** : p < 0,05, p < 0,01, p < 0,001 entre les groupes < 95^e P et >= 95^e P ; ACT : apport calorique total ; GT : Glucides totaux.

Au niveau des consommations alimentaires, les sujets ayant les apports en CLA les plus élevés avaient des consommations plus importantes de viennoiseries, de beurre, de fromage, de sucreries et également de pâtes (figure 32). Les « forts » consommateurs de CLA consomment également significativement plus de pain que les autres (30 g/j de plus chez les femmes et 40 g/j de plus chez les hommes).

Figure 32 : Consommation moyenne de quelques groupes d'aliments selon l'apport en CLA chez les hommes et femmes adultes.

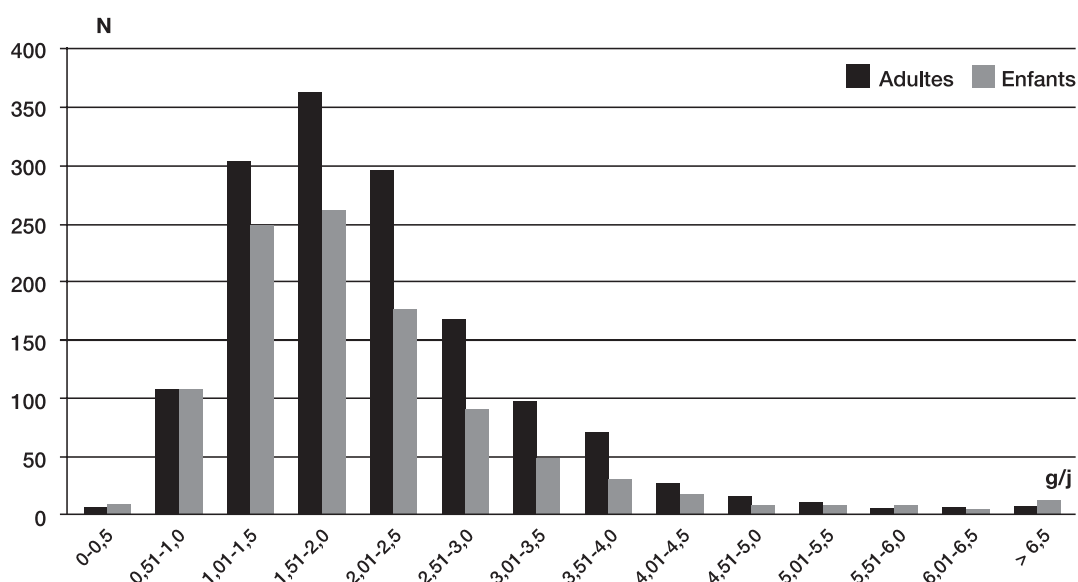


2.5. Apports en AG 18:1 *trans* et aliments contributeurs

2.5.1. Apports en 18:1 *trans* par sexe et classe d'âge

La figure 35 montre la distribution des apports en AG 18:1 *trans* en g/jour chez les adultes et les enfants. Comme pour les CLA, la distribution est plus étalée chez les enfants.

Figure 33 : Distribution des apports en 18:1 *trans* (g/j) chez les enfants et les adultes - Étude INCA



À l'aide d'une analyse de variance, il a été possible d'estimer la variabilité intra-individuelle des apports. Le coefficient de variation intra-individuelle était proche de 70 % chez les adultes, de 77 % chez les filles et de 90 % chez les garçons. Une précision de 30 % nécessiterait entre 22 et 34 jours d'enquête. Par conséquent, les résultats présentés sont relativement peu précis.

Les tableaux 35 à 37 présentent les apports en AG 18:1 *trans* en grammes par jour, en pourcentage de l'apport calorique et en pourcentage des AG totaux. L'apport moyen en AG 18:1 *trans* est de 2,1 g/j chez les garçons, 1,9 g/j chez les filles, 2,3 g/j chez les hommes et 1,9 g/j chez les femmes.

Les apports d'acide gras 18:1 *trans* augmentent avec l'âge chez les enfants puis atteignent un pic dans la tranche 25-44 ans avant de décroître (tableau 35). Après prise en compte de l'apport calorique, les différences d'apports entre les classes d'âge ne sont plus significatives. Les garçons et les hommes ont des apports significativement supérieurs à ceux des filles et des femmes mais après prise en compte de l'apport calorique, la différence n'était plus significative chez les enfants et était inversée chez les adultes. Ces résultats sont retrouvés dans l'analyse de la contribution des AG 18:1 *trans* à l'apport calorique : similaire entre les garçons et les filles (0,95 et 0,93 %), elle est supérieure chez les femmes adultes (0,9 % contre 0,84 %). La part des AG 18:1 *trans* dans les AG totaux ne diffère pas entre les sexes et présente, avec l'âge, une évolution plutôt en U.

Tableau 35 : Apports en AG 18:1 *trans* en g/j par sexe et classe d'âge.

Sexe	Classe d'âge	n	Moy ± sd	Médiane	2,5° P	5° P	95° P	97,5° P
Masculin	3-5	132	1,68 ± 0,92	1,5	0,58	0,64	3,37	4,22
	6-8	140	2,09 ± 1,02	1,86	0,73	0,9	4,07	4,51
	9-11	125	2,27 ± 1,21	1,96	0,77	0,87	4,56	5,31
	12-14	133	2,49 ± 1,67	2,14	0,84	0,93	6,59	8,16
	Total garçons^{***}	530	2,13 ± 1,27^{***}	1,85	0,68	0,79	4,47	5,91
	15-24	114	2,23 ± 1,02	2,04	0,76	0,86	4,21	4,88
	25-44	263	2,47 ± 1,11	2,29	0,97	1,16	4,57	5,16
	45-64	183	2,38 ± 1,31	2,16	0,88	1,1	4,29	4,58
	65 et plus	112	2,14 ± 0,98	2	0,69	0,89	3,94	4,44
Total hommes^{***}	672	2,35 ± 1,14^{***}	2,17	0,84	1	4,29	4,88	
Féminin	3-5	111	1,6 ± 0,68	1,48	0,64	0,73	2,9	3,51
	6-8	129	1,87 ± 0,94	1,74	0,65	0,68	3,34	5,29
	9-11	113	1,96 ± 1,02	1,69	0,68	0,83	3,85	4,67
	12-14	135	2,06 ± 1,13	1,81	0,61	0,73	4,11	4,75
	Total filles^{***}	488	1,88 ± 0,98	1,71	0,64	0,74	3,54	4,32
	15-24	140	1,91 ± 0,98	1,72	0,66	0,84	3,36	3,9
	25-44	323	2,05 ± 0,95	1,84	0,81	0,89	3,83	4,25
	45-64	206	1,9 ± 0,94	1,76	0,75	0,84	3,47	3,94
	65 et plus	133	1,83 ± 0,83	1,75	0,71	0,74	3,07	3,65
Total femmes^{***}	802	1,95 ± 0,94	1,77	0,73	0,85	3,65	4,1	

Moy : moyenne, sd : écart-type, P : percentile ; *** : p < 0,001 entre les 2 sexes pour le même groupe (enfants/adultes) (effet sexe) ; ***, **, * : p < 0,001, p < 0,01, p < 0,05 entre les classes d'âge d'un groupe (effet âge).

Tableau 36 : Apports en AG 18:1 *trans* en % de l'apport calorique par sexe et classe d'âge.

Sexe	Classe d'âge	n	Moy ± sd	Médiane	2,5° P	5° P	95° P	97,5° P
Masculin	3-5	132	0,94 ± 0,41	0,87	0,41	0,45	1,7	2,17
	6-8	140	0,97 ± 0,41	0,88	0,46	0,51	1,67	2,07
	9-11	125	0,96 ± 0,45	0,89	0,43	0,45	1,75	2,15
	12-14	133	0,93 ± 0,48	0,83	0,4	0,46	2	2,54
	Total garçons^{***}	530	0,95 ± 0,44	0,87	0,42	0,46	1,75	2,2
	15-24	114	0,84 ± 0,32	0,79	0,35	0,38	1,52	1,67
	25-44	263	0,85 ± 0,32	0,82	0,38	0,44	1,39	1,56
	45-64	183	0,83 ± 0,37	0,8	0,32	0,38	1,4	1,62
	65 et plus	112	0,85 ± 0,36	0,79	0,3	0,41	1,48	1,76
Total hommes^{***}	672	0,84 ± 0,34^{**}	0,81	0,33	0,4	1,43	1,62	
Féminin	3-5	111	0,94 ± 0,34	0,87	0,43	0,54	1,54	1,78
	6-8	129	0,92 ± 0,34	0,89	0,45	0,54	1,58	1,61
	9-11	113	0,94 ± 0,36	0,91	0,43	0,48	1,44	1,81
	12-14	135	0,94 ± 0,39	0,85	0,47	0,53	1,55	2,3
	Total filles^{***}	488	0,93 ± 0,36	0,87	0,46	0,54	1,53	1,73
	15-24	140	0,91 ± 0,37	0,85	0,47	0,53	1,46	1,61
	25-44	323	0,91 ± 0,36	0,85	0,39	0,46	1,56	1,71
	45-64	206	0,87 ± 0,35	0,81	0,38	0,44	1,54	1,7
	65 et plus	133	0,9 ± 0,37	0,85	0,37	0,4	1,49	1,71
Total femmes^{***}	802	0,9 ± 0,36	0,84	0,39	0,45	1,52	1,71	

Moy : moyenne, sd : écart-type, P : percentile ; ** : p < 0,01 entre les 2 sexes pour le même groupe (enfants/adultes) (effet sexe).

Tableau 37 : Apports en AG 18:1 *trans* en % de l'apport d'AG totaux par sexe et classe d'âge.

Sexe	Classe d'âge	n	Moy ± sd	Médiane	2,5° P	5° P	95° P	97,5° P
Masculin	3-5	132	2,81 ± 1,2	2,63	1,23	1,42	5,22	6,17
	6-8	140	2,95 ± 1,31	2,73	1,45	1,6	5,4	6,64
	9-11	125	2,88 ± 1,36	2,62	1,27	1,38	4,82	6,18
	12-14	133	2,83 ± 1,59	2,52	1,31	1,37	5,76	7,51
	Total garçons^{***}	530	2,87 ± 1,37	2,62	1,29	1,44	5,3	6,64
	15-24	114	2,45 ± 0,83	2,25	1,1	1,3	4,04	4,5
	25-44	263	2,57 ± 0,93	2,42	1,2	1,33	4,33	4,59
	45-64	183	2,64 ± 1,09	2,45	1,17	1,21	4,27	4,81
	65 et plus	112	2,82 ± 0,94	2,81	1,14	1,39	4,39	5,23
Total hommes^{***}	672	2,61 ± 0,97	2,46	1,18	1,3	4,31	4,68	
Féminin	3-5	111	2,82 ± 1	2,61	1,47	1,73	4,25	5,3
	6-8	129	2,79 ± 1,06	2,67	1,3	1,5	4,58	4,86
	9-11	113	2,75 ± 1,07	2,6	1,21	1,56	4,51	4,74
	12-14	135	2,74 ± 1,12	2,52	1,45	1,52	4,31	6,25
	Total filles^{***}	488	2,77 ± 1,06	2,59	1,41	1,6	4,52	4,98
	15-24	140	2,65 ± 1,06	2,52	1,24	1,45	4,07	4,76
	25-44	323	2,67 ± 1,04	2,49	1,26	1,38	4,38	4,82
	45-64	206	2,55 ± 0,92	2,41	1,17	1,41	4,4	5
	65 et plus	133	2,79 ± 1,02	2,62	1,22	1,31	4,57	4,96
Total femmes^{***}	802	2,66 ± 1,01	2,5	1,24	1,37	4,33	4,96	

Moy : moyenne, sd : écart-type, P : percentile ; * : p < 0,05 entre les classes d'âge d'un groupe (effet âge).

2.5.2. Aliments contributeurs des apports en AG 18:1 *trans*

En termes d'aliments, respectivement 257 et 251 aliments contribuent chez les filles et les garçons à l'apport en AG *trans* C18:1. Chez les adultes, ce nombre augmente avec 282 et 263 contributeurs respectivement chez les femmes et hommes. L'ensemble des contributeurs classés par ordre décroissant, par sexe, chez les enfants et les adultes est présenté en annexe. Quels que soient le sexe et la catégorie d'âge, le beurre doux est toujours le premier contributeur, représentant à lui seul 25 % des apports chez les enfants et jusqu'à 32,5 % de ceux des femmes adultes. Chez les enfants, les 2 aliments contributeurs suivants sont des gâteaux de type quatre-quart et cake... Ces deux contributeurs représentent 19 à 20 % des apports en 18:1 *trans*. Chez les adultes, ces deux contributeurs figurent également aux premiers rangs avec une contribution de 10-11 %. L'ordre des contributeurs est globalement le même entre les 4 sous-populations avec la présence de nombreux aliments de type pâtisseries, viennoiseries, de quelques fromages (plus importants chez les adultes) et du lait (plus prépondérant chez les enfants). Il est à noter que les pommes de terre frites « surgelées » figurent parmi les 10 premiers aliments contributeurs.

2.5.3. Groupes d'aliments contributeurs des apports en AG 18:1 *trans*

Le groupe des beurres constitue le principal groupe contributeur dans les 4 sous-populations. L'ensemble des beurres contribue globalement à hauteur de 27% (chez les enfants) à 32 % (chez les adultes) des apports d'AG 18:1 *trans*. Les fromages constituent la seconde source d'AG 18:1 *trans* chez l'adulte (18 % des apports) et la troisième chez les enfants (10 % des apports), chez lesquels ils sont légèrement devancés par les viennoiseries (11 % des apports). Chez les enfants, les 2 groupes suivants sont les pâtisseries et les biscuits représentant respectivement 7 à 8 % des apports. Si on ajoute les apports issus des viennoiseries à ces deux groupes, on atteint 27 % des apports, soit autant que le beurre. Chez les adultes, ces 2 groupes sont également des contributeurs importants mais dans une moindre mesure (moins de 10 % à eux deux). La viande constitue le 4^e groupe contributeur des adultes (7,5 %) et le 6^e des enfants (6,8 %).

Tableau 38 : Groupes d'aliments contributeurs d'AG *trans* C18:1 et leurs contributions selon l'âge et le sexe.

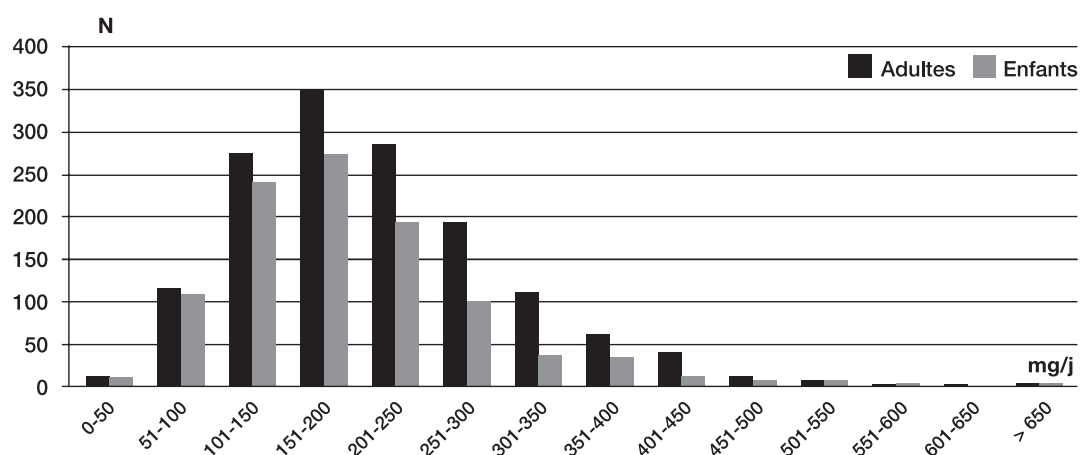
	Adultes				Enfants		
	Moyenne adulte	Hommes	Femmes		Moyenne enfants	Garçons	Filles
Beurre	31,98	31,11	32,71	Beurre	26,62	26,56	26,68
Fromages	17,82	19,37	16,53	Viennoiseries	11,45	11,83	11,04
Viennoiseries	7,58	7,13	7,95	Fromages	10,02	9,49	10,60
Viandes	7,54	8,03	7,14	Pâtisseries	7,99	8,02	7,95
Pâtisseries	5,10	5,01	5,18	Biscuits	7,82	8,52	7,07
Pizzas, quiches...	4,85	4,95	4,77	Viandes	6,83	6,79	6,88
Ultra-frais laitier	4,83	4,01	5,51	Ultra-frais laitier	5,58	5,29	5,90
Pommes de terre (dont frites)	4,40	4,72	4,13	Lait	5,50	5,37	5,64
Biscuits	4,37	4,64	4,14	Pizzas, quiches...	4,34	4,33	4,34
Plats composés	2,95	3,07	2,85	Pommes de terre (dont frites)	3,47	3,75	3,17
Lait	2,67	2,18	3,08	Plats composés	3,44	3,35	3,53
Margarine	1,98	1,94	2,01	Chocolat	1,53	1,40	1,66
Condiments et sauces	1,07	1,06	1,08	Margarine	1,52	1,50	1,55
Charcuterie	0,50	0,55	0,45	Condiments et sauces	0,82	0,74	0,91
Chocolat	0,30	0,29	0,31	Boissons chaudes	0,79	0,82	0,77
Entremets	0,30	0,31	0,30	Entremets	0,61	0,57	0,65
Pain, biscottes	0,29	0,23	0,34	Charcuterie	0,50	0,52	0,48
Volailles et gibiers	0,29	0,32	0,27	Sucres et dérivés	0,29	0,32	0,25
Soupes	0,27	0,23	0,30	Volailles et gibiers	0,20	0,20	0,19
Boissons chaudes	0,25	0,25	0,24	Soupes	0,16	0,15	0,17
Huiles	0,20	0,18	0,21	Pain, biscottes	0,14	0,13	0,15
Poissons	0,20	0,20	0,19	Huiles	0,13	0,13	0,13
Autres céréales	0,12	0,11	0,13	Autres céréales	0,11	0,09	0,14
Sucres et dérivés	0,09	0,05	0,12	Poissons	0,09	0,07	0,11
Entrées	0,02	0,02	0,02	Boisson raf. sans alcool	0,04	0,05	0,03
Crustacés et mollusques	0,01	0,01	0,01	Entrées	0,01	0,01	0,02
Fruits secs et oléag.	0,01	0,01	0,01	Crustacés et mollusques	0,01	0,01	0,00

2.6. Apports en AG 18:2 *trans* et aliments contributeurs

2.6.1. Apports en 18:2 *trans* par sexe et classe d'âge

La figure 34 montre la distribution des apports en AG 18:2 *trans* en mg/jour chez les adultes et les enfants. Comme précédemment, la distribution des apports est plus évasée chez les enfants.

Figure 34 : Distribution des apports en AG 18:2 *trans* (mg/j) chez les enfants et les adultes - Étude INCA



À l'aide d'une analyse de variance, il a été possible d'estimer la variabilité intra-individuelle des apports. Le coefficient de variation intra-individuelle était proche de 65 % chez les adultes, de 77 % chez les filles et de 71 % chez les garçons. Une précision de 30 % nécessiterait entre 18 et 22 jours d'enquête. Par conséquent, les résultats présentés sont très peu précis.

Les tableaux 39 à 41 présentent les apports en AG *trans* C18:2 en milligrammes par jour, en % de l'apport calorique et en % des AG totaux. L'apport moyen en AG 18:2 *trans* est de 198 mg/j chez les garçons, 182 mg/j chez les filles, 241 mg/j chez les hommes et 190 mg/j chez les femmes.

Comme pour les AG 18:1 *trans*, les apports en 18:2 *trans* augmentent avec l'âge avant de diminuer à partir de 45 ans. Cette évolution est comme précédemment corrélée à l'apport calorique. Les apports sont en moyenne plus élevés dans la population masculine mais après ajustement sur l'apport calorique ces différences disparaissent. La contribution des AG 18:2 *trans* est relativement stable selon le sexe et l'âge, aux environs de 0,08-0,09 % de l'apport calorique. Il en est de même par rapport à l'ensemble des AG, parmi lesquels les 18:2 *trans* représentent 0,27 à 0,28 %.

Tableau 39 : Apports en AG 18:2 *trans* en mg/j par sexe et classe d'âge.

Sexe	Classe d'âge	n	Moy ± sd	Médiane	2,5° P	5° P	95° P	97,5° P
Masculin	3-5	132	156 ± 70	148	58	68	291	353
	6-8	140	198 ± 80	187	79	94	359	378
	9-11	125	207 ± 90	194	78	93	358	428
	12-14	133	230 ± 117	203	93	110	452	505
	Total garçons^{***}	530	198 ± 95^{**}	178	68	79	373	443
	15-24	114	230 ± 92	219	97	105	418	485
	25-44	263	260 ± 123	239	92	113	440	497
	45-64	183	237 ± 97	223	90	113	403	429
	65 et plus	112	213 ± 101	199	65	69	423	519
	Total hommes^{***}	672	241 ± 109^{***}	224	82	99	421	485
Féminin	3-5	111	150 ± 58	141	52	78	263	297
	6-8	129	182 ± 79	171	58	60	295	338
	9-11	113	187 ± 77	173	64	82	348	407
	12-14	135	204 ± 89	184	69	87	387	397
	Total filles^{***}	488	182 ± 79	166	60	78	329	386
	15-24	140	190 ± 80	171	74	81	357	405
	25-44	323	201 ± 87	188	72	86	382	423
	45-64	206	184 ± 74	179	67	80	318	341
	65 et plus	133	173 ± 84	160	46	51	310	358
	Total femmes^{***}	802	190 ± 83	179	64	80	342	398

Moy : moyenne, sd : écart-type, P : percentile ^{***}, ^{**} : p < 0,001, p < 0,01 entre les 2 sexes pour le même groupe (enfants/adultes) (effet sexe) ; ^{***}, ^{**} : p < 0,001, p < 0,01, entre les classes d'âge d'un groupe (effet âge)

Tableau 40 : Apports en AG 18:2 *trans* en % de l'apport calorique par sexe et classe d'âge.

Sexe	Classe d'âge	n	Moy ± sd	Médiane	2,5° P	5° P	95° P	97,5° P
Masculin	3-5	132	0,087 ± 0,031	0,083	0,038	0,049	0,145	0,162
	6-8	140	0,092 ± 0,029	0,089	0,046	0,053	0,14	0,161
	9-11	125	0,089 ± 0,029	0,085	0,042	0,048	0,15	0,153
	12-14	133	0,087 ± 0,028	0,084	0,043	0,046	0,14	0,148
	Total garçons^{###}	530	0,089 ± 0,029	0,085	0,042	0,048	0,143	0,152
	15-24	114	0,087 ± 0,029	0,084	0,038	0,043	0,138	0,156
	25-44	263	0,089 ± 0,032	0,087	0,034	0,042	0,154	0,16
	45-64	183	0,083 ± 0,03	0,08	0,035	0,041	0,138	0,146
	65 et plus	112	0,083 ± 0,033	0,08	0,027	0,03	0,141	0,165
Total hommes^{###}	672	0,086 ± 0,031	0,084	0,033	0,041	0,141	0,157	
Féminin	3-5	111	0,088 ± 0,028	0,085	0,045	0,05	0,139	0,145
	6-8	129	0,09 ± 0,027	0,086	0,043	0,05	0,145	0,154
	9-11	113	0,091 ± 0,029	0,088	0,047	0,05	0,143	0,153
	12-14	135	0,094 ± 0,028	0,088	0,049	0,052	0,146	0,154
	Total filles^{###}	488	0,091 ± 0,028	0,087	0,048	0,051	0,142	0,153
	15-24	140	0,092 ± 0,031	0,087	0,044	0,052	0,151	0,16
	25-44	323	0,09 ± 0,035	0,086	0,04	0,042	0,149	0,157
	45-64	206	0,085 ± 0,03	0,084	0,032	0,037	0,139	0,149
	65 et plus	133	0,085 ± 0,036	0,079	0,026	0,031	0,148	0,184
Total femmes^{###}	802	0,088 ± 0,033	0,085	0,034	0,041	0,147	0,157	

Moy : moyenne, sd : écart-type, P : percentile.

Tableau 41 : Apports en AG 18:2 *trans* en % de l'apport d'AG totaux par sexe et classe d'âge.

Sexe	Classe d'âge	n	Moy ± sd	Médiane	2,5° P	5° P	95° P	97,5° P
Masculin	3-5	132	0,261 ± 0,085	0,253	0,13	0,139	0,432	0,46
	6-8	140	0,276 ± 0,076	0,265	0,155	0,171	0,393	0,439
	9-11	125	0,265 ± 0,084	0,258	0,125	0,141	0,417	0,459
	12-14	133	0,259 ± 0,079	0,25	0,132	0,141	0,395	0,458
	Total garçons^{###}	530	0,265 ± 0,081	0,256	0,132	0,148	0,413	0,459
	15-24	114	0,254 ± 0,073	0,243	0,134	0,149	0,384	0,4
	25-44	263	0,268 ± 0,089	0,259	0,113	0,142	0,418	0,485
	45-64	183	0,264 ± 0,085	0,258	0,103	0,136	0,4	0,424
	65 et plus	112	0,279 ± 0,091	0,274	0,091	0,114	0,421	0,45
Total hommes^{###}	672	0,266 ± 0,086	0,258	0,113	0,137	0,411	0,45	
Féminin	3-5	111	0,262 ± 0,071	0,255	0,129	0,146	0,374	0,405
	6-8	129	0,27 ± 0,076	0,264	0,132	0,157	0,385	0,429
	9-11	113	0,264 ± 0,078	0,257	0,146	0,158	0,414	0,423
	12-14	135	0,272 ± 0,075	0,264	0,154	0,166	0,388	0,508
	Total filles^{###}	488	0,268 ± 0,075	0,26	0,142	0,157	0,388	0,429
	15-24	140	0,266 ± 0,086	0,254	0,141	0,148	0,432	0,457
	25-44	323	0,262 ± 0,093	0,255	0,115	0,134	0,402	0,436
	45-64	206	0,249 ± 0,078	0,249	0,097	0,119	0,382	0,406
	65 et plus	133	0,262 ± 0,093	0,258	0,083	0,101	0,41	0,425
Total femmes^{###}	802	0,259 ± 0,088	0,253	0,106	0,126	0,403	0,436	

Moy : moyenne, sd : écart-type, P : percentile.

2.6.2. Aliments contributeurs des apports en AG 18:2 *trans*

En termes d'aliments, respectivement 179 et 171 aliments contribuent chez les filles et les garçons à l'apport en AG 18:2 *trans*. Chez les adultes, ce nombre augmente avec 196 et 184 contributeurs respectivement chez les femmes et hommes. L'ensemble des aliments contributeurs classés par ordre décroissant, par sexe, chez les enfants et les adultes est présenté en annexe. Le beurre et le camembert à 45 % de matières grasses sont les principaux contributeurs d'AG 18:2 *trans* représentant 29 % des apports chez les enfants et 38 % de ceux des adultes.

2.6.3. Groupes d'aliments contributeurs des apports en AG 18:2 *trans*

Les beurres et les fromages constituent les deux principaux groupes contributeurs à la fois chez les enfants et les adultes. Chez ces derniers, ces deux groupes assurent plus de 50 % des apports totaux, loin devant le groupe des viandes (11 %). Ce dernier groupe est seulement le 4^e groupe contributeur chez les enfants (10 %), car dépassé par celui des biscuits (12 %). Il est important de noter que les margarines contribuent peu aux apports d'AG 18:2 *trans* car les teneurs utilisées proviennent de données récentes montrant une quasi-disparition de ces AG dans ces produits.

Tableau 42 : Groupes d'aliments contributeurs d'AG 18:2 *trans* et leurs contributions selon l'âge et le sexe.

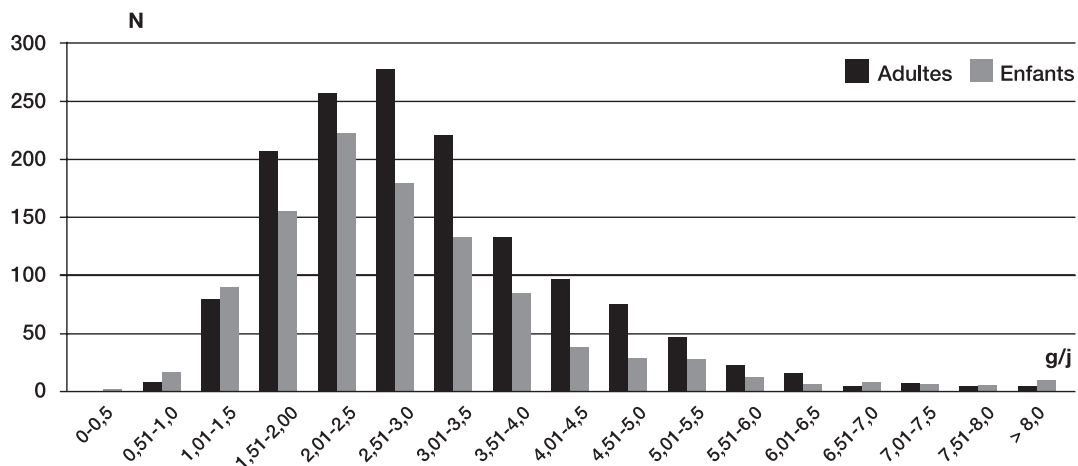
	Adultes				Enfants		
	Moyenne adulte	Hommes	Femmes		Moyenne enfants	Garçons	Filles
Beurre	29,23	27,71	30,51	Beurre	24,52	24,67	24,36
Fromages	22,39	23,93	21,10	Fromages	12,85	12,06	13,72
Viandes	11,02	11,43	10,68	Biscuits	11,53	12,00	11,02
Pizzas, quiches...	6,65	6,57	6,63	Viandes	10,25	10,29	10,20
Vieinnoiseries	5,54	5,35	5,69	Vieinnoiseries	9,51	9,68	9,33
Biscuits	5,24	4,94	5,49	Pizzas, quiches...	6,24	6,41	6,05
Plats composés	4,67	4,69	4,66	Plats composés	5,86	5,59	6,15
Charcuterie	4,28	4,90	3,76	Charcuteries	3,94	4,12	3,74
Pommes de terre (dont frites)	2,72	3,04	2,44	Pâtisseries	3,51	3,66	3,34
Ultra-frais laitier	2,14	1,75	2,46	Pommes de terre (dont frites)	3,33	3,61	3,02
Pâtisseries	2,08	1,97	2,18	Poissons	2,45	2,35	2,56
Poissons	1,35	1,17	1,50	Ultra-frais laitier	1,78	1,60	1,98
Pains Biscottes	0,79	0,62	0,94	Sucres et dérivés	1,42	1,41	1,42
Condiments et sauces	0,48	0,50	0,47	Chocolat	1,35	1,32	1,38
Sucres et dérivés	0,34	0,32	0,36	Pains, biscottes	0,46	0,43	0,48
Chocolat	0,33	0,34	0,32	Condiments et sauces	0,41	0,34	0,49
Entrées	0,19	0,18	0,20	Entremets	0,29	0,20	0,37
Entremets	0,15	0,12	0,18	Entrées	0,12	0,11	0,14
Margarine	0,11	0,11	0,12	Autres céréales	0,07	0,06	0,07
Fruits secs et oléag.	0,11	0,14	0,09	Lait	0,06	0,02	0,11
Autres céréales	0,06	0,05	0,07	Fruits secs et oléag.	0,05	0,06	0,05
Huiles	0,06	0,03	0,09	Boissons raf. sans alcool	0,01	0,00	0,02
Boissons raf. sans alcool	0,03	0,01	0,04	Margarines	0,01	0,01	0,00
Lait	0,02	0,02	0,02				
Autres graisses	0,00	0,01	0,00				

2.7. Apports en AG *trans* totaux, aliments contributeurs et forts consommateurs

2.7.1. Apports en AG *trans* totaux par sexe et classe d'âge

La figure 35 montre la distribution des apports en AG *trans* totaux en g/jour chez les adultes et les enfants. Comme pour les AG *trans* de type C18:1 et C18:2, la distribution est plus étalée chez les enfants.

Figure 35 : Distribution des apports en AG *trans* totaux (g/j) chez les enfants et les adultes - Étude INCA



À l'aide d'une analyse de variance, il a été possible d'estimer la variabilité intra-individuelle des apports. Le coefficient de variation intra-individuelle était proche de 62 % chez les adultes, de 65 % chez les filles et de 72 % chez les garçons. Une précision de 30 % nécessiterait entre 16 et 22 jours d'enquête. Par conséquent, les résultats présentés sont relativement peu précis, en particulier pour la définition des « forts » consommateurs.

Les tableaux 43 à 45 présentent les apports en AG *trans* totaux en grammes par jour, en % de l'apport calorique et en % des AG totaux. L'apport moyen en AG *trans* totaux est de 3 g/j chez les garçons, 2,7 g/j chez les filles, 3,4 g/j chez les hommes et 2,8 g/j chez les femmes.

Comme pour les deux types d'AG *trans*, 18:1 *trans* et 18:2 *trans*, les apports bruts augmentent régulièrement durant l'enfance puis poursuivent cette augmentation jusque dans la tranche 25-44 ans (3,5 g/j chez les hommes en moyenne et 2,9 g/j chez les femmes) avant de décroître. Ces évolutions selon l'âge ne sont cependant plus significatives après prise en compte de l'apport calorique. De même, les garçons et les hommes ont des apports moyens supérieurs de 0,3 g/j et 0,6 g/j à ceux des filles et des femmes mais après prise en compte de l'apport calorique, les apports des filles et garçons ne diffèrent plus et ceux des femmes deviennent supérieurs à ceux des hommes. Ces éléments sont confirmés par l'étude de la contribution à l'apport calorique qui montre une valeur moyenne similaire entre les filles et les garçons (1,34 % et 1,35 %) et une valeur supérieure chez les femmes par rapport aux hommes (1,28 % contre 1,21 %). La part des AG *trans* totaux dans l'ensemble des AG montre plutôt une tendance en U, plus évidente chez les femmes. Dans le groupe des hommes adultes, l'évolution selon la classe d'âge de la part des AG *trans* totaux présente une augmentation globale significative, passant de 3,55 % entre 15 et 24 ans à 4,01 % après 65 ans.

Tableau 43 : Apports en AG *trans* totaux en g/j par sexe et classe d'âge.

Sexe	Classe d'âge	n	Moy ± sd	Médiane	2,5° P	5° P	95° P	97,5° P
Masculin	3-5	132	2,37 ± 1,07	2,24	0,84	1,01	4,26	5,48
	6-8	140	2,94 ± 1,21	2,71	1,19	1,4	5,35	5,63
	9-11	125	3,21 ± 1,45	2,84	1,27	1,45	5,86	6,71
	12-14	133	3,5 ± 1,96	3,03	1,34	1,51	7,56	9,74
	Total garçons^{***}	530	3 ± 1,51	2,67	1,09	1,31	5,81	7,19
	15-24	114	3,23 ± 1,27	3,05	1,24	1,43	5,96	6,43
	25-44	263	3,54 ± 1,39	3,39	1,52	1,78	5,85	6,96
	45-64	183	3,4 ± 1,59	3,18	1,44	1,66	5,79	6,1
	65 et plus	112	3,03 ± 1,24	2,84	1,01	1,35	5,25	6,26
Total hommes^{***}	672	3,36 ± 1,41	3,13	1,35	1,6	5,79	6,4	
Féminin	3-5	111	2,27 ± 0,81	2,12	0,96	1,21	3,7	4,52
	6-8	129	2,65 ± 1,17	2,49	1,08	1,15	4,65	6,43
	9-11	113	2,8 ± 1,22	2,48	1,13	1,32	5,21	5,38
	12-14	135	2,93 ± 1,32	2,67	1	1,28	5,32	6,09
	Total filles^{***}	488	2,68 ± 1,18	2,45	1,08	1,23	4,71	5,48
	15-24	140	2,71 ± 1,14	2,5	0,98	1,26	4,32	5,1
	25-44	323	2,91 ± 1,16	2,7	1,28	1,5	5,17	5,68
	45-64	206	2,71 ± 1,13	2,52	1,18	1,36	4,78	5,07
	65 et plus	133	2,56 ± 1,03	2,44	1,17	1,27	4,27	4,63
Total femmes^{***}	802	2,76 ± 1,13	2,59	1,2	1,34	4,89	5,43	

Moy : moyenne, sd : écart-type, P : percentile ^{***}, ^{**}, ^{*} : p < 0,001, p < 0,01, p < 0,05 entre les classes d'âge d'un groupe (effet âge).

Tableau 44 : Apports en AG *trans* totaux en % de l'apport calorique par sexe et classe d'âge.

Sexe	Classe d'âge	n	Moy ± sd	Médiane	2,5° P	5° P	95° P	97,5° P
Masculin	3-5	132	1,33 ± 0,47	1,28	0,7	0,75	2,25	2,53
	6-8	140	1,37 ± 0,45	1,3	0,73	0,77	2,05	2,41
	9-11	125	1,37 ± 0,5	1,29	0,76	0,8	2,29	2,57
	12-14	133	1,32 ± 0,52	1,26	0,67	0,76	2,58	2,89
	Total garçons^{***}	530	1,35 ± 0,48	1,29	0,72	0,77	2,25	2,63
	15-24	114	1,22 ± 0,39	1,18	0,57	0,66	1,97	2,23
	25-44	263	1,22 ± 0,39	1,2	0,58	0,7	1,92	2,03
	45-64	183	1,19 ± 0,45	1,16	0,53	0,63	1,91	2,19
	65 et plus	112	1,2 ± 0,44	1,16	0,56	0,62	1,94	2,33
Total hommes^{***}	672	1,21 ± 0,41^{**}	1,18	0,56	0,66	1,93	2,19	
Féminin	3-5	111	1,33 ± 0,38	1,27	0,69	0,8	2,02	2,2
	6-8	129	1,31 ± 0,39	1,29	0,7	0,8	1,96	2,17
	9-11	113	1,35 ± 0,41	1,32	0,71	0,77	2,11	2,3
	12-14	135	1,35 ± 0,43	1,25	0,81	0,86	2,06	2,69
	Total filles^{***}	488	1,34 ± 0,41	1,28	0,75	0,82	2,01	2,26
	15-24	140	1,3 ± 0,41	1,26	0,77	0,83	2	2,07
	25-44	323	1,3 ± 0,43	1,23	0,66	0,72	2,06	2,31
	45-64	206	1,24 ± 0,42	1,18	0,64	0,66	2,01	2,23
	65 et plus	133	1,27 ± 0,45	1,21	0,57	0,61	2,08	2,27
Total femmes^{***}	802	1,28 ± 0,42	1,22	0,64	0,7	2,03	2,27	

Moy : moyenne, sd : écart-type, P : percentile ; ^{**} : p < 0,01 entre les 2 sexes pour le même groupe (enfants/adultes).

Tableau 45 a : Apports en AG *trans* totaux en % de l'apport d'AG totaux par sexe et classe d'âge.

Sexe	Classe d'âge	n	Moy ± sd	Médiane	2,5° P	5° P	95° P	97,5° P
Masculin	3-5	132	3,98 ± 1,36	3,82	1,98	2,25	6,78	7,83
	6-8	140	4,15 ± 1,4	3,91	2,23	2,41	6,51	7,85
	9-11	125	4,09 ± 1,5	3,84	2,12	2,39	6,62	7,6
	12-14	133	4 ± 1,71	3,71	2,18	2,23	7,48	8,62
	Total garçons^{###}	530	4,06 ± 1,5	3,82	2,16	2,28	6,65	7,85
	15-24	114	3,55 ± 0,97	3,48	1,93	2,1	5,54	6,02
	25-44	263	3,69 ± 1,1	3,57	1,91	2,18	5,64	6,27
	45-64	183	3,78 ± 1,31	3,61	1,92	2,14	5,76	6,39
	65 et plus	112	4,01 ± 1,12	4,13	1,69	2,11	5,99	6,53
Total hommes^{###}	672	3,74 ± 1,15	3,61	1,91	2,13	5,72	6,27	
Féminin	3-5	111	4,01 ± 1,14	3,83	2,36	2,54	6,09	6,5
	6-8	129	3,97 ± 1,2	3,82	2,15	2,29	5,95	6,36
	9-11	113	3,96 ± 1,21	3,81	2,19	2,42	5,75	6,69
	12-14	135	3,93 ± 1,23	3,7	2,39	2,45	6,02	7,31
	Total filles^{###}	488	3,96 ± 1,2	3,78	2,26	2,44	5,88	6,59
	15-24	140	3,79 ± 1,19	3,71	2,05	2,26	5,48	6,36
	25-44	323	3,8 ± 1,19	3,67	1,95	2,25	5,9	6,53
	45-64	206	3,65 ± 1,08	3,49	1,86	2,12	5,8	6,46
	65 et plus	133	3,93 ± 1,19	3,78	2,1	2,19	5,82	6,35
Total femmes^{###}	802	3,78 ± 1,17	3,66	1,95	2,19	5,8	6,37	

Moy : moyenne, sd : écart-type, P : percentile ; * : p < 0,05 entre les classes d'âge d'un groupe (effet âge).

Tableau 45 b : Apports en AG *trans* totaux en % de l'apport calorique lipidique par sexe et classe d'âge.

Sexe	Classe d'âge	n	Moy ± sd	Médiane	2,5° P	5° P	95° P	97,5° P
Masculin	3-5	132	3,43 ± 1,08	3,43	1,9	2,08	5,46	5,94
	6-8	140	3,52 ± 0,99	3,32	1,98	2,15	5,25	5,54
	9-11	125	3,47 ± 1,1	3,3	1,89	2	5,14	6,54
	12-14	133	3,37 ± 1,13	3,24	1,78	1,93	5	7,17
	Total garçons^{###}	530	3,45 ± 1,07	3,28	1,9	2,08	5,31	6,07
	15-24	114	3,08 ± 0,82	3,08	1,71	1,81	4,54	5,24
	25-44	263	3,14 ± 0,91	3,04	1,68	1,89	4,84	5,05
	45-64	183	3,14 ± 0,95	3	1,57	1,84	4,82	5,08
	65 et plus	112	3,33 ± 0,88	3,34	1,36	1,84	4,8	4,97
Total hommes^{###}	672	3,16 ± 0,9	3,07	1,67	1,86	4,82	5,08	
Féminin	3-5	111	3,47 ± 0,87	3,25	2,04	2,29	4,93	5,45
	6-8	129	3,41 ± 0,9	3,25	1,89	2,07	4,87	5,13
	9-11	113	3,38 ± 0,92	3,26	2,03	2,12	4,97	5,21
	12-14	135	3,38 ± 0,97	3,22	2,04	2,12	5,38	5,93
	Total filles^{###}	488	3,41 ± 0,92	3,26	2,03	2,12	4,97	5,38
	15-24	140	3,27 ± 0,9	3,22	1,92	2,04	4,56	5,03
	25-44	323	3,24 ± 0,97	3,13	1,73	1,91	4,76	5,71
	45-64	206	3,07 ± 0,84	3,04	1,6	1,82	4,63	5,01
	65 et plus	133	3,29 ± 0,96	3,19	1,81	1,85	4,77	5,09
Total femmes^{###}	802	3,21 ± 0,93	3,11	1,73	1,92	4,7	5,19	

Les corrélations entre les apports en AG *trans* totaux et ceux en AG saturés totaux ont été étudiées spécifiquement. Le tableau 46 présente les coefficients de corrélations de Spearman, par groupe et sexe, selon l'expression des apports et selon quelques critères d'ajustement. Les apports en AG *trans* totaux (en g/j) sont fortement liés aux apports en AG saturés (en g/j). En effet, après ajustement sur l'âge, le coefficient de corrélation de Spearman varie de 0,69 chez les garçons à 0,72 chez les filles et les hommes. Comme ces apports sont également fortement liés à l'apport calorique, un ajustement sur ce facteur a été réalisé : la corrélation est réduite mais demeure importante, supérieure à 0,50 (surtout chez les adultes) et entre 0,35 et 0,39. La corrélation entre les contributions à l'apport calorique des deux types d'AG montre des résultats similaires ; celle entre les contributions aux AG totaux est légèrement réduite, entre 0,30 et 0,44. L'étude des aliments contributeurs devrait confirmer ces observations.

Tableau 46 : Corrélations (Spearman) entre les apports en AG saturés et en acides gras *trans* totaux.

Corrélation	AG <i>trans</i> totaux en g/j et AGS en g/j		AG <i>trans</i> totaux et AGS en % ACT	AG <i>trans</i> totaux et AGS en % acides gras totaux	
	ajustée sur :	Âge	Âge et apport calorique	Âge	
Hommes		0,72	0,59	0,56	0,42
Femmes		0,71	0,55	0,52	0,44
Garçons		0,69	0,39	0,4	0,3
Filles		0,72	0,34	0,34	0,31

AGS : AG saturés ; ACT : apport calorique total.

2.7.2. Aliments contributeurs des apports en AG *trans* totaux

En termes d'aliments, respectivement 303 et 299 aliments contribuent chez les filles et les garçons à l'apport en AG *trans* totaux. Chez les adultes, ce nombre augmente avec 311 et 331 contributeurs respectivement chez les femmes et hommes. Les annexes 9 et 10 présentent l'ensemble des contributeurs classés par ordre décroissant, par sexe, chez les enfants et les adultes. Comme précédemment, le beurre doux est toujours le principal contributeur avec 23-24 % des apports des enfants et 28-30 % chez les adultes. On retrouve des contributeurs similaires à ceux mentionnés précédemment dans un ordre peu différent entre les enfants et les adultes : gâteaux de type quatre-quarts, brioche, camembert, lait demi-écrémé, steak haché (15 % matières grasses), camembert 40 % de matières grasses...

2.7.3. Groupes d'aliments contributeurs des apports en AG *trans* totaux

L'ensemble des beurres constitue le premier groupe contributeur d'AG *trans* totaux avec 29 % des apports des adultes et 24 % de ceux des enfants. Ensuite, les fromages apportent au total 18 % des AG *trans* totaux des adultes et 10 % de ceux des enfants ; chez ces derniers, ce groupe est légèrement devancé par celui des viennoiseries qui contribue à 10,5 % des apports. Chez les adultes, le troisième groupe contributeur est celui des viandes avec une contribution de 9 %, devant les viennoiseries (6,7 %). Avec une contribution presque identique ce groupe est le 4^e groupe contributeur chez les enfants. Le 5^e groupe d'aliments contributeurs est celui des laits chez les enfants (8 %) et celui des tartes salées (pizzas, quiches...) chez les adultes (4,5 %). Ces cinq principaux groupes contributeurs contribuent à 61,5 % des apports d'AG *trans* totaux des enfants et à plus de 67 % de ceux des adultes. Après ces 5 premiers groupes, viennent notamment ceux des biscuits, des pâtisseries, des pommes de terres avec des contributions plus élevées chez les enfants pour les deux premiers.

Tableau 47 : Groupes d'aliments contributeurs d'AG *trans* totaux et leurs contributions selon l'âge et le sexe.

	Adultes				Enfants		
	Moyenne adulte	Hommes	Femmes		Moyenne enfants	Garçons	Filles
Beurre	29,15	28,25	29,89	Beurre	24,04	23,90	24,19
Fromages	17,75	19,21	16,53	Viennoiseries	10,38	10,66	10,07
Viandes	9,18	9,70	8,73	Fromages	10,05	9,62	10,51
Viennoiseries	6,63	6,24	6,95	Viandes	8,97	8,93	9,02
Pizzas, quiches...	4,54	4,60	4,48	Lait	8,06	7,89	8,24
Pâtisseries	4,10	3,97	4,20	Biscuits	6,75	7,34	6,11
Lait	3,90	3,21	4,47	Pâtisseries	6,32	6,37	6,26
Pommes de terre (dont frites)	3,85	4,24	3,52	Pizzas, quiches...	3,98	3,99	3,97
Biscuits	3,67	3,86	3,52	Pommes de terre (dont frites)	3,45	3,72	3,15
Plats composés	2,83	2,96	2,71	Plats composés	3,19	3,12	3,26
Margarine	2,79	2,73	2,84	Ultra-frais laitier	2,99	2,82	3,18
Ultra-frais laitier	2,68	2,20	3,09	Margarine	2,23	2,19	2,28
Condiments et sauces	2,00	1,84	2,14	Condiments et sauces	1,38	1,27	1,50
Charcuterie	1,02	1,15	0,90	Chocolat	1,28	1,17	1,39
Poissons	0,91	0,85	0,95	Entremets	1,19	1,24	1,14
Entremets	0,80	0,82	0,79	Charcuterie	0,99	1,04	0,94
Huiles	0,64	0,57	0,69	Glaces	0,95	0,96	0,93
Glaces	0,61	0,54	0,66	Boissons chaudes	0,75	0,77	0,73
Pain, biscottes	0,58	0,60	0,56	Poissons	0,75	0,69	0,81
Œufs et dérivés	0,54	0,55	0,53	Sucres et dérivés	0,44	0,46	0,42
Volailles et gibiers	0,43	0,46	0,41	Œufs et dérivés	0,38	0,37	0,39
Abats	0,33	0,39	0,29	Huiles	0,38	0,38	0,37
Chocolat	0,30	0,28	0,32	Volailles et gibiers	0,32	0,32	0,32
Boissons chaudes	0,23	0,24	0,23	Pain, biscottes	0,31	0,31	0,31
Soupes	0,19	0,16	0,21	Abats	0,16	0,15	0,17
Sucres et dérivés	0,12	0,10	0,14	Autres céréales	0,11	0,10	0,13
Autres céréales	0,12	0,11	0,12	Soupes	0,11	0,10	0,11
Crustacés et mollusques	0,04	0,04	0,04	Boisson raf. sans alcool	0,04	0,05	0,03
Entrées	0,04	0,04	0,04	Crustacés et mollusques	0,02	0,03	0,02
Autres graisses	0,03	0,05	0,02	Entrées	0,02	0,02	0,03
Fruits secs et oléag.	0,01	0,02	0,01	Fruits secs et oléag.	0,01	0,01	0,01
Boisson raf. sans alcool	0,00	0,00	0,01	Autres graisses	0,01	0,01	0,01

2.7.4. Les « forts » consommateurs d'AG *trans* totaux

Seuls les adultes ont été étudiés pour cette analyse. Les forts consommateurs ont été définis comme les sujets dont les apports en AG *trans* totaux étaient supérieurs à la valeur du 95^e percentile de la distribution par sexe, c'est à dire au-delà de 4,89 g/j chez les femmes et de 5,79 g/j chez les hommes.

Au niveau des facteurs socio-démographiques, aucune différence significative n'a été mise en évidence. Cependant, on observait un apport moyen plus élevé dans l'Ouest et le Sud-Ouest de la France et chez les agriculteurs. Des effectifs faibles et une forte variabilité ne permettaient pas d'atteindre les seuils de significativité.

Par conséquent, seuls les facteurs quantitatifs en particulier nutritionnels ont été comparés. Les forts consommateurs d'AG *trans* totaux étaient un peu plus jeunes (3 et 2 ans de moins en moyenne chez les hommes et les femmes) et avaient un indice de masse corporelle rapporté similaire aux autres sujets. En termes nutritionnels, ils avaient des apports caloriques nettement plus élevés (+ 30 %). Leurs apports lipidiques étaient également plus importants, aboutissant à des contributions moyennes (avec alcool) de 42 % chez les « forts » consommateurs hommes et femmes. La contribution des AG saturés était également augmentée alors que celle des polyinsaturés était légèrement réduite. Les contributions des glucides et protides étaient dans le même temps réduites mais la différence n'était significative que chez les femmes pour les protéines. La contribution

de l'alcool à l'apport calorique était significativement réduite chez les « forts » consommateurs hommes. Les forts consommateurs d'AG *trans* totaux étaient également de forts consommateurs de CLA et de cholestérol. Les apports en certains minéraux (calcium, sodium, fer) et de certaines vitamines (vitamine B6, thiamine...) étaient également plus élevés chez les « forts » consommateurs de d'AG *trans* totaux. Après ajustement sur l'apport calorique, les apports lipidiques (cholestérol, CLA...) étaient toujours plus élevés chez les « forts » consommateurs ; concernant les vitamines et minéraux, seuls les apports en fer, en vitamine B6, en calcium chez les hommes et en thiamine chez les femmes demeuraient plus élevés chez les « forts » consommateurs d'AG *trans* totaux. Comme la corrélation entre les apports en CLA et en AG *trans* totaux était relativement forte ($r=0,8$), les forts consommateurs d'AG *trans* totaux étaient pour 38-39 % d'entre eux également des forts consommateurs de CLA.

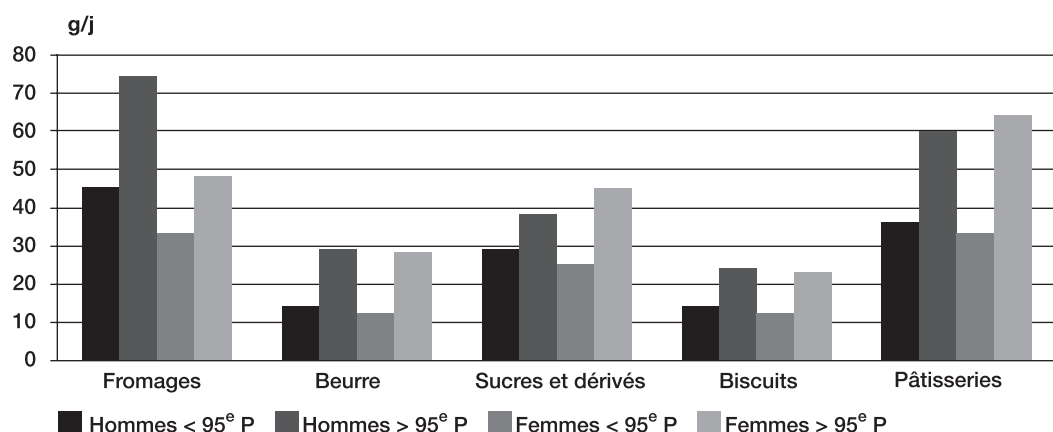
Tableau 48 : Comparaison des « forts » consommateurs d'AG *trans* totaux aux autres sujets selon le sexe.

	Hommes		Femmes	
	< 95 ^e P	>= 95 ^e P	< 95 ^e P	>= 95 ^e P
n	639	33	764	38
Acide gras <i>trans</i> totaux en g/j	3,2 ± 1,1	6,9 ± 2,1***	2,6 ± 0,8	5,9 ± 1,2***
Âge	43,8 ± 17,9	40,5 ± 17,1	42,6 ± 18,3	40,6 ± 14,7
IMC (kg/m ²)	24 ± 3	24 ± 4	23 ± 3	24 ± 4
Apport calorique total (kcal/j)	2474 ± 554	3234 ± 753***	1915 ± 395	2484 ± 524***
Lipides (% ACT)	38 ± 6	42 ± 6***	40 ± 6	43 ± 5***
Acides gras saturés (% ACT)	16 ± 3	18 ± 3***	16 ± 3	19 ± 4**
Acides gras monoinsaturés (% ACT)	13 ± 3	13 ± 2	13 ± 2	14 ± 2
Acides gras polyinsaturés (% ACT)	4 ± 1,4	3,9 ± 1,4	4,2 ± 1,5	3,9 ± 1,3
Acide gras CLA (mg/j)	0,21 ± 0,09	0,35 ± 0,13***	0,17 ± 0,07	0,31 ± 0,12***
Acides gras <i>trans</i> 18:1 (g/j)	2,2 ± 0,8	5,3 ± 1,9***	1,8 ± 0,7	4,6 ± 1,3***
Acides gras <i>trans</i> 18:2 (g/j)	0,23 ± 0,09	0,45 ± 0,18***	0,18 ± 0,07	0,37 ± 0,08***
Cholestérol (mg/j)	473 ± 154	682 ± 194***	384 ± 124	545 ± 148***
Protides (% ACT)	17 ± 3	16 ± 2	17 ± 3	16 ± 3*
Glucides (% ACT)	41 ± 8	42 ± 6	43 ± 7	42 ± 7
Glucides simples (% GT)	39 ± 11	37 ± 12	43 ± 11	45 ± 11
Alcool (% ACT)	5,6 ± 6,4	3,1 ± 3,8**	2,6 ± 4,0	2,1 ± 3,1
Sodium (mg/j)	3552 ± 1148	4735 ± 1588***	2699 ± 844	3301 ± 896***
Calcium (mg/j)	894 ± 316	1194 ± 468***	813 ± 271	943 ± 254**
Fer (mg/j)	15 ± 5	18 ± 6*	11 ± 3	13 ± 4***
Thiamine (mg/j)	1,39 ± 0,41	1,7 ± 0,46***	1,14 ± 0,34	1,25 ± 0,38*
Acide pantothénique (mg/j)	4,9 ± 1,2	6 ± 1,6***	4,1 ± 1,1	4,9 ± 1***
Vitamine B6 (mg/j)	2 ± 0,5	2,3 ± 0,6**	1,6 ± 0,4	1,7 ± 0,5*

* , ** , *** : p < 0,05, p < 0,01, p < 0,001 entre les groupes < 95^e P et >= 95^e P ; ACT : apport calorique total ; GT : Glucides totaux.

Au niveau des consommations alimentaires, les sujets ayant les apports d'AG *trans* totaux les plus élevés avaient des consommations plus importantes de beurre, de fromage, de sucreries et également de biscuits et de pâtisseries (Figure 37). Les « forts » consommateurs d'AG *trans* totaux consommaient également significativement plus de pain que les autres (40 g/j de plus chez les femmes et 70 g/j de plus chez les hommes).

Figure 36 : consommation moyenne de quelques groupes d'aliments selon l'apport d'AG *trans* totaux chez les hommes et femmes adultes.



3. Données de consommation : discussion et comparaisons aux données de la littérature

Comme cela a été mentionné à plusieurs reprises, il existe de nombreuses limites à ce travail qui réduisent l'interprétation des résultats : certaines proviennent de la table de composition (manque de valeurs, approximations...) et d'autres de l'enregistrement des consommations alimentaires. En effet, il existe des imprécisions dans la dénomination d'un aliment qui n'ont pas forcément un impact important lorsque l'on s'intéresse aux macronutriments mais qui peut le devenir lorsque l'on s'intéresse à des sous-fractions de ces macronutriments. En outre, comme ces sous-fractions de macronutriments peuvent être fortement concentrées dans un petit nombre d'aliments, une erreur dans la dénomination d'un de ces aliments ou dans la quantité consommée va entraîner une distorsion importante. Enfin, comme cela a été montré, il existe une forte variabilité de la consommation des CLA et des AG *trans*, ce qui rend leurs estimations au niveau individuel assez peu fiables. Cela n'a que peu d'impact sur les valeurs moyennes mais a un effet plus important sur les valeurs extrêmes et le classement des sujets.

3.1. Apports en CLA

Les apports en CLA observés dans cette étude sont difficiles à comparer avec d'autres estimations, qui sont relativement rares. En France, aucune autre étude n'a fourni d'estimation des apports en CLA. Une étude allemande (Fritsche & Steinhart, 1998) rapporte des valeurs beaucoup plus élevées voisines de 430 mg/j chez les hommes et de 350 mg/j chez les femmes, soit des valeurs supérieures à celles des 95^e percentiles de nos distributions. Le tableau 49 présente les principaux résultats de cette étude.

Tableau 49: Estimation de la consommation de CLA dans la population allemande (d'après Fritsche *et al.*, 1998)

Aliments	Femmes			Hommes		
	g MG/jour	g CLA/100 g de MG	g CLA/jour	g MG/jour	g CLA/100 g de MG	g CLA/jour
Lait et produits laitiers	28,2	0,85	0,24	33,1	0,85	0,28
Viandes et assimilés	27,0	0,28	0,08	40,1	0,28	0,11
Gâteaux et assimilés	9,1	0,32	0,03	10,2	0,32	0,03
Chocolat	3,3	0,14	<0,01	3,7	0,14	0,01
Margarines	7,5	< 0,01	<0,01	9,8	< 0,01	< 0,01
Huiles à friture et aliments frits	2,2	< 0,01	<0,01	2,7	< 0,01	< 0,01
Poisson	1,1	0,05	<0,01	1,4	0,05	< 0,01
Autres aliments	15,1	< 0,01	<0,01	16,0	< 0,01	< 0,01
Total	93,5		0,35	117		0,43

D'autres études confirment ces chiffres : 0,31 g de CLA/j chez les hommes allemands (Jahreis *et al.* 1997), 0,5 à 1,5 g de CLA/j pour la population australienne (Parodi *et al.* 1994). Ces différences par rapport à nos estimations proviennent peut-être d'habitudes alimentaires différentes en particulier par rapport à certains groupes qui contribuent fortement aux apports en CLA comme les yaourts et les produits laitiers, davantage consommés en Allemagne par exemple. En revanche, d'autres travaux, portant sur des groupes de volontaires ou sur des cohortes spécifiques, ont observé des apports plus proches de ceux estimés à partir de l'étude INCA. Dans la cohorte néerlandaise de femmes ménopausées sur l'alimentation et le cancer (Voorrips *et al.*, 2002), les apports moyens étaient de 0,2 g/j. Dans une étude de validation de l'estimation des apports en CLA selon trois méthodes (enregistrement de 3 jours, questionnaire de fréquence et analyse chimique de repas dupliqués comme méthode de référence), Ritzenthaler *et al.* (2001) ont observé des apports moyens respectivement de 176 mg/j et 104 mg/j chez 46 hommes et 47 femmes à l'aide d'un enregistrement de 3 jours ; à l'aide d'une méthode par questionnaire de fréquence, ces apports moyens étaient respectivement de 197 mg/j et 91 mg/j ; la méthode de référence (repas dupliqués) estimait les apports moyens à 212 mg/j chez les hommes et 151 mg/j chez les femmes. Les moyennes observées dans notre étude pour la tranche 25-44 ans sont relativement proches de la méthode de référence : 221 mg/j chez les hommes et 188 mg/j chez les femmes. Dans une étude sur des hommes suédois âgés (Jiang *et al.*, 1999), l'apport moyen estimé à l'aide d'un enregistrement de 7 jours était de 160 mg/j, à rapporter à la moyenne de 203 mg/j observée chez les hommes de plus de 65 ans dans notre étude.

En termes de contributeurs des apports en CLA, la cohorte néerlandaise de femmes ménopausées a montré que le beurre était le principal contributeur (29 %), suivi de la viande (sous toutes ses formes) (23 %), du fromage (21 %) et du lait et des produits laitiers (19 %). Dans l'étude de Ritzenthaler *et al.* (2001), la contribution des aliments à base de lait (y compris le beurre) était de 60 % chez les hommes et de 68 % chez les femmes. Aucune de ces deux études n'a montré la contribution des viennoiseries et biscuits mais elles reposaient sur un nombre moindre de données de composition en CLA, contrairement à notre étude qui tient compte de ce type d'aliment.

3.2. Apports en AG *trans* (hors CLA)

Les apports en AG *trans* totaux observés dans cette étude sont difficiles à comparer avec d'autres estimations, pour plusieurs raisons : un nombre restreint d'études et l'évolution des teneurs en AG *trans*, en particulier des margarines, au cours des dernières années. Les données françaises de l'étude TRANSFAIR (Hulshof *et al.*, 1997) réalisée à partir de mesures de teneurs de produits en 1995-96 et de données de consommations nationales recueillies dans la première moitié des années 1990 peuvent servir de comparaison mais depuis, les teneurs de certains produits ont beaucoup changé et la table de composition comportait des estimations pour une centaine d'aliments seulement contre 300 dans notre travail.

3.2.1. Les estimations des apports en France

En plus de l'étude TRANSFAIR (internationale), des évaluations sur des populations spécifiques, généralement plus restreintes ont été effectuées. On peut citer : l'étude MEDHEA, l'étude RIPE, l'étude POLANUT, l'étude E3N-EPIC et l'étude AQUITAINE. Enfin, une estimation basée sur les données de vente a également été effectuée.

- MEDHEA (1994-1996). Étude sur 959 sujets (472 hommes et 487 femmes) avec mesure de la consommation à partir d'entretien avec questionnaires de fréquences de consommation quantitative (cahier de photos) et la table de composition établie à partir de données bibliographiques par l'INSERM pour SU.VI.MAX.

Tableau 50 : Apports en AG *trans* - Étude MEDHEA (données non publiées)

Apports alimentaires d'AG <i>trans</i> totaux en g/jour			
	Médiane	Minimum	Maximum
Échantillon total (959)	2,15	0,25	9,38
Hommes (472)	2,49	0,43	9,38
Femmes (487)	1,89	0,25	8,40
20-34 ans (198)	2,62	0,76	9,38
Hommes (87)	3,38	0,77	9,38
Femmes (111)	2,19	0,76	8,40
35-54 ans (365)	2,25	0,25	9,38
Hommes (177)	2,51	0,73	9,39
Femmes (188)	1,96	0,25	6,04
55-76 ans (396)	1,86	0,43	7,13
Hommes (208)	2,15	0,43	7,13
Femmes (188)	1,70	0,48	6,85

- RIPE (1998-2001). Étude cas-témoins sur la recherche de l'interaction entre polymorphisme génétique et environnement, 286 cas de cancer du sein et 286 témoins choisis dans MEDHEA. L'approche pour la mesure de l'exposition et l'origine des données de composition sont les mêmes que pour MEDHEA.

Tableau 51 : Apports en AG *trans* - Étude RIPE (données non publiées).

Apports alimentaires d'AG <i>trans</i> totaux en g/jour			
	Médiane	Minimum	Maximum
Cas (286)	1,19	0,29	7,45
Témoins (286)	1,88	0,25	6,86

- POLANUT (2001-2002), étude de cohorte de 355 hommes et de 477 femmes de plus de 70 ans à partir d'un questionnaire nutritionnel et la base de données de composition de MEDHEA.

Tableau 52 : Apports en AG *trans* - Étude POLANUT (données non publiées).

Apports alimentaires d'AG <i>trans</i> totaux en g/jour			
	Médiane	Minimum	Maximum
Échantillon total (832)	1,52	0,27	6,56
Hommes 70-74 ans (134)	1,66	0,58	5,84
Hommes > 75 ans (221)	1,80	0,36	6,56
Femmes 70-74 ans (151)	1,39	0,56	4,56
Femmes > 75 ans (326)	1,42	0,27	4,48

- E3N-EPIC (Thibault *et al.*, 2001), étude de cohorte de 74 524 femmes.

Tableau 53 : Apports en AG *trans* - Étude E3N.

Apports alimentaires d'AG <i>trans</i> totaux en g/jour			
	Médiane	Minimum	Maximum
Femmes (74 524)	1,39	0,00	17,62

- Wolff *et al.* (2000), étude d'observation à partir de données de composition et de vente.

Tableau 54 : Apports en AG *trans* - d'après Wolff *et al.* (2000).

Apports alimentaires d'AG <i>trans</i> en g/jour			
	18:1 <i>trans</i> totaux	18:1 <i>trans</i> ruminant	18:1 <i>trans</i> HVPH
Population française	2,5	1,5	1

- Étude AQUITAINE (Combe *et al.* 1999), étude de cohorte sur des femmes parturientes (90) et non-parturientes (97).

Les enquêtes alimentaires ont permis de conduire à la consommation d'AG-*trans* dont 51 % proviennent des matières grasses d'origine laitières, 13 % des autres matières grasses animales et 36 % des HVPH.

Tableau 55 : Apports en AG *trans* - d'après Combe *et al.* (1999).

Apports alimentaires d'AG <i>trans</i> totaux en g/jour			
	Moyenne	Minimum	Maximum
Femmes parturientes (55)	3,05	0,92	6,50
Femmes non parturientes (60)	2,45	0,23	6,65

3.2.2. Les estimations des apports à l'étranger

Même si la composition des aliments semble s'uniformiser dans le monde, si les profils en AG, et en particulier des AG *trans*, semblent comparables pour un même type d'aliment d'un pays à l'autre, il existe de fortes disparités de consommation des populations en AG *trans* en fonction des habitudes alimentaires des populations.

Les tableaux 56 et 57 rapportent l'ensemble des données de la littérature sur la consommation des AG *trans* totaux dans les autres principaux pays industrialisés.

Tableau 56 : Synthèse des données de consommation des AG-*trans* dans les principaux pays industrialisés.

Pays	Étude	Année (s)	Méthode de recueil	Consommation AG <i>trans</i> totaux	Références
États-Unis	Transversale	1980-1982 à 1995-1997	Rappel de 24 heures	8,3 à 6,2 g/j 3 % à 2,2 % AET	Harnack <i>et al.</i> , 2003
États-Unis	24 hommes 27 femmes	1996	Questionnaire de fréquence	5 g/j 2,24 % AET	Lemaitre <i>et al.</i> , 1998
États-Unis	Enquête représentative de la population	1989-1991	Rappel de 24 heures	2,6 % AET 7,4 % des lipides totaux 6,6 g/j d'AG- <i>trans</i> hommes 4,6 g/j d'AG- <i>trans</i> femmes	Allison <i>et al.</i> , 1999
Canada	Femmes parturientes canadiennes (60)	2000-2002	Questionnaire	3,8 g/j d'AG- <i>trans</i>	(Elias <i>et al.</i> , 2002)
Canada	Regroupement de données Population canadienne	1995	Composition et vente	8,4 g/j d'AG- <i>trans</i> 1 g/j de d'AG <i>trans</i> par la margarine ménagère	(Ratnayake <i>et al.</i> , 1998)
Espagne	100 personnes de la région du Leon	2001	Rappel de 24 heures	3,1 g/j d'AG- <i>trans</i> hommes 2,21 g/j d'AG- <i>trans</i> femmes	Capita and Alonso-Calleja,
Espagne	Regroupement de données	1992	Composition et données de consommation	2,4 g/j d'AG- <i>trans</i>	Boatella <i>et al.</i> , 1993
Pays-bas	Prospective 667 hommes Zutphen Elderly Study	1985 à 1995	Enquête alimentaire	4,3 % à 1,9 % AET	Oomen <i>et al.</i> , 2001
Allemagne	Enquête nationale	1996	Composition et données de consommation	1,9 g/j d'AG <i>trans</i> femmes 2,3 g/j d'AG <i>trans</i> hommes	Fritsche <i>et al.</i> , 1997
Danemark	Regroupement de données	1997	Composition et vente	1,1 g/j de 18:1 <i>trans</i> apportés par les margarines	Ovesen <i>et al.</i> , 1998
Europe (Transfair)	Transversale	1998	Données de consommation disponibles dans chaque pays	2,40 g/j d'AG- <i>trans</i> hommes 1,98 g/j d'AG- <i>trans</i> femmes	Van de Vijver <i>et al.</i> , 2000

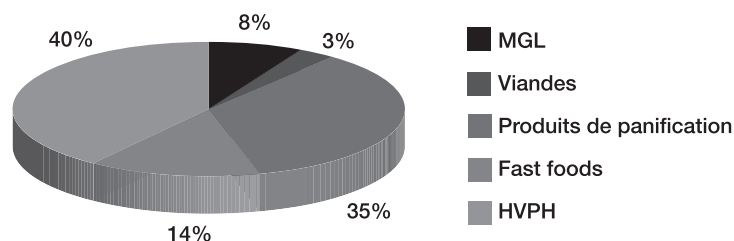
L'étude TRANSFAIR donne avec une méthodologie commune des données comparables pour les principaux pays européens.

Tableau 57 : Synthèse des données de consommation des AG-trans en g/jour de l'étude TRANSFAIR selon KFAM Hulshof *et al.* (1999).

Pays	Hommes	Femmes
Islande	6,7	4,1
Pays-bas	4,8	3,8
Norvège	4,8	3,2
Belgique	4,4	3,6
Suède	3,0	2,3
Danemark	2,9	2,3
Royaume-Uni	2,8	
France	2,7	2,1
Allemagne	2,4	1,9
Finlande	2,3	1,9
Espagne	2,1	
Italie	1,6	
Portugal	1,6	
Grèce	1,2	1,7

Des données canadiennes (Elias *et al.*, 2002) montrent que la consommation des AG-trans est en grande partie due à la consommation des huiles végétales partiellement hydrogénées à travers l'ensemble des denrées alimentaires qui utilisent ces huiles en tant qu'ingrédients.

Figure 37 : Origine des AG trans (%) dans la consommation des femmes parturientes canadiennes (d'après Elias SL. 2002).



3.2.3. Comparaison aux apports de notre étude

Par rapport à l'étude TRANSFAIR, les apports moyens en AG trans totaux des adultes, estimés à partir de l'étude INCA, sont supérieurs de 0,7 g/j (environ 30 %) aussi bien chez les femmes que chez les hommes. Par rapport à l'apport calorique, la contribution des AG trans totaux est très légèrement supérieure dans notre étude : 1,2 % contre 1,1 % chez les hommes et 1,3 % contre 1,2 % chez les femmes. En revanche, au niveau des types d'AG trans, les valeurs estimées dans notre étude sont nettement inférieures pour les AG 18:2 trans (entre 100 et 150 mg/j de moins) et nettement plus élevées pour les AG 18:1 trans (+ 0,8 g/j). Ces différences peuvent s'expliquer par l'évolution des teneurs des aliments.

En termes d'aliments contributeurs des apports d'AG trans totaux, l'étude TRANSFAIR a observé que le beurre était le principal contributeur (35 %), suivi des fromages (17 %), des biscuits et gâteaux (15 %) et de la viande (11 %). Dans notre étude, le beurre est également le premier contributeur mais avec une proportion moindre, environ 29 %. Les fromages sont également le second contributeur avec 18 % des apports et la viande le 4^e avec 9,2 % des apports. Si on ajoute les contributions des biscuits, pâtisseries et viennoiseries, on obtient 14 % des apports, ce qui est très proche de la valeur estimée dans TRANSFAIR. La moindre contribution des beurres peut s'expliquer soit par une baisse de la consommation de ce groupe d'aliments soit par le fait que dans notre étude nous avons davantage de données et donc un nombre d'aliments contributeurs plus important.

Par rapport aux autres études, les estimations effectuées à l'aide des données de l'étude INCA sont généralement plus élevées que celles obtenues dans les autres travaux. Les différences entre les estimations varient d'environ

0,2 g/j avec l'étude Aquitaine à 1,2 g/j avec l'étude E3N-EPIC. L'étude de Wolff *et al.* (2000) basée sur les ventes fournit une estimation des apports en 18:1 *trans* supérieure de 0,5 g/j par rapport à celle que nous avons obtenue. Cette différence est cependant logique et correspond à un niveau observé pour d'autres nutriments dont l'ingestion est estimée entre 1 et 1,5 g/j par les méthodes d'enquête individuelles.

Au niveau international, les estimations obtenues demeurent bien en deçà de celles observées aux États-Unis ou au Canada ; dans ces pays, les estimations montrent des apports compris entre 4 et 8 g/j selon les enquêtes et des contributions à l'apport calorique entre 2 et 5 % (contre 1,2 à 1,4 % observés dans INCA). Par rapport aux autres pays européens, en dehors des résultats de l'étude TRANSFAIR, les estimations obtenues à partir de l'étude INCA se situent dans la moyenne européenne : plus faibles qu'au Pays-Bas, plus élevées qu'en Allemagne mais voisines de celles de l'Espagne.

4. Marqueurs de consommation

Quelques études ont été menées permettant d'observer s'il existe un lien entre les réserves de lipides chez l'humain et son régime alimentaire en AG.

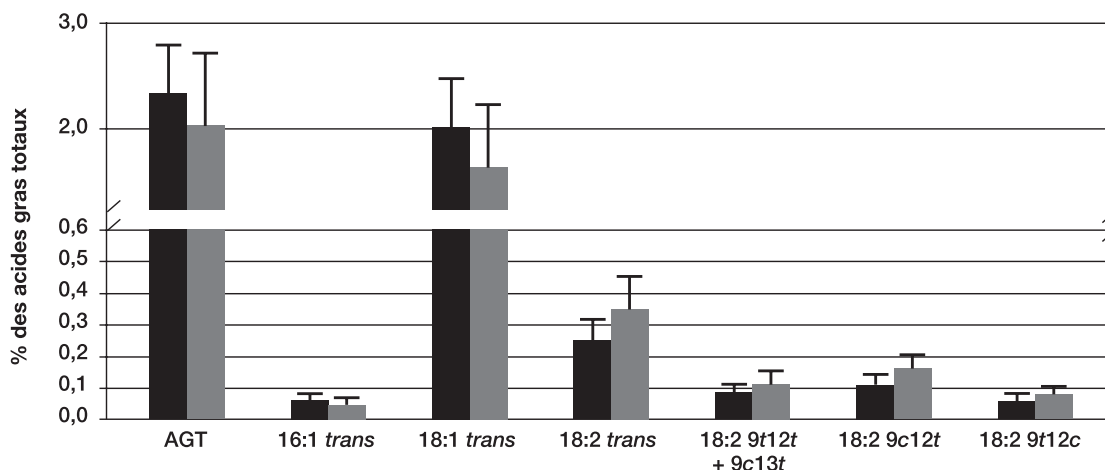
- Chajes *et al.* (2003) ont effectué un dosage du CLA dans le tissu adipeux mammaire, les compositions observés sont proches de celles attendues compte tenu des prises alimentaires dans la population française. Les mesures de CLA dans le tissu adipeux mammaires ont données des valeur de 0,2 % à 0,8 % des AG totaux (Médiane 0,44 %).
- Étude Aquitaine, Il s'agit d'une étude menée dans la région aquitaine sur des femmes parturientes (90) et non-parturientes (97). Les teneurs en AG *trans* dans le tissu adipeux et le sang ont été mesurées et des enquêtes alimentaires ont été réalisées.

Tableau 58 : Composition en Ag *trans* (% des AG totaux) des principaux aliments de l'étude aquitaine (d'après Combe N *et al.*, 1999).

	Σ AG <i>trans</i>	18:1 <i>trans</i>	18:2 <i>trans</i>	18:3 <i>trans</i>	% de MG
Margarines/Pâtes allégées (N=11)	< 1	0,1-0,8	0,1-0,5	0-0,4	41-60
Margarines (premier prix) (n=3)	13-19	12-18	0,1-0,9	0,1-0,4	60-80
Biscuits (n=17)	0,5-24	0,3-23,7	Tr-2,1	0-2,8	20-22
Gâteaux (n=3)	0,3-19,4	0,3-18,8	Tr-0,4	0-0,2	15-20
Viennoiseries (n=4)	3,2-41,2	3,0-38,9	Tr-1,9	0-0,4	14-25

Les teneurs en AG *trans* dans le tissu adipeux sont en moyenne de 2,4 % des AG totaux et majoritairement du 18:1 *trans* (85 %) ce qui correspond aux données de consommation fournies par les enquêtes alimentaires (environ 2,5 g/personne/jour).

Figure 38 : Composition en AG *trans* (% des AG totaux) du tissu adipeux des sujets de l'étude aquitaine (en bleu) et méditerranéenne (en jaune) (d'après Combe N *et al.*, 1999)



5. Conclusions et Recommandations

Conclusions

Cette étude française permet de faire un point sur les données moyennes récentes de consommation en AG *trans* et en dérivés conjugués de l'acide linoléique.

On constate que ces données récentes sont supérieures à celles estimées dans des études antérieures. Cela peut s'expliquer principalement par le fait que les données de composition et de consommation sont de plus en plus nombreuses notamment pour des produits alimentaires de faibles consommations qui n'étaient pas pris en compte par le passé. Il ne serait pas justifié de dire que la consommation en AG *trans* augmente, ceci d'autant plus que les teneurs en AG *trans* dans les denrées alimentaires sont soit constantes, soit en diminution, mais plutôt que la connaissance de nos consommations est plus large. Il est probable que compte tenu des avancées analytiques et de la mise en place de campagne de recueil de données de composition, les estimations futures de nos apports seront de nouveau plus élevées si aucune modification d'envergure ne touche la composition de notre alimentation et nos habitudes alimentaires.

Tableau 59 : Synthèse des consommations en g/j des différents AG *trans* et CLAs.

		AG <i>trans</i> totaux	AG <i>trans</i> 18:1	AG <i>trans</i> 18:2	CLA
		Moy ± sd	Moy ± sd	Moy ± sd	Moy ± sd
Hommes	Enfants	3,00 ± 1,51	2,13 ± 1,27	0,20 ± 0,10	0,18 ± 0,10
	Adultes	3,36 ± 1,41	2,35 ± 1,14	0,24 ± 0,11	0,21 ± 0,10
Femmes	Enfants	2,68 ± 1,18	1,88 ± 0,98	0,18 ± 0,08	0,17 ± 0,07
	Adultes	2,76 ± 1,13	1,95 ± 0,94	0,19 ± 0,08	0,18 ± 0,08

Cette étude permet également d'estimer les niveaux de fortes consommations (supérieure au 97,5^{ep}) de l'ensemble de la population.

Tableau 60 : Synthèse des maximum de consommation en g/j des différents AG *trans* et CLA.

		AG <i>trans</i> totaux	AG <i>trans</i> 18:1	AG <i>trans</i> 18:2	CLA
		Max	Max	Max	Max
Hommes	Enfants	9,74	8,16	0,51	0,58
	Adultes	6,96	5,16	0,52	0,47
Femmes	Enfants	6,43	5,29	0,41	0,40
	Adultes	5,68	4,25	0,42	0,40

Bien qu'ayant des apports bruts moyens plus faibles, les enfants (filles et garçons) présentent les consommations d'AG *trans* maximales les plus élevées ; cela peut s'expliquer en partie par les types d'aliments préférés par cette minorité de jeunes consommateurs (biscuits, viennoiseries, produits laitiers) et sur la moindre diversité de leur alimentation.

En ce qui concerne les aliments contributeurs, notre étude permet de dégager que les produits d'origine laitière contribuent respectivement chez l'adulte et l'enfant à 74,16 % et 65,84 % des apports en CLAs, 57,30 % et 47,72 % des apports en AG *trans* C18:1, 53,78 % et 39,21 % des apports en AG *trans* C18:2, 53,48 % et 45,14 % des apports en AG *trans* totaux.

Chez les enfants, les produits laitiers contribuent majoritairement à l'apport en CLA et en AG *trans* totaux mais cette proportion est moins importante que chez l'adulte, elle est contre-balançée par une contribution plus importante des produits de panification, viennoiseries et biscuits dans ces apports, particulièrement chez les garçons.

Figure 39 : Contribution des différents types d'aliments dans l'apport en AG *trans* totaux chez l'homme, la femme, le garçon et la fille.

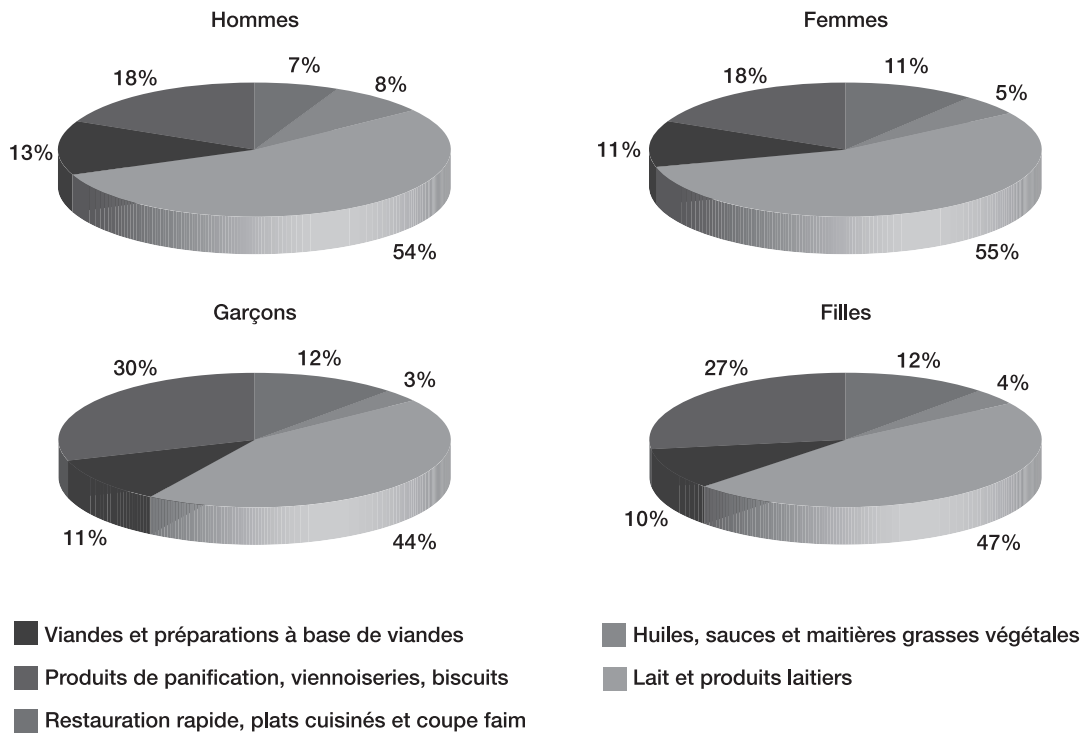
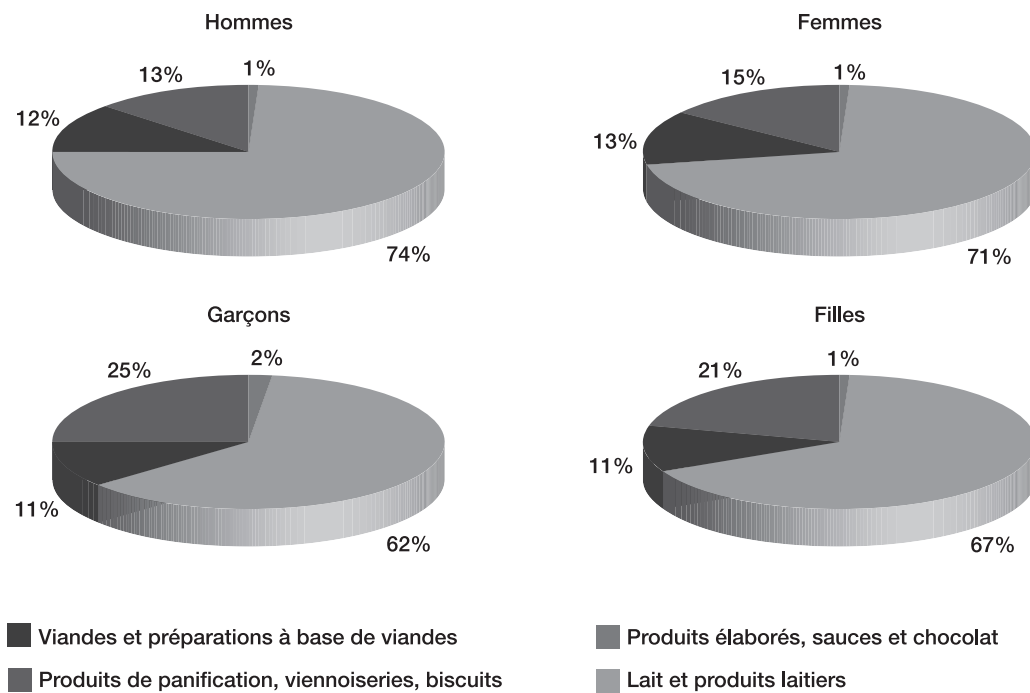


Figure 40 : Contribution des différents types d'aliments dans l'apport en CLA chez l'homme, la femme, le garçon et la fille.



Il reste un vaste champ d'exploration que constitue la gamme des produits élaborés (plats cuisinés prêt à l'emploi, préparations culinaires, etc.), la diversité des formulations et des matières premières utilisées ne nous permet pas de cerner avec précision aussi bien la composition que la consommation exacte de ces produits. Il est certain que les projets qui visent à améliorer les connaissances de la composition des denrées alimentaires devront s'intéresser à ce vaste domaine aussi bien à des fins de restauration hors foyer que de repas domestique.

Recommandations

Les travaux menés dans le cadre de ce groupe de travail ont donc permis de réactualiser les données de composition des aliments en acides gras *trans* totaux et en CLAs. Ces données de composition couplées à des données de consommation françaises récentes (enquête INCA) ont permis d'estimer les apports journaliers en acides gras *trans* totaux et en CLAs de la population française.

1. Acides gras *trans* totaux

- Les apports moyens en acides gras *trans* totaux sont pour le sexe masculin de 3,00 g/jour chez l'enfant et 3,36 g/jour chez l'adulte, pour le sexe féminin de 2,68 g/jour chez l'enfant et 2,76 g/jour chez l'adulte.
- Pour les forts consommateurs de matières grasses, les apports sont de 2 à 3 fois supérieurs, pour le sexe masculin de 9,74 g/jour chez l'enfant et 6,96 g/jour chez l'adulte, pour le sexe féminin, de 6,43 g/jour chez l'enfant et 5,68 g/jour chez l'adulte.
- En ce qui concerne les aliments contributeurs, notre étude permet de dégager que les produits d'origine laitière contribuent respectivement chez l'adulte et l'enfant à 53 % et 45 % des apports en acides gras *trans* totaux.
- Les produits de panification industrielle, viennoiserie et biscuits sont les aliments contributeurs qui arrivent en second avec une contribution moyenne de 18 % et 29 % des apports en acides gras *trans* totaux respectivement chez l'adulte et l'enfant.
- Si une limite de sécurité pour les apports en acides gras *trans* totaux est fixée à 2 % de l'AET, il est nécessaire qu'une certaine part de la population française (les garçons de 12-14 ans) limite la consommation de certains aliments contributeurs.
- Au regard des corrélations entre les consommations en AG saturés et AG *trans* totaux, le respect de la recommandation nutritionnelle actuelle de baisser la consommation en acides gras saturés de 16 % à 10 % des acides gras totaux est un moyen suffisant pour réduire les apports en acides gras *trans* totaux.
- Une réduction de la consommation de certains aliments contributeurs de faible intérêt nutritionnel peut permettre des réductions significatives de l'apport en acides gras *trans* totaux. En effet, une diminution de l'ordre de 30 % de la consommation en biscuits, viennoiseries, pâtisserie peut entraîner une baisse de l'apport en acides gras *trans* totaux comprise entre 0,15 et 0,3 g/jour.
- Le remplacement de la consommation de steak haché 15 % (première viande consommée chez les enfants) par du steak haché 5 % permet de réduire les apports en acides gras *trans* totaux de 0,15 g/j.

2. CLA

- Les apports moyens en CLA sont pour le sexe masculin de 0,18 g/j chez l'enfant et 0,21 g/j chez l'adulte, pour le sexe féminin de 0,17 g/j chez l'enfant et 0,18 g/j chez l'adulte.
- Pour les forts consommateurs de matières grasses, les apports sont de 2 à 3 fois supérieurs, pour le sexe masculin de 0,58 g/j chez l'enfant et 0,47 g/j chez l'adulte, pour le sexe féminin de 0,40 g/jour chez l'enfant et 0,40 g/jour chez l'adulte.
- En ce qui concerne les aliments contributeurs, notre étude permet de dégager que les produits d'origine laitière contribuent respectivement chez l'adulte et l'enfant à 73 % et 65 % des apports en CLA.
- Les aliments contributeurs de CLA sont principalement des aliments contenant de la matière grasse d'origine animale, plus particulièrement issus de ruminants et majoritairement de produits laitiers. Ces CLA sont donc apportés principalement (autour de 90 %) sous la forme d'acide ruménique (CLA 9c,11t).
- Au regard des corrélations entre les consommations en AG saturés et CLA, le respect de la recommandation nutritionnelle de baisser la consommation en acides gras saturés de 16 % à 10 % des acides gras totaux contribuera également à réduire les apports en CLA.

III. Métabolisme et toxicité des AG *trans*

JM. Chardigny, P. Clouet, N. Combe, A. Quignard-Boulangé, B. Schmitt, M. Lagarde et CL Léger

Les acides gras suivent différentes voies métaboliques, principalement la β -oxydation, la bioconversion et l'acylation. Les acides gras *trans* et les isomères conjugués suivent ces mêmes voies. Ce chapitre traitera successivement ces différents aspects, ainsi que l'interférence entre le métabolisme des acides gras *trans* et celui des autres acides gras. Les aspects de toxicités non abordés dans les autres chapitres, en particulier les chapitres IV à VI seront également revus. Une partie spécifique traitera également des relations entre ces AG et le développement périnatal.

1. Études réalisées chez l'homme

1.1. Incorporation des AG *trans* et des CLA dans les tissus

1.1.1. Les AG *trans* monoinsaturés

La présence d'isomères *trans* 18:1 a été notamment rapportée par Ohlrogge *et al* (Ohlrogge, Gulley *et al.* 1982). Les analyses, réalisée sur des tissus obtenus après autopsie de 9 sujets ont montré la présence d'isomères *trans* 18:1 dans différentes classes lipidiques du foie, du cœur, des globules rouges et du plasma. Des teneurs moyennes de 0,7-0,8 % des AG totaux ont été rapportée pour les 18:1 *trans* totaux dans des échantillons de cœur humain (Rocquelin, Guenot *et al.* 1985). Ces valeurs sont retrouvées également dans les phospholipides à choline et à éthanolamine cardiaque (Rocquelin, Guenot *et al.* 1989). Dans les phospholipides à choline, l'acide élaïdique est majoritaire.

Des données plus récentes sont disponibles en relation avec les pathologies traitées dans les chapitres suivants (étude EURAMIC...)

1.1.2. Les AG *trans* polyinsaturés

1.1.2.1. Études épidémiologiques

Les isomères *trans* du 18:3 ont été décrits dans le sérum humain (Wolff 1995) et dans le lait maternel (Chardigny, Wolff *et al.* 1995 ; Chen, Pelletier *et al.* 1995). Par ailleurs, la présence d'isomères *trans* de l'acide eicosapentaénoïque (EPA) a également été mentionnée dans les plaquettes sanguines (Chardigny, Sébedio *et al.* 1993), puis confirmée dans les valeurs avant supplémentation de l'étude TransLine décrite ci-après.

1.1.2.2 Étude d'intervention nutritionnelle

L'étude Transline est la seule étude d'intervention nutritionnelle publiée. Il convient de mentionner que chez des volontaires avant supplémentation, des isomères 18:3 *trans* sont présents dans le plasma.

Après 6 semaines de supplémentation en isomères *trans* du 18:3 à hauteur de 0,6 % de l'énergie, l'incorporation atteint respectivement +0,37, +0,14 et +0,26 % des AG totaux dans les triglycérides, les phospholipides et les esters de cholestérol plasmatiques (Sebedio, Vermunt *et al.* 2000).

1.1.3. Les CLA

1.1.3.1. Études d'observation nutritionnelle

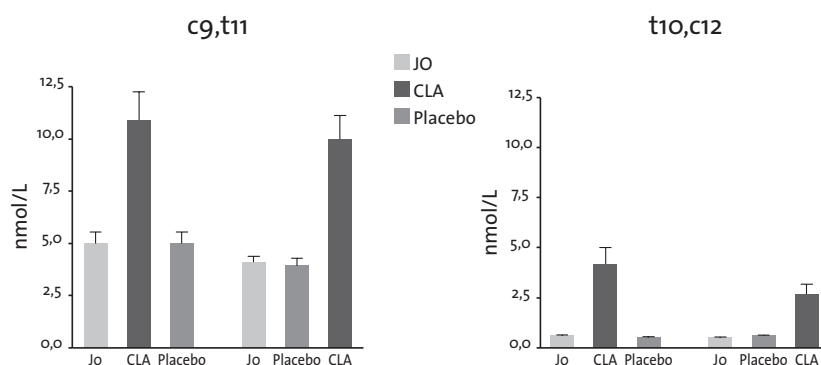
Dans une étude réalisée chez des volontaires de la région de Tours, on trouve une incorporation d'acide ruménique égale à 0,40 % des AG totaux du tissu adipeux abdominal (Couet, Gregoire *et al.* 2004). Cette incorporation est voisine de ce qui est trouvé dans le tissu adipeux mammaire de patientes de la même région. Dans le plasma avant supplémentation, on trouve généralement environ 0,2-0,4 % des AG totaux sous forme d'acide ruménique. Des valeurs similaires sont trouvées dans le tissu adipeux mammaire (voir chapitre IV).

1.1.3.2. Études d'intervention nutritionnelle

Benito rapporte plus de 1 % de CLA totaux dans le plasma de volontaires après 63 jours de supplémentation à hauteur de 3,9 g/j, par comparaison à moins de 0,5 % avant supplémentation (Benito, Nelson *et al.* 2001).

L'administration de 1,47 g/j du mélange d'isomères pendant 45 jours augmente le taux de chaque isomère dans les triglycérides (Figure 40) et les phospholipides circulants.

Figure 40 : Taux de CLA (2 isomères) dans les triglycérides circulants après une supplémentation de 45 jours avec 1,47 g de mélange par jour versus placebo.



Cet enrichissement est réversible puisqu'il disparaît après 15 jours suivant l'arrêt du traitement (Petridou, Mougios *et al.* 2003).

1.2. Bioconversion

Il a été estimé que, en moyenne, 19 % de l'acide vaccénique ingéré est converti en acide ruménique chez l'Homme (Turpeinen, Mutanen *et al.* 2002).

Concernant l'impact des CLA sur la conversion d'autres AG, peu d'études se sont intéressées à cette question. On peut toutefois mentionner l'étude de Thijssen *et al.* (Thijssen, Sebedio *et al.* 2004) qui n'a pas mis en évidence de modification de l'expression des désaturases dans les cellules blanches de volontaires ayant consommé l'un ou l'autre des isomères de CLA, bien que des modifications des profils en AG plasmatiques et des index de désaturation aient été observées.

1.3. Métabolisme oxydatif

1.3.1. Les AG *trans* monoinsaturés

Grâce au marquage au ¹³C, Delany *et al.* (DeLany, Windhauser *et al.* 2000) ont montré, chez le volontaire sain, que les oxydations métaboliques de l'acide élaïdique (18:1 *9t*) et de l'acide oléique (18:1 *9c*) présentent des cinétiques identiques. En revanche, on peut regretter l'absence de données disponibles pour l'acide vaccénique et le 18:1 *10t*.

1.3.2. Les AG *trans* polyinsaturés

Chez le volontaire sain, il a été montré que l'isomère 18:3 *9cis,12cis,15trans* et l'acide linoléique présentent une cinétique d'oxydation identique. En revanche, l'isomère 18:2 *12trans* est plus β -oxydé que son homologue *cis*, l'acide linoléique (Bretillon, Chardigny *et al.* 2001).

1.3.3. Les CLA

Une étude réalisée chez l'homme en surcharge surpoids (IMC compris entre 25 et 30) suggère que l'acide ruménique est plus oxydé que l'isomère 10*trans,12cis* (Malpuech-Brugere, Mensink *et al.* submitted).

1.4. AG *trans* chez le fœtus et développement fœtal

1.4.1. AG *trans* non conjugués

Ce sujet a fait l'objet de plusieurs études (Koletzko, Thiel *et al.* 1992; Carlson, Clandinin *et al.* 1997) en raison des apports maternels en AG *trans*, tant pendant la vie fœtale (apport alimentaire de la mère) que pendant la période périnatale (présence d'AG *trans* dans le lait maternel et les laits de substitution) (voir chapitre II).

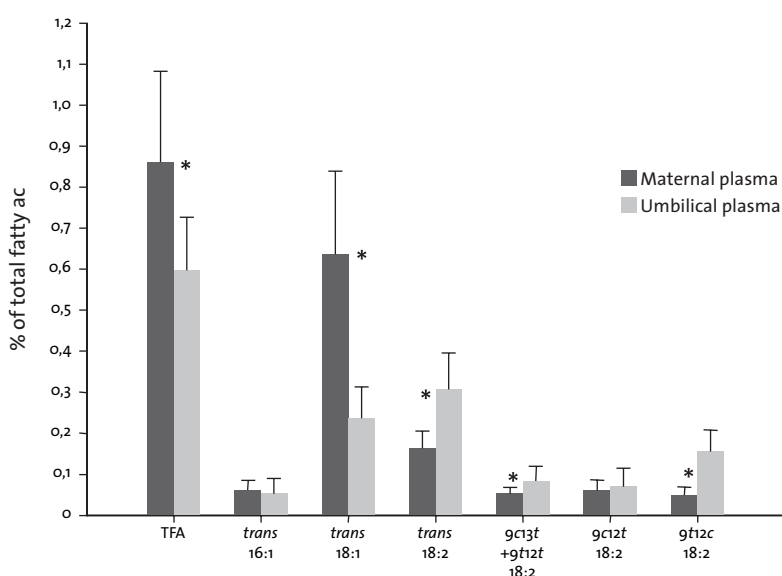
Il a notamment été établi une relation inverse entre le poids à la naissance et les teneurs en acide élaïdique dans les esters de cholestérol de l'enfant prématuré (Koletzko 1992). Par ailleurs, la question de l'interférence entre AG *trans* et biosynthèse des AG essentiels s'est posée pour les nouveau-nés. En effet, les teneurs plasmatiques (à l'âge de 4 jours) en AGT ont été inversement corrélées aux teneurs en AGPI à longue chaînes, sans corrélation avec les précurseurs linoléiques et α -linoléiques.

Il semble donc qu'à travers l'ingestion d'AG *trans* chez les mères, le développement intrautérin du fœtus puisse être affecté.

Une étude a été menée en région Aquitaine (Combe, Judde *et al.* 1998) ((Boué, Combe *et al.* 2001) (Billeaud, Combe *et al.* 2000) chez une population de femmes enceintes françaises (n=90) dont la consommation moyenne d'AG *trans* est de 3g/j. L'objectif de cette étude était d'apprécier l'éventuel impact de la consommation en AG *trans*, évaluée par les teneurs en AG *trans* du tissu adipeux, sur certains paramètres du nouveau-né à terme à savoir : (i) la composition en AG du cordon ombilical (lipides du plasma et des globules rouges, phospholipides pariétaux), (ii) le poids à la naissance et périmètre crânien.

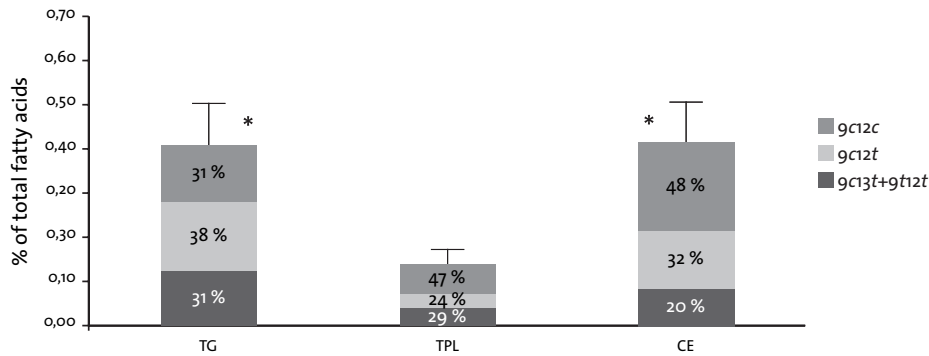
Cette étude a permis de confirmer le passage transplacentaire des AG *trans* (figure 41), mais avec des différences entre les isomères 18:1 *trans* et 18:2 *trans*. Le plasma ombilical contient par rapport au plasma maternel significativement ($p < 0,001$) moins de 18:1 *t* (0,2 % vs 0,6 %) mais plus de 18:2 *t* (0,30 % vs 0,15 %), principalement l'isomère 9*t*,12*c* dont les proportions triplent ($p < 0,001$). Les AG *trans* sont également présents dans les phospholipides (PL) des globules rouges (au total : 0,25 %). Au niveau du cordon ombilical, les isomères *trans* observés dans le plasma et les globules rouges ont tous été retrouvés dans les PL de la paroi et des vaisseaux (artères et veine), à l'exception de l'isomère 16:1 *trans* (Figure 42). Au total, les AG *trans* représentent en moyenne 0,3 % des AG totaux.

Figure 42 : Trans fatty acid (TFA) composition (% weight) of maternal and umbilical plasma total lipids (* $p < 0,001$)



Dans le plasma ombilical, le profil en AG des esters de cholestérol, véhicules privilégiés des acides linoléique et α -linoléique, comprend 0,4 % d'isomères *trans* de l'acide linoléique, avec la prédominance de l'isomère 9*t*,12*c* (Figure 43).

Figure 24 : Proportion of the different *trans* 18:2 isomers in triglycerides (TG) (n=32), total phospholipids (TPL) (n=62) and cholesterol esters (CE) (n=40) of umbilical plasma (* p<0.001).



Toutefois, pour cette population française, aucune corrélation n'a été observée entre le poids de naissance ou le périmètre crânien du nouveau-né et les teneurs en AG *trans* dans les lipides du tissu adipeux ou du plasma de la mère.

1.4.2. Les CLA

Cet aspect n'a encore été que peu abordé, probablement en raison du caractère récent des études sur les CLA. Néanmoins, on peut mentionner une étude récente (Elias and Innis 2001), qui montre que le CLA traverse le placenta et que sa concentration dans le plasma de l'enfant est le double de celle dans le plasma maternel. Par ailleurs, les teneurs en CLA dans les triacylglycérols plasmatiques sont inversement corrélées à la durée de la gestation, ainsi qu'au poids et à la taille à la naissance (tableau 58).

Tableau 58 : Relation entre les teneurs en CLA plasmatiques au niveau du cordon ombilical et la durée de gestation, le poids et la taille à la naissance

	Triacylglycérols		Phospholipides		Esters de cholestérol	
	r	P	r	P	r	P
Durée de gestation	-0,42	0,004	0,08	NS	-0,49	0,001
Poids à la naissance	0,25	NS	0,15	NS	-0,30	0,04
Taille à la naissance	-0,40	0,006	0,17	NS	-0,33	0,03

2. Études réalisées chez l'animal

2.1. Incorporation dans les tissus

2.1.1. Les AG *trans* monoinsaturés

La plus grande partie des AG *trans* ingérés et qui ne sont pas catabolisés est incorporée dans les lipides tissulaires, phospholipides et lipides neutres (Le Breton and Lemarchal 1967). L'acide élaïdique, qui a été le plus étudié, a été retrouvé dans toutes les fractions lipidiques des tissus (plasma, foie, cœur, tissu adipeux, carcasse, cerveau, testicules...) étudiés (Le Breton and Lemarchal 1967; Sgoutas and Kummerow 1970; Wood 1979). Toutefois, l'incorporation dans les phospholipides cérébraux est toujours plus faible que dans les autres organes. Raulin *et al* (Raulin, Loriette *et al.* 1963) ont montré, chez des rats recevant une huile d'arachide isomérisée, que tous les isomères sont incorporés avec la même intensité dans les triacylglycérols hépatiques. Cette incorporation est principalement présente en position externe des triacylglycérols.

2.1.2. Les AG *trans* polyinsaturés

Les études sur ce sujet sont moins nombreuses.

Pour les isomères de l'acide α -linoléique, ils ont été décrits dans les lipides du foie, du cœur, du cerveau, des reins (Grandgirard, Piconneaux *et al.* 1998). L'isomère 18:3 *9cis,12cis,15 trans* est incorporé comme l'acide linoléique, dans les cardiolipides, suggérant le rôle de la géométrie des doubles liaisons dans cette incorporation (Wolff, Combe *et al.* 1993).

Pour les isomères de l'acide linoléique, les travaux les plus nombreux concernent le 18:2 *9trans,12trans*, pourtant quantitativement le moins important dans les aliments. Ainsi, Selinger et Holman (Selinger and Holman 1965) ont montré que cet isomère *trans,trans* est principalement incorporé en position 1 des glycérophospholipides. De même, cet acide gras est incorporé en position externe des triacylglycérols hépatiques (Privett and Nutter 1966), alors que les isomères *monotrans* sont plutôt incorporés en position interne. Par ailleurs et concernant les isomères *monotrans*, la forme *9trans,12cis* est souvent plus abondante que la forme *9cis,12trans* dans les lipides hépatiques (Privett, Stearns *et al.* 1967; Anderson, Fullmer *et al.* 1975; Beyers and Emken 1991; Berdeaux, Chardigny *et al.* 1996; Kwan, Wang *et al.* 1998). C'est également le cas dans le cerveau, le cœur et le plasma.

2.1.3. Les CLA

L'incorporation des isomères de CLA a été étudiée chez différents animaux.

Chez le rat, il a été montré une incorporation des isomères de CLA dans tous les tissus étudiés, à l'exception du cerveau. Généralement et lorsque des mélanges équimolaires sont utilisés, c'est l'isomère *9cis,11trans* qui est le plus incorporé dans les lipides tissulaires, avec une affinité plus importante pour les lipides neutres (Sebedio, Juaneda *et al.* 1999; Banni, Carta *et al.* 2001).

Les auteurs posaient l'hypothèse que par suite d'une diminution espérée des dépôts adipeux consécutifs à une consommation de CLA, l'efficacité alimentaire serait améliorée. Il faut relever que, par cette stratégie alimentaire, des isomères de CLA peuvent entrer dans la chaîne alimentaire humaine.

Le porc a ainsi été étudié (Dugan, Aalhus *et al.* 2004). En revanche, on peut noter que des isomères de CLA, par cette stratégie alimentaire, peuvent entrer dans la chaîne alimentaire humaine. En effet, une supplémentation de 5g/kg de CLA pendant 6 semaines, conduit à une incorporation de 0,67 % d'isomère *9cis,11trans* et 0,34 % d'isomère *10trans,12cis* dans le tissu adipeux de porcs en croissance.

La volaille et le poisson pourraient aussi être concernés par cette stratégie alimentaire (Azain 2003).

Ainsi, des espèces animales d'élevage peuvent être une source de CLA non négligeable pour l'Homme à travers son alimentation, alors que ces espèces ne sont pas des contributeurs naturels de CLA. Cette voie d'entrée, pour les deux isomères principaux, des CLA dans l'alimentation doit faire l'objet d'une attention particulière.

2.2. Bioconversion

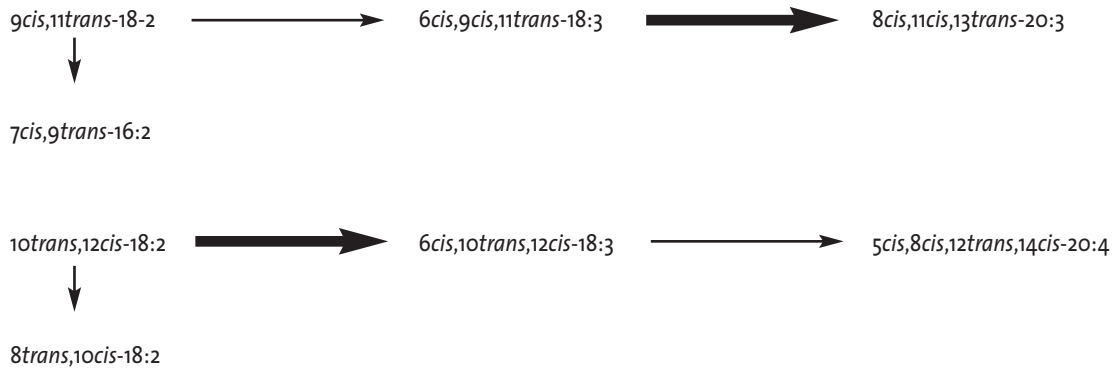
Différents auteurs ont montré que les isomères *trans* des AG indispensables (18:2 n-6 et 18:3 n-3) sont convertis en dérivés supérieurs par des voies métaboliques similaires à ce qui est connu pour les AG essentiels. Ainsi, ont été mis en évidence des isomères *trans* de l'acide arachidonique (Privett, Stearns *et al.* 1967; Beyers and Emken 1991; Berdeaux, Sébédio *et al.* 1996), de l'acide eicosapentaénoïque (Grandgirard, Piconneaux *et al.* 1989 ; Chardigny, Sébédio *et al.* 1996), et même de l'acide docosahéxaénoïque (Grandgirard, Piconneaux *et al.* 1989). De même, un autre isomère *trans* de l'acide arachidonique, issu de la bioconversion du 18:2 *9c,13t* (un isomère *trans* résultant de l'hydrogénation catalytique) a été mis en évidence (Ratnayake, Chen *et al.* 1994).

Pour ce qui est des CLA, il a été montré une synthèse endogène d'isomères conjugués du 20:3 n-6, voire même du 20:4 n-6. Banni *et al.* (Banni, Day *et al.* 1995) ont montré une conversion des CLA en isomères conjugués du 18:3 n-6 et du 20:3 n-6 chez le rat. Cette conversion a également été décrite jusqu'à des isomères conjugués du 20:4 n-6 chez le mouton (Banni, Carta *et al.* 1996).

Chez le rat, Sébédio *et al.* (Sebedio, Juaneda *et al.* 1997) ont également montré la conversion des deux principaux isomères de CLA conduisant à des isomères conjugués de l'acide arachidonique. Cependant, cette conversion ne semble avoir lieu que dans des situations nutritionnelles extrêmes induites par un régime lipidoprive, ce qui génère une activité renforcée des désaturases.

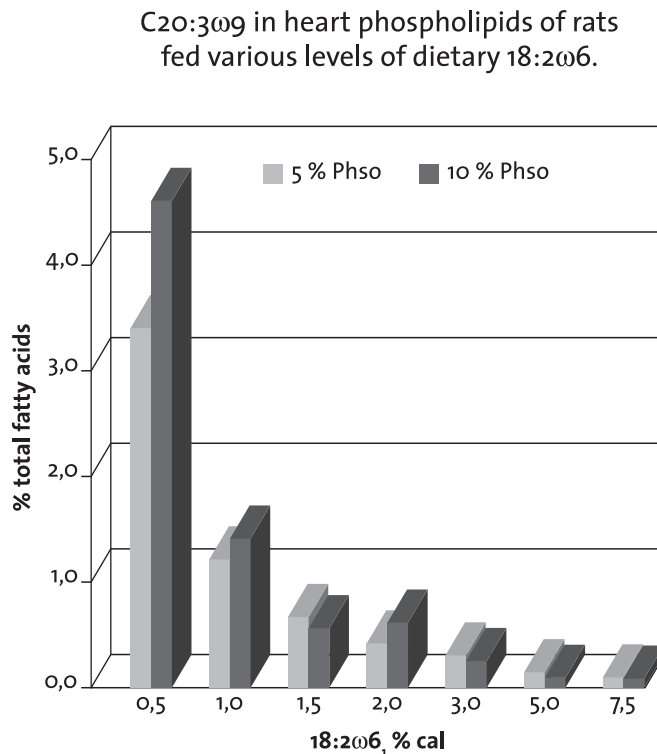
Les voies métaboliques établies pour les isomères de CLA sont résumées dans la figure 48. On peut noter la plus forte $\Delta 6$ désaturation de l'isomère *10trans,12cis*, alors que l'isomère *9cis,11trans* est plus proche au plan structural des substrats habituels.

Figure 48 : Principales voies de bioconversion des deux principaux isomères de CLA. L'épaisseur des flèches reflète l'intensité des conversions



En revanche, l'interférence entre les AG *trans* (sans distinction des isomères, en particulier $\Delta 9$, $\Delta 10$ et $\Delta 11$) et la bioconversion des AG indispensables a fait l'objet de plusieurs travaux. Ainsi, l'apport en AG *trans* monoinsaturés a été désigné comme responsable d'une inhibition de la bioconversion des AG indispensables. Ceci a pour conséquence physiologique une réponse compensatoire qui est la biosynthèse de l'acide gras 20:3 n-9, ou acide de Mead, connu pour être un marqueur de déficience en AG essentiels. Toutefois cette accumulation de 20:3 n-9 est limitée lorsque les apports en acide linoléique sont suffisants, soit environ 2% des calories du régime chez le rat (Hill, Johnson *et al.* 1979), (Figure 49).

Figure 49 : Contenu en C20:3 n-9 de phospholipides cardiaques de rats nourris avec 5 ou 10 d'huile végétale partiellement hydrogénée (PHVO) et différents niveaux d'acide linoléique.



2.3. Métabolisme oxydatif

2.3.1. Les AG *trans* monoinsaturés

En 1969, Munsch *et al* (Munsch, Strouve *et al.* 1969) ont publié une étude comparative de l'oxydation de l'acide élaïque avec l'acide oléique après injection intrapéritonéale chez le rat. Il a été rapporté que l'oxydation de ces deux AG est similaire, respectivement 27 % et 23 % de la dose administrée 3h30 après l'administration.

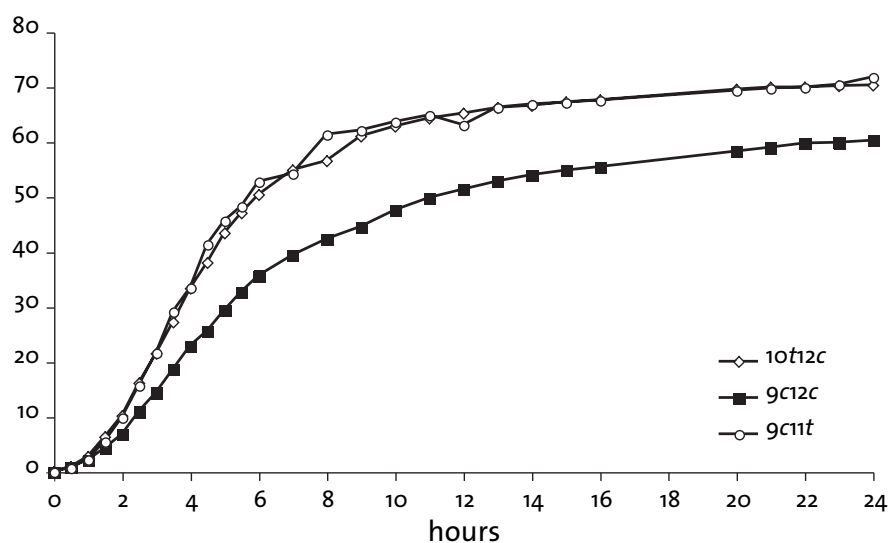
2.3.2. Les AG *trans* polyinsaturés

Ces études ont pu être réalisées grâce aux synthèses d'acide gras *trans* marqués en position 1 au ^{14}C (Eynard, Poullain *et al.* 1998). Ces molécules marquées au ^{14}C ont permis d'étudier, chez le rat, la production de CO_2 pendant 24 heures après gavage. Alors que l'isomère 18:2 *9trans,12cis* présente la même cinétique d'oxydation que l'acide linoléique, l'isomère 18:2 *12trans* conduit à une production plus importante de $^{14}\text{CO}_2$, illustrant une plus grande oxydation métabolique (Figure 9A, (Bretillon, Chardigny *et al.* 1998). Par ailleurs et par comparaison à l'acide α -linoléique, ses isomères 18:3 *9trans* et 15 *trans* suivent la même cinétique d'oxydation métabolique, ce qui conduit à une production de $^{14}\text{CO}_2$ en 24 heures représentant environ 70 % de la dose administrée (Bretillon, Chardigny *et al.* 1998).

2.3.3. Les CLA

L'oxydation métabolique des CLA a été relativement peu étudiée. Un travail chez le rat (Sergiel, Chardigny *et al.* 2001) a montré que les 2 isomères de CLA marqués en position 1 conduisent à la même libération de $^{14}\text{CO}_2$, cette production étant supérieure à celle de l'acide linoléique, pris comme témoin (Figure 51).

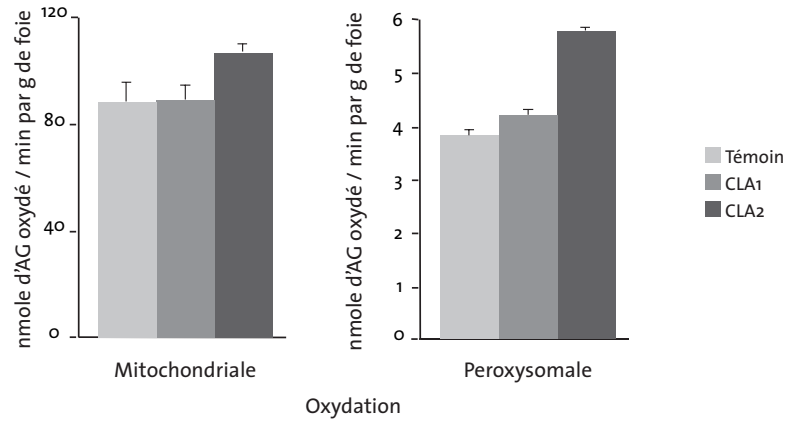
Figure 51 : Pourcentage de radioactivité retrouvé dans l'air expiré ($^{14}\text{CO}_2$) issu de l'oxydation de l'acide linoléique et des isomères de CLA marqués en position 1 chez le rat pendant 24 suivant l'administration d'acide gras marqué.



2.3.4. CLA et métabolisme oxydatif des AG

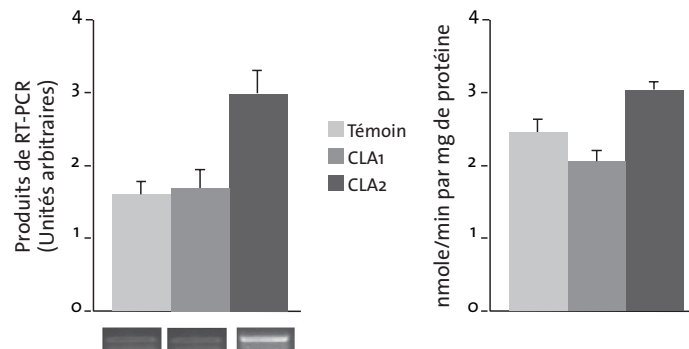
Pour ce qui concerne les études sur les effets des isomères 9c,11t et 10t,12c de l'acide linoléique administrés à raison de 1 % du régime chez la souris C57BL/6, on remarque, uniquement avec la forme 10t,12c l'atrophie progressive du tissu adipeux et la mise en place d'une stéatose hépatique marquée (voir chapitre IV). L'une des hypothèses à explorer concernait la possibilité que les capacités du foie à oxyder les AG sont fortement réduites. Les données de la figure 52 montrent que cette capacité est au contraire augmentée après traitement par l'isomère 10t,12c tant au niveau des mitochondries que des peroxysomes alors qu'elle n'est pas affectée par le CLA 9c,11trans (Degrace, Demizieux *et al.* 2004).

Figure 52 : Activités oxydatives mitochondriale et peroxysomale hépatiques chez des souris traitées par CLA 9c,11t ou CLA 10t,12c. Les résultats sont exprimés en nmole de palmitate oxydée / min par g de tissu homogénéisé. Les valeurs sont des moyennes \pm E.S.M. (n=6)



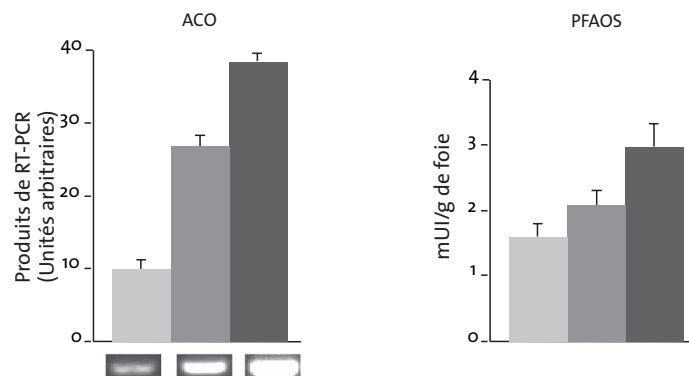
L'étude des étapes clés du métabolisme oxydatif de ces 2 types d'organites cellulaires au niveau hépatique montre que l'activité et l'expression des messagers de la CPT 1 n'augmentent qu'après traitement avec l'isomère t10,c12 (Figure 53)

Figure 53 : Expression des messagers (A) et activité (B) de la CPT 1 mesurée sur mitochondries isolées du foie chez les souris traitées par CLA 9c,11t ou CLA 10t,12c par rapport aux témoins. Les résultats représentent des valeurs moyennes \pm E.S.M. (n=6)



Par ailleurs, l'activité du « Peroxisomal fatty acid oxidizing system » incluant l'acyl CoA oxydase (ACO) et le niveau d'expression de cette ACO au niveau hépatique sont augmentés avec l'isomère 9c,11t, et plus encore avec l'isomère 10t,12c (Figure 54).

Figure 54 : Expression des messagers de l'acyl-CoA oxydase (ACO) et activité de la « Peroxisomal fatty acid oxidizing system » dans les foies de souris traitées par CLA 9c,11t ou CLA 10t,12c par rapport aux témoins. Les résultats sont des moyennes \pm E.S.M. (n=6)



Il n'y a donc aucune baisse des capacités oxydatives hépatiques. En revanche, comme le montre le tableau 6, l'activité de l'acétyl CoA carboxylase est nettement plus élevée dans le groupe traité par l'isomère CLA 10*t*,12*c* (10*t*,12*c*), avec pour conséquence, une synthèse accrue en malonyl-CoA, qui pourrait être responsable d'une augmentation de la néosynthèse d'acides gras.

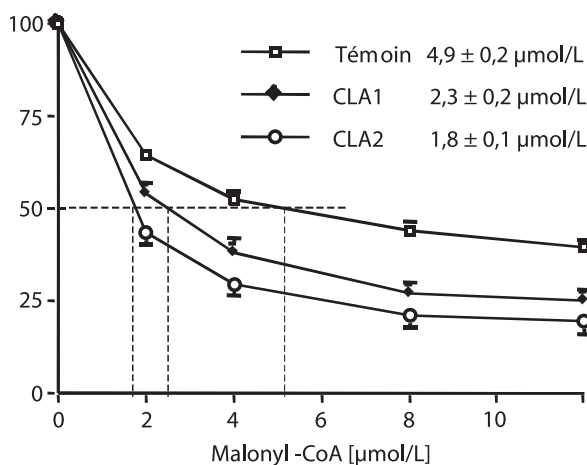
Tableau 59 : Activité acétyl-CoA carboxylase (ACC) et contenu en malonyl-CoA du foie de souris traitées par CLA 9*c*,11*t* ou CLA 10*t*,12*c*

	Témoin	CLA 9 <i>c</i> ,11 <i>t</i>	CLA 10 <i>t</i> ,12 <i>c</i>
Activité ACC (nmol/min par g de tissu)	215 ± 13	209 ± 10	329 ± 9
Contenu en malonyl-CoA (nmol/g de tissu)	88 ± 11	132 ± 5	144 ± 9

Les résultats représentent les moyennes ± E.S.M. (n=6).

Il convient cependant de noter qu'il existe également une élévation de malonyl-CoA dans le groupe 9*c*,11*t*. Sachant que le malonyl-CoA représente l'inhibiteur physiologique de la CPT 1, on peut prévoir un contrôle accru de l'activité oxydative mitochondriale hépatique via le malonyl-CoA. La figure 55 qui illustre la sensibilité de la CPT 1 à l'inhibition par le malonyl-CoA révèle de plus que l'enzyme voit son activité réduite de moitié pour des valeurs de malonyl-CoA faibles chez les souris traitées par l'un ou l'autre des 2 isomères.

Figure 55 : Sensibilité de la CPT 1 à l'inhibition par le malonyl-CoA, avec détermination de la valeur IC₅₀, représentant la concentration de malonyl-CoA diminuant de moitié l'activité CPT 1. Les résultats sont des moyennes ± E.S.M. (n=6).



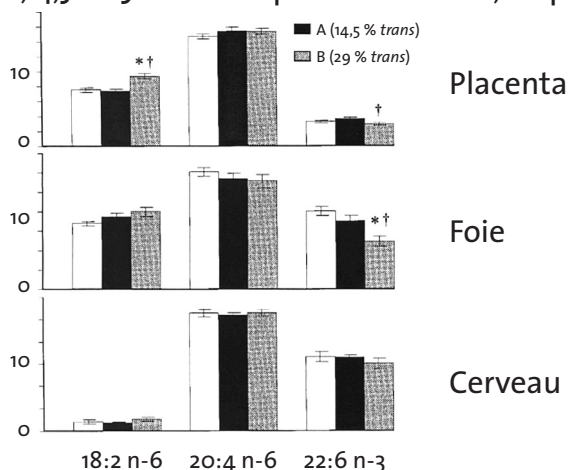
(Malonyl-CoA 50 % d'inhibition)

En conséquence, même si les capacités mitochondriales à oxyder les AG ne sont pas diminuées par le traitement par l'isomère 10*t*,12*c*, elles sont fortement réduites par les mécanismes conduisant à la synthèse de malonyl-CoA. L'isomère 10*t*,12*c* apparaît donc agir de façon très négative sur le métabolisme oxydatif hépatique. En revanche, les effets exercés par l'acide linoléique 9*c*,11*t* au niveau du foie ne sont pas encore compris, mais ne se manifestent par aucun effet négatif (Degrace, Demizieux *et al.* 2004).

2.4. AG *trans* et nouveau-né

Bien que ce sujet ait été abordé chez l'homme (cf supra), très peu d'études ont été réalisées chez l'animal. Cependant, le récent travail de Larqué *et al* (Larqué, Perez-Llamas *et al.* 2000) suggère que l'apport en AG *trans* chez l'animal conduit à une diminution des teneurs en acide docosahéxaénoïque dans le foie et le placenta, mais pas dans le cerveau même à un niveau d'apport en AGT élevé (Figure 56).

Figure 56 : Teneurs (%) en 18:2 n-6, 20:4 n-6 et 22:6 n-3 du placenta, des microsomes hépatiques et du cerveau de rattes gestantes ayant ingéré 0, 14,5 ou 29 % d'AG *trans* pendant 10 semaines, n=6 par groupe.



3. Études *in vitro*

3.1. Désaturation des isomères 18:1 *trans*

La conversion métabolique de l'acide élaïdique a été étudiée pour la première fois par Lemarchal. (Lemarchal 1966) *In vitro*, il a ainsi été démontré une désaturation en position Δ_5 de l'acide élaïdique, conduisant à la biosynthèse du 18:2 *cis*,11*trans* (un isomère *trans* du 18:2). Plus récemment, Pollard *et al* (Pollard, Gunstone *et al.* 1980) ont étudié la bioconversion *in vitro* d'un ensemble d'isomères de l'acide oléique, mais aussi d'autres isomères *trans* monoinsaturés. Le tableau 60 résume les données obtenues. On observe des taux de désaturation différents selon les AG et les positions Δ_9 , Δ_6 et Δ_5 . Avec l'isomère Δ_5 *trans*, l'acide vaccénique (18:1 Δ_{11} *trans*) est un des mieux convertis par la Δ_9 désaturase. Le produit de désaturation est l'acide ruménique (Kramer, Parodi *et al.* 1998).

Tableau 60 : Pourcentages de désaturation de différents substrats par les Δ_9 , Δ_6 et Δ_5 désaturases de microsomes hépatiques, d'après Pollard (Pollard, Gunstone *et al.* 1980)

Substrats	Pourcentage de désaturation		
	Δ_9	Δ_6	Δ_5
18:1 Δ_5 <i>trans</i>	80	0	0
16:1 Δ_7 <i>trans</i>	23	0	0
18:1 Δ_8 <i>trans</i>	0	5,5	0
16:1 Δ_8 <i>trans</i>	0	17	0
18:1 Δ_9 <i>trans</i>	0	0	7,5
18:1 Δ_{10} <i>trans</i>	0	10	5,5
18:1 Δ_{11} <i>trans</i>	62	5	0
17:1 Δ_{12} <i>trans</i>	14	8	0
18:1 Δ_{13} <i>trans</i>	57,5	1,5	0
18:1 Δ_{14} <i>trans</i>	41,5	0	10
18:1 Δ_{15} <i>trans</i>	48,5	0	10

Cette biosynthèse d'acide ruménique à partir de l'acide vaccénique a ensuite été plus étudiée, en raison de l'intérêt porté à l'acide ruménique et aux isomères conjugués de l'acide linoléique (CLA). Ainsi, Griinari *et al* (Griinari, Corl *et al.* 2000) ont montré l'importance de cette voie métabolique dans la mamelle de la vache.

3.2. Désaturation des isomères 18:2 et 18:3 *trans*

Ces composés résultent en majorité des traitements thermiques des huiles (voir Chapitre II). Leur conversion par désaturation a montré que les isomères 18:2 *9cis,12trans*, 18:2 *9trans, 12cis*, 18:3 *9cis,12cis,15trans* et 18:3 *9trans,12cis,15cis* sont Δ6 désaturés (Chardigny, Blond *et al.* 1995; Chardigny, Blond *et al.* 1997; Berdeaux, Blond *et al.* 1998), avec des niveaux de conversion différents, les AG gardant une double liaison de configuration *cis* en position Δ9 étant ainsi mieux convertis. Cette dernière observation a été confirmée sur un modèle de foie de rat isolé perfusé (Bretillon, Chardigny *et al.* 1998). Ainsi, les tableaux 61 et 62 montrent la bioconversion d'isomères *trans* des acides linoléique et α-linolénique à la fois par désaturation, mais aussi par élongation directe, conduisant à la biosynthèse de produits de « fin de chaîne », isomères *trans* des 20:2 n-6 et 20:3 n-3.

Tableau 61 : AG radiomarqués formés à partir de 100 nmol de [1-¹⁴C] acide linoléique ou de ses isomères *trans* dans les lipides totaux de foie de rat isolé perfusé

AG formés	Substrats		
	<i>9cis,12cis</i> -18:2 (n=3)	<i>9cis,12trans</i> -18:2 (n=3)	<i>9trans,12cis</i> -18:2 (n=3)
	<i>nmol ± SEM</i>		
16:0	5,1 ± 0,88	2,9 ± 0,64	2,9 ± 1,05
18:3n-6 + 20:4n-6	0,4 ± 0,08 ^a	6,5 ± 1,27 ^b	0,9 ± 0,57 ^a
20:2n-6	0,9 ± 0,10 ^a	1,5 ± 0,17 ^a	4,5 ± 0,92 ^b

Les données d'une ligne présentant un exposant différent sont significativement différentes (P<0,05).

Tableau 62 : AG radiomarqués formés à partir de 100 nmol de [1-¹⁴C] α-acide linoléique ou de ses isomères *trans* dans les lipides totaux de foie de rat isolé perfusé

AG formés	Substrats		
	<i>9cis,12cis,15cis</i> -18:3 (n=3)	<i>9cis,12cis,15trans</i> -18:3 (n=3)	<i>9trans,12cis,15cis</i> -18:3 (n=3)
	<i>nmol ± SEM</i>		
16:0	2,0 ± 0,05	1,1 ± 0,86	3,3 ± 1,73
20:5n-3	10,7 ± 3,76 ^a	2,0 ± 0,78 ^b	0,8 ± 0,05 ^b
20:3n-3	2,5 ± 0,25 ^a	2,2 ± 0,51 ^a	6,1 ± 1,29 ^b

Les données d'une ligne présentant un exposant différent sont significativement différentes (P<0,05).

3.3. Bioconversion des isomères de CLA

La conversion de l'acide vaccénique en acide ruménique a également été mise en évidence sur des modèles cellulaires (Miller, McGrath *et al.* 2003)

La bioconversion des CLA a été abordée récemment. La première étape de conversion (Δ6 désaturation) a notamment été étudiée *in vitro* sur des microsomes hépatiques et sur des explants de foie. Les travaux sur

microsomes hépatiques de rats ont mis en évidence la conversion de l'acide ruménique en 18:3 $\Delta 6cis,9cis,11trans$ (Berdeaux, Gnadig *et al.* 2002). Sur des explants hépatiques de rats, Gruffat *et al.* (Gruffat, De La Torre *et al.* 2003) ont montré une conversion à hauteur de 27 % de l'acide ruménique incubé dans le milieu. Dans le même travail, l'isomère 10*trans*,12*cis* est également converti par $\Delta 6$ désaturation en 18:3 $\Delta 6cis,10trans,12cis$. Le taux de conversion observé est le même que celui observé pour l'acide ruménique.

3.4. Impact des AG trans sur la bioconversion des autres AG

Cet aspect a fait l'objet d'un certain nombre d'études dont les principales seront mentionnées dans ce rapport.

Kurata et Privett (Kurata and Privett 1980) ainsi que De Schrijver et Privett (De Schrijver and Privett 1982) ont suggéré une altération de la $\Delta 6$ désaturase, qui, par suppression de son activité, accroît la richesse tissulaire en AG plus saturés et par conséquent les besoins en AG polyinsaturés. Cette diminution de $\Delta 6$ désaturation est associée à un accroissement de l'activité de $\Delta 9$ désaturation (De Schrijver and Privett 1982).

En 1979, Hill *et al.* (Hill, Johnson *et al.* 1979) ont montré, sur des microsomes hépatiques de rats, que les AG issus de l'hydrogénation catalytique conduisent à une augmentation de la $\Delta 5$ désaturation du 20:3 n-6 (Tableau 63).

Tableau 63 : Activité $\Delta 5$ désaturase de microsomes hépatiques de rats nourris avec 4 teneurs en AG trans dans le régime (d'après (Hill, Johnson et al. 1979))

Pourcentage AG trans dans le régime	nmoles de 20:3 n-6 converties par minute et par mg protéines (moyennes \pm SEM)
0,1	0,216 \pm 0,02
1,0	0,355 \pm 0,02
5,6	0,424 \pm 0,04
7,9	0,469 \pm 0,03

Sur un modèle de fibroblastes cutanés humains, Rosenthal et Doloresco (Rosenthal and Doloresco 1984) ont montré que les isomères *trans* de la famille n-9 sont bien inhibiteurs de la $\Delta 5$ désaturase. En revanche, les isomères *trans* de la famille n-7 (16:1 $\Delta 9trans$, 17:1 $\Delta 10trans$, 18:1 $\Delta 11trans$) ne présentent pas cette propriété.

Pour ce qui est de l'impact des AG *trans* polyinsaturés, les études sont plus récentes et ont pu être menées grâce à des synthèses de composés non disponibles par ailleurs (Eynard, Vatèle *et al.* 1994; Vatèle, Dong *et al.* 1994 ; Berdeaux, Vatèle *et al.* 1995; Vatèle, Doan *et al.* 1995).

Il a été notamment démontré que les isomères 9 *trans* et 15 *trans* de l'acide α -linoléique sont des inhibiteurs de la $\Delta 6$ désaturation de l'acide ω -linoléique (Chardigny, Blond *et al.* 1995; Chardigny, Blond *et al.* 1997), Tableau 64.

Tableau 64 : Interaction réciproque de la conversion de 60 nmoles de substrat radiomarqué en présence de concentrations croissantes de leur isomère non radioactif considéré comme inhibiteur par des microsomes hépatiques de rats. Les résultats sont les moyenne \pm SEM de 4 déterminations.

	^{14}C 18:3 9 <i>cis</i> ,12 <i>cis</i> ,15 <i>cis</i>	^{14}C 18:3 9 <i>cis</i> ,12 <i>cis</i> ,15 <i>trans</i>
Inhibiteur/substrat	nmoles	nmoles
1/3	3,08 \pm 0,16	1,14 \pm 0,18
2/3	2,89 \pm 0,10	0,93 \pm 0,08
1	2,58 \pm 0,12	0,94 \pm 0,06

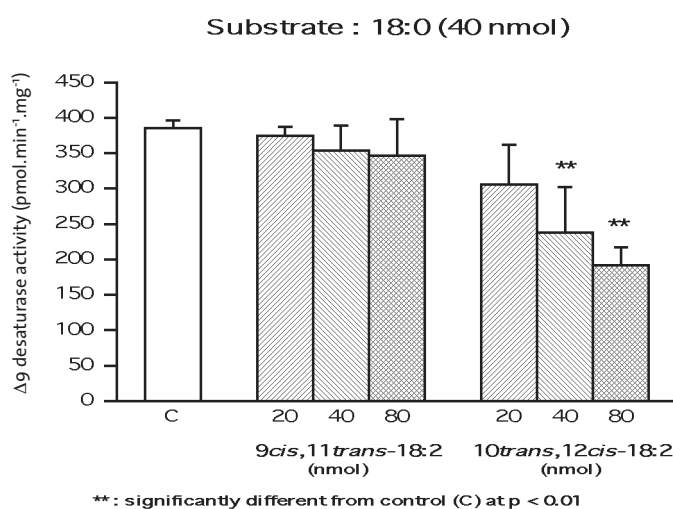
Pour les isomères de l'acide linoléique, l'isomère 9*trans*,12*trans* a été le premier étudié, même s'il est quantitativement peu abondant dans l'alimentation. Il a été montré une inhibition de la $\Delta 6$ désaturation de l'acide linoléique par cet acide gras *trans*, conduisant à une diminution de la biosynthèse de l'acide arachidonique (Kurata and Privett 1980; Shimp, Bruckner *et al.* 1982). Les effets des isomères mono *trans* de l'acide linoléique

ont été étudiés par Berdeaux *et al* (Berdeaux, Sébédio *et al.* 1996; Berdeaux, Blond *et al.* 1998). Les études *in vivo* ayant suggéré que l'apport alimentaire en isomères *trans* de l'acide linoléique diminuait la $\Delta 6$ désaturation de l'acide linoléique, il a été possible démontrer *in vitro*, que l'isomère 18:2 *9cis12trans* était responsable de cette inhibition.

3.5. CLA et désaturation

Des études ont été conduites sur les effets des AG conjugués sur l'activité et l'expression des désaturases. Ainsi, Bretillon *et al* (Bretillon, Chardigny *et al.* 1999) ont montré une inhibition de la $\Delta 9$ désaturation de l'acide stéarique par l'isomère 10*trans*,12*cis*. L'acide ruménique est par contre sans effet (Figure 57). Parallèlement, Choi *et al* suggèrent que la diminution de $\Delta 9$ désaturation est en partie au moins due à une diminution de l'expression de la stéaroyl-coenzymeA désaturase (Choi, Kim *et al.* 2000).

Figure 57 : Inhibition de la $\Delta 9$ désaturation du 18:0 par des concentrations croissantes des 2 principaux isomères de CLA



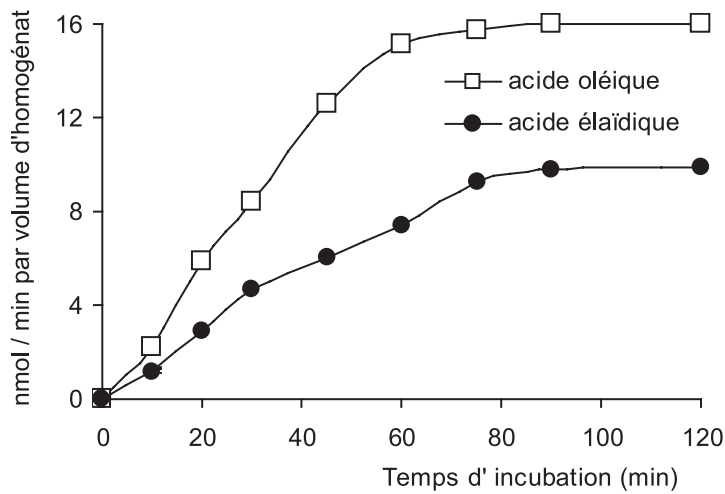
Concernant les autres activités de désaturation, il a été démontré *in vitro* que l'acide ruménique est un inhibiteur de la $\Delta 6$ désaturation de l'acide linoléique (Bretillon, Chardigny *et al.* 1999), sans que cela n'ait été conforté par des données obtenues *in vivo*.

3.6. Métabolisme oxydatif des AG *trans*

3.6.1. Les AG *trans* monoinsaturés

Comme tout acide gras, les AG *trans* constituent une source d'énergie pour la cellule. L'oxydation des acides oléique et élaïdique a été étudiée chez le rat sur homogénats de cœur dès 1986 (Lanser, Emken *et al.* 1986) c'est-à-dire sur cellules dont la barrière plasmique n'existe plus. Les substrats accèdent donc directement aux organites oxydatifs que sont les mitochondries et les peroxysomes. Dans ces conditions, la formation de molécules acido-solubles issues de la β -oxydation des AG est environ 2 fois plus élevée à partir de l'acide oléique que de son isomère *trans* (Figure 58).

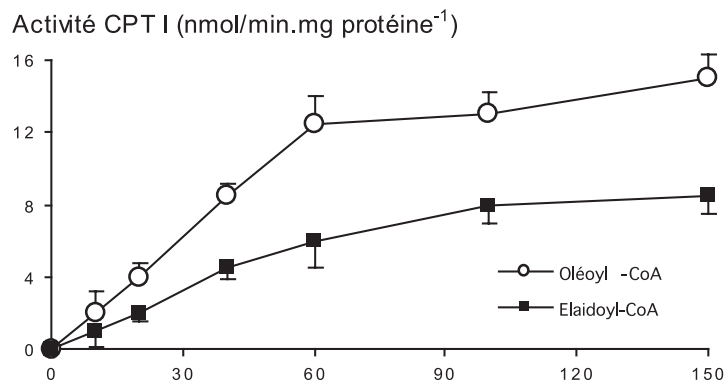
Figure 58 : Oxydation des acides oléique et élaïdique (marqués au carbone 14) par des homogénats de cœur de rat. Le niveau d'oxydation est estimé selon la quantité de molécules acido-solubles radioactives retrouvées à la fin de l'incubation (Lanser, Emken et al. 1986).



L'étude ne mentionne pas l'activité de la carnitine palmitoyltransférase 1 (CPT 1) qui représente l'étape clé de la voie oxydative mitochondriale ; cette activité est susceptible de varier fortement avec l'un et l'autre substrats, ce qui peut expliquer la différence observée.

Le problème est abordé à nouveau en 1999 par Guzman *et al.* (Guzman, Klin *et al.* 1999). Des mitochondries isolées du foie de rat sont utilisées pour étudier l'activité CPT I (Figure 59).

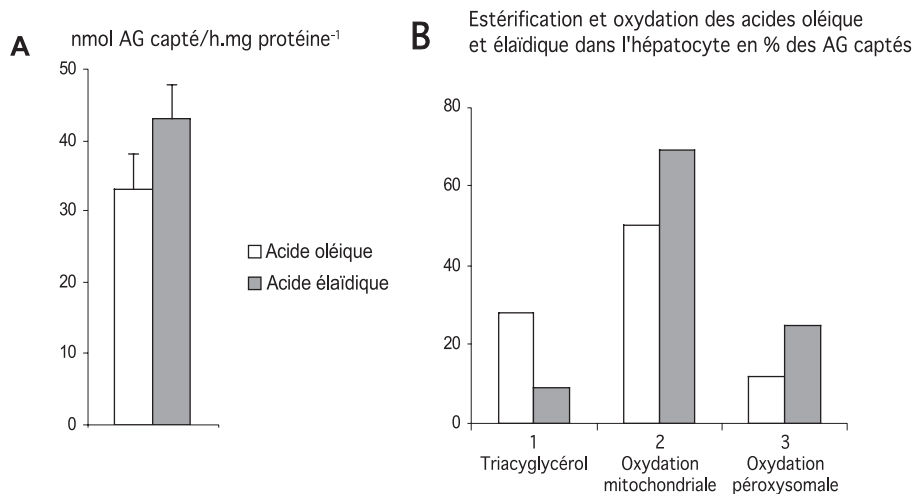
Figure 59 : Activité carnitine palmitoyltransférase 1 avec l'oléoyl-CoA et l'élaïdoyl-CoA comme substrats en présence de mitochondries isolées du foie de rat (Guzman, Klin et al. 1999).



L'activité CPT 1 hépatique apparaît environ 2 fois plus active avec l'oléoyl-CoA par comparaison avec l'élaïdoyl-CoA. L'orientation spatiale de l'acide gras *trans* en $\Delta 9$ réduit donc le niveau de la réaction.

À partir d'hépatocytes isolés incubés en présence de l'un ou l'autre des AG précédents, la même étude précise que l'acide élaïdique est captée plus activement, d'environ 25%, par les cellules entières (Figure 60).

Figure 60 : Captage (A) et devenir métabolique (B) des acides oléique et élaïdique dans l'hépatocyte de rat



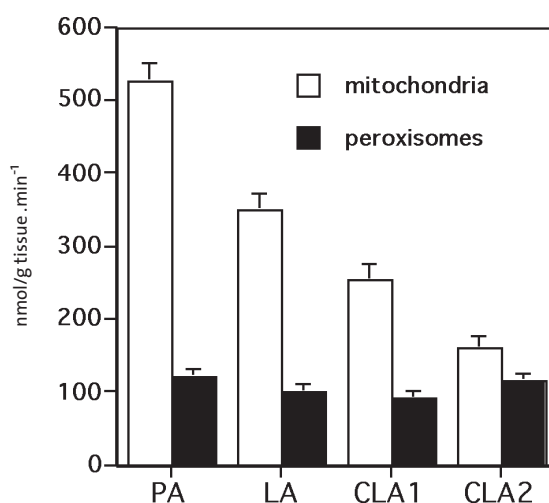
Lorsque l'on considère l'ensemble des étapes aboutissant à l'utilisation de ces deux AG par la cellule hépatique, on constate que l'acide oléique est préférentiellement incorporé dans les triacylglycérols au dépend de son oxydation dans les mitochondries et peroxyosomes. Inversement l'acide élaïdique est globalement mieux oxydé par mitochondries et peroxyosomes, mais est moins estérifié à l'intérieur des triacylglycérols.

La double liaison *trans* de l'acide élaïdique ne paraît conférer à cette molécule une nocivité particulière dans la mesure où elle est plus rapidement dégradée que son isomère naturel et qu'elle ne s'incorpore que très peu dans les structures lipidiques plus complexes. Toutefois cette remarque ne tient peut-être plus pour d'autres monoènes à 18 carbones dont la liaison *trans* est positionnée différemment.

3.6.2. Les CLA

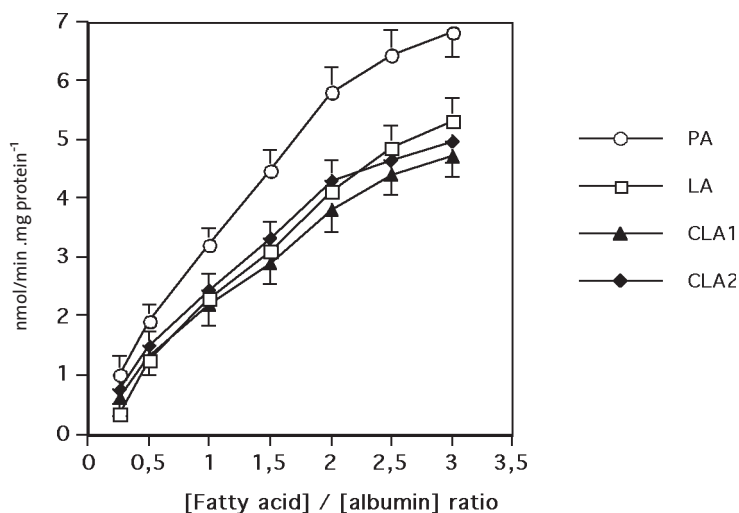
L'oxydation des isomères de l'acide linoléique 9*c*,11*t* et 10*t*,12*c* a été mesurée par référence aux acides linoléique et palmitoléique sur homogénats de foie (Demizieux, Degrace *et al.* 2002). La figure 61 montre que l'oxydation mitochondriale est la plus active à partir de l'acide palmitoléique (PA), et qu'elle est progressivement moins active avec l'acide linoléique (LA), l'isomère 9*c*,11*t* (CLA 9*c*,11*t*) et l'isomère 12*c*, 10*t*, (CLA 10*t*,12*c*) de l'acide linoléique.

Figure 61 : Activités oxydatives mitochondriale et peroxyosomale sur homogénats de foie en présence d'acides palmitoléique (PA), linoléique (LA), de CLA 9*c*,11*t* ou de CLA 10*t*,12*c*. Les résultats sont des moyennes ± E.S.M. (n=3)



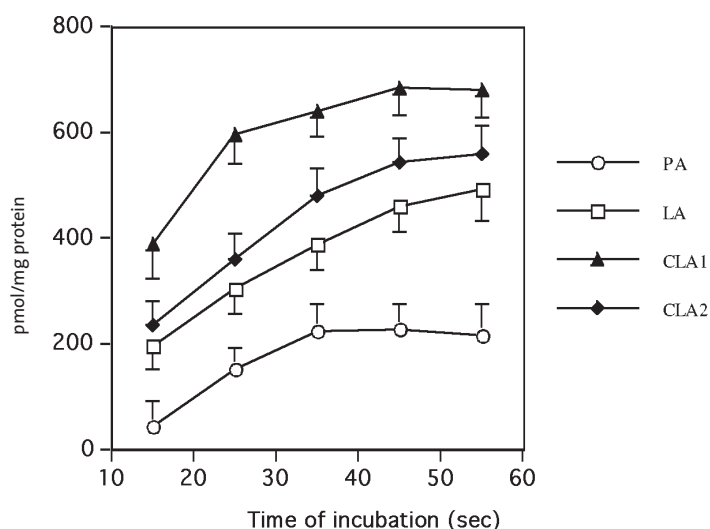
En revanche, l'oxydation peroxysomale de ces 4 AG est peu différente de l'un à l'autre. Les isomères conjugués apparaissent être de moins bons substrats que l'acide palmitoléique pour l'activité CPT 1, mais génèrent autant de dérivés acyl-carnitine que leur isomère naturel (Figure 62).

Figure 62 : Activité CPT 1 mesurée en présence des acides palmitoléique (PA), linoléique (LA), CLA 9c,11t ou CLA 10t,12c. Les résultats sont des moyennes \pm E.S.M. (n=3) et sont exprimés en nmole d'acylcarnitine formée par mg de protéines mitochondriales.



De plus les isomères conjugués sont, parmi les 4 AG testés, les meilleurs substrats pour la carnitine acylcarnitine translocase, l'enzyme qui permet le passage des acyl carnitine à travers la membrane interne des mitochondries aux acylcarnitines (Figure 63).

Figure 63 : Activité carnitine acylcarnitine translocase en présence des acides palmitoléique (PA), linoléique (LA), CLA 9c,11t ou CLA 10t,12c : quantité d'acylcarnitines retrouvée dans les mitochondries quand les AG sont marqués au carbone 14. Les résultats sont exprimés en nmole d'acylcarnitine transloquée par min et par mg de protéine mitochondriale. Les valeurs sont des moyennes \pm E.S.M. (n=3)



Pour ces raisons, l'oxydation moindre des isomères conjugués doit trouver son explication dans le fait que les enzymes du cycle beta oxydatif trouvent en présence de ces acides gras des substrats de structure inhabituelle (double liaisons NMI).

La même étude révèle que l'accumulation des Acyl-carnitine correspondant aux 2 isomères conjugués freine l'oxydation carnitine-dépendante de l'acide palmitoléique (Figure 64), mais ne gêne pas celle de l'acide octanoïque (Figure 65), qui diffuse librement à travers la matrice mitochondriale.

Figure 64 : Respiration liée à la β -oxydation de l'acide palmitoléique (PA) par des mitochondries hépatiques préalablement incubées avec le PA, l'acide linoléique (LA), CLA 9c,11t ou CLA 10t,12c. Les résultats sont exprimés en % de la respiration obtenue sans pré-incubation (contrôle). Les valeurs sont des moyennes \pm E.S.M. (n=3)

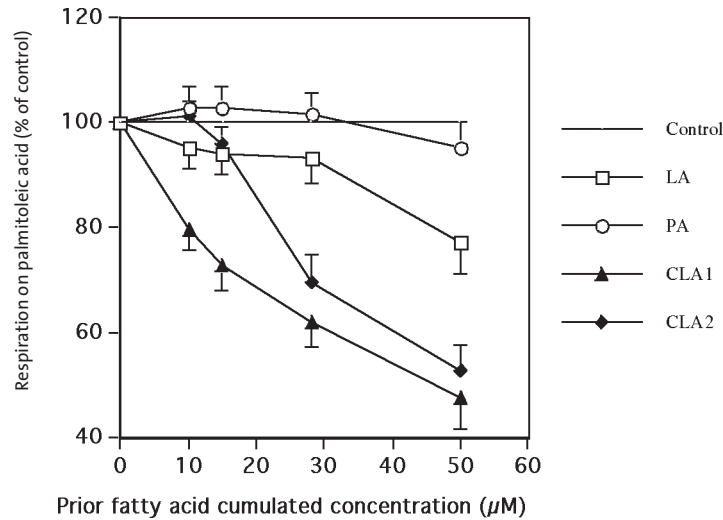
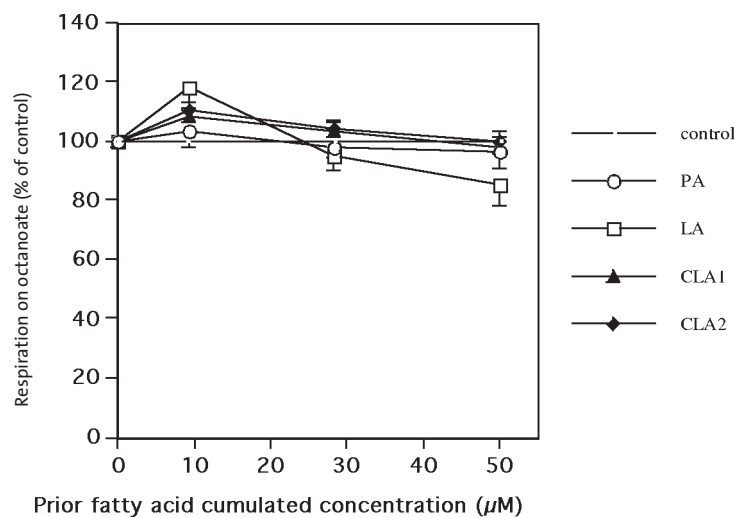


Figure 65 : Respiration liée à la β -oxydation de l'acide octanoïque (C8:o) par des mitochondries hépatiques préalablement incubées avec les acides palmitoléique (PA), linoléique (LA), CLA 9c,11t ou CLA 10t,12c. Les résultats sont exprimés en % de la respiration obtenue sans pré incubation (contrôle). Les valeurs sont des moyennes \pm E.S.M. (n=3)



3.6.3. Conclusion

Ces données expérimentales obtenues *in vitro* ne signifient nullement qu'un blocage de l'oxydation de tous les AG ait lieu *in vivo*. La dilution des isomères conjugués par la masse des AG du régime empêche ces isomères conjugués d'atteindre, à l'intérieur de la matrice, les concentrations inhibantes observées *in vitro*. Toutefois les résultats soulignent la difficulté des AG conjugués à être oxydés et, corrélativement, leur facilité à être orientés vers d'autres voies métaboliques comme l'estérification ; ils conserveraient de ce fait, une grande part de leurs potentialités biologiques (Demizieux, Degrace *et al.* 2002).

4. Toxicité des AG *trans*

A notre connaissance, il n'existe pas d'études portant sur la toxicité (au sens toxicologique du terme) des AG *trans*. Concernant les CLA, les troubles liés à la lipodystrophie, à la résistance à l'insuline et au syndrome métabolique sont traités dans le chapitre VI.

4.1. Toxicité des CLA chez l'Homme

Dans une étude publiée en 2000 (Basu, Smedman *et al.* 2000) suggèrent que la consommation de CLA (4,2g/j du mélange d'isomères pendant 2 mois) induit d'une part une augmentation des isoprostanes (+333 %) et des métabolites urinaires des prostaglandines (15cétodihydroPGF_{2a}, +129 %), suggérant l'accroissement respectivement de l'oxydation non enzymatique et enzymatique. Néanmoins, il est mentionné dans la publication, que « aucun participant n'a ressenti d'effet secondaire pendant l'étude ». Une étude chez des volontaires recevant 3,4 g/j de mélange de CLA (pureté 75 %, soit 2,55 g/j) pendant 12 semaines contre un placebo huile d'olive, Berven *et al.* (Berven, Bye *et al.* 2000) ont rapporté aucun effet significatif sur les transaminases, γ -GT, LDH, natrémie, kaliémie et créatinine plasmatique.

La supplémentation pendant un an de CLA (6g/j) sous forme d'un mélange équipondéral de c9,t11 et t10,c12 (94 %) et d'autres isomères (6 %) chez des sujets obèses (IMC entre 27 et 35 kg/m²) n'a pas mis en évidence d'effet adverse sur les différents paramètres évalués (Whigham, O'Shea *et al.* 2004). De même, une supplémentation en isomères purs pendant 18 semaines n'a pas conduit à l'observation d'effets adverses (Malpuech-Brugere, Verboeket-van de Venne *et al.* 2004).

Par contre, une supplémentation de 1,5 g/j chez la femme allaitant a montré une diminution de la teneur en lipides du lait maternel (Masters, McGuire *et al.* 2002), ce qui est à considérer comme un effet négatif pour la santé. Nous ne disposons malheureusement pas de données avec des doses inférieures. Plus récemment, Ringseis *et al.* (2004) montrent à la dose de 1,47 g/100g de régime, le mélange de CLA induit une diminution de la teneur en lipides du lait chez la ratte, ce qui est associé à une diminution de la croissance des nouveau-nés et un accroissement de la mortalité périnatale. Une étude chez la souris (Lin *et al.*, 2004) suggère que cet effet est principalement attribuable à l'isomère CLA 10t,12c, comme décrit par ailleurs chez la vache.

Une revue de la littérature récente permet de mieux cerner les risques potentiels des CLA, notamment en fonction des isomères utilisés.

Riserus *et al.* (Riserus, Basu *et al.* 2002) montrent que le 10t,12c à la dose de 2,6g/j entraîne une résistance à l'insuline chez l'homme associée à une obésité abdominale. De plus la supplémentation avec cet isomère entraîne l'augmentation des marqueurs du stress oxydatif (8-iso-PGF₂) et de la protéine C-réactive. Cet effet pro-inflammatoire semble être indépendant des mécanismes de l'insulino-résistance.

(Riserus, Vessby *et al.* 2004) montrent qu'une supplémentation de 2,6g/j de 10t,12c entraîne une augmentation de la résistance à l'insuline, une augmentation de la glycémie et une diminution du HDL-C. La masse grasse, le poids et le tour de taille diminuent significativement par rapport au niveau initial, mais pas par rapport au groupe placebo.

En 2003, l'équipe publie une étude chez l'homme (Riserus, Smedman *et al.* 2003), où elle montre que le 10t,12c diminue légèrement la masse grasse, particulièrement au niveau de la graisse abdominale, sans effets ni sur le poids ni sur la masse grasse totale. Cet isomère entraîne une dégradation de la sensibilité périphérique à l'insuline, une augmentation du glucose sanguin et des taux de lipides plasmatiques.

(Satory and Smith 1999) mettent en évidence l'inhibition de la prolifération des préadipocytes par le mélange équipondéral de CLA associée à une stimulation de la lipogenèse de novo et du stockage de lipides.

Kelley et Erickson ont publié en 2003 (Kelley and Erickson 2003) une revue des différentes études menées chez l'homme. Le CLA 10t,12c diminue la masse grasse mais augmente la quantité de graisse dans certains tissus, augmente le taux d'insuline circulant et le taux d'AG saturés dans le tissu adipeux et dans le muscle. La diminution de la masse grasse reste globalement très faible même dans les études qui présentent des résultats positifs sur ce paramètre. A l'inverse, une supplémentation en CLA 10t,12c augmente le risque de diabète et de MCV consécutif à la détérioration de la glycémie, à l'augmentation de l'insulinémie et l'InsulinoRésistance, à celle des VLDL, de la C-réactive protéine, et à la stimulation de la peroxydation lipidique. Dans le même temps, on constate une diminution du HDL-C.

Smedman A et Vessby B (Smedman and Vessby 2001) ont mené en 2001 un essai clinique en double aveugle chez 53 volontaires sains avec 3,2g/j de mélange équipondéral de CLA *versus* l'huile d'olive durant 12 semaines. Les

résultats confirment la diminution de la masse grasse dans le groupe CLA, ainsi que l'augmentation des acides stéarique, docosatétraénoïque, docosapentaénoïque, palmitique, oléique et dihomog γ linoléique tant au niveau du sérum que des membranes des plaquettes sanguines. Ces résultats confirmeraient une diminution l'activité des $\Delta 6$ et $\Delta 9$ désaturases et une augmentation de l'activité de la $\Delta 5$ désaturase. Par contre, ces auteurs ne constatent pas d'effet sur les paramètres tels que les lipoprotéines, la glycémie et PAI-1.

Par ailleurs, Park *et al.* ont montré, sur des adipocytes en culture, que le 10*t*,12*c* diminue l'activité de la LPL ainsi que la concentration de TG et de glycérol intracellulaire

Au total, les effets délétères sont essentiellement retrouvés avec le CLA 10*t*,12*c*, d'une part au niveau du métabolisme lipidique (augmentation des LDL-C, de la Lp(a) (Blankson, Stakkestad *et al.* 2000), diminution des HDL-C, diminution du rapport cholestérol total/HDL et du rapport LDL-C/HDL-C, augmentation de la peroxydation lipidique, et d'autre part, diminution de la désaturation et de l'estérification des AGPI à longue chaîne), du métabolisme glucidique (élévation de l'insulinémie par augmentation de l'insulinorésistance périphérique, détérioration du métabolisme glucidique par diminution de la capture et de l'oxydation du glucose insulinodépendant, diminution de la transcription du gène GLUT 4 (Brown, Boysen *et al.* 2003) et des marqueurs de l'inflammation. D'autres effets secondaires ont été rapportés avec les CLA, notamment des troubles gastro-intestinaux et une asthénie (Blankson, Stakkestad *et al.* 2000). L'ensemble de ces éléments plaident pour la plus grande prudence vis-à-vis du CLA 10*t*,12*c* compte tenu de ses effets potentiellement diabétogènes.

Le mélange des deux isomères ne semble pas entraîner d'effets secondaires significatifs sur le métabolisme glucido-lipidique. Enfin, les différentes études menées jusqu'à présent ne semble pas avoir mis en évidence d'impact négatif sur l'immunité, même s'il a été démontré que les CLA pouvaient stimuler certains processus de l'autoimmunité. (Kelley, Taylor *et al.* 2000); (Gregory S, *Altrn Med Rev*, 2001 ;6(4) :367-382)

4.2. Études chez l'animal

Concernant les isomères de CLA, l'étude de Scimeca (Scimeca 1998) ne rapporte pas d'effet significatif sur les paramètres de biologie clinique (numération, formule sanguine) chez le rat Fischer 344. Toutefois, il apparaît dans ce travail, une augmentation significative du poids du thymus après 36 semaines de supplémentation avec le mélange d'isomères.

O'Hagan et Menzel (O'Hagan and Menzel 2003) ont récemment rapporté une étude de toxicité « 90 jours ». Il n'est globalement pas montré d'effets adverses, sauf à la dose la plus forte (15 % du régime, en masse, soit environ 12g/kg poids corporel) qui induit une augmentation de l'insulinémie. Ces aspects seront développés au chapitre IV.

4.3. Cas particulier de l'acide eleostearique

L'acide α -eleostearique est aussi un acide gras *trans* et conjugué (18:3 9*cis*,11*trans*,13*trans*). Quelques études ont traité des effets et du métabolisme de cet acide gras, présent dans l'huile de bois de Chine.

Dhar *et al.* (Dhar, Ghosh *et al.* 1999) ont montré que l'apport en acide α -éléostéarique ne modifie pas la cholestérolémie chez le rat. Par ailleurs, et par comparaison au régime témoin, l'acide α -éléostéarique diminue la susceptibilité à l'oxydation des lipoprotéines et la peroxydation lipidique dans les globules rouges, mesurée par les teneurs en MDA.

Par ailleurs, des travaux récents montrent que l'acide α -éléostéarique est converti chez le rat en acide ruménique (Tsuzuki, Tokuyama *et al.* 2004).

5. AG *trans* et immunité

À notre connaissance, une seule étude a été effectuée sur les effets de l'ingestion d'un AG *trans* hors CLA (Koga *et al.* 1997). Elle montre que l'acide élaidique chez le rat augmenterait le rapport des lymphocytes T CD4+/CD8+. Les résultats rapportés ci dessous ne concerneront que la relation CLA-fonction immunitaire.

5.1. Les études chez l'Homme

Après 28 jours de supplémentation avec 2 g d'un mélange de CLA (dont 0,8 g de 18:2 9*c*,11*t* et de 18:2 10*t*,12*c*) aucun changement significatif des marqueurs de l'immunité n'est observé chez des sujets entraînés à l'exercice (Kreider *et al.* 2002). Seule une diminution de 25 % du rapport neutrophiles/lymphocytes à la limite de la signification a été observée

Une corrélation inverse entre l'activation des lymphocytes T (évaluée par l'expression de CD69, un marqueur précoce de l'activation), et les teneurs en 18:2 9c,11t et 18:2 10t,12c a été rapportée dans les cellules mononuclées (Tricon *et al*, 2004). Les deux isomères de CLA ont été administrés séparément, à des doses respectivement de 0,6, 1,2 et 2,4 g/j et 0,6, 1,3 et 2,5 g/j. On ne relève aucune modification du taux des lymphocytes T rapporté aux cellules mononuclées.

Albers *et al* (2003) ont comparé les effets de deux mélanges, 50:50 et 80:20 des isomères respectivement 18:2 9c,11t et 18:2 10t,12c administrés préalablement à une vaccination contre l'hépatite B chez des sujets en bonne santé. Les doses administrées étaient de 1,6-1,7 g/j pendant 12 semaines. Les résultats montrent que seul le mélange équipondéral conduit à une augmentation du nombre de sujet atteignant la quantité d'anticorps nécessaires à la protection contre l'hépatite B (P=0,09). Cet effet n'est pas associé à un effet sur le DTH (« delayed type hypersensitivity test »), l'activité « natural killer » des cellules mononuclées et la production monocyttaire de cytokines pro-inflammatoires. Kelley *et al* (2000 ; 2001) montrent que l'incorporation des CLA dans les cellules périphériques mononuclées n'a pas d'incidences sur leurs fonctions (voir Tableau 64*).

Dans une revue récente (O'Shea *et al*, 2004) des données sont rapportées issues d'une étude non publiée qui suggèreraient un effet bénéfique des CLA dans des pathologies allergiques ou inflammatoires.

Tableau 64* : Effets des CLA sur la fonction immunitaire chez l'Homme

Index	CLA (g/j)	Durée (semaines)	Sujets étudiés	Effet	Commentaire	Référence
DTH à 6 Ag	3,9 – mélange	9	Femmes en bonne santé	+	Pas de différence entre placebo et CLA	Kelley <i>et al</i> , Lpids, 2000
Anticorps sériques contre influenza				+	Idem	Idem
Cellules blanches circulantes				o	Pas d'effet, y compris formule leucocytaire et lymphocytes	Idem
Prolifération des mononucléaires				o	Cultivés sur serum autologue et phytohemaglutinine ou Ag influenza	Idem
Sécrétion de IL-1, IL-2, TNF2				o	Cultivés sur serum autologue et phytohemaglutinine ou LPS	Idem
IL2, Interféron γ , TNF				o	Cytométrie de flux	Idem
Sécrétion de PGE2 et LTB4				o	Cultivés sur serum autologue et LPS	Idem
TNF et IL6 sériques	2,7 g/j mélange ou 2,6 g/j CLA2	12	Hommes avec syndrome métabolique	o	-	Riserus <i>et al</i> , Circulation, 2002
Rapport neutrophiles /lymphocytes	6,2 g/j	4	Hommes entraînés	-25 %		Kreider, 2002
Activation des lymphocytes T et taux des lymphocytes T	De 0,6 à 2,5 g/j pour 9c,11t et 10t,12c séparés	6 mois		Activation, taux lymphT diminué	Étude en schéma croisé	Tricon <i>et al</i> , 2004

5.2. Etudes chez l'animal

Chez la truie allaitante, l'apport alimentaire de CLA à un taux de 0,25 % de la ration induit une augmentation des teneurs du colostrum en IgG (Bontempo *et al*, 2004). Globalement l'apport en CLA améliore les paramètres immunologiques chez les truies et les porcelets.

Dans un modèle porcin d'immuno-dépression induite par une infection virale, Bassaganya-Riera *et al* (2003) montrent que les deux isomères de CLA ont des propriétés immuno-modulatrices, notamment en augmentant le nombre de thymocytes CD8+. Chez la souris, le mélange de CLA améliore la maladie inflammatoire du gros intestin par un mécanisme dépendant du PPAR γ (Bassaganya-Riera *et al*, 2004).

Chez la souris C57/Bl6, le 18:2 9c,11t augmente le nombre de thymocytes CD8+ alors que le 18:2 10t,12c affecte plutôt les cellules B (Yamasaki *et al*, 2003). Dans la même étude, le 18:2 9c,11t augmente la production de TNF α par les lymphocytes splanchniques, alors que le 18:2 10t,12c augmente la production d'IgA et IgM. Chez le même modèle de souris Hayek *et al* (J Nutr, 1999) ont montré que le CLA en mélange n'a pas d'effet sur l'activité « natural killer », la production de PGE2 ou le DTH, que les souris soient jeunes (4 mois) ou âgées (22 mois). Le mélange de CLA n'a pas d'effet sur la récupération d'un traitement ayant pour but de créer chez le rat une immuno-dépression aigüe (Turini *et al*, 2003).

Tableau 64 : Effets des CLA sur les fonctions immunitaires chez l'animal (d'après Kelley *et al*, 2003)**

Index	CLA (% pondéral dans le régime)	Durée (semaines)	Espèce	Effet	Référence
DTH	0,5, mélange	4	Rat	+	Cook <i>et al</i> , 1993
DTH	1,0, mélange	8	Souris	o	Hayek <i>et al</i> , 1999
Résistance Listeria	0,5 mélange	4	Souris	o	Turnock <i>et al</i> , 2001
Prolifération splénocytaire	1,0, mélange	8	Souris	o ou + Concanavoline/ phytohématoglutinine	Hayek <i>et al</i> , 1999
Prolifération splénocytaire	0,1 0,3, 0,9 Mélange	6	Souris	o	Wong <i>et al</i> , 1997
Prolifération splénocytaire	0,5, CLA1 ou CLA2	12	Souris	o	Kelley <i>et al</i> , 2002
Sécrétion IL2	1,0 Mélange	8	Souris	+ chez les jeunes o chez les animaux âgés	Hayek <i>et al</i> , 1999
Sécrétion IL2	0,1 0,3, 0,9 Mélange	6	Souris	o	Wong <i>et al</i> , 1997
Sécrétion IL2	0,5, CLA1 ou CLA2	12	Souris	o	Kelley <i>et al</i> , 2002
Sécrétion IL4	0,5, CLA1 ou CLA2	12	Souris	Diminuée par les 2 isomères	Kelley <i>et al</i> , 2002
Sécrétion IL6	0,5, CLA1 ou CLA2	12	Souris	Augmentée par les 2 isomères	Kelley <i>et al</i> , 2002
Sécrétion TNF	0,5, CLA1 ou CLA2	12	Souris	Augmentée par les 2 isomères	Kelley <i>et al</i> , 2002
Anticorps sériques	0,5 ou 1,0 Mélange	3	Rat	Augmentation IgA, IgM, IgG Diminution IgE	Sugano <i>et al</i> , 1998
Anticorps sériques	0,05-0,5 Mélange	3	Rat	o	Yamasaki <i>et al</i> , 2000

5.3. Études *in vitro*

Chew *et al* (1997) ont montré que les CLA augmente l'activité cytotoxique et la prolifération des lymphocytes ainsi que l'activité bactéricide des macrophages, mais diminue la production d'IL-2 par les lymphocytes et l'activité phagocytaire des macrophages.

Sugano *et al* (1998) ont montré que des rats recevant des CLA produisaient moins de LTB₄ et PGE₂ mais autant d'histamine dans différentes cellules ou tissus. Whigham *et al* (2002) ont confirmé ces résultats chez des cobayes sensibilisés à un antigène. Les animaux ayant reçu des CLA produisent moins de médiateurs lipidiques de l'inflammation (en particulier moins de leucotriènes) que les animaux témoins n'ayant pas reçu de CLA.

Dans une étude *in vitro* sur des lignées macrophagiques, Yu *et al* (2002) ont observé que les CLA activent PPAR γ d'une façon comparable à un agoniste bien connu des PPAR, la prostaglandine PGJ₂. En revanche, l'acide linoléique n'a pas cet effet. Par contre, la diminution de l'expression des gènes de la COX₂, de iNOS et de TNF α ne semblent pas spécifiques, puisque ces effets sont observés également avec l'acide linoléique. Il est enfin intéressant de remarquer que la production de cytokines proinflammatoires n'est pas diminuée par les CLA, alors qu'un tel effet aurait été attendu puisque les agonistes de PPAR γ sont connus pour avoir un tel effet dépresseur.

5.4. CLA et eicosanoïdes

Les CLA sont généralement capables de diminuer la biosynthèse d'eicosanoïdes, ce qui est potentiellement de nature à affecter la fonction immunitaire. D'autres fonctions physiologiques peuvent être affectées par cette voie.

En 1997, il est apparu que les CLAs induisent une inhibition de la croissance cellulaire dans la lignée cancéreuse MCF-7 qui est contre-carrée par l'indométhacine (inhibiteur de la production de prostanoides) mais potentialisée par le NDGA (inhibiteur de la production de leucotriènes) (Cunningham *et al* 1997). Ceci indiquait la production d'eicosanoïdes induite par les CLAs avec des effets opposés.

Une étude réalisée sur des plaquettes sanguines humaines (Truitt *et al* 1999) a ensuite montré que le 18:2 9c,11t et 18:2 10t,12c inhibent de manière équivalente (IC₅₀ de 5 à 15 μ M) l'agrégation plaquettaire via l'inhibition de la formation de thromboxane.

En utilisant des cellules endothéliales de la veine saphène en culture, Urquhart *et al* (2002) ont ensuite montré que les CLAs (50/50) inhibent de manière dose-dépendante la formation de prostanoides induite par l'ionophore calcique A23187. Les auteurs en concluent que ces effets contribuent à l'activité anti-inflammatoire et anti-athérogène des CLAs, ce qui est contestable pour l'activité anti-athérogène puisque l'inhibition de la formation de prostacycline (puissant anti-agrégant plaquettaire et vasodilatateur) contribue plutôt au risque athérogène. Dans cette étude, une distinction a aussi été recherchée entre le 18:2 9c,11t et le 18:2 10t,12c. A forte concentration (100 μ M), le 18:2 9c,11t s'est à nouveau révélé inhibiteur de la formation de prostanoides alors que le 18:2 10t,12c s'est révélé fortement stimulateur de cette dernière.

Dans une approche similaire (Torres-Duarte & Vanderhoek, 2003) ont montré que le 18:2 9c,11t et le 18:2 10t,12c inhibent avec approximativement la même puissance (IC₅₀ de 5,5 et 2,6 μ M) la production de prostacycline induite par la thrombine dans des cellules endothéliales de veine ombilicale humaine en culture (HUVEC), contrairement à d'autres CLAs.

Une autre étude s'est attachée à évaluer l'effet de chacun des deux CLAs sur la libération spontanée, par les cellules endothéliales aortiques humaines, des deux vasodilatateurs et inhibiteurs de l'activation plaquettaire que sont la prostacycline et le monoxyde d'azote. Une inhibition significative de la libération de ces deux médiateurs a été observée avec 50 μ M de chacun des deux CLAs (Eder *et al* 2003).

Une étude réalisée *ex vivo* a également montré chez le cobaye que l'ingestion du mélange de CLAs provoque l'inhibition de la libération de tous les prostanoides et des leucotriènes peptidiques pulmonaires induite par l'ovalbumine (Whigham *et al* 2002). Ceci indique une possible protection des CLAs contre l'hypersensibilité dépendante des eicosanoïdes.

On peut conclure de ces six études que les CLAs affectent la capacité de production cellulaire des eicosanoïdes, généralement en les inhibant (à l'exception du 18:2 10t,12c à 100 μ M sur les cellules endothéliales de la veine saphène et des cellules cancéreuses MCF-7). Les effets résultants peuvent être considérés comme bénéfiques sur les plaquettes sanguines et le poumon dans la situation d'hypersensibilité, rôle potentiellement bénéfique qui avait été suggéré par les études sur la fonction immunitaire, mais néfastes sur l'endothélium vasculaire, favorisant ainsi pour partie le processus qui mène à l'athérosclérose.

6. Conclusions et recommandations

Conclusions

- Comme tout acide gras, les acides gras *trans*, conjugués ou non entrent dans toutes les voies métaboliques, acylation, oxydation, bioconversion.
- Ils interfèrent avec le métabolisme des autres acides gras, en particulier polyinsaturés, notamment au niveau des désaturases et donc affectent la bioconversion des acides gras non *trans*.
- Si les effets potentiellement délétères du 18:2 10*t*,12*c* sont bien montrés, en particulier au niveau hépatique, et peuvent être sur cette base opposés aux effets du 18:2 9*c*,11*t*, une distinction aussi claire est difficile en ce qui concerne les effets respectifs du 18:1 9*t*, 18:1 10*t* et 18:1 11*t*. Ces AG ont aussi bien une origine végétale qu'animale. Ce sont leurs teneurs respectives (leur profil) dans les produits qui caractérisent leur origine.
- Globalement, les mécanismes d'action des CLA pourraient mettre en jeu la voie des PPARs et la voie de la modulation des synthèses d'eicosanoïdes. Cependant, le nombre d'études dédiées aux mécanismes d'action de chacun des deux isomères conjugués de l'acide linoléique est aujourd'hui insuffisant pour délimiter les voies d'action de chacun des isomères. De plus ces voies d'action sont complexes et présentent des implications physiopathologiques encore insuffisamment étudiées.
- Dans l'optique d'une limitation des apports en AG *trans*, les AG *trans* d'origine animale devraient être pris en compte au même titre que ceux d'origine technologique.

Recommandations

• En termes de recherches :

Des recherches s'intéressant aux effets spécifiquement liés à chacun des AG monoènes *trans* les plus importants dans l'alimentation sont nécessaires. Elles devraient apporter des éléments utiles pour une meilleure compréhension de la relation éventuelle entre effet et origine des AG monoènes *trans*.

• En termes de santé publique :

Il faut limiter la consommation des AG monoènes et polyinsaturés *trans*. Pour cela, faute d'études toxicologiques selon les normes OCDE, il faudra probablement interpréter les résultats des études portant sur le risque de MCV.

La consommation de compléments alimentaires composés de mélanges de synthèse de CLA ne doit pas être autorisée (cette recommandation revêt une plus grande importance encore pour les mères qui allaitent) car les études sur le 18:2 9*c*,11*t* et le 18:2 10*t*,12*c* sont insuffisantes mais font clairement ressortir que selon l'isomère, on peut avoir beaucoup à craindre de leur consommation en termes de santé publique ou rien à gagner en l'absence d'effets bénéfiques clairement démontrés.

Il sera alors nécessaire de préciser l'impact de différentes pratiques traditionnelles d'élevage sur les teneurs en acides vaccénique 18:1 11*t* et ruménique 18:2 9*c*,11*t* des produits d'origine animale.

• En termes d'informations au consommateur

Il faudra apprendre au consommateur qu'il existe plusieurs types d'AG *trans*, comme il existe plusieurs types d'AG polyinsaturés, qu'il est trop tôt pour parler de « bon » ou de « mauvais » AG *trans*, et que l'ensemble des résultats scientifiques dont nous disposons ne permet pas de justifier une complémentation en CLA.

IV. AG *trans*, CLA et obésité et syndrome métabolique

A. Quignard-Boulangé P. Clouet et B. Schmitt

Les isomères conjugués de l'acide linoléique (CLA) sont connus pour posséder des propriétés biologiques très diversifiées. Ces propriétés sont à l'origine de l'intérêt récent porté à ces AG en vue de leur utilisation en santé humaine. Récemment, sur le marché sont arrivés des compléments alimentaires dont les effets anti-obésité et anti-diabétique ont fait l'objet d'allégations.

Afin de préciser le champ d'application de ce travail, plusieurs définitions sont nécessaires :

L'OBÉSITÉ

L'obésité est un excès de poids du à une augmentation des réserves énergétiques, c'est-à-dire à un excès de masse grasse. Elle est définie par plusieurs critères qui se complètent :

- l'indice de masse corporelle (IMC) ou Body Mass Index (MBI) est le rapport du poids (en kg) au carré de la taille (en mètre). En tenant compte de l'écart type autour de la moyenne, on admet que l'IMC est normal à l'intérieur de la fourchette de 20 à 25 kg/m² ; On parle de surcharge pondérale pour un indice à partir de 25 et inférieur à 30 kg/m², d'obésité modérée pour un indice à partir de 30 jusqu'à 35, d'obésité sévère pour un indice compris entre 35 et 40, et d'obésité très sévère ou morbide au delà de 40 ;
- Le rapport Masse grasse / Masse Maigre, mesuré par impédancemétrie. L'impédance est – pour un courant alternatif – l'équivalent de la résistance pour un courant continu. La technique est basée sur la capacité des tissus hydratés à conduire l'électricité délivrée sous forme d'un courant de 800 mA. à la fréquence de 50 kHz et 4 électrodes de surface. Chez l'homme, la masse grasse ne doit pas excéder 20 % de la masse corporelle totale. Chez la femme, la limite supérieure est de 30 % de la masse corporelle totale ;
- Le tour de taille (TT) mesuré en centimètres. Chez l'homme, on considère le TT normal en dessous de 94 cm, et pathologique au-dessus de 102 cm. Chez la femme, les chiffres sont respectivement de 80 et 88 cm. Un IMC supérieur à 30 et un TT supérieur à 102 chez l'homme et 88 chez la femme définit l'obésité androïde, considérée comme un facteur de risque métabolique et cardiovasculaire important.

LE DIABÈTE

Pour l'OMS, la définition du diabète répond aux critères suivants : « Une glycémie à jeun supérieure à 1,40 g/l à deux reprises est suffisante pour affirmer le diagnostic. Il n'y a pas lieu de demander une hyperglycémie orale. Lorsque la glycémie à jeun est inférieure à 1,40 g/l, une glycémie à la deuxième heure d'une hyperglycémie provoquée orale supérieure ou égale à 2 g/l, et ce à deux reprises, à six mois d'intervalle, permet également d'affirmer le diagnostic de diabète ».

Cette définition a été abandonnée par l'ADA (American Diabetes Association) et l'EASD (European Association for the Study of Diabetes) au profit d'une nouvelle définition plus simple dans son énoncé mais plus stricte dans ses conséquences : « Le Diabète est défini par l'existence d'une glycémie à jeun supérieure ou égale à 7 mmol/l (ou 1,26 g/l) contrôlé à deux reprises ou une glycémie post-prandiale après deux heures, supérieure ou égale à 11,1 mmol/l (ou 2 g/l) contrôlée à deux reprises. On parle d'intolérance au glucose lorsque la glycémie à jeun est comprise entre 6,1 et 7 mmol/l (1,10 et 1,26 g/l) ».

LE SYNDROME MÉTABOLIQUE

Le syndrome métabolique constitue l'un des facteurs de risque métabolique et cardiovasculaire dont l'incidence et la prévalence augmentent parallèlement à celle de l'obésité. La définition du Syndrome métabolique n'est pas encore clairement arrêtée.

- Selon l'OMS (Alberti et al. *Definition, diagnosis and classification of Diabete Mellitus and its complication.1: Diabet Med, 1998, 15, 539-53.*), on parle de Syndrome Métabolique lorsqu'il existe au moins un des facteurs suivants :

- Glycémie à jeun $\geq 6,1$ mmol/l (1,1 g/l) et/ou HGPO à la 2^e heure $\geq 7,8$ mmol/l (1,4 g/l) ;
- Insulinémie (Clamp $< Q_1$ où Q_1 correspond à la valeur limite correspondant aux 25 % des sujets de la population ayant les valeurs les plus basses).

Associé à au moins 2 des facteurs suivants :

- TA (PA $> 140/90$ mm Hg) ;
- Obésité (IMC > 30) ou rapport taille/hanche $> 0,9$ (♂) ou $> 0,85$ (♀) ;
- HDL-cholestérol $< 0,9$ mmol/l (0,36 g/l) chez l'homme et $< 1,0$ (0,4 g/l) chez la femme et/ou TG $> 1,7$ mmol/l ;
- Microalbuminurie > 20 mg/min ou Alb/creat 30 mg/g.

- La définition du NCEP ATP III (National Cholesterol Education Programm) (*Executive summury of the third Report of the National Cholesterol Evaluation Program (NCEP) Expert Panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III, JAMA May 16, 2001, vol 285, N° 19)*) :

Le syndrome métabolique se définit par la présence **d'au moins 3 des critères suivants** :

- Tour de taille > 102 cm chez l'homme et 88 cm chez la femme ;
- Triglycérides $\geq 1,5$ g/l ;
- HDL-C $< 0,40$ g/l (1,0 mmol/l) chez l'homme et $0,50$ g/l (1,3 mmol/l) chez la femme. HTA connue ou PA $\geq 130/85$ mmHg ;
- Glycémie à jeun $\geq 1,10$ g/l (6,1 mmol/l).

NB : Cette définition ne prend pas en compte la notion de résistance à l'insuline car les problèmes du métabolisme du glucose se développent habituellement tardivement.

- La définition de l'EGIR (European Group for the Study of Insulin Resistance) est la suivante (BALKAU B, CHARLES MA. *Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). Diabet Med 1999; 16: 442-443*).

- Une hyperinsulinémie (insulinémie à jeun $> Q_4$) (Valeur limite correspondant aux 25 % des sujets de la population ayant les valeurs les plus élevées).

Et au moins 2 critères suivants :

- Hyperglycémie à jeun ($> 6,1$ mmol/l) ;
- HTA (PA systolique ≥ 140 et/ou PA diastolique ≥ 90) et/ou traitement anti-HTA ;
- Dyslipidémie (TG $> 2,0$ mmol/l et/ou HDL-c $< 1,0$ mmol/l et/ou traitement) ;
- Obésité centrale : tour taille > 94 cm chez l'homme et > 80 cm chez la femme.

Le Syndrome métabolique s'accompagne en outre d'autres perturbations :

- élévation modérée des protéines de l'inflammation (CRP+++ , ferritine, fibrinogène) ;
- Hyperuricémie ;
- Anomalies des facteurs de l'hémostase (PAI-1++ , facteur Von Willebrand et facteur VII) ;
- Stéatose hépatique ;
- Hyperhomocystéinémie.

En conclusion, le syndrome métabolique dans la définition la plus communément admise comprend au moins 3 anomalies suivantes : tour de taille élevé, triglycérides supérieurs à 1,7mmol/l, un cholestérol HDL inférieur à 1,03 mmol/l, pression artérielle supérieure à 130/85 mm Hg, glycémie supérieure à 6,1mmol/L. La prévalence des anomalies rencontrées dans le syndrome métabolique varie selon le pays. La valeur prédictive de l'hypertriglycéridémie est d'autant plus importante que la glycémie est élevée. Ainsi en France, le premier critère est la pression artérielle alors qu'aux USA, c'est l'obésité abdominale. De même, le cholestérol HDL bas est plus souvent retrouvé chez les femmes américaines que chez les Françaises.

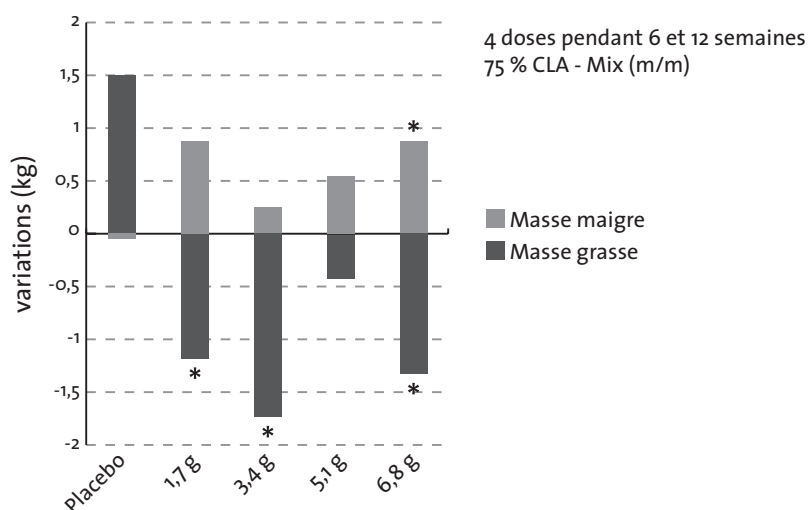
1. Effets des CLA sur la composition corporelle

Il a été montré que les CLA opéraient des changements de la composition corporelle aboutissant à une réduction de la masse grasse et une augmentation de la masse maigre dans différentes espèces animales (Evans *et al*, 2002). En revanche, les propriétés anti-obésité des CLA n'ont pas été clairement mises en évidence chez l'homme.

1.1. Effets des CLA sur la composition corporelle chez l'homme.

L'analyse des effets chez l'homme montre qu'il est difficile de savoir si les CLA ont une action sur la régulation de la masse grasse. Une première remarque concerne les méthodes utilisées pour mesurer cet effet. Selon les études, on voit que l'effet anti-obésité est testé par la mesure des variations soit de poids corporel, soit de l'IMC ou soit de masse grasse. Dans l'étude de Bankson *et al.* (2000), l'effet anti-obésité est mesuré par la variation de masse grasse après l'administration du mélange d'isomères chez des patients obèses pendant 3 mois. On observe une diminution de la masse grasse dès la dose la plus faible qui s'accompagne d'une augmentation de la masse maigre à la plus forte dose (Figure 69).

Figure 69 : CLA et composition corporelle chez l'homme. (Blankson *et al*, 2000)



On remarque que, après 3 mois de traitement, la perte de poids est faible, de l'ordre de 1,5 kg chez des patients obèses, ce qui représente une perte de 1,8 % de poids corporel après 3 mois. De plus, l'effet anabolisant observé sur la masse maigre peut être expliqué par une augmentation de l'activité physique intensive chez les patients recevant la dose la plus forte.

D'autres études ont été réalisées chez des sujets non obèses et obèses et le tableau 64*** montre les résultats contradictoires de l'effet des CLA sur la composition corporelle chez l'homme.

Tableau 64*** : Effets des CLA sur la composition corporelle chez l'homme.

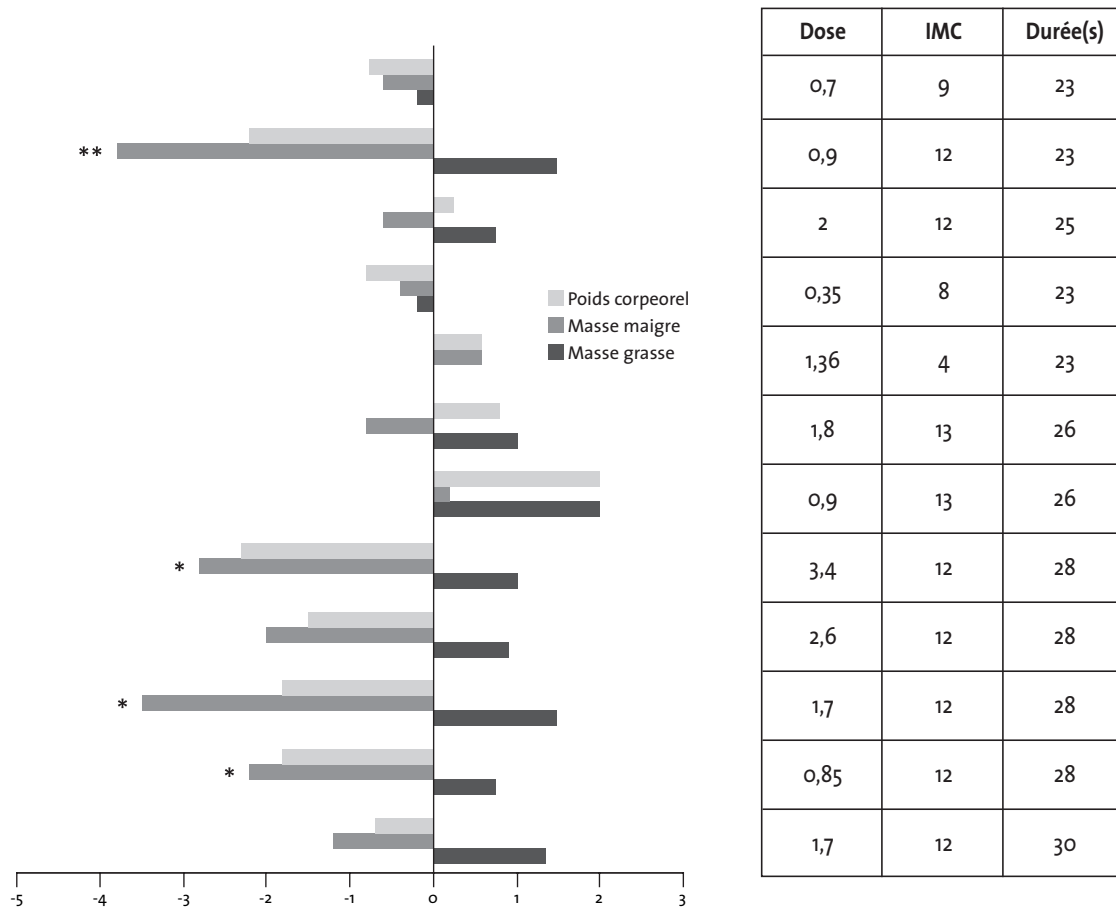
Sujets	Nombre	IMC	Traitement g/ j	Durée	Effets	Référence
F	17	< 25	1,2	9 sem	o effet	Zambell, 2000
H/ F	50	< 25	3,2	12 sem	↓3,8 % MG	Smedman, 2001
H	23	< 25	2,4 + exerc	4 sem	o effet	Kreider, 2002
H/ F	10/ 10	< 25	1,8	12 sem	↓4 % MG	Thom, 2001
H/ F	180	< 30	3,6	12 mois	↓5 % MG	Gaulier, 2004
H/ F	14/ 10	< 30	0,7 – 1,4	4 sem + 4 sem	↓ % MG, MG	Mougiou, 2001
F	60	< 30	2,1	45 jours	o effet	Pedridou, 2003
H	90	< 30	1,5 – 3 9c,11t/ 10t,12c	18 sem	o effet	Malpuech-Brugère, 2004
H/F	80	> 30	2,7	6 mois	Effet exercice	Atkinson, 1999
H/F	24	> 30	3,2	4 sem	↓diam abdo	Riserus, 2001
H/F	60	> 25 et < 35	1,7-6,8	12 sem	↓MG	Blankson, 2000
H/F	60	< 35 VLDC	1,8-3,6	13 sem	↓%MG, ↑MM	Kamphuis, 2003
H	25	> 30	2,5 9c,11t	12 sem	↑PC, ↑IMC	Riserus, 2004
H	49	> 30	0,6-2,4 9c11t/10t12c	13 mois	o effet	Tricon, 2004

Exerc= exercice physique ; VLDC= diète hypocalorique ; le traitement correspond à une quantité du mélange de CLA ou des isomères 9c,11t et 10t,12c. IMC= indice de masse corporelle ; PC= poids corporel ; MG = masse grasse ; MM= masse maigre ; Diam Abdo= Diamètre abdominal ; sem = semaines.

On remarque que, chez les sujets normo-pondéraux (IMC<25), les résultats sont partagés : les CLA pendant 12 semaines diminuent le pourcentage de masse grasse dans 2 études et sont sans effet dans 2 autres. Cette différence de résultats ne semble pas liée à la dose. Dans l'étude de Thom, l'augmentation de l'activité physique peut expliquer la diminution de la masse grasse obtenue par ce traitement (Thom *et al*, 2001). Chez les obèses, la majorité des études décrit un effet bénéfique d'un mélange de CLA sur la diminution de la masse grasse. On doit souligner que l'estimation des effets des CLA fait appel à différentes technologies qui ne sont pas toujours adaptées. En effet, les variations du poids corporel, de l'IMC, du pourcentage de masse grasse ou de la répartition de la masse grasse ne permettent pas d'estimer de manière identique si les CLA produisent ou non une réduction de la masse grasse. Une étude récente portant sur 180 sujets montre que l'administration de 3,6g/jour pendant 12 mois aboutit à une diminution de 5 % de la masse grasse corporelle (Gaulier *et al*, 2004). On attribue les effets anti-obésité des CLA à l'isomère 10t,12c et la dose nécessaire du mélange des isomères varie entre 0,6 à 6 g par jour. Une étude montrant une corrélation négative entre la teneur plasmatique en isomère 10t,12c et la leptine circulante est en accord avec un effet isomère spécifique sur le contrôle de la masse grasse (Belury *et al*, 2003).

La Figure 70 permet de quantifier les effets de l'isomère 10t,12c sur la masse grasse et sur la masse maigre en fonction de la dose et de l'IMC initial.

Figure 70 : Effets des CLA sur le poids corporel, la masse grasse et la masse maigre observés dans diverses études (d'après le Tableau 81).



Les variations des paramètres induites par le traitement sont exprimés en kg et la valeur de la correspond à l'isomère 10*t*,12*c* CLA. (d'après Tersptra AHM, 2004). Valeurs différentes par rapport au groupe contrôle : **P*<0,05, ** *P*<0,01.

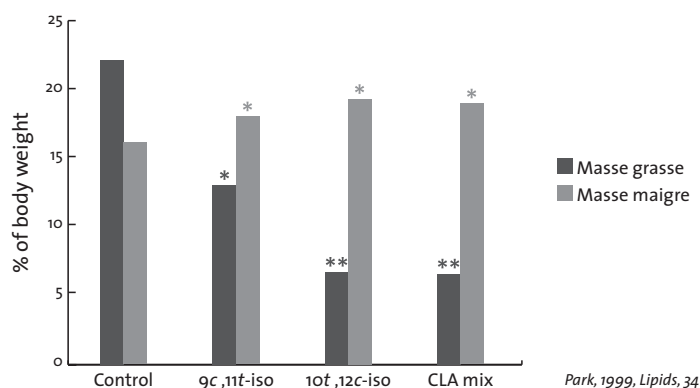
Concernant l'isomère 9*c*-11*t*, le groupe de Vessby a étudié son effet sur un petit nombre de patients présentant une obésité de type androïde (Riserus *et al*, 2004). Cette étude montre qu'un traitement de 3g/jour de 9*c*11*t* pendant 12 semaines provoque un gain de poids de plus de 1 kg associé à une réduction de 15 % de la sensibilité à l'insuline suggérant que l'isomère 9*c*-11*t* a des effets délétères sur la sensibilité à l'insuline et l'IMC. A l'opposé, des études comparatives entre les deux isomères montre qu'il n'y pas d'effet isomère-spécifique sur l'IMC ou la masse grasse quelle que soit la dose administrée (Malpuech-Brugere *et al*, 2004 ; Tricon *et al*, 2004). En revanche, le ratio du cholestérol LDL/HDL est diminué par une administration de l'isomère 9*c*-11*t* pendant 13 mois suggérant un effet bénéfique de cet isomère pour la prévention de l'athérosclérose : cet effet est spécifique puisqu'une même quantité de l'isomère 10*t*,12*c* augmente le rapport du LDLc/HDLc traduisant un effet proathérogène (Tricon *et al*, 2004).

Un autre point important était de savoir si les CLA peuvent s'opposer au « rebond » de prise de poids suivant l'arrêt d'une restriction calorique. L'étude de Kamphuis *et al* montre qu'une supplémentation de 1,8 g ou 3,6 g par jour pendant 13 semaines ne permet pas un maintien du poids corporel mais permet de maintenir la diminution du pourcentage de masse grasse, cet effet étant lié au regain de masse maigre (Kamphuis *et al*, 2003).

1.2. Effets des CLA sur la composition corporelle chez l'animal

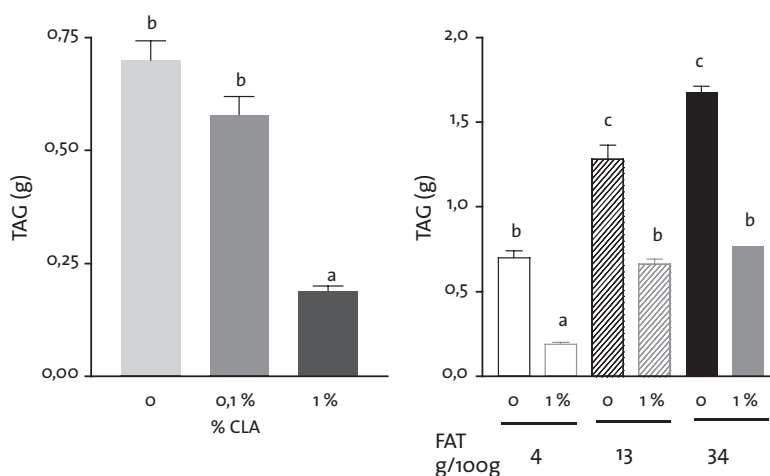
L'analyse des différentes études menées dans différentes espèces souligne une grande disparité dans la sensibilité des animaux aux CLA. En 1997, Park *et al* ont été les premiers à mettre en évidence qu'un apport alimentaire de 0,5 % (g/100g de régime) d'un mélange des isomères 9*c*-11*t* et 10*t*,12*c* pendant un mois entraînait une réduction de la masse grasse chez la souris (Park *et al*, 1997). Dans une autre étude, ils ont pu mettre en évidence que cet effet anti-obésité était plus particulièrement imputable à l'isomère 10*t*,12*c* (fig.70) (Park *et al*, 1999).

Figure 71 : CLA et composition corporelle chez la souris.



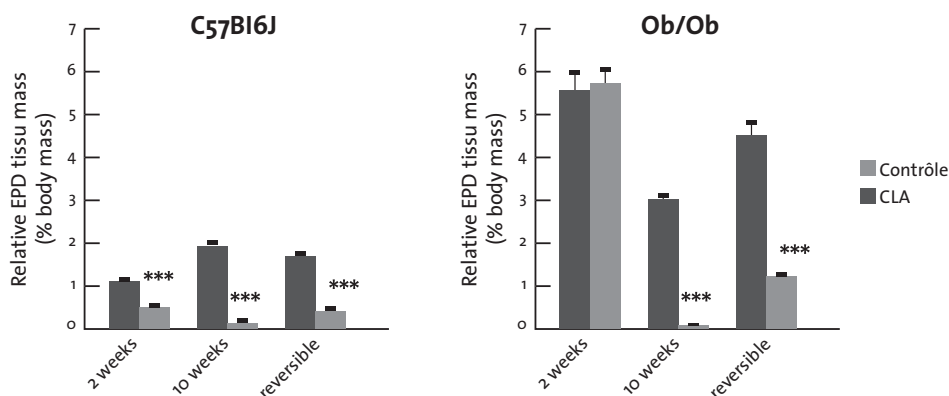
Parallèlement, on remarque que cette réduction de la masse grasse s'accompagne d'un effet anabolisant sur le muscle (Fig. 71). Chez la souris, il existe un consensus sur un effet lipodystrophique des CLA que ce soit avec un mélange des deux isomères ou avec l'isomère 10t,12c seul, pour une dose variant de 0,5 à 1 % (g/100g) dans le régime, ce qui correspond à un apport journalier de 15 à 30 mg ou de 0,5 à 1g par Kg. Toutefois, l'apport lipidique alimentaire est un facteur important pour cet effet. En effet, l'augmentation du pourcentage de lipides dans la ration alimentaire permet de protéger la souris contre l'effet lipoatrophique des CLA. (Fig. 72) (Tsuboyama-Kasaoka N *et al*, 2003).

Figure 72 : Influence de l'apport lipidique nutritionnel sur la réduction de la masse adipeuse induite par les CLA chez la souris.



On observe aussi un effet bénéfique des CLA chez les animaux nourris avec un régime hyperlipidique puisque ces animaux ne développent pas d'obésité en réponse à ce régime (Fig. 72). D'autres études ont confirmé ces résultats montrant que les CLA réduisent l'accumulation de la masse grasse indépendamment de l'apport lipidique (West DB *et al*, 1998 ; Wang YW *et al*, 2004). Ces résultats sont à prendre en considération pour expliquer peut-être les résultats contradictoires obtenus chez l'homme. En fait, il convient de distinguer l'effet anti-obésité de l'effet lipoatrophique des CLA : le premier qui empêche le développement d'une obésité de type nutritionnel (régime gras), le second qui provoque une disparition de la masse grasse. Ainsi, des résultats opposés ont été observés sur des animaux en croissance et sur les animaux adultes montrant que seuls les animaux en croissance sont sensibles au traitement. Dans des modèles d'obésité génétique (souris ob/ob), l'effet anti-obésité est aussi observé sans réduction de l'énergie ingérée (JC Martin *et al*, en cours de publication). Au cours de cette étude, une réversibilité de l'effet anti-obésité des CLA a été aussi observée. En effet, les animaux soumis à un régime avec 1 % (g/100g) d'un mélange d'isomères pendant 3 mois puis un régime en l'absence de CLA pendant 1 mois ont une restauration partielle de leurs masses adipeuses (Fig. 73).

Figure 73 : Effets des CLA sur le tissu adipeux epididymaire chez la souris obèse ob/ob et non obèse C57/Bl6.



Ce phénomène de réversibilité a également été observé chez des souris C57BL/6 ayant ingéré 1 % d'isomère 10 α ,12c pendant 4 semaines. Vingt cinq jours après l'interruption du régime, la masse du tissu adipeux périépididymaire est multipliée par 3,5 (P. Degrace *et al*, en cours de publication).

Il existe aussi une grande différence de sensibilité en terme d'effet anti-obésité des CLA selon les espèces. La souris est l'espèce la plus sensible puisqu'un apport de 0,5 % conduit à une réduction de 40 % à 80 % de la masse grasse (Wang *et al*, 2004). Une réduction des dépôts adipeux est aussi observée chez le rat mais avec un apport en CLA supérieur (1,5 %) et des effets moindres. En revanche, une étude récente de supplémentation par le mélange ou les isomères montre une absence de réduction de la masse grasse chez le rat adulte (Mirand *et al*, 2004) suggérant que l'effet des CLA se manifeste seulement chez le rat en croissance. En outre, chez le rat Zucker obèse, un apport à 0,5 % de CLA pendant 5 semaines augmente le poids des tissus adipeux (Sisk *et al*, 2001). Chez le porc ou le hamster, les résultats sont controversés et l'effet anti-obésité est faible (Muller *et al*, 1999 ; Ostrowska *et al*, 1999 ; Gavino *et al*, 2000 ; Bouthegourd *et al*, 2002). Ainsi des conditions expérimentales, telles que l'âge, l'espèce, l'état métabolique du modèle animal, tout comme la dose, l'isomère et la durée de traitement doivent être prises en considération pour statuer sur le potentiel anti-obésité des CLA.

1.3. Conclusion

Chez l'homme, il n'y a pas de consensus sur la réduction de la masse adipeuse et l'effet anti-obésité est discutable. De plus, dans les études montrant un effet anti-obésité, cet effet est très modéré, même après un an de traitement. Il est probable qu'il s'agisse plus d'une modification de la répartition de la masse grasse qu'une réelle diminution de celle-ci. Il est possible que la modicité voire l'absence d'effet du 10 α ,12c sur la composition corporelle chez l'homme soit liée à la dose administrée et/ou aux apports lipidiques nutritionnels. La dose du mélange varie de 1,4g/jour (Mougios *et al*, 2001) à 6,8g/jour (Blankson *et al*, 2000). Si on ajuste une dose moyenne de 3,4g/jour en fonction du poids corporel, l'apport en CLA est de l'ordre de 50mg/kg. Par comparaison, l'apport chez la souris est de l'ordre de 1g/kg, soit une dose 20 fois supérieure à celle administrée à l'homme. Si on exprime ces doses en fonction de l'énergie ingérée, la dose chez la souris est 3 fois plus importante que chez l'homme. On remarque aussi que chez les souris nourries avec un régime hyperlipidique (45 % de calories lipidiques) qui est proche du régime habituel chez l'homme (« Western diet »), la dose devient comparable à celle décrite chez l'homme (de l'ordre de 300-500mg/MJ). Ces estimations ne tiennent pas compte des espaces de dilutions des isomères ni des niveaux du métabolisme énergétique.

2. Résistance à l'insuline

2.1. Résistance à l'insuline chez l'homme

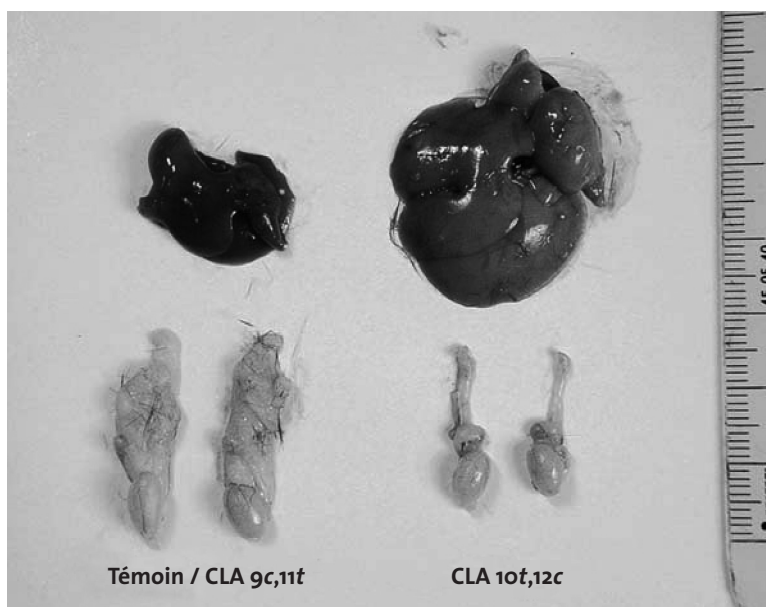
Chez l'homme, plusieurs études ont montré, de façon paradoxale, que la réduction de la masse grasse ne s'accompagne pas de modification de la sensibilité à l'insuline (Riserus, *et al*, 2001 ; Smedman et Vessby, 2001). Plus récemment, d'autres études ont porté sur l'effet spécifique des deux principaux isomères 9c-11 α et 10 α ,12c. L'administration de 3,4g/jour d'isomère 10 α ,12c pendant 12 semaines induit, chez des sujets obèses, une résistance à l'insuline, mesurée par un clamp euglycémique (hyperinsulinémique) (Riserus *et al*, 2002). En relation avec cet effet, l'isomère 10 α ,12c augmente la proinsuline, le rapport proinsuline/insuline et le peptide C. En revanche, on

observe que l'adiponectine plasmatique reste inchangée en dépit d'une diminution de la sensibilité à l'insuline (Riserus *et al*, 2004). Une seule étude a porté sur les effets de l'isomère 9c-11t sur la sensibilité à l'insuline dans un groupe de patients présentant une obésité de type androïde. Après une supplémentation de 3 g/jour pendant 12 semaines, la composition corporelle et les paramètres lipidiques sont inchangés. En revanche, le traitement s'accompagne d'une diminution de la sensibilité à l'insuline et une augmentation de la peroxydation lipidique (Riserus *et al*, 2003). A contrario, on peut citer le travail de Schmitt *et al* (2003), sur l'amélioration de l'insulinorésistance chez le diabétique de type 2 par l'apport de 0,3 g/j de CLA 9c-11t d'origine laitière dans un groupe de 17 diabétiques de type 2. Cette supplémentation s'est traduite par une augmentation significative des CLA circulants (+157 %), une diminution de 18,6 %* des besoins insuliniques, une diminution de 27 % de la résistance insulinique (HOMA-test) mais sans amélioration significative des glycémies à jeun et de l'hémoglobine glyquée par rapport au groupe témoin. Parallèlement, on constate une diminution significative du tour de taille de 2,24 cm mais sans changement significatif ni du poids ni de l'IMC. L'existence d'une corrélation négative entre la sensibilité à l'insuline et l'oxydation peroxydomale des lipides a permis d'émettre une hypothèse concernant les mécanismes d'action des CLA (Riserus *et al*, 2004 ; Basu *et al*, 2000). Les CLA via une augmentation de la peroxydation lipidique conduiraient à un stress oxydant qui altère la signalisation insulinique (Rudich *et al*, 1997 ; Tirosh *et al*, 1999). Ces résultats montrent un effet délétère sur la sensibilité à l'insuline des deux isomères, qui est indépendant de l'effet anti-obésité. D'autres études ont toutefois mis en évidence un rôle préventif des CLA et notamment du 9c-11t sur le stress oxydatif (Banni *et al*, 1998; Risérus *et al* 2002 ; Risérus *et al*, 2004). L'augmentation des marqueurs de l'inflammation PGF2 α constatée lors de l'administration de CLA pourraient ainsi être indépendante du stress oxydant (Riserus *et al*, 2002).

2.2. Résistance à l'insuline chez l'animal

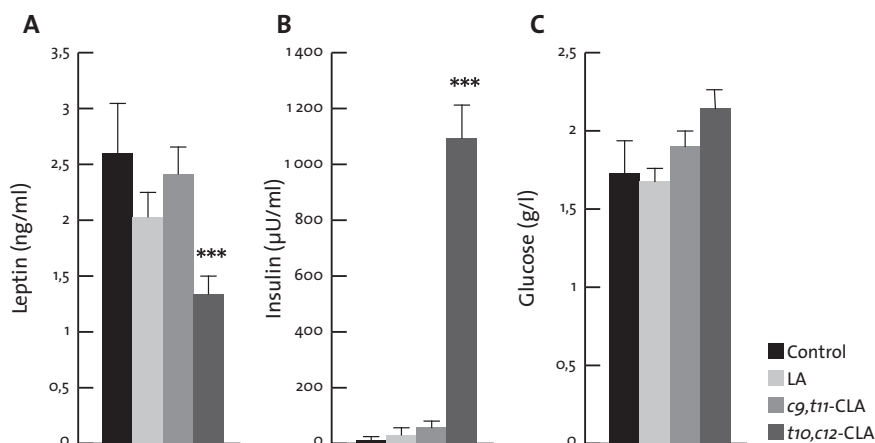
Chez la souris, il est bien établi que l'isomère 9c, 11t de l'acide linoléique (CLA 9c,11t) ne modifie pas la masse ni du foie, ni du tissu adipeux (Park *et al*, 1999); en revanche l'isomère 10t-12c (CLA 10t,12c) déclenche une atrophie du tissu adipeux qui paraît être compensée par une hypertrophie stéatosique du foie (Clement *et al*, 2002 ; Degrace *et al*, 2003).

Photo 1 : Foies et tissus adipeux épидидymaires de souris traitées avec CLA 9c,11t et CLA 10t,12c. CLA 9c,11t détermine une morphologie des organes proche de celle des organes témoins (Degrace *et al*, 2003).



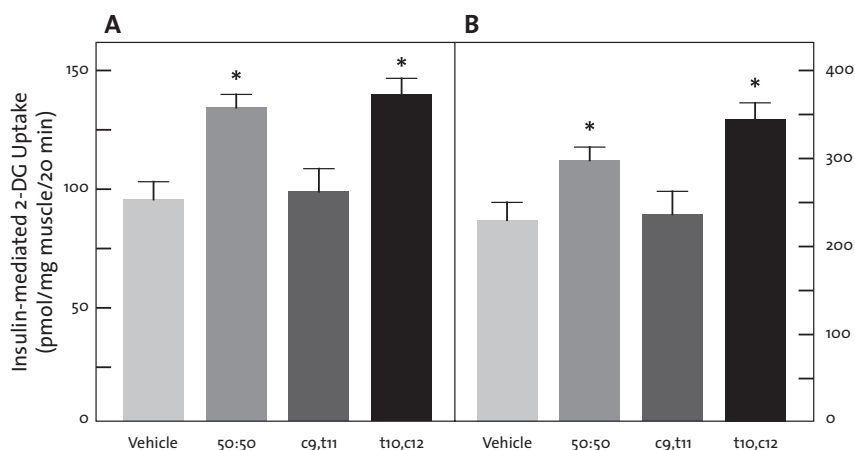
La photo 1 illustre l'atrophie du tissu adipeux et l'hypertrophie hépatique observées chez des souris mâles de souche C57BL/6 soumises pendant 28 jours à un régime contenant 1 % de CLA 9c,11t ou d'acide oléique (partie gauche de la photo) ou de CLA 10t,12c (partie droite). Chez la souris, la disparition de la masse adipeuse conduit à un syndrome de diabète lipodystrophique (Wang *et al*, 2004). Cet effet paradoxal pourrait s'expliquer par les modifications de leptine circulante (Yamasaki *et al*, 2000 ; Takahashi *et al*, 2002). La leptine joue un rôle important dans l'homéostasie glucidique et il est raisonnable de penser que la réduction de leptine plasmatique modifie la sensibilité à l'insuline (Kamohara *et al*, 1997). Plusieurs études ont montré que l'isomère 10t,12c provoque une augmentation de l'insulinémie et/ou une insulinorésistance sans modification de la glycémie (Tsuboyama-Kasaoka *et al*, 2000 ; Clement *et al*, 2002 ; Roche *et al*, 2002; DeLany, 1999) (Fig.74).

Figure 74 : Effets des isomères 10*t*,12*c* et 9*c*-11*t* sur l'insulinémie, la glycémie et la leptinémie chez la souris (Clement *et al*, 2002).



Des résultats contradictoires ont été obtenus dans un modèle de diabète de type 2 (rat ZDF) puisqu'un traitement par un mélange de CLA augmente la tolérance au glucose et la réponse à l'insuline dans le muscle (Houseknecht *et al*, 1998 ; Ryder *et al*, 2001, Henriksen *et al*, 2003) (Fig. 75).

Figure 75 : Effets des isomères de CLA sur le transport de glucose en réponse à l'insuline dans les muscles squelettiques du rat Zucker obèse. A= epitrochlearis ; B=soleus.

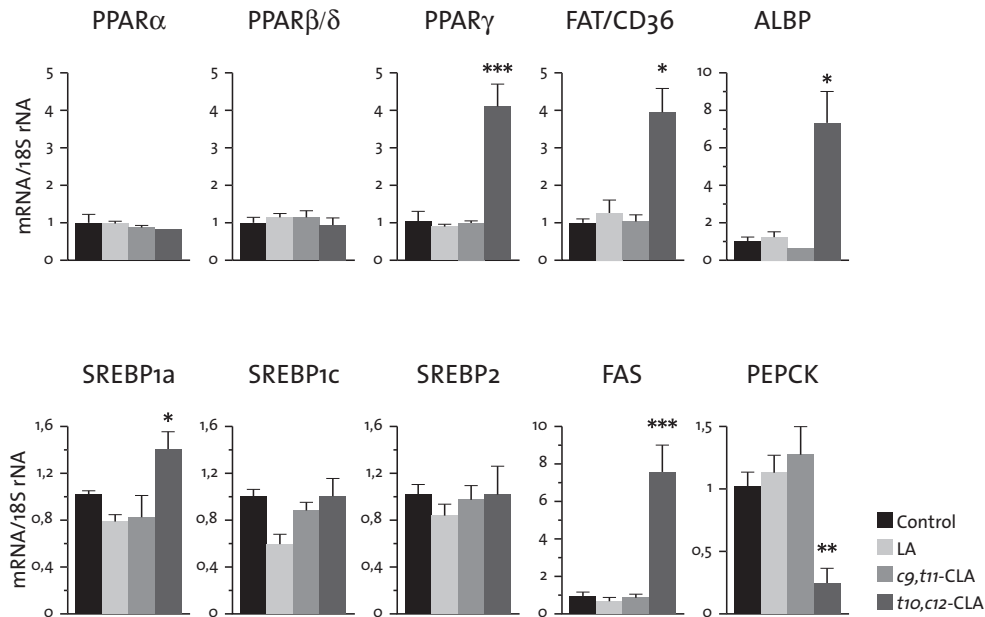


Dans ce modèle, cet effet anti-diabétique est associé à une réduction des lipides dans le muscle permettant une meilleure utilisation du glucose et doit être attribué à l'isomère 10*t*,12*c*, l'isomère 9*c*-11*t* étant métaboliquement neutre (Henriksen *et al*, 2003). Ainsi, l'isomère 10*t*,12*c* exerce des effets opposés (diabétogène ou antidiabétique) selon l'espèce et l'état métabolique de l'animal.

Chez la souris C57/BL6, l'isomère 10*t*,12*c* provoque une extrême résistance à l'insuline car la glycémie est plus élevée que la normale en dépit d'une insulinémie très élevée (Fig. 74) et d'une répression de la transcription de l'enzyme clé de la néoglucogénèse, la phosphoénolpyruvate carboxykinase (PEPCK) (Fig. 76).

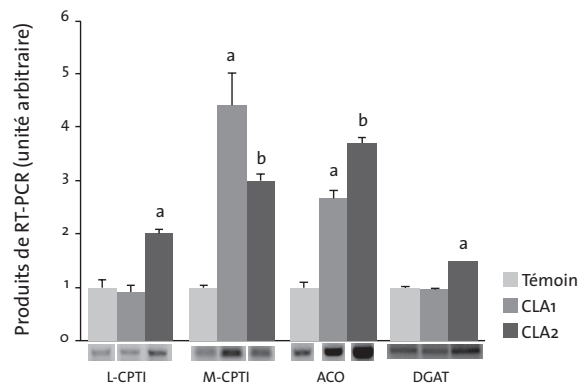
L'hypertrophie hépatique s'accompagne d'un profond changement dans l'expression de gènes impliqués dans l'accumulation des lipides. On observe une abondance remarquable des messagers de PPAR γ qu'on trouve de façon habituelle exclusivement dans le tissu adipeux, mais exceptionnellement dans le foie lorsque les souris reçoivent l'isomère 10*t*,12*c* (Fig. 76). On a donc affaire à une mise en place dans le foie de mécanismes de stockage lipidique habituellement réservés au tissu adipeux. L'étude de l'expression de divers gènes montre que leur niveau d'expression augmente comme c'est le cas pour FAT/CD36 qui favorise le captage des AG libres après traitement par CLA 10*t*,12*c* (Fig. 76). De plus, on observe une forte augmentation de l'expression d'une enzyme clé de la lipogénèse, la fatty acid synthase (FAS) (Clément *et al*, 2002, Degrace *et al*, 2003).

Figure 76 : Effets des isomères 9c,11t et 10t,12c de CLA sur l'expression des gènes hépatiques (Clement *et al*, 2002).



En ce qui concerne la carnitine palmitoyltransférase (CPT1) qui représente l'étape clé de l'oxydation mitochondriale des acides gras à longue chaîne, il existe deux isoformes, l'une présente dans le foie (L-CPT1) et l'autre présente dans le muscle (M-CPT1) et aussi dans le tissu adipeux. Il n'est donc pas incohérent que le traitement par l'isomère 10t,12c augmente dans le foie l'expression des messagers de PPARγ (Fig. 76) et ceux de la M-CPT1 (Fig. 77) qui sont habituellement exprimés dans le tissu adipeux. On observe aussi une augmentation de l'expression de la L-CPT1 et de l'acyl-CoA oxydase peroxysomale (ACO) dont la régulation est assurée par l'activation de PPARα, même si le niveau d'expression de ces récepteurs n'est pas modifié (Fig. 77 et Fig. 76).

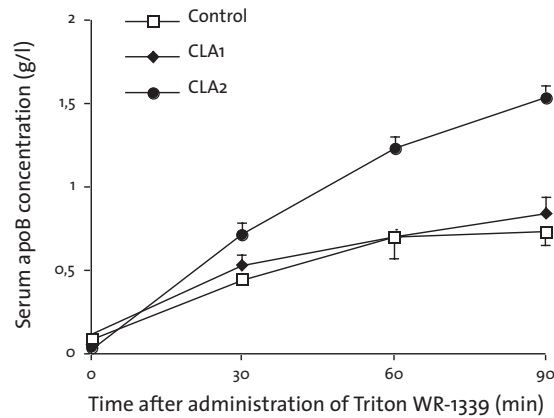
Figure 77 : Expression des messagers de L-et M-CPT 1, de l'ACO et de la DGAT dans le foie des souris C57BL/6 traitées par le 9c,11t ou le 10t,12c -CLA. (Degrace *et al*, 2004).



De façon coordonnée, l'expression de la diacylglycérol acyltransférase (DGAT) qui représente l'étape clé de la synthèse des triglycérides augmente significativement (Fig. 77) et oriente, via la synthèse de l'enzyme, davantage d'AG vers l'estérification (stockage en triglycérides et vraisemblablement synthèse de lipoprotéines).

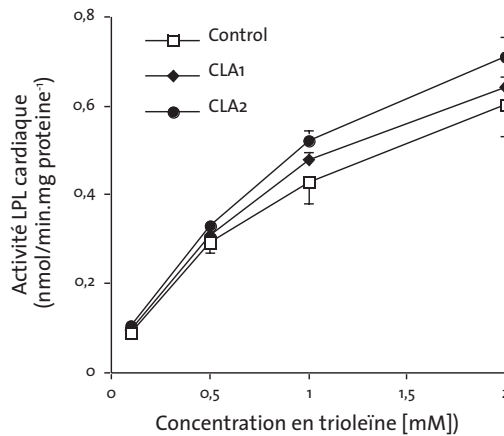
D'autre part, il est intéressant de souligner que la triglycéridémie diminue d'environ 3 fois avec le même traitement, ce qui doit correspondre à la baisse de la lipoprotéinémie estimée selon le contenu du plasma en apoB (Degrace *et al*, 2003). Ces derniers résultats suggèrent que le foie sécrète moins de lipoprotéines et alimente ainsi sa stéatose ; pourtant l'étude de l'évolution temporelle de la concentration en apoB dans le sérum sous l'effet de l'inhibition générale des lipoprotéines lipases par le Triton WR-1339 (Fig. 78) montre que la sécrétion du foie des souris traitées par CLA 10t,12c est presque 2 fois plus élevée que dans les 2 autres groupes. L'accumulation des lipides dans le foie paraît ainsi dépendre d'autres facteurs que ceux qui sont relatifs à l'élaboration et à la sécrétion des lipoprotéines.

Figure 78 : Estimation de la sécrétion de VLDL par mesure de la concentration sérique en apoB chez des souris traitées par CLA 9c,11t ou CLA 10t,12c.



La lipolyse des lipoprotéines circulantes au niveau des organes utilisant majoritairement les AG comme sources énergétiques représente une hypothèse vraisemblable ; pourtant la mesure *in vitro* de l'activité de la lipoprotéine lipase dans le muscle cardiaque ne révèle aucune différence d'activité entre les groupes de souris traitées ou non par CLA 10t,12c (Fig. 79).

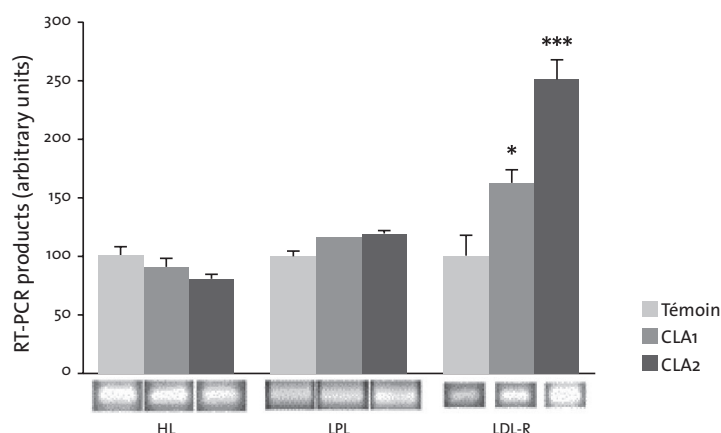
Figure 79 : Activité de la lipoprotéine lipase (LPL) cardiaque mesurée avec la trioléïne radioactive dans les surnageants d'homogénats tissulaires.



Des résultats similaires sont obtenus à partir de la lipase hépatique dans les 3 groupes testés (Degrace *et al*, 2003).

Parmi d'autres hypothèses, figure l'augmentation d'activité des récepteurs hépatiques aux LDL (Degrace *et al*, 2004). Les données actuelles montrent que l'expression des messagers de ces récepteurs est augmentée après traitement par CLA 10t,12c et même par CLA 9c,11t alors que celles de la LPL et de la lipase hépatique ne sont pas significativement modifiées (Fig. 80).

Figure 8o : Effets de isomères 9c,11t (CLA 9c,11t) et 10t,12c (CLA 10t,12c) sur l'expression de gènes hépatiques. HL=lipase hépatique ; LPL= lipoprotéine lipase, LDL-R = récepteur aux LDL.



Comme dans le tissu adipeux (Fig. 73), la réversibilité des effets a été observée au niveau du foie puisque la stéatose hépatique a quasi totalement régressé 25 jours après l'interruption du régime. Les activités relatives à l'oxydation des AG à longue chaîne dans les peroxyosomes et mitochondries (qui sont augmentées après traitement) diminuent sensiblement après 10 jours et sont pratiquement revenues à la normale après 25 jours de régime standard (P Degrace *et al*, en cours de publication).

L'ensemble de ces données illustre l'importance des perturbations métaboliques atteignant le foie de façon directe via CLA 10t,12c et/ou ses dérivés, et de façon indirecte par l'afflux de lipides libérés du tissu adipeux sous l'effet, vraisemblablement, des mêmes composés ; une fois internalisés, ces lipides représentent via les AG libérés dans la cellule hépatique des éléments activateurs de facteurs de transcription.

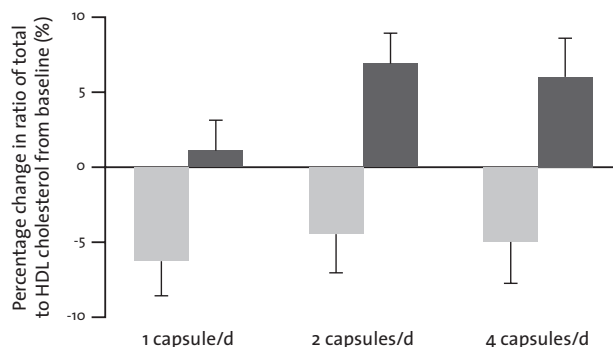
En conclusion, CLA 10t,12c apparaît être, chez le rongeur, une molécule extrêmement complexe aux effets manifestement néfastes dans le foie, tandis que l'isomère CLA 9c,11t semble ne présenter ni effet favorable, ni effet défavorable. Toutefois, tout comme l'effet anti-obésité, les souris nourries avec un régime hyperlipidique (34 g/100 g) supplémenté en CLA, ont une insulinémie normale et une absence d'augmentation des gènes impliqués dans la voie de la lipogénèse (Tsuboyama-Kasaoka *et al*, 2000). Ces résultats montrent que les apports lipidiques nutritionnels modulent les effets lipoatrophiques des CLA.

3. Syndrome Métabolique

3.1. Études chez l'homme

Une étude sur un nombre restreint de sujets (24) montre qu'un apport de 4,2 g/jour de mélange CLA pendant 4 semaines diminue significativement le diamètre sagittal abdominal, le tour de taille et le rapport Taille/Hanche. Toutefois les faibles effets (diminution de 1 à 2 %) et le nombre de patients ne permettent pas de statuer sur un effet bénéfique des CLA sur le syndrome métabolique (Riserus *et al*, 2001). D'autres part, le mélange des isomères a peu d'effet sur le métabolisme glucido-lipidique. Plusieurs études montrent que le traitement par le mélange diminue le cholestérol HDL chez des patients présentant une obésité abdominale et des signes du syndrome métabolique (Blankson *et al*, 2000 ; Riserus *et al*, 2002 ; Mougios *et al*, 2001). Cet effet semble isomère-spécifique puisque l'administration de l'isomère 10t,12c provoque une diminution nette (-4 %) de cholestérol HDL (Riserus *et al*, 2002 ; Noone *et al*, 2002). En revanche, chez les sujets normo-pondéraux, on note une absence d'effet des CLA sur le cholestérol HDL (Tricon *et al*, 2004 ; Smedman et Vessby, 2001). L'effet des CLA sur les triglycérides plasmatiques n'est pas clairement démontré puisqu'ils sont diminués dans 2 études (Mougios *et al*, 2001 ; Noone *et al*, 2002), inchangés dans la plupart des études (Riserus *et al*, 2001 ; Riserus *et al*, 2002 ; Benito *et al*, 2001 ; Berven *et al*, 2000), voire même augmentés par l'isomère 10t,12c (Tricon *et al*, 2004). Une étude récente (double-aveugle et croisée) montre que les deux isomères ont des effets opposés : l'isomère 9c-11t aurait un effet bénéfique sur le profil lipidique en abaissant le cholestérol plasmatique et le cholestérol LDL (Tricon *et al*, 2004).

Figure 81 : Effet du 9c-11t CLA (■) et du 10t,12c (■). 1 capsule = 0,60 g CLA ; 2 capsules = 1,2 g ; 3 capsules = 2,5 g (Tricon *et al*, AJCN, 2004).



Ainsi, il y aurait un relatif effet bénéfique du 9c-11t et un effet délétère du 10t,12c sur certains paramètres du profil lipidique comme le rapport total-c/HDL-c (Fig. 81) (Tricon *et al*, 2004). Toutefois, si l'isomère 9c-11t semble avoir un effet bénéfique sur le profil lipidique des patients, cet effet bénéfique ne se retrouve pas sur d'autres paramètres du syndrome métabolique comme la résistance à l'insuline ou la diminution de la masse grasse. De même, si l'isomère 10t,12c a un effet bénéfique sur la régulation de la masse adipeuse, il exerce un effet délétère sur le profil lipidique. En l'état des connaissances, il est difficile de savoir si l'administration de l'isomère 9c-11t améliore les composantes du syndrome métabolique et si celle de l'isomère 10t,12c ne les aggrave pas.

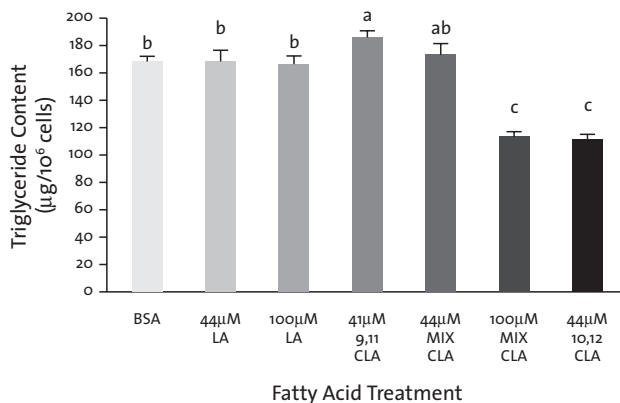
3.2. Études chez l'animal

Chez l'animal, un effet bénéfique des CLA sur plusieurs composantes du syndrome métabolique a été démontré. On observe une normalisation de la tolérance au glucose ainsi qu'une réduction de l'insulinémie et des AG libres plasmatiques chez le rat ZDF (Houseknecht *et al* 1998). Chez le hamster et le lapin, le traitement par les CLA réduit les lipides plasmatiques et l'athérosclérose (Gavino *et al*, 2000 ; Lee *et al*, 1994 ; Nicolosi *et al*, 1997). Autre facteur important du syndrome métabolique, l'hypertension est corrigée chez le rat après un traitement par les CLA. Cet effet est manifeste chez des animaux obèses et non-obèses (Nagao *et al*, 2003 ; Inoue *et al*, 2004). De plus, le taux d'adiponectine, connue pour ses propriétés antidiabétiques et antiathérogéniques, est augmenté par les CLA. Toutefois, on remarque que cette diminution de la pression artérielle chez animaux spontanément hypertendus et non-obèses s'accompagne d'une diminution de la masse grasse de l'ordre de 30 %. La question se pose de savoir si l'effet antihypertensif n'est qu'une conséquence de l'effet anti-obésité des CLA.

4. Mécanismes d'action de l'effet anti-obésité des CLA : Effets sur l'adipocyte

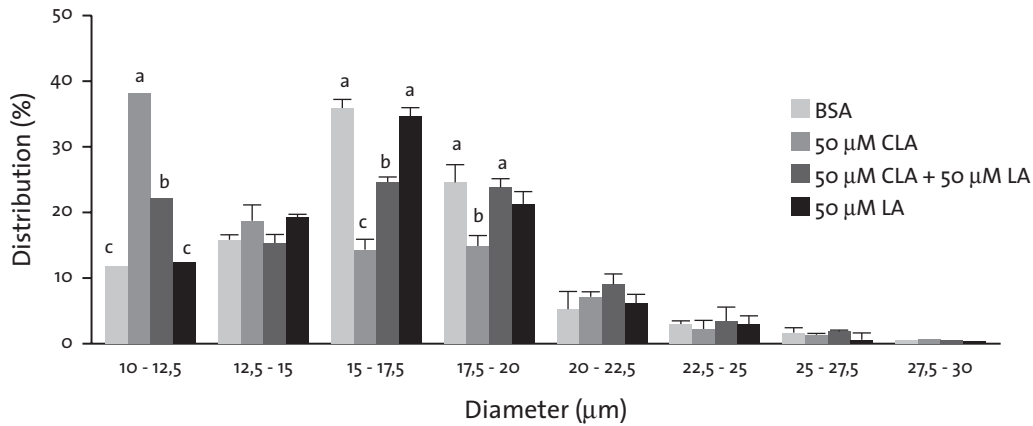
In vitro, des études montrent aussi une diminution du stockage lipidique dans les adipocytes cultivés en présence de CLA (Park *et al*, 1999 ; Park *et al*, 1999 ; Petridou *et al*, 2003). Cet effet sur la diminution des triglycérides est spécifique du 10t,12c (Fig. 82) (Brown *et al*, 2001).

Figure 82 : Effets des isomères des CLA sur l'accumulation de triglycérides intracellulaires (Brown¹ *et al*, 2001).



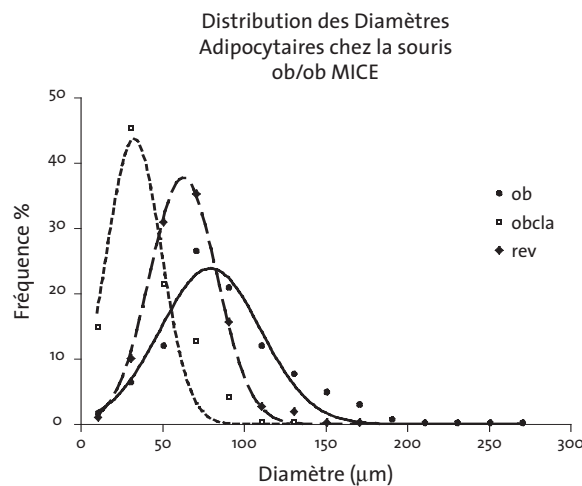
Cette diminution du stockage lipidique s'accompagne d'une réduction de la taille cellulaire qui est partiellement restaurée en présence d'acide linoléique (Fig. 83) (Brown¹ *et al*, 2001).

Figure 83 : Effet *in vitro* d'un mélange de CLA sur la distribution du diamètre adipocytaire (Brown¹ *et al*, 2001).



Ainsi une réduction de la taille adipocytaire plutôt que du nombre pourrait contribuer à la réduction de la masse grasse. Cette observation a été vérifiée *in vivo* et Tsuboyama-Kasaoka *et al* montrent que le tissu adipeux de souris nourries avec 1 % de CLA ont un plus grand nombre de petites cellules et un plus petit nombre de grosses (Tsuboyama-Kasaoka *et al*, 2000). Chez le rat, la diminution des dépôts adipeux est aussi liée à une diminution de la taille adipocytaire (Azain *et al*, 2000 ; Poulos *et al* 2001). La figure 84 montre que, chez la souris ob/ob, les CLA (1 % du mélange) modifient la distribution des diamètres adipocytaires et que cet effet est partiellement réversible après l'arrêt du traitement (JC Martin *et al*, en cours de publication).

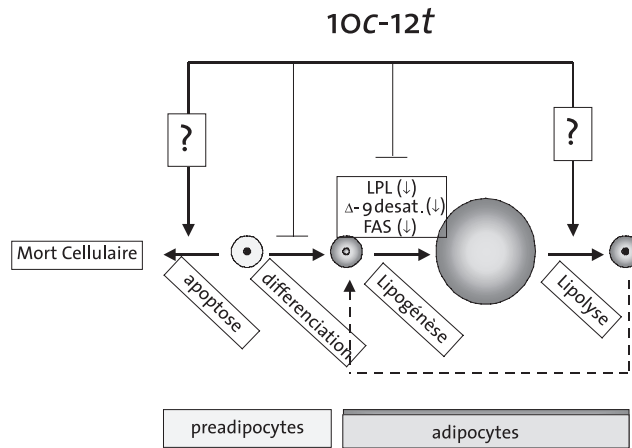
Figure 84 : Effets des CLA sur la taille adipocytaire.



Différentes études menées *in vitro*, ont permis de mettre en évidence les différentes voies du métabolisme adipocytaire impliquées dans cette réduction du stockage des lipides. L'ensemble des études *in vitro* menées sur des lignées préadipocytaires ou sur des cultures primaires de préadipocytes montre que l'isomère 10*t*,12*c* réduit l'entrée des AG via une forte inhibition de l'activité de la lipoprotéine lipase (LPL) (Park *et al*, 1999). De plus, l'isomère 10*t*,12*c* inhibe le processus de différenciation adipocytaire *via* une diminution de l'expression de PPAR γ (Kang *et al*, 2003 ; Brown² *et al*, 2001 ; Brown *et al*, 2003 ; Granlund *et al*, 2003). Cet isomère diminue aussi l'entrée du glucose et la voie de la lipogénèse de *novo* (diminution de la stéaroyl-CoA désaturase 1) (Choi *et al*, 2000). Le

stockage lipidique dans les adipocytes pourrait aussi être limité par une augmentation de la lipolyse et de l'oxydation des AG (Brown *et al*, 2004). Ainsi, la figure 85 schématise les multiples effets sur le métabolisme et la fonction adipocytaire, qui concourent à limiter le stockage lipidique (Pariza *et al.*, 2001)

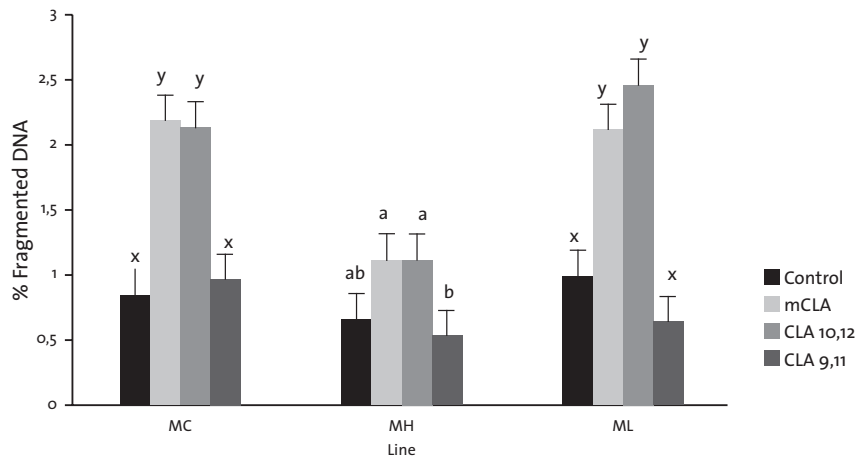
Figure 85 : Effets *in vitro* des CLA sur l'adipocyte.



Pariza, M., *Prog. Lipid Res.*, 40, 2001

Autre composant de la cellularité, le nombre d'adipocytes semble être modulé par les CLA. Des études *in vitro* suggèrent que l'isomère 10t,12c provoque une apoptose des préadipocytes (Tsuboyama-Kasaoka *et al*, 2000). Une diminution du nombre d'adipocyte lié à un processus apoptotique a été aussi décrit *in vivo* chez la souris après 15 jours d'un régime enrichi en CLA (Hargrave KM *et al*, 2002) (Fig.86).

Figure 86 : Apoptose dans le tissu adipeux rétro-péritonéal issues de lignées de souris sélectionnées ou non sur la base d'un métabolisme énergétique élevé (MH) ou bas (ML). MC = groupe non sélectionné. (Hargrave *et al*, 2002)



Toutefois, différents résultats obtenus *in vivo* ne sont pas en faveur de cet effet apoptotique puisque le nombre d'adipocyte reste identique chez le rat (Azain *et al*, 2000) et qu'après arrêt de la supplémentation, le nombre d'adipocytes augmente à nouveau (Martin *et al*, résultats en cours de publication).

5. Conclusions et recommandations

Conclusions

Contrairement aux études chez l'animal chez qui une supplémentation en CLA 10*t*,12*c* conduit à une lipotrophie, un effet bénéfique anti-obésité d'un mélange d'isomères de CLA n'est pas prouvé chez l'homme tant en terme de composition corporelle que de répartition de la masse adipeuse. On doit remarquer aussi que la majorité des études a porté sur une supplémentation sous forme d'un mélange 50/50 des deux isomères, 9*c*,11*t* et 10*t*,12*c*. En revanche, il existe très peu d'études sur les effets d'isomère pur mais des résultats obtenus sont à prendre en considération même si une réserve existe eu égard au nombre d'études. Ainsi, une étude montre des effets opposés des 2 isomères sur le rapport total-c/HDL-c, l'isomère 9*c*-11*t* ayant un effet bénéfique et l'isomère 10*t*,12*c*, un effet délétère. De plus, l'effet anti-obésité de l'isomère 10*t*,12*c* n'est pas démontré. En revanche, il semble qu'une supplémentation en isomère 10*t*,12*c* provoque une aggravation de la résistance à l'insuline chez des obèses présentant un syndrome métabolique. Concernant d'autres effets délétères, aucune étude chez l'homme ne montre d'anomalies hépatiques. Ainsi, concernant l'isomère 10*t*,12*c*, même si le taux de cet isomère dans les produits naturels est très faible, le problème reste entier en ce qui concerne les suppléments alimentaires pour lesquels l'apport journalier recommandé par le fournisseur est de l'ordre de 1,4 g/jour.

De plus, les études chez l'animal ont permis de montrer des effets délétères des CLA (diabète lipotrophe) chez des sujets soumis à un régime hypolipidique. Cette situation doit être prise en considération sachant que les sujets susceptibles de consommer des compléments alimentaires en CLA sont déjà soumis à un régime hypocalorique et hypolipidique.

Chez l'animal ou dans des modèles adipocytaires, l'isomère 10*t*,12*c* a pour cible l'adipocyte et inhibe toute fonction de stockage des substrats énergétiques. Cette situation conduit de façon paradoxale à permettre au foie d'acquérir des marqueurs de la fonction adipocytaire lui permettant un stockage lipidique accru. Afin de mieux appréhender l'effet anti-obésité des CLA au niveau cellulaire, il est important de connaître leur cinétique plasmatique suivant une administration orale. En fait, il existe un enrichissement des isomères dans les lipides circulants qui est réversible (cf Chapitre III) et il serait intéressant d'avoir des données sur la capacité d'incorporation des CLA dans les triglycérides du tissu adipeux et sur les modifications de cette incorporation lors d'une supplémentation en CLA.

Points clés

- En termes d'obésité ou de répartition de la masse adipeuse, l'effet anti-obésité des CLA n'est pas prouvé chez l'homme.
- Effet bénéfique potentiel de l'isomère 9*c*-11*t* sur le rapport total-cholestérol/HDL- cholestérol.
- Effet délétère potentiel de l'isomère 10*t*,12*c* sur le Cholestérol HDL.
- Pas d'effet bénéfique démontré sur la sensibilité à l'insuline chez l'homme du 10*t*,12*c* ni du 9*c*-11*t*.
- Il est difficile de savoir si l'administration de l'isomère 9*c*-11*t* améliore les composantes du syndrome métabolique et si celle de l'isomère 10*t*,12*c* ne les aggrave pas.
- Concernant les effets délétères, aucune étude chez l'homme ne montre d'anomalies hépatiques.

Recommandations

En termes de recherches à poursuivre

- Étude multicentrique chez des sujets obèses permettant d'analyser :
 - Les effets des CLA naturels alimentaires *versus* les CLA *d'origine technologique* sur la masse grasse, le métabolisme lipidique, l'insulinorésistance, etc. ;
 - Les effets des CLA en supplémentation d'une alimentation enrichie en ω_3 (*versus* ω_3 sans CLA) pouvant déboucher sur d'éventuelles recommandations en matière d'équilibre et de répartition des graisses alimentaires ;
 - Les effets opposés des isomères permettant de montrer que l'isomère 9*c*,11*t* s'oppose aux effets délétères du 10*t*,12*c*.
- Effet anti-obésité : mesuré pour chaque isomère pris séparément et en mélange 50/50 sur :
 - L'adiposité (DEXA – Rapport IMC/DEXA - autres mesures anthropométriques : TT/TH) ;
 - La répartition de la masse grasse (DEXA – TT/TH) ;
 - Les effets sur la masse musculaire (DEXA) ;

- Les marqueurs de la fonction adipocytaire (Biopsie de tissu adipeux) ;
- Les marqueurs de l'inflammation, de la peroxydation lipidique.
- Effet sur la sensibilité à l'insuline, en particulier effet des isomères sur :
 - Les marqueurs plasmatiques de l'insulino-résistance (Clamp euglycémique, HOMA-Test) ;
 - La sensibilité à l'insuline (clamp euglycémique-hyperinsulinique) ;
 - L'équilibre glycémique (HbA1c) et l'amélioration du diabète de type 2 ;
 - Bilan hormonal avec dosage des cytokines adipocytaires (Adiponectine, leptine, IL6, résistine, TNF α).

En termes de santé publique (de seuil de consommation par exemple)

- La consommation du 10t,12c chez la femme enceinte et allaitante, ni a priori chez l'enfant est à proscrire.
- Se méfier également des perturbations hépatiques, et notamment de la stéatose hépatique, fréquente dans l'obésité franche : l'indication paraîtrait être plus la surcharge pondérale que l'obésité vraie pour cette raison.

En ce qui concerne la dose recommandée, la dose d'apport nécessaire se situe entre 1,7 et 6,8 g/j pour le mélange des deux isomères et pourrait être de 2g/j pour le 10t,12c. Par ailleurs il faut différencier les apports naturels (produits lactés et d'origine bovine) des CLA d'origine technologique.

Dans l'état actuel des connaissances, il semble que le risque majeur soit lié à l'isomère 10t,12c. Il ne paraît pas opportun de proposer cet isomère de façon isolée. Par contre, le mélange 50/50 des deux isomères principaux ne semble pas présenter d'effet délétère. Il reste à apporter la preuve par des études complémentaires que la consommation du mélange des isomères apporte un réel effet bénéfique par rapport à l'aspect « placebo » mis en évidence jusqu'ici et que ce bénéfice est acceptable au regard des effets toxiques potentiels.

En termes d'informations au consommateur

- Notifier les risques pour la femme enceinte et allaitante.
- Il convient aussi de déconseiller formellement le CLA 10t,12c seul en raison des risques potentiels d'installation ou d'aggravation d'un diabète.
- La prise de CLA en complément alimentaire n'a pas de justification au regard des connaissances actuelles.
- Conseiller un régime normolipidique.

V. AG *trans*, CLA et maladies cardio-vasculaires

N. Combe, P. Clouet, J-M Chardigny, M. Lagarde, C-L Léger

L'athérosclérose est la cause majeure de mortalité cardio-vasculaire. Selon les statistiques de l'AHA (American heart association), elle représente les trois quarts des décès attribués aux maladies cardio-vasculaires (MCV). La seule ischémie cardiaque – directement liée à l'athérosclérose coronarienne (AC) – représente 54 % des décès. En Europe, si l'on examine la situation de la Suède et de la France pour lesquelles la mortalité par MCV chez l'Homme représente respectivement la plus grande et la plus faible part de la mortalité totale (47 % et 28 %), on estime que l'ischémie fatale (cardiaque et cérébrale) représente à elle seule 72 % et 57 % de la mortalité cardio-vasculaire. L'évaluation de la morbi-mortalité ayant pour cause un processus athérosclérotique revient à évaluer avec une bonne approximation la morbi-mortalité cardio-vasculaire totale. L'importance du cholestérol et plus particulièrement des lipoprotéines de faible densité (LDL) dans l'athérogenèse n'est plus contestée, depuis que les essais cliniques de prévention primaire et secondaire chez les sujets hypercholestérolémiques ont démontré qu'il était possible de réduire la fréquence des cardiopathies ischémiques en diminuant le cholestérol-LDL (C-LDL), à l'aide de statines (Steinberg *et al*, 1999 ; Genest *et al*, 1999 ; Hodis *et al*, 1998 ; Chapman *et al*, 1999).

L'étude de l'impact des AG *trans* non conjugués alimentaires dans la survenue des MCV est relativement récente. Jusqu'au début des années 90, il existait un consensus vis à vis du métabolisme de ces AG « atypiques » pour l'homme, puisqu'il ne les synthétise, mais les trouve dans son alimentation. On considérait que les AG *trans*, en particulier les isomères 18:1 *trans*, se comportent comme des AG saturés (AGS), une double liaison *trans* étant équivalente à une liaison simple. Ainsi, un grand nombre d'études citées précédemment dans ce rapport ont montré que l'acide élaïdique (18:1 *gt*) avait le comportement biologique de l'acide palmitique ou de l'acide stéarique, et non celui de son isomère *cis*, l'acide oléique (18:1 *gc*). De fait, l'impact nutritionnel attendu au plan cardio-vasculaire était similaire à celui des AGS. Au début des années 90, des essais cliniques ont montré que la consommation d'AG *trans* induisait une augmentation du cholestérol plasmatique, en particulier celui associé aux LDL, comme les AGS ; mais à la différence des AGS, une baisse du cholestérol associé aux HDL (C-HDL) pouvait dans certains cas être observée. En conséquence, les AG *trans* pouvaient être plus athérogènes que les AGS. Cependant, certains essais cliniques ont mis en œuvre des quantités d'AG *trans* ingérées très élevées (11 % de l'AET), de l'ordre de 3 à 20 fois plus que celles consommées habituellement selon le pays auquel on se réfère, à savoir les États Unis et l'Espagne avec des consommations d'AG *trans* représentant respectivement 3-4 % et 0,5 % AET. Par la suite, des études épidémiologiques ont fourni des résultats confortant ou pas l'hypothèse soulevée par les essais cliniques.

Après un rappel sur la pathogénie de l'athérosclérose et sur les marqueurs de risque, la relation entre biomarqueurs de l'athérosclérose et consommation d'AG *trans* sera examinée au regard des études épidémiologiques, cliniques et chez l'animal. Les mécanismes potentiellement capables d'expliquer les relations observées seront ensuite examinés à la lumière des résultats des études *in vitro*.

L'utilisation de modèles animaux pour les recherches sur l'athérosclérose pose néanmoins le problème de la représentativité de la forme pathologique exprimée par ces modèles. En effet, il n'existe pas de modèle animal capable de reproduire spontanément l'ensemble des stades athéroscléreux existant chez l'Homme, depuis la formation des cellules spumeuses jusqu'à la rupture de plaque. Une seule exception à cette règle peut être citée à ce jour: la souris apoE^{-/-} recevant pendant 14 semaines un régime riche en lipides saturés (Johnson *et al*, 2001). Cependant, l'athérosclérose spontanée ou induite du singe, du porc, du pigeon et de la poule est plus proche de l'athérosclérose humaine que de celle de tous les autres modèles animaux (Bourdillon *et al*, 2003).

1. L'athérosclérose, la pathogénie et les marqueurs de risque

1.1. Importance de l'athérosclérose dans l'étiologie des MCV

Les MCV sont les maladies de l'ensemble de l'appareil circulatoire (cœur, artères, capillaires, veines). L'athérosclérose affecte la paroi des grosses et moyennes artères. Cette paroi est constituée de l'endothélium qui borde la lumière du vaisseau, de la média et de l'adventice situées à la périphérie, et de l'intima, espace séparant l'endothélium de la média. L'athérosclérose est pour l'essentiel un processus prenant place dans l'intima, qui aboutit à la formation d'un massif (une plaque) lipido-fibro-cellulaire, entraînant un épaissement de

l'intima et un rétrécissement concomitant de la lumière du vaisseau. Lorsque l'artère coronaire est atteinte, une pathologie cardiaque se développe. L'athérosclérose de la coronaire est responsable non seulement des phénomènes ischémiques et de leur conséquence ultime, l'infarctus du myocarde, mais aussi de l'angine de poitrine instable, d'une part importante des problèmes liés à l'arythmie cardiaque et à ses formes aggravées (fibrillation ventriculaire, arrêt cardiaque), ainsi qu'à l'insuffisance cardiaque.

D'autres grosses artères peuvent être affectées (l'aorte, les artères conduisant le sang au tissu nerveux central...). Les lésions qui en résultent sont à l'origine de manifestations cliniques *in situ* (cas des grosses artères) ou à distance. Dans ce dernier cas les événements sont dus à la rupture d'une plaque athérosclérotique dans la paroi d'une grosse artère. La rupture de plaque peut également entraîner la thrombose (formation d'un thrombus) à laquelle les phénomènes de coagulation et d'agrégation plaquettaire contribuent grandement. Mais toute rupture de plaque ne s'accompagne pas d'une thrombose, celle-ci dépendant étroitement de nombreux facteurs qui déterminent la « thrombogénicité » de la plaque.

Les éléments issus de la rupture de plaque sont entraînés par le flux sanguin et forment un thrombus secondaire dès qu'ils atteignent des vaisseaux de plus faibles diamètres ou préalablement sténosés. Ils occasionnent des événements thrombo-emboliques (congestion cérébrale de type ischémique, thrombo-embolie pulmonaire ou des membres inférieurs). La mort subite est causée par des événements liés pour l'essentiel à une évolution péjorative de la lésion athérosclérotique.

1.2. La pathogénie

La pathogénie de l'athérosclérose est un processus évolutif. En France, la mortalité due à l'athérosclérose coronarienne et aux maladies cérébro-vasculaires est négligeable à 54 ans, s'élève à 200 décès par 100 000 habitants dans la tranche d'âge 65-74 ans, et est multipliée par 10 au delà.

1.2.1. Les différents stades du processus athérosclérotique

Le processus est divisé habituellement en trois stades pré-cliniques et trois stades cliniques. Les trois premiers stades se caractérisent essentiellement par un état inflammatoire chronique faisant intervenir une accumulation croissante de lipides intracellulaires (principalement des esters de cholestérol) dans les macrophages, aboutissant à la formation de cellules spumeuses et de stries lipidiques au niveau de l'intima.

Lors des trois derniers stades, aux phénomènes précédents s'ajoutent des phénomènes fibro-prolifératifs, apoptotiques et de calcification aboutissant à la formation d'une plaque fibro-lipido-cellulaire plus ou moins chargée en débris cellulaires et en dépôts calcifiés. L'instabilité de la plaque est directement liée à l'importance de la part des lipides par rapport aux autres constituants fibro-cellulaires et détermine en grande partie le risque de rupture de plaque, à l'origine des événements ischémiques et emboliques. Dans la phase clinique de la pathogénie la formation d'un « clou » plaquettaire ou d'un thrombus intervient souvent. On parle alors d'une évolution athéro-thrombogène.

1.2.2. Le rôle des cellules endothéliales, musculaires lisses vasculaires et des macrophages dans la formation de la plaque au niveau de l'intima

Au cours de la phase précoce de la formation de la plaque, les cellules au contact du sang circulant (les cellules endothéliales) connaissent un « basculement » métabolique qui conduit à la dysfonction endothéliale, caractérisée en particulier par (1) la diminution de la production basale d'un puissant vasodilatateur, le monoxyde d'azote NO, (2) une production accrue de cytokines de l'inflammation, de facteurs de croissance (notamment pour les monocytes et les macrophages) et d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote³, (3) une altération de la synthèse des eicosanoïdes et (4) l'apparition de protéines d'adhésion ou chimio-attractantes dont l'activité prélude à la trans-migration des monocytes vers l'espace sous-endothélial, étape indispensable à leur recrutement dans l'intima et à leur transformation en macrophages puis en cellules spumeuses.

Face à l'endothélium des vaisseaux, l'intima est bordée par la média, constituée de cellules musculaires lisses dont la dé-différenciation et la prolifération va entraîner leur migration dans l'intima et mener à la formation d'une autre famille de cellules spumeuses. La formation des cellules spumeuses (principalement macrophagiques) constitue l'étape 3 (formation des stries lipidiques), préliminaire à l'étape 4 au cours de laquelle l'accumulation des lipides intra- et extra-cellulaires s'amplifie et aboutit à la formation de la plaque athéromateuse. L'infiltration des cellules musculaires lisses dans l'intima et la sécrétion de la matrice extra-cellulaire par les cellules musculaires et les macrophages sont impliquées dans la constitution de la partie fibro-cellulaire de la plaque.

1.2.3. Les processus oxydatifs et les LDL oxydées

La lésion d'athérosclérose ayant une origine inflammatoire, des processus oxydatifs et des produits d'oxydation jouent un rôle majeur dans la pathogénie. Les produits d'oxydation des lipides se retrouvent principalement dans les LDL oxydées (LDLox) qui agissent à leur tour dans la paroi vasculaire sur différentes cibles cellulaires (endothéliales, macrophagiques et musculaires), contribuant au déclenchement et à l'amplification des phénomènes inflammatoires et prolifératifs. Des formes oxydées des chylomicrons et des VLDL pourraient également jouer un tel rôle.

1.2.4. Le cholestérol circulant : un facteur de risque crucial dans l'athérosclérose

Les études épidémiologiques d'observation ont établi depuis longtemps que des teneurs plasmatiques élevées en cholestérol total (CT) et cholestérol des LDL (C-LDL) et de faibles teneurs en cholestérol des HDL (C-HDL) étaient des marqueurs fiables de risque cardio-vasculaire. Ce sont des marqueurs fondés sur le statut du cholestérol (FSC). Il semble aujourd'hui prouvé que le principal « facteur déclenchant » du processus athérosclérotique est une cholestérolémie élevée. Il faut citer pour preuve les études épidémiologiques d'intervention en prévention primaire, en prévention secondaire et des études mécanistiques récentes effectuées chez l'Homme. Le cholestérol plasmatique est un marqueur de risque intervenant dans la chaîne caEtats-Unisle d'évènements menant à la lésion.

1.2.5. Les marqueurs de risque de l'athérosclérose indépendants du cholestérol

Des marqueurs de risque non fondés sur le statut du cholestérol (NFSC) doivent être pris en compte dans l'évaluation des risques cardiovasculaires. Certains sont reconnus pour leur valeur (fiabilité) descriptive ou pronostique, d'autres sont plus discutés.

L'hypertriglycéridémie chronique et/ou un pic post-prandial élevé de la triglycéridémie sont de bons exemples de tels marqueurs. Une triglycéridémie élevée peut être associée à d'autres marqueurs de risque (l'insulino-résistance, l'hyperglycémie, l'hypertension, l'hyper-bétalipoprotéïnémie et de faibles taux de HDL). Cette association constitue ce que l'on appelle le syndrome métabolique, qui est donc lui-même un marqueur de risque. Deux paramètres anthropométriques, le tour de taille et le rapport [tour de taille]/[tour de hanche] (RTH), sont souvent utilisés comme indicateur d'un syndrome métabolique.

Il existe d'autres marqueurs de risque indépendants, tels que la lipoprotéine [a] (Lp [a]) et des facteurs de l'hémostase tels que l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène (PAI-1) et le facteur de coagulation (FVII). En effet, l'hémostase joue un rôle important dans le développement des complications cardiaques. La formation de thrombus dans les artères coronaires, liée à la rupture de plaque, est le processus basique du syndrome coronarien aigu.

En se fondant sur la relation positive entre oxydation des LDL et athérosclérose, des indicateurs d'oxydation ont été également proposés comme marqueurs de risque cardio-vasculaire. En fait, deux problèmes sont posés : la fiabilité de l'indicateur d'oxydation et sa valeur pronostique dans l'évaluation du risque. Les mesures des diènes conjugués et des TBARS (thiobarbituric acid reactive substances, parmi lesquelles se trouvent le malondialdéhyde ou MDA) au niveau des LDL circulantes ou du plasma sont contestées. Elles ne satisfont pas à des critères de spécificité en raison notamment de la réactivité spontanée de ces substances. La mesure de l'oxydation des LDL, réalisée *ex vivo* en présence de cuivre (permettant d'apprécier « l'oxydabilité » des LDL), n'est pas un indicateur fiable de l'oxydation des LDL *in vivo* et n'a pas de pertinence physiologique. Elle est également contestée en tant que marqueur de risque cardio-vasculaire.

Enfin, la mesure de l'épaisseur intima-média (EIM) et de son évolution en fonction du temps, permet d'objectiver la présence d'une plaque athéromateuse. L'EIM qui est en moyenne de 0.7 mm entre 50 et 60 ans, augmente physiologiquement avec l'âge, de 0,005 à 0,01 mm/an selon les études. Elle est plus élevée chez l'homme que chez la femme. L'EIM est étroitement corrélée à la survenue des évènements cardiovasculaires : une EIM augmentée multiplie le risque de survenue d'infarctus du myocarde et d'accident vasculaire cérébral par 2 à 5 fois. Pour toute augmentation de 0.1 mm de l'EIM, le risque d'infarctus du myocarde augmente de 5,6 %. L'étude de la progression de l'EIM dans le temps est, elle aussi, en relation avec le risque de survenue des évènements cardiovasculaires. L'EIM est étroitement liée aux facteurs de risque (hypertension artérielle, hypercholestérolémie, tabagisme, diabète, hyperhomocystéïnémie, résistance à l'insuline, IMC (index de masse corporelle)). L'EIM est par ailleurs en corrélation avec les marqueurs inflammatoires tels que la protéine C réactive (CRP).

L'angiographie est un examen qui permet de détecter des anomalies telles que des rétrécissements (sténoses) ou d'autres obstacles à l'écoulement du sang dans les vaisseaux.

Ce chapitre porte sur les risques cardio-vasculaires de tous les AG comportant une double liaison de configuration *trans*, y compris les isomères *trans* conjugués de l'acide linoléique (CLA). Ces différentes formes d'AG *trans* (AG *trans*) sont d'inégale importance dans l'alimentation. Le chapitre portant sur la nature de ces AG et leur présence dans l'alimentation fait bien ressortir la prévalence pondérale des monoènes *trans*, par comparaison aux polyènes *trans* non conjugués (18:2*t* et 18:3*t*) et aux diènes conjugués (18:2*t*), isomères de l'acide linoléique (CLA), plus faiblement représentés. Pour la clarté de ce rapport, ces trois catégories d'AG *trans* seront traitées de façon indépendante.

2. Monoènes *trans*, polyènes *trans* non conjugués et risques MCV

Au cours de la dernière décennie, de nombreux travaux ont été consacrés à l'étude de l'implication de la consommation d'AG *trans* dans le développement des maladies cardio-vasculaires (MCV). Les études conduites chez l'Homme peuvent être classées en 2 grandes catégories selon leur nature : les études d'épidémiologie analytique, parmi celles-ci les études prospectives qui portent sur le suivi de cohortes et les études « cas-témoins » qui comparent des sujets présentant une pathologie cardio-vasculaire à des sujets non atteints par la maladie, et les études d'intervention, au cours desquelles des sujets volontaires sains ont consommé des quantités « contrôlées » d'AG *trans*. L'objectif des études réalisées sur l'animal vise quant à elles à comprendre les mécanismes de l'implication éventuelle des AG *trans* sur le risque cardiovasculaire, en particulier sur les marqueurs sanguins de ce risque (concentrations du C-LDL reliées positivement au risque, celles du C-HDL reliées négativement, voire celles des triglycérides reliées positivement).

L'une des principales limites à l'exploitation des résultats des études épidémiologiques concerne la validité des mesures de consommation d'AG *trans*, qui dépend de la qualité d'une part de l'enquête alimentaire, d'autre part des données fournies dans les tables de composition. Dès lors qu'il n'est pas tenu compte de l'évolution dans le temps de la teneur en AG *trans* totaux des aliments, un risque de surestimation de la consommation existe ; de même, l'absence de valeurs sur les teneurs en polyènes *trans* induit une sous-estimation. Ainsi, en raison des imprécisions liées à la mesure de la consommation d'AG *trans* par enquêtes alimentaires, certains auteurs utilisent les biomarqueurs de consommation alimentaire tels le tissu adipeux et les lipides plasmatiques, dont les pourcentages en AG *trans* reflètent respectivement une exposition à long terme (300-600 jours ; Katan MB *et al*, 1996) et une exposition récente (quelques semaines). En conséquence, le dosage des AG du sang, plus aisé que celui du tissu adipeux peut être pratiqué pour le contrôle des études d'intervention nutritionnelle. Il est cependant moins indiqué pour apprécier les habitudes alimentaires, susceptibles d'expliquer le développement d'une maladie sur plusieurs années et particulièrement chez les sujets qui peuvent avoir modifié récemment ces habitudes, après détection d'une pathologie cardio-vasculaire. Ce cas de figure est souvent observé dans les études cas-témoins où il s'avère que le contenu en AG *trans* du tissu adipeux est le meilleur marqueur. En outre, non seulement le taux d'AG *trans* totaux dans le tissu adipeux des sujets reflète l'importance de l'apport alimentaire en AG *trans*, tous isomères confondus, mais, de plus, les proportions relatives des différents isomères de position de la double liaison de l'acide 18:1 *trans* permettent d'apprécier l'origine (animale et/ou végétale) des AG *trans* consommés, à partir de l'analyse du tissu adipeux. En effet, la prépondérance d'isomères 18:1 11*t* et 18:1 16*t* dans le tissu adipeux indique que les AG *trans* consommés sont principalement apportés par les matières grasses d'animaux ruminants (MGAR) ; ce qui est observé en France (Boué *et al*, 2000). En revanche, lorsque les AG *trans* alimentaires sont principalement issus des matières grasses végétales partiellement hydrogénées (MGVPH), c'est l'isomère 18:1 9*trans* qui prédomine parmi tous les isomères 18:1 *trans* du tissu adipeux ; ce qui est observé au Canada (Chen ZY *et al*, 1995). A cet égard, la corrélation entre la consommation d'AG *trans* estimée par questionnaire alimentaire et le contenu en AG *trans* du tissu adipeux a été démontrée dans diverses études, avec les paramètres suivants : $r=0,45$ et $p<0,001$, pour qualifier l'association avec les isomères 18:1 *trans* totaux (Baylin *et al*, 2002 ; Pedersen *et al*, 2000).

Parmi les autres critères de fiabilité, la méthodologie utilisée pour déterminer la composition en isomères *trans* des aliments et des tissus biologiques (tissu adipeux, lipides sanguins) constitue également un autre critère d'importance. Pour rappel, le dosage des isomères monoènes (principalement 18:1 *trans*) par chromatographie en phase gazeuse (CPG) sur colonne capillaire « longue » (de 60m à 100m) s'impose ; en outre, lorsqu'il s'agit de quantifier précisément les isomères 18:1 9*t* et 18:1 11*t*, la purification préalable de la fraction totale 18:1 *trans* par chromatographie-nitrate d'argent est indispensable pour éliminer les isomères 18:1 *cis* dont la présence de certains d'entre eux biaise les résultats d'analyse (voir chapitre I).

2.1. Études épidémiologiques

2.1.1. Études écologiques

Kromhout D et al, 1995 (7 Pays)

Dans les 16 cohortes de l'étude écologique des 7 pays (Seven Countries Study, 1958-1986 - Finlande, Italie, Grèce, Yougoslavie, Japon, États-Unis, Pays-Bas), une association positive a été trouvée entre la consommation d'AG *trans* et la **mortalité cardio-vasculaire** sur les 25 ans de suivi. Cependant, l'estimation de la consommation d'AG *trans* ne paraît pas fiable, en raison des conditions de l'enquête alimentaire effectuée *a posteriori* (« panier moyen de la ménagère » analysé plus de 20 ans après le démarrage de l'étude) et des conditions d'analyse inadaptées aux AG *trans* (Metcalf MD, 1966).

Van de Vijver LPL et al, 2000 (Europe)

Il s'agit des résultats de la Transfair Study, portant sur 8 pays européens (Finlande, France, Grèce, Islande, Pays-Bas, Portugal, Espagne et Suède) et visant à mettre en relation la consommation d'AG *trans* et les paramètres sanguins du risque MCV. Les lipides sanguins de 327 hommes et 299 femmes, issus de ces 8 pays ont été analysés en relation avec l'apport alimentaire d'AG *trans* qui était très variable d'un pays à l'autre, représentant entre 0,5 % et 1,5 % de l'AET. La consommation d'AG *trans* a été estimée par une méthode d'histoire alimentaire en utilisant les dernières données de composition en AG *trans* des aliments collectées pendant la Transfair Study. Aucune corrélation n'a été observée entre la consommation d'AG *trans* (18:1t ; 18:2t) et les concentrations en cholestérol total, C-LDL et C-HDL (tableau 65).

Tableau 65 : Coefficients de régression entre le contenu en cholestérol (C) du plasma et la consommation d'AGT de sujets européens (n=626) de la Transfair Study ; d'après Van de Vijver et al (2000).

	C-LDL	C-HDL	C-LDL/C-HDL	C Total
AGT totaux	-0,02	-0,01	0,02	-0,04
∑ 18:1 t	-0,08	-0,02	0,03	-0,1 (a)
∑ 18:2 t	0,02	-0,01	0,08	0,11

(a) : $p < 0,05$.

2.1.2. Études cas-témoins

Dans ce type d'études, l'existence éventuelle d'une relation entre la consommation d'AG *trans* et la survenue de MCV est recherchée en comparant l'exposition aux AG *trans* alimentaires de sujets « **cas** » présentant une pathologie cardio-vasculaire caractérisée à celle de sujets « **témoins** » sans manifestations, présentes ou passées, de cette MCV. L'exposition aux AG *trans* alimentaires y est généralement estimée, soit à partir d'enquêtes alimentaires – consommation d'AG *trans* exprimée en pourcentage de l'apport énergétique total (% AET) ou g/j/personne-, soit à partir du niveau des AG *trans* présents dans le tissu adipeux et les lipides sanguins – exprimé en pourcentage des AG totaux. Les résultats de ces études sont exposés ci-dessous et résumés dans le tableau 78 (en annexe).

2.1.2.1. Exposition aux AG trans alimentaires estimée par enquêtes alimentaires.

Ascherio A et al, 1994 (États-Unis)

Les auteurs ont étudié les relations entre la consommation d'AG *trans*, estimée par un *questionnaire de fréquence* semi-quantitatif et le risque d'infarctus en comparant 238 sujets cas, ayant eu un **premier infarctus du myocarde** à 282 sujets témoins. Les sujets cas consommaient plus d'AG *trans* que les témoins. Le risque relatif d'infarctus était plus élevé dans le quintile de la plus forte consommation d'AG *trans* par rapport au quintile le plus faible, [RR (95 % IC) = 2,44 (1,42-4,19)] (tableau 66).

Après ajustement sur les facteurs connus du risque MCV, dont la consommation d'AG saturés, ce résultat n'était plus significatif : 2,03 (0,98-4,22). A l'opposé, RR était significativement réduit pour le 3^e quintile, comparé au 1^{er} quintile [RR (95 % IC) = 0,40 (0,19-0,83)]. Ce qui signifiait que ces sujets présentaient moins de risque que ceux qui consommaient moins d'AG *trans* (1^{er} quintile).

Tableau 66 : Risque relatif (RR) d'infarctus du myocarde dans les quintiles de consommation d'AGT (enquête : FFQ) des hommes de l'étude cas-témoins (Boston) ; d'après Ascherio *et al* (1994).

Quintiles	1	2	3	4	5
Apport d'AGT (médiane g/j)	3,05	3,72	4,36	5,01	6,47
Nb cas/témoins	37/53	42/61	27/58	43/56	90/54
RR1 (95 % IC)	1	1,00 (0,56-1,79)	0,67 (0,36-1,24)	1,12 (0,63-2,00)	2,44 (1,42-4,19)
RR2 (95 % IC)	1	0,81 (0,42-1,57)	0,40 (0,19-0,83)	0,72 (0,36-1,48)	2,02 (0,98-4,22)

RR1 : ajusté sur l'âge.

RR2 : ajustement multivarié.

Clifton PM et al, 2004 (Australie)

Les auteurs ont étudié les relations entre la consommation d'AG *trans*, estimée par un questionnaire de fréquence (300 items) et le risque d'infarctus en comparant 209 sujets cas, ayant eu un **premier infarctus du myocarde** à 179 sujets témoins. Les auteurs ont procédé à une régression logistique (effet dose-réponse) avec 2 niveaux d'ajustement (1 : sur âge, sexe, IMC, tabagisme ; 2 : ajustement supplémentaire sur AET et consommation d'AG saturés). Avec le premier niveau d'ajustement, le risque d'infarctus du quintile supérieur de consommation d'AG *trans* (médiane : 5,46 g/j) était multiplié par 2 par rapport au quintile inférieur (médiane : 1,55 g/j) avec un test de tendance global de 0,01 (tableau 67). En revanche, l'association entre consommation d'AG *trans* et infarctus du myocarde s'annulait, avec l'ajustement de 2^e niveau qui tenait compte en particulier de la consommation d'AG saturés qui doublait entre les 2 quintiles considérés (médiane : 24,9 g/j pour le 1^{er} quintile vs 51,9 g/j pour le 5^e quintile).

Tableau 67 : Risque relatif (RR) d'infarctus du myocarde dans les quintiles de consommation d'AGT (enquête : FFQ) de l'étude cas-témoins (Australie) ; d'après Clifton *et al* (2004).

Quintiles	1	2	3	4	5
Apport d'AGT (médiane g/j)	1,55	2,41	3,03	3,7	5,46
Nb cas/témoins	37/40	37/40	42/35	41/36	52/25
RR1 (95 % IC)	1	1,00 (0,53-1,88)	1,3 (0,69-2,44)	1,23 (0,65-2,23)	2,25 (1,16-4,32)*
RR2	1	1,37**	1,51**	0,81	0,98

Régression logistique : risque relatif avant (RR1) et après (RR2) ajustement sur l'AET et la consommation d'acides gras saturés.

* : p=0,01 ; ** : non significatif (pas d'association).

2.1.2.2. Exposition aux AG trans alimentaires estimée par le contenu en AG trans du tissu adipeux et du plasma sanguin

Thomas et al, 1987 (Grande Bretagne)

59 hommes présentant à l'électrocardiographie un **trouble d'ischémie** (sujets cas) et 61 hommes, sans ce trouble (sujets témoins) ont été comparés sur la base des proportions de 16:1t, 18:1t et 18:2t du tissu adipeux. Aucune différence de composition en AG *trans* n'a été observée entre cas et témoins. L'analyse statistique a tenu compte de la consommation de tabac et de l'indice de masse corporelle (IMC).

Aro et al, 1995 (Pays Européens et Israël)

C'est la plus grande étude (Euramic Study) cas-témoins réalisée. Elle comparait la concentration de 18:1t dans le tissu adipeux entre 671 hommes atteints d'un **premier infarctus aigu du myocarde** et 717 hommes sans cette pathologie (1991-1992). Les auteurs ont fait des ajustements sur l'âge, le pays d'origine, la consommation de tabac et l'IMC. Aucune différence significative n'a été observée entre les concentrations de 18:1 t dans le tissu adipeux des 2 groupes de sujets (**tableau 68**). Dans une régression logistique, le risque d'infarctus du myocarde n'a pas été associé aux concentrations de 18:1t dans le tissu adipeux. Les proportions de 18:1t variaient jusqu'à 6 fois entre pays, témoignant d'une différence importante de niveau de consommation en AG *trans* d'un pays à l'autre, les pays méditerranéens ayant le plus faible apport. Même après exclusion de l'Espagne dont le niveau

Tableau 68 : Risque d'infarctus du myocarde dans les quartiles du contenu en 18:1 *trans* du tissu adipeux des sujets de l'étude multi-centrique cas-témoins (Euramic Study) ; d'après Aro *et al* (1995).

Quartiles	1	2	3	4
Tous les centres (n=10)				
18:1 <i>trans</i> (%)	0,45	1,29	1,8	2,51
Nb cas/témoins	182/181	125/178	182/179	182/179
OR ajusté (95 % IC)	1,00	0,68 (0,41-1,13)	1,05 (0,63-1,75)	0,97 (0,56-1,67)
8 centres (Espagne exclue)				
18:1 <i>trans</i> (%)	1,12	1,55	1,98	2,63
Nb cas/témoins	108/143	113/143	158/140	147/143
OR ajusté (95 % IC)*	1,00	1,16 (0,79-1,71)	1,53 (1,02-2,28)	1,44 (0,94-2,20)

* : p=0,54.

d'AG *trans* dans le tissu adipeux des sujets était extrêmement faible par rapport aux autres pays, aucune relation significative n'a été mise en évidence entre le contenu en 18:1 *trans* du tissu adipeux et le risque de premier infarctus.

Roberts *et al*, 1995 (Angleterre)

Les auteurs ont comparé les concentrations de 18:1*t* et de 18:2*t* dans le tissu adipeux de 66 hommes décédés par **arrêt cardiaque** à celles de 286 hommes en bonne santé. Des ajustements sur l'âge, la consommation de tabac, l'hypertension, le diabète et les concentrations d'acides oléique et linoléique dans le tissu adipeux ont été effectués. Dans une régression logistique, le risque d'arrêt cardiaque n'était pas associé aux concentrations de 18:2 *t*, mais il était associé négativement aux concentrations de 18:1*t*. Ce qui suggérait que les sujets qui présentaient les plus hauts niveaux de 18:1*t* dans leur tissu adipeux avaient moins de risque d'arrêt cardiaque.

Van de Vijver LPL *et al*, 1996 (Pays-Bas)

Les auteurs ont comparé le contenu en 18:1 *trans* et en 18:2 *trans* des phospholipides plasmatiques de deux groupes de sujets, sélectionnés sur le degré de **sténose des coronaires**. Le groupe cas (n=83) présentait plus de 80 % d'atteinte, le groupe témoin (n=78), moins de 50 %. Aucune différence significative de composition en AG *trans* n'a été observée entre cas et témoins. Aucune association entre le risque de sténose et les contenus en isomères 18:1 *trans* et en 18:2 *trans* des phospholipides plasmatiques, classés en tertiles, n'a été mise en évidence même après ajustement sur les facteurs de confusion (âge, sexe, consommation de tabac, hypertension, IMC et consommation de lipides) (tableau 69).

Tableau 69 : Risque de sténose sévère dans les tertiles du contenu en AGT des phospholipides du plasma des sujets de l'étude cas-témoin (Rotterdam) ; d'après Van de Vijver *et al* (1996)

Tertiles	Inférieur	Moyen	Supérieur
Non ajustés			
AGT totaux	1	0,72 (0,34-1,54)	0,61 (0,28-1,33)
18:1 <i>g</i> <i>t</i>	1	0,97 (0,46-2,06)	0,74 (0,34-1,63)
18:2 <i>t</i>	1	1,37 (0,65-2,9)	0,73 (0,32-1,66)
Ajustés			
AGT totaux	1	0,73 (0,33-1,59)	0,69 (0,31-1,57)
18:1 <i>g</i> <i>t</i>	1	0,96 (0,44-2,11)	0,86 (0,38-1,96)
18:2 <i>t</i>	1	1,52 (0,68-3,37)	0,78 (0,32-1,88)

Fritsche J et al, 1998 (Allemagne)

Les auteurs ont comparé les concentrations en *AG trans* du tissu adipeux, ainsi que du plasma, de 24 hommes présentant une **MCV jugée sévère** à 25 hommes en bonne santé. Des ajustements sur l'âge, la consommation de tabac, l'hypertension, le diabète et les concentrations d'acides oléique et linoléique dans le tissu adipeux ont été faits. Les proportions d'*AG trans* totaux étaient respectivement de 2,59 % ± 0,33 chez les cas contre 2,79 % ± 0,76 chez les témoins. Les sujets cas avaient une tendance à avoir moins d'*AG trans* que les témoins ; cependant cette différence n'était pas statistiquement significative. Ce qui suggérait l'absence d'association entre la consommation d'*AG trans* et le risque MCV.

Baylin A et al, 2003 (Costa Rica)

Les auteurs ont analysé la relation entre le contenu en *AG trans* du tissu adipeux et le risque d'infarctus du myocarde, en comparant 482 sujets «cas», atteints d'un **premier infarctus du myocarde** à 482 témoins, sans cette pathologie (1994-1998). Les auteurs ont procédé à 2 niveaux d'ajustement successifs (1 : sur âge, sexe et lieu de résidence ; 2 : sur autres facteurs, dont le contenu en acide alpha-linolénique du tissu adipeux). Avec le premier niveau d'ajustement, le risque d'infarctus n'était pas associé au contenu en *AG TRANS* totaux ou en 18:2 *trans* du tissu adipeux, estimé à partir du classement en quintiles. En revanche, le risque devenait significatif pour les 4^e et 5^e quintiles du contenu en *AG TRANS* totaux et 18:2 *trans* du tissu adipeux, avec l'ajustement de 2^e niveau (**tableau 70**). Les valeurs de OR (95 % IC) par rapport au quintile le plus faible étaient respectivement pour le 4^e quintile égales à 2,22 (1,14-4,33) vis-à-vis des *AG TRANS* totaux et à 3,51 (1,49-8,29) vis-à-vis des isomères 18:2 *trans*. Ces valeurs étaient augmentées pour le 5^e quintile (tableau 70).

Tableau 70 : Risque d'infarctus du myocarde dans les quintiles du contenu en AGT totaux et en 18:2 *trans* du tissu adipeux des sujets de l'étude cas-témoin (Costa Rica) ; d'après Baylin et al (2003).

Quintiles	1	2	3	4	5
AGT totaux (%)	1,84	2,46	2,98	3,57	4,40
OR1	1	1,05	0,99	1,02	0,93
OR2*	1	1,34 (0,73-2,47)	2,05 (1,06-3,98)	2,22 (1,14-4,33)	2,94 (1,36-6,37)
18:2 <i>trans</i> (%)	0,75	0,98	1,20	1,50	2,04
OR1	1	0,89	1,02	0,99	0,88
OR2**	1	0,96 (0,49-1,89)	2,09 (0,98-4,48)	3,51 (1,49-8,29)	5,05 (1,86-13,72)

* p=0,004 ; ** : p<0,001

Clifton PM et al, 2004 (Australie)

L'étude mentionnée dans le paragraphe 2.1.2.1. se réfère également au contenu en *AG trans* du tissu adipeux pour estimer le risque de **premier infarctus du myocarde** par comparaison de 79 sujets cas et 167 sujets témoins. Le contenu en 18:1 *trans* totaux était significativement plus élevé chez les cas (1,77 % *versus* 1,48 % des acides gras totaux du tissu adipeux ; p<0,01), dont celui de chaque isomère 18:1 9*t*, 10*t* et 11*t*. Ces différences se maintenaient après ajustement sur l'âge, le sexe, l'IMC, l'apport énergétique total et la consommation d'acides gras saturés. Une analyse par régression logistique a montré que seul l'isomère 18:1 11*t* était un marqueur indépendant prédictif d'une première attaque cardiaque (p=0,03), au même titre qu'une tension artérielle (p=0,02), des concentrations plasmatiques en cholestérol total (p<0,0001) et en triglycérides (p<0,001) élevées, après ajustement sur l'apport énergétique total, la consommation d'acides gras saturés, tous les acides gras du tissu adipeux et le statut professionnel.

2.1.2.3. Conclusions

Parmi les 8 études cas-témoins citées, trois d'entre elles ont suggéré que la survenue d'un premier infarctus du myocarde était positivement corrélée au niveau de consommation d'*AG trans* estimé soit par enquête alimentaire (Ascherio A *et al*, 1994), soit par un biomarqueur (Baylin *et al*, 2003 ; Clifton *et al*, 2004), alors que dans les autres études (Aro *et al*, 1995 ; Roberts *et al*, 1995 ; Fritsche *et al*, 1998 ; Thomas *et al*, 1987 ; van de Vijver *et al*, 1996) aucune relation avec le risque MCV (mort cardiaque, infarctus non fatal, trouble ischémique, sténose des

coronaires) n'était mise en évidence, après ajustement sur les facteurs de confusion (tabagisme, IMC, apport énergétique total, hypertension, âge, lieu de résidence, sexe, composition en acides gras...). Une seule étude (Clifton *et al*, 2004) mentionne une relation avec un isomère particulier présent dans le tissu adipeux. Il s'agit du 18:1 n7 qui s'est avéré dans cette étude australienne être un marqueur prédictif du risque de premier infarctus du myocarde.

2.1.3. Études prospectives

Dans ce type d'étude, l'exposition aux AG *trans* alimentaires est toujours estimée par enquêtes alimentaires.

Willett WC et al, 1993 (États-Unis)

Il s'agit de la cohorte des infirmières américaines (The Nurses' Health Study) dont les résultats publiés dans Lancet en 1993 suggéraient pour la première fois, en épidémiologie, l'implication des AG *trans* alimentaires dans le risque MCV. Dans cette étude, la consommation en AG *trans* de 85 095 femmes ne présentant ni MCV, ni diabète, ni hypercholestérolémie, a été estimée dès 1980 à partir de questionnaires de fréquence alimentaire semi-quantitatifs. Un suivi de 8 années a permis de dénombrer **431 cas de MCV**. Après ajustement sur l'âge, le risque relatif de MCV était significativement augmenté dans le quintile supérieur de consommation d'AG *trans* [RR (95 % IC) = 1,50 (1,12-2,00)] comparé au quintile le plus faible (tableau 71). Des ajustements supplémentaires sur les facteurs connus du risque MCV, tels que la consommation de tabac et d'alcool, l'hypertension, l'IMC, l'AET et le status hormonal, ne changeaient pas fondamentalement ces résultats. Parmi les sujets (n=69 181) qui n'avaient pas changé leur consommation de margarine pendant 10 ans (1970-80), 356 cas de MCV ont été recensés, le risque relatif de MCV dans le quintile supérieur était 1,67 (95 % IC :1,05-2,66), comparé au quintile inférieur. Dans ce groupe, le risque était associé à la consommation d'AG *trans* d'origine végétale seulement, mais il est important de préciser qu'ils représentaient la majorité (80 %) des AG *trans* consommés (tableau 72).

Tableau 71 : Risque relatif (RR) de MCV dans les quintiles de consommation d'AGT (enquête : FFQ) des femmes (n=85 095) de la cohorte (The Nurses' Health Study) ; d'après Willett *et al* (1993).

Quintiles	1	2	3	4	5
Apport moyen d'AGT (% énergie)	1,3	1,8	2,2	2,6	3,2
RR1 (95 % IC)	1	1,15 (0,85-1,56)	1,03 (0,74-1,42)	1,16 (0,85-1,59)	1,50 (1,12-2,00)
RR2 (95 % IC)	1	1,12 (0,81-1,55)	0,99 (0,6-1,43)	1,16 (0,80-1,70)	1,47 (0,98-2,20)

RR1 : ajusté sur l'âge.
RR2 : ajustement multivarié.
p=0,006.

Tableau 72 : Risque relatif (RR) de MCV dans les quintiles de consommation d'AGT (enquête : FFQ) de 69 181 femmes dont la consommation a été stable pendant 10 ans (The Nurses' Health Study) ; d'après Willett *et al* (1993).

Quintiles	1	2	3	4	5
Par rapport aux AGT totaux*	1	1,23 (0,50-1,79)	1,11 (0,79-1,68)	1,36 (0,89-2,09)	1,67 (1,05-2,66)
Par rapport aux AGT d'origine végétale**	1	1,43 (1,00-2,04)	1,11 (0,74-1,66)	1,39 (0,91-2,013)	1,78 (1,12-2,83)
Par rapport aux AGT d'origine animale***	1	0,76 (0,51-1,12)	0,69 (0,43-1,10)	0,55 (0,31-0,96)	0,59 (0,30-1,17)

* : p=0,002 ; ** : p=0,009 ; *** : p=0,230.

Ascherio A et al, 1996 (États-Unis)

Il s'agit de l'étude de la cohorte des personnels de santé (The Health Professionals Follow-up Study). La consommation d'AG *trans* de 43 757 hommes ne présentant ni MCV, ni diabète, a été estimée à partir de questionnaires de fréquence alimentaire. Un suivi de 6 années a permis de dénombrer **505 cas d'infarctus non-fatals et 229 morts cardiaques**. Après ajustement sur l'âge, le risque relatif de MCV était significativement augmenté dans les trois quintiles supérieurs de consommation d'AG *trans*, comparés au quintile le plus faible (tableau 73). Cependant, après ajustements supplémentaires sur les facteurs connus du risque MCV, tels que la consommation de tabac et d'alcool, l'hypertension, l'IMC, l'activité physique, le risque était ramené à un niveau statistiquement non significatif (p=0,20).

Tableau 73 : Risque relatif (RR) de MCV dans les quintiles de consommation d'AGT (enquête : FFO) des hommes (n=43 757) de la cohorte de la « Health Professionals Follow-up Study » ; d'après Ascherio *et al* (1996).

Quintiles	1	2	3	4	5
Apport d'AGT (médiane g/j)	1,5	2,2	2,7	3,3	4,3
Nb d'événements	112	140	147	154	181
RR1 (95 % IC)	1	1,24 (0,97-1,59)	1,33 (1,04-1,70)	1,40 (1,10-1,78)	1,57 (1,24-1,98)
RR2 (95 % IC)	1	1,12 (0,86-1,44)	1,12 (0,87-1,48)	1,12 (0,86-1,46)	1,21 (0,93-1,58)

RR1 : ajusté sur l'âge.
RR2 : ajustement multivarié.

Pietinen et al, 1997 (Finlande)

Il s'agit de « The Finnish Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study », conduite à partir de 1985. La relation entre la consommation d'AG *trans* et le risque MCV a été examinée dans une cohorte de 21 930 hommes fumeurs, mais ne présentant pas de pathologie cardiaque à l'origine de l'étude. La consommation d'AG *trans* a été estimée à partir de questionnaires d'histoire alimentaire. Un suivi de 6,1 années a permis de dénombrer **1 399 événements coronariens non-fatals et 635 morts cardiaques**. Après ajustement sur l'âge, sur les facteurs habituels du risque MCV et sur l'AET, une association positive entre la consommation d'AG *trans* et la survenue d'une mort cardiaque a été observée. Le risque relatif (multivarié) des sujets appartenant au quintile supérieur de consommation d'AG *trans* (médiane : 5,6 g/j) était de 1,39 (intervalle de confiance 95 % : 1,09-1,78) par rapport au quintile inférieur (médiane : 1,3 g/j) avec $p=0,004$.

Tableau 74 : Risque relatif (RR) de mort cardiaque dans les quintiles de consommation d'AG *trans* (enquête FFO) des 21 930 hommes de la cohorte de la « The Finish alpha-tocopherol, beta-carotene cancer prevention study » d'après Pietinen *et al*, 1997.

Quintiles	1	2	3	4	5
Apport d'AG <i>trans</i> (médiane g/j)	1,3	1,7	2	2,7	5,6
Nb d'événements	109	122	136	111	157
RR (95 % IC)	1	1,05 (0,81-1,35)	1,12 (0,87-1,45)	0,90 (0,69-1,18)	1,39 (1,09-1,78)

RR : ajusté sur l'âge, tabagisme, IMC, pression sanguine, AET, consommation d'alcool et de fibres, activité physique.

Oomen et al, 2001 (Pays-Bas)

Il s'agit d'une cohorte de 667 hommes participant à la « Zutphen Elderly Study », extension de la cohorte néerlandaise de la « Seven Countries Study » conduite entre 1985 et 1995. La consommation d'AG *trans* a été estimée à partir de questionnaires d'histoire alimentaire. Un suivi de 10 ans a permis de dénombrer **98 événements coronariens fatals ou non-fatals**. Après ajustement sur l'âge, l'IMC, des variantes alimentaires et la consommation de tabac, la consommation d'AG *trans* était positivement associée au risque à 10 ans d'événements coronariens. Le risque relatif des sujets appartenant au tertile supérieur de consommation d'AG *trans* (médiane : 6,38 % AET) était de 2,00 (intervalle de confiance 95 % : 2,07-3,75) par rapport au tertile inférieur (médiane : 2,36 % AET ; $p=0,03$).

Tableau 75 : Risque relatif (RR) de MCV dans les tertiles de consommation d'AG *TRANS* (enquête : FFO) de 667 hommes de la cohorte de la «Zutphen Elderly Study» ; d'après Oomen *et al* (2001).

Quintiles	1	2	3	P
Apport d'AGT <i>trans</i> (%AET)	2,36	3,87	6,38	
Nb d'événements	24	30	44	
RR1 (95 % IC)	1	1,34 (0,79-2,34)	2,19 (1,32-3,62)	0,002
RR2 (95 % IC)	1	1,34 (0,76-2,37)	2,00 (2,07-3,75)	0,03

RR1 : ajusté sur l'âge.
RR2 : ajustement multivarié.

Cette étude montre que le niveau de consommation des AG *trans* est très élevé aux Pays-Bas dans les années 80-90, il dépasse même celui observé aux États-Unis à cette période. Comme le fait remarquer Aro (2001), ces résultats indiquent que de fortes consommations d'AG *trans* contribuent au risque MCV, mais que l'absence d'association montrée ultérieurement aux Pays-Bas témoigne que de faibles apports sont sans conséquence en raison de l'apport concomitant d'AG monoinsaturés *cis*, via les nouvelles margarines (« low *trans* »). Ces margarines, à partir de 1995, ont contribué à diminuer fortement la consommation d'AG *trans*, de 4,3 % à 0,5-2,1 % AET en Europe.

En résumé, les études prospectives conduites aux États-Unis et en Europe du Nord ont montré une association positive entre le niveau de consommation d'AG *trans* (compris entre 1,3 % et 6,4 % AET) et le risque de présenter un événement cardio-vasculaire.

2.1.4. Études prenant en compte les marqueurs intermédiaires de risque MCV

Ces études analysent les relations entre les AG *trans* alimentaires et les marqueurs plasmatiques du risque MCV, à savoir les concentrations de cholestérol total, C-LDL, C-HDL et triglycérides.

2.1.4.1. Exposition aux AG *trans* alimentaires estimée par enquêtes alimentaires.

Troisi R et al, 1992 (États-Unis)

Les auteurs ont étudié les relations entre la consommation d'AG *trans*, estimée par un questionnaire de fréquence alimentaire, et les concentrations plasmatiques de C-LDL, de C-HDL et de triglycérides, chez un groupe de 748 hommes. Il ressortait : (i) une absence de relation avec la concentration de triglycérides ; (ii) une association positive significative mais très faible avec le cholestérol total ($r = 0,07$; $p=0,04$) et le C-LDL ($r = 0,09$; $p=0,01$) ; (iii) une association négative significative mais faible également avec le C-HDL ($r = 0,08$; $p=0,03$). Les conclusions sont donc à nuancer, en raison de la faiblesse des coefficients de corrélation.

2.1.4.2. Exposition aux AG *trans* alimentaires estimée par le contenu en AG *trans* de biomarqueurs

Hudgins et al, 1991 (États-Unis)

Dans cette étude, portant sur 76 hommes, le profil en isomères *trans* du tissu adipeux et les paramètres sanguins du risque MCV ont été analysés. Aucune corrélation n'a été observée, excepté avec l'isomère 18:1 *11t*, associé négativement au cholestérol total ($r = -0,280$) et au CL-LDL ($r = -0,310$). Cependant, aucun facteur de confusion n'a été pris en compte.

Boué C et al, 2001 (France)

Avec l'étude Transfair, c'est la seule étude qui a porté sur une population française (Etude Aquitaine, 1996-1999). La consommation d'AG *trans* a été établie sur les données d'une enquête alimentaire (type semainier) et contrôlée par l'analyse de la composition en isomères *trans* du tissu adipeux, qui a montré qu'en moyenne 63 % des AG *trans* consommés sont d'origine animale (graisses de ruminants) et 37 % d'origine végétale (matières grasses partiellement hydrogénées). L'étude a porté au total sur 187 femmes (20-60 ans), parturientes et non parturientes. Pour l'étude de la relation AG *trans*-paramètres sanguins du risque MCV, seules les femmes non parturientes ($n=90$) ont été retenues. Des ajustements avec les facteurs de confusion (âge, consommation de tabac, hypertension, IMC) ont été effectués. Aucune corrélation n'a été observée entre les paramètres sanguins (C-LDL, C-HDL et le rapport C-LDL/C-HDL) et soit (i) la consommation d'AG *trans* établie par enquêtes, soit (ii) le pourcentage des AG *trans* totaux dans le tissu adipeux, et plus spécifiquement celui de chaque isomère (18:1 *9t* et 18:1 *11t*), soit (iii) le pourcentage des isomères 18:1 *trans* et 18:2 *trans* dans les lipides totaux du plasma (tableau 76).

Tableau 76 : Coefficients de corrélation (r) entre le contenu en cholestérol du plasma et (1) le consommation d'AGT ; (2) le niveau d'isomères 18:1 *trans* du tissu adipeux ; (3) le niveau d'isomères *trans* du plasma ; d'après Boué *et al* (2000).

	LDL (g/l)	HDL (g/l)	LDL/HDL
(1) Consommation d'AGT (enquête semainier)			
AGT totaux	0,198	0,126	0,057
(2) Pourcentage d'AGT dans le tissu adipeux			
AGT totaux	-0,049	0,115	-0,07
18:1 9t	-0,098	0,004	-0,086
18:1 11t	0,065	0,154	-0,023
(3) Pourcentage d'AGT dans le plasma			
AGT totaux	-0,03	-0,022	0,062
∑ 18:1 t	0,019	-0,036	0,061
∑ 18:2 t	-0,122	0,014	-0,054

(1) : 0,11 < p < 0,66 ; (2) : 0,13 < p < 0,98 ; (3) : 0,23 < p < 0,89.

Les études portant sur les relations entre la consommation d'AG *trans* et les marqueurs intermédiaires (cholestérol et triglycérides plasmatiques) du risque MCV montrent l'absence d'association aussi bien avec les AG *trans* totaux qu'avec les isomères 18:1 9t, 18:1 11t et 18:2t présents dans le tissu adipeux et le plasma.

2.2. Études d'intervention nutritionnelle (Tableau 80 en annexe)

2.2.1. AG *trans* et cholestérol plasmatique

En 1990, Mensink RP *et al*, ont réalisé une étude d'intervention chez 34 femmes et 25 hommes sains qui ont consommé pendant 3 semaines un régime apportant 10 % de l'énergie sous forme d'AG *trans* (isomères de l'acide oléique). Les sujets ont également consommé à titre de comparaison 2 autres régimes apportant soit 10 % AET d'acide oléique, soit 10 % AET d'AG saturés. Comparés au régime « oléique », le régime *trans* augmentait le taux de C-LDL de 0,37 mmoles/L et le régime « saturés », de 0,47 mmoles/L. Seul le régime *trans* modifiait le taux de C-HDL (baisse de 0,17 mmoles/L). Cette première étude qui a montré l'impact négatif des AG *trans* sur les paramètres sanguins du risque MCV a été suivie par un grand nombre d'études différant par le protocole expérimental (nature des huiles, nombre de sujets, durée des régimes). Il ressortait de ces études réalisées aux Pays-Bas (Zock PL *et al*, 1992), aux États-Unis (Judd JT *et al*, 1994; Lichtenstein AH *et al*, 1993), ou encore en Australie (Nestel P *et al*, 1992 (a) ; Nestel P *et al*, 1992 (b))) que le fait de remplacer, dans l'alimentation d'hommes et de femmes, soit des AGMI-*cis* (acide oléique), soit des AGPI-*cis* (acide linoléique) par des quantités iso-énergétiques d'AGMI-*trans*, entraînait chez les sujets une augmentation significative du taux de C-LDL (Mensink RP *et al*, 1990 ; Zock PL *et al*, 1992 ; Judd JT *et al*, 1994 ; Lichtenstein AH *et al*, 1993) Nestel P *et al*, 1992 (a) ; Nestel P *et al*, 1992 (b))), voire, dans certains cas (Mensink RP *et al*, 1990; Zock PL *et al*, 1992 Judd JT *et al*, 1994), une diminution significative du taux de C-HDL, contribuant ainsi à augmenter le risque MCV.

Outre des modifications du profil lipoprotéique, il a été observé une hausse significative ($p < 0,001$) de l'activité *cholesterol ester transfer protein* (CETP) plasmatique, suite à la substitution, dans l'alimentation de 27 hommes, de l'acide oléique par des quantités isoénergétiques (6 % AET) d'acide 18:1 *trans*. L'augmentation de l'activité CETP était, par ailleurs, corrélée positivement aux taux plasmatiques à la fois d'acide 18:1 *trans* et de C-LDL (Abbey *et al*, 1994). Dans une autre étude (Van Tol *et al*, 1995), les mêmes effets sur l'activité CETP et sur les concentrations plasmatiques de C-LDL étaient obtenus, chez 30 femmes et 25 hommes, en substituant cette fois-ci l'acide 18:1 *trans* à des apports alimentaires isoénergétiques (8 % AET), soit d'acide stéarique (18:0), soit d'acide linoléique (18:2 n-6). L'augmentation de l'activité CETP était accompagnée d'une baisse du rapport molaire entre esters de cholestérol et triglycérides dans les HDL. Ceci indiquait que sous le régime *trans* les échanges/transfert de lipides entre lipoprotéines étaient affectés.

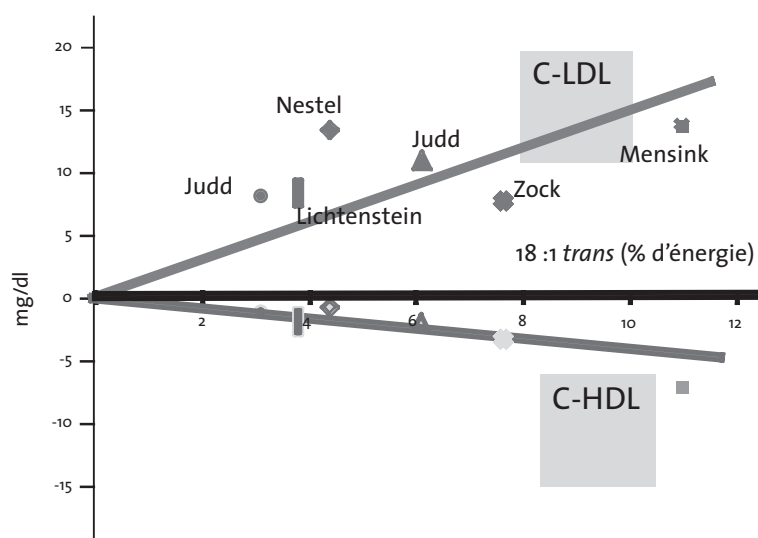
Ainsi, parmi les hypothèses émises pour expliquer le mécanisme d'action des AG *trans* sur le profil lipoprotéique, en particulier l'augmentation du C-LDL, celle d'une modification de l'activité CETP, chargée de transférer les esters de cholestérol des HDL vers les LDL, a été avancée.

Par ailleurs, il a été montré que le risque cardio-vasculaire était positivement corrélé à la présence de la sous-classe la plus athérogène de LDL (« Small, dense LDL »). Une étude d'intervention (Cuchel *et al*, 1996) à base de corps gras partiellement hydrogénés a montré que les monoènes *trans* induisaient une diminution de taille des particules LDL, favorisant ainsi le risque. Cependant, ces résultats n'ont pas été confirmés.

2.2.1.1. Effets selon la dose

En général, les études d'intervention indiquaient toutes que les acides 18:1 *trans* augmentaient les taux de C-LDL, comparés aux AG insaturés (oléique ou linoléique). En revanche, quelques études ne montraient pas d'effet sur le C-HDL. Celles qui observaient une baisse du C-HDL utilisaient des apports en 18:1t les plus élevés. Afin d'estimer l'impact quantitatif des 18:1t dans le régime, les données de ces études ont été combinées dans une analyse de régression multiple. À partir de cette méta-analyse, Katan MB *et al*. (1995) ont montré l'existence d'une relation linéaire entre la consommation de 18:1 *trans* et les concentrations plasmatiques de C-LDL, suggérant un effet « dose-réponse » (figure 68).

Figure 68 : Effets 18:1 *trans* versus 18:1 *cis* sur les C-LDL et C-HDL (d'après KATAN *et al*, 1995).



Cependant, les études d'intervention (Mensink RP *et al*, 1990; Zock PL *et al*, 1992, Lichtenstein AH *et al*, 1993 ; Nestel P *et al*, 1992 (a)) ont suscité des critiques (Appelwithe TH, 1994) dans la mesure où certains régimes : (i) contenaient des taux élevés d'AG *trans*, jusqu'à 11 % de l'AET, ce qui apparaissait excessif eu égard à la consommation habituelle – non seulement en Europe mais aussi aux États-Unis et au Canada (voir Chapitre III) ; (ii) apportaient non pas les « analogues structuraux » des AG *trans* (à savoir les AG saturés, AGS), mais des AG connus pour être hypocholestérolémiant (acides oléique et linoléique). Ce type de substitution conduit donc à l'élévation du taux de C-LDL. De fait, dans d'autres études d'intervention (Almendingen KJO *et al*, 1995 ; Nicolosi RJ *et al*, 1998 ; Wood R *et al*, 1993) permettant de comparer les effets des AG *trans* par rapport aux AGS, on peut observer que comparativement aux AGS 12:0, 14:0 et 16:0, les AG *trans* sont moins hypercholestérolémiant (augmentation plus faible des taux de cholestérol total et de C-LDL). Ce n'est que lorsque l'acide stéarique (18:0) est pris comme référence que les AG *trans* apparaissent plus hypercholestérolémiant que les AGS. En effet, cet acide gras saturé n'est pas hypercholestérolémiant.

Mensink RP *et al* (2003) ont réalisé récemment une méta-analyse de 60 études d'intervention avec pour objectif d'évaluer les effets des AG, dont les AG *trans*, sur le rapport cholestérol total/C-HDL, paramètre plasmatique considéré plus important que le cholestérol total ou lipoprotéique en terme de signification pour estimer le risque MCV. Les auteurs montrent que les effets des lipides sur ce rapport peuvent être très différents de ceux observés sur le C-LDL. Même si ces effets n'indiquent pas par eux-mêmes des modifications du risque (à confirmer par des études prospectives ou des essais cliniques), il apparaît que le risque serait réduit lorsque les AG *trans* et les AG saturés seraient remplacés par des AG insaturés *cis*. Ainsi, les auteurs montrent *via* les coefficients de régression obtenus que toute augmentation de 1 % de la consommation d'AG *trans* (18:1 *trans*) aux dépens des glucides pourrait entraîner un accroissement du C-LDL de +0,040 mmoles/L ($p=0,002$) ; en revanche, l'effet sur le C-HDL serait similaire à celui des glucides. L'estimation de l'impact sur le rapport cholestérol total/C-HDL serait de +0,022 mmoles/L ($p=0,015$) (tableau 77). Lorsque les glucides sont remplacés par l'acide palmitique,

considéré comme hypercholestérolémiant, les effets observés sont identiques à ceux obtenus avec les monoènes *trans* vis à vis du C-LDL. L'acide palmitique n'induit pas d'effet significatif sur le C-HDL, ni sur le rapport cholestérol total /C-HDL, comparé aux glucides. Les auteurs ont également analysé l'impact d'autres AG, en particulier saturés.

En conclusion, l'effet des monoènes *trans* sur l'accroissement du C-LDL est comparable à celui des AGS, connus pour être hypercholestérolémiants, avec les nuances suivantes : (i) l'effet est similaire à celui de l'acide palmitique (16:0) ; (ii) légèrement inférieur à celui des acides laurique (12:0) et myristique (14:0). En revanche, l'acide stéarique (18:0) n'induit pas d'augmentation du C-LDL, comparés aux glucides.

Tableau 77 : coefficients de régression estimés pour les modifications (□) du contenu en cholestérol plasmatique attendu après remplacement isoénergétique des glucides (1 % AET) par les AG monoènes *trans* ou l'acide palmitique (Mensink *et al*, 2003)

Méta-analyse (études d'intervention)	Δ Total : C-HDL	Δ C-Total (mmoles/L)	Δ C-LDL (mmoles/L)	Δ C-HDL (mmoles/L)
Acides gras monoènes <i>trans</i>				
Nb de régimes	18	18	18	18
Nb d'études	8	8	8	8
Coefficient (95 % IC)	0,022 (0,005-0,038)	0,031 (0,020-0,042)	0,040 (0,020-0,060)	0,000 (-0,007-0,006)
P	0,015	<0,001	0,002	0,937
Acides palmitique (C 16:0)				
Nb de régimes	90	90	90	90
Nb d'études	35	35	35	35
Coefficient (95 % IC)	0,005 (-0,008-0,019)	0,041 (0,028-0,054)	0,039 (0,027-0,051)	0,010 (0,007-0,013)
P	0,431	<0,001	<0,001	0,418

2.2.1.2. Effets selon la source (technologique ou animale)

La question sous-jacente est celle-ci : est-ce que vis-à-vis du risque MCV, les AG *trans* présents dans les huiles végétales partiellement hydrogénées (corps gras industriels) sont plus délétères que les AG *trans* issus des animaux ruminants ? Ceci est suggéré par les résultats de la « Nurses' Health Study » (Willett *et al*, 1993), dans laquelle une association positive a été trouvée entre le risque MCV et la consommation d'AG *trans*, plus particulièrement ceux présents dans les margarines qui représentaient au moment de l'étude américaine 80 % des AG *trans* consommés. À l'exception d'une étude (Oomen *et al*, 2001), en Europe où le niveau de consommation est 2 à 10 fois plus faible qu'aux États-Unis, les marqueurs du risque MCV ne sont pas associés à la consommation d'AG *trans* de l'une ou l'autre origine (Aro *et al*, 1995 ; Van de Vijver *et al*, 2000 ; Fritsche *et al*, 1998 ; Boué C *et al*, 2001). Les divergences observées pourraient s'expliquer par cet aspect quantitatif ; l'origine alimentaire des isomères *trans* consommés par les populations pourrait être également un facteur. A titre d'exemple, aux États-Unis, la source industrielle est très majoritaire (plus de 80 % des AG *trans* totaux), tandis qu'en France c'est la source animale qui prédomine (60 %).

Quelques études d'intervention nutritionnelle chez l'Homme ont comparé les effets du beurre et des margarines sur les taux de C-LDL et C-HDL (Almendingen KJO *et al*, 1995 ; Zock PL *et al*, 1997 ; Judd JT *et al*, 1998 ; Aro A *et al*, 1997 ; Noakes M *et al*, 1998 ; Chisholm A *et al*, 1996 ; Clevidence BA *et al*, 1997). Cependant, les quantités d'AG *trans* ingérées n'étaient pas identiques : étaient comparés au régime « beurre », soit des régimes type « soft low-*trans* margarines » qui apportaient des quantités plus faibles, soit des régimes type « hard high-*trans* margarines » qui apportaient des quantités plus élevées. En conséquence, il est impossible à partir de ces études de tirer des conclusions définitives sur l'aspect quantitatif et qualitatif évoqué ci-dessus.

Une analyse récente du sujet a été faite par Weggemans *et al* (2004) en combinant les données des études épidémiologiques (Willett *et al*, 1993 ; Pietinen *et al*, 1997 ; Oomen *et al*, 2001 ; Ascherio *et al*, 1994). Les auteurs montrent que, jusqu'à 2,5 g par jour, il n'y a pas de différence entre AG *trans* totaux, AG *trans* d'origine animale et

AG trans d'origine industrielle vis-à-vis du risque MCV. Lorsque la consommation dépasse 3 g par jour, AG trans totaux et AG trans d'origine industrielle sont associés à une augmentation du risque. Les données disponibles sur les AG trans d'origine animale, pour ce même niveau de consommation, sont insuffisantes pour une évaluation.

Pour rappel, les isomères positionnels 18:1 *trans* présents dans les corps gras industriels et les graisses d'animaux ruminants sont de même nature. Ces 2 sources alimentaires diffèrent néanmoins sur les proportions relatives de ces isomères, en particulier des acides 18:1 9t et 18:1 11t, respectivement majoritaires dans les corps gras industriels et les graisses d'animaux ruminants.

Eu égard à cet aspect qualitatif, une seule étude, conduite chez le hamster, a porté sur la comparaison des isomères 18:1 9t et 18:1 11t (voir ci-dessous § 2.3.1).

2.2.2. AG trans et triglycérides plasmatiques

Les études d'intervention ont en général rapporté les concentrations de triglycérides plasmatiques. La méta-analyse réalisée par Mensink RP *et al* (2003) montre que l'effet des AG trans est similaire à celui des glucides. Le changement de la concentration (mmoles/L) des triglycérides à jeun, exprimé par le coefficient de régression est égal à 0,000 (-0,012 ; +0,012) avec $p=0,970$, lorsque les glucides (1 % AET) sont remplacés iso-énergétiquement par les AG trans.

2.2.3. AG trans et Lipoprotéine [a]

Concernant la lipoprotéine [a], Mensink *et al* (1992) ont observé dans une étude clinique un effet significatif en comparant des apports représentant 11 % de l'AET, soit de 18:1 *trans*, soit d'AGS, soit d'acide oléique, à des volontaires sains pendant 3 semaines. Les valeurs de lipoprotéine [a] étaient respectivement égales à 60 ± 6 mg/L, 42 ± 5 mg/L et 49 ± 6 mg/L. Dans cette étude, l'apport d'AG trans était cependant très élevé, comparé à la consommation habituelle (0,5 à 4 % de l'énergie selon les pays). Cet effet sur la lipoprotéine [a] n'a pas été observé dans d'autres études. L'absence de consensus pourrait être en relation avec l'apport en AGS, souvent modifié de façon concomitante dans les régimes, ainsi qu'avec le niveau de base de la lipoprotéine [a] très variable d'un sujet à l'autre et susceptible d'influencer la réponse aux AG du régime.

2.2.4. AG trans et hémostasie

L'augmentation du taux plasmatique des facteurs de coagulation est associée à une augmentation du risque MCV. On sait par ailleurs que certaines variables de l'hémostasie sont modifiées par l'alimentation. Concernant les AG trans, une étude (Mutanen *et al*, 1997) a montré chez 40 sujets sains que la consommation pendant 5 semaines d'un régime contenant 8,7 % AET d'AG trans ne modifiait pas les activités du facteur de coagulation (FVII), ni celle de l'inhibiteur du plasminogène (PAI-1), par rapport à un régime apportant un régime saturé (surtout 18:0) - 9,3 % AET. Les effets en relation avec la coagulation et la fibrinolyse seraient donc similaires. Une autre étude (Almendingen *et al*, 1996) comparant les effets de régimes à base soit de beurre soit d'huiles de soja ou de poissons partiellement hydrogénées a montré que le régime beurre était pro-coagulant par rapport au régime huile de poissons partiellement hydrogénée, et que le régime huile de soja partiellement hydrogénée avait des effets défavorables vis-à-vis de la fibrinolyse.

Cependant, il existe peu de données dans ce domaine pour en tirer des conclusions sur la capacité des AG trans à modifier les variables de l'hémostasie.

2.3. Études réalisées chez l'animal

2.3.1. AG trans et cholestérol plasmatique

L'étude de Nicolosi *et al* (1998), conduite chez le hamster, a porté sur 3 régimes différant par la nature de l'acide gras majoritaire (50-52 % des AG totaux), à savoir 14:0, 18:1 *trans* et 18:1 *cis*, fournis pendant 8 semaines en vue de comparer leurs effets sur les lipides sanguins et sur la formation de stries lipidiques dans l'aorte. Au terme des régimes, il était constaté que seul le régime 14:0 induisait une augmentation significative des concentrations plasmatiques de cholestérol total, C-LDL et C-HDL. La formation de stries lipidiques était la plus élevée avec le régime 14:0 et la plus basse avec le régime 18:1 *trans* (aires respectivement égales à $17,2 \pm 2,5$ $\mu\text{m}^2/\text{mm}^2 \times 100$ et $5,2 \pm 1,6$ $\mu\text{m}^2/\text{mm}^2 \times 100$, contre $11,8 \pm 2,5$ $\mu\text{m}^2/\text{mm}^2 \times 100$ avec le régime 18:1 *cis*). Le régime 18:1 *trans* apportait le mélange d'isomères suivants : 8t (16 %), 9t (19 %), 10t (26 %), 11t (22 %) et 12t (16 %).

Une seule étude permet de comparer le comportement de l'isomère 18:1 *gtrans*, caractéristique de l'origine végétale (partiellement hydrogénée) à celui du 18:1 *11trans*, caractéristique de l'origine animale (ruminants). Meijer *et al* (2001) ont fourni à des hamsters pendant 4 semaines deux régimes contenant 10,2 % AET sous la forme soit de 18:1 *gtrans*, soit de 18:1 *11trans*. La comparaison des profils lipoprotéiques a montré que le rapport C-LDL/C-HDL était significativement ($p < 0,001$) plus élevé au terme du régime 18:1 *11trans* ($0,65 \pm 0,018$) qu'au terme du régime 18:1 *gtrans* ($0,57 \pm 0,016$). Ces résultats ne confortent pas l'hypothèse selon laquelle l'isomère 18:1 *11t* serait moins athérogène que l'isomère 18:1 *gt*.

2.3.2. AG *trans* et activité des récepteurs hépatiques spécifiques de l'apo-E des LDL

La concentration de C-LDL dans le plasma est déterminée en partie par l'affinité des LDL pour leur récepteur. Certaines études menées chez le hamster (Woollett LA *et al*, 1994; Hayashi K *et al*, 1993) ou chez le rat (Chiang MT *et al*, 1996) suggèrent que l'augmentation du taux de C-LDL plasmatique, par les AG *trans* alimentaires, pourrait être liée à une « down-régulation » des récepteurs hépatiques.

La régulation des récepteurs hépatiques spécifiques de l'apo-E dépendrait, entre autres, de l'affinité manifestée par l'ACAT des hépatocytes pour les AG alimentaires. Ainsi, Woollett *et al*. (1994) ont montré que l'acide 18:1 *gtrans*, de par son incapacité à réagir avec l'ACAT, ne modifie pas l'activité de ces récepteurs, alors que son homologue *cis*, l'acide oléique, qui est un bon substrat pour l'ACAT, active ces récepteurs, favorisant ainsi la diminution de la concentration plasmatique de C-LDL.

2.4. Études *in vitro*

2.4.1. AG *trans* et activité de la Cholesteryl Ester Transfer Protein (CETP)

L'hypothèse selon laquelle une stimulation de l'activité CETP par les AG *trans* pourrait expliquer l'augmentation du C-LDL et la diminution du C-HDL, quelquefois observées sous régimes *trans*, a été étudiée *in vitro*. Lagrost (1992) a montré que l'activité CETP varie selon la longueur des AG, leur degré d'insaturation et la configuration (*cis* ou *trans*) des doubles liaisons, voire même, pour certains AG, leur concentration dans le milieu. Ainsi, *in vitro*, l'acide oléique (18:1 *gcis*) n'active la CETP que jusqu'à une certaine concentration au-delà de laquelle il devient inhibiteur. Son homologue *trans* (18:1 *gtrans*), en revanche, active la CETP indépendamment de sa concentration dans le milieu d'incubation. Il n'y a pas de donnée équivalente sur le 18:1 *11trans*).

2.4.2. AG *trans* et lipoperoxydation des LDL

Étant donné l'implication de la lipoperoxydation des LDL dans l'athérogénèse, la possibilité que les AG *trans* puissent favoriser cette oxydation a été examinée (Nestel P *et al*, 1992 (b), Cuchel *et al*, 1996). En fait, les LDL isolées à partir de sujets humains ayant ingéré, pendant 3 semaines, un régime riche, soit en 18:1 *trans*, soit en 18:1 *cis*, présentaient *in vitro* une aptitude à l'oxydation analogue. La consommation d'huiles partiellement hydrogénées de maïs (Cuchel *et al*, 1996) ou de poisson ne modifiait pas non plus l'oxydabilité, mesurée *in vitro*, des LDL isolées à partir du sang des sujets. Ainsi, il ne semble pas que la consommation de 18:1 *trans* a un impact sur l'oxydabilité des LDL.

Cependant, on admet actuellement que de telles mesures *in vitro* manquent de pertinence pour appréhender la situation *in vivo*.

2.5. Conclusions

Dans leur ensemble, les études épidémiologiques ne font pas émerger de conclusions nettes, quant à l'implication des AG *trans* dans le risque MCV. Les études « cas-témoins » montrent pour la plupart que la consommation d'AG *trans* ne modifie ni dans un sens ni dans l'autre le risque de mort cardiaque, de 1^{er} infarctus ou de sténoses. En revanche, les études prospectives moins nombreuses suggèrent des résultats plus concordants. Elles indiquent que les AG *trans* alimentaires augmenteraient le risque MCV.

Nous avons discuté en tête de chapitre de l'importance des critères méthodologiques, en particulier pour estimer la consommation d'AG *trans*, dans l'appréciation des résultats. Les études de cohortes se sont basées sur des questionnaires alimentaires, y compris quelques études « cas-témoins ». On constate que les études qui ont conclu à une association positive de la consommation d'AG *trans* avec le risque MCV (= effet néfaste) se basaient, pour la plupart, exclusivement sur des enquêtes alimentaires, celles qui ne montraient aucun effet utilisaient, le plus souvent, la composition en AG *trans* du tissu adipeux.

Les études d'intervention ont montré l'effet des AG *trans* sur le cholestérol plasmatique, en particulier sur le C-LDL, avec un effet dose-réponse observable lorsque les AG *trans* (principalement 18:1 *trans*) représentent entre 3 % et 11 % de l'AET. Il ne ressort pas de valeur « seuil ». L'augmentation du C-LDL sous l'effet d'un apport d'AG *trans* comparé à un apport d'acide oléique induit donc une augmentation du risque MCV.

Récemment une analyse combinée des études épidémiologiques montre que, jusqu'à 2,5 g par jour, il n'y a pas de différence entre AG *trans* totaux, AG *trans* d'origine animale et AG *trans* d'origine industrielle vis-à-vis du risque MCV. Lorsque la consommation dépasse 3 g par jour, AG *trans* totaux et AG *trans* d'origine industrielle sont associés à une augmentation du risque. Il n'y a pas cette évaluation pour les AG *trans* d'origine animale.

Comparé aux AG saturés, il apparaît que l'effet des AG *TRANS* (=monoènes *trans*) sur l'accroissement du C-LDL est comparable à celui des AGS connus pour être hypercholestérolémiant, avec les nuances suivantes : (1) l'effet est similaire à celui de l'acide palmitique (16:0) ; (2) légèrement inférieur à celui des acides laurique (12:0) et myristique (14:0). Ces AGS sont plus hypercholestérolémiant que les AG *TRANS* ; (3) en revanche, l'acide stéarique (18:0) n'induit pas d'augmentation du C-LDL. Les AG *TRANS* sont hypercholestérolémiant par rapport à l'acide stéarique.

2.6. Cas particuliers des polyènes *trans* non conjugués et risques MCV

Comme décrit par ailleurs, les isomères *trans* de l'acide linoléique et de l'acide α -linoléique sont convertis respectivement en isomères *trans* de l'acide arachidonique et de l'acide éicosapentaénoïque. L'analogie structurale avec l'acide arachidonique et le rôle essentiel de cet acide gras dans de nombreuses fonctions ont généré des études d'interaction entre acide arachidonique et isomères *trans* d'AG à 20 carbones. C'est la fonction plaquettaire qui a été la plus étudiée, sans doute parce que l'acide arachidonique y joue un rôle clé, et aussi parce que son métabolisme est relativement simple.

2.6.1. Études d'intervention nutritionnelle

Dans le cadre de l'étude TransLine (Sebedio *et al*, 2000), l'impact d'un apport modéré (0,6 % de l'AET) par des isomères *trans* de l'acide α -linoléique a été évalué. Après une première période de 6 semaines pendant laquelle l'apport alimentaire en AG *trans* était limité, 88 volontaires ont reçu ou non les isomères *trans* de l'acide α -linoléique pendant 6 semaines. Malgré une incorporation significative des isomères *trans* 18:3 et 20:5 (Sebedio *et al*, 2000), il n'a pas été montré d'impact sur la réponse plaquettaire au collagène ou à un analogue stable du thromboxane A₂, le U46619 (Armstrong *et al*, 2000). Par contre, dans le même travail, il a été montré une augmentation significative ($p=0,02$) mais cependant faible du rapport cholestérol total/C-HDL dont la valeur moyenne passait de 3,8 à 3,9 avec l'apport de 18:3 *trans*. A l'opposé, cette valeur diminuait dans les mêmes proportions avec l'apport de 18:3 *cis*, passant de 3,8 à 3,7 (Vermunt *et al*, 2001).

2.6.2. Études *in vitro*

Dans une première étude (O'Keefe *et al*, 1990), il avait été suggéré que l'isomère 17*trans* de l'acide 20:5 n-3 (EPA) interfère avec la réponse plaquettaire à l'acide arachidonique. Plus récemment, il a été montré un effet anti-agrégant de plusieurs isomères *trans* de l'EPA, les isomères 11*trans*, 17*trans* et 11,17*ditrans* (Loi *et al*, 1998). Ces effets ont été corrélés à la production de métabolites de l'acide arachidonique, diminution de la production de thromboxane A₂ par la voie de la cyclooxygénase et augmentation de la production de 12-HETE par la voie de la 12 lipoxygénase.

Par ailleurs, il a été montré que l'isomère 17*trans* de l'EPA peut être lui-même métabolisé par les mêmes enzymes que l'acide arachidonique. Le principal métabolite est issu de la voie de la 12-lipoxygénase (Loi *et al*, 1998).

Pour les isomères *trans* de l'acide arachidonique, seul l'isomère 14*trans* a été étudié. Il a été montré que cet isomère inhibe également l'agrégation plaquettaire induite par l'acide arachidonique. Cet effet n'est pas observé avec le 20:3 n-9, suggérant un effet spécifique de la double liaison *trans* en position 14 (Berdeaux *et al*, 1996).

Le métabolisme des isomères de l'EPA a également été étudié dans les cellules endothéliales en culture. Sur ce modèle dans lequel l'acide arachidonique est principalement converti en prostacycline, une prostaglandine vasodilatatrice et anti-agrégante, il a été montré que l'enrichissement de ces cellules en isomères 11*trans*, 17*trans* et 11,17*ditrans* de l'EPA induisent une diminution de synthèse de prostacycline (Loi *et al*, 2000). Par ailleurs et comme dans les plaquettes sanguines, l'isomère 17*trans* de l'EPA semble être métabolisé comme l'acide arachidonique par la cyclooxygénase.

3. CLA et risques MCV

Les isomères conjugués de l'acide linoléique sont des isomères de l'acide octadécadiénoïque, qui présentent des doubles liaisons conjuguées. Les études ont porté principalement sur les isomères 18:2 *9cis11trans* (=CLA 9c,11t) et 18:2 *10trans12cis* (=CLA 10t,12c). Bien qu'ils soient minoritaires dans l'alimentation, ils exercent différentes activités biologiques. Depuis une dizaine d'années, une partie des recherches sur les CLA ont concerné leurs capacités éventuelles à réduire le développement de l'athérosclérose chez des animaux modèles ; des études de supplémentation de régimes avec des mélanges de CLA (majoritairement CLA 9c,11t + CLA 10t,12c) chez l'Homme ont été entreprises dans l'espoir que ces composés soient capables de réduire les risques de maladies cardio-vasculaires. Les études réalisées sur les CLA, en mélange et purifiés, portent donc sur a) la quantité et la nature des lipoprotéines, b) l'évolution des plaques d'athérome et c) l'expression de gènes hépatiques régulant la synthèse du cholestérol, des lipoprotéines et des récepteurs hépatiques assurant le captage des lipoprotéines. Les études sont présentées en fonction du mode d'administration (mélanges de CLA ou CLA purs).

3.1. Effets des CLA en mélange sur l'athérosclérose

3.1.1. Études d'intervention nutritionnelle

Benito P. et al, 2001

L'étude a porté sur 17 femmes adultes en bonne santé. Après une période de stabilisation de 30 jours sur un régime apportant 30 % de l'AET sous forme de lipides, une supplémentation journalière avec soit 3,9 g de CLA (n=10 sujets), soit 3,9 g d'huile de tournesol (n=7 sujets) a été apportée pendant 63 jours. Le mélange de CLA comprenait 4 isomères majoritaires dont 11,4 % de CLA 9c,11t et 14,7 % de CLA 10t,12c. À la fin des traitements, le profil des lipides plasmatiques (cholestérol total, C-LDL, C-HDL et TG) n'a pas été modifié. En outre, on n'observait aucun changement physiologique attribuable au mélange de CLA concernant le temps de saignement et l'agrégation plaquettaire. Ainsi, contrairement aux études chez l'animal, les CLA ne semblent pas avoir des effets bénéfiques, à court terme, vis-à-vis de l'athérosclérose, chez l'Homme.

Noone EJ. et al, 2002

L'étude a été réalisée à partir de volontaires sains, non fumeurs, 18 hommes et 33 femmes (moyenne d'âge : 31,6 ans), parmi le personnel d'hôpitaux de Dublin. Les sujets ont reçu quotidiennement pendant 8 semaines 3 g d'un des mélanges suivants contenant :

- 1- les isomères 9c,11t (CLA 9c,11t) et 10t,12c (CLA 10t,12c) en proportion équivalente (50 : 50) ;
- 2- les mêmes isomères en proportion 80 : 20 ;
- 3- uniquement l'acide linoléique : 9c,12c.

Il est apparu que le mélange 50 : 50 réduisait significativement la concentration des triglycérides plasmatiques, tandis que le mélange 80:20 abaissait significativement la concentration du cholestérol des VLDL. Aucune autre modification n'est observée concernant le C-LDL ou le transport reverse du cholestérol. Les auteurs indiquent que les CLA améliorent significativement le métabolisme des triglycérides et VLDL plasmatiques chez l'Homme et suggèrent que certains effets cardio-protecteurs des CLA observés par ailleurs chez l'animal peuvent s'appliquer à l'Homme.

3.1.2. Études chez l'animal

• Chez le porc

Stangl G.I. et al, 1999

Dans cette étude, des porcs ont été soumis pendant 6 semaines à un régime isoénergétique contenant ou non 1 % de CLA en mélange. L'insulinémie a augmenté chez les animaux traités, tandis que la concentration en AG non estérifiés a diminué, les différences étant toutefois non significatives. Le rapport C-LDL/C-HDL était de $0,78 \pm 0,15$ dans le groupe témoin contre $0,98 \pm 0,21$ dans le groupe CLA, la différence étant significative à $p < 0,04$. Ainsi, chez le porc, les conséquences de l'administration du mélange CLA sur les lipoprotéines plasmatiques peuvent apparaître défavorables vis-à-vis de l'athérosclérose.

• Chez le lapin

Lee KN et al, 1994

Cette étude a été réalisée sur le lapin. Les animaux de souche New Zealand ont reçu pendant 4 semaines un régime contenant 12 % d'huile de coprah riche en AG saturés et 2 % d'huile de maïs. Après ce temps d'adaptation, le régime a été supplémenté pendant 22 semaines avec 0,1 % de cholestérol, 0,5 g de CLA en mélange leur était fourni individuellement chaque jour. En fin de traitement, la prise alimentaire journalière et la masse corporelle n'étaient pas affectées.

La cholestérolémie est restée strictement comparable pendant 10 semaines, mais a diminué proportionnellement davantage chez les animaux traités (différences non significatives).

L'évolution de la triglycéridémie pendant les 22 semaines de traitement était qualitativement superposable à celle de la cholestérolémie, toujours sans aucune différence significative entre les 2 séries.

Le résultat le plus intéressant concerne le rapport des contenus en cholestérol des LDL et HDL, dont la diminution traduit, via l'augmentation des HDL, un retour plus important du cholestérol vers les cellules hépatiques et sa moindre disponibilité pour l'établissement de la plaque d'athérome. La baisse du rapport indiqué est devenue significative à $p < 0,05$ de 12 à 22 semaines dans la série traitée par le mélange de CLA.

En ce qui concerne l'athérosclérose, la comparaison des animaux témoins aux animaux traités semble montrer un effet favorable du mélange CLA (différences non significatives) : (1) les dépôts de cholestérol dans l'aorte, exprimés en mg par g de vaisseau, sont respectivement égaux à $18,8 \pm 4,6$ et $13,2 \pm 2,5$; (2) les surfaces (%) concernées par les lésions : 55 ± 14 et 43 ± 11 ; (3) l'épaisseur maximale des plaques dans l'aorte abdominale : $0,22 \pm 0,05$ mm et $0,16 \pm 0,03$ mm.

De cette étude, on peut conclure que les effets des CLA en mélange sont à tendance anti-athérogène chez le modèle présenté, sans différence affirmée par rapport aux animaux témoins.

Kritchevsky D. et al, 2000

Dans un premier temps, les animaux ont reçu pendant 90 jours un régime athérogène (dont 0,2 % de cholestérol). Ce régime a ensuite été remplacé pendant 90 jours supplémentaires par un régime sans cholestérol, supplémenté (CLA) ou non (Témoin) avec 0,1 %, 0,5 % et 1 % de CLA en mélange. Les résultats montrent que le mélange CLA (1 %) a agi très positivement sur le niveau de l'athérosclérose aortique dont la valeur, sur une échelle de 4, s'élevait à $2,29 \pm 0,36$ (dans le groupe témoin) contre $1,25 \pm 0,17$ (dans le groupe CLA). En outre, les surfaces (%) concernées par les lésions ont diminué (de 56 ± 7 à 30 ± 10). À la dose de 0,1 %, le mélange CLA a permis d'éviter le développement de l'athérome.

Les auteurs concluent que les CLA pourraient être des inhibiteurs effectifs de l'athérogénèse et qu'ils sont capables de faire régresser une athérosclérose déjà en place.

• Chez le hamster

Nicolosi RJ et al, 1997

L'étude a été réalisée chez le hamster après 11 semaines d'un régime contenant 10% d'huile de coprah, 1 % d'huile de tournesol, 0,12 % de cholestérol et, soit 1,1 % d'acide linoléique pour la série témoin, soit de 0 à 1,1 % de CLA en mélange pour les essais. La concentration maximale en cholestérol plasmatique était observée avec le régime dépourvu de CLA et d'acide linoléique, puis avec le régime supplémenté en acide linoléique. Les valeurs les plus faibles étaient trouvées avec les régimes enrichis en CLA, même à 0,06 % du régime. Toutefois les différences n'étaient pas significatives. La triglycéridémie était comparable avec les régimes supplémentés en acide linoléique ou en CLA. Les résultats relatifs au cholestérol provenant des VLDL et des LDL étaient qualitativement comparables à ceux du cholestérol plasmatique, mais les différences n'étaient pas significatives à $P < 0,05$. L'importance de la surface aortique présentant des plaques d'athérome dépendait approximativement de la richesse du plasma en cholestérol. Les auteurs de l'étude soulignent que les CLA alimentaires tendent à réduire les niveaux plasmatiques de cholestérol et ainsi à limiter la formation des plaques d'athérome.

Malgré la faiblesse de la significativité des résultats, on a pu préciser que les effets observés chez le lapin sont indépendants du statut sanguin anti-oxydant (Lee *et al*, 1994), tandis que ce statut est amélioré chez le hamster ingérant le mélange de CLA. On peut noter que la tendance anti-athérogène observée en réponse aux CLA n'est pas dose-dépendante et s'observe dès les plus faibles doses.

Wilson T.A. et al, 2000

L'étude a porté sur le hamster de souche F1B recevant pendant 12 semaines un régime hypercholestérolémiant à base de 20 % d'huile de noix de coco, 2 % d'huile de carthame et 0,12 % de cholestérol, non supplémenté (groupe contrôle) ou supplémenté soit avec 1 % de mélange CLA sous forme AG libres (groupe CLA), soit avec 1 % d'acide linoléique (groupe LA).

Les paramètres sanguins obtenus à l'issue du régime CLA étaient améliorés en termes de cholestérol par rapport au régime contrôle ($7,38 \pm 0,28$ mmoles/L *versus* $8,46 \pm 0,42$ mmoles/L), mais moins favorables que dans le groupe LA ($6,83 \pm 0,21$ mmoles/L). Pourtant c'est bien dans le groupe CLA que l'importance des stries lipidiques était la plus faible ($p = 0,006$) : $10,3 \pm 1,55 \mu\text{m}^2/\text{mm}^2$ vs $19,4 \pm 2,25 \mu\text{m}^2/\text{mm}^2$ pour le groupe témoin et $17,1 \pm 2,62 \mu\text{m}^2/\text{mm}^2$ pour le groupe LA.

On peut observer que c'est aussi dans le groupe CLA que l'oxydabilité des LDL (en termes de formation de diènes conjugués - nmoles/mg de protéine) faible : 432 ± 9 *versus* 495 ± 10 pour le groupe témoin et 536 ± 10 pour le groupe LA. Une partie de ces effets peut être liée à des propriétés anti-oxydantes vis-à-vis des LDL puisque les LDL oxydées sont captées préférentiellement pas les cellules spumeuses qui sont à l'origine de la plaque d'athérome.

- Chez la souris

Munday J.S. et al, 1999

Des souris C57BL/6 ont reçu pendant 15 jours des régimes contenant 14,5 % de triglycérides et de 0 à 0,5 % d'un mélange de CLA. Les triglycérides et cholestérols sanguins étaient en concentrations équivalentes dans les divers essais, mais l'importance des stries lipidiques dans l'aorte était plus élevée (multipliée par 2 ou 3) chez les animaux recevant les mélanges CLA.

- Chez le rat

Stangl G.I., (2000)

L'animal d'expérience était le rat Sprague-Dawley soumis pendant 5 semaines à un régime contenant 16,7 % d'huile de coprah, 8,33 % d'huile de tournesol et 1 à 5 % d'un mélange de CLA. Malgré l'inégalité des quantités de lipides dans le régime témoin et ceux contenant les CLA, le cholestérol total, le C-LDL et les phosphatidylcholines étaient toujours en plus faible concentration dans le sang lorsque les régimes contenaient les CLA.

Chez ce modèle animal, les CLA sont capables de diminuer le contenu sanguin en cholestérol et limiter ainsi le développement de l'athérosclérose.

3.2. Effet des isomères séparés de CLA

3.2.1. Études chez l'Homme

Tricon S et al, 2004

Il s'agit d'une étude randomisée en double aveugle, croisée et stratifiée sur l'âge, l'IMC et la concentration de TG plasmatiques à jeun. Elle a été conduite chez 49 hommes en bonne santé (nombre de sujets dans les 2 groupes : 24 et 25) ne présentant ni MCV, ni diabète. Chaque groupe a consommé pendant 8 semaines des quantités croissantes (de 0,59g/j à 2,52g/j) de l'un des 2 CLA purifiés à 80 % sous forme de triglycérides encapsulés, puis après une période de « wash out » de 6 semaines l'autre isomère pendant 8 semaines supplémentaires.

Des résultats divergents ont été observés entre sujets traités au CLA 9c,11t ou au CLA 10t,12c. La triglycéridémie et le rapport C-LDL / C-HDL ont augmenté chez les sujets traités au CLA 10t,12c, alors que ces paramètres ont diminué avec le traitement CLA 9c,11t. Aucun effet n'a été observé sur la concentration du plasma en insuline et sur la résistance à l'insuline.

Il faut remarquer les qualités de ce protocole d'une durée totale de 13 mois, en double aveugle, avec « cross over », utilisant des CLA purifiés, sous la forme de TG. Dans ces conditions que l'on peut considérer optimales, l'isomère CLA 9c,11t, contrairement au CLA 10t,12c, diminue les paramètres sanguins du risque cardio-vasculaire chez l'Homme, et ainsi participe à la réduction de ce risque. De similaires observations ont été faites chez le hamster (Valeille *et al*, 2004).

3.2.2. Études chez l'animal (hamster)

de Deckere E.A.M. et al, 1999

Des hamsters ont reçu, après 2 semaines de stabilisation, un régime contenant 13,1 % de lipides et 0,01 % de cholestérol. Les CLA 9c,11t et CLA 10t,12c ont été ajoutés en mélange ou sous forme pure. Il est apparu que le mélange de CLA et le CLA 10t,12c diminuaient la masse de tissu périépididymaire respectivement de 9 et 16 %, et réduisaient les valeurs du C-LDL et du C-HDL respectivement de 8 et 11 %, tandis que le CLA 9c,11t n'avait aucun effet. L'étude montre que l'isomère CLA 10t,12c représente la forme active (modification des concentrations des lipides sanguins) du mélange CLA.

Gavino VC. et al, 2000

Cette étude confirme, chez le hamster, l'inefficacité de l'isomère CLA 9c,11t à modifier les concentrations lipidiques du sang, alors que le mélange de CLA (qui contient les formes CLA 9c,11t et CLA 10t,12c) réduit le cholestérol et les triglycérides. Indirectement ces données suggèrent le rôle de l'isomère CLA 10t,12c dans la baisse des lipides sanguins au moins chez le modèle considéré.

Vaille K. et al, 2004

Des hamsters de souche LPN ont reçu un régime contenant 12,5 % de graisses et 0,06 % de cholestérol pendant 8 semaines ; ce régime a été supplémenté avec :

- 0,5 % d'isomère CLA 9c,11t ;
- 1,2 % de mélange CLA ;
- 1,2 % d'huile de poisson ;
- 1,2 % d'huile de poisson + 1,2 % de mélange CLA.

L'expérimentation montre que le statut en cholestérol du plasma ne serait amélioré qu'avec l'isomère CLA 9c,11t par augmentation du rapport C-HDL /C-LDL, le mélange CLA étant moins efficace.

En ce qui concerne les VLDL, LDL et HDL, l'enrichissement du régime de base avec l'isomère CLA 9c,11t s'est révélé, avec l'huile de poisson, le moyen le plus efficace pour réduire le contenu en triglycérides des VLDL.

Chez le hamster qui représente un modèle assez proche de l'Homme pour divers aspects hépato-digestifs, les auteurs concluent qu'une partie des effets des CLA peut être attribuée à l'isomère CLA 9c,11t. Toutefois l'impact réel sur le développement de l'athérosclérose reste à déterminer.

L'originalité de ces résultats est de souligner le rôle favorable de l'isomère CLA 9c,11t sur les marqueurs sanguins de l'athérosclérose, ce qui a pu être occulté dans d'autres études par les conséquences de l'effet lipoatrophique de l'isomère CLA 10t,12c au niveau du sang lorsque les 2 isomères sont administrés en mélange.

3.2.3. Études *in vitro*

Weldon S. et al, 2004

L'étude montre que, dans les macrophages THP-1, les 2 CLA augmentent l'expression de CD36 et le contenu en cholestérol des macrophages sans modification de l'efflux en réponse à l'apoA1. Ces données vont dans le sens d'un effet athérogène des 2 CLA principalement étudiés.

En conclusion de ces études, les résultats sont discordants entre modèles expérimentaux et montrent qu'il existe potentiellement un effet athérogène.

3.3. CLA et eicosanoïdes

En 1997, il est apparu que les CLA induisent une inhibition de la croissance cellulaire dans la lignée cancéreuse MCF-7 qui est contre-carrée par l'indométhacine (inhibiteur de la production de prostanoides) mais potentialisée par le NDGA (inhibiteur de la production de leucotriènes) (Cunningham *et al*, 1997). Ceci indiquait la production d'eicosanoïdes induite par les CLA avec des effets opposés.

Une étude réalisée sur des plaquettes sanguines humaines (Truitt *et al*, 1999) a ensuite montré que CLA-1 (9c,11t) et CLA-2 (10t,12c) inhibent de manière équivalente (IC50 de 5 à 15 µM) l'agrégation plaquettaire via l'inhibition de la formation de thromboxane.

En utilisant des cellules endothéliales de la veine saphène en culture, Urquhart *et al* (2002) ont ensuite montré que les CLA (50/50) inhibent de manière dose-dépendante la formation de prostanoïdes induite par l'ionophore calcique A23187. Les auteurs en concluent que ces effets contribuent à l'activité anti-inflammatoire et anti-athérogène des CLA, ce qui est contestable pour l'activité anti-athérogène puisque l'inhibition de la formation de prostacycline (puissant anti-agrégant plaquettaire et vasodilatateur) contribue plutôt au risque athérogène. Dans cette étude, une distinction a aussi été recherchée entre CLA-1 et CLA-2. A forte concentration (100 µM), CLA-1 s'est à nouveau révélé inhibiteur de la formation de prostanoïdes alors que CLA-2 s'est révélé fortement stimulateur de cette dernière.

Dans une approche similaire (Torres-Duarte & Vanderhoek, 2003) ont montré que CLA-1 et CLA-2 inhibent avec approximativement la même puissance (IC₅₀ de 5,5 et 2,6 µM) la production de prostacycline induite par la thrombine dans des cellules endothéliales de veine ombilicale humaine en culture (HUVEC), contrairement à d'autres CLA.

Une autre étude s'est attachée à évaluer l'effet de chacun des deux CLA sur la libération spontanée, par les cellules endothéliales aortiques humaines, des deux vasodilatateurs et inhibiteurs de l'activation plaquettaire que sont la prostacycline et le monoxyde d'azote. Une inhibition significative de la libération de ces deux médiateurs a été observée avec 50 µM de chacun des deux CLA (Eder *et al*, 2003).

Une étude réalisée *ex vivo* a également montré chez le cobaye que l'ingestion du mélange de CLA provoque l'inhibition de la libération de tous les prostanoïdes et des leucotriènes peptidiques pulmonaires induite par l'ovalbumine (Whigham *et al*, 2002). Ceci indique une possible protection des CLA contre l'hypersensibilité dépendante des eicosanoïdes.

On peut conclure de ces six études que les CLA affectent la capacité de production cellulaire des eicosanoïdes, généralement en les inhibant (à l'exception de CLA-2 à 100 µM sur les cellules endothéliales de la veine saphène et des cellules cancéreuses MCF-7). Les effets résultants peuvent être considérés comme bénéfiques sur les plaquettes sanguines et le poumon dans la situation d'hypersensibilité mais néfastes sur l'endothélium vasculaire.

Année	Auteurs	Modèle	Mélange CLA ou CLA identifié	Marqueurs sanguins favorables	Effets anti-athérosclérose
1994	Lee <i>et al.</i>	lapin	mélange	+	(+)
1997	Nicolosi <i>et al.</i>	hamster	mélange	(+)	(+)
2000	Stangl G.I.	rat	mélange	+	n.d.
1999	Stangl <i>et al.</i>	porc	mélange	-	n.d.
1999	Munday <i>et al.</i>	souris C57BL/6	mélange	+	--
2000	Wilson. <i>et al.</i>	hamster F ₁ B	mélange	++	++
2000	Kritchevsky <i>et al.</i>	lapin	mélange	+ / -	++
1999	de Deckere <i>et al.</i>	hamster	c9,t11 t10,c12	o +	n.d.
2000	Gavino <i>et al.</i>	hamster	c9,t11 mélange	o +	n.d.
2003	Degrace <i>et al.</i>	souris C57BL/6	c9,t11 t10,c12	+ ++	n.d.
2004	Vaille <i>et al.</i>	hamster LPN	Mélange 50:50 80:20	+ (TG) + (C-VLDL)	n.d.
2002	Noone <i>et al.</i>	humains	c9,t11 t10-c12	(o) +	n.d.
2004	Weldon <i>et al.</i>	humains	c9,t11 t10-c12	(-) (-)	n.d.
2004	Tricon <i>et al.</i>	humains	c9,t11 t10-c12	+ -	n.d. n.d.

Mélange : sauf indication contraire, 50 % c9t11 et 50 % t10,c12.
n.d., non déterminé ; entre parenthèse : limite de la significativité ou doute.

En conclusion aux études relatives à l'effet des CLA sur les facteurs de risque de l'athérosclérose et la formation des plaques d'athérome, la notion de modèles adaptés à l'étude de l'athérosclérose est de première importance, les résultats pouvant complètement diverger d'une espèce à l'autre. Les marqueurs sanguins (cholestérol, triglycérides) peuvent apparaître favorables avec l'isomère 10t,12c dès lors que le foie capte beaucoup plus activement les lipides sanguins, mais la stéatose hépatique qui se développe dans le même temps représente un aspect négatif majeur. Chez les modèles lapin et hamster, il existe une correspondance entre les marqueurs sanguins favorables et l'effet anti-athérome.

En définitive, l'isomère 9c,11t paraît améliorer le profil des marqueurs sanguins dans certaines espèces dont l'Homme, sans qu'aucune stéatose hépatique ou autre effet négatif ne soit décrit. Cependant, les effets relativement discrets au niveau sanguin ont fait négliger ses actions potentielles contre l'athérosclérose. Néanmoins, les données récentes publiées sur cet acide gras suggèrent des effets potentiels sur l'apparition ou non des plaques d'athérome via le métabolisme du cholestérol.

4. Conclusions et recommandations

D'après les études épidémiologiques (4 cohortes), la consommation d'AG *trans* augmente significativement le risque cardio-vasculaire. L'augmentation du risque est continue sur une large gamme d'apports, compris entre 1,3 g/j et 16,1 g/j ; le risque est augmenté de 25 % lorsque la consommation d'AG *trans* augmente de 2% (AET) (tableau 79). Il s'agit des AG *trans* totaux et des AG *trans* d'origine technologique. Les données disponibles sur les AG *trans* d'origine animale, pour ce même niveau de consommation, sont insuffisantes et ne permettent pas d'effectuer de discrimination.

D'après les études d'intervention nutritionnelle, un effet dose-réponse des AG *trans* alimentaires (principalement 18:1 *trans*) est observable sur le cholestérol plasmatique, en particulier sur le C-LDL, lorsque l'acide oléique est substitué par l'acide 18:1 *trans*, pour des apports compris entre 3 % et 11 % AET. Il ne ressort pas de valeur « seuil ». Ces mêmes études permettent de comparer acides gras saturés et AG *trans* :

- Comparé aux acides gras saturés, il apparaît que l'effet des AG *trans* (=monoènes *trans*) sur l'accroissement du C-LDL est comparable à celui des AGS connus pour être hypercholestérolémiant, avec les nuances suivantes : (1) l'effet est similaire à celui de l'acide palmitique (16:0) ; (2) légèrement inférieur à celui des acides laurique (12 :0) et myristique (14:0) ; (3) en revanche, l'acide stéarique (18:0) n'induit pas d'augmentation du C-LDL. Les AG *trans* sont hypercholestérolémiant par rapport à l'acide stéarique ;
- Comparé à l'acide palmitique, les AG *trans* alimentaires n'augmentent pas le C-HDL. En conséquence, la consommation d'AG *trans* induit une élévation du rapport d'athérogénicité CT/ C-HDL plus importante que l'acide palmitique. Les AG *trans* sont plus athérogènes que l'acide palmitique.

Concernant l'effet des CLA sur les facteurs de risque de l'athérosclérose et la formation des plaques d'athérome, la notion de modèles adaptés à l'étude de l'athérosclérose est de première importance, les résultats pouvant complètement diverger d'une espèce à l'autre. Les marqueurs sanguins (cholestérol, triglycérides) peuvent apparaître favorablement modifiés avec l'isomère 10t,12c dès lors que le foie capte beaucoup plus activement les lipides sanguins, mais la stéatose hépatique qui se développe dans le même temps représente un aspect négatif majeur ; de même, une baisse du C-HDL est observée avec le mélange des deux isomères (9c,11t et 10t,12c).

En définitive, l'isomère 9c,11t paraît améliorer le profil des marqueurs sanguins dans certaines espèces dont l'Homme. Certes, aucune stéatose hépatique n'a été rapportée, mais d'autres effets négatifs ont été observés, en particulier vis-à-vis de l'insulino-résistance. L'étude de Tricon (2004) montre que le 18:2 9c,11t et le 18:2 10t,12c ont des effets opposés sur le profil lipoprotéique ; l'isomère 10t,12c augmente les rapports C-LDL / C-HDL et CT / C-HDL, l'isomère 9c,11t les diminue. Cependant aucun effet dose n'a pu être mis en évidence.

Recommandations

En termes de santé publique

Si on considère les données de la littérature sur le risque cardio-vasculaire, le seuil de consommation des AG *trans* (monoènes et polyènes non conjugués) à ne pas dépasser peut être fixé à 2 % AET, que ce soit les acides gras *trans* totaux, ceux d'origine animale ou d'origine technologique. Cette valeur est supérieure à la consommation quotidienne estimée à 1,3 % AET, en moyenne. Il apparaît néanmoins qu'une fraction de la population (adolescents) ont une consommation supérieure à 2 % AET.

Les recommandations visent principalement cette fraction de la population :

- diminuer la consommation des aliments forts contributeurs d'AG *trans* totaux (types viennoiseries, etc...) identifiés dans ce rapport ;
- diminuer la teneur quelquefois élevée en AG *trans* dans certains de ces aliments.

En outre, si l'un des objectifs du PNNS – diminuer l'apport des AGS - est suivi, l'apport en AG *trans* diminuera, dans la mesure où ces deux types d'AG sont souvent associés dans les aliments.

Concernant les CLA, on fait le constat suivant : (1) les deux isomères sont toujours proposés en mélange quand il ne s'agit pas d'apports naturels ; (2) l'un de ces deux isomères (le 18:2 10*t*,12*c*) a des effets délétères vis à vis du risque cardio-vasculaire ; en conséquence, leur consommation sous cette forme n'est pas recommandée pour prévenir cette pathologie.

En termes d'information aux professionnels de l'agro-alimentaire

Informers les professionnels/distributeurs de l'existence des effets néfastes de certains AG *trans*.

Recommander de réduire la teneur en AG *trans* des matières grasses (« shortenings ») entrant dans la composition de certains aliments (ex : viennoiseries industrielles).

Proposer un taux maximum d'AG *trans* dans les « shortenings » de 5 % par rapport aux acides gras totaux ; ce qui se traduirait, pour les viennoiseries industrielles, par un taux d'AG *trans* maximum de **1 g pour 100 g de produit** (=viennoiserie « type », à 20 % de matière grasse), taux d'AG *trans* comparable à celui des viennoiseries dites « au beurre ».

Recommander aux industriels concernés de : (1) diminuer le taux de la matière grasse globale dans les produits ; (2) ne pas remplacer les AG *trans* par des AGS hypercholestérolémiants.

En termes d'information au consommateur

Sensibiliser le consommateur sur la consommation excessive de lipides en général et d'acides gras saturés et *trans* en particulier.

Informers la famille sur les risques encourus par l'adolescent qui consomme, de façon excessive, des produits type viennoiseries.

En termes de recherches à poursuivre

Étudier le comportement des isomères 18:1 9*t* et 18:1 11*t*, marqueurs respectifs de l'origine technologique et de l'origine animale (ruminants), vis-à-vis d'activités enzymatiques impliquées dans le métabolisme du cholestérol (LCAT, CETP, ACAT), en vue d'examiner si l'un des deux isomères est moins athérogène que l'autre.

Tableau 79 : Risque relatif (RR) d'événements cardiovasculaires et consommation d'AG *trans* (résultats d'études épidémiologiques prospectives)

Auteurs et pays	Sujets	Mesure de l'exposition	RR	Tend.	Remarques
Ascherio, 1996 USA	HPFS hommes 40-75 ans 505 CHD + 229 morts/ 43 757 6 ans	FFQ 131 items	H (3,3g/j) vs L(1,5g/j) 1,12 (0,86-1,46) H (4,3g/j) vs L(1,5g/j) 1,21 (0,93-1,58) pour un incrément de AGT=2 % CHD : 1,13 (0,83-1,54) M : 1,47 (0,90-2,40)	0,01	Après ajustement sur fibres OR↓ et T NS Ajustement fibres GT et AG : NS
Hu <i>et al</i> , 1997 USA	NHS femmes 30-55 ans 658 CHD+281 morts/ 80 082 14 ans	FFQ 61 items	H (2,9/j) vs L(1,3) 1,27 (1-1,56) Ajustement sur autres acides gras 1,53 (1,16-2,02) pour un incrément de AGT=2 % 1,62 (1,23-2,13)	0,02 0,002 <0,001	
Pietinen <i>et al</i> , 1997 Finlande	ATBC hommes 50-69 ans 818 CHD+581 morts/ 21 930 6 ans	FFQ 276 items	CHD:H (2,7/j) vs L(1,3) 1,07 (0,90-1,28) H (6,2g/j) vs L(2,2) 1,14 (0,96-1,3) Mort : H (5,6g/j) vs L(1,3) 1,39 (1,09-1,78) apport en %AGT H(2) s L(0,6) 1,43 (1,12-1,84) pour un incrément de 5g/j AGT 2,21 (1,68-2,91)	NS 0,004 0,004	Quand catégories : total, élaïdique, végétal RR id #1,35 pour apport #5g Source animale n'atteint pas ce taux ; NS pour 2,5g
Oomen <i>et al</i> , 2001 Pays-Bas	Zutphen elderly study 64-84 ans 49 CHD+49 morts/ 667 hommes 10 ans	« histoire alimentaire » sur 1 mois	apport en %AGT: H(3,87%) s L(2,36) 1,34 (0,76-2,37) H(6,38%) s L(2,36) 2,00 (2,07-3,75) pour un incrément de AGT=2 % 1,28 (1,01-1,61)	NS 0,03	

1. La cancérogénèse

La cancérogénèse est un processus multifactoriel et multiétapes. Dans leur forme sporadique, les cancers résultent d'altérations génomiques multiples (inactivation de gènes suppresseurs de tumeur par mutation ou délétion, amplifications d'oncogènes, instabilité génomique). Quand elles ne sont pas réparées, ces altérations mènent à la perte des différents systèmes de régulation de la multiplication cellulaire, de la différenciation et de la mort cellulaire programmée.

Il s'en suit une cellule transformée, qui, si elle échappe à l'apoptose, pourra évoluer vers la phase de promotion, sous l'influence d'autres facteurs génomiques, eux-mêmes associés à des facteurs environnementaux. Durant cette seconde phase, différents facteurs de signalisation cellulaire et de transcription (ROS, NFκβ...) vont promouvoir la prolifération non régulée de la cellule transformée.

Une autre altération génomique ou épigénétique fera passer cette hyperplasie encore limitée au stade de tumeur qui, sous l'influence de divers facteurs de croissance, progressera vers la tumeur clinique, puis vers les métastases, elles-mêmes conditionnées par différents facteurs liés à des facteurs génomiques (par exemple, l'angiogénèse) ou à des dysfonctionnements métaboliques (par ex. synthèse accrue des prostaglandines).

Dans les formes héréditaires à forte pénétrance (par exemple l'implication des gènes BCRA 1 dans le cancer du sein BCRA 1 et 2 dans le cancer du sein et de l'ovaire), la première lésion génomique qui existe déjà dans la cellule est transmise par les cellules germinales. La cellule porteuse de mutation sera donc hautement vulnérable et répondra facilement et précocement aux facteurs génomiques et environnementaux qui la feront progresser vers les étapes suivantes.

Pour certains types de cancers, comme le cancer du colon, les différents stades cliniques et les altérations génomiques correspondantes commencent à être identifiées ainsi que certains facteurs de risque à chacune des étapes.

2. Généralités sur les relations entre AG alimentaires et cancers

Les facteurs alimentaires peuvent jouer un rôle à chacune des étapes et les mécanismes en sont divers (Rapport AFSSA-NACRe, 2003). Les AG alimentaires ne semblent pas être génotoxiques, donc auraient peu ou pas de rôle pendant la phase d'initiation. Leur effet pourrait s'exercer soit pendant la phase de promotion où les dérivés peroxydés pourraient jouer un rôle dans la signalisation cellulaire notamment dans la synthèse des eicosanoïdes par les cyclo-oxygénases (la cyclo-oxygénase 2 est surexprimée dans les cancers colo-rectaux) et certaines protéines kinases. Ils pourraient également à ce stade interférer avec la flore colique pour synthétiser des *sn*-1,2-diacyl-glycérols qui activent la phosphokinase C (PKC) et de là favorisent la prolifération cellulaire. Cette activité est plus élevée avec de régimes riches en AG n-6 qu'avec des régimes riches en AG n-3.

Les effets les mieux identifiés s'exercent à la phase de croissance tumorale et de progression avec une activité apoptotique exercée notamment par les AG n-3 à longue chaîne et peut-être les CLA. Les mécanismes impliqués ne sont pas identifiés. Ils pourraient être liés aux conséquences de la peroxydation lipidique, et aussi à leur action modulatrice sur la transcription de nombreux gènes, incluant Bcl2. Ils contrôlent également la prolifération des cellules cancéreuses dans de nombreux systèmes, et ce contrôle de la prolifération pourrait passer par exemple par l'activité de la phosphatidylinositol-3-kinase (PI-3K) modulée par l'équilibre oléate/palmitate. Le possible effet délétère des AGPI n-6 peut être lié à leur action sur la voie des cyclo-oxygénases, pouvant ainsi rendre compte de leur rôle dans l'angiogénèse tumorale. Les AG à longue chaîne n-3 s'opposent à ce mécanisme par compétition de substrat. Parmi leurs effets notables, les AG polyinsaturés influencent la vascularisation des tumeurs, et ainsi contribuent au contrôle du développement tumoral.

Enfin il faut mentionner le rôle indirect des lipides de par leur contribution à l'apport calorifique, à la mise en place de l'obésité et au syndrome métabolique. Ces trois facteurs sont des facteurs de risque des cancers colo-rectaux

et hormono-dépendants. Les CLA pourraient jouer un rôle spécifique dans la prévention de l'obésité (Gauillier *et al*, 2004) ou l'apparition du syndrome métabolique (Riserus *et al*, 2002 ; Taylor et Zahradka, 2004) (voir Chapitre IV).

3. Données épidémiologiques

3.1. Méthodes d'évaluation des études épidémiologiques

Les études ont été recherchées grâce à MEDLINE, ou par les références d'articles de revues. Cependant, seuls les articles originaux ont été consultés et pris en considération. De même, ont été uniquement retenues les études d'épidémiologie analytique, parmi lesquelles les études non valides ont été éliminées. Les critères de sélection (White book, 2000 ; Gerber, 2001) ont été les suivants :

- effectif de l'échantillon : le chiffre retenu dépend du type d'étude, cas-témoins ou cohorte, de la mesure de l'exposition (questionnaire ou biomarqueur,) et de la fréquence du cancer considéré. Par exemple, pour le cancer du sein, avec une mesure de l'exposition par questionnaire, 50 à 100 cas dans une étude de cohorte sera jugée recevable (biomarqueurs et questionnaire, respectivement) alors que 500 cas et 500 témoins, seront requis pour une étude cas-témoin par questionnaire et une centaine de cas et témoins, par biomarqueurs. Pour des cancers moins fréquents, des chiffres plus faibles sont acceptés dans les études cas-témoins ;
- qualité du questionnaire : il devrait comporter une évaluation complète de l'apport alimentaire de façon à pouvoir rechercher l'indépendance des variables considérées. D'une façon générale, on considère qu'un questionnaire alimentaire de fréquence de consommation doit comporter au moins une centaine de questions. Ce questionnaire doit être validé par des méthodes de référence ;
- analyse statistique : l'analyse du risque relatif (HR) dans les cohortes ou du risque relatif estimé (OR) dans les études cas-témoins doit être accompagné des intervalles de confiance à 95 % (IC), et si possible d'un test de tendance. Les ajustements sur les facteurs de confusion établis (exemple : risques classiques du cancer du sein) ou sur l'apport calorique doivent être réalisés. L'analyse porte sur les aliments ou groupe d'aliments présentant des similarités de composition, ou spécifiquement sur les microconstituants. Dans ce dernier cas, la qualité de la base de données concernant la composition des aliments est déterminante. Dans le cas des AG poly-insaturés, les tables de composition incluant des données analytiques spécifiques de chacun des AGPI sont rares et le plus souvent incomplètes.

Le lien entre AG *trans* et l'incidence et/ou la mortalité par cancers a fait l'objet de peu d'études épidémiologiques. Une étude écologique (Bakker *et al*, 1997) portant sur le tissu adipeux périphérique (contenant de 0,2 à 2 g d'AG *trans* / 100 g d'AG) a suggéré l'existence d'un lien entre cancers du sein, du colon et de la prostate, respectivement : $r=0,89$ (0,62-0,97), $r=0,93$, (0,74-0,78), $r=0,50$ (0,15-0,85). Mais les seuls cancers étudiés à notre connaissance par des méthodes analytiques sont les cancers du sein et du colon ainsi que les adénomes coliques.

3.2. Cancer du sein

C'est le cancer le plus fréquent chez la femme avec plus de 40 000 nouveaux cas par an, plus de 11 000 décès (2000) et un taux de 107,7/100 000 (standardisé pour l'Europe, année 1998).

3.2.1. Les facteurs de risque

La cancérogénèse mammaire est particulièrement complexe et encore mal connue.

À l'étape de l'induction de la cancérogénèse, la mutation des gènes suppresseurs BCRA 1 et 2 rend compte des cancers familiaux à forte pénétrance (4 à 8 % des cancers du sein). Une susceptibilité génétique, liée à un polymorphisme génétique d'enzymes de phase 1 et 2 pourraient également jouer un rôle en interaction avec divers facteurs environnementaux (Saintot *et al*, 2003). Les radiations ionisantes représentent le seul facteur environnemental clairement associé au cancer du sein. Il est fortement suspecté que les cathéchols-estrogènes mutagènes puissent jouer un rôle lors de l'induction de la cancérogénèse. Il est maintenant admis que l'état de différenciation de l'épithélium mammaire modifie le risque de cancer du sein à cette étape (Clavel et Gerber, 2002) : une grossesse précoce entraîne une différenciation cellulaire augmentant la résistance au processus de cancérogénèse, à l'inverse la nulliparité augmente le risque.

Les hormones jouent un rôle essentiel lors de la promotion et la progression par leur effet autocrine et paracrine sur la prolifération des cellules mammaires. Tous les facteurs associés et/ou intervenant avec ce métabolisme doivent donc être considérés comme des facteurs de risque de cancer du sein. Ce sont les facteurs liés à la vie génitale (âge précoce aux premières règles et âge tardif à la ménopause, qui assure une plus longue imprégnation

estrogénique). Ce sont aussi les facteurs liés au mode de vie : l'activité physique intense à l'adolescence qui réduit l'activité gonadale, les facteurs alimentaires qui favorisent la synthèse des estrogènes, ou une modification de leur régulation, ou encore la synthèse d'autres facteurs de croissance (IGF-1). Le rôle des facteurs alimentaires peut être direct sur la synthèse des estrogènes (cas de l'alcool) ou indirect, via l'obésité abdominale (apport calorique important, apport de fibres insuffisant, et activité physique insuffisante). Dans ces conditions, on comprend les difficultés des études épidémiologiques essayant d'isoler l'effet d'un seul de ces facteurs en relation au risque de cancer du sein. Ceci est particulièrement vrai pour les facteurs alimentaires qui associent une estimation entachée d'erreur à la présence de nombreux facteurs de confusion.

3.2.2. Les études épidémiologiques

À ce jour trois études de cohorte (Holmes *et al*, 1999 ; Aro *et al*, 2000 ; Voorrips *et al*, 2002) et 1 étude cas-témoins (Mc Cann *et al*, 2004) ont été publiées basées sur une estimation de l'exposition par questionnaire alimentaire. Elles montrent des résultats contradictoires qui vont d'une forte diminution de risque, à une augmentation de risque en passant par un effet modéré et un effet sur la seule catégorie des tumeurs dépourvues de récepteurs à estrogènes (Tableau 82) Compte-tenu de l'effet anti-estrogénique possible des CLA cette relation peut être intéressante à approfondir (Tanmahasamut *et al*, 2003). Ces 3 études sont basées sur une estimation de l'exposition par questionnaire alimentaire. Trois autres études cas-témoins (Tableau 83) ont estimé le risque en utilisant les marqueurs : sérique (Aro *et al*, 2000), tissu adipeux périphérique (Kohlmeier *et al*, 1997) et tissu adipeux mammaire (Chajès *et al*, 2002). L'étude par biomarqueur sérique indique une réduction de risque alors que les deux autres montrent une augmentation de risque. L'étude de Kohlmeier montre une interaction avec le taux d'AGPI. On sait en effet que le AG *trans* sont susceptibles de réduire la production d'eicosanoïdes de la série n-3 (de Schrijver and Privett, 1982). Mais on peut regretter qu'il n'y ait pas d'analyse plus spécifique des isomères *trans* et des séries d'AGPI n-6 et n-3.

3.3. Cancer du colon

En 2000, le taux d'incidence et de mortalité (exprimé en pour 100 000 individus) standardisé sur la population mondiale tous sexes confondus était respectivement de 43,15 et 17,63. L'incidence est plus élevée chez l'homme que chez la femme. On distingue les cancers du colon proximal et distal, ce dernier paraissant plus lié aux facteurs alimentaires.

3.3.1. Les Facteurs de risque

Il existe des gènes dont les mutations augmentent le risque de cancer du colon : mutations des gènes APC (polypose familiale) et Kras, perte des gènes DCC, P53, et NM23.

D'autres facteurs de risque tels la colite ulcéreuse, l'infection par *Schistosoma* sont également documentés. Le tabagisme favoriserait la progression du petit vers le gros adénome, et l'alcool du gros adénome vers la tumeur maligne. Au contraire deux études d'intervention (Baron *et al*, 1999; Bonithon-Kopp *et al*, 2000) ont montré que le calcium, en complément alimentaire diminuait l'évolution de petit vers le gros adénome.

L'alimentation est fortement suspectée de jouer un rôle dans le cancer du colon de différentes façons. Tout d'abord, c'est Burkitt qui a observé la faible incidence de cancer du colon dans les pays où la consommation de fibres est élevée. Cette observation est maintenant soutenue par la majorité des résultats des études épidémiologiques analytiques, notamment par les derniers résultats de l'étude prospective multicentrique EPIC (Bingham *et al*, 2003). La viande est également considérée comme facteur de risque, mais il semble que c'est surtout la charcuterie qui est responsable de l'augmentation du risque (Norat *et al*, 2002). L'effet de ces aliments passerait soit par l'effet sur le métabolisme de sels biliaires (les sels biliaires secondaires mutagènes qui sont favorisés par un régime riche en viande et pauvre en fibres), soit par la synthèse d'AG à chaîne courte ayant un effet bénéfique sur les colocytes (favorisée par un régime riche en fibres et pauvre en viande). Le fer héminique apporté par les viandes seraient également un facteur de risque. Les composés nitrosés présents dans les produits transformés (charcuterie, aliments fumés et saumurés) sont fortement suspectés d'augmenter le risque. Ceci expliquerait la forte prévalence de cancers coliques au Japon, malgré un profil alimentaire favorable : en effet une susceptibilité génétique liée à un polymorphisme des enzymes de phase II les rendraient particulièrement sensibles à l'effet des composés nitrosés.

Certains auteurs ont suggéré que des facteurs hormonaux pourraient jouer un rôle dans le cancer du colon (Potter, 1995). Cependant cette hypothèse n'est actuellement pas confirmée.

3.3.2. Les études épidémiologiques

Une étude a été conduite aux États-Unis (Slattery *et al*, 2001) montrant une augmentation de risque de cancer du colon chez les femmes consommant le plus d'acide gras *trans* ; le risque augmente avec l'âge, l'absence de consommation de médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens et de traitement hormonal non-substitutif (Tableau 84).

Également aux États-Unis, une étude portant sur les adénomes colo-rectaux a été conduite et la consommation d'aliments contenant des huiles végétales partiellement hydrogénées (HVPH). Sur les 3 groupes d'aliments riches en HVPH, seule la consommation de viennoiseries et biscuits (sweetened baked goods) augmente le risque (Tableau 3). Les auteurs en concluent que les AG *trans* ne sont pas des facteurs de risque et s'appuient sur le fait que le chocolat augmente aussi le risque et pas les barres chocolatées (qui, elles, contiennent des HVPH).

3.4. Conclusions

Au regard de ces résultats contradictoires, il paraît donc difficile de conclure.

Cependant, il faut noter que d'une part, les études épidémiologiques ne distinguent pas les différents isomères des CLA et que d'autre part, le taux de CLA apporté par l'alimentation est actuellement très inférieur à la quantité pouvant montrer un effet chez le rat dans les études expérimentales. En effet (comme indiqué dans le paragraphe suivant), les données provenant des études réalisées dans les modèles animaux suggèrent que l'effet antitumoral pourrait être dû principalement aux isomères *9cis*, *11trans* et *10trans*, *12cis*.

Comme il semble que la protection contre les cancers observée dans les modèles animaux ne paraît pas trouver son équivalent dans les études humaines, il serait donc intéressant de reprendre maintenant des études dans de meilleures conditions d'estimation de l'exposition.

4. Données expérimentales chez l'animal

4.1. CLA et tumorigénèse mammaire

Les dérivés conjugués de l'acide linoléique (CLA) semblent avoir des propriétés inhibitrices de la cancérogenèse, notamment mammaire. Ces molécules, présentes dans de nombreux produits alimentaires, seraient actives à des concentrations comparables à celles présentes dans notre alimentation (Ip *et al*, 1994).

L'utilisation de différentes espèces animales (souris, rates, hamsters), de diverses lignées cellulaires cancéreuses et de différents modèles de cancérogenèse (cancers chimio-induits avec des cancérigènes directs ou indirects, tumeurs transplantées) ont permis de confirmer le rôle protecteur des CLA en cancérogenèse pour différents sites : peau (Ha *et al*, 1987), estomac (Ha *et al*, 1990), pancréas (Appel *et al*, 1994), hépatocarcinogénèse (DesBordes *et al*, 1995), poumon (Schonberg *et al*, 1995), cancérogenèse mammaires (Ip *et al*, 1991 ; 1995 ; Schultz *et al*, 1992 ; Cheng *et al*, 2003) et colique (Liew *et al*, 1995 ; Coleman *et al*, 2002 ; Khono *et al*, 2002 ; Cheng *et al*, 2003, Kim *et al*, 2003). Il a été rapporté un effet inhibiteur des CLA aux différentes phases : initiation (Ip *et al*, 1995 ; Belury *et al*, 1996 ; Zu *et al*, 1992) promotion et croissance tumorales (Ip *et al*, 1991 ; Belury *et al*, 1996), formation de métastases (Visonneau *et al*, 1997, Hubbard *et al*, 2000). Dans le modèle de tumeurs mammaires chimio-induites, des rates prépubères dont le régime est supplémenté en CLA avant l'initiation par un agent cancérigène (diméthylbenz(a)anthracène ou N-méthyl nitroso urée), ont développé significativement moins de tumeurs que les rates témoins (47 %) (Ip *et al*, 1995, Ip *et al*, 1994), suggérant que la présence de CLA dans les tissus mammaires les rendrait moins sensibles à l'initiation ultérieure par un agent cancérigène. De même, si la supplémentation en CLA est réalisée après l'initiation par un agent cancérigène pendant 20 semaines, les rates développent significativement moins de tumeurs que les rates du lot témoin (32 à 60 % de tumeurs en moins) (Ip *et al*, 1991 ; Ip *et al*, 1995). Ces effets inhibiteurs de la promotion tumorale s'observent dès 0,1 % de CLA dans le régime alimentaire, dépendent linéairement de la dose apportée jusqu'à 1 % (en poids) du régime alimentaire (Ip *et al*, 1991 ; Cheng *et al*, 2003) et sont surtout indépendants de la nature de l'agent cancérigène utilisé ou des lipides (nature et quantité) administrés dans le régime (Ip *et al*, 1996 ; Ip *et al*, 1997). L'apport de CLA dans le régime alimentaire sous la forme d'AG libres semble avoir un effet similaire à celui des CLA sous forme de triglycérides (Ip *et al*, 1995), bien que l'accumulation de CLA dans la glande mammaire soit inférieure (Ip *et al*, 1999).

L'action des CLA sur la cancérogenèse mammaire semble aussi concerner des étapes très précoces. L'administration de CLA à de jeunes rates prépubères, avant l'injection de carcinogène, se traduit par une diminution de la densité de l'épithélium ducto-alvéolaire de la glande mammaire et par une réduction de l'activité proliférante des bourgeons terminaux. L'action protectrice des CLA pourrait être médiée par une

réduction de la ramification épithéliale de la glande mammaire et une augmentation du nombre de cellules quiescentes (Thomson *et al*, 1997). Un autre mécanisme est l'inhibition de la formation de lésions précancéreuses par augmentation de la sensibilité des cellules épithéliales à l'apoptose (Ip *et al*, 2000) ou encore l'inhibition de la vascularisation tumorale par inhibition de l'angiogenèse (Masso-Welch *et al*, 2002).

Chacun des isomères constitutifs des CLA est porteur d'une activité distincte de celle du mélange naturel. L'isomère CLA *9cis,11trans* a une activité inhibitrice en cancérogenèse mammaire induite par le NMU chez le rat, que l'évaluation porte sur des indicateurs indirects, comme la formation de lésions précancéreuses (Ip *et al*, 1999, Ip *et al*, 2002), ou directe, comme la croissance tumorale. L'inhibition induite par l'isomère *9cis,11trans* est de niveau identique à celle du mélange d'isomères (Lavillonnière *et al*, 2003). D'ailleurs, l'isomère *9cis,11trans* résultant de la conversion endogène de l'acide vaccénique 18:1-*11trans* est également efficace (Banni *et al*, 2001 ; Corl *et al*, 2003). Dans un système de tumeurs greffées chez la souris, les deux isomères *9cis,11trans* et *10trans,12cis* ont également induit une inhibition tumorale, à la fois sur l'implant primaire ou sur les métastases pulmonaires (Hubbard *et al*, 2003).

Le mode d'action des CLA n'est pas connu. Ces agents augmentent la lipoperoxydation dans des lignées cellulaires d'adénocarcinome pulmonaire ou de glioblastome (Schonberg *et al*, 1995) mammaire (O'Shea *et al*, 1999, 2000) mais pas dans une lignée d'hépatocarcinome (Higarashi *et al*, 2001). Un effet similaire a été rapporté *in vivo* avec un dérivé diène conjugué de l'acide eicosapentaénoïque (Tsuzuki *et al*, 2004).

En conclusion, la possibilité que les CLA puissent être protecteurs en cancérogenèse mammaire humaine n'est pas documentée actuellement, elle reste cependant une éventualité. Une raison de l'absence d'effets probants pourrait être le faible taux de CLA disponible dans l'alimentation humaine. En effet, au niveau de supplémentation optimal de 1 % de CLA chez le rat, le taux de CLA atteint 6 % des AG dans le tissu adipeux (Lavillonnière *et al*, 2003). Or le taux moyen dans le tissu adipeux chez l'homme est plus de 10 fois inférieur, environ 0,4 % (Chajès *et al*, 2003). On ne sait pas actuellement si une supplémentation en CLA permettant d'atteindre un tel niveau de CLA dans le tissu adipeux aurait un effet bénéfique chez l'homme, ni si une telle supplémentation est réalisable dans des conditions de sécurité nécessaires.

4.2. AG *trans* non conjugués, tumeurs mammaires et coliques

Les AG *trans* non conjugués, le plus souvent monoinsaturés à 18 carbones, ont été étudiés il y a deux décennies pour leurs effets potentiels en cancérogenèses mammaire et colique. Il s'agit de l'acide vaccénique (18:1-*11trans*) et de l'acide élaïdique (18:1-*9trans*). Ils sont présents à l'état naturel dans les produits laitiers, surtout l'acide vaccénique. Ils proviennent principalement de l'hydrogénation partielle des huiles végétales, et on retrouve essentiellement l'acide élaïdique dans les margarines, les viennoiseries et pâtisseries. L'intérêt pour ces composés a diminué depuis que les apports d'AG *trans* ont été réduits. Deux études publiées en 1984 n'ont pas permis d'objectiver en cancérogenèse mammaire un effet notable des apports en AG *trans*, dans un modèle de tumeurs mammaires greffées chez la souris (Erickson *et al*, 1984) ou de tumeurs mammaires chimio-induites chez le rat (Selenskas *et al*, 1984). Un effet bénéfique est même actuellement considéré pour l'acide vaccénique (18:1-*11trans*), inhibiteur de la cancérogenèse mammaire grâce à sa conversion en CLA 18:2 *9c,11t* (Banni *et al*, 2001 ; Cord *et al*, 2003). En cancérogenèse colique, la situation a été plus contrastée après la publication discutée (Ip, 1997) d'un effet stimulant de l'acide élaïdique sur la cancérogenèse colique dans un modèle chimio-induit chez le rat (Hogan and Shamsuddin, 1984). Utilisant le même système expérimental (Carcinogenèse colique induite par l'azoxyméthane chez le rat femelle F344), Reddy *et al* (1985) ont conclu que l'apport en quantités croissantes d'AG *trans* comparé à un régime riche en huile de maïs, riche en 18:2 ne menait pas à une augmentation du nombre de tumeurs du colon, mais à une augmentation des tumeurs de l'intestin grêle. Cette possibilité n'a pas été confirmée en cancérogenèse colique induite par la 1,2-diméthylhydrazine (Watanabe *et al*, 1985) ou en utilisant un modèle de rats (Wistar-Furth-Osaka) prédisposés au cancer colique (Sugano *et al*, 1989).

5. Conclusions et recommandations

Conclusions

Les études épidémiologiques, peu nombreuses et contradictoires, ne permettent pas de conclure à un effet, bénéfique ou risque, de l'apport alimentaire d'AG *trans* sur les différents types de cancers étudiés. Deux points cependant sont à souligner :

- les apports sont faibles, de 0,2 à 2 g/jour ;
- les effets des différents isomères d'AG *trans* ne sont pas identifiés.

Les études réalisées chez l'animal, qui portent essentiellement sur les tumeurs mammaires, indiquent un effet inhibiteur des CLA, et en particulier le 18:2 9c, 11t, sur l'apparition et le développement des tumeurs :

- pour des apports prolongés et en quantité élevée (1 % des apports alimentaires totaux) ;
- Les mécanismes ne sont pas identifiés et sont probablement indirects et multiples.

Recommandations

En termes de recherche

Les études épidémiologiques d'observation apparaissent inopérantes dans la problématique de la relation AG *trans* et cancers, étant donné le faible apport alimentaire dans la population et la difficulté d'estimer précisément l'exposition.

Pour évaluer l'effet potentiel des CLA dans la prévention, ou le traitement adjuvant des cancers, une étude d'intervention à des doses qui seraient atteignables raisonnablement chez l'homme, sur des animaux de taille moyenne (chat ou chien) chez lesquels l'incidence de tumeurs mammaires est relativement fréquente, apparaît nécessaire et susceptible de répondre à la question posée.

En termes de santé publique

Aucune recommandation d'utilisation préventive ou curative adjuvante ne peut-être actuellement formulée, et ne pourra l'être qu'au vu des résultats d'études complémentaires et d'études de toxicologie selon les règlements en vigueur.

En termes d'information du consommateur

Voir étiquetage.

Tableau 8o : Cancer du sein et apport alimentaire d'AG *trans*

Auteurs et pays	Sujets	Mesure de l'exposition	OR	Tend.	Remarques
Holmes <i>et al</i> , 1999 États-Unis	NHS 2 956/88 795 suivi : 7 ans	FFQ, 61 items Total <i>trans</i> : tous les isomères d'AG 18 C	Incrément 1 % de l'E/j 0,92 (0,86-0,98)		Pré_M NS Post-M 0,91 (0,84- 0,99)
Aro <i>et al</i> 2000 Finlande	Kuopio BC study 256 000 25-75 ans; 195 cas-208 témoins fin recrutement 1995	FFQ 110 items, validé CLA dans produits laitiers Trans-vaccénique : 50 % et 15 % du total AG <i>trans</i> dans produits laitiers et PHVOrespect.	Post-M (127) CLA H (Q5 : moy : 203,5 mg/j) vs L(72,4) 0,3 (0,1-0,7)		<i>Trans</i> C18:1 NS
Voorrips <i>et al</i> , 2002	Netherland cohort study. 62 573, 55-69 ans 941 cas, 1 598 sous-cohorte fin recrutement 1992	FFQ 150 items, validé Base TRANSFAIR CLA : total 9c,11t et 9t 18:1 : majorité <i>trans</i> vaccénique (viande, lait ruminants) autres 18:1 <i>trans</i> , peu de vaccénique	CLA H (Q5 : moy : 0,29 mg/j) vs L(0,07) 1,24 (0,91-1,69) <i>trans</i> vaccénique : H (Q5 : moy : 1,2 mg/j) vs L(0,3) 1,34 (0,98-1,82) autres 18:1 <i>trans</i> : H (Q5 : moy : 2,3 mg/j) vs L(0,4) 0,89 (0,5-1,21)	0.02 0.006 NS	
Mc Cann <i>et al</i> , 2004	Western new york exposures and breast cancer study, Casess 1 122 témoins 2 036 35-79 ans	FFQ (NCI) 104 items CLA totaux et 9cis 11 <i>trans</i> 18:2	PreM : CLA totaux H (Q4 : 199,7 µg/j) vs L(88,3) 0,85 (0,49-1,48) : 9cis 11 <i>trans</i> 18:2 : (Q4 : 154,7 µg/j) vs L(66,4) 0,84 (0,50-1,43) Post M H (Q4 : 169 µg/j) vs L(73,6)1,21 (0,87-1,67) 18:2 9cis 11 <i>trans</i> : (Q4 : 130,0 µg/j) vs L(54,8) 1,17 (0,85-1,62)		ER – PreM : CLA totaux H (Q4 : 199,7 µg/j) vs L(88,3) 0,62 (0,25-1,55) : 9cis 11 <i>trans</i> 18:2 : (Q4 : 154,7 µg/j) vs L(66,4) 0,40 (0,16- 1,01) Post M H (Q4 : 169 µg/j) vs L(73,6)1,57 (0,81-3,07) 9cis 11 <i>trans</i> 18:2 : (Q4 : 130,0 µg/j) vs L(54,8) 1,29 (0,68- 2,48)

Tableau 81 : Cancer du sein et biomarqueurs (AG *trans*)

Auteurs et pays	Sujets	Mesure de l'exposition	OR	Tend.	Remarques
Kohlmeier <i>et al</i> , 1997 Europe multicentrique	698 cas-témoins Post-M, 50-74 ans	Tissu adipeux périphérique	Pour un incrément de 0,92 % : 1,40 (1,02-1,93) dans le L AGPI tertile (<12,14 %) 3,65 (2,17-6,14) dans le H AGPI (>15,09 %) 0,97 (0,66-1,4)	0,035 0,001 NS	<i>Trans</i> = total AGPI = Total Malaga le plus faible % de <i>trans</i> 18:1 et 18:2
Aro <i>et al</i> , 2000	Kuopio BC study 256 000; 195 cas- 208 témoins	Sérum	18:1 n-1 <i>trans</i> H (Q5 : moy : 0,4 %) vs L(0,17) 0,2 (0,1-0,6) CLA H (Q5 : moy : 0,43) vs L(0,21) 0,2 (0,1-0,6)		C14:o H (Q5 : moy : 1,84 %) vs L(0,74) 0,2 (0,1-0,6) 20-4 n-6 H (Q5 : moy : 7,15 %) vs L (3,84) : 3,1(1,3-7,8)
Chajès <i>et al</i> , France	241 cas/88 témoins (MBS)	Tissu adipeux mammaire CLA (MS) <i>g cis</i> 11 <i>trans</i> isomère majeur	CLA : H (?) vs L (?) 1,83 (0,90-3,71)		Corrélation avec IMC -0,13 ; p=0,02

Tableau 82 : Cancer du colon et apport alimentaire d'AG *trans*

Auteurs et pays	Sujets	Mesure de l'exposition	OR	Tend.	Remarques
Slattery <i>et al</i> , 2001 États-Unis	1993 cas, 2410 témoins 30 à 79 ans	FFQ détail des matières grasses utilisées pour cuisiner Base de données : Nutrition coordinating center	Hommes: H (>3,34 g 1 000/kcal) vs L (<1,69) OR 1,2 (0,9-1,7) Femmes H (>2,99) vs L (<1,53) OR 1,5 (1,1-2,0)	NS 0,04	OR plus élevé avec âge : Hommes ≥ 67 ans OR : 1,4 (0,9-2,1) Hommes et femmes absence de consommation régulière d'aspirine et anti-inflammatoires non stéroïdien augmente risque Femmes THS + OR NS
McKelvey <i>et al</i> , 1999 États-Unis	516 cas, 551 témoins Adénomes (sigmoïdoscopie)	Questionnaire alimentaire FFQ Groupe d'aliments	Viennoiseries+biscuits H (>350 kcal/jour) vs L (< 50) OR : 2,1 (1,3-3,5)		Huiles et condiments : NS Frites et chips : NS Candy bars : NS Calcul total AG <i>trans</i> : NS Chocolat : H (>127 kcal/portion ≥ 5/semaine) vs L (< 1/mois) OR : 2,4 (1,1-5,2)

Conclusions générales et recommandations

A. Définition réglementaire des AG *trans* proposée

La définition réglementaire des acides gras *trans* proposée par le groupe de travail se fonde d'une part, sur la saisine de l'AFSSA par la DGCCRF et tient compte, d'autre part, de l'état des connaissances sur l'ensemble des AG *trans*.

- Considérant que les définitions réglementaires des AG *trans* adoptées par différents pays à ce jour (USA, Canada, Danemark) reviennent à restreindre la définition chimique des acides gras *trans*,
- Considérant que ces définitions excluent de facto des AG *trans* comportant des doubles liaisons en position conjuguée (particulièrement les isomères conjugués de l'acide linoléique ou CLA),
- Considérant que des AG *trans* d'origine naturelle (par exemple l'acide vaccénique 18:1 11*t*, ou un CLA comme l'acide ruménique 18:2 9*c*,11*t*) peuvent être produits industriellement (par des procédés technologiques appliqués aux aliments),
- Considérant que des AG *trans* produits industriellement (soit par voie de synthèse organique, par exemple les CLA comme l'acide ruménique et l'acide octadécadiénoïque 18:2 10*t*,12*c* ; soit par des procédés technologiques appliqués aux aliments, par exemple l'acide élaïdique 18:1 9*t*) peuvent avoir une origine naturelle,
- Considérant, en conséquence, que l'origine et la structure d'un AG *trans* ne sont pas liées de façon univoque et que ni l'origine ni la structure d'un AG *trans* ne peuvent donc être utilisées valablement pour fonder une réglementation en matière d'AG *trans* alimentaires,
- Considérant que tous les AG *trans*, quelles que soient les positions absolues ou relatives de la (ou des) double(s) liaison(s) *trans* dans la chaîne carbonée, semblent devoir être considérés aujourd'hui comme étant biologiquement actifs,

Le groupe de travail adopte la définition suivante :

Les acides gras *trans* sont tous les acides gras monoinsaturés et polyinsaturés présentant au moins une double liaison de configuration *trans*. C'est la définition chimique des acides gras *trans*.

Cette définition ne comporte aucune restriction, qu'elle soit fondée sur la notion de position absolue ou relative de la (ou des) double(s) liaison(s), ou sur la notion d'origine des acides gras.

Les implications analytiques

Cette définition est de nature à poser des objectifs clairs aux laboratoires d'analyse et de contrôle. Il devra en découler des recommandations réalistes qui prendront en compte les qualités de robustesse, de reproductibilité, de justesse et de praticité, ainsi que la notion de coût des analyses. Elle est potentiellement de nature à justifier la mise en place de nouveaux programmes de recherche sur l'analyse et le contrôle des acides gras pour répondre aux besoins analytiques qu'elle pourrait générer. Des propositions ont été faites dans le cadre de ce rapport visant à une application immédiate et à l'amélioration de méthodes existantes.

B. Les points clés du rapport

a. Les données de consommation en France

Un travail original a été effectué dans le cadre de ce rapport visant à collecter les données de composition des aliments issues de différents programmes récents, et à croiser ces données avec celles de l'enquête alimentaire INCA, permettant ainsi d'obtenir des informations sur la consommation en AG *trans* en France. Les résultats sont les suivants :

Pour les AG trans totaux

- Les apports moyens sont : pour le sexe masculin de 3,20 g/j, pour le sexe féminin de 2,8 g/j, soit 1,3 % de l'AET (apport énergétique total).
- Ils représentent en moyenne 3 % de l'apport lipidique.
- Pour les forts consommateurs de matières grasses (définis ici comme les 5 % de la population ayant la plus forte consommation), les apports en poids sont doublés: pour le sexe masculin ils sont proches de 6 g/j, pour le sexe féminin de 5 g/j (soit 2 % des AET)
- La tranche d'âge la plus consommatrice est celle des garçons de 12-14 ans avec une moyenne de 3,5 g/j et des forts consommateurs à un niveau d'apport de presque 8 g/j, soit 2,5 % de l'AET. Ces valeurs correspondent aux niveaux moyens de consommation évalués aux États-Unis. L'ensemble des garçons (de 3 à 14 ans) se situe à un niveau d'apport de 2,25 % de l'AET.
- Les principaux aliments contributeurs sont les produits d'origine laitière : ils apportent 53 % des AG *trans* totaux chez l'adulte (45 % chez l'enfant). L'ensemble des produits d'origine animale en apportent 60 %.
- Les produits de panification industrielle, viennoiseries industrielles et biscuits sont placés en seconde position parmi les aliments contributeurs : ils apportent 18 % des AG *trans* totaux chez l'adulte (près de 30 % chez l'enfant).

Pour les AG trans monoènes totaux 18:1trans

- Les plus importants sont le 18:1 *nt*, principalement d'origine animale, auquel doivent être ajoutés les 18:1 *gt* et 18:1 *to*t dans les produits d'origine technologique.
- Les apports moyens sont : pour le sexe masculin de 2,2 g/j, pour le sexe féminin de 1,9 g/j, soit 0,9 % de l'AET.
- Ils représentent en moyenne 2 % de l'apport lipidique, soit environ 70 % des AG *trans* totaux.
- Pour les forts consommateurs de matières grasses (les 5 % de la population ayant la plus forte consommation), les apports sont environ 2 fois plus élevés.
- Comme pour les AG *trans* totaux, la tranche d'âge la plus consommatrice est celle des garçons de 12-14 ans avec une moyenne de 2,5 g/j et des forts consommateurs à un niveau d'apport de 6,6 g/j, soit 2 % de l'AET.
- 30 à 50 % des 18:1*trans* sont représentés par un seul isomère, le 18:1 *nt*.

Pour les AG trans diènes non conjugués à 18 carbones (les 18:2 trans hors CLA)

- Les apports moyens sont : pour le sexe masculin de 0,22 g/j et pour le sexe féminin de 0,18 g/j, soit 0,09 % de l'AET.
- Les 18:2 *trans* hors CLA représentent environ 0,2 % de l'apport lipidique. Pour les forts consommateurs de matières grasses (les 5 % de la population ayant la plus forte consommation), les apports sont environ 2 fois plus élevés que les apports moyens.
- Comme pour les AG précédents, la tranche d'âge la plus consommatrice est celle des enfants mâles de 12-14 ans avec une moyenne de 0,23 g/j et des forts consommateurs à un niveau d'apport de 0,45 g/j, soit 0,14 % de l'AET.
- Les principaux aliments contributeurs sont le beurre et les produits d'origine laitière.

Pour les AG trans diènes conjugués à 18 carbones (les isomères conjugués de l'acide linoléique ou CLA)

- Les apports moyens sont : pour le sexe masculin de 0,2 g/j, pour le sexe féminin de 0,17 g/j, soit 0,08 % de l'AET.
- Les CLA représentent environ 0,2 % de l'apport lipidique.
- Pour les forts consommateurs de matières grasses (les 5 % de la population ayant la plus forte consommation), les apports sont environ 2 fois plus élevés que les apports moyens.
- La tranche d'âge la plus consommatrice en poids est toujours celle des garçons de 12-14 ans avec une moyenne de 0,21 g/j équivalente à celle des adultes, des forts consommateurs à un niveau d'apport de 0,43 g/j, soit 0,13 % de l'AET.

- Les principaux aliments contributeurs sont le beurre et les produits d'origine laitière, mais les viennoiseries industrielles représentent chez les enfants le 2^e groupe d'aliments contributeurs par ordre d'importance.

En France, les AG *trans* totaux représentent donc en moyenne 3 % des apports lipidiques (1,3 % de l'AET), les AG *trans* monoènes en moyenne 2 %, dont l'acide vaccénique, environ 1 %. Les CLA – dont l'apport est constitué à 90 % d'acide ruménique – représentent moins du dixième de l'apport des AG *trans* totaux. L'étude montre que la consommation des acides gras saturés est corrélée aussi bien à la consommation des AG *trans* totaux qu'à celle des CLA.

Les principaux aliments contributeurs identifiés des AG *trans* totaux sont à 60 % les produits d'origine animale (produits d'origine laitière et viande de ruminants). Les principaux aliments contributeurs identifiés des CLA totaux sont à 70 % les produits d'origine laitière. Cela signifie que 40 % des AG *trans* totaux et 30 % des CLA proviennent des produits de panification et de la viennoiserie industriels, des biscuits, des plats cuisinés et des barres chocolatées. La partie de la population la plus forte consommatrice de ces aliments et dont la consommation en AG *trans* totaux est la plus élevée (2,25 % de l'AET) est celle des garçons de 3 à 14 ans. La consommation en AG *trans* totaux culmine pour la tranche d'âge 12-14 ans des garçons (2,5 % de l'AET).

L'ensemble des résultats montre que la consommation d'AG *trans* en France est plus élevée que celle qui avait été antérieurement estimée (de l'ordre de 2,5 g/j). Bien que les données ne soient pas strictement comparables pour des raisons analytiques, cette consommation reste moins élevée que celle relevée dans les populations d'Amérique du Nord. En Europe, elle est moins élevée qu'aux Pays-Bas, comparable à celle de l'Allemagne et plus élevée que celle de l'Espagne. L'origine animale des AG *trans* alimentaires est majoritaire en France, alors qu'elle est minoritaire en Amérique du Nord. Il est intéressant de rappeler qu'en Europe l'origine animale des AG *trans* est majoritaire au sud et minoritaire au nord.

b. Les conséquences de la consommation des AG *trans*

Ce rapport présente l'inventaire des études portant sur le métabolisme et la toxicité des AG *trans*, ainsi que sur leur rôle dans l'immunité et différents états pathologiques : l'obésité, le syndrome métabolique, l'athérosclérose et le cancer.

Métabolisme

Les AG *trans* rentrent dans les voies métaboliques de bioconversion, d'oxydation et de stockage, ainsi que dans les lipides circulants et les phospholipides membranaires. Par ailleurs, le métabolisme des acides gras polyinsaturés est affecté par les AG *trans* au niveau de ces différentes voies. Le taux de conversion de l'acide vaccénique en acide ruménique (un isomère conjugué de l'acide linoléique) serait de l'ordre de 20 % chez l'Homme.

Les CLA circulent dans le plasma comme les autres AG *trans* et leur présence dans les tissus indique clairement l'existence d'une captation cellulaire. Les CLA inhibent généralement la synthèse cellulaire des eicosanoïdes. Tous les AG *trans* traversent la barrière placentaire. Après leur passage trans-placentaire materno-foetal, les CLA semblent présenter des concentrations plus élevées dans le plasma foetal que dans le plasma maternel.

Toxicité

Peu d'études toxicologiques *stricto sensu* ont été effectuées sur les AG *trans*. Celles qui existent portent sur le mélange équipondéral synthétique de deux isomères conjugués de l'acide linoléique : le 18:2 9c,11t et le 18:2 10t,12c. Ce mélange, à des doses de 3 à 6 g/j, n'a pas démontré d'effets sur les paramètres habituellement mesurés en toxicologie.

En revanche, des effets considérés comme négatifs pour la santé ont été observés chez l'Homme et l'animal : augmentation des peroxydations lipidiques, augmentation du poids du thymus (les effets liés à la résistance à l'insuline, au syndrome métabolique, ainsi que les effets sur le cholestérol et le profil lipoprotéique plasmatiques sont rappelés plus loin).

Bien qu'il ne s'agisse pas de toxicité au sens propre du terme, des observations montrent que l'acide élaidique et les CLA peuvent avoir des effets négatifs sur le poids de naissance du nouveau-né. Chez la femme qui allaite, l'ingestion du mélange à la dose de 1,5 g/j s'est révélée capable de diminuer le taux de matières grasses du lait. En revanche, une étude récente montre que le 9c,11t naturellement présent dans le fromage n'altère pas la qualité du lait humain.

Des études beaucoup plus informatives sur la toxicité sont indispensables. Elles doivent prendre en compte les effets de chacun des isomères.

Immunité

Les études se rapportant à la réponse immunitaire sont peu nombreuses et contradictoires. Elles ont porté sur l'acide élaïdique (une seule étude) et le mélange des isomères 9c,11t et 10t,12c de l'acide linoléique. Elles ne permettent pas de conclure à un effet, favorable ou défavorable, d'autant plus que l'état physiopathologique du sujet joue un rôle important dans l'évaluation de l'effet. Un résultat récent suggère que le 9c,11t n'a pas d'effet sur l'immunité.

Surpoids et obésité

Les mécanismes d'oxydation et de stockage ont été plus finement étudiés en présence de CLA, car le mélange équipondéral des deux isomères 18:2 9c,11t et 18:2 10t,12c s'est révélé capable chez un animal modèle comme la souris de modifier favorablement la composition corporelle (par une diminution de la masse grasse et une augmentation de la masse maigre) et pouvait ainsi être susceptible d'avoir un effet anti-obésité. Chez l'Homme, les données actuelles montrent que la réduction de la masse adipeuse par le mélange ne fait pas l'objet d'un consensus. Cette réduction n'est pas démontrée chez les individus normo-pondéraux. Elle est décrite en revanche chez des individus en surpoids ou obèses. On attribue l'effet anti-obésité à l'isomère 10t,12c (l'isomère 9c,11t n'a pas cet effet). La dose d'apport nécessaire se situe entre 1,7 et 6,8 g/j pour le mélange des deux isomères, et de 2,6 g/j pour le 10t,12c. En tout état de cause, il faut noter que l'effet est très modéré même après 1 an de traitement. Le fait que les effets observés chez l'Homme soient comparativement plus faibles que ceux observés chez d'autres espèces peut être attribué non seulement à des différences de sensibilité interspécifique, mais aussi aux niveaux d'apport lipidique alimentaire beaucoup plus élevés chez l'Homme que dans les régimes utilisés chez l'animal.

Syndrome métabolique

Chez l'Homme obèse ou en surpoids, l'insulinémie n'est pas affectée par la réduction de la masse grasse consécutive à la prise de CLA. En revanche, plusieurs études montrent que l'apport de 2,6 g/j de l'isomère 10t,12c augmente la résistance à l'insuline et une étude, à dose comparable (2,5 g/j), montre que l'isomère 9c,11t a le même effet. Il est donc possible d'avancer que l'apport du mélange des deux isomères, ou celui de chaque isomère pris séparément, non seulement n'a aucun effet bénéfique sur la résistance à l'insuline chez l'Homme obèse, mais pourrait même s'avérer néfaste à un niveau de consommation de l'ordre de 2,5 g/j. Bien qu'aucune étude chez l'Homme n'ait montré d'anomalie hépatique, soit avec le mélange, soit avec chacun des isomères, il est nécessaire de prendre en compte les effets hépatiques délétères (stéatose) relevés chez l'animal avec le 10t,12c, certes à des doses élevées (0,5 g/j/kg de poids corporel). A ces effets hépatiques s'ajoutent des effets extrahépatiques lipo-atrophiques. Ils peuvent s'expliquer par différents mécanismes, l'un des plus remarquables étant l'augmentation de l'expression de PPAR γ dans le foie et sa disparition presque totale dans le tissu adipeux. L'ensemble de ces résultats conduit à considérer la consommation du 10t,12c avec une grande prudence.

Une hypothèse est avancée selon laquelle une perturbation du métabolisme hépatique pourrait exister chez les sujets qui associeraient un régime hypolipidique à la prise de 10t,12c.

Enfin, une étude montre que le 10t,12c présente un effet dépresseur sur le C-HDL, contrairement au 9c,11t. Ainsi, l'effet dépresseur observé avec le mélange dans plusieurs études pourrait être attribué au 10t,12c.

En résumé, aucune étude ne permet de considérer que ces isomères conjugués de l'acide linoléique améliorent des composantes du syndrome métabolique. Il est légitime de se demander si l'administration de l'isomère 10t,12c ne les aggrave pas.

Maladies cardiovasculaires

La relation entre risque cardiovasculaire et consommation alimentaire d'AG *trans* est étudiée depuis longtemps. Au plan épidémiologique, quatre cohortes ont été étudiées. Ce sont celles de la Nurses' Health Study (NHS), de la Health Professionals Follow up Study (HPFS), de l'Alpha-tocopherol, Beta-carotene, Cancer Prevention Study (ATBC) et de la Zutphen Study, qui permettent d'établir une association significative entre la consommation d'AG *trans* et le risque de MCV. Elles suggèrent qu'il existe une augmentation continue du risque sur une large gamme d'apport, de 1,3 g/j à 16,1 g/j. Elles montrent qu'un apport journalier d'AG *trans* supérieur à 2 % de l'AET augmente significativement l'incidence des MCV. Le tableau suivant établit les consommations correspondantes en poids pour des groupes de sujets chez lesquels des apports conseillés en énergie ont été proposés (Martin, 2001). Ces valeurs se situent entre 4 g/j et 6 g/j.

	Homme, 70 Kg		Femme, 60 Kg	
	20-40 ans/41-60 ans		20-40 ans/41-60 ans	
	Faible activité	Activité normale	Faible activité	Activité normale
Apport énergétique (Kcal/j)	2 400 / 2 250	2 700 / 2 500	1 900 / 1 800	2 200 / 2 000
Apport d'AGT (g/j) correspondant à 2 % de l'AET	5,3 / 5,0	6,0 / 5,6	4,2 / 4,0	4,9 / 4,4

Pour les garçons de la tranche d'âge 12-14 ans identifiés comme des forts consommateurs d'AG *trans* (voir ci-dessus), il a été relevée une consommation moyenne en énergie de 2 300 Kcal, et une consommation de 3 600 Kcal dans les 5 % d'individus dont la consommation énergétique est la plus élevée. Ces valeurs conduisent aux apports en poids figurant dans le tableau suivant:

Garçons de 12-14 ans	Apports en énergie (Kcal/j)	Apports en AGT (g/j) correspondant à 2 % de l'énergie
Moyenne de la tranche d'âge	2 300	5,1
Chez les forts consommateurs	3 600	8,0

Les études d'intervention ont apporté, depuis 1990, des informations importantes sur l'évolution des marqueurs intermédiaires de risque. Ainsi, les AG *trans* monoènes ont un effet comparable aux AG saturés hypercholestérolémiantes (acides palmitique, myristique, laurique) sur l'accroissement du C-LDL. Une méta-analyse récente de 60 études d'intervention a permis de préciser que, contrairement à l'acide palmitique, ces AG *trans* augmentent le rapport CT/C-HDL. Ces études montrent ainsi que les AG *trans* pourraient avoir un effet plus défavorable que l'acide palmitique en matière de risque cardiovasculaire.

Dans ces études (de cohortes ou d'intervention) il n'a pas été possible de dissocier les effets des AG *trans* d'origine technologique de ceux d'origine animale.

Les recherches sur les mécanismes permettant d'expliquer les effets observés sont peu avancées. D'après des études sur modèles animaux, la cholestérol ester binding protein (CETP) et certains récepteurs hépatiques pourraient notamment être impliqués.

Aucune donnée épidémiologique n'est disponible à ce jour sur les isomères conjugués de l'acide linoléique. Les connaissances actuelles reposent sur les résultats d'études d'intervention chez l'Homme et l'animal et d'études *in vitro*. Les investigateurs ont d'avantage porté leur attention sur le mélange 9c,11t-10t,12c. Les premières recherches sur les effets de chacun des isomères, considéré séparément et non en mélange, ont été publiées en 1999. Pour le mélange : 1/ les études cliniques aboutissent à des résultats contradictoires; 2/ les résultats sur modèles animaux sont différents d'une espèce à l'autre, même si l'on ne retient que « les bons modèles animaux » pour l'athérosclérose humaine. Pour les deux isomères étudiés séparément chez l'Homme : 1/ leurs effets se révèlent différents ; 2/ les études sont en faveur d'effets opposés, favorables pour le 9c,11t sur le cholestérol circulant ou le rapport CT/C-HDL, neutres ou défavorables pour le 10t,12c, mais il est impossible de définir un effet dose pour l'un ou l'autre des deux isomères; 3/ le 10t,12c diminue le C-HDL mais augmente les triglycérides des VLDL, la protéine C réactive et les peroxydations non enzymatiques. Ces résultats permettent d'attribuer au 10t,12c un effet potentiel général pro-athérogène.

Cancers

Les études épidémiologiques, peu nombreuses et contradictoires, ne permettent pas de conclure à un effet, bénéfique ou néfaste, de l'apport alimentaire d'AG *trans* sur les différentes formes de cancer étudiées. L'effet des isomères conjugués de l'acide linoléique a été étudié uniquement sur des modèles animaux et essentiellement sur les tumeurs mammaires. Un effet inhibiteur, en particulier du 9c,11t, sur l'apparition et le développement de

ces tumeurs a été mis en évidence. Cet effet ne paraît pas trouver son équivalent dans les études humaines. Il faut également remarquer que l'effet observé est obtenu pour des apports prolongés et très élevés, de l'ordre de 0,5 à 2 % des apports alimentaires totaux, ce qui peut correspondre à des niveaux d'apport de 5 à 10 g/j chez l'Homme. Les mécanismes ne sont pas identifiés, et sont probablement indirects et multiples.

C. Recommandations

Les recommandations du groupe de travail porteront sur les AG *trans* totaux (hors CLA) et les isomères 9c,11t et 10t,12c de l'acide linoléique. Elles sont appelées à être révisées périodiquement, en fonction des avancées des connaissances scientifiques.

a. Les AG *trans* totaux

La littérature scientifique montre qu'une consommation supérieure au seuil de 2 % de l'AET sous forme d'AG *trans* totaux entraîne une augmentation significative du risque de MCV. **Le groupe de travail recommande de considérer cette valeur comme un niveau de consommation à ne pas dépasser.**

Il a été constaté que 5 % de la population française adulte présente une consommation en AG *trans* totaux de 2 % de l'AET. Ce seuil de 2 % est dépassé par environ 10 % des garçons de la tranche d'âge 12-14 ans, qui constituent la classe de la population la plus exposée à une sur-consommation d'AG *trans*.

Une faible partie de la population française est donc exposée à un risque cardiovasculaire accru dû à une sur-consommation d'AG *trans* totaux. Malgré ce constat, des mesures doivent être prises pour diminuer les risques liés à la sur-consommation d'AG *trans* dans la partie de la population la plus exposée. Le groupe de travail propose les recommandations suivantes :

- respecter un des objectifs du programme national nutrition santé (PNNS) – diminuer la consommation d'AGS – puisqu'il a été observé que les consommations d'AG *trans* totaux et d'AGS sont corrélées et que la réduction des AGS de 18 % à 16 % de l'AET diminue de 50 % la consommation journalière d'AG *trans* totaux ;
- réduire de 30 % au moins la consommation de certains aliments contributeurs d'AG *trans* (viennoiseries, pâtisseries, produits de panification industriels, barres chocolatées, biscuits) de faible intérêt nutritionnel. Une réduction de 30 % permet une baisse de l'apport en AG *trans* totaux comprise entre 0,15 et 0,3 g/j, soit une baisse de l'ordre de 0,1 % de l'AET chez les forts consommateurs en énergie, en même temps qu'une baisse importante de la consommation d'AGS ;
- respecter un des objectifs du PNNS – repère de consommation pour le lait et les produits laitiers : au moins 3 portions par jour – et ne pas diminuer cette consommation, bien que le lait et les produits laitiers soient des aliments fortement contributeurs des AG *trans* totaux. En effet, une telle diminution serait inappropriée dans la population générale en considération des apports calciques à respecter, et spécialement pour les enfants de 12-14 ans qui présentent une prévalence d'inadéquation des apports calciques plus marquée. Il est recommandé de consommer préférentiellement des laits ou des produits d'origine laitière utilisant des laits écrémés ou demi-écrémés. Les apports en AG *trans* totaux (et en AGS) peuvent ainsi être diminués sans modification des apports calciques ;
- consommer des steak hachés à 5 % de matières grasses de préférence à des steak hachés à 15 % de matières grasses, ce qui permet de réduire les apports en AG *trans* totaux de 0,1 g/j ;
- par souci de cohérence avec la baisse de consommation des viennoiseries, pâtisseries, produits de panification, barres chocolatées et biscuits, il faut encourager les industriels de la margarinerie et des matières grasses destinées au secteur de l'agro-alimentaire à diminuer les teneurs en AG *trans* de leurs produits.

Hormis la première recommandation, de portée générale, l'ensemble des autres recommandations doit avoir pour effet minimal de diminuer de 0,5 g, soit de 0,15 à 0,2 % de l'AET, l'apport quotidien en AG *trans* totaux.

b. Les CLA

L'apport moyen de CLA est de 180 mg/j dans la population française. Les forts consommateurs se situent entre 400 mg/j et 450 mg/j. Si l'on tient compte de l'origine de ces substances en France, l'acide ruménique 18:2 9c,11t représente 90 % des CLA, soit 160 mg/j. L'apport en 10t,12c ne peut pas être directement mesuré. Il pourrait être estimé à 10 % des apports en CLA, soit en poids à 20 mg/j et 45 mg/j pour les forts consommateurs. Les niveaux des apports en 18:2 9c,11t et 18:2 10t,12c dans le cadre d'une alimentation courante ne justifient aucune mesure particulière.

L'utilisation de mélanges équipondéraux de synthèse destinés à la consommation humaine à fortes doses de 18:2 9c,11t et 18:2 10t,12c est récente. Pendant plusieurs années, seul ce mélange a été soumis à investigation, alors que l'entité équipondérale qu'il constitue n'a pas d'analogie naturelle.

Plus récemment, les recherches ont fait apparaître clairement que les propriétés des deux isomères sont différentes. Les doses supra-nutritionnelles couramment proposées à la consommation par les fabricants sont environ 10 fois supérieures à celle que permet de réaliser la consommation des aliments contributeurs naturels pour le 18:2 9c,11t et 100 fois supérieures pour le 18:2 10t,12c. Or, le 18:2 9c,11t n'a pas d'effet bénéfique clairement démontré chez l'homme, alors que des effets préjudiciables à la santé sont suspectés, voire démontrés, pour le 18:2 10t,12c.

Le groupe de travail tient à souligner à ce propos que les travaux montrant l'innocuité de mélanges équipondéraux de 18:2 9c,11t et 18:2 10t,12c ne peuvent oblitérer les résultats obtenus sur le 18:2 10t,12c. L'argument selon lequel il existerait un masquage des effets de l'un des produits par les effets de l'autre paraît difficilement recevable. En effet, les non-apparition de l'effet délétère d'une substance lorsque celle-ci est présente en mélange avec une autre substance peut être non seulement le résultat d'effets de dilution ou de compétition, mais aussi celui de l'intervention de mécanismes différents dont les effets respectifs ne sont pas supprimés.

Dans l'état actuel des connaissances, le groupe de travail estime donc que l'introduction spécifique de ces mélanges de 18:2 9c,11t et 18:2 10t,12c dans l'alimentation de l'Homme – quelle que soit la proportion de chacun de ces deux composés – n'est pas justifiée, que ce soit sous forme de compléments ou sous forme d'ingrédients alimentaires.

Par ailleurs, l'introduction dans la nourriture des espèces animales zootechniques de mélanges de synthèse de CLA, directement ou sous forme d'ingrédients alimentaires, constitue potentiellement une voie d'entrée nouvelle de ces composés dans l'alimentation de l'Homme. Constatant d'une part l'absence de recherches capables de préciser le devenir et les concentrations atteintes dans les produits destinés à la consommation humaine à la suite de la prise de ces produits par l'animal, et d'autre part les conséquences négatives sur la teneur en matières grasses du lait des espèces laitières, l'introduction de ces mélanges dans la nourriture des animaux d'élevage ne doit pas être autorisée.

En revanche, le groupe de travail tient à souligner l'intérêt d'une réflexion réunissant des experts en nutrition animale et en nutrition humaine afin de préciser l'impact de différentes pratiques traditionnelles d'élevage sur les teneurs en acide vaccénique 18:1 11t et ruménique 18:2 9c,11t des produits d'origine animale. Cette réflexion serait de nature à fixer des objectifs aux professionnels de l'élevage s'inscrivant dans une préoccupation de santé publique. Elle est d'autant plus nécessaire que les teneurs en AG *trans* du lait et des produits d'origine laitière peuvent varier couramment du simple au triple hors de toute utilisation de compléments à base de mélanges de CLA.

c. Teneurs limites, analyses et étiquetage des AG *trans* – Propositions

Teneurs limites

Pour donner au consommateur des moyens efficaces d'atteindre les recommandations précédemment énoncées, et compte tenu des taux d'AG *trans* des aliments destinés à l'alimentation courante relevés dans ce rapport, le groupe de travail propose d'adopter des valeurs de teneurs limites des aliments courants, exprimées en pourcentage des acides gras totaux (ou en pourcentage du poids du produit fini pour les « shortenings »), et un calendrier d'application de ces teneurs limites :

1. Graisses cachées

Ce sont les graisses destinées à l'industrie et aux artisans boulanger (les « shortenings ») présentes dans les viennoiseries, pâtisseries, biscuits, barres chocolatées ; elles représentent 1/3 des apports en AG *trans* totaux :

Compte tenu de la disparité des teneurs en matières grasses entre ces différents aliments, la limite sera exprimée en pourcentage du produit final commercialisé. **Elle devrait être fixée à 1 g/100 g de produit sous sa forme consommée**, soit 9 Kcal/100 g de produit, équivalant à 0,4 % de l'AET (le cinquième du niveau de consommation en AG *trans* qu'il est recommandé de ne pas dépasser dans ce rapport) pour une personne consommant 2 500 Kcal/j.

Cette limite devrait être appliquée dans un délai de 2 ans après la publication de ce rapport. Le respect de cette limite ne devra pas s'accompagner d'une augmentation du taux d'AGS dans le produit.

Les retombées de cette proposition en termes de diminution de l'apport en AG *trans* totaux seront importantes. Il est possible d'estimer qu'elles seraient de nature à abaisser, par exemple, de 2,25 % à 1,8-2,0 % de l'AET les apports en AG *trans* totaux chez les garçons.

2. Graisses visibles

• Huiles de table :

Ce sont des aliments faiblement contributeurs d'après l'enquête INCA.

La plupart des huiles de table généralement consommées présentent aujourd'hui une teneur en AG *trans* totaux fréquemment $\leq 0,5$ % des AG totaux. Il est donc recommandé que toutes les huiles de table présentent cette teneur en AG *trans* totaux. Pour les huiles dont la teneur dépasse actuellement le seuil de 1 % d'AG *trans* totaux, il est proposé que cette teneur soit abaissée à une valeur ≤ 1 %. Ces huiles sont généralement fortement insaturées (riches en acide α -linoléique) et faiblement consommées.

Ces mesures pourraient être applicables dans un délai de 1 an après la publication de ce rapport.

• Margarines de toute qualité, pâtes à tartiner ou destinées à la cuisine (hormis les margarines classées dans les « shortenings ») :

Les margarines de qualité actuellement commercialisées présentent une teneur moyenne en AG *trans* totaux proche de 1 %. Le groupe de travail propose que cette valeur soit choisie comme référence en termes de teneur maximale acceptable pour l'ensemble des margarines, quelle que soit leur qualité, dans un délai de 1 an après la publication de ce rapport. L'application de cette mesure ne devra pas augmenter les taux d'AGS.

3. Lait et produits d'origine laitière

Ils contiennent naturellement des matières grasses qui sont des graisses cachées. Cependant, dans le cas de ces produits toute proposition de teneurs limites ne peut résulter que de l'aboutissement de la réflexion entre experts en nutrition animale et nutrition humaine qui a été souhaitée dans ce rapport. Cette réflexion s'avère d'autant plus nécessaire que les teneurs naturelles en AG *trans* du lait et des produits d'origine laitière varient considérablement hors de toute utilisation de compléments à base de mélanges de CLA.

Analyses

Pour les matières grasses liquides (ou rendues liquides), la méthode de mesure par IRTF-RTA (spectrométrie infra-rouge avec transformée de Fourier à réflexion totale atténuée) des AG *trans* totaux est conseillée lorsque les teneurs le permettent. Des recherches seront nécessaires pour valider la méthode dans la gamme des teneurs proches de et inférieures à 0,5 %.

Dans les autres cas et pour les produits à matrice complexe, lorsque la méthode par IRTF-RTA s'avère inapplicable (ou lorsque celle-ci représente un investissement trop élevé pour le laboratoire d'analyse), les AG *trans* totaux seront évalués par chromatographie en phase gazeuse¹.

Étiquetage

Dans le cadre de l'adoption de mesures ayant pour but de rendre obligatoire l'étiquetage nutritionnel (et *a fortiori* dans le cadre de l'étiquetage facultatif et volontaire en vigueur à ce jour), le groupe de travail propose, d'ajouter à la mention AGS en % des AG totaux, la mention obligatoire suivante :

AG *trans* totaux en % des AG totaux

Il est enfin proposé des limites inférieures sous lesquelles la mention des AG *trans* totaux n'est pas requise : 0,1 g/100g (ou 100 ml) de produit pour les graisses cachées (viennoiseries, pâtisseries, biscuits, barres chocolatées, lait et produits d'origine laitière), 0,1 % des AG totaux pour les graisses visibles (huiles de table, margarines à usage domestique, beurre).

¹ Brièvement, un seul passage sur colonne sera nécessaire pour obtenir les taux d'acides 18:1 *gt*, 18:1 *10t* et 18:1 *11t*. La même analyse permettra de détecter la présence des CLA. À la somme des trois monoènes *trans* sera appliqué un coefficient correctif dont la valeur sera définie respectivement pour les produits d'origine laitière et les produits d'origine végétale. L'application du coefficient correctif à la somme des monoènes *trans* donnera la teneur en AG *trans* totaux. Le choix du coefficient pourra être justifié par le profil des 3 monoènes *trans* et le rapport des CLA 18:2 *9c*, 11*t*/18:2 *10t*, 12*c*, deux caractéristiques indiquant l'origine du produit.

Par ailleurs, considérant, d'une part, que l'utilisation de mélanges de synthèse de CLA, sous quelque forme que ce soit, n'est pas actuellement justifiée dans l'alimentation de l'Homme et, d'autre part, que les teneurs des aliments en CLA (essentiellement représentés par le 18:2 9c,11t en l'absence de toute introduction de mélange de synthèse dans la nourriture des animaux d'élevage) sont faibles, **le groupe de travail estime que la mention sur l'étiquetage des aliments de la teneur en CLA est sans objet et n'est donc pas fondée.**

Annexes : Tableau récapitulatif des effets des CLA et tableau récapitulatif des études épidémiologiques sur les 4 cohortes évaluant le risque de MCV.

Tableau des principales études des effets de CLA, 9c,11t et 10t,12c chez l'Homme

Auteurs (année)	Nature des CLA	Dose (g/j)	Sujets	Action
Basu <i>et al</i> (2000)	mélange	3,2	RAS	Peroxydation ↑
Berven <i>et al</i> (2000)	mélange	3,4	RAS	Rien
Benito <i>et al</i> (2001)	mélange	3,9	RAS	C, C-LDL et C-HDL non modifiés ; TG non mod.
Blankson <i>et al</i> (2000)	mélange	1,7-3,4-5,1-6,8	Sujets en surpoids ou obèses	C, C-LDL et C-HDL ↓ ; IMC non mod et MG ↓
Wigham <i>et al</i> (2004)	mélange	6,0	Sujets en surpoids ou obèses	Rien
Gaullier <i>et al</i> (2004)	Mélange (AG libres ou TG)	3,4	Sujets sains	MG ↓ ; IMC ↓ ; C-HDL ↓ Lp(a) ↑ ; HbA1c ↑
Masters <i>et al</i> (2002)	mélange	1,5	Femmes allaitantes	MG du lait ↓
Risérus <i>et al</i> (2002, Circulation)	mélange	2,4	Sujets en surpoids ou obèses	Peroxydation non enzym et enzym ↑
Riserus 2002 (Diabetes Care)	mélange	2,4	Sujets en surpoids ou obèses	↓ SAD et %MG, C-HDL ↓
Smedman <i>et al</i> (2001)	mélange	3,2	RAS	% MG ↓ Insuline, IMC et PAI-1 non modifiés
Noone <i>et al</i> (2002)	mélange 9c,11t/10t,12c	2,0 50/50 ou 80/20	Sujets sains	TG ↓ avec 50/50 Rien avec 80/20
Malpuech-Brugère <i>et al</i> (2004)	10t,12c ou 9c,11t	1,5 ou 3,0	Sujets en surpoids	Rien
Risérus <i>et al</i> (2002, Circulation)	10t,12c	2,6	Sujets en surpoids ou obèses	RI ↑ ; CRP ↑ ; peroxydation enzym et non enzym ↓↓
Riserus 2002 (Diabetes Care)	10t,12c	2,6	Obèses	RI ↑ , IMC ↓ ; %MG, SAD, C-HDL ↓ ; TG-VLDL ↑ ; Glycémie ↑
Risérus <i>et al</i> (2004) Diabetologia	10t,12c	2,6	Sujets en surpoids ou obèses	RI ↑ ; glycémie ↑ ; pro-insuline et C-peptide ↑ ; IMC non mod
Risérus <i>et al</i> (2004, AJCN)	9c,11t	2,5	Sujets en surpoids ou obèses	RI ↑ ; IMC ↑ ; peroxydation non enzym ↑ ; rien sur C, C-LDL, C-HDL
Tricon <i>et al</i> (2004)	10t,12c vs 9c,11t	0,6-1,2-2,5	Sujets normaux, surpoids ou obèses	9c,11t : ↓ C et C-LDL vs 10t,12c ; pas d'effet dose

MG : Masse grasse ; RI : résistance à l'insuline ; IMC : indice de masse corporel

Tableau récapitulatif des études épidémiologiques sur les 4 cohortes évaluant le risque de MCV

Auteurs et pays	Sujets	Mesure de l'exposition	RR	Tend.	Remarques
Ascherio, 1996 USA	HPFS hommes 40-75 ans 509 CHD + 229 morts/ 43 757 6 ans	FFQ 131 items	H (3,3 g/j) vs L(2,2) 1,27 (0,99-1,63) H (4,3 g/j) vs L(2,2) 1,40 (1,10-1,79) pour un incrément de AGT=2 % CHD : 1,13 (0,83-1,54) M : 1,47 (0,90-2,40)	0,01	Après ajustement sur fibres OR↓ et T NS Ajustement fibres GT et AG : NS
Hu <i>et al</i> , 1997 USA	NHS femmes 30-55 ans 658 CHD + 281 morts/ 80 082 14 ans	FFQ 61 items	H (2,9/j) vs L(1,3) 1,27 (1-1,56) Ajustement sur autres acides gras 1,53 (1,16-2,02) pour un incrément de AGT=2 % 1,62 (1,23-2,13)	0,02 0,002 <0,001	
Pietinen <i>et al</i> , 1997 Finlande	ATBC hommes 50-69 ans 818 CHD + 581 morts/ 21 930 6 ans	FFQ 276 items	CHD:H (2,7/j) vs L(1,3) 1,07 (0,90-1,28) H (6,2 g/j) vs L(2,2) 1,14 (0,96-1,3) Mort : H (5,6 g/j) vs L(1,3) 1,39 (1,09-1,78) apport en % AGT H(2) s L(0,6) 1,43 (1,12-1,84) pour un incrément de 5g/j AGT 2,21 (1,68-2,91)	NS 0,004 0,004	Quand catégories : total, élaïdique, végétal RR id #1,35 pour apport #5 g Source animale n'atteint pas ce taux ; NS pour 2,5 g
Oomen <i>et al</i> , 2001 Pays-Bas	Zutphen elderly study 64-84 ans 49 CHD + 49 morts/ 667 hommes 10 ans	FFQ	apport en %AGT: H(3,87 %) s L(2,36) 1,34 (0,76-2,37) H(6,38 %) s L(2,36) 2,00 (2,07-3,75) pour un incrément de AGT=2 % 1,28 (1,01-1,61)	0,03	

- Abbey, M., Nestel, P.J. (1994).** Plasma cholesteryl ester transfer activity is increased when *trans*-elaidic acid is substituted for *cis*-oleic acid in diet. *Atherosclerosis*, 106:99-107.
- Ackman R.G., Hooper S.N., Hooper D.L. (1974).** Linolenic acid artefacts from the deodorization of oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 51, 42-49.
- Ackman R.G., Mag T.K. (1998).** *Trans* fatty acids and the potential for less in technical products. In *Trans fatty acids in human nutrition*, Sébédio J.-L., Christie W.W., eds., *The Oily Press*, Dundee, pages 35-58.
- Adam M., Chew M., Wasserman S., McCollum A., McDonald R.E., Mossoba M.M. (1998).** Determination of *trans* fatty acids in hydrogenated vegetable oils by attenuated total reflection infrared spectroscopy: two limited collaborative studies. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 75, 353 - 358.
- Adam M., Mossoba M.M., Dawson T., Chew M., Wasserman S. (1999).** Comparison of attenuated total reflection infrared spectroscopy to capillary gas chromatography for *trans* fatty acid determination. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 76, 375 - 378.
- Adam M., Mossoba M.M., Lee T. (2000).** Rapid determination of total *trans* fat content by attenuated total reflection infrared spectroscopy: an international collaborative study. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 77, 457 - 462.
- Adlof R.O. (1994).** Separation of *cis* and *trans* unsaturated fatty acid methyl esters by silver ion high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, 659, 95-99.
- Adlof R.O., Copes L.C., Emken E.A. (1995).** Analysis of the monoenoic fatty acid distribution in hydrogenated vegetable oils by silver-ion high-performance liquid chromatography. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 72, 571-574.
- Adlof R.O., Lamm T. (1998).** Fractionation of *cis*- and *trans*-oleic, linoleic, and conjugated linoleic fatty acid methyl esters by silver ion high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, 799, 329-332.
- Adrian J., Potus J., Frangne R. (1999).** *La Science Alimentaire de A à Z*. Lavoisier Tec & Doc ed, Paris.
- Albers R, van der Wielen RP, Brink EJ, Hendriks HF, Dorovska-Taran VN, Mohede IC, (2003).** Effects of *cis*-9, *trans*-11 and *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid (CLA) isomers on immune function in healthy men. *Eur J Clin Nutr.* 57 :595-603.
- Alberti KG, Zimmet PZ. (1998).** Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med.* Jul;15(7) : 539-53.
- Ali L.H., Angyal G., Weaver C.M., Rader J.J., Mossoba M.M. (1996).** Determination of total *trans* fatty acids in foods: Comparison of capillary-column gas chromatography and single-bounce horizontal attenuated total reflection infrared spectroscopy. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 73, 1699 - 1705.
- Allison DB, Egan SK, Barraj LM, Caughman C, Infante M, Heimbach JT (1999).** Estimated intakes of *trans* fatty and other fatty acids in the US population. *J Am Diet Assoc.* Feb;99(2):166-74; quiz 175-6.
- Almendingen, K., Jordal, O., Kierulf, P., Standstad, B. et Pedersen, J.I. (1995).** Effects of partially hydrogenated fish oil, partially hydrogenated soybean oil, and butter on serum lipoproteins and Lp(a) in men. *J. Lipid Res.*, 36 : 1370-1384.
- Almendingen, K., Seljeflot I., Standstad, B. et Pedersen, J.I. (1996).** Effects of partially hydrogenated fish oil, partially hydrogenated soybean oil, and butter on hemostatic variables in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 16 : 375-80.
- Anderson, R. L., C. S. J. Fullmer, et al. (1975).** "Effects of the *trans* isomers of linoleic acid on the metabolism of linoleic acid in rats." *Journal of Nutrition* 105: 393-400.
- AOAC International, Method 2000.10, Official Methods of Analysis, 17th edition, Gaithersburg, MD, 1997.**
- AOAC International, Method 965.3, Official Methods of Analysis, 17th edition, Gaithersburg, MD, 1997.**
- AOAC International, Method 965.34, Official Methods of Analysis, 17th edition, Gaithersburg, MD, 1997.**
- AOAC International, Method 994.14, Official Methods of Analysis, 17th edition, Gaithersburg, MD, 1997.**

- AOAC International**, Method 994.15, Official Methods of Analysis, 17th edition, Gaithersburg, MD, 1997.
- AOAC International**, Method 996.06, revised 2001, Official Methods of Analysis, 17th edition, Gaithersburg, MD, 1997.
- AOCS**, Official Method Cd 14-95 et Cd 14-96, American Oil Chemists' Society, Official Methods and Recommended Practices, 5th edition, D. Firestone Ed., Champaign, IL, 1999.
- AOCS**, Official Method Cd 14d-99, American Oil Chemists' Society, Official Methods and Recommended Practices, 5th edition, D. Firestone Ed., Champaign, IL, 1999.
- AOCS**, Official Method Ce 1f-96, revised 2002, American Oil Chemists' Society, Official Methods and Recommended Practices, 5th edition, D. Firestone Ed., Champaign, IL, 1999.
- AOCS**, Official Method Ce 1g-96, American Oil Chemists' Society, Official Methods and Recommended Practices, 5th edition, D. Firestone Ed., Champaign, IL, 1999.
- Appel MJ, Van Garderen-Hoetmer AM, Woutersen RA (1994)**. Effects of dietary conjugated linoleic acid on pancreatic carcinogenesis in rats and hamsters. *Cancer Res* 54:2113-2120.
- Applewithe, T.H. (1994)**. Margarine products in health and nutrition. *INFORM*, 5 : 914-921.
- Armstrong, R. A., J. M. Chardigny, B. Beaufrère, L. Bretillon, S. H. F. Vermunt, R. P. Mensink, A. Macvean, R. A. Elton, J. L. 17, 197-203.**
- Aro A, Mannisto S, Salminen I, et al (2000)**. Inverse association between dietary and serum conjugated linoleic acid and risk of breast cancer in postmenopausal women. *Nutr Cancer*; 38 pp151-157.
- Aro A. (2001)**. Complexity of issue of dietary *trans* fatty acids. *Lancet*, 357 : 732.
- Aro A., Kosmeijer-Schuil T., Van Der Bovenkamp P., Hulshof P., Zock P.L., Katan M.B. (1998)**. Analysis of C18:1 *cis* and *trans* fatty acid isomers by the combination of gas-liquid chromatography of 4,4-dimethylloxazoline derivatives and methyl esters. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 75, 977-985.
- Aro, A. et Kardinaal, A.F.M., (1995)**. Adipose tissue isomeric *trans* fatty acids and risk of myocardial infarction in 9 countries - The EURAMIC study. *Lancet*, 345 : 273-278.
- Aro, A., Jauhiainen, M., Partanen, R., Salminen, I. et Mutanen, M. (1997)**. Stearic acid, *trans* fatty acids, and dairy fat : effects on serum and lipoprotein lipids, apolipoproteins, lipoprotein(a), and lipid transfer proteins in healthy subjects. *Am. J. Clin. Nutr.*, 65 : 1419-1426.
- Ascherio, A., Hennekens, C.H., Buring, J.E., Masters, C., Stampfer, M.J. et Willett, W.C. (1994)**. *Trans* fatty acids intake and risk of myocardial infarction. *Circulation*, 89 : 94-101.
- Ascherio, A., Rimm, E.B., Giovannucci, E.L., Spiegelman, D., Stampfer, M. et Willett, W.C. (1996)**. Dietary fat and risk of coronary heart disease in men : cohort follow up study in the United States. *BMJ*, 313 : 84-90.
- Atkinson, R. L. (1999)**. Conjugated linoleic acid for altering body composition and treating obesity. (1), 348-353.. AOCS Press. advances in conjugated linoleic acid research. Yurzweck, M. P, Mossoba, M. M, Kramer, John KG, Pariza, M., and Nelson, G. J.
- Azain MJ, Hausman DB, Sisk MB, Flatt WP, Jewell DE (2000)**. Dietary conjugated linoleic acid reduces rat adipose tissue cell size rather than cell number. *J Nutr.* 130:1548-1554.
- Azain, M. J. (2003)**. "Conjugated linoleic acid and its effects on animal products and health in single-stomached animals." *Proc Nutr Soc* 62(2): 319-28.
- Baer R.J., Ryali J., Schingoethe D.J., Kasperson K.M., Donovan D.C., Hippen A.R., Franklin S.T. (2001)**. Composition and properties of milk and butter from cows fed fish oil. *J. Dairy Sci.*, 84, 345-353.
- Bakker N, Van't Veer P, Zock PL, and the EURAMIC study group (1997)**. Adipose fatty acids and cancers of the breast, prostate and colon: an ecological study. *Int J Cancer*, 72, pp 587-591.
- Banni S, Angioni E, Murru E, Carta G, Melis MP, Bauman D, Dong Y, Ip C. (2001)**. Vaccenic acid feeding increases tissue levels of conjugated linoleic acid and suppresses development of premalignant lesions in rat mammary gland. *Nutr Cancer* 41(1-2):91-97.
- Banni S. (2002)**. Conjugated linoleic acid metabolism *Curr Opin Lipidol.* 13 :261-6.
- Banni S., Day B.W., Evans R.W., Corongiu F.P., Lonmbardi B. (1995)**. Liquid chromatography-mass spectrometric analysis of conjugated diene fatty acids in partially hydrogenated fat. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 71, 1321-1325.

- Banni, S., B. W. Day, et al. (1995).** "Detection of conjugated diene isomers of linoleic acid in liver lipids of rats fed a choline-devoid diet indicates that the diet does not cause lipoperoxidation." *J Nutr Biochem* 6: 281-289.
- Banni, S., G. Carta, et al. (1996).** "Characterization of conjugated diene fatty acids in milk, dairy products, and lamb tissues." *J. Nutr. Biochem.* 7: 150-155.
- Banni S, Angioni E, Contini MS, et al. (1998).** Conjugated linoleic acid and oxidative stress. *J Am Oil Chem Soc.* ; 75:261-267.
- Banni, S., G. Carta, et al. (2001).** "Distribution of conjugated linoleic acid and metabolites in different lipid fractions in the rat liver." *J Lipid Res* 42: 1056-1061.
- Baron J, beach M, Mandel JS et al. (1999).** calcium supplements for the prevention of colo-rectal adenomas. *New England J Med*, 340, pp101-107.
- Basu S, Riserus U, Turpeinen A, Vessby B (2000).** Conjugated linoleic acid induces lipid peroxidation in men with abdominal obesity. *Clin Sci.* (Lond) 99:511-516.
- Basu, S., A. Smedman, et al. (2000).** "Conjugated linoleic acid induces lipid peroxidation in humans." *FEBS Letters* 468: 33-36.
- Bassaganya-Riera J, Pogradichny RM, Jobgen SC, Halbur PG, Yoon KJ, O'Shea M, Mohede I, Hontecillas R, (2003).** Conjugated linoleic acid ameliorates viral infectivity in a pig model of virally induced immunosuppression. *J. Nutr.* 133(10):3204-3214.
- Bassaganya-Riera J, Reynolds K, Martino-Catt S, Cui Y, Hennighausen L, Gonzalez F, Rohrer J, Benninghoff AU, Hontecillas R, (2004).** Activation of PPAR gamma and delta by conjugated linoleic acid mediates protection from experimental inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 127 :777-791.
- Baylin A, Kabagambe EK, Siles X, Campos H. (2002).** Adipose tissue biomarkers of fatty acid intake. *Am J Clin Nutr.* Oct;76(4):750-7.
- Baylin A, Kabagambe EK, Ascherio A et al, (2003).** High 18:2 *trans* fatty acids in adipose tissue are associated with increased risk of non fatal acute myocardial infarction in costa rican adults, *J. Nutr.* 133 : 1186-91.
- Belton P.S., Wilson R.H., Sadeghi-Jorabchi H., Peers K.E. (1988).** A rapid method for the estimation of isolated *trans* double bonds in oils and fats using FTIR combined with ATR. *Lebensm. -Wiss. u.-Technol.*, 21, 153 - 157.
- Belury MA, Mahon A, Banni S. (2003).** The Conjugated Linoleic Acid (CLA) Isomer, 10*t*,12*c*-CLA, Is Inversely Associated with Changes in Body Weight and Serum Leptin in Subjects with Type 2 Diabetes Mellitus. *J.Nutr.* 133:2575-260.
- Belury MA, Nickel KP, Bird CE, Wu Y. (1996).** Dietary conjugated linoleic acid modulation of phorbol ester skin tumor promotion. *Nutr Cancer* 26:149-157.
- Benito P, Nelson GJ, Kelley DS, Bartolini G, Schmidt PC, Simon V:** The effect of conjugated linoleic acid on plasma lipoproteins and tissue fatty acid composition in humans. *Lipids* 36:229-236, 200.
- Benito, P., G. J. Nelson, et al. (2001).** "The effect of conjugated linoleic acid on platelet function, platelet fatty acid composition, and blood coagulation in humans." *Lipids* 36(3): 221-7.
- Benito, P., Nelson, G.J., Kelley, D.S., Bartolini, G., et al. (2001).** The effect of conjugated linoleic acid on plasma lipoproteins and tissue fatty acid composition in humans. *Lipids*, 36, pp.229-36.
- Berdeaux O., Juanéda P., Sébédio J.-L. (1998).** Analyse des acides gras conjugués et *trans* après dérivation. *Analisis Magazine*, 26, M45-M51.
- Berdeaux, O., J. L. Sébédio, et al. (1996).** "Effects of *trans* n-6 fatty acids on the fatty acid profile of tissues and microsomal metabolism in the rat." *Grasas y Aceites* 47: 86-99.
- Berdeaux, O., J. M. Chardigny, J. L. Sébédio, T. Mairot, D. Poullain, J. M. Vatèle and J. P. Noël (1996).** "Effects of a *trans* isomer of arachidonic acid on rat platelet aggregation and eicosanoid production." *Journal of Lipid Research* 37(10): 2244-2250.
- Berdeaux, O., J. M. Vatèle, et al. (1995).** "Synthesis of (9*Z*,12*E*)-(1-14*C*) linoleic acid and (5*Z*,8*Z*,11*Z*,14*E*)-(1-14*C*) arachidonic acid." *Chemistry and Physics of Lipids* 78: 71-80.
- Berdeaux, O., J. P. Blond, et al. (1998).** "In vitro desaturation or elongation of mono*trans* isomers of linoleic acid by the rat liver microsomes." *Molecular and Cellular Biochemistry* 85: 17-25.
- Berdeaux, O., S. Gnadig, et al. (2002).** "In vitro desaturation and elongation of rumenic acid by rat liver microsomes." *Lipids* 37(11): 1039-45.

- Berven G, Bye A, Hals O, Blankson H, Fagertun H, Thom E, Wadstein J, Gudmundsen O (2000).** Safety of conjugated linoleic acid (CLA) in overweight or obese human volunteers. *Eur J Lipid Sci Technol* 102:455-462.
- Beyers, E. C. and E. A. Emken (1991).** "Metabolites of *cis,trans*, and *trans,cis* isomers of linoleic acid in mice and incorporation into tissue lipids." *Biochimica et Biophysica Acta* 1082: 275-284.
- Billeaud, C., N. Combe, et al. (2000).** *Trans* fatty acids in French pregnant women alter fetal linoleic acid metabolism without affecting growth. Annual meeting of the American Pediatric Society and Society for Pediatric Research., Boston, MA.
- Bingham SA, Day NE, Luben R et al. (2003).** Dietary fibre in food and protection against colorectal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC): an observational study. *Lancet*. 361, pp1496-501.
- Blankson H, Stakkestad JA, Fagertun H, Thom E, Wadstein J, Gudmundsen O. (2000).** Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. *J Nutr*. 130:2943-2948.
- Boatella J, Rafecas M, Codony R. (1993).** Isomeric *trans* fatty acids in the Spanish diet and their relationships with changes in fat intake patterns. *Eur J Clin Nutr*. Sep;47 Suppl 1:S62-5.
- Bonithon-Kopp C, Kronborg O, Giacosa A, et al. (2000).** Calcium and fibre supplementation in prevention of colo-rectal adenomas recurrence: a randomised intervention trial. European Cancer prevention Organisation Study group. *Lancet*, 356, pp1300-1306.
- Bontempo V, Sciannimanico D, Pastorelli G, Rossi R, Rosi F, Corino C. (2004).** Dietary conjugated linoleic acid positively affects immunologic variables in lactating sows and piglets. *J. Nutr*. 134 :817-24.
- Boué C, Combe N, Billeaud C et al. (2000).** *Trans* Fatty Acids in Adipose Tissue of French Women in relation to their origin, *Lipids*, 35, 561-566.
- Boué C, Combe N, Billeaud C, Mignerot C, Entressangles B, They G, Geoffrion H, Brun JL, Dallay D, Leng JJ (2000).** *Trans* fatty acids in adipose tissue of French women in relation to their dietary sources. *Lipids*. 35(5) : 561-6.
- Boué C, Combe N, Entressangles B, (2000).** Étude chez une population d'Aquitaine de l'effet des AG *trans* alimentaires sur les lipides plasmatiques et le profil des lipoprotéines, *Oléagineux, Corps Gras*, 7, 35-39.
- Boué, C., N. Combe, et al. (2001).** "Nutritional implications of *trans* fatty acids during perinatal period in French pregnant women." *OCL* 8: 68-72.
- Bouthergourd J.-C., Even P.C., Grippois D., Tiffon B., Blouquit M.-F., Roseau S., Lutton C., Tomé D., Martin J.-C. (2002).** A CLA mixture prevents body triglyceride accumulation without affecting energy expenditure in Syrian hamsters. *J. Nutr*, 132, 2682 - 2689.
- Bretillon, L., J. M. Chardigny, et al. (1998).** "Desaturation and chain elongation of [1-C-14]mono-*trans* isomers of linoleic and alpha-linolenic acids in perfused rat liver." *Journal of Lipid Research* 39(11): 2228-2236.
- Bretillon, L., J. M. Chardigny, et al. (1998).** "Oxidative metabolism of (1-14C) mono-*trans* isomers of linoleic and alpha-linolenic acids in the rat." *Biochimica et Biophysica Acta* 1390(2): 207-214.
- Bretillon, L., J. M. Chardigny, et al. (1999).** "Effects of conjugated linoleic acid isomers on the hepatic microsomal desaturation activities *in vitro*." *Lipids* 34: 965-969.
- Bretillon, L., J. M. Chardigny, et al. (2001).** "Isomerization increases the postprandial oxidation of linoleic acid but not alpha-linolenic acid in men." *J Lipid Res* 42(6): 995-7.
- Brown JM, Boysen MS, Chung S, Fabiyi O, Morrison RF, Mandrup S, McIntosh MK (2004).** Conjugated Linoleic Acid Induces Human Adipocyte Delipidation: autocrine/paracrine regulation of mek/erk signaling by adipocytokines. *J.Biol.Chem*. 279:26735-26747.
- Brown JM, Halvorsen YD, Lea-Currie YR, Geigerman C, McIntosh M (2001).** *Trans*-10, *cis*-12, but not *cis*-9, *trans*-11, conjugated linoleic acid attenuates lipogenesis in primary cultures of stromal vascular cells from human adipose tissue. *J. Nutr*. 131:2316-2321.
- Brown JM, McIntosh MK (2003).** Conjugated linoleic acid in humans: regulation of adiposity and insulin sensitivity. *J. Nutr*. 133:3041-3046.
- Brown M, Evans M, McIntosh M (2001).** Linoleic acid partially restores the triglyceride content of conjugated linoleic acid-treated cultures of 3T3-L1 preadipocytes. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 12:381-387.
- Brown, J. M., M. S. Boysen, et al. (2003).** "Isomer-specific regulation of metabolism and PPARgamma signaling by CLA in human preadipocytes." *J Lipid Res* 44(7): 1287-300.

- Brühl L. (1995).** Determination of *trans* fatty acids in cold pressed oils. *Eur. J. Med. Res.*, 1, 89 - 93.
- Buchgraber M., Ulberth F. (2001).** Determination of *trans* octadecenoic acids by silver-ion chromatography-gas liquid chromatography: an intercomparison of methods. *J. AOAC Int.*, 84, 1490 - 1498.
- Busson V. (2000).** Préoccupations nutritionnelles et communication de l'industrie. *OCL* volume 7 numéro 1.
- Capita R, Alonso-Calleja C (2003).** Intake of nutrients associated with an increased risk of cardiovascular disease in a Spanish population. *Int J Food Sci Nutr.* Jan;54(1):57-75.
- Carlson, S. E., M. T. Clandinin, et al. (1997).** "Trans fatty acids: infant and fetal development." *American Journal of Clinical Nutrition* 66(Suppl): S717-S736.
- Castelli WP, Garrison RJ, Wilson PW, Abbott RD, Kalousdian S, Kannel WB. (1986).** Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels. *The Framingham Study. JAMA* 256 : 2835-2838.
- Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, Lloyd JK, Deanfield JE, (1992).** Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 340:1111-1115.
- CEN, Méthode officielle CEN EN ISO 15304, Comité Européen de Normalisation, Bruxelles, B, 2002.**
- Chajès V, Lavillonière F, Ferrari P et al. (2002).** Conjugated linoleic acid content in adipose tissue is not associated with the relative risk of breast cancer in a population of French patients. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 11, pp672-673.
- Chajes V, Lavillonniere F, Maillard V, Giraudeau B, Jourdan ML, Sebedio JL, Bougnoux P. (2003).** Conjugated linoleic acid content in breast adipose tissue of breast cancer patients and the risk of metastasis. *Nutr Cancer.* 45(1), 17-23.
- Chapman M.J. (1999).** Atherogenicity of Low Density Lipoprotein : mechanisms. In : Barter PJ., Rye KA. Plasma Lipids and their role in disease. Taylor and Francis, London.
- Chardigny JM., Wolff R., Mager E., Bayard C., Sébédio JL., Martine L., Ratnayake W.M.N. (1996).** Fatty acid composition of french infant formulas with emphasis on the content and detailed profile of *trans* fatty acids. *JAOCS*, Vol 73, 11, 1595-1600.
- Chardigny, J. M., J. L. Sébédio, et al. (1993).** "Occurrence of n-3 *trans* polyunsaturated fatty acids in human platelets." *Nutr Res* 13: 1105-1111.
- Chardigny, J. M., J. L. Sébédio, et al. (1996).** "Identification of novel *trans* isomers of 20:5 n-3 in liver lipids of rats fed a heated oil." *Lipids* 31: 165-168.
- Chardigny, J. M., J. P. Blond, et al. (1995).** Influence of a D9 *trans* ethylenic bond on the D6 desaturation of linolenic acid. 21st Congress of the International Society for Fat Research, The Hague, Barnes, P.J.
- Chardigny, J. M., J. P. Blond, et al. (1997).** "Conversion of 18:3 Delta 9cis, 12cis, 15trans in rat liver microsomes." *Lipids* 32(7): 731-735.
- Chardigny, J. M., R. L. Wolff, et al. (1995).** "Trans mono- and poly-unsaturated fatty acids in human milk." *European Journal of Clinical Nutrition* 49: 523-531.
- Chen ZY., Pelletier G., Hollywood R., Ratnayake WMN. (1995).** *Trans* fatty acid isomers in canadian human milk. *Lipids*, vol 30, 1, 15-21.
- Chen, Z. Y., G. Pelletier, et al. (1995).** "Trans fatty acid isomers in Canadian human milk." *Lipids* 30(1): 15-21.
- Chen, Z.Y., Ratnayake, W.M.N., Foetier, L., Ross, R. et Cunanne, S.C. (1995).** Similar distribution of *trans* fatty acids isomers in HPVO and adipose tissue of Canadians. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 73 : 718-723.
- Cheng JL, Futakuchi M, Ogawa K, Iwata T, Kasai M, Tokudome S, Hirose M, Shirai T. (2003).** Dose response study of conjugated fatty acid derived from safflower oil on mammary and colon carcinogenesis pretreated with 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) and 1,2-dimethylhydrazine (DMH) in female Sprague-Dawley rats. *Cancer Lett.* 196(2):161-168.
- Chew BP, Wong TS, Shultz TD, Magnuson NS, (1997).** Effects of conjugated dienoic derivatives of linoleic acid and beta-carotene in modulating lymphocyte and macrophage function. *Anticancer Res.* 17 :1099-1106.
- Chiang, M.T. et Lu, Y.S. (1996).** Variation of plasma cholesterol levels in rats fed *trans* fatty acids or *cis* fatty acids. *Internat. J. Vit. Nutr. Res.*, 66:263-269.
- Chiang MT, Lu YS. (1996).** Variation of plasma cholesterol levels in rats fed *trans* fatty acids or *cis* fatty acids. *Int J Vitam Nutr Res.*; 66(3) : 263-9.

- Chilliard Y., Ferlay A., Doreau M. (2001).** Contrôle de la qualité nutritionnelle des matières grasses du lait par l'alimentation des vaches laitières : acides gras *trans*, polyinsaturés, acide linoléique conjugué. *INRA Prod. Anim.*, 14, 323 - 335.
- 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.
- Chin S.F., Liu W., Storkson J.M., Ha Y.L., Pariza M.W. (1992).** Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. *J. Food Compos. Anal.*, 5, 185-197.
- Chisholm, A., Mann, J., Sutherland, W., Duncan, A., Seakff, M. et Frampton, C. (1996).** Effect of lipoprotein profile of replacing butter with margarine in a low fat diet : randomised crossover study with hypercholeolaemic subjects. *Brit. Med. J.*, 312 : 931-934.
- Choi Y, Kim YC, Han YB, Park Y, Pariza MW, Ntambi JM. (2000).** The *trans*-10,*cis*-12 Isomer of Conjugated Linoleic Acid Downregulates Stearoyl-CoA Desaturase 1 Gene Expression in 3T3-L1 Adipocytes. *J.Nutr.* 130:1920-1924.
- Choi, Y., Y. C. Kim, et al. (2000).** "The *trans*-10,*cis*-12 isomer of conjugated linoleic acid downregulates stearyl-CoA desaturase 1 gene expression in 3T3-L1 adipocytes." *J Nutr* 130: 1920-1924.
- Chouinard P.Y., Corneau L., Barbano D.M., Metzger L.E., Bauman D.E. (1999).** Conjugated linoleic acids alter milk fatty acid composition and inhibit milk fat secretion in dairy cows. *J. Nutr.*, 129, 1579-1584.
- Christie W.W. (1989).** Silver ion chromatography using solid-phase extraction columns packed with a bonded-sulfonic acid phase. *J. Lipid Res.*, 30, 1471-1473.
- Christie W.W. (1989).** Isolation of fatty acids and identification by spectroscopic and chemical degradative techniques. In Gas chromatography and lipids, Christie W.W. ed., *The Oily Press*, Dundee, pages 133-145.
- Christie W.W., Mcg Breckenridge G.H. (1989).** Separation of *cis* and *trans* isomers of unsaturated fatty acids by HPLC in the silver ion mode. *J. Chromatogr.*, 469, 261-269.
- Christie W.W., Sébédio J.-L., Juanéda P. (2001).** A practical guide to analysis of conjugated linoleic acid. *Inform*, 12, 147-152.
- Chuang L.-T., Thurmond J.M., Liu J.-W., Kirchner S.J., Mukerji P., Bray T.M., Huang Y.-S. (2001).** Effect of conjugated linoleic acid on fungal 6-desaturase activity in a transformed yeast. *Lipids*, 36, 139-143.
- Clavel-Chapelon F, Gerber M. (2002).** Reproductive factors and breast cancer risk. Do they differ according to age at diagnosis? *Breast Cancer Res. and Treatment*, 72, 107-115.
- Clement L, Poirier H, Niot I, Bocher V, Guerre-Millo M, Krief S, Staels B, Besnard P. (2002).** Dietary *trans*-10,*cis*-12 conjugated linoleic acid induces hyperinsulinemia and fatty liver in the mouse. *J.Lipid Res.* 43:1400-1409.
- Clevidence, B.A., Judd, J.T., Schaefer, E.J., Jenner, J.L., Lichtenstein, A.H., Muesingr, A., Wittes, J. et Sunkin, M.E. (1997).** Plasma lipoprotein(a) levels in men and women consuming diets enriched in saturated, *cis*- or *trans*-monounsaturated fatty acids. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 17 : 1657-1661.
- Clifton PM, Keogh JB, Noakes M. (2004).** *Trans* fatty acids in adipose tissue and the food supply are associated with myocardial infarction, *J. Nutr.* 134 : 874-879.
- Coleman LJ, Landstrom EK, Royle PJ, Bird AR, McIntosh GH. (2002).** Protection of conjugated linoleic acids against 2-amino-3- methylimidazo[4,5-f]quinoline-induced colon carcinogenesis in the F344 rat: a study of inhibitory mechanisms. *Carcinogenesis* 16:3037-43.
- Collomb M., Bülher T. (2000).** Analyse de la composition en acides gras de la graisse de lait. *Mitt. Lebensm. Hyg.*, 91, 306-332.
- Combe N., Boué C., Entressangles B. (2000).** Consommation en acides gras *trans* et risque cardio-vasculaire : Étude Aquitaine, *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, 7, 30-34.
- Combe, N., A. Judde, et al. (1998).** Distribution of dietary *trans* isomers of essential fatty acids in blood lipid classes. *Proceedings of the fourth International Congress on Essential Fatty Acids and Eicosanoids*. R. A. Riemersma, R. A. Armstrong, R. W. Kelly and R. Wilson. Champaign, AOCS Press: 239-242.
- Corl B.A., Baumgard L.H., Griinari J.M., Delmonte P., Morehouse K.M., Yurawecz M.P., Bauman D.E. (2002).** *Trans*-7, *cis*-9 CLA is synthesized endogenously by a D9-desaturase in dairy cows. *Lipids*, 37, 681 - 688.
- Corl BA, Barbano DM, Bauman DE, Ip C. (2003).** *cis*-9, *trans*-11 CLA derived endogenously from *trans*-11 18:1 reduces cancer risk in rats. *J Nutr.* 33(9):2893-900.

Couet, C., S. Gregoire, et al. (2004). Teneur en acide ruménique (c9,t11-18:2, CLA) du tissu adipeux (TA) humain et phénotype métabolique. 4^e Journées Francophones de Nutrition, Lyon.

Cruz-Hernandez C., Deng Z., Zhou J., Hill A.R., Yurawecz M.P., Delmonte P., Mossoba M.M., Dugan M.E.R., Kramer J.K.G. (2004). Methods for analysis of conjugated linoleic acids and *trans*-18:1 isomers in dairy fats by using a combination of gas chromatography, silver-ion thin-layer chromatography/gas chromatography, and silver-ion liquid chromatography. *J. AOAC Int.*, 87, 545 - 562.

Cuchel, M., Schwad, U.S., Jones, P.J.H., Vogel, S., Lammi-Keefe, C., Li, Z., Ordovas, J., Mc Namara, J.R., Schaefer, E.J. et Lichtenstein, A.H. (1996) Impact of hydrogenated fat consumption on endogenous cholesterol synthesis and susceptibility of low-density lipoprotein to oxidation in moderately hypercholesterolemic individuals. *Metabolism*, 45 : 241-247.

Cunningham DC, Harrison LY, Shultz TD. (2003). Proliferative responses of normal human mammary and MCF-7 breast cancer cells to linoleic acid, conjugated linoleic acid and eicosanoid synthesis linoleic acids lower the release of eicosanoids and nitric oxide from human aortic endothelial cells. *J Nutr*, 133, 4083-4089.

Cunningham DC, Harrison LY, Shultz TD. (1997). Proliferative responses of normal human mammary and MCF-7 breast cancer cells to linoleic acid, conjugated linoleic acid and eicosanoid synthesis inhibitors in culture. *Anticancer Res*, 17, 197-203.

de Deckere EA, van Amelsvoort JM, McNeill GP, Jones P. (1999). Effects of conjugated linoleic acid (CLA) isomers on lipid levels and peroxisome proliferation in the hamster. *Br J Nutr*. Oct;82(4) : 309-17.

De Schrijver R, Privett O.S. (1982). Interrelationship between dietary *trans* fatty acids and the 6- and 9-desaturases in the rat. *Lipids*, 17, 27-34.

De Schrijver, R. and O. S. Privett. (1982). "Interrelationship between dietary *trans* Fatty acids and the 6- and 9-desaturases in the rat." *Lipids* 17(1): 27-34.

Degrace P, Demizieux L, Gresti J, Chardigny JM, Sebedio JL, Clouet P. (2003). Association of liver steatosis with lipid oversecretion and hypotriglyceridaemia in C57BL/6j mice fed *trans*-10,*cis*-12-linoleic acid. *FEBS Letters* 546:335-339.

Degrace P, Demizieux L, Gresti J, Chardigny JM, Sebedio JL, Clouet P. (2004). Hepatic Steatosis Is Not Due to Impaired Fatty Acid Oxidation Capacities in C57BL/6J Mice Fed the Conjugated *trans*-10,*cis*-12-Isomer of Linoleic Acid. *J.Nutr.* 134:861-867.

Degrace, P., L. Demizieux, et al. (2004). "Hepatic Steatosis Is Not Due to Impaired Fatty Acid Oxidation Capacities in C57BL/6J Mice Fed the Conjugated *trans*-10,*cis*-12-Isomer of Linoleic Acid." *J Nutr* 134(4): 861-7.

Degrace P, Juaneda P, Chardigny JM, Sebedio JL, Clouet P. Reversibility of lipodystrophy and hepatic steatosis as well as liver fatty acid oxidation rates in mice treated with *trans*-10, *cis*-12 linoleic acid (manuscrit en préparation).

Degrace P, Demizieux L, Mohamed I, Gresti J, Chardigny JM, Sebedio JM, Clouet P. Effets de l'acide *trans*-10, *cis*-12 linoléique sur le métabolisme des lipides dans le foie chez la souris C57BL/6, OCL (sous presse).

DeLany JP, Blohm F, Truett AA, Scimeca JA, West DB: (1999). Conjugated linoleic acid rapidly reduces body fat content in mice without affecting energy intake. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 276:R1172-R1179.

DeLany, J. P., M. M. Windhauser, et al. (2000). "Differential oxidation of individual dietary fatty acids in humans." *Am J Clin Nutr* 72(4): 905-11.

Demizieux, L., P. Degrace, et al. (2002). "Conjugated linoleic acid isomers in mitochondria: evidence for an alteration of fatty acid oxidation." *J Lipid Res* 43(12): 2112-22.

DesBordes C, Lea MA. (1995). Effects of C18 fatty acid isomers on DNA synthesis in hepatoma and breast cancer cells. *Anticancer Res* 15:2017-2022.

Destailats F., Wolff R.L., Precht D., Molkentin J. (2000). Study of individual *trans*- and *cis*-16:1 isomers in cow, goat, and ewe cheese fat by gas-liquid chromatography with emphasis on the *trans*-D3 isomer. *Lipids*, 35, 1027 - 1032.

Devinat G., Scamaroni L., Naudet M. (1980). Isomérisation de l'acide linoléique durant la désodorisation des huiles de colza et de soja. *Rev. Franç. Corps Gras*, 27, 283-287.

Dhar, P., S. Ghosh, et al. (1999). "Dietary effects of conjugated octadecatrienoic fatty acid (9*cis*, 11*trans*, 13*trans*) levels on blood lipids and nonenzymatic *in vitro* lipid peroxidation in rats." *Lipids* 34(2): 109-114.

Downs JR, Clearfield M, Weis S, Whitney E, Shapiro DR, Beere PA et al. (1998). Primary prevention of acute coronary events with lovastatin in men and women with average cholesterol levels: results of AFCAPS/TexCAPS. Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study. *JAMA* 279: 1615-1622.

- Dugan, M. E., J. L. Aalhus, et al. (2004).** "Conjugated linoleic acid pork research." *Am J Clin Nutr* 79 (6 Suppl):1212S-1216S.
- Dutton H.J. (1974).** Analysis and monitoring of *trans*-isomerization by IR ATR spectrophotometry. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 51, 406 - 409.
- Eder K, Schlessner S, Becker K, Korting Sébédio and R. A. Riemersma. (2000).** "No effect of dietary *trans* isomers of α -linolenic acid on platelet aggregation and haemostatic factors in european healthy men: The transline study." *Thrombosis Research* 100: 133-141.
- Eder K, Schlessner S, Becker K, Korting R. (2003).** Conjugated linoleic acids lower the release of eicosanoids and nitric oxide from human aortic endothelial cells. *J Nutr*, 133, 4083-4089.
- Elias SL., Innis SM. (2002).** Bakery foods are the major dietary source of *trans*-fatty acids among pregnant women with diets providing 30 percent energy from fat. *J Am Diet Assoc.* 102(1), 46-51.
- Elias, S. L. and S. M. Innis (2001).** "Infant plasma *trans*, n-6, and n-3 fatty acids and conjugated linoleic acids are related to maternal plasma fatty acids, length of gestation, and birth weight and length." *Am J Clin Nutr* 73(4): 807-14.
- Erickson KL, Schlanger DS, Adams DA, Fregeau DR, Stern JS. (1984).** Influence of dietary fatty acid concentration and geometric configuration on murine mammary tumorigenesis and experimental metastasis. *J Nutr*, 114(10):1834-42.
- Eulitz K., Yurawecz M.P., Sehat N., Fritsche J., Roach J.A.G., Mossoba M.M., Kramer J.K.G., Adlof R.O., Ku Y. (1999).** Preparation, separation, and confirmation of eight geometrical *cis/trans* conjugated linoleic acid isomers 8,10-through 11,13-18:2. *Lipids*, 34, 873-877.
- Evans M, Brown J, McIntosh M. (2002).** Isomer-specific effects of conjugated linoleic acid (CLA) on adiposity and lipid metabolism. *J.Nutr.Biochem.* 13:508.
- Evans M, Geigerman C, Cook J, Curtis L, Kuebler B, McIntosh M. (2000).** Conjugated linoleic acid suppresses triglyceride accumulation and induces apoptosis in 3T3-L1 preadipocytes. *Lipids* 35:899-910.
- Eynard, T., D. Poullain, et al. (1998).** "Synthesis of methyl (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- and (5Z,8Z,11Z,14Z,17E)-[18-C-14] eicosapentaenoate." *Journal of Labelled Compounds & Radiopharmaceuticals* 41(5): 411-421.
- Eynard, T., J. M. Vatèle, et al. (1994).** "Synthesis of (9Z,12Z,15E)- and (9E,12Z,15Z)-octadecatrienoic acids and their (1-14C)analogs." *Chem Phys Lipids* 74: 175-184.
- Farnier M. (2003).** Dyslipidémies athérogènes. IN : Toussaint JF, Jacob MP, Lagrost L, Chapman J ed. *L'athérosclérose : physiopathologie, diagnostics, thérapeutiques*. Paris, Masson, pp 571-597.
- FDA, Food labelling: trans fatty acids in nutrition labelling, nutrient content claims, and health claims.** 21 CRF Part 101, Federal Register, Vol. 68, No. 133, 11 juillet 2003.
- Fernandez San Juan P.M. (1996).** Study of isomeric *trans* fatty acids content in the commercial Spanish food. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 47, 399-403.
- Firestone D., Sheppard A. (1992).** Determination of *trans* fatty acids. In Advance in Lipid Methodology, Christie W.W., ed., *The Oily Press*, Dundee, pages 273-322.
- Fritsche J., Steinhart H. (1997).** Contents of *trans* fatty acids (TFA) in german foods and estimation of daily intake, *Fett/lipid*, 99, 314 - 82.
- Fritsche J., Steinhart H. (1998).** Amounts of conjugated linoleic acid (CLA) in german foods and evaluation of daily intake, *Z Lebensm Unters Forsch A*, 206, 77 - 82.
- Fritsche J., Steinhart H., Mossoba M.M., Yurawecz M.P., Sehat N., Ku Y. (1998).** Rapid determination of *trans*-fatty acids in human adipose tissue. Comparison of attenuated total reflection infrared spectroscopy and gas chromatography. *J. Chromatogr. B*, 705, 177 - 182.
- Fritsche, J., Steinhart, H., Kardalinos, V. et Klose, G. (1998).** Contents of *trans* fatty acids in human substernal adipose tissue and plasma lipids : relation to angiographically documented coronary heart disease. *Eur. J. Med. Res.*, 3 : 401-406.
- Gaullier JM, Halse J, Hoye K, Kristiansen K, Fagerteun H, Vik H, Gudmundsen O. (2004).** Conjugated linoleic acid supplementation for 1y reduces body fat mass in healthy overweight humans. *Am J Clin Nutr*, 79, pp1118-1125.
- Gaullier JM, Halse J, Hoye K, Kristiansen K, Fagertun H, Vik H, Gudmundsen O. (2004).** Conjugated linoleic acid supplementation for 1y reduces body fat mass in healthy overweight humans. *Am. J Clin Nutr.* 79:1118-1125.

- Gavino VC, Gavino G, Leblanc MJ, Tuchweber B. (2000).** An Isomeric Mixture of Conjugated Linoleic Acids But Not Pure *cis-9,trans-11*-Octadecadienoic Acid Affects Body Weight Gain and Plasma Lipids in Hamsters. *J. Nutr.* 130:27-29.
- Genest J. Jr., Cohn J.S. (1999).** Epidemiological evidence linking plasma lipoprotein disorders to atherosclerosis and other diseases. In : Barter PJ., Rye KA. *Plasma Lipids and their role in disease.* Taylor and Francis, London, : 46-48.
- Gerber M, Boutron-Ruault M-C, Hercberg S, Riboli E, Scalbert A, Siess M-H. (2002).** Actualités en cancérologie : fruits, légumes et cancers. Une synthèse du réseau Nacre. *Bull. Cancer*, 89, pp 293-312.
- Gerber M. (2001).** Micronutriments et microconstituants végétaux protecteurs dans le cancer du sein. *Bull. Cancer*, 88, pp 943-953.
- Goldberg GR, Black AE, Jebb SA, Cole TJ, Murgatroyd PR, Coward WA, Prentice AM. (1991).** Critical evaluation of energy intake data using fundamental principles of energy physiology: 1. Derivation of cut-off limits to identify under-recording. *European Journal of Clinical Nutrition*, 45 : 569-81.
- Grandgirard A. (1992).** Transformations des lipides au cours des traitements thermiques. Effets nutritionnels et toxicologiques. *Les Cahiers de l'ENS. BANA*, 49-57.
- Grandgirard, A., A. Piconneaux, et al. (1989).** "Occurrence of geometrical isomers of eicosapentaenoic acids in liver lipids of rats fed heated linseed oil." *Lipids* 24: 799-804.
- Grandgirard, A., A. Piconneaux, et al. (1998).** "Trans isomers of long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids in tissue lipid classes of rats fed with heated linseed oil." *Reproduction Nutrition Development* 38(1): 17-29.
- Granlund L, Juvet LK, Pedersen JI, Nebb HI. (2003).** *Trans*₁₀, *cis*₁₂ conjugated linoleic acid prevents triacylglycerol accumulation in adipocytes by acting as a PPARγ modulator. *J. Lipid Res.*
- Griinari J.M., Bauman D.E. (1999).** Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. In Yurawecz M.P., Mossoba M.M., Kramer J.K.G., Pariza M.W., Nelson G.J., eds. *Advances in conjugated linoleic acid research.* Vol. 1. AOCS Press, Champaign, Illinois. Pages 180-200.
- Griinari J.M., Corl B.A., Lacy S.H., Chouinard P.Y., Nurmela K.V.V., Bauman D.E. (2000).** Conjugated Linoleic Acid is synthesized endogeneously in lactating dairy cows by Δ⁹-desaturase. *J. Nutr.*, 130, 2285 - 2291.
- Griinari, J. M., B. A. Corl, et al. (2000).** "Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by Δ⁹-desaturase." *J. Nutr.* 130(9): 2285-91.
- Gruffat, D., A. De La Torre, et al. (2003).** "In vitro comparison of hepatic metabolism of 9*cis*-11*trans* and 10*trans*-12*cis* isomers of CLA in the rat." *Lipids* 38(2): 157-63.
- Grundy SM, (1999).** Hypertriglyceridemia, insulinresistance, and the metabolic syndrome. *Am. J. Cardiol.* 83 : 25F-29F.
- Guzman, M., W. Klin, et al. (1999).** "Trans fatty acids by hepatocytes." *Lipids* 34: 381-386.
- Ha Y.L., Grimm N.K., Pariza M.W. (1987).** Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis*, 8, 1881-1887.
- Ha Y.L., Grimm N.K., Pariza M.W. (1989).** Newly recognized anticarcinogenic fatty acids : identification and quantification in natural and processed cheeses. *J. Agric. Food Chem.*, 37, 75-81.
- Ha YL, Grimm NK, Pariza MW. (1987).** Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis* 8(12):1881-1887.
- Ha YL, Storkson J, Pariza MW. (1990).** Inhibition of benzo(a)pyrene-induced mouse forestomach neoplasia by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid. *Cancer Res* 50:1097-1101.
- Hargrave, K. M., Li, C., Meyer, B. J., Kachman, S. D., Hartzell, D. L., Della-Fera, M. A., Miner, J. L., Baile, C. A. (2002).** Adipose depletion and apoptosis induced by *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic Acid in mice. *Obes Res* 10, 1284-1290.
- Harnack L, Lee S, Schakel SF, Duval S, Luepker RV, Arnett DK. (2003).** Trends in the *trans*-fatty acid composition of the diet in a metropolitan area: the Minnesota Heart Survey. *J. Am. Diet Assoc.* Sep;103(9):1160-6.
- Hayashi, K., Hirata, Y., Kurushima, H., Saeki, M., Amioka, H., Nomura, S., Kuga, Y., Ohkura, Y., Ohtani, H. et Kajiyama, G. (1993).** Effect of dietary hydrogenated corn oil (*trans*-octadecenoate rich oil) on plasma and hepatic cholesterol metabolism in the hamster. *Atherosclerosis*, 99 : 97-106.
- Hayek, M.G., S.N. Han, D.Y. Wu, B.A. Watkins, M. Meydani, J.L. Dorsey, D.E. Smith, and S.N. Meydani,** Dietary conjugated linoleic acid influences the immune response of young and old C57BL/6NCr1BR mice. *Journal of Nutrition*, 1999. 129 (1) : p. 32-38.

- Hennig B., Toborek M., McClain C.J. (2001).** High-energy diets, fatty acids and endothelial cell function : implication for atherosclerosis. *J. Am. Coll. Nutr.* 20 : 97-105.
- Henriksen E.J., Teachey M.K., Taylor Z.C., Jacob S., Ptock A., Kramer K., Hasselwander O. (2003).** Isomer-specific actions of conjugated linoleic acid on muscle glucose transport in the obese Zucker rat. *Am. J. Physiol. Endocrinol Metab.* 285:E98-E105.
- Hill, E. G., S. B. Johnson, et al. (1979).** "Intensification of essential fatty acid deficiency in the rat by dietary *trans* fatty acids." *J. Nutr.* 109(10): 1759-65.
- Hodis N.N., Mack W.J.- (1998).** Triglyceride-rich lipoproteins and progression of atherosclerosis. *Eur. Heart J.*, :19 (suppl. A) :40-44.
- Hogan M.L., Shamsuddin A.M. (1984).** Large intestinal carcinogenesis. I. Promotional effect of dietary fatty acid isomers in the rat model. *J. Natl. Cancer Inst.*, 73(6):1293-6.
- Holmes M., Hunter D.J., Colditz G.A. et al. (1999).** Association of dietary intake of fat and fatty acids with risk of breast cancer. *JAMA*, 281, 914-920.
- Houseknecht K.L., Vanden Heuvel J.P., Moya-Camarena S.Y., Portocarrero C.P., Peck L.W., Nickel K.P., Belury M.A. (1998).** Dietary conjugated linoleic acid normalizes impaired glucose tolerance in the Zucker diabetic fatty fa/fa rat. *Biochem. Biophys. Res Commun.* 244:678-682.
- Hubbard N.E., Lim D., Erickson K.L. (2003).** Effect of separate conjugated linoleic acid isomers on murine mammary tumorigenesis. *Cancer Lett* 190(1):13-9.
- Hubbard N.E., Lim D., Summers L., Erickson K.L. (2000).** Reduction of murine mammary tumor metastasis by conjugated linoleic acid. *Cancer Lett*, 150(1):93-100.
- Hudgins L.C., Hirsch J. et Emken E.A. (1991).** Correlation of isomeric fatty acids in human adipose tissue with clinical risk factors for cardiovascular disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, 53 : 474-482.
- Hulshof K.F., van Erp-Baart M.A., Anttolainen M., Becker W., Church S.M., Couet C., Hermann-Kunz E., Kesteloot H., Leth T., Martins I., Moreiras O., Moschandreas J., Pizzoferrato L., Rimstad AH., Thorgeirsdottir H., van Amelsvoort J.M., Aro A., Kafatos A.G., Lanzmann-Petithory D., van Poppel G. (1999).** Intake of fatty acids in western Europe with emphasis on *trans* fatty acids: the TRANSFAIR Study. *Eur. J. Clin. Nutr.* 53(2) : 143-57.
- Hu F.B., Stampfer M.J., Manson J.E., Rimm E., Colditz G.A., Rosner B.A., Hennekens C.H., Willett W.C. (1997).** Dietary fat intake and the risk of coronary heart disease in women. *N. Engl. J. Med.* Nov 20;337(21):1491-9.
- Igarashi M., Miyazawa T. (2001).** The growth inhibitory effect of conjugated linoleic acid on a human hepatoma cell line, HepG2, is induced by a change in fatty acid metabolism, but not the facilitation of lipid peroxidation in the cells. *Biochim Biophys Acta*, 1530(2-3):162-71.
- Inoue N, Nagao K, Hirata J, Wang YM, Yanagita T. (2004).** Conjugated linoleic acid prevents the development of essential hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 323:679-684.
- Ip C, Banni S, Angioni E, Carta G, McGinley J, Thompson HJ, Barbano D, Bauman D. (1999).** Conjugated linoleic acid-enriched butter fat alters mammary gland morphogenesis and reduces cancer risk in rats. *J. Nutr.* 29(12):2135-42.
- Ip C., Briggs S.P., Haeghele A.D., Thompson H.J., Storkson J., Scimeca J.A. (1996).** The efficacy of conjugated linoleic acid in mammary cancer prevention is independent of the level or the type of fat in the diet. *Carcinogenesis* 17(5):1045-1050.
- Ip C., Chin S.F., Scimeca J.A., Pariza M.W. (1991).** Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivative of linoleic acid. *Cancer Res.* 51:6118-6124.
- Ip C., Dong Y., Ip M.M., Banni S., Carta G., Angioni E., Murru E., Spada S., Melis M.P., Saebo A. (2002).** Conjugated linoleic acid isomers and mammary cancer prevention. *Nutr. Cancer* 43(1):52-8.
- Ip C., Ip M.M., Loftus T., Shoemaker S., Shea-Eaton W. (2000).** Induction of apoptosis by conjugated linoleic acid in cultured mammary tumor cells and premalignant lesions of the rat mammary gland. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 9(7):689-96.
- Ip C., Jiang C, Thompson HJ, Scimeca JA. (1997).** Retention of conjugated linoleic acid in the mammary gland is associated with tumor inhibition during the post-initiation phase of carcinogenesis. *Carcinogenesis* 18(4):755-759.
- Ip C, Scimeca JA and Thompson HJ. (1994).** Conjugated linoleic acid, a powerful anticarcinogen from animal fat sources. *Cancer* 74: 1050-1054.
- Ip C, Scimeca JA, Thompson HJ. (1995).** Effect of timing and duration of dietary conjugated linoleic acid on mammary cancer prevention. *Nutr. Cancer* 24:241-247.

- Ip C, Scimeca JA. (1997).** Conjugated linoleic acid and linoleic acid are distinctive modulators of mammary carcinogenesis. *Nutr. Cancer* 27(2):131-135.
- Ip C, Singh M, Thompson HJ, Scimeca JA. (1994).** Conjugated linoleic acid suppresses mammary carcinogenesis and proliferative activity of the mammary gland in the rat. *Cancer Res.* 54:1212-1215.
- Ip C. (1997).** Review of the effects of *trans* fatty acids, oleic acid, n-3 polyunsaturated fatty acids, and conjugated linoleic acid on mammary carcinogenesis in animals. *Am. J. Clin. Nutr.*, 66(6 Suppl):1523S-1529S.
- Ip C., Banni S., Angioni E., Carta G., McGinley J., Thompson H.J., Barbano D., Bauman D.E. (1999).** Conjugated linoleic acid-enriched butter fat alters mammary gland morphogenesis and reduce cancer risk in rats. *J. Nutr.*, 129, 2135-2142.
- Ip C., Scimeca J.A., Thompson H. (1995).** Effect of timing and duration of dietary conjugated linoleic acid on mammary cancer prevention. *Nutrition and Cancer*, 24, 241-247.
- Ip C., Scimeca J.A., Thompson H.J. (1994).** Conjugated linoleic acid. A powerful anticarcinogen from animal fat source. *Cancer*, 74, 1050-1054.
- Jahreis G. (1997).** Krebshemmende Fettsäuren in Milch und Rindfleisch. In: *Ernährungs-Umschau* 44 (5), 168-172.
- Jarheis G., Fritsche J., Steinhart H. (1996).** Monthly variations of milk composition with special regard to fatty acids depending on season and farm management systems - conventional *versus* ecological. *Fett/Lipid*, 98, 356-359.
- Johnson JL, Jackson CL. (2001).** Atherosclerotic plaque rupture in the apolipoprotein E knockout mouse. *Atherosclerosis* 154 : 399-406.
- Juanéda P. (2002).** Utilisation of reversed-phase high-performance liquid chromatography as an alternative to silver-ion chromatography for the separation of *cis*- and *trans*-C18:1 fatty acid isomers. *J. Chromatogr. A*, 954, 285 - 289.
- Juanéda P., Cordier O., Grégoire S., Sébédio J.-L. (2001).** Conjugated linoleic acid (CLA) isomers in heat-treated vegetable oils. *OCL*, 8, 94 - 97.
- Juanéda P., Sébédio J.-L. (1994).** Complete separation of the geometrical isomers of linolenic acid by high performance liquid chromatography with a silver ion column. *J. High Resol. Chromatogr.*, 17, 321 - 324.
- Juanéda P., Sébédio J.-L. (1999).** Combined silver-ion and reversed-phase high-performance liquid chromatography for the separation of C20 metabolites of conjugated linoleic acid isomers in rat liver lipids. *J. Chromatogr. B*, 724, 213-219.
- Juanéda P, Brac de la Périère S., Sébédio J.L. and Grégoire S. (2003).** Influence of heat and refining on formation of CLA isomers in sunflower oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 80, 937-940.
- Judd, J.T., Baer, D.J., Clevidence, B.A., Muesing, R.A., Chen, S.C., Weststrate, J.A., Meijer, G.W., Wittes, J., Lichtenstein, A.H., Vitella-Bach, M. et Schaefer, E.J. (1998).** Effects of margarine compared with those of butter on blood lipid profiles related to cardiovascular disease risk factors in normolipemic adults fed controlled diets. *Am. J. Clin. Nutr.*, 68 : 768-777.
- Judd, J.T., Clevidence, B.A., Muesing, R.A., Wittes, J., Sunkin, M.E. et Podczasy, J.J. (1994).** Dietary *trans* fatty acids : effects on plasma and lipoproteins of healthy men and women. *Am. J. Clin. Nutr.*, 59 : 861-868.
- Kamohara S, Burcelin R, Halaas JL, Friedman JM, Charron MJ (1997).** Acute stimulation of glucose metabolism in mice by leptin treatment. *Nature* 389:374-377.
- Kamphuis MM, Lejeune MP, Saris WH, Westerterp-Plantenga MS (2003).** The effect of conjugated linoleic acid supplementation after weight loss on body weight regain, body composition, and resting metabolic rate in overweight subjects. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 27:840-847.
- Kang K, Liu W, Albright KJ, Park Y, Pariza MW (2003).** *trans*-10,*cis*-12 CLA inhibits differentiation of 3T3-L1 adipocytes and decreases PPAR gamma expression. *Biochem. Biophys. Res Commun.* 303:795-799.
- Katan MB, van Staveren WA, Deurenberg P et al (1986).** *Prog. Lipid Res.* 25 : 193-195.
- Katan, M.B., Zock, P.L. et Mensink, R.P. (1995).** *Trans* fatty acids and their effects on lipoproteins in humans. *Annu. Rev. Nutr.*, 15 : 473-493.
- Kelley, D. S. and K. L. Erickson (2003).** "Modulation of body composition and immune cell functions by conjugated linoleic acid in humans and animal models: benefits vs. risks." *Lipids* 38(4): 377-86.
- Kelley, D. S., P. C. Taylor, et al. (2000).** "Dietary conjugated linoleic acid did not alter immune status in young healthy women." *Lipids* 35(10): 1065-71.

- Kelley DS, Simon VA, Taylor PC, Rudolph IL, Benito P, Nelson GJ, Mackey BE, Erickson KL, (2001).** Dietary supplementation with conjugated linoleic acid increased its concentration in human peripheral blood mononuclear cells, but did not alter their function. *Lipids*. 36 :669-674.
- Kelley DS, Taylor PC, Rudolph IL, Benito P, Nelson GJ, Mackey BE, Erickson KL, (2000).** Dietary conjugated linoleic acid did not alter immune status in young healthy women. *Lipids* 35 :1065-1071.
- Kelley DS, Warren JM, Simon VA, Bartolini G, Mackey BE, Erickson KL, (2002).** Similar effects of c9,t11-CLA and t10,c12-CLA on immune cell functions in mice. *Lipids*. 37 :725-728.
- Kelly, G.S., (2001).** Conjugated linoleic acid: a review. *Altern Med Rev.*, 6(4): p. 367-82.
- Kim KH, Park HS. (2003).** Dietary supplementation of conjugated linoleic acid reduces colon tumor incidence in DMH-treated rats by increasing apoptosis with modulation of biomarkers. *Nutrition* 19(9):772-7.
- Kohlmeier L, Simonsen N, van't Veer P, et al. (1997).** Adipose tissue *trans*-fatty acids and breast cancer in the European community multicenter study on antioxidants, myocardial infarction and breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 6, pp705-710.
- Koga T, Nonaka M, Gu JY, Sugano M, (1997).** Linoleic and alpha-linolenic acids differently modify the effects of elaidic acid on polyunsaturated fatty acid metabolism and some immune indices in rats. *Br. J. Nutr.* 77 : 645-656.
- Kohno H, Suzuki R, Noguchi R, Hosokawa M, Miyashita K, Tanaka T. (2002).** Dietary conjugated linolenic acid inhibits azoxymethane-induced colonic aberrant crypt foci in rats. *Jpn. J. Cancer Res.*, 93:133-42.
- Koletzko, B. (1992).** "Trans fatty acids may impair biosynthesis of long-chain polyunsaturates and growth in man." *Acta Paediatr* 81(4): 302-6.
- Koletzko, B., I. Thiel, et al. (1992).** "Lipids in human milk: a model for infant formulae?" *Eur. J. Clin. Nutr.* 46 (Suppl 4): S45-S55.
- Kraft J., Collomb M., Möckel P., Sieber R., Jahreis G. (2003).** Differences in CLA isomer distribution of cow's milk lipids. *Lipids*, 38, 657 - 664.
- Kramer J.K.G., Blackadar C.B., Zhou J. (2002).** Evaluation of two columns (60-m SUPELCOWAX 10 and 100-m CP Sil 88) for analysis of milkfat with emphasis on CLA, 18:1, 18:2 and 18:3 isomers, and short- and long-chain FA. *Lipids*, 37, 823 - 835.
- Kramer J.K.G., Fellner V., Dugan M.E.R., Sauer F.D., Mossoba M.M., Yurawecz M.P. (1997).** Evaluating acid and base catalysts in the methylation of milk and rumen fatty acids with a special emphasis on conjugated dienes and total *trans* fatty acids. *Lipids*, 32, 1219-1228.
- Kramer J.K.G., Sehat N., Dugan M.E.R., Mossoba M.M., Yurawecz M.P., Roach J.A.G., Eulitz K., Aalhus J.L., Schaefer A.L., Ku Y. (1998).** Distribution of conjugated linoleic acid (CLA) isomers in tissue lipid class of pigs fed a commercial CLA mixture determined by gas chromatography and silver ion-high performance liquid chromatography. *Lipids*, 33, 549-558.
- Kramer J.K.G., Zhou J. (2001).** Conjugated linoleic acid and octadecenoic acids: Extraction and isolation of lipids. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 103, 594-600.
- Kramer, J. K. G., P. W. Parodi, et al. (1998).** "Rumenic acid: A proposed common name for the major conjugated linoleic acid isomer found in natural products." *Lipids* 33(8): 835.
- Kreider RB, Ferreira MP, Greenwood M, Wilson M, Almada AL, (2002).** Effects of conjugated linoleic acid supplementation during resistance training on body composition, bone density, strength, and selected hematological markers. *J. Strength Conditioning Res.* 16 : 325-334.
- Kritchewsky D, Tepper SA, Wright S, Tso P, Czarnecki SK. (2000).** Influence of conjugated linoleic acid (CLA) on establishment and progression of atherosclerosis in rabbits. *J. Am. Coll. Nutr.* Aug;19(4) : 472S-477S.
- Kromhout, D. (1995).** Dietary saturated and *trans* fatty acids and cholesterol and 25-year mortality from coronary heart disease : the seven countries study. *Preventive Medicine*, 24 : 308-315.
- Kurata, N. and O. Privett (1980).** "Effects of dietary *trans* acids on biosynthesis of arachidonic acid in rat liver microsomes." *Lipids* 15:1029-1036.
- Kwan, K. Y., L. Y. Wang, et al. (1998).** "Inhibitory effect of linoleic acid on chain elongation and desaturation of 18:2 c,t isomers in lactating and neonatal rats." *Lipids* 33(4): 409-416.
- Lagrost L. (1992).** Differential effects of *cis* and *trans* fatty acid isomers, oleic and elaidic acids, on the cholesteryl ester transfer protein activity. *Biochim. biophys. acta*, 1124 :159-62.

- Lamarche B, Lewis GF, (1998).** Atherosclerosis prevention for the next decade : risk assessment beyond low density lipoprotein cholesterol. *Can. J. Cardiol.* 14 : 841-851.
- Lanser A.C., Emken E.A. (1988).** Comparison of FTIR and capillary gas chromatographic methods for quantitation of *trans* unsaturation of fatty acid methyl esters. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 65, 1483-1487.
- Lanser, A. C., E. A. Emken, et al. (1986).** "Oxidation of oleic and elaidic acids in rat and human heart homogenates." *Biochim Biophys Acta* 875(3): 510-5.
- Larque, E., F. Perez-Llamas, et al. (2000).** "Dietary *trans* fatty acids affect docosahexaenoic acid concentrations in plasma and liver but not brain of pregnant and fetal rats." *Pediatr Res* 47(2): 278-83.
- Laurent S, Boutouyrie P, Asmar R, Gautier I, Laloux B, Guize L, Ducimetiere P, Benetos A, (2001).** Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients. *Hypertension* 37 : 1236-1241.
- Lavillonniere F, Chajes V, Martin JC, Sebedio JL, Lhuillery C, Bougnoux P. (2003).** Dietary purified *cis-9,trans-11* conjugated linoleic acid isomer has anticarcinogenic properties in chemically induced mammary tumors in rats. *Nutr Cancer*, 45(2):190-4.
- Lavillonniere F., Martin J.-C., Bougnoux P., Sébédio J.-L. (1998).** Analysis of conjugated linoleic acid isomers and content in French cheeses. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 75, 343-352.
- Le Breton, E. and P. Lemarchal (1967).** "[Fatty acids of *trans* form in animal physiology]." *Ann Nutr Aliment* 21(1):1-23.
- Le Quéré J.-L., Sémon E. (1998).** Le couplage Chromatographie en Phase Gazeuse / Spectrométrie InfraRouge à Transformée de Fourier (CPG/IRTF) dans l'analyse des acides gras d'origine biologique. *Analisis*, 26, M40 - M44.
- Ledoux M., Chardigny J.-M., Darbois M., Soustre Y., Sébédio J.-S., Laloux L. (2003).** Variations saisonnières des taux d'acides linoléiques conjugués dans les beurres français. *Sci. Alim.*, 23, 443 - 461.
- Ledoux M., Laloux L., Sauvant D. (2000a).** Les isomères *trans* des acides gras : origine et présence dans l'alimentation. *Sci. Alim.*, 20, 393-411.
- Ledoux M., Laloux L., Wolff R.L. (2000b).** Analytical methods for determination of *trans*-C18 fatty acid isomers in milk fat. A review. *Analisis*, 28, 402-412.
- Ledoux M., Rouzeau A., Sauvant D., Bas P. (2002).** Occurrence of *trans*-C18:1 fatty acid isomers in goat milk: Effect of two dietary regimens. *J. Dairy Sci.*, 85, 190 - 197.
- Lee KN, Kritchevsky D, Pariza MW (1994).** Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis* 108:19-25.
- Lee KN, Kritchevsky D, Pariza MW. (1994).** Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis*. Jul;108(1):19-25.
- Lemaitre RN, King IB, Patterson RE, Psaty BM, Kestin M, Heckbert SR (1998).** Assessment of *trans*-fatty acid intake with a food frequency questionnaire and validation with adipose tissue levels of *trans*-fatty acids. *Am.J. Epidemiol.* Dec 1;148(11):1085-93.
- Lemarchal, P. (1966).** "Déshydrogénation de l'acide élaïdique *in vitro* par des homogénats de foie de rat." *C R Acad Sci Hebd Seances Acad Sci D* 262(7): 816-9.
- Li Y., Watkins B.A. (1998).** Conjugated linoleic acids alter bone fatty acid composition and reduce *ex vivo* prostaglandine E2 biosynthesis in rats fed n-6 or n-3 fatty acids. *Lipids*, 33, 417-425.
- Lichtenstein, A.H., Ausman, L.M., Carrasco, W., Jenner, J.L., Ordovas, J.M. et Schaefer, E.J. (1993).** Hydrogenation impairs the hypolipidemic effect of corn oil in humans. *Arterioscler. Thromb.*, 13 : 154-161.
- Liew C, Schut HA, Chin SF, Pariza MW, Dashwood RH. (1995).** Protection of conjugated linoleic acids against 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline-induced colon carcinogenesis in the F344 rat: a study of inhibitory mechanisms. *Carcinogenesis*, 16:3037-43.
- Lin H., Boylston TD, Luedecke LO, Shultz TD, (1995).** Survey of the Conjugated Linoleic Acid Contents of Dairy Products. *J. Dairy science*, 78, 2358-2365.
- Lin, X., J.J. Looor, and J.H. Herbein, (2004).** *Trans*₁₀,*cis*₁₂-18:2 is a more potent inhibitor of *de novo* fatty acid synthesis and desaturation than *cis*₉,*trans*₁₁-18:2 in the mammary gland of lactating mice. *J Nut r.* 134(6) : p. 1362-8.
- Loi, C., J. M. Chardigny, C. Cordelet, L. Leclere, M. Genty, C. Ginies, J. P. Noel and J. L. Sebedio (2000).** "Incorporation and metabolism of *trans* 20:5 in endothelial cells. Effect on prostacyclin synthesis." *Lipids* 35(8): 911-8.

- Loi, C., J. M. Chardigny, O. Berdeaux, J. M. Vatele, D. Poullain, J. P. Noel and J. L. Sebedio (1998). "Effects of three *trans* isomers of eicosapentaenoic acid on rat platelet aggregation and arachidonic acid metabolism." *Thrombosis and Haemostasis* 80(4): 656-661.
- Mahfouz M.M., Valicenti A.J., Holman R.T. (1980). Desaturation of isomeric *trans*-octadecenoic acids by rat liver microsomes. *Biochim. Biophys. Acta*, 618, 1 - 12.
- Malpuech-Brugere C, Verboeket-van de Venne WP, Mensink RP, Arnal MA, Morio B, Brandolini M, Saebo A, Lassel TS, Chardigny JM, Sebedio JL, Beaufre B (2004). Effects of two conjugated linoleic Acid isomers on body fat mass in overweight humans. *Obes. Res.* 12:591-598.
- Malpuech-Brugere, C., R. P. Mensink, *et al.* (submitted). "Contribution of postprandial *c9,t11*-CLA and *t12,c12*-CLA oxidation to lipid oxidation in healthy moderately overweight subjects." *J. Lipid Res.*
- Malpuech-Brugere, C., W. P. Verboeket-van de Venne, *et al.* (2004). "Effects of two conjugated linoleic Acid isomers on body fat mass in overweight humans." *Obes. Res.* 12(4): 591-8.
- Martin JC, Poirier H, Yvan-Charvet L, Niot I, Besnard P, Quignard-Boulangé A. Comparison of conjugated linoleic acid (CLA) effects on adiposity and lipid storage-related genes expression in wild type and in leptin deficient mice (genetically obese *ob/ob* mice). Manuscript en préparation.
- Masso-Welch PA, Zangani D, Ip C, Vaughan MM, Shoemaker S, Ramirez RA, Ip MM. (2002). Inhibition of angiogenesis by the cancer chemopreventive agent conjugated linoleic acid. *Cancer Res.* 62(15):4383-9. Erratum in: *Cancer Res* 62(19):5624.
- Masters, N., M. A. McGuire, *et al.* (2002). "Maternal supplementation with CLA decreases milk fat in humans." *Lipids* 37(2): 133-8.
- McCann SE, Ip C, Ip MM, Mcguire MK, Muti P, Edge SB, Trevisan M, Freudenheim JL. (2004). Dietary intake of conjugated linoleic acids and risk of premenopausal and postmenopausal breast cancer, western New York exposures and breast cancer study (WEB STUDY). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 13(9) :1480-4.
- McGuire MK., Park Y., Behre RA., Harrison LY., Shultz TD., McGuire MA. (1997). Conjugated linoleic acid concentrations of human milk and infant formula. *Nutrition research*, Vol 17, 8, 1277-1283.
- McKelvey W, Greenland S, Chen MJ *et al.* (1999). A case-control study of colorectal adenomatous polyps and consumption of foods containing partially hydrogenated oils. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 8, pp519-524.
- Meijer GW, van Tol A, van Berkel TJ, Weststrate JA (2001). Effect of dietary elaidic *versus* vaccenic acid on blood and liver lipids in the hamster. *Atherosclerosis*, 157:31-40.
- Mensink RP, Zock PL, Katan MB *et al.* (1992). Effect of dietary *cis* and *trans* fatty acids on serum lipoprotein (a) levels in humans. *J. Lipid Res.*, 33 : 1493-1501.
- Mensink RP, Zock PL, Kester ADM, Katan MB *et al.* (2003). Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins. *Am. J. Clin. Nutr.*, 77 : 1146-55.
- Mensink, R.P. et Katan, M.B. (1990). Effect of dietary *trans* fatty acids on high density lipoprotein cholesterol levels in healthy subjects. *N. Engl. J. Med.*, 323 : 439-445.
- Metcalfe MJ, Lip GY, Dargie HJ. (1994). Factors influencing coronary artery bypass graft patency. *Cardiovasc Surg.* Dec;2(6) : 679-85.
- Miller, A., E. McGrath, *et al.* (2003). "Vaccenic acid (*t11-18:1*) is converted to *c9,t11*-CLA in MCF-7 and SW480 cancer cells." *Lipids* 38(6): 623-32.
- Mirand, P.P., Arnal-Bagnard, M.A., Mosoni, L., Faulconnier, Y., *et al.* (2004). *Cis-9*, *trans-11* and *trans-10*, *cis-12* conjugated linoleic acid isomers do not modify body composition in adult sedentary or exercised rats. *J. Nutr.*, 134, pp.2263-9.
- Molkentin J., Precht D. (1996). Isomeric distribution and rapid determination of *trans*-octadecenoic acids in German brands of partially hydrogenated edible fats. *Nahrung*, 40, 297-304.
- Molkentin J., Precht D. (1997). Occurrence of *trans*-C16:1 acids in bovine milkfats and partially hydrogenated edible fats. *Milchwissenschaft*, 52, 380-385.
- Mossoba M.M., Adam M., Lee T. (2001a). Rapid determination of total *trans* fat content - An attenuated total reflection infrared spectroscopy International collaborative study. *J. AOAC Int.*, 84, 1144 - 1150.
- Mossoba M.M., Kramer J.K.G., Delmonte P., Yurawecz M.P., Rader J.I. (2003). Official methods for the determination of *trans* fat. AOCS Press, Champaign, Illinois.

- Mossoba M.M., Kramer J.K.G., Fritsche J., Yurawecz M.P., Eulitz K., Ku Y., Rader J.I. (2001b).** Application of standard addition to eliminate conjugated linoleic acid and other interferences in the determination of total *trans* fatty acids in selected food products by infrared spectroscopy. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 78, 631 - 634.
- Mossoba M.M., McDonald R.E., Armstrong D.J., Page S.W. (1991).** Identification of minor C18 triene and conjugated diene isomers in hydrogenated soybean oil and margarine by GC-MI-FT-IR spectroscopy. *J. Chromatogr. Sci.*, 29, 324-330.
- Mossoba M.M., McDonald R.E., Roach J.A.G., Fingerhut D.D., Yurawecz M.P., Sehat N. (1997).** Spectral confirmation of *trans* monounsaturated C18 fatty acid positional isomers. *JAOCs* 74, 125 – 130.
- Mossoba M.M., Yurawecz M.P., Kramer J.K.G., Eulitz K., Fritsche J., Sehat N., Roach J.A.G., Ku Y. (1999).** Confirmation of conjugated linoleic acid geometric isomers by capillary gas chromatography-fourier transform infrared spectroscopy. In *Advances in conjugated linoleic acid research*, vol. 1, Yurawecz M.P., Mossoba M.M., Kramer J.K.G., Pariza M.W., Nelson G.J., eds., AOCS Press, Champaign, IL, pages 141 - 151.
- Mossoba M.M., Yurawecz M.P., McDonald R.E. (1996).** Rapid determination of the total *trans* content of neat hydrogenated oils by attenuated total reflection spectroscopy. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 73, 1003 - 1009.
- Mougios V, Matsakas A, Petridou A, Ring S, Sagredos A, Melissopoulou A, Tsigilis N, Nikolaidis M (2001).** Effect of supplementation with conjugated linoleic acid on human serum lipids and body fat. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 12:585-594.
- Muller HL, Stangl GI, Kirchgessner M (1999).** Energy balance of conjugated linoleic acid-treated pigs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 81:150-156.
- Muller, H., Jordal, O., Kierulf, P., Kirkhus, B. et Pedersen, J.I. (1998).** Replacement of partially hydrogenated soybean oil by palm oil in margarine without unfavorable effects on serum lipoproteins. *Lipids*, 33 : 879-887.
- Munsch, N., C. Strouve, et al. (1969).** “[Comparative metabolism of C-14 elaidic and oleic acid in rats. I. Oxidation and retention].” *Bull Soc Chim Biol (Paris)* 51(12): 1565-74.
- Mutanen M, Aro A. (1997).** Coagulation and fibrinolysis factors in healthy subjects consuming high stearic or *trans* fatty acid diets. *Thromb Haemost.* 77:99-104.
- Nagao K, Inoue N, Wang YM, Hirata J, Shimada Y, Nagao T, Matsui T, Yanagita T (2003).** The 10*trans*,12*cis* isomer of conjugated linoleic acid suppresses the development of hypertension in Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats. *Biochem.Biophys.Res Commun.* 306:134-138.
- Naudet M. (1992).** Principaux constituants des corps gras. In *Manuels des Corps Gras*, vol. 1, Karleskind A., ed., Lavoisier Tec & Doc, Paris, pages 65 - 113.
- Nestel, P., Noakes, M., Belling, B., Mc Arthur, R., Clifton, P., Janus, E. et Abbey, M. (1992a).** Plasma lipoprotein lipid and Lp[a] changes with substitution of elaidic acid for oleic acid in the diet. *J. Lipid Res.*, 33 : 1029-1036.
- Nestel, P., Noakes, M., Belling, G.B., Mc Arthur, R., Clifton, P.M. et Abbey, M. (1992b).** Plasma cholesterol lowering potential of edible oil blends suitable for commercial use. *Am. J. Clin. Nutr.*, 55 : 46-50.
- Nicolosi RJ, Rogers EJ, Kritchevsky D, Scimeca JA, Huth PJ (1997).** Dietary conjugated linoleic acid reduces plasma lipoproteins and early aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic hamsters. *Artery* 22:266-277.
- Nicolosi RJ, Wilson TA, Rogers EJ, Kritchevsky D. (1998).** Effects of specific fatty acids (8:0, 14:0, *cis*-18:1, *trans*-18:1) on plasma lipoproteins, early atherogenic potential, and LDL oxidative properties in the hamster. *J Lipid Res.* 39 :1972-80.
- Nicolosi, R.J., Wilson, T.A., Rogers, E.J. et Kritchevsky, D. (1998).** Effects of specific fatty acids (8:0, 14:0, *cis*-18:1, *trans*-18:1) on plasma lipoproteins, early atherogenic potential, and LDL oxidative properties in the hamster. *J. Lipid Res.*, 39 : 1972-1980.
- Nikolova-Damyanova B. (1992).** Silver-ion chromatography and lipids. In *Advances in lipid methodology*, vol. 1, Christie ed., The Oily Press, Ayr, pages 181-237.
- Noakes M, Clifton PM. (1998).** Oil blends containing partially hydrogenated or interesterified fats: differential effects on plasma lipids. *Am J Clin Nutr.* Aug;68(2):242-7.
- Noone EJ, Roche HM, Nugent AP, Gibney MJ (2002).** The effect of dietary supplementation using isomeric blends of conjugated linoleic acid on lipid metabolism in healthy human subjects. *Br. J. Nutr.* 88:243-251.
- Norat T, Lukanova A, Ferrari P and Riboli E. (2002).** Meat consumption and colorectal cancer risk: dose-response meta-analysis of epidemiological studies. *Int. J. Cancer*, 98, pp241-256.

- O'Hagan, S. and A. Menzel (2003).** "A subchronic 90-day oral rat toxicity study and *in vitro* genotoxicity studies with a conjugated linoleic acid product." *Food Chem Toxicol* 41(12): 1749-60.
- Ohlogge, J. B., R. M. Gulley, et al. (1982).** "Occurrence of octadecenoic fatty acid isomers from hydrogenated fats in human tissue lipid classes." *Lipids* 17(8): 551-7.
- O'Keefe, S. F., M. Lagarde, A. Grandgirard and J. L. Sébédio (1990).** "Trans n-3 eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid isomers exhibit different inhibitory effects on arachidonic acid metabolism in human platelets compared to the respective *cis* fatty acids." *Journal of Lipid Research* 31: 1241-1246.
- Okumura T, Fujioka Y, Morimoto S, Tsuboi S, Masai M, Tsujino T, Ohyanagi M, Iwasaki T, (2002).** Eicosapentaenoic acid improves endothelial function in hypertriglyceridemic subjects despite increased lipid oxidizability. *Am. J. Med. Sci.* 324 : 247-253.
- Oomen CM, Ocke MC, Feskens EJ, van Erp-Baart MA, Kok FJ, Kromhout D. (2001).** Association between *trans* fatty acid intake and 10-year risk of coronary heart disease in the Zutphen Elderly Study: a prospective population-based study. *Lancet*, 357 : 746-51.
- O'Shea M, Devery R, Lawless F, Murphy J, Stanton C. (2000).** Milk fat conjugated linoleic acid (CLA) inhibits growth of human mammary MCF-7 cancer cells. *Anticancer Res*, 20(5B):3591-601.
- O'Shea M, Stanton C, Devery R. (1999).** Antioxidant enzyme defence responses of human MCF-7 and SW480 cancer cells to conjugated linoleic acid. *Anticancer Res*, 19(3A):1953-9.
- O'Shea M, Bassaganya-Riera J, Mohede IC, (2004).** Immunomodulatory properties of conjugated linoleic acid. *Am. J. Clin. Nutr.* 79(Suppl):1199S-1206S.
- Ostrowska E., Muralitharan M., Cross R.F., Bauman D.E., Dunshea F.R. (1999).** Dietary conjugated linoleic acids increase lean tissue and decrease fat deposition in growing pigs. *J. Nutr.*, 129, 2037-2042.
- Ovesen L., Leth T., Hansen K. (1998).** Fatty acid composition and contents of *trans* monounsaturated fatty acids in frying fats, and in margarines and shortenings marketed in Denmark. *JAOCS*, Vol 75, 9, 1079-1083.
- Pariza MW, Park Y, Cook ME (2001).** The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Progress in Lipid Research* 40:283-298.
- Park Y, Albright KJ, Liu W, Storkson JM, Cook ME, Pariza MW (1997).** Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. *Lipids* 32:853-858.
- Park Y, Albright KJ, Storkson JM, Liu W, Cook ME, Pariza MW (1999).** Changes in body composition in mice during feeding and withdrawal of conjugated linoleic acid. *Lipids* 34:243-248.
- Park Y, Storkson JM, Albright KJ, Liu W, Pariza MW (1999).** Evidence that the *trans*-10,*cis*-12 isomer of conjugated linoleic acid induces body composition changes in mice. *Lipids* 34:235-241.
- Park Y., Albright K.J., Cai Z.U., Pariza M.W. (2001).** Comparison of methylation procedures for conjugated linoleic acid and artifact formation by commercial (trimethylsilyl)diazomethane. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 1158 - 1164.
- Parodi P.W. (2003).** Conjugated Linoleic acid in food. In *Advances in Conjugated Linoleic Acid research*, vol. 2, Sébédio J.-L., Christie W.W., Adlof R.O., eds., AOCS Press, Champaign, IL, pages 101 -122.
- Parodi P.W., (1994).** Conjugated linoleic acid: An anticarcinogenic fatty acid present in milk fat. *Austral. J. Dairy Tech.* 49:93-97.
- Pathologies Cardiaques et Vasculaires, Hémostase et Thrombose, (1998).** Coordonné par JP Bourdarias, P. Cacoub et P Bierling. Collection : Traité de Médecine, P. Godeau, S. Herson, JC Piette, Flammarion Médecine-Sciences.
- Pedersen JI, Ringstad J, Almendingen K, Haugen TS, Stensvold I, Thelle DS. (2000).** Adipose tissue fatty acids and risk of myocardial infarction—a case-control study. *Eur J Clin Nutr. Aug.* ; 54(8) : 618-25.
- Perkins A.G., Smick C. (1987).** Octadecatrienoic fatty acid isomers of partially hydrogenated soybean oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 64, 1150-1155.
- Petridou A, Mougios V, Sagredos A (2003).** Supplementation with CLA: isomer incorporation into serum lipids and effect on body fat of women. *Lipids* 38:805-811.
- Pietinen P, Ascherio A, Korhonen P, Hartman AM, Willett WC, Albanes D, Virtamo J. (1997).** Intake of fatty acids and risk of coronary heart disease in a cohort of Finnish men. The Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study. *Am. J. Epidemiol.*, 145 : 876-87.

- Piperova L.S., Sampugna J., Teter B.B., Kalscheur K.F., Yurawecz 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.
- Pollard M.R., Gunstone F.D., James A.T., Morris L.J. (1980). Desaturation of positional and geometric isomers of monoenoic fatty acids by microsomal preparations from rat liver. *Lipids*, 15, 306 - 314.
- Potter JD (1995). Hormones and colon cancer, *J Natl Cancer Inst*, 87, 1039-1040.
- Poulos SP, Sisk M, Hausman DB, Azain MJ, Hausman GJ (2001). Pre- and postnatal dietary conjugated linoleic acid alters adipose development, body weight gain and body composition in Sprague-Dawley rats. *J. Nutr.* 131:2722-2731.
- Precht D. (1995). Variation of *trans* fatty acids in milk fats. *Z. Ernährungswiss*, 34, 27-29.
- Precht D., Molkentin J. (1996). Rapid analysis of the isomers of *trans*-octadecenoic acid in milk. *Int. Dairy J.*, 6, 791-809.
- Precht D., Molkentin J. (1997a). Effect of feeding on *trans* positional isomers of octadecenoic acid in milk fats. *Milchwissenschaft*, 52, 564-568.
- Precht D., Molkentin J. (1997b). *Trans*-geometrical and positional isomers of linoleic acid including conjugated linoleic acid (CLA) in German milk and vegetable fats. *Fett/Lipid*, 99, 319-326.
- Precht D., Molkentin J. (1999a). C18:1, C18:2 and C18:3 *trans* and *cis* fatty acid isomers including conjugated *cis*9,*trans*11 linoleic acid (CLA) as well as total fat composition of German human milk lipids. *Nahrung*, 43, 233-244.
- Precht D., Molkentin J. (1999b). Analysis and seasonal variation of conjugated linoleic acid and further *cis*-/*trans*-isomers of C18:1 and C18:2 in bovine milk fat. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte*, 51, 63 - 78.
- Precht D., Molkentin J. (2000a). Recent trends in the fatty acid composition of German sunflower margarines, shortenings and cooking fats with emphasis on individual C16:1, C18:1, C18:2, C18:3 and C20:1 *trans* isomers. *Nahrung*, 4, 222 - 228.
- Precht D., Molkentin J. (2000b). Identification and quantitation of *cis/trans* C16:1 and C17:1 fatty acid positional isomers in German human milk lipids by thin-layer chromatography and gas chromatography/mass spectrometry. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 102, 102 - 113.
- Precht D., Molkentin J., Vahlendieck M. (1999). Influence of the heating temperature on the fat composition of milk with emphasis on *cis*-/*trans*-isomerization. *Nahrung*, 43, 25-32.
- Privett, O. S. and L. J. Nutter (1966). "Metabolism of *trans* acids in the rat. Influence of the geometric isomers of linoleic acid on the structure of liver triglycerides and lecithins." *Journal of Nutrition* 89: 257.
- Privett, O. S., E. M. Stearns, et al. (1967). "Metabolism of the geometrical isomers of linoleic acid in the rat." *Journal of nutrition* 92: 303-310.
- Rapport AFSSA - NACRe (2003). AG alimentaires et cancers.
- Ratnayake W.M.N. (2001). Analysis of dietary *trans* fatty acids. *Journal of Oleo Science*, 50, 339 - 352.
- Ratnayake W.M.N., Chen ZY. (1996). *Trans* n-3 and n-6 fatty acids in canadian human milk. *Lipids*, Vol 31, suppl., 279-282.
- Ratnayake W.M.N., Pelletier G., Hollywood R., Bacler S., Leyle D. (1998). *Trans* fatty acids in canadian margarines: Recent trends. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 75, 1587-1594.
- Ratnayake, W.M.N., Z.Y. Chen, et al. (1994). "Occurrence of 5c,8c,11c,15t-eicosatetraenoic acid and other unusual polyunsaturated fatty acids in rats fed partially hydrogenated canola oil." *Lipids* 29(10): 707-714.
- Raulin, J., C. Loriette, et al. (1963). "Conditions d'incorporation des AG elaidises aux triglycerides de réserve du rat blanc." *Biochimica et Biophysica Acta* 70: 642.
- Redberg RF, Vogel RA, Criqui MH, Herrington DM, Lima JAC, Roman RJ, (2003). Task force #3 : What is the spectrum of current and emerging techniques for the noninvasive measurement of atherosclerosis ? *J. Am. Coll. Cardiol.* 41 : 1855-1917.
- Reddy BS, Tanaka T, Simi B. (1985). Effect of different levels of dietary *trans* fat or corn oil on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in F344 rats. *J Natl Cancer Inst*. Oct;75(4):791-8.
- Rickert R., Steinhart H., Fritsche J., Sehat N., Yurawecz M.P., Mossoba M.M., Roach J.A.G., Eulitz K., Ku Y., Kramer J.K.G. (1999). Enhanced resolution of conjugated linoleic acid isomers by tandem-column silver-ion high performance liquid chromatography. *J. High Resol. Chromatogr.*, 22, 144-148.

- Ringseis, R., D. Saal, A. Muller, H. Steinhart, and K. (2004). Eder, Dietary conjugated linoleic acids lower the triacylglycerol concentration in the milk of lactating rats and impair the growth and increase the mortality of their suckling pups. *J. Nutr.*, 134(12): p. 3327-34.
- Riserus U, Arner P, Brismar K, Vessby B (2002). Treatment with dietary *trans* 10 *cis* 12 conjugated linoleic acid causes isomer-specific insulin resistance in obese men with the metabolic syndrome. *Diabetes care* 25, pp 1516-1522.
- Riserus U, Basu S, Jovinge S, Fredrikson G, Arnlov J, Vessby B (2002). Supplementation With Conjugated Linoleic Acid Causes Isomer-Dependent Oxidative Stress and Elevated C-Reactive Protein: A Potential Link to Fatty Acid-Induced Insulin Resistance. *Circulation* 106:1925-1929.
- Riserus U, Berglund L, Vessby B (2001). Conjugated linoleic acid (CLA) reduced abdominal adipose tissue in obese middle-aged men with signs of the metabolic syndrome: a randomised controlled trial. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 25:1129-1135.
- Riserus U, Vessby B, Arner P, Zethelius B (2004). Supplementation with *trans*₁₀*cis*₁₂-conjugated linoleic acid induces hyperproinsulinaemia in obese men: close association with impaired insulin sensitivity. *Diabetologia* 47:1016-1019.
- Riserus U, Vessby B, Arnlov J, Basu S (2004). Effects of *cis*-9,*trans*-11 conjugated linoleic acid supplementation on insulin sensitivity, lipid peroxidation, and proinflammatory markers in obese men. *Am. J. Clin. Nutr.* 80:279-283.
- Risérus U., Berglund L., Vessby B. (2001). Conjugated linoleic acid (CLA) reduced abdominal adipose tissue in obese middle-aged men with signs of the metabolic syndrome: a randomised controlled trial. *Int. J. Obesity*, 25, 1129-1135.
- Riserus, U., A. Smedman, *et al.* (2003). "CLA and body weight regulation in humans." *Lipids* 38(2): 133-7.
- Riserus, U., B. Vessby, *et al.* (2004). "Supplementation with *trans*₁₀ *cis*₁₂-conjugated linoleic acid induces hyperproinsulinaemia in obese men: close association with impaired insulin sensitivity." *Diabetologia* 47(6): 1016-9.
- Riserus, U., S. Basu, *et al.* (2002). "Supplementation with conjugated linoleic acid causes isomer-dependent oxidative stress and elevated C-reactive protein." *Circulation* 106: 1925-1929.
- Roach J.A.G., Yurawecz M.P., Kramer J.K.G., Mossoba M.M., Eulitz K., Ku Y. (2000). Gas chromatography-high resolution selected-ion mass-spectrometric identification of trace 21:0 and 20:2 fatty acids eluting with conjugated linoleic acid isomers. *Lipids*, 35, 797-802.
- Roberts, T.L., Wood, D.A., Riemersma, R.A., Gallagher, P.J. et Lampe, F.C. (1995). *Trans* isomers of oleic and linoleic acid in adipose tissue and sudden cardiac death. *Lancet*, 345 : 278-282.
- Roche HM, Noone E, Sewter C, Mc BS, Savage D, Gibney MJ, O'Rahilly S, Vidal-Puig AJ (2002). Isomer-dependent metabolic effects of conjugated linoleic acid: insights from molecular markers sterol regulatory element-binding protein-1c and LXRA. *Diabetes* 51:2037-2044.
- Rocquelin, G., L. Guenot, *et al.* (1985). "Fatty acid composition of human heart phospholipids: data from 53 biopsy specimens." *J. Mol. Cell. Cardiol.* 17(8): 769-73.
- Rocquelin, G., L. Guenot, *et al.* (1989). "Phospholipid content and fatty acid composition of human heart." *Lipids* 24(9): 775-80.
- Rosenthal, M. D. and M. A. Doloresco (1984). "The effects of *trans* fatty acids on fatty acyl delta 5 desaturation by human skin fibroblasts." *Lipids* 19(11): 869-74.
- Ross R, (1993). The pathogenesis of atherosclerosis : a perspective for the 1990s. *Nature* 362 : 801-809.
- Rudich A, Kozlovsky N, Potashnik R, Bashan N (1997). Oxidant stress reduces insulin responsiveness in 3T3-L1 adipocytes. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 272:E935-E940.
- Ryder JW, Portocarrero CP, Song XM, Cui L, Yu M, Combatsiaris T, Galuska D, Bauman DE, Barbano DM, Charron MJ, Zierath JR, Houseknecht KL (2001). Isomer-specific antidiabetic properties of conjugated linoleic acid. Improved glucose tolerance, skeletal muscle insulin action, and UCP-2 gene expression. *Diabetes* 50:1149-1157.
- Sacks FM, Pfeffer MA, Moye LA, Rouleau JL, Rutherford JD, Cole TG *et al.* (1996). The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol level. *N. Engl. J. Med.* 335 : 1001-1009.
- Saintot M, Malaveille C, Hautefeuille A, Gerber M. (2003). Interaction between genetic polymorphisms of Cytochrome P450-1B1, sulfotransferase 1A1, catechol-O-methyl transferase, and tobacco exposure on breast cancer risk. *Int. J. Cancer*, 107, 652-7.

- Saintot M, Malaveille C, Hautefeuille A, Gerber M. (2004).** Interactions between genetic polymorphism of cytochrome p450-1B1 and environmental contaminants in breast cancer risk. *Eur. J. Cancer Prev.*,13, 83-6.
- Salonen JT. (2000).** Markers of oxidative damage and antioxidant protection : assessment of LDL oxidation. *Free Rad. Res.* 33 suppl, S41-S46.
- Sampietro T, Tuoni M, Ferdeghini M, Ciardi A, Maraccini P, Prontera C, Sassi G, Taddei M, Bionda A, (1997).** Plasma cholesterol regulates soluble cell adhesion molecule expression in familial hypercholesterolemia. *Circulation* 96 : 1381-1385.
- Satory, D. L. and S. B. Smith (1999).** "Conjugated linoleic acid inhibits proliferation but stimulates lipid filling of murine 3T3-L1 preadipocytes." *J. Nutr.* 129(1): 92-7.
- Schmitt B, Weill P, Legrand P, Kerhoas N, Daniel N, Ferry C (2003).** Effects of two omega 3 naturally enriched diets on diabetic and anthropometric parameters of type 2 diabetics. *Diabete/ Metabolisma Research and Reviews*, Vol 19, issue 2, S1-S14.
- Schonberg S, Krokkan HE. (1995).** The inhibitory effect of conjugated dienoic derivatives (CLA) of linoleic acid on the growth of human tumor cell lines is in part due to increased lipid peroxidation. *Anticancer Res* 15:1241-1246.
- Scimeca, J. A. (1998).** "Toxicological evaluation of dietary conjugated linoleic acid in male Fischer 344 rats." *Food and Chemical Toxicology* 36(5): 391-395.
- Sébédio J.-L., Chardigny J.-M. (1998).** Biochemistry of *trans* polyunsaturated fatty acids. In *Trans fatty acids in human nutrition*, Sébédio J.-L., Christie W.W., eds., The Oily Press, Dundee, pages 191-215.
- Sébédio J.-L., Grandgirard A., Prevost J. (1988).** Linoleic acid isomers in heat treated sunflower oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 65, 362-366.
- Sebedio, J. L., P. Juaneda, et al. (1997).** "Metabolites of conjugated isomers of linoleic acid (CLA) in the rat." *Biochimica et Biophysica Acta* 1345(1): 5-10.
- Sebedio, J. L., P. Juaneda, et al. (1999).** "Geometry of conjugated double bonds of CLA isomers in a commercial mixture and in their hepatic 20:4 metabolites." *Lipids* 34(12): 1319-25.
- Sebedio, J. L., S. H. Vermunt, et al. (2000).** "The effect of dietary *trans* alpha-linolenic acid on plasma lipids and platelet fatty acid composition: the TransLinE study." *Eur. J. Clin. Nutr.* 54(2): 104-13.
- Sedman J., Van De Voort F.R., Ismail A.A., Maes P. (1998).** Industrial validation of Fourier transform infrared *trans* and iodine value analyses of fats and oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 75, 33 - 39.
- Sehat N., Kramer J.K.G., Mossoba M.M., Yurawecz M.P., Roach J.A.G., Eulitz K., Morehouse K.M., Ku Y. (1998a).** Identification of conjugated linoleic acid isomers in cheese by gas liquid chromatography, silver ion high performance liquid chromatography and mass spectral reconstructed ion profiles. Comparison of chromatographic elution sequences. *Lipids*, 33, 963-971.
- Sehat N., Rickert R., Mossoba M.M., Kramer J.K.G., Yurawecz M.P., Roach J.A.G., Adlof R.O., Morehouse K.M., Fritsche J., Eulitz K., Steinhart H., Ku Y. (1999).** Improved separation of conjugated fatty acid methyl esters by silver ion-high performance liquid chromatography. *Lipids*, 34, 407-413.
- Sehat N., Yurawecz M.P., Roach J.A.G., Mossoba M.M., Kramer J.K.G., Ku Y. (1998b).** Silver ion high performance liquid chromatography separation and identification of conjugated linoleic acid isomers. *Lipids*, 33, 217-221.
- Selenskas SL, Ip MM, Ip C. (1984).** Similarity between *trans* fat and saturated fat in the modification of rat mammary carcinogenesis. *Cancer Res* 44(4):1321-6.
- Selinger, Z. and R. T. Holman (1965).** "The effects of *trans,trans*-linoleate upon the metabolism of linoleate and linolenate and the positional distribution of linoleate isomers in liver lecithin." *Biochimica et Biophysica Acta* 106: 56.
- Sémon E., Ferary S., Auger J., Le Quéré J.L. (1998).** Gas chromatography – Fourier Transform Infrared Spectrometry of fatty acids: new applications with a direct deposition interface. *JAOCs*, 75, 101 – 105.
- Sergiel, J. P., J. M. Chardigny, et al. (2001).** "Beta-oxidation of conjugated linoleic acid isomers and linoleic acid in rats." *Lipids* 36(12): 1327-9.
- Sgoutas, D. and F. A. Kummerow (1970).** "Incorporation of *trans*-fatty acids into tissue lipids." *Am. J. Clin. Nutr.* 23(8): 1111-9.
- Shantha N.C., Decker E.A., Henning B. (1993).** Comparison of methylation methods for the quantitation of conjugated linoleic acid isomers. *Journal of AOAC International*, 76, 644-649.

- Shantha N.C., Decker E.A., Ustunol Z. (1992).** Conjugated Linoleic Acid Concentration in Processed Cheese. *Journal Am. Oil Chem Soc.*, 69, 425-428.
- Shantha N.C., Ram L.N., O'Leary J., Hicks C.L., Decker E.A. (1995).** Conjugated linoleic acid concentrations in dairy products as affected by processing and storage. *J. Food Sci.*, 60, 695-697, 720.
- Shimp, J. L., G. Bruckner, et al. (1982).** "The effects of dietary trilinolein on fatty acid and acyl desaturases in rat liver." *Journal of Nutrition* 112: 722-735.
- Shultz TD, Chew BP, Seaman WR. (1992).** Differential stimulatory and inhibitory responses of human MCF-7 breast cancer cells to linoleic acid and conjugated linoleic acid in culture. *Anticancer Res* 12:2143-2146.
- Schofield WN, Schofield C, James WPT. (1985).** Basal metabolic rate. *Human Nutrition Clinical Nutrition*, 39C (suppl. 1) : 1-96.
- Sisk MB, Hausman DB, Martin RJ, Azain MJ. (2001).** Dietary conjugated linoleic acid reduces adiposity in lean but not obese Zucker rats. *J. Nutr.* 131:1668-1674.
- Slattery ML, Benson J, Ma KN, Potter JD (2001).** *Trans*-fatty acids and colon cancer. *Nutr. Cancer* 39, 170-175.
- Smedman A, Vessby B (2001).** Conjugated linoleic acid supplementation in humans—metabolic effects. *Lipids* 36:773-781.
- Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull Jr W et al. (1995).** A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 15 : 1512-1531.
- Stary HC, Chandler AB, Glagov S, Guyton JR, Insull Jr W, Rosenfeld ME et al, (1994).** A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 14 : 840-856.
- Stangl GI, Muller H, Kirchgessner M. (1999).** Conjugated linoleic acid effects on circulating hormones, metabolites and lipoproteins, and its proportion in fasting serum and erythrocyte membranes of swine. *Eur. J. Nutr. Dec.* ; 38(6) : 271-7.
- Stangl GI. (2000).** High dietary levels of a conjugated linoleic acid mixture alter hepatic glycerophospholipid class profile and cholesterol-carrying serum lipoproteins of rats. *J. Nutr. Biochem.* Apr;11(4):184-91.
- Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL, (1989).** Beyond cholesterol : modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N. Engl. J. Med.* 320 : 915-924.
- Steinberg D, Witztum, JL, (2002).** Is the oxidative modification hypothesis relevant to human atherosclerosis ? *Circulation* 105 : 2107-2111.
- Steinberg D., Gotto A.M. Jr. (1999).** Preventing coronary artery disease by lowering cholesterol levels : fifty years from bench to bedside. *JAMA.* : 282:2043-2050.
- Sugano M, Watanabe M, Yoshida K, Tomioka M, Miyamoto M, Kritchevsky D. (1989).** Influence of dietary *cis* and *trans* fats on DMH-induced colon tumors, steroid excretion, and eicosanoid production in rats prone to colon cancer. *Nutr. Cancer* 12(2):177-87.
- Sugano M, Tsujita A, Yamasaki M, Noguchi M, Yamada K. (1998).** Conjugated linoleic acid modulates tissue levels of chemical mediators and immunoglobulins in rats. *Lipids*, 33, pp.521-7.
- Takahashi Y, Kushiro M, Shinohara K, Ide T. (2002).** Dietary conjugated linoleic acid reduces body fat mass and affects gene expression of proteins regulating energy metabolism in mice. *Comp Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* 133:395-404.
- Tanmahasamut P, Liu J, Hendry LB, Sidell N. (2004).** Conjugated linoleic acid block estrogen signalling in human breast cancer cells. *J. Nutr.* 134:674-80.
- Taylor C Gand Zahradka P. (2004).** Dietary conjugated linoleic acid and insulin sensitivity and resistance in rodent models. *Am. J. Clin. Nutr.*, 79(suppl), pp1164S-1168S.
- Thiebaut AC, Clavel-Chapelon F. (2001).** Fat consumption and breast cancer: preliminary results from the E3N-Epic cohort. *Bull Cancer.* Oct; 88(10): 954-8.
- Thijssen, M. A. M. A., J. L. Sebedio, et al. (2004).** Effects of *trans*-10, *cis*-12 (10t,12c) and *cis*9,*trans*11 (C9T11)CLA on the plasma fatty acid profile and expression of desaturases in humans. *ISSFAL 2004*, Brighton.
- Thom E, Wadstein J, Gudmundsen O (2001).** Conjugated linoleic acid reduces body fat in healthy exercising humans. *J. Int. Med. Res* 29:392-396.

Thomas LH, Olpin SO, Scott RG *et al.* (1987). *Hum. Nutr. Food Sci. Nutr.*, 41F : 167-172.

Thomas, L.H. *et al.* Scott, R.G. (1981). Ischaemic heart disease and the proportions of hydrogenated fat and ruminant-animal fat in adipose tissue post-mortem examination : a case-control study. *J. Epidemiol. Community Health*, 35 : 251-255.

Thompson H, Zhu ZJ, Banni S, Darcy K, Loftus T, Ip C. (1997). Morphological and biochemical status of the mammary gland as influenced by conjugated linoleic acid: Implication for a reduction in mammary cancer risk. *Cancer Res* 57(22):5067-5072.

Tirosh A, Potashnik R, Bashan N, Rudich A. (1999). Oxidative Stress Disrupts Insulin-induced Cellular Redistribution of Insulin Receptor Substrate-1 and Phosphatidylinositol 3-Kinase in 3T3-L1 Adipocytes. A putative cellular mechanism for impaired protein kinase b activation and glut4 translocation. *J. Biol. Chem.* 274:10595-10602.

Torres-Duarte AP, Vanderhoek JY. (2003). Conjugated linoleic acid exhibits stimulatory and inhibitory effects on prostanoic acid production in human endothelial cells and platelets. *Biochim Biophys Acta*, 1640, 69-76.

Toschi T.G., Holt C., Christie W.W. (1993). A comparison of silver ion HPLC plus GC with Fourier-transform IR spectroscopy for the determination of *trans* double bonds in unsaturated fatty acids. *J. Sci. Food Agric.*, 61, 261-266.

Tricon S, Burdge GC, Kew S, Banerjee T, Russell JJ, Jones EL, Grimble RF, Williams CM, Yaqoob P, Calder PC (2004). Opposing effects of *cis*-9,*trans*-11 and *trans*-10,*cis*-12 conjugated linoleic acid on blood lipids in healthy humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 80:614-620.

Tricon S, Burdge GC, Kew S, Banerjee T, Russell JJ, Grimble RF, Williams CM, Calder PC, Yaqoob P, (2004). Effects of *cis*-9, *trans*-11 and *trans*-10,*cis*-12 conjugated linoleic acid on immune cell function in healthy humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 80 : 1626-1633.

Tricon S, Burdge GC, Kew S, Banerjee T, Russell JJ, Jones EL, Grimble RF, Williams CM, Yaqoob P, Calder PC. (2004). Opposing effects of *cis*-9,*trans*-11 and *trans*-10,*cis*-12 conjugated linoleic acid on blood lipids in healthy humans. *Am. J. Clin. Nutr. Sep.* ;80(3) : 614-20.

Troisi, R., Willet, W.C. *et al.* Weiss, S.T. (1992). *Trans* fatty acid intake in relation to serum lipid concentrations in adult men. *Am. J. Clin. Nutr.*, 56 : 1019-1024.

Truitt A, McNeill G, Vanderhoek JY (1999). Antiplatelet effects of conjugated linoleic acid isomers. *Biochim Biophys Acta*, 1438, 230-246.

Tsuboyama-Kasaoka N, Miyazaki H, Kasaoka S, Ezaki O. (2003). Increasing the amount of fat in a conjugated linoleic acid-supplemented diet reduces lipodystrophy in mice. *J. Nutr.* 133:1793-1799.

Tsuboyama-Kasaoka N, Takahashi M, Tanemura K, Kim HJ, Tange T, Okuyama H, Kasai M, Ikemoto S, Ezaki O. (2000). Conjugated linoleic acid supplementation reduces adipose tissue by apoptosis and develops lipodystrophy in mice. *Diabetes* 49:1534-1542.

Tsuzuki T, Igarashi M, Miyazawa T. (2004). Conjugated eicosapentaenoic acid (EPA) inhibits transplanted tumor growth via membrane lipid peroxidation in nude mice. *J Nutr* 134(5) : 1162-1166.

Tsuzuki, T., Y. Tokuyama, *et al.* (2004). "Alpha-eleostearic acid (9Z11E13E-18:3) is quickly converted to conjugated linoleic acid (9Z11E-18:2) in rats." *J. Nutr.* 134(10): 2634-9.

Turini ME, Boza JJ, Gueissaz N, Moennoz D, Montigon F, Vuichoud J, Gremaud G, Pouteau E, Pigué C, Perrin I, Verguet C, Finot PA, German B. (2003). Short-term dietary conjugated linoleic acid supplementation does not enhance the recovery of immunodepleted dexamethasone-treated rats. *Eur. J. Nutr.* 42 :171-179.

Turpeinen, A. M., M. Mutanen, *et al.* (2002). "Bioconversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in humans." *Am. J. Clin. Nutr.* 76(3): 504-10.

Ulberth F., Haider H.J. (1992). Determination of low level *trans* unsaturation in fats by Fourier transform infrared spectroscopy. *J. Food Sci.*, 57, 1444-1447.

Ulberth F., Henninger M. (1994). Quantitation of *trans* fatty acids in milk fat using spectroscopic and chromatographic methods. *J. Dairy Sci.*, 61, 517-527.

Urquhart P, Parkin SM, Rogers JS, Bosley JA, Nicolaou A. (2002). The effect of conjugated linoleic acid on arachidonic acid metabolism and eicosanoid production in human saphenous vein endothelial cells. *Biochim Biophys Acta*, 1580, 150-160.

Valeille K, Grippo D, Blouquit MF, Souidi M, Riottot M, Bouthegourd JC, Serougne C, Martin JC. (2004). Lipid atherogenic risk markers can be more favourably influenced by the *cis*-9,*trans*-11-octadecadienoate isomer than a conjugated linoleic acid mixture or fish oil in hamsters. *Br. J. Nutr.* Feb ; 91(2) : 191-9.

- van de Vijver LP, Kardinaal AF, Couet C et al. (2000).** Association between *trans* fatty acid intake and cardiovascular risk factors in Europe : the Transfair study, *Eur. J. Clin. Nutr.*, 54 : 126-135.
- Van de Vijver LP, Kardinaal AF, Couet C, Aro A, Kafatos A, Steingrimsdottir L, Amorim Cruz JA, Moreiras O, Becker W, van Amelsvoort JM, Vidal-Jessel S, Salminen I, Moschandreas J, Sigfusson N, Martins I, Carbajal A, Ytterfors A, Poppel G. (2000).** Association between *trans* fatty acid intake and cardiovascular risk factors in Europe: the TRANSFAIR study. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2000 Feb; 54(2), 126-35.
- van de Vijver LPL, van Poppel G, van Houwelingen A et al. (1996).** *Trans* unsaturated fatty acids in plasma phospholipids and coronary heart disease : a case-control study, *Atherosclerosis*, 126 : 155-161.
- Van Tol, A., Zock, P.L., Van Gent, T., Scheek, L.M. et Katan, M.B. (1995).** Dietary *trans* fatty acids increase serum cholesteryl ester transfer protein activity in man. *Atherosclerosis*, 115 : 129-134.
- Vatèle, J. M., H. D. Doan, et al. (1995).** "Synthesis of methyl (5Z,8Z,11E,14Z,17E)- and (5Z,8Z,11E,14Z,17Z)-eicosapentaenoate (EPA D11t and D11,17t)." *Chemistry and Physics of Lipids* 78: 65-70.
- Vatèle, J. M., H. D. Dong, et al. (1994).** "Synthesis of methyl (5Z,8Z,11Z,14Z,17E)-eicosapentaenoate and methyl 4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19E)-docosahexaenoate." *Chem. Phys. Lipids* 74: 185-193.
- Vermunt, S. H., B. Beaufreere, R. A. Riemersma, J. L. Sebedio, J. M. Chardigny, R. P. Mensink and E. I. a. TransLin. (2001).** "Dietary *trans* alpha-linolenic acid from deodorised rapeseed oil and plasma lipids and lipoproteins in healthy men: The transline study." *Br. J. Nutr.* 85(3): 387-92.
- Visonneau S, Cesano A, Tepper SA, Scimeca JA, Santoli D, Kritchevsky D. (1997).** Conjugated linoleic acid suppresses the growth of human breast adenocarcinoma cells in SCID mice. *Anticancer Res.* 17(2A) : 969-973.
- Voorrips LE, Brants HAM, Kardinaal AFM, et al. (2002).** Intake of conjugated linoleic acid, fat, and other fatty acids in relation to postmenopausal breast cancer: the Netherlands Cohort Study on Diet and Cancer. *Am. J. Clin. Nutr.* ; 76 : 873-882.
- Wang YW, Jones PJ. (2004).** Conjugated linoleic acid and obesity control: efficacy and mechanisms. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 28:941-955.
- Watanabe M, Koga T, Sugano M. (1985).** Influence of dietary *cis*- and *trans*-fat on 1,2-dimethylhydrazine-induced colon tumors and fecal steroid excretion in Fischer 344 rats. *Am. J. Clin. Nutr.* 42(3):475-484.
- Weggemans RM, Rudrum M, Trautwein EA. (2004).** Intake of ruminant *versus* industrial *trans* fatty acids and risk of coronary heart disease – what is the evidence? *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 106 : 390-97.
- Weldon S, Mitchell S, Kelleher D, Gibney MJ, Roche HM. (2004).** Conjugated linoleic acid and atherosclerosis: no effect on molecular markers of cholesterol homeostasis in THP-1 macrophages. *Atherosclerosis*. Jun ; 174(2) : 261-73.
- Werner S.A., Luedecke L.O., Shultz T.D. (1992).** Determination of conjugated linoleic acid content and isomer distribution in three cheddar-type cheeses : effects of cheese cultures, processing and aging. *J. Agric. Food Chem.*, 40, 1817-1821.
- West DB, DeLany JP, Camet PM, Blohm F, Truett AA, Scimeca J (1998).** Effects of conjugated linoleic acid on body fat and energy metabolism in the mouse. *Am. J. Physiol.* 275:R667-R672,
- Whigham LD, Higbee A, Bjorling DE, Park Y, Pariza MW, Cook ME. (2002).** Decreased antigen-induced eicosanoid release in conjugated linoleic acid-fed guinea pigs. *Am. J. Physiol.*, 282, R1104-1112.
- Whigham, L. D., M. O'Shea, et al. (2004).** "Safety profile of conjugated linoleic acid in a 12-month trial in obese humans." *Food Chem. Toxicol.* 42(10): 1701-9.
- White Book (2000).** The antioxidants in tomatoes and tomato products and their health benefits. European network FAIR CT 97 32 33, Avignon, France, Amito
- Willett, W.C., Stampfer, M.J., Manson, J.E., Colditz, G.A., Speizer, F.E., Rosner, B.A., Sampson, L.A. et Hennekens, C.H. (1993).** Intake of *trans* fatty acids and risk of coronary heart disease among women. *Lancet*, 341 : 581-585.
- Wilson PW, Anderson KM, Castelli WP. (1991).** Twelve-year incidence of coronary heart disease in middle-aged adults during the era of hypertensive therapy: the Framingham offspring study. *Am. J. Med.* 90 :11-16.
- Wilson TA, Ausman LM, Lawton CW, Hegsted DM, Nicolosi RJ. (2000).** Comparative cholesterol lowering properties of vegetable oils: beyond fatty acids. *J. Am. Coll. Nutr.* Oct ; 19(5) : 601-7.
- Wolff R.L, Precht D., Molkentin J. (1998).** Occurrence and distribution profiles of *trans*-18:1 acids in edible fats of natural origin, in *Trans fatty acids in human nutrition*, Chapter 1, Sébédio JL et al, 1-33.

- Wolff R.L. (1992).** Resolution of linolenic acid geometrical isomers by Gas-Liquid Chromatography on the capillary column coated with a 100% cyanopropyl polysiloxane film (CPTMSil 88). *J. Chromatogr. Sci.*, 30, 17-22.
- Wolff R.L. (1993a).** Heat-induced geometrical isomerization of linoleic acid : effect of temperature and heating time on the appearance of individual isomers. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 70, 425-430.
- Wolff R.L. (1993b).** Occurrence of artificial *trans*-polyunsaturated fatty acids in refined (deodorizer) walnut oils. *Sci. Alim.*, 13, 155-163.
- Wolff R.L. (1993c).** Further studies on artificial geometrical isomers of alpha-linolenic acid in edible linolenic acid-containing oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 70, 219-224.
- Wolff R.L. (1994a).** Les isomeres 18:1 *trans* dans l'alimentation des Européens. *OCL*, 1, 209-218.
- Wolff R.L. (1994b).** Contribution of *trans*-18:1 acids from dairy fat to European diets. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 71, 277-283.
- Wolff R.L. (1995a).** Ubiquité et caractéristiques des isomeres *trans* de l'acide linoléique : une revue. *OCL*, 2, 391-400.
- Wolff R.L. (1995b).** Content and distribution of *trans*-18:1 acids in ruminant milk and meat fats. Their importance in European diets and their effect on human milk. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 72, 259-272.
- Wolff R.L., Bayard C.C., Fabien R.J. (1995).** Evaluation of sequential methods for the determination of butterfat fatty acid composition with emphasis on *trans*-18:1 acids. Application to the study of seasonal variations in French butter. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 72, 1471-1483.
- Wolff R.L., Combe N.A., Destailats F., Boué C., Precht D., Molkentin J., Entressangles B. (2000).** Follow-up of the D4 to D16 *trans*-18:1 isomer profile and content in French Processed foods containing partially hydrogenated vegetable oils during the period 1995-1999. Analytical and nutritional implications. *Lipids*, 35, 815-825.
- Wolff R.L., Combe N.A., Precht D., Molkentin J., Ratnayake W.M.N. (1998).** Accurate determination of *trans*-18:1 isomers by capillary gas-liquid chromatography on cyanoalkyl polysiloxane stationary phases. *OCL*, 5, 295 - 300.
- Wolff R.L., Sébédio J.-L. (1991).** Geometrical isomers of linolenic acid in low-calories spreads marketed in France. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68, 719-725.
- Wolff R.L., Sébédio J.-L. (1994).** Characterisation of gamma-linolenic acid geometrical isomers in borage oil subjected to heat treatments (deodorization). *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 71, 117-126.
- Wolff, R. L., N. A. Combe, et al. (1993).** "Preferential incorporation of dietary *cis*-9,*cis*-12,*trans*-15 18:3 acid into rat cardiolipins." *Biochimica et Biophysica Acta* 1168: 285-291.
- Wood R. (1979).** "Incorporation of dietary *cis* and *trans* octadecenoate isomers in the lipid classes of various rat tissues." *Lipids* 14(12): 975-82.
- Wood, R., Kubena, B., Tseng, S. et Martin, G. (1993).** Effect of butter, mono and polyunsaturated fatty acid enriched butter, *trans* fatty acid margarine, and zero *trans* fatty acid margarine on serum lipids and lipoproteins in healthy men. *J. Lipid Res.*, 34 : 1-11.
- Woollet T, L.A., Daumerie, C.M. et Dietschy, J.M. (1994).** *Trans*-9-octadecenoic acid is biologically neutral and does not regulate the low density lipoprotein receptor as the *cis* isomer does in the hamster. *J. Lipid Res.*, 35 : 1661-1673.
- World Health Statistics Annual 1997-1999.**
- Yamasaki M., Mansho K., Ogino Y., Kasai M., Tachibana H., Yamada K. (2000).** Acute reduction of serum leptin level by dietary conjugated linoleic acid in Sprague-Dawley rats. *J. Nutr. Biochem.* 11:467-471
- Yamasaki M., Kishihara K., Ikeda I., Sugano M., Yamada K. (1999).** A recommended esterification method for gas chromatographic measurement of conjugated linoleic acid. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 76, 933-938.
- Yamasaki M., Chujo H., Hirao A., Koyanagi N., Okamoto T., Tojo N., Oishi A., Iwata T., Yamauchi-Sato Y., Yamamoto T., Tsutsumi K., Tachibana H., Yamada K. (2003).** Immunoglobulin and cytokine production from spleen lymphocytes is modulated in C57BL/6J mice by dietary *cis*-9, *trans*-11 and *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid. *J. Nutr.* 133 :784-788.
- Yu Y, Correll PH, Vanden Heuvel JP, (2002).** Conjugated linoleic acid decreases production of pro-inflammatory products in macrophages: evidence for a PPAR gamma-dependent mechanism. *Biochim. Biophys. Acta* 1581 :89-99.
- Yurawecz M.P., Delmonte P, Vogel T., Kramer J.K.G. (2003).** Oxidation of conjugated linoleic acid: initiators and simultaneous reactions: theory and practice. In *Advances in conjugated linoleic acid research*, vol. 2, Sébédio J.-L., Christie W.W., Adlof R.O., eds., AOCS Press, Champaign, IL, pages 56 - 70.

Yurawecz M.P., Hood J.K., Roach J.A.G., Mossoba M.M., Daniels D.H., Ku Y., Pariza M.W., Chin S.F. (1994). Conversion of allylic hydroxy oleate to conjugated linoleic acid and methoxy oleate by acid-catalyzed methylation procedures. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 71, 1149-1155.

Yurawecz M.P., Roach J.A.G., Sehat N., Mossoba M.M., Kramer J.K.G., Fritsche J., Steinhart H., Ku Y. (1998). A new conjugated linoleic acid isomer, 7-*trans*, 9-*cis* octadecadienoic acid, in cow milk, cheese, beef and human milk and adipose tissue. *Lipids*, 33, 803-809.

Zambell K.L., Horn W.F., Keim N.L. (2001). Conjugated linoleic acid supplementation in humans: Effects on fatty acid and glycerol kinetics. *Lipids*, 36, 767 - 772.

Zambell KL, Keim NL, Van Loan MD, Gale B, Benito P, Kelley DS, Nelson GJ (2000). Conjugated linoleic acid supplementation in humans: effects on body composition and energy expenditure. *Lipids* 35:777-782.

Zock, P.L. et Katan, M.B. (1992). Hydrogenation alternatives : effects of *trans* fatty acids and stéaric acid *versus* linoleic acid on serum lipids and lipoproteins in human. *J. Lipid Res.*, 33 : 399-410.

Zock, P.L. et Katan, M.B. (1997). Butter, margarine and serum lipoproteins. *Atherosclerosis*, 131 : 7-16.

Zu HX, Schut HAJ. (1992). Inhibition of 2-amino-3-methylimidazole(4,5-f)quinoline-DNA adduct formation in CDFI mice by heat altered derivatives of conjugated linoleic acid. *Food Chemistry and Toxicology* 30:9-16.



AGENCE FRANÇAISE
DE SÉCURITÉ SANITAIRE
DES ALIMENTS

***Health risks and benefits of trans fatty acids in food -
Recommendations***

- September 2005 -

> Sommaire

A. Introduction

Ninety-five percent of food lipids are triglycerides (or triacylglycerols), whereas 95% of triglycerides consist of fatty acids (FAs). After ingestion, triglycerides are hydrolysed and their digestive products are then absorbed by enterocytes which export them as triacylglycerols in blood lipoproteins. Lipoprotein-triglyceride fatty acids are released by lipoprotein lipase and enter the cells of different tissues (fat, hepatic, muscle, etc.). They have numerous roles which are often essential. It is now established that they are not only energy suppliers and structural elements building the matrix of biological membranes, but also – themselves, their esters or their metabolites – modulators of the cell signalling and of the expression of a number of genes.

Fatty acids are organic molecules consisting of a carbon chain with a carboxyl group at one end and a methyl group at the other. This carbon chain does not contain any double bond in the case of saturated fatty acids (SFAs), or contains one or several double bond(s), in the cases of monounsaturated fatty acids (MUFAs) or polyunsaturated fatty acids (PUFAs).

There are two important series of PUFAs: the n-6 (or omega 6) series and the n-3 (or omega 3) series which have their first double bond on the C6 and C3, respectively, numbered from the methyl end. The precursors of the omega 6 and omega 3 series – linoleic acid (LA, 18:2 n-6) and alpha-linolenic acid (ALA, 18:3 n-3) – are called “essential fatty acids” as they can not be synthesised in animals and therefore have to be obtained from food. Through successive elongation and desaturation steps, these fatty acids are bioconverted into fatty acids with longer and more unsaturated chains that are abundantly present in the body.

Unsaturated fatty acids in food generally contain cis-configured double bonds. However, a very small proportion of them have at least one trans double bond. Often called more simply trans fatty acids (trans FAs), they result from various origins: natural, industrial and household.

This report aims to review the current knowledge on dietary trans FAs with regard to health. It will take into account all trans FAs, regardless of their origin or structure. This leads to assume that the analytical problems are solved, the reason for which they will be examined here carefully. In particular, the quality of the consumption data depends on the quality of the analysis. Recent results, often still unpublished, are of particular interest as they give a better insight into foods contributing to trans-FA consumption. Given that this report should help raising the public health, several chapters will be devoted to the influence of trans FAs on diseases whose prevalence are well-known: obesity, cardiovascular diseases, and cancer. Finally, proposals (recommendations, precautions, etc.) will be able to be formulated with a view to preventing consumption levels that are harmful to health.

B. General context

Food trans FAs of natural origin mainly result from biohydrogenation by ruminants. Vaccenic acid (18:1 11t) is the most abundant. Food trans FAs of technological origin are produced during processes such as (1) partial hydrogenation leading to fats displaying particular physical properties, and (2) deodorisation, which is one of the oil refining stages. Among these trans FAs, elaidic acid (18:1 9t) is generally present in highest amounts. Regarding the conjugated linoleic acid isomers (CLAs), the 10-trans,12-cis CLA is present in trace amounts in trans FAs of natural origin, unlike the 9-cis,11-trans CLA, or rumenic acid. This last one is produced by ruminants and found particularly in dairy fat where it is incomparably higher than the 10-trans,12-cis CLA. However, the 10-trans,12-cis CLA and the 9-cis,11-trans CLA are present in about equal proportions in commercial preparations. This chemically-produced mixture is used in particular for dietary supplementation.

Competent authorities in the United States, Canada and Denmark have put forward “regulatory” definitions of trans FAs. In 2002, the Food and Nutrition Board of the Institute of Medicine in the United States included all fatty acids containing at least one double bond in the trans configuration in its definition, including explicitly CLAs. In 2003, the Food and Drug Administration (FDA) in the United States, the Canadian Government and the Danish Nutrition Council included all monounsaturated trans FAs and all polyunsaturated trans FAs with non-conjugated or isolated double bonds (United States, Canada), or “methylene interrupted” double bonds (Denmark) in their definition. This amounted to exclude trans polyunsaturated FAs with “nonmethylene interrupted” double bonds (in particular

conjugated trans polyunsaturated FAs), mainly represented by CLAs. Mention will be made hereafter of the order adopted by the Danish authorities concerning the maximum content of trans FAs in foods, which restricts more deeply the notion of trans FAs.

The 26th Session of the Codex Committee on Nutrition and Foods for Special Dietary Uses (CCNFSDU) was held in November 2004. The Committee adopted the following definition of trans FAs: "For the purpose of the Codex Guidelines on Nutrition Labelling and other related Codex Standards and Directives, trans fatty acids are defined as all the geometrical isomers of monounsaturated and polyunsaturated fatty acids having non-conjugated interrupted by at least one methylene group (-CH₂-CH₂-) carbon-carbon double bonds in the trans configuration". This definition thus excludes trans polyunsaturated FAs with "nonmethylene interrupted" double bonds. Moreover, "one methylene group (-CH₂-CH₂-)" is chemically inappropriate and should be better formulated: "one methylene group (-CH₂-)".

On March 31, 2003, the Danish authorities decided to adopt regulations, taking effect on June 1st, 2003, aiming to limit the total-lipid trans FAs present in food on sale to consumers to an upper level of 2%. The trans FAs considered in the order are of industrial origin only. The order excludes natural trans FAs and CLAs. This decision restricts de facto the definition of trans FAs adopted by the same Danish authorities, which includes trans MUFAs, and thus natural MUFAs. Further to this decision, and noting that it gave rise to comments from Member States revealing different views, the European Commission referred to the European Food Safety Authority (EFSA) (EFSA-Q-2003-022) the issue of "the presence of trans FAs in foods and on the effect on human health of the consumption of trans FAs". EFSA was requested:

- To take account of all the trans FAs present in food, including the ingredients of food products, both those that are naturally present and those occurring as a result of manufacturing processes, such as hydrogenation of oils;
- To advise – whether the evidence indicates any health effects of trans FAs – whether the effects, if any, differ according to the food source, and whether these effects also differ from those of other types of fatty acids;
- To advise, if there are effects on health, whether the effects are associated with a specific level of intake of trans FAs in the context of a normal diet";
- And also to "advise if there are any methods of analysis that can distinguish between trans FAs which are naturally present in fats and those formed during the processing of fats, oils or foods".

EFSA informed the Commission of its response in July 2004. It emphasised the positive relationship between the consumption of trans FAs and cardiovascular risk. It noted that this relationship was not established for other highly prevalent diseases. It also noted that the consumption of trans FAs has to be compared to that of saturated FAs which is considerably higher than that of trans FAs, is also associated with an increased cardiovascular risk and should be examined country by country, as differences of consumption between countries are wide, especially across European countries. It noted finally that trans FA consumption has nonetheless decreased over recent years, due to the improvement of processing in particular. It regretted the absence of epidemiological data on natural trans FAs, stressed the absence of consistent data on the properties of CLAs of synthetic origin and, lastly, it believed and underlined that there are currently no reliable methods of analysis which enable natural trans FAs to be distinguished from those formed during industrial processes.

C. Review scope

1. Review of the working group

This takes place in the general framework of ongoing discussions at the international and European levels, i.e. (respectively):

- Within the Codex alimentarius (Labelling and Nutrition Committees);
- Within the European Commission as part of the revision of the Labelling Directive EC/90/496 and the aforementioned EFSA request.

It was initiated on the Afssa request from the General Directorate for Fair Trading, Consumer Affairs and Fraud Control (DGCCRF).

This request consists in a technical support regarding the nutritional-labelling regulation. The main issue raised is the relevance of "indication of the content of trans FAs" within the foodstuffs labelling and Afssa was therefore requested to specifically consider the following aspects:

- Definition and nature of trans FAs
- Source of trans FAs in food

- Content of trans FAs in food products
- Influence of processing or storage on the production of trans FAs
- Level of consumption in France and other European countries
- Impact on the health of consumers
- Information for consumers on the presence of trans FAs in food products

2. Mandate of the working group

This was formulated with regard to the Afssa request from the DGCCRF and the EFSA request from the European Commission. Accordingly, the working group was asked to achieve the following objectives:

- to assess the properties of all types of trans fatty acids present in food and their health effects; it has been expressly notified that assessment was extended to cover conjugated linoleic acid isomers (CLAs).
- to put forward proposals in terms of recommendations, even regulations, if there are scientific data in support of them.

The opinion of the working group, validated by the Afssa human-nutrition specialized expert-committee, would aim to represent the French contribution to the review currently launched by the European Commission.

D. Themes of the working group's review

These are as follows:

- to give a definition of different trans FAs, their source and their nature in food: trans FAs that are naturally present in food; trans FAs generated by manufacturing processes (partial hydrogenation of oils, for example); trans FAs present in commercial preparations;
- to assess the trans FA contents in foods;
- to inform about the consumption of these FAs, to update, if possible, the data in the French population, and to review what is known about this topic in different European countries;
- to examine the methods of analysis, if any, that enable natural trans FAs to be distinguished from those arising from technological processes;
- to assess the influence of processing or storage on the presence of trans FAs in foods;
- to review the health effects and mechanisms of action of trans FAs, with particular attention, if proved, on the differences which would be associated with the nature or origin of these FAs. This could include a comparison with other FAs (saturated FAs, for example);
- to set up any recommendations in terms of consumption levels based on this knowledge, taking into account the food sources of trans FAs as well as the overall food context in the French population and possibly other European countries;
- to weigh up the opportunity to inform consumers about the presence of trans FAs in a food or foodstuff, and, if this information is to be provided, the opportunity to consider the nature of these FAs and the food category in which they are found.

E. Work methodology

With the view to organise the Working Group Review, sub-groups (SG) were created, chaired by coordinators:

- SG-1: Definition, origins and methods of analysis (M. Ledoux, coordinator, P. Juanéda and J-L Sébédio)
- SG-2: Consumption and composition of foods (L. Laloux, coordinator, L. Lafay, L. Du Chaffaut and L. Razanamahefa)
- SG-3: Metabolism and toxicity (J-M. Chardigny, coordinator, P. Clouet, B. Schmitt, N. Combe and A. Quignard-Boulangé)
- SG-4: Overweight, obesity and metabolic syndrome (A. Quignard-Boulangé, coordinator, B. Schmitt and P. Clouet).
- SG-5: Cardiovascular diseases (N. Combe, coordinator, P. Clouet, J-M Chardigny, M. Lagarde and C.L. Léger)
- SG-6 Cancers (P. Bougnoux and M. Gerber)

The chapters of this report will follow the order in which these sub-groups are presented.

General conclusions and recommendations

A. Proposed regulatory definition of trans FAs

The regulatory definition of trans fatty acids put forward by the working group is based, on the one hand, on the Afssa request from the DGCCRF and takes into account, on the other hand, the current state of knowledge concerning all trans FAs.

- Considering that the regulatory definitions of trans FAs adopted by different countries to date (USA, Canada, Denmark) restrict the chemical definition of trans fatty acids,
- Considering that these definitions exclude *de facto* trans FAs with conjugated double bonds (particularly conjugated linoleic acid isomers or CLAs),
- Considering that trans FAs of natural origin (for example vaccenic acid, 18:1 n7t, or a CLA isomer, rumenic acid 18:2 9c,11t) can be generated industrially (by food processing),
- Considering that trans FAs produced industrially (either by organic synthesis, as it is the case for the CLA isomer rumenic acid, 18:2 9c,11t, and octadecadienoic acid 18:2 10t,12c ; or by food processing, for elaidic acid 18:1 9t), may be of natural origin,
- Considering therefore that origin and structure of trans FAs are not closely linked and that, for that reason, regulations relating to food trans FAs can not be based either on the origin or on the structure of these FAs,
- Considering that all trans FAs, regardless of the absolute or relative positions of the trans double bond(s) in the carbon chain, have to be considered potentially as being biologically active,

The working group adopts the following regulatory definition: trans fatty acids are all monounsaturated and polyunsaturated fatty acids having at least one double bond in a trans configuration. This is the chemical definition of trans fatty acids.

This definition involves no restriction, whether it is based on the notion of the absolute or relative position of the double bond(s) or on the notion of the origin of fatty acids.

Analytical implications

The consequence of this definition is to clearly raise the important questions of analysis and monitoring. It shall lead to realistic recommendations taking into account analytical qualities: robustness, reproducibility, accuracy and practicability, as well as analysis expensiveness. It potentially justifies the launching of new research programmes on fatty acid analysis and monitoring to meet the analytical needs that it may generate. Within the framework of this report, proposals have been made aiming to be applied immediately and to improve existing methods.

B. Key points of the report

a. Consumption data in France

An original part of this report has consisted in collecting food composition data from recent different programmes and combining them with those obtained from an INCA food survey in order to provide information on the consumption of trans FAs in France. The results were as follows:

For total trans FAs:

- The average daily intake was 3.20 g/d for men, 2.8 g/d for women, amounting to 1.3% of the total energy intake (TEI).
- On average, it accounted for 3% of the lipid intake.

- For the strong consumers (i.e. 5 % of the population having the highest trans FA consumption), the intake was two times higher: almost 6 g/d for men, and 5 g/d for women (or 2% of the TEI).
- Consumers with the highest consumption of total trans FAs were 12-14 year-old male children with an average intake of 3.5 g/d, among which the strongest consumers exhibited an intake level of almost 8 g/d, i.e. 2.5% of the TEI. All male children – i.e. 3-14 year-old – had a total trans FA intake of 2.25% of the TEI. These values were similar to the average consumption in the United States.
- The main contributing foods were dairy products: their contribution amounted to 53% of the total trans FA intake in adults (45% in children). The contribution from all animal products was 60%.
- Manufactured pastries and biscuits were the second highest contributing foods: their contribution amounted to 18% of the total trans FA intake in adults (almost 30% in children).

For total monounsaturated trans FAs, 18:1trans

- Among them the largest ones were the 18:1 n7, mainly found in the products of animal origin, and the 18:1 n6 and 18:1 n7, found in the products of technological origin.
- The average daily intake was 2.2 g/d for men, 1.9 g/d for women, i.e. amounting to 0.9% of the TEI.
- On average, it accounted for 2% of the lipid intakes, i.e. about 70% of total trans FAs.
- For the strongest consumers (i.e. 5% of the population having the highest 18:1trans consumption), the intake was around twice as high.
- As for total trans FAs, the category of age with the highest consumption was that of 12-14 year-old male children, with an average intake of 2.5 g/d, among which the heavy consumers exhibited an intake level of 6.6 g/d, i.e. 2% of the TEI.
- The 18:1 n7 accounted for 30 to 50% of total 18:1trans

For non-conjugated diene trans FAs with 18 carbons (18:2 trans excluding CLAs)

- The average daily intake was 0.22 g/d for men, and 0.18 g/d for women, amounting to 0.09% of the TEI.
- The total 18:2 trans, excluding CLAs, accounted for about 0.2% of the lipid intake. For the heavy consumers (5% of the population having the highest 18:2trans consumption), the intake was around twice as high as the average intake.
- As for the previous FAs, the category of age with the highest consumption was that of 12-14 year-old male children, with an average intake of 0.23 g/d, among which the heavy consumers exhibited an intake level of 0.45 g/d, i.e. 0.14% of the TEI.
- The main contributing foods were butter and dairy products.

For conjugated diene trans FAs with 18 carbons (conjugated linoleic acid isomers or CLAs)

- The average daily intake was 0.2 g/d for men, 0.17 g/d for women, amounting to 0.08% of the TEI.
- CLAs accounted for around 0.2% of the lipid intake.
- For the heavy consumers (5% of the population having the highest CLA consumption), the intake was around twice as high as the average one.
- The category of ages with the highest consumption was again that of 12-14 year-old male children, with an average intake of 0.21 g/d, among which the heavy consumers exhibited an intake level of 0.43 g/d, i.e. 0.13% of the TEI, data close to that of adults,
- Butter and dairy products were the main contributing foods, but manufactured pastries were the second highest contributing foods for children.

In France, total trans FAs accounted for an average of 3% of the lipid intakes (1.3% of the TEI), monounsaturated trans FAs 2%, and vaccenic acid (a monounsaturated trans) around 1%. The CLA intake – among them a major part (more than 90%) was rumenic acid – accounted for less than a tenth of the total trans FA intake. The results showed that consumption of saturated FAs correlates both with consumption of total trans FAs and that of CLAs.

Food of animal origin (dairy products and meat from ruminants) were the main contributing foods of total trans FAs, accounting for 60% of the identified trans FAs. Dairy products were the main contributing foods of total CLAs, accounting for 70% of the identified CLAs. In other words, manufactured pastries, biscuits, cooked meals and chocolate bars accounted for 40% of total trans FAs and 30% of CLAs. The category of the the population with the highest consumption of these foods – whose consumption of total trans FAs was also the highest one (2.25% of the TEI) – was that of 3-14 year-old male children. This consumption culminated in the 12-14 year-old male children (2.5% of the TEI).

These results show that trans FA consumption in France was higher than that previously estimated (i.e. around 2.5g/d). Although data were not strictly comparable for analytical reasons, this consumption remained lower than in North America. In Europe, it is lower than in the Netherlands, similar to that in Germany and higher than in Spain. Products of animal origin were the main source of food trans FAs in France, while they are a minor source in North America. It is interesting to keep in mind that, in Europe, animal products are a major source of trans FAs in the South, but a minor source in the North.

b. Consequences of trans FA consumption

This report presents the studies on the metabolism and toxicity of trans FAs, as well as on the role they play in immunity and various pathological status: obesity, metabolic syndrome, cardiovascular disease and cancer.

Metabolism

Trans FAs enter the metabolic pathways of bioconversion, oxidation and lipid storage, as well as blood lipids and membrane phospholipids. On the other hand, the polyunsaturated fatty acid metabolic-pathways are affected by trans FAs. The conversion rate of vaccenic acid into rumenic acid (a CLA isomer) would be around 20% in humans.

The transport of CLAs in plasma is similar to that of other trans FAs and the presence of CLAs in tissues clearly indicates that a cell uptake exists. CLAs generally inhibit the cell synthesis of eicosanoids. All trans FAs cross the placental barrier. After crossing placenta, CLAs seem to be more concentrated in the foetal plasma than in the maternal plasma.

Toxicity

Few toxicological studies, in the stricto sensu meaning, have been carried out on trans FAs. Those that have been published focus on the chemically-produced mixture of about equal proportions of two CLA isomers: 9c,11t CLA and 10t,12c CLA. For 3 to 6 g/d, this mixture had no effect on parameters that are usually measured in toxicology.

However, effects considered detrimental to health have been observed in humans and animals, i.e. increased lipid peroxidations and increased thymus weight (other effects related to insulin resistance, metabolic syndrome as well as those on plasma cholesterol and lipoprotein profile are mentioned hereafter).

Although some observations are not related with toxicity stricto sensu, it turns out that elaidic acid and CLAs can have negative effects on the birthweight of newborns. Ingestion of 1.5g/d of the chemically-produced mixture of CLAs in breast-feeding women has proved to be able to decrease the milk fat content. In contrast, a recent study shows that the 9c,11t CLA naturally present in cheese did not affect the fat content of human milk.

Much more informative studies on toxicity are necessary, taking into account in particular the effects of each CLA isomer.

Immunity

There have been few and inconsistent studies on immune response. They have focused on elaidic acid (only one study) and the chemically-produced mixture of 9c,11t CLA and 10t,12c CLA. They did not find any favourable or unfavourable effects. It was all the more expected since the pathophysiological status of subjects played a key role in assessing the effect. A recent result has suggested that the 9c,11t CLA did not show any effect on immunity.

Overweight and obesity

The chemically-produced mixture of 9c,11t CLA and 18:2 10t,12c CLA has proved to be able to favourably modify the body composition in an animal model such as mice (leading to a reduction of body fat and an increase in lean body mass), which has been assumed to be an anti-obesity effect. Thus, the mechanisms of oxidation and storage after CLA intake have been studied in more detail. In humans, current data have shown that there was no consensus on the reduction of the body fat induced by this mixture. Evidence for a decreased body-fat has not been provided in subjects of normal weight, whereas there has been some evidence of such an effect in overweight or obese subjects. When it occurs, the anti-obesity effect has been attributed to 10t,12c CLA (9c,11t CLA has not exhibited this effect). The required doses have been found to range from 1.7 g/d to 6.8 g/d for the chemically-produced CLA mixture and to be 2.6 g/d for the 10t,12c CLA. In any case, it should be noticed that CLAs have shown a weak effect, even after 1 year of treatment. The fact that the effects have been weaker in humans than in other species may be due not only to interspecific differences, but also to the dietary lipid intakes which are much higher in human than in animals.

Metabolic syndrome

In obese or overweight humans, it has been shown that insulinemia is not affected by the reduction in body fat due to CLAs. However, several studies have established that a 2.6 g/d intake of the 10t,12c CLA increased insulin resistance, whereas one study, with a similar intake (2.5 g/d), has shown that the 9c,11t CLA had the same effect. They suggest that consuming the mixture, or each isomer separately, has no beneficial effect on insulin resistance in obese people, and could even be harmful at a consumption level of about 2.5g/d. Although no studies have shown hepatic damage in humans with the mixture or each isomer separately, it is necessary to take into account the adverse hepatic effects (steatosis) of the 10t,12c CLA in animals, even if they occurred at a high dose (0.5g/d/kg of body weight). In addition to these hepatic effects, lipotrophic extrahepatic effects have also been observed. These may be explained by different mechanisms, with a special reference to PPAR α whose expression was increased in the liver and deeply depressed in adipose tissue. Taken together, these results lead to consider the consumption of 10t,12c CLA with caution.

It has been suggested that the hepatic metabolism could be perturbed in people combining a hypolipidic diet with an intake of the 10t,12c CLA.

Lastly, one study has shown that the 10t,12c CLA exerted a depressive effect on HDL-C, unlike the 9c,11t CLA. Accordingly, such a depressive effect observed with the mixture in several studies could be attributed to the 10t,12c CLA.

In summary, no study leads to consider that these conjugated linoleic acid isomers improve components of the metabolic syndrome. A well-founded question is to wonder whether the administration of the 10t,12c CLA aggravates them or not.

Cardiovascular diseases

The link between cardiovascular risk and consumption of trans FAs has long been studied. The epidemiological studies have been mainly based on the follow up of four cohorts. These are the Nurses' Health Study (NHS), the Health Professionals Follow up Study (HPFS), the Alpha-tocopherol, Beta-carotene, Cancer Prevention Study (ATBC) and the Zutphen Study, which all enabled to state that there is a significant link between trans FA consumption and cardiovascular risk. They suggested that there was a dose-dependent increase in risk over a large range of intake, from 1.3 g/d to 16.1 g/d. They showed that a daily intake of trans FAs higher than 2% of the TEI significantly increased the incidence of cardiovascular diseases. The table shows the consumption of trans FAs in weight corresponding to this TEI percentage taking into account the recommended energy intake as proposed by Martin (2001) for sets of subjects. These values range from 4 g/d to 6 g/d.

	Men, 70 Kg		Women, 60 Kg	
	20-40 y/41-60 y		20-40 y/41-60 y	
	Low activity	Normal activity	Low activity	Normal activity
Energy intake (Kcal/j)	2,400 / 2,250	2,700 / 2,500	1,900 / 1 800	2,200 / 2,000
Trans FA intake (g/d) corresponding to 2% of the TEI	5.3 / 5.0	6.0 / 5.6	4.2 / 4.0	4.9 / 4.4

For male children aged between 12 and 14 years old and identified as heavy consumers of trans FAs (see above), an average consumption of 2,300 Kcal, and a consumption of 3,600 Kcal in the heavy consumers, have been reported. These values resulted in the following intakes:

Male children between 12 and 14 years old	Energy intake (Kcal/j)	Trans FA intake (g/d) corresponding to 2% of the TEI
Average for the age category	2,300	5.1
For heavy consumers	3,600	8.0

Since 1990, intervention studies have provided meaningful information on how the secondary markers of risk are modified. Monounsaturated trans FAs increased LDL-C and this effect was similar to that of saturated FAs (palmitic, myristic, lauric acids). A recent meta-analysis of 60 intervention studies emphasised that, unlike palmitic acid, these trans FAs increased the TC/HDL-C ratio. They showed that trans FAs could increase the cardiovascular risk more than palmitic acid.

In these longitudinal or intervention studies, it has not been possible to distinguish the effects of trans FAs produced industrially from those of animal origin.

Mechanisms that would explain the aforementioned effects are largely unknown. From some studies on animal models, evidence exists in particular that the cholesterol ester binding protein (CETP) and certain hepatic receptors could be involved.

To date, there are no epidemiological data on the CLA isomers. Current knowledge is based on intervention studies in humans and animals and on in vitro studies. Attention of investigators has been more particularly attracted by the mixture of 9c,11t CLA and 10t,12c CLA. The first studies on the effects of each isomer considered separately and not in the form of a mixture were published in 1999. For the mixture it has been shown that: 1/ clinical studies gave inconsistent results; 2/ results on animal models differed from one species to another, even when the "suitable animal models" for human atheroma were used. For each isomer studied separately it has been shown in humans that: 1/ their effects were different; 2/ the studies supported the existence of opposite effects: for the 9c,11t CLA they were beneficial to the blood cholesterol or the TC/HDL-C ratio, whereas for 10t,12c CLA they were neutral or detrimental to these markers of risk, but no dose-effect was found whatever the isomer; 3/ the 10t,12c CLA decreased HDL-C, increased the VLDL triglycerides, the C-reactive protein and the non-enzymatic peroxidations. These results lead to attribute a potential, general proatherogenic effect to the 10t,12c CLA.

Cancers

The few and inconsistent results of epidemiological studies do not allow to conclude that the dietary trans FA intake was beneficial or detrimental to the various forms of cancer studied. The effect of the CLA isomers has only been studied in animal models, and mainly on mammary tumours. They – particularly the 9c,11t CLA – exerted an inhibitory effect, on the onset and the development of these tumours. It seems that a similar effect has not been found in humans. It is also worthwhile to notice that the aforementioned effect has been obtained for prolonged and very high intakes, from 0.5 to 2% of the TEI, which approximately correspond to 5-10 g/d in humans. The underlying mechanisms have not been identified and are probably indirect and multiple.

C. Recommendations

Recommendations of the working group will concern total trans FAs (excluding CLAs), on the one hand, and the 9c,11t CLA and 10t,12c CLA, on the other. They are set to be revised periodically, in order to take into account the progress in scientific knowledge.

a. Total trans FAs

Scientific literature shows that daily consumption of total trans FAs higher than 2% of the TEI gives rise to a significant increase in the risk of cardiovascular disease. **The working group has recommended this value to be considered as a consumption level that should not be exceeded.**

It has been found that total trans FAs accounted for 2% of the TEI in 5% of the adults French population. This 2% threshold is exceeded by about 10% of the male children belonging to the 12-14y category of age, constituting the category of the population that is the most exposed to the overconsumption of trans FAs.

A low proportion of the French population is thus exposed to an increased cardiovascular risk due to overconsumption of total trans FAs. In spite of this, measures must be taken to reduce the risk associated with the overconsumption of trans FAs in the most exposed category of the population. The working group has proposed the following recommendations:

- To comply with one of the objectives of the French national programme for nutrition and health (PNNS) – i.e. to reduce the consumption of saturated FAs – since it has turned out that there was a correlation between consumption of total trans FAs and that of saturated FAs, and that the reduction of saturated FA intake from 18% to 16% of the TEI decreases the daily consumption of total trans FAs by 50%.
- To reduce by at least 30% the consumption of foods that represent the main contribution in terms of trans FAs (sweet pastries, breads, chocolate bars, biscuits) and exhibit a weak beneficial effect from a nutritional point of view. A 30% reduction decreases total trans FA intake by between 0.15 and 0.3 g/d, i.e. about 0.1% of the TEI in

heavy energy consumers, and lowers considerably the saturated FA intake too.

- To comply with one of the PNNS objectives – i.e. to consume at least 3 servings daily of milk and dairy product – and not to reduce this consumption, in spite of the fact that milk and dairy products highly contribute to total trans FAs. The rationale for this recommendation is that a reduction would be unsuitable in the subjects who must have a specific calcium intake, especially in the case of 12-14 teenagers who display a greater prevalence of insufficient calcium intake. In this respect, it is recommended that preference be given to consuming skimmed or semi-skimmed milk or dairy products prepared with these types of milk. This will lead to reduce the total trans FA (and saturated FA) supplies without altering the calcium intake.
- To consume beefburgers containing 5% fat rather than 15% fat. This will lead to reduce total trans FA intake by 0.1 g/d.
- In order to be consistent with the reduced consumption of pastries, breads, chocolate bars and biscuits, manufacturers of margarines and fats for the agro-food industry will be encouraged to reduce the trans FA content in their products.

With the exception of the first recommendation, whose impact turns out to be general, all the others should, at the very least, reduce the daily intake of total trans FAs by 0.5 g, or by 0.15-0.2% of the TEI.

b. CLAs

In France, the mean daily consumption of CLAs is 180 mg/d, whereas it ranges from 400 to 450 mg/d in heavy consumers. Taking into account their origin in France, rumenic acid (9c,11t CLA) accounts for 90% of total CLAs, corresponding to a daily consumption of 160 mg/d. The intake of 10t,12c CLA can not be measured directly. It could only be estimated at 10% of total CLA intake, corresponding to a daily consumption of 20 mg/d, and 45 mg/d for heavy consumers. In a normal diet, the intake levels of the 9c,11t CLA and 10t,12c CLA do not lead to require any particular measure.

The use of the chemically-produced CLA mixture for human consumption potentially leading to high doses of 9c,11t CLA and 10t,12c CLA has not occurred for a long time. For several years, this mixture – whose natural counterpart does not exist – was the only one submitted to investigations.

More recently, it has become clear that the properties of these two isomers were different. The supra-nutritional doses currently proposed by manufacturers for consumption are around 10 times as high for 9c,11t CLA, and 100 times as high for 10t,12c CLA, as that supplied by naturally contributing foods. In humans, however, evidence for a beneficial effect of the 9c,11t CLA has not been provided, and adverse effects of 10t,12c CLA have been suspected, or even shown.

In this regard, the working group is bent on underlining that studies proving the innocuity of the chemically-produced mixture of the 9c,11t CLA and 10t,12c CLA can not override the effects of 10t,12c CLA. That there would be a masking effect of one CLA by the other is an argument which seems to be difficult to accept, since the non-occurrence of the harmful effect of a product, when this one is present together with another product, may result not only from dilution or competition effects, but also from the intervention of different mechanisms whose respective effects have not been cancelled out.

In the current state of knowledge, the opinion of the working group is thus that the specific introduction of these mixtures of 9c,11t CLA and 10t,12c CLA in food for human consumption – regardless of the proportion of each of these isomers – is not justified in the form of supplements or food ingredients.

Furthermore, the introduction of chemically-produced CLA mixtures into animal feed, directly or as ingredients, constitutes a potential new route of introducing these compounds into human food. Taking note, on the one hand, of the absence of research able to specify the fate of, and concentrations reached in, animal products for human consumption following the consumption of these products by animals, and, on the other hand, the negative consequences on the fat content of milk from milk-producing species, the working group is of the opinion that the introduction of these mixtures into animal feed should not be authorised.

However, the working group call the attention on the importance of setting up a working group involving experts in animal nutrition and human nutrition. They will review the impact of different traditional practices in animal husbandry onto the vaccenic acid (18:1 11t) and rumenic acid (9c,11t CLA) contents of animal products. This review would lead to fix objectives that meet a public health concern for animal-husbandry stakeholders. It is needful also because trans FA contents of milk and dairy products usually range from a magnitude order of one to three in the absence of any CLA mixture supplementation.

c. Limit contents, analyses and labelling of trans FAs – Proposals

Limit contents

To give consumers effective means for achieving the aforementioned recommendations, and taking into account trans FA contents in usual human food as indicated in this report, the working group proposes the adoption of content upper limits that can be applied to everyday food. They will be expressed as a percentage of total fatty acids (or of the weight for the finished product with hidden fats). A timetable for implementing these upper limit values will also be proposed:

1. Hidden fats:

These are fats for manufacturers and bakeries (the “shortenings”), present in pastries, biscuits and chocolate bars; they account for 1/3 of the total trans FA intake:

In view of the disparity of fat contents between these different foods, the limit will be expressed as a percentage of the final product marketed. **This limit should be fixed at 1g/100g of the product to be consumed, or 9 Kcal/100g of product, equivalent to 0.4% of the TEI (one fifth of the trans FA consumption level that it is recommended not to exceed in this report) for a subject consuming 2,500 Kcal/d.**

This limit should be applied within **2 years** following the publication of this report.

Respecting this upper limit should not result in increasing the saturated FA content of the product.

Consequences of this proposal in terms of the reduction in the total trans FA intake will be significant. It is possible to estimate that they are likely to reduce, for example in male children, the total trans FA intake from 2.25% to 1.8-2.0% of the TEI.

2. Visible fats:

• Domestic oils:

They account for a low proportion of the total trans FAs according to the INCA survey.

Most domestic oils currently consumed exhibit a total trans FA content that is frequently $\leq 0.5\%$ of the total FAs. It is therefore recommended that all domestic oils do not exceed this content in total trans FAs. For oils whose contents usually exceed the 1% threshold of total trans FAs, it is proposed that the content be reduced to a value $\leq 1\%$. Generally, these oils are highly unsaturated (rich in α -linolenic acid) and consumed slightly.

These measures could be applied within **1 year** following the publication of this report.

• Margarines of all qualities for spreading or cooking (except margarines classified as “shortenings”):

Quality margarines currently on the market present an average total trans FA content of almost 1%. The working group proposes that this value be chosen as a reference in terms of upper limit of content for all margarines, regardless of their quality, within **1 year** following the publication of this report. Application of this measure must not increase the saturated FA contents of these products.

3. Milk and dairy products:

These products naturally contain hidden fats, but to date no limit contents may be proposed until experts in animal and human nutrition have compiled information requested in this report. It is of particular interest because the natural trans FA content in milk and dairy products is highly variable, even in the absence of any use of chemically-produced CLA mixture-based supplements.

Analyses

For liquid fats (or liquid-becoming fats), the FTIR-ATR (Fourier transform infrared-attenuated total reflectance spectroscopy) method is recommended for assessing total trans FAs when allowed by the content. Research will be necessary to validate the method for contents $\leq 0.5\%$.

In the other cases and for products with a complex matrix, and if the FTIR-ATR spectroscopy method can not be applied (or when this method is too expensive for the laboratory), total trans FAs will be assessed by gas chromatography¹.

Labelling

Within the framework of the adoption of measures leading to a mandatory nutritional labeling (and a fortiori within the framework of optional and voluntary labeling in force to date), the working group has proposed the mandatory mention (in addition to the current mention of the saturated FAs as % of total FAs):

Total trans FAs as % of total FAs

Lastly, lower limits are proposed under which the mention "total trans FAs" is not required: 0.1g/100g (or 100 ml) of product for hidden fats (pastries, biscuits, chocolate bars, milk and dairy products), 0.1% of total FAs for visible fats (seasoning and cooking oils, household margarines).

*Moreover, considering, on the one hand, that the use of chemically-produced CLA mixtures, regardless of the form, appears to be non justified in human food to date, and, on the other, that the CLA content of food (mainly represented by 9c,11t CLA in the absence of any introduction of chemically-produced mixture in animal feed) is low, **the working group has considered that the nutritional CLA labeling is unfounded.***

Annexes: Tables summing up the CLA effects and the epidemiological studies of the 4 cohorts assessing cardiovascular risk, respectively.

¹ Briefly, a single passage on the column will be necessary to obtain the contents of fatty acids 18:1 9t, 18:1 10t and 18:1 11t. The same analysis will enable the CLA detection. A correction coefficient, whose value will be defined for dairy products and plant-derived products, respectively, will be applied to the sum of the three trans monounsaturated FAs. This will give the total trans FA content. The coefficient value will be able to be justified using the profile of the 3 trans monounsaturated FAs and the 18:2 9c,11t CLA/18:2 10t,12c CLA ratio, these two characteristics being typical of the origin of product.

Table of main studies on the effects of CLAs, 9c,11t and 10t,12c on humans

Authors (year)	Nature of CLAs	Dose (g/d)	Subjects	Action
Basu et al (2000)	mixture	3.2	Healthy subjects	Peroxydation ↑
Berven et al (2000)	mixture	3.4	Healthy subjects	Nothing
Benito et al (2001)	mixture	3.9	Healthy subjects	Unmodified C, LDL and HDL cholesterol; unmodified TG
Blankson et al (2000)	mixture	1.7-3.4-5.1-6.8	Overweight or obese subjects	C, LDL and HDL cholesterol ↓; BMI unmodified and BF ↓
Wigham et al (2004)	mixture	6.0	Overweight or obese subjects	Nothing
Gaullier et al (2004)	Mixture (free fatty acids or TG)	3.4	Healthy subjects	BF ↓; BMI ↓; HDL cholesterol ↓ Lp(a) ↑; HbA1c ↑
Masters et al (2002)	mixture	1.5	Breastfeeding women	Milk BF ↓
Risérus et al (2002, Circulation)	mixture	2.4	Overweight or obese subjects	Non-enzymatic and enzymatic peroxidation ↑
Riserus 2002 (Diabetes Care)	mixture	2.4	Overweight or obese subjects	↓ SAD and %BF, HDL cholesterol ↓
Smedman et al (2001)	mixture	3.2	Healthy subjects	% BF ↓ Insulin, BMI and PAI-1 unmodified
Noone et al (2002)	mixture 9c,11t/10t,12c	2.0 50/50 or 80/20	Healthy subjects	TG ↓ with 50/50 Nothing with 80/20
Malpuech-Brugère et al (2004)	10t,12c or 9c,11t	1.5 or 3.0	Overweight subjects	Nothing
Risérus et al (2002, Circulation)	10t,12c	2.6	Overweight or obese subjects	RI ↑; CRP ↑; enzymatic and non-enzymatic peroxidation ↑↑
Riserus 2002 (Diabetes Care)	10t,12c	2.6	Obese subjects	RI ↑, BMI ↓; %BF, SAD, HDL cholesterol ↓; TG-VLDL ↑; Glycemia ↑
Risérus et al (2004) Diabetologia	10t,12c	2.6	Overweight or obese subjects	RI ↑; glycemia ↑; pro-insulin and C-peptide ↑; unmodified BMI
Risérus et al (2004, AJCN)	9c,11t	2.5	Overweight or obese subjects	RI ↑; BMI ↑; non-enzymatic peroxidation ↑; nothing on C, LDL or HDL cholesterol
Tricon et al (2004)	10t,12c vs 9c,11t	0.6-1.2-2.5	Healthy, overweight or obese subjects	9c,11t: ↓ C and LDL cholesterol vs 10t,12c; no dose effect

BF: Body fat; IR: insulin resistance; BMI: body mass index

Summary table of the epidemiological studies on the 4 cohorts assessing cardiovascular risk

Authors and country	Subjects	Exposure measure	RR	Tend.	Comments
Ascherio, 1996 USA	HPFS men 40-75 years old 509 CHD + 229 deaths/ 43,757 6 years	FFQ 131 items	H (3.3g/d) vs L(2.2) 1.27 (0.99-1.63) H (4.3g/d) vs L(2.2) 1.40 (1.10-1.79) for an increment of TFA=2% CHD:1.13 (0.83-1.54) M: 1.47 (0.90-2.40)	0.01	After adjustment of fibres OR↓ and T NS Adjustment fibres GT and FA: NS
Hu et al, 1997 USA	NHS women 30-55 years old 658 CHD + 281 deaths/ 80,082 14 years old	FFQ 61 items	H (2.9/d) vs L(1.3) 1.27 (1-1.56) Adjustment of other fatty acids 1.53 (1.16-2.02) for an increment of TFA=2% 1.62 (1.23-2.13)	0.02 0.002 <0.001	
Pietinen et al, 1997 Finland	ATBC men 50-69 ans 818 CHD + 581 deaths/ 21,930 6 years old	FFQ 276 items	CHD:H (2.7/d) vs L(1.3) 1.07 (0.90-1.28) H (6.2g/d) vs L(2.2) 1.14 (0.96-1.3) Death: H (5.6g/j) vs L(1.3) 1.39 (1.09-1.78) intake in %TFA H(2) s L(0.6) 1.43 (1.12-1.84) for an increment of 5g/d TFA 2.21 (1.68-2.91)	NS 0.004 0.004	When categories: total, elaidic, plant RR id #1.35 for intake #5g Animal source does not reach this value; NS for 2.5g
Oomen et al, 2001 Netherlands	Zutphen elderly study 64-84 years old 49 CHD + 49 deaths/ 667 men 10 years old	FFQ	intake in %TFA: H(3.87%) s L(2.36) 1.34 (0.76-2.37) H(6.38%) s L(2.36) 2.00 (2.07-3.75) for an increment of TFA=2% 1.28 (1.01-1.61)	0.03	

Création et mise en page : Parimage
Impression : Bialec
ISBN :

[> Sommaire](#)

27-31, avenue du Général Leclerc
94701 MAISONS-ALFORT cedex
www.afssa.fr

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE