



AVIS **de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,** **de l'environnement et du travail**

relatif à « l'évaluation de la sécurité d'utilisation d'une huile enrichie en acide linoléique conjugué (CLA) »

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).

Ses avis sont rendus publics.

1. RAPPEL DE LA SAISINE

L'Agence nationale de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail a été saisie le mardi 12 juillet 2011 par la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes pour la réalisation de l'expertise suivante : évaluation de la sécurité d'utilisation d'une huile enrichie en acide linoléique conjugué (CLA).

2. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Des débats ont lieu actuellement au niveau communautaire autour d'un projet d'autorisation d'un mélange de CLA en vue de l'enrichissement dans différentes matrices alimentaires. Ce projet fait suite aux avis divergents de différents Etats membres et à celui positif de l'Efsa du 26 mai 2010 dans le cadre de la procédure sur les nouveaux aliments. Cependant, la récente publication d'un article original¹ et d'une revue² mettant en évidence une augmentation de facteurs de risque lipidiques de maladies cardiovasculaires, a conduit les Etats membres à souhaiter en juillet 2011 une nouvelle évaluation du produit.

En parallèle, les autorités australiennes et néo-zélandaises ont rejeté en mai 2011 la demande d'autorisation d'un autre produit à base de CLA dont la composition très proche de celle du produit concerné par ces évaluations.

Toutefois, la Commission européenne ne pense pas que l'interdiction australienne soit fondée sur de nouveaux éléments scientifiques, mais sur une interprétation différente des éléments déjà évalués par l'Efsa en 2010.

La Commission souhaite donc que les Etats membres lui fassent parvenir tout élément scientifique nouveau non évalué par l'Efsa et qui justifierait une nouvelle saisine de l'Agence européenne, afin de proposer un nouveau projet d'autorisation au cours du mois d'octobre.

¹ Wanders, A.J., Brouwer I.A., E. Siebelink et al., Effect of a high intake of conjugated linoleic acid on lipoprotein levels in healthy human subjects. *PLoS One*, 2010; 5: e9000.

² Brouwer, I.A., Wanders A.J., and Katan M.B., Effect of animal and industrial *trans* fatty acids on HDL and LDL cholesterol levels in humans--a quantitative review. *PLoS One*, 2010; 5: e9434.

Au sein de l'Agence, un rapport sur les risques et bénéfices des acides gras *trans* (Afssa, 2005) et notamment des CLA a été publié en 2005. Divers avis ont également été rendus sur le sujet en 2007, 2008 et 2011 (Afssa, 2007, 2008 ; Anses 2011).

La recherche bibliographique a porté sur la période 2005-2011 afin d'identifier les articles scientifiques publiés depuis la parution du rapport de l'Agence sur les acides gras *trans* et non cités par l'Efsa dans son avis de 2009 ou parus après la publication du rapport de l'Efsa. Elle s'est focalisée sur les effets des CLA dans le domaine cardiovasculaire et de l'insulino-résistance/diabète, car il s'agit des risques faisant l'objet de réserves exprimées par les Etats membres. La recherche a porté sur les études humaines principalement, mais aussi animales et *in vitro* pour appuyer les données chez l'Homme ou lorsque celles-ci étaient manquantes. Plus précisément, 3 types de risques ont été évalués, reprenant les principaux risques évoqués dans la littérature et étudiés dans l'avis de l'Efsa :

- les risques liés à une modification des lipoprotéines circulantes (augmentation du rapport LDL-C/HDL-C) ;
- les risques liés à l'augmentation de l'insulinorésistance, en particulier chez les diabétiques ;
- les risques liés à l'augmentation de marqueurs de stress oxydant et d'inflammation (Protéine C-réactive, isoprostanes, prostaglandines F2 α , etc.).

3. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise collective a été réalisée par le comité d'experts spécialisés (CES) « nutrition humaine » réuni le 15 septembre 2011, sur la base de rapports initiaux rédigés par 5 rapporteurs.

4. ANALYSE ET CONCLUSION DU CES

▪ Définition des CLA

Les acides linoléiques conjugués (CLA) sont des isomères conjugués de l'acide linoléique. L'isomère 18 :2 9c,11t (acide ruménique) est quantitativement prédominant de façon naturelle, notamment dans les produits laitiers ; cet isomère est souvent associé en proportions équivalentes avec l'isomère 18 :2 10t,12c dans les produits de synthèse.

Les CLA naturels ont pour origine principale la biohydrogénation ruminale (Chilliard et al. 2001). Les produits laitiers sont la source majeure de CLA alimentaires, notamment l'acide ruménique qui représente 80-93 % des CLA totaux de la matière grasse laitière (Chin et al. 1992; Lavillonnière et al. 1998). Les CLA peuvent également provenir en infimes quantités du chauffage (Chin et al. 1992; Juanéda et al. 2003; Juanéda et al. 2001) et de l'hydrogénation catalytique des matières grasses (Mossoba et al. 1991). Les taux mesurés dans les huiles végétales sont relativement faibles : de 0,01 à 0,04 g/100 g dans différentes huiles raffinées (Chin et al. 1992) et de 0,2 à 1,1 % des acides gras totaux dans les margarines, selon la nature de la matière première et du degré d'hydrogénation (Mossoba et al. 1991).

La consommation en CLA de la population française est estimée à 0,18 g/j chez les femmes et à 0,21 g/j chez les hommes, et à 0,37 g/j et 0,44 g/j chez les femmes et les hommes forts consommateurs (97,5^e percentile) (Afssa 2005).

▪ Effets des CLA sur les risques liés à une modification des lipides circulants

Parmi les études d'intervention portant sur les effets des CLA sur les lipides circulants publiées depuis 2005, 4 n'ont pas été citées par l'Efsa dans ses avis de 2009 et 6 ont été publiées depuis. Elles font l'objet de la présente évaluation et sont détaillées dans le **tableau 1**.

• Effets de l'acide ruménique

Parmi les 5 études d'intervention réalisées sur l'acide ruménique, 3 n'ont pas mis en évidence d'effet significatif sur les lipides circulants (cholestérol total, LDL-C, HDL-C, triglycérides) de cet acide gras, apporté à des doses de 0,10 à 1,0 g/j, (Venkatramanan et al. 2010; Brown et al. 2011; Sofi et al. 2010). Deux études rapportent une augmentation significative du rapport LDL-C/HDL-C après consommation de doses plus

élevées (1,42 g/j et 2,6 g/j) d'acide ruménique (Tricon et al. 2006; Desroches et al. 2005). Cependant, il est important de souligner que dans ces études, l'acide ruménique est apporté par des produits laitiers enrichis en cet acide gras par un protocole d'alimentation des vaches qui entraîne également une augmentation du taux d'acides gras mono-*trans* du lait (13,4 g/100 g contre 0,61 g/100 g dans les laits usuels pour l'étude de Tricon et al. et 5,05 g/j contre 0,81 g/j dans le régime contrôle de l'étude de Desroches et al., 2005).

Les acides gras 18:1-*trans* sont considérés comme favorisant l'augmentation du rapport LDL-C/HDL-C (Afssa 2005). Toutefois, les faibles quantités d'acides gras mono-*trans* totaux ainsi que les proportions des différents isomères présents naturellement dans le lait (c'est-à-dire lors d'alimentations conventionnelles des vaches laitières) n'ont pas d'effet délétère sur les lipides circulants (Malpuech-Brugere et al. 2010; Motard-Belanger et al. 2008). Il convient donc que ces taux d'acide gras mono-*trans* ne soient pas augmentés au-delà des recommandations de l'Afssa sur les acides gras *trans* (2005).

Par ailleurs une étude cas-témoins a été effectuée au Costa Rica où les vaches élevées sur des pâtures ont un lait particulièrement riche en acide ruménique (Smit et al. 2010). Cette étude rapporte une association inverse entre la teneur en acide ruménique du tissu adipeux et le risque d'infarctus du myocarde, alors que la consommation de lait n'était pas associée au risque d'infarctus (Smit et al. 2010).

- Effets des mélanges d'isomères de CLA

Deux études récentes ont porté sur des mélanges de CLA où l'acide ruménique était majoritaire (80 %). L'étude de Sluijs et al. (2010) ne rapporte aucun effet significatif sur les lipides sanguins après consommation de 3,1 g/j de CLA totaux (2,5 g d'acide ruménique + 0,6 g de 18 :2 10t,12c) (Sluijs et al. 2010), alors que l'étude de Wanders et al. (2010) rapporte une augmentation du cholestérol total et LDL, des triglycérides, et du rapport LDL-C/HDL-C après la consommation d'une dose extrêmement élevée de CLA (24,2 g/j) (Wanders et al. 2010).

En ce qui concerne les mélanges équimolaires des isomères 9c,11t et de 10t,12c, 4 nouvelles études ont été publiées depuis 2005. Une étude montre une diminution significative du HDL-C chez les enfants en surpoids (Racine et al. 2010), alors que deux études ne montrent pas d'effet chez les adultes en surpoids (Venkatramanan et al. 2010) ou obèses (Steck et al. 2007), avec des doses comparables (2,4 ; 3,2 ; 2,3 g/j) ou plus élevées (6,4 g/j). Une autre étude ne montre pas d'effet de ces mélanges chez les adultes sains (Lambert et al. 2007).

- Méta-analyse de Brouwer

La méta-analyse de Brouwer et al., 2010 qui a notamment amené les Etats membres à demander une nouvelle évaluation, a analysé 13 études d'intervention respectant un certain nombre de critères de sélection. Cette méta-analyse rapporte que le rapport LDL-C/HDL-C augmente de 0,043 (95 % IC 0,012-0,074) pour chaque incrément d'un point du pourcentage d'énergie ingérée sous forme de CLA sans distinction de composition en isomères en remplacement d'un acide gras mono-insaturé. Ce rapport augmente d'un facteur de 0,056 en considérant seulement les études utilisant des mélanges équimolaires des isomères 9c,11t et 10t,12c. Cette étude présente cependant de nombreux biais:

1. Afin d'homogénéiser les études et de pouvoir les comparer, les auteurs ont recalculé ce qu'aurait été le profil en lipoprotéines si les acides gras *trans* remplaçaient les acides gras *cis* (acide oléique principalement), selon l'équation de Mensink et al., (Mensink et al. 2003). Au-delà de l'approximation mathématique, l'usage de cette méthode demande à être plus suffisamment argumentée, car l'acide oléique n'est pas sans effet sur le bilan lipidique plasmatique. En effet, comparé aux acides gras mono-*trans* ou aux acides gras saturés, l'acide oléique entraîne une baisse du LDL-C et du cholestérol total (Gardner and Kraemer 1995).
2. Si le nombre d'études concernant les acides gras *trans* d'origine technologique est conséquent, avec une gamme d'apport suffisamment large pour apprécier s'il existe un effet-dose proportionnel (apports de 0,5 à 11 % de l'apport énergétique, 24 études), ceci est moins le cas pour les CLA pour lesquels les études sont moins nombreuses et les doses sont plus proches (12 études entre 0,5 et 2,5 % de l'apport énergétique, et une seule à 7 %), et encore moins pour les acides gras *trans* issus des ruminants (6 études, avec des apports également très proches, allant de 0,5 à 2,5 % de l'apport énergétique, et une seule à 6,5 % de l'apport énergétique).
3. Le biais principal provient du calcul du lien entre les apports en acides gras *trans* et le profil en lipoprotéines (rapport LDL-C/HDL-C, LDL-C, HDL-C). Les auteurs font l'hypothèse que cette relation est linéaire, c'est-à-dire que le risque est directement proportionnel aux apports en acides gras, sans existence d'un seuil. Or si une relation linéaire apparaît nettement, en accord avec le mode de calcul avec origine forcée, pour les acides gras *trans* d'origine technologique, cela n'est absolument pas le cas

pour les acides gras *trans* issus des ruminants et encore moins pour les CLA où il est évident que la relation linéaire calculée est purement artificielle. Il convient de signaler à ce propos que comme aucune valeur de significativité statistique de cette relation n'est rapportée, on ne peut pas juger de la véracité de cette hypothèse, qui détermine pourtant l'interprétation relative aux acides gras *trans* issus des ruminants et aux CLA qui est fournie par les auteurs.

4. S'agissant des CLA, on ne peut déterminer à partir des données fournies comment se situent les mélanges 50 :50 ou 80 :20 des isomères 9c,11t et 10t,12c, ou les isomères seuls. En effet, dans le système de régression prédictive, les CLA sont considérés tous ensemble, comme on le voit dans les figures. Par ailleurs, les études portant sur les CLA notamment ne mentionnent pas le statut des populations, comme le degré d'obésité, de diabète de type 2, ce qui pourrait rendre la comparaison difficile en raison d'un statut lipoprotéique très différent au départ.

Ainsi, il est impossible de conclure à un lien entre les apports en CLA et les facteurs du risque cardiovasculaire sur la base de cette méta-analyse.

- Conclusion sur les effets des CLA sur les lipides circulants.

Les nouvelles études ne mettent pas en évidence d'effet délétère de l'acide ruménique sauf lorsqu'il est provient de produits laitiers enrichis en acide ruménique par une alimentation particulière des vaches. Or ce type d'alimentation augmente également la teneur en acides gras 18:1-*trans* considérés comme favorisant l'augmentation du rapport LDL-C/HDL-C lorsqu'ils sont apportés en quantités supérieures à celles apportées par la consommation de lait usuel (Afssa 2005), ce qui est le cas dans ces études.

Les nouvelles études réalisées avec des mélanges de CLA contenant les isomères 9c,11t et 10t,12c montrent au mieux une absence d'effet, au pire, des effets indésirables sur le HDL-C, y compris après exclusion de l'étude de Wanders et al. (2010) dans laquelle les apports sont extrêmement élevés.

Ainsi ces nouvelles données ne permettent pas de lever le doute sur les effets délétères de ces mélanges sur les lipides circulants.

Avis de l'Anses
Saisine n° 2011-SA-0185
Saisine(s) liée(s) n° 2008-SA-0176

Tableau 1 : effets des CLA sur les lipides plasmatiques chez l'homme

	référence	sujets	CLA (g/j)	durée	effets
Acide ruménique (AR)	Tricon et al., 2006	32 hommes sains	0,15 vs 1,42 (produits laitiers enrichis en AR par alimentation animale particulière)	étude croisée 2*6 semaines	Pas d'effet significatif sur : TC, LDL-C, HDL-C, TG ↗ LDL-C/HDL-C (P=0,02)
	Desroches et al., 2005	16 hommes en surpoids	0,2 vs 2,6 (Beurre enrichi en AR par alimentation animale particulière)	étude croisée 2*4 semaines avec 8 semaines de wash out	baisse du CT ou du ratio CT/HDL-C dans le groupe témoin mais pas dans le groupe CLA LDL-C/HDL-C (p=0,03)
	Sofi et al., 2010	10 hommes et femmes sains	0,04 vs 0,10 ¹ (produits laitiers naturellement riches en acide ruménique)	étude croisée 2*10 semaines	Pas d'effet significatif sur : TC, LDL, HDL, TG LDL-C/HDL-C : pas d'information
	Brown et al., 2011	18 femmes normopondérales ou en surpoids	0,28 vs 0,85 ² (lait de pâture riche en AR vs lait de stabulation pauvre en AR)	Etude en parallèle 8 semaines	Pas d'effet significatif sur : TC, LDL, HDL, TG LDL-C/HDL-C : pas d'information
	Smit et al., 2010	3626 sujets	CLA du tissu adipeux	Etude cas (incident cardiovasculaire) – témoins	Relation inverse entre taux d'acide ruménique et antécédents cardiaques
Mélange de 9c,11t/10t,12c (80/20)	Sluijs et al., 2010	346 hommes et femmes en surpoids	3,1	Etude en parallèle 6 mois	Pas d'effet significatif sur : TC, LDL, HDL, TG, LDL-C/HDL-C
	Wanders et al., 2010	61 hommes et femmes sains	24,2	étude croisée 2*3 semaines	effets significatifs : ↗ TC, LDL-C, LDL-C/HDL-C (P<0,001), TG (p=0,05). ↘ HDL-C (p<0,001)
Mélange de 9c,11t/10t,12c (50/50)	Racine et al., 2010	53 enfants en surpoids	2,4	Etude en parallèle 6 mois	Pas d'effet significatif sur : TC, LDL, HDL, TG ↘ HDL-C (p=0,05)
	Lambert et al., 2007	64 hommes et femmes sains	2,57	Etude en parallèle 12 semaines	Pas d'effet significatif sur : TC, LDL, HDL TG ne diminuent pas comme dans le groupe contrôle (p=0,013) effet non significatif après correction sur la composition corporelle
	Steck et al., 2007	48 hommes et femmes obèses	3,2 ou 6,4	Etude en parallèle, randomisée, double aveugle contre placebo 12 semaines	Pas d'effet significatif sur : TC, LDL-C, HDL-C, TG avec 3,2 g/j et 6,4 g/j
9c,11t vs mélange de CLA 50/50	Venkatramanan et al., 2010	15 hommes et femmes en surpoids	Lait témoin : 0,2 lait enrichi naturellement : 1,0 g/j d'AR Lait + mélange 50/50 : 2,3 g/j	Etude croisée 3*8 semaines	Pas d'effet significatif sur : TC, LDL, HDL, TG LDL-C/HDL-C : pas d'information

¹Apports calculés par les rapporteurs. L'ensemble du profil d'acide gras varie puisque les modifications des régimes expérimentaux résultent d'une modification de l'alimentation des vaches laitières.

²Apports calculés par les rapporteurs sur la base des apports fournis par les auteurs exprimés sous forme d'esters méthyliques.

▪ **Effets des CLA sur les risques liés à l'augmentation de l'insulino-résistance (Tableau 2)**

• Effets de l'acide ruménique (9c,11t)

L'étude de Brown et al. (2011) citée ci-dessus a également testé l'effet de l'acide ruménique sur l'insulino-résistance. Le régime enrichi en 9c,11t ne modifie pas la composition corporelle et la sensibilité à l'insuline mesurée par un test oral de tolérance au glucose (OGTT). On note toutefois une modification de la cinétique d'insuline après traitement par l'acide ruménique, suggérant une amélioration de la sensibilité à l'insuline mais qui ne se traduit pas par une modification significative de l'aire sous la courbe de l'insulinémie.

• Effets des mélanges d'isomères de CLA

L'étude de Sluijs citée également ci-dessus rapporte une absence d'effet de 3,1 g/j d'un mélange de CLA 80/20 (soit 2,5 g/j de 9c,11t et 0,6 g/j de 10t,12c) sur la composition corporelle et l'indice d'insulino-résistance HOMA-IR (Sluijs et al. 2010).

Quatre nouvelles études évaluant les effets des mélanges 50/50 d'isomères 9c,11t et 10t,12c, sur l'insulino-résistance ont été répertoriées. Deux études ne montrent pas d'effet pour des doses de CLA de 2,5 et 3,4 g/j (Joseph et al. 2011; Racine et al. 2010). En revanche, une étude suggère une amélioration de la sensibilité à l'insuline, avec 2,6 g/j de mélange de CLA, chez les femmes uniquement, qui par ailleurs étaient normopondérales et pratiquaient régulièrement de l'exercice physique (Lambert et al. 2007). On ne peut donc pas attribuer cet effet uniquement aux CLA. *A contrario*, une étude rapporte une diminution de l'insulino-sensibilité suite à l'ingestion de 4 g/j de CLA chez des sujets en surpoids non diabétiques (Thrush et al. 2007). Enfin, une dernière étude a évalué l'effet d'un mélange de CLA associé à de l'EPA et du DHA dans le but que ces derniers contrecarrent la baisse d'insulino-sensibilité parfois observée avec les CLA. Il résulte de cette association une baisse de l'insulino-sensibilité seulement chez les sujets âgés obèses et une absence d'effet sur ce paramètre chez les jeunes ou chez les sujets âgés minces. Dans l'hypothèse où l'EPA et le DHA n'auraient pas d'effet sur la sensibilité à l'insuline chez l'homme (pour revue (Poudyal et al. 2011)), cet effet délétère serait plutôt attribuable à la consommation de mélanges de CLA.

• Effets de l'isomère 10t,12c

L'effet délétère du 10t,12c sur la sensibilité à l'insuline est clairement démontré *in vitro* dans des adipocytes humains. Deux études récentes montrent que 50 µM de 10t,12c pendant 48h diminuent de 50 % l'effet de l'insuline sur l'entrée du glucose dans l'adipocyte (Kennedy et al. 2010a; Kennedy et al. 2009). Cet effet de l'isomère 10t,12c sur la réduction de l'utilisation du glucose a été rapporté également dans des cellules musculaires (C2C12), et il s'accompagne d'une inhibition du processus de différenciation myogénique (Hommelberg et al. 2010).

Chez la souris, si un effet bénéfique de l'isomère 9c,11t sur l'insulino-sensibilité a été décrit, l'effet insulino-résistant du 10t,12c est clairement retrouvé dans une étude récente (Halade et al. 2010). Il s'agit d'une étude menée chez la souris C57Bl6/J femelle âgée de 6 mois avec un apport d'acide ruménique seul, de l'isomère 10t,12c seul ou du mélange équimolaire des deux composés, à hauteur de 0,5% du régime en masse pendant 6 mois, comparativement à un témoin. Les résultats montrent l'absence de modification de la glycémie, de l'insulinémie, du HOMA et du R-QUIKI après supplémentation en acide ruménique. En revanche, la présence de l'isomère 10t,12c seul ou en mélange dans le régime conduit à une augmentation significative des mêmes paramètres, soulignant le développement d'une insulino-résistance dans ce modèle.

• Conclusion sur les effets des CLA sur l'insulino-sensibilité

Ces nouvelles études ne permettent pas de déterminer un effet bénéfique du mélange de CLA sur l'homéostasie glucidique et peuvent plutôt suggérer un risque lié à la consommation d'un tel mélange chez les sujets obèses, qui sont les plus susceptibles de consommer des compléments alimentaires contenant des CLA ou des aliments enrichis en CLA.

Les effets délétères de l'isomère 10t,12c observés chez l'animal et l'absence de données spécifiques sur cet isomère chez l'Homme ne permettent pas de garantir la sécurité de sa consommation seul ou en mélange.

Tableau 2 : Effets des CLA sur les paramètres plasmatiques de l'homéostasie glucidique ou de l'insulino-résistance chez l'homme

	référence	sujets	CLA (g/j)	durée	Effets
Acide ruménique (AR)	Brown et al., 2011	18 femmes normopondérales ou en surpoids	0,28 vs 0,85 ² (lait de pâture riche en AR vs lait de stabulation pauvre en AR)	Etude en parallèle 8 semaines	Pas d'effet sur le glucose et le glucagon plasmatiques Pas de différence d'aire sous la courbe d'insulinémie mais légère modification de cinétique pouvant suggérer une amélioration de la sensibilité à l'insuline
Mélange de CLA 80/20 (9c,11t/10t,12c)	Sluijs et al., 2010	346 hommes et femmes en surpoids	3,1 (2,5 g d'AR + 0,6 g de 10t,12c)	Etude en parallèle 6 mois	Pas d'effet significatif sur la glycémie, insulinémie et le HOMA-IR
Mélange de CLA 50/50 (9c,11t/10t,12c)	Racine et al., 2010	53 enfants en surpoids	2,4 g/j	Etude en parallèle 6 mois	Pas d'effet sur la glycémie, l'insulinémie, le HOMA-IR
	Joseph et al., 2011	36 hommes en surpoids	3,5 g/j	Etude croisée 3*8 semaines	Pas d'effet sur la sensibilité à l'insuline (Homa-IR) et adiponectinémie
	Thrush et al., 2007	9 sujets en surpoids non diabétiques	4 g/j	Etude pré et post traitement 12 semaines	Diminution de l'insulinosensibilité (p≤0,01) estimée par TOTG
	Lambert et al., 2007	62 hommes et femmes sains et pratiquant un exercice physique plus de 3 fois/semaine	2,6 g/j	Etude en parallèle 12 semaines	Pas d'effet sur le HOMA-IR ni le QUICKI mais modification de cinétique de la courbe de l'insulinémie chez les femmes suggérant une meilleure insulino sensibilité et une moindre augmentation des AGL.
Ahren et al., 2009	49 hommes normopondéraux ou obèses	2,1 g/j de CLA +3 g/j d'EPA+DHA	Etude croisée 2*12 semaines 12 sem de washout	↓ de l'insulino-sensibilité chez les sujets obèses les plus âgés estimée à partir de TOTG	

HOMA-IR, homeostasis model assessment, indice utilisé pour estimer l'insulino-résistance, TOTG, test oral de tolérance au glucose, QUICKI, quantitative insulin sensitivity check model, indice de l'insulino-sensibilité

Effets des CLA sur les risques liés à l'augmentation de marqueurs de l'inflammation

Outre l'actualisation des données relatives aux marqueurs inflammatoires cités dans les rapports de l'EFSA, l'effet d'une supplémentation avec des CLA sur le taux de leucocytes plasmatiques et le niveau d'inflammation du tissu adipeux blanc ont été étudiés.

En effet, si chez l'homme les effets des mélanges de CLA sont controversés (deux méta-analyses récentes rapportent une réduction de la masse adipeuse (Whigham et al. 2007) (FSANZ, 2009, Intakes of *trans* fatty acids in New Zealand and Australia review report) alors que l'Efsa a refusé une allégation sur l'effet des CLA sur la perte de poids), chez l'animal, en particulier la souris, une supplémentation en CLA conduit à une diminution de la masse adipeuse. Chez la souris, l'effet des CLA sur le tissu adipeux est drastique et conduit en quelques jours à une inflammation (LaRosa et al. 2006; Poirier et al. 2005). Ces résultats ont été retrouvés également *in vitro* et confirment que seul l'isomère 10t,12c est à l'origine de la fonte et de l'inflammation très rapide du tissu adipeux (Kennedy et al. 2010b). Il s'est avéré par conséquent intéressant dans le contexte de la saisine de réaliser une synthèse bibliographique des données publiées chez l'Homme concernant l'effet des CLA sur l'état inflammatoire du tissu adipeux.

- Les marqueurs inflammatoires (Tableau 1 en annexe)
 - La CRP

Six études postérieures à l'avis de l'EFSA et deux études de 2007-2008 non citée par l'Efsa, ont analysé l'effet des CLA sur la concentration plasmatique de la CRP chez l'Homme sains ou en surpoids. Parmi ces 8 études, 7 études menées chez des personnes saines ou en surpoids (Mullen et al. 2007; Pfeuffer et al. 2011; Venkatramanan et al. 2010; Joseph et al. 2011; Sluijs et al. 2010; Smit et al. 2010) ou atteintes d'arthrite rhumatoïde (Aryaeian et al. 2008), n'observent pas d'effet sur ce marqueur inflammatoire d'un mélange de CLA contenant les deux principaux isomères en proportion variable sur ce marqueur inflammatoire. En revanche, une supplémentation de 12 semaines chez des sujets obèses (IMC entre 30 et 35 kg/m²) avec une dose de 6,4 g/j d'un mélange équimolaire de 9c,11t et 10t,12c-CLA entraîne une augmentation significative de la concentration plasmatique de CRP (0 vs 12 semaines, Groupe témoins : 11,2 mg/L ± 10,7 vs 9,6 mg/L ± 7,7 ; Groupe CLA : 7,2 mg/L ± 3,5 vs 10,3 mg/L ± 6,7) (Steck et al. 2007). Dans cette étude, l'effet n'est pas retrouvé avec une dose de 3,2 g/j de CLA.

Ce résultat suggère qu'une supplémentation avec une dose élevée de CLA (6,4 g/j) pourrait être à l'origine d'une augmentation du marqueur inflammatoire CRP.

- Cytokines inflammatoires

Concentrations circulantes :

La majorité des études récemment publiés ou non mentionnés dans le rapport de l'EFSA, n'ont pas mis en évidence d'effet d'une supplémentation d'un mélange de CLA sous forme de capsules ou dans des aliments sur la concentration de cytokines inflammatoires comme IL-6, TNF- α et celle du fibrinogène ou du MCP-1 (Joseph et al. 2011; Mullen et al. 2007; Nugent et al. 2005; Pfeuffer et al. 2011; Smit et al. 2011; Venkatramanan et al. 2010). Seule l'étude de Steck *et al.*, publiée en 2007, rapporte qu'une supplémentation pendant 12 semaines avec 6,4 g/j de CLA déclenche une augmentation significative de la concentration plasmatique d'IL-6 (0 semaine vs 12 semaines : Groupe témoins : 2078,0 pg/L ± 1289,3 vs 1713,0 pg/L ± 905,4 ; Groupe CLA : 1632,1 pg/L ± 776,1 vs 2071,1 pg/L ± 1131,6) (Steck et al. 2007). Comme dans le cas de la CRP, les auteurs soulignent l'importance de la dose pour observer d'éventuels effets sur les marqueurs inflammatoires..

Une publication étudiant l'effet d'une consommation journalière de 200 g de fromage naturellement riche en acide ruménique pendant 10 semaines, rapporte une chute des cytokines inflammatoires IL-6 (Groupe témoin vs CLA: 4,58 pg/mL ± 0,94 vs 8,08 pg/mL ± 1,57) et TNF- α (53,58 pg/mL ± 25,67 vs 32,09 pg/mL ± 17,42) (Sofi et al. 2010). La rareté des données humaines concernant l'effet spécifique des isomères sur ces marqueurs inflammatoires, ne permet pas de conclure quant à un éventuel effet bénéfique de l'acide ruménique.

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus chez l'animal puisque de nombreuses études n'observent pas d'augmentation de la concentration plasmatique des cytokines inflammatoires (Poirier et al. 2006).

Expression dans le tissu adipeux

Il a été démontré chez la souris qu'une supplémentation avec un mélange contenant l'isomère 10t,12c déclenche une augmentation importante de l'expression de TNF- α , d'IL-6 et/ou de MCP-1 dans le tissu adipeux blanc (LaRosa et al. 2006; Poirier et al. 2006; Tsuboyama-Kasaoka et al. 2000). Cette induction est associée à une infiltration très rapide de macrophages (Poirier et al. 2006). Les données de nombreuses études réalisées *in vitro* permettent d'envisager le mécanisme de régulation suivant : l'isomère 10t,12c déclencherait une activation de la voie NF κ B à l'origine de l'augmentation de la production de cytokines inflammatoires. Les cytokines déclencheraient une activation de la voie ERK1/2 à l'origine d'une diminution de l'activité du Peroxisome Proliferator Activated-Receptor gamma (PPAR γ) et de l'expression de ses gènes cibles (Brown et al. 2004; Brown and McIntosh 2003; Kennedy et al. 2008; Poirier et al. 2006). Cette cascade d'événements serait à l'origine d'une diminution de la capacité de captage du glucose et de la synthèse de triglycérides associées à une insulino-résistance et une lipolyse intense (Kennedy et al. 2010b). L'augmentation de l'expression des cytokines inflammatoires dans le tissu adipeux n'est cependant pas associée à une élévation de leur concentration plasmatique.

Chez l'Homme, à notre connaissance, aucune étude publiée à ce jour ne mentionne l'effet des CLA sur le taux de cytokines inflammatoires et de macrophages dans le tissu adipeux de sujets sains ou obèses.

Concernant PPAR γ , une étude publiée en 2007 mentionne que son expression est augmentée dans le tissu adipeux blanc d'hommes sains supplémentés pendant 14 semaines avec 3,76 g d'un mélange contenant une proportion équivalente des deux principaux isomères (35%/35%) (Nazare et al. 2007). *A contrario*, une autre étude rapporte une diminution de l'expression génique de PPAR γ dans le tissu adipeux de sujets supplémentés avec 4,25 g d'acides gras contenant 3,2 g soit d'un mélange équimolaire des principaux isomères, soit d'un des deux isomères purifiés, soit d'acide linoléique (groupe témoin). L'effet de chaque supplémentation a été analysé pendant 28 jours sur l'ensemble des participants qui étaient homozygotes pour PPAR γ 2 Ala12Ala (15 individus) ou pour PPAR γ 2 Pro12Pro (23 individus). Les résultats de cette étude confirment que l'acide ruménique déclenche des effets d'une amplitude beaucoup plus faible que ceux observés avec l'isomère 10t,12c. En revanche, la chute de l'expression de PPAR γ ne semble pas avoir de conséquence sur l'expression de ses gènes cibles (Herrmann et al. 2009).

Par conséquent, la rareté des données publiées chez l'Homme ne permet pas à l'heure actuelle d'écartier définitivement qu'une supplémentation avec une dose élevée de 10t,12c ne déclenche une inflammation du tissu adipeux blanc comme cela est observé chez la souris.

Par ailleurs, des études *in vivo* et *in vitro* ont permis de montrer que l'isomère 10t,12c active le stress du réticulum et l'inflammation (LaRosa et al. 2007). Le réticulum endoplasmique (RE) est un compartiment cellulaire important pour la biosynthèse de la totalité des protéines produites dans les cellules. Le flux de protéines à travers le RE doit être très finement contrôlé, afin d'empêcher tout dérèglement de l'homéostasie et le stress du RE. Le stress du RE déclenche une signalisation en cascade connue sous le nom de UPR - Unfolded Protein Response ou repliement des protéines en réponse à un stress, qui module le fonctionnement cellulaire et peut conduire à l'apoptose. Cette augmentation du stress du RE sous l'action du 10t,12c conduit aussi à une apoptose dans les adipocytes (Ou et al. 2008). Les mécanismes moléculaires impliqués dans l'effet pro-inflammatoire de l'isomère 10t,12c ont été récemment étudiés dans les adipocytes humains et ces études suggèrent que la voie de signalisation de c-Jun kinase est une cible du CLA (Martinez et al. 2011; Kennedy et al. 2009).

- Les leucocytes (Tableau 2 en annexe)

Les leucocytes (granulocytes, lymphocytes et monocytes) sont des cellules du système immunitaire dont le nombre augmente en cas d'infection ou de réactions inflammatoires.

Plusieurs équipes ont étudié l'effet des CLA sur le nombre de leucocytes circulants (Gauillier et al. 2004; Gauillier et al. 2005; Larsen et al. 2006; Whigham et al. 2004). Quatre études sur cinq rapportent une augmentation significative du nombre de leucocytes. Seule l'étude de Whigham *et al.* publiée en 2004, utilisant une très forte dose de CLA (6 g/j) d'un mélange équimolaire des deux principaux isomères, n'observe pas chez des sujets obèses d'effet sur les lymphocytes, ni sur les neutrophiles ni sur les monocytes après une année de supplémentation (Whigham et al. 2004).

L'effet des CLA sur la concentration circulante de leucocytes doit être analysé avec prudence, puisque d'une part les études en général ne différencient pas les différentes classes de leucocytes et d'autre part les variations obtenues sont de faibles amplitudes.

- Les marqueurs de la peroxydation lipidique (Tableau 3 en annexe)
 - La 8-iso-prostaglandine F2 α issue de la peroxydation non enzymatique (marqueur du stress oxydant) et la 15-keto-prostaglandine F2 α issue de la peroxydation enzymatique (marqueur de l'inflammation)

Les études récentes confirment que les CLA sont à l'origine d'une augmentation des marqueurs de la peroxydation des lipides. En effet, le taux urinaire du 8-iso-prostaglandine F2 α (8-iso-PGF2 α) est augmenté de 170 % dans le cas d'une supplémentation pendant 3 semaines d'un mélange de CLA contenant un rapport 9c,11t/10t,12c de 80/20 sous forme d'un enrichissement de margarine et de yaourts (7 % de l'énergie totale consommée) (Smit et al. 2011). Le mélange de CLA a donc un effet beaucoup plus important que celui retrouvé dans le cas des acides gras *trans* (principalement du C18 :1, *trans*) issus d'une huile hydrogénée puisque ces derniers n'augmentent le taux urinaire du 8-iso-PGF2 α que de 19 % (Smit et al. 2011).

De plus, Turpeinen *et al.* en 2008 ont démontré qu'une supplémentation sous forme de capsules pendant 12 semaines contenant un mélange de 2 g de CLA majoritairement sous forme d'acide ruménique (65,3 % d'acide ruménique et 8,5 % de 10t,12c) augmente l'excrétion urinaire du 8-iso-PGF2 α et de la 15-keto-prostaglandine-F2 α , respectivement d'environ 60 % et 85 % (Turpeinen et al. 2008).

Enfin, une supplémentation avec 4,5 g/j d'un mélange équimolaire de CLA pendant 4 semaines, augmente les marqueurs urinaires de la peroxydation des lipides chez des hommes en surpoids (Pfeuffer et al. 2011). Cependant, les CLA ne modifient pas les fonctions endothéliales, ni les autres marqueurs du syndrome métabolique ou du stress oxydant. Par conséquent, les auteurs suggèrent que les CLA n'augmentent pas le risque cardio-vasculaire et que les isoprostanes F(2) dans ce contexte pourraient ne pas indiquer une augmentation du stress oxydant.

L'induction des prostaglandines 2 α est également retrouvée *in vitro* dans des cultures d'adipocytes humains (Kennedy et al. 2009), de souris (Hargrave-Barnes et al. 2008) et dans les 3T3-L1 traités avec l'isomère 10t,12c (Jiang et al. 2011). Le taux de triglycérides retrouvé dans ces cellules semble être influencé par l'élévation des concentrations d'ARNm de COX2. Ces prostaglandines F2 inhiberaient l'adipogénèse en diminuant l'activité du PPAR γ .

- Autres marqueurs de la peroxydation des lipides

Une étude récente qui analyse l'effet d'une supplémentation de CLA (2,4 g/j d'un mélange équimolaire) pendant 8 semaines, ne rapporte pas de modification de la peroxydation des lipides, ni du métabolisme antioxydant en estimant plusieurs paramètres comme le Total Radical-trapping Antioxidant Potential (TRAP), l'activité d'enzymes comme la superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion peroxydase et la concentration des vitamines antioxydantes liposolubles (Kim et al. 2011).

Le niveau de LDL oxydés ne semble pas être altéré par une supplémentation de CLA contenant une proportion équimolaire des deux principaux isomères ou étant enrichie en acide ruménique. Les auteurs suggèrent que les CLA n'affectent pas le niveau du stress oxydant chez l'Homme en surpoids (Joseph et al. 2011).

- Conclusion sur les marqueurs de l'inflammation et du stress oxydant

L'analyse de la littérature récente (postérieure aux avis de l'EFSA ou non citées dans ces rapports) confirme qu'une supplémentation journalière d'un mélange contenant 50 % des deux principaux isomères (9c,11t et 10t,12c) est à l'origine d'une augmentation des marqueurs du stress oxydant issus de la peroxydation non enzymatique (8-iso-prostaglandine F2 α) des lipides. L'augmentation de la peroxydation des lipides chez l'Homme est maximale sous l'effet de l'isomère 10t,12c. Cette augmentation peut être importante (+170 %) et supérieure à celle observée avec une quantité équivalente d'acides gras *trans* comme le C18 :1,*trans*. Cependant la stabilité des autres marqueurs du stress oxydant (concentrations circulante de LDL oxydées, activité des dismutases), l'absence d'effet de la vitamine E sur le taux de 8-iso-prostaglandines F2 α observé chez les sujets supplémentés avec des CLA (Smedman, 2004) ainsi que l'altération du catabolisme des isoprostanes par les CLA liée à une compétition au niveau de la β -oxydation peroxysomale (Iannone, 2009), suggèrent que l'élévation des marqueurs de la peroxydation des lipides ne soit pas uniquement le reflet d'une augmentation du stress oxydant.

Par ailleurs, cette analyse conforte la précédente quant à l'augmentation de certains marqueurs de l'inflammation comme la 15-keto-prostaglandine F2 α , et dans certaines études de la concentration circulante de CRP. En revanche, les CLA ne semblent pas avoir d'impact sur la concentration plasmatique des cytokines inflammatoires dans les études menées *in vivo* chez l'Homme ou l'animal. De plus, des études rapportent que la concentration circulante de leucocytes est légèrement augmentée lors d'une supplémentation avec des CLA.

Enfin les études récentes qui montrent une inflammation du tissu adipeux blanc chez la souris et une activation du stress du réticulum dans des cultures d'adipocytes humains doivent être prises en considération pour une nouvelle évaluation des effets du mélange de CLA chez l'Homme.

▪ **Conclusion du CES**

Le CES Nutrition humaine a évalué, sur la base des études non incluses dans l'avis de 2009 de l'Efsa ou publiées postérieurement, les risques liés à la consommation de CLA :

- risques liés à une modification des lipoprotéines circulantes (augmentation du rapport LDL-C/HDL-C) ;
- risques liés à l'augmentation de l'insulinorésistance, en particulier chez les diabétiques ;
- risques liés à l'augmentation de marqueurs de l'inflammation.

De cette évaluation il ressort qu'aucune de ces études ne rapporte d'effet bénéfique des mélanges d'isomères 9c,11t et 10t,12c sur les facteurs lipidiques de risque des maladies cardiovasculaires (LDL-C, HDL-C, triglycérides, LDL-C/HDL-C). En revanche, des effets indésirables ou délétères sont parfois rapportés, notamment l'augmentation du rapport LDL-C/HDL-C.

En ce qui concerne l'insulino-résistance, de nombreuses études *in vitro* et chez l'animal ont montré un effet délétère de l'isomère 10t,12c. Cependant, aucune étude chez l'Homme n'est disponible pour évaluer la pertinence de ces résultats chez l'Homme. Dans la mesure où les nouvelles études réalisées avec des mélanges équimolaires d'isomères 9c,11t (acide ruménique) et 10t,12c sont discordantes et rapportent dans la moitié des cas un effet délétère sur l'insulino-sensibilité, elles confirment les réserves précédemment exprimées par l'Afssa dans le rapport sur les acides gras *trans* (Afssa 2005) et dans ses avis des 23 mars 2007 et 11 juillet 2008.

Enfin, en ce qui concerne l'inflammation et le stress oxydant, les nouvelles données de la littérature confirment qu'une consommation d'un mélange de CLA contenant 50 % d'acide ruménique et 50 % de 10t,12c augmente chez l'Homme :

- les marqueurs du stress oxydant (8-iso-prostaglandine F2 α). L'effet observé semble supérieur à celui retrouvé en cas de tabagisme (Tomey et al. 2007) ou d'une consommation équivalente d'acide gras *trans* (C18 :1, *trans*).
- certains marqueurs de l'inflammation (augmentation du taux plasmatique de CRP dans certaines études, du taux de 15-keto-prostaglandine F2 α et du nombre de leucocytes circulants).

Ces résultats doivent toutefois être nuancés puisque :

- Certains auteurs suggèrent que dans ce contexte l'élévation du taux de 8-iso-prostaglandine F2 α n'est pas uniquement le reflet d'une augmentation du stress oxydant.
- L'élévation des concentrations circulantes de CRP et de leucocytes observées chez des individus supplémentés avec des CLA est de faible amplitude.

L'isomère 10t,12c est également à l'origine d'une inflammation du tissu adipeux blanc retrouvée *in vivo* chez la souris et *in vitro* sur des cultures d'adipocytes humains.

Comme pour l'insulino-résistance, il semble que l'isomère 10t,12c est à l'origine des principaux effets identifiés comme l'augmentation des marqueurs de la peroxydation des lipides ou de l'inflammation. Comme l'Afssa l'a formulé en 2005 les travaux ne rapportant pas de risque « des mélanges équipondéraux de 18 :2 9c,11t et 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 ».

Ainsi les nouvelles données évaluées ne rapportent aucun effet bénéfique sur les paramètres étudiés, mais parfois des effets délétères des mélanges de CLA. Si ces effets délétères s'associent, le risque cardiovasculaire et de syndrome métabolique pourrait être majoré. Le CES « Nutrition humaine » estime donc que les nouvelles données disponibles ne permettent pas de lever les doutes sur les risques liés à la consommation de mélanges de CLA.

Ainsi, le CES « nutrition humaine » estime que ces nouvelles données justifient une nouvelle saisine de l'Agence européenne, afin de proposer un nouveau projet d'autorisation d'un nouvel ingrédient à base de CLA.

5. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Anses reprend à son compte l'intégralité des conclusions du CES « nutrition humaine ».

Le directeur général

Marc MORTUREUX

MOTS-CLES

Mots clés :

Acide ruménique, insulino-résistance, insulino-sensibilité, cardiovasculaire, inflammation, risque

BIBLIOGRAPHIE

Références

- Afssa (2005) Rapport. Risque et bénéfices pour la santé des acides gras *trans* apportés par les aliments - Recommandations.
- Aryaeian, N, Shahram, F, Djalali, M, Eshragian, M R, Djazayeri, A, Sarrafnejad, A, Naderi, N, Chamari, M, Fatehi, F & Zarei, M (2008) Effect of conjugated linoleic acid, vitamin E and their combination on lipid profiles and blood pressure of Iranian adults with active rheumatoid arthritis. *Vasc Health Risk Manag*, 4, 1423-32.
- Basu, S, Riserus, U, Turpeinen, A & Vessby, B (2000a) Conjugated linoleic acid induces lipid peroxidation in men with abdominal obesity. *Clin Sci (Lond)*, 99, 511-6.
- Basu, S, Smedman, A & Vessby, B (2000b) Conjugated linoleic acid induces lipid peroxidation in humans. *FEBS Lett*, 468, 33-6.
- Brown, A W, Trenkle, A H & Beitz, D C (2011) Diets high in conjugated linoleic acid from pasture-fed cattle did not alter markers of health in young women. *Nutr Res*, 31, 33-41.
- Brown, J M, Boysen, M S, Chung, S, Fabiyi, O, Morrison, R F, Mandrup, S & McIntosh, M K (2004) Conjugated linoleic acid induces human adipocyte delipidation: autocrine/paracrine regulation of MEK/ERK signaling by adipocytokines. *J Biol Chem*, 279, 26735-47.
- Brown, J M & McIntosh, M K (2003) Conjugated linoleic acid in humans: regulation of adiposity and insulin sensitivity. *J Nutr*, 133, 3041-6.
- 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. *Productions Animales*, 14, 323-335.
- 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. *Journal of Food Composition and Analysis*, 5, 185-197.
- Desroches, S, Chouinard, P Y, Galibois, I, Corneau, L, Delisle, J, Lamarche, B, Couture, P & Bergeron, N (2005) Lack of effect of dietary conjugated linoleic acids naturally incorporated into butter on the lipid profile and body composition of overweight and obese men. *Am J Clin Nutr*, 82, 309-19.
- Gardner, C D & Kraemer, H C (1995) Monounsaturated versus polyunsaturated dietary fat and serum lipids. A meta-analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 15, 1917-27.
- Gaullier, J M, Halse, J, Hoivik, H O, Høy, K, Syvertsen, C, Nurminiemi, M, Hassfeld, C, Einerhand, A, O'Shea, M & Gudmundsen, O (2007) Six months supplementation with conjugated linoleic acid induces regional-specific fat mass decreases in overweight and obese. *Br J Nutr*, 97, 550-60.
- Gaullier, J M, Halse, J, Høy, K, Kristiansen, K, Fagertun, H, Vik, H & Gudmundsen, O (2004) Conjugated linoleic acid supplementation for 1 y reduces body fat mass in healthy overweight humans. *Am J Clin Nutr*, 79, 1118-25.
- Gaullier, J M, Halse, J, Høy, K, Kristiansen, K, Fagertun, H, Vik, H & Gudmundsen, O (2005) Supplementation with conjugated linoleic acid for 24 months is well tolerated by and reduces body fat mass in healthy, overweight humans. *J Nutr*, 135, 778-84.
- Halade, G V, Rahman, M M & Fernandes, G (2010) Differential effects of conjugated linoleic acid isomers in insulin-resistant female C57Bl/6J mice. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 21, 332-337.
- Hargrave-Barnes, K M, Azain, M J & Miner, J L (2008) Conjugated linoleic acid-induced fat loss dependence on Delta6-desaturase or cyclooxygenase. *Obesity (Silver Spring)*, 16, 2245-52.
- Herrmann, J, Rubin, D, Hasler, R, Helwig, U, Pfeuffer, M, Auinger, A, Laue, C, Winkler, P, Schreiber, S, Bell, D & Schrezenmeir, J (2009) Isomer-specific effects of CLA on gene expression in human adipose tissue depending on PPARgamma2 P12A polymorphism: a double blind, randomized, controlled cross-over study. *Lipids Health Dis*, 8, 35.
- Hommelberg, P P, Plat, J, Remels, A H, van Essen, A L, Kelders, M C, Mensink, R P, Schols, A M & Langen, R C (2010) Trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid inhibits skeletal muscle differentiation and GLUT4 expression independently from NF-kappaB activation. *Mol Nutr Food Res*, 54, 1763-72.
- Jiang, S, Chen, H, Wang, Z, Riethoven, J J, Xia, Y, Miner, J & Fromm, M (2011) Activated AMPK and prostaglandins are involved in the response to conjugated linoleic acid and are sufficient to cause lipid reductions in adipocytes. *J Nutr Biochem*, 22, 656-64.

- Joseph, S V, Jacques, H, Plourde, M, Mitchell, P L, McLeod, R S & Jones, P J (2011) Conjugated linoleic acid supplementation for 8 weeks does not affect body composition, lipid profile, or safety biomarkers in overweight, hyperlipidemic men. *J Nutr*, 141, 1286-91.
- Juanéda, P, Brac De la Périère, S, Sébédio, J L & Grégoire, S (2003) Influence of Heat and Refining on Formation of CLA Isomers in Sunflower Oil. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 80, 937-940.
- Juanéda, P, Cordier, O, Grégoire, S & Sébédio, J L (2001) Conjugated linoleic acid (CLA) isomers in heat-treated vegetable oils. *OCL - Oleagineux Corps gras Lipides*, 8, 94-97.
- Kennedy, A, Chung, S, LaPoint, K, Fabiyi, O & McIntosh, M K (2008) Trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid antagonizes ligand-dependent PPARgamma activity in primary cultures of human adipocytes. *J Nutr*, 138, 455-61.
- Kennedy, A, Martinez, K, Chung, S, LaPoint, K, Hopkins, R, Schmidt, S F, Andersen, K, Mandrup, S & McIntosh, M (2010a) Inflammation and insulin resistance induced by trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid depend on intracellular calcium levels in primary cultures of human adipocytes. *J Lipid Res*, 51, 1906-17.
- Kennedy, A, Martinez, K, Schmidt, S, Mandrup, S, LaPoint, K & McIntosh, M (2010b) Antiobesity mechanisms of action of conjugated linoleic acid. *J Nutr Biochem*, 21, 171-9.
- Kennedy, A, Overman, A, Lapoint, K, Hopkins, R, West, T, Chuang, C C, Martinez, K, Bell, D & McIntosh, M (2009) Conjugated linoleic acid-mediated inflammation and insulin resistance in human adipocytes are attenuated by resveratrol. *J Lipid Res*, 50, 225-32.
- Kim, J, Paik, H D, Shin, M J & Park, E (2011) Eight weeks of conjugated linoleic acid supplementation has no effect on antioxidant status in healthy overweight/obese Korean individuals. *Eur J Nutr*.
- Lambert, E V, Goedecke, J H, Bluett, K, Heggie, K, Claassen, A, Rae, D E, West, S, Dugas, J, Dugas, L, Meltzer, S, Charlton, K & Mohede, I (2007) Conjugated linoleic acid versus high-oleic acid sunflower oil: effects on energy metabolism, glucose tolerance, blood lipids, appetite and body composition in regularly exercising individuals. *Br J Nutr*, 97, 1001-11.
- LaRosa, P C, Miner, J, Xia, Y, Zhou, Y, Kachman, S & Fromm, M E (2006) Trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid causes inflammation and delipidation of white adipose tissue in mice: a microarray and histological analysis. *Physiol Genomics*, 27, 282-94.
- LaRosa, P C, Riethoven, J J, Chen, H, Xia, Y, Zhou, Y, Chen, M, Miner, J & Fromm, M E (2007) Trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid activates the integrated stress response pathway in adipocytes. *Physiol Genomics*, 31, 544-53.
- Larsen, T M, Toubro, S, Gudmundsen, O & Astrup, A (2006) Conjugated linoleic acid supplementation for 1 y does not prevent weight or body fat regain. *Am J Clin Nutr*, 83, 606-12.
- Lavillonnière, F, Martin, J C, Bougnoux, P & Sébédio, J L (1998) Analysis of conjugated linoleic acid isomers and content in French cheeses. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75, 343-352.
- Malpuech-Brugere, C, Mouriot, J, Boue-Vaysse, C, Combe, N, Peyraud, J L, LeRuyet, P, Chesneau, G, Morio, B & Chardigny, J M (2010) Differential impact of milk fatty acid profiles on cardiovascular risk biomarkers in healthy men and women. *Eur J Clin Nutr*, 64, 752-9.
- Martinez, K, Kennedy, A & McIntosh, M K (2011) JNK Inhibition by SP600125 Attenuates trans-10, cis-12 Conjugated Linoleic Acid-Mediated Regulation of Inflammatory and Lipogenic Gene Expression. *Lipids*, 46, 885-92.
- Mensink, R P, Zock, P L, Kester, A D & Katan, M B (2003) Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *Am J Clin Nutr*, 77, 1146-55.
- Moloney, F, Yeow, T P, Mullen, A, Nolan, J J & Roche, H M (2004) Conjugated linoleic acid supplementation, insulin sensitivity, and lipoprotein metabolism in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr*, 80, 887-95.
- 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. *Journal of Chromatographic Science*, 29, 324-330.
- Motard-Belanger, A, Charest, A, Grenier, G, Paquin, P, Chouinard, Y, Lemieux, S, Couture, P & Lamarche, B (2008) Study of the effect of trans fatty acids from ruminants on blood lipids and other risk factors for cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr*, 87, 593-9.
- Mullen, A, Moloney, F, Nugent, A P, Doyle, L, Cashman, K D & Roche, H M (2007) Conjugated linoleic acid supplementation reduces peripheral blood mononuclear cell interleukin-2 production in healthy middle-aged males. *J Nutr Biochem*, 18, 658-66.

- Naumann, E, Carpentier, Y A, Saebo, A, Lassel, T S, Chardigny, J M, Sebedio, J L & Mensink, R P (2006) Cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid (CLA) do not affect the plasma lipoprotein profile in moderately overweight subjects with LDL phenotype B. *Atherosclerosis*, 188, 167-74.
- Nazare, J A, de la Perriere, A B, Bonnet, F, Desage, M, Peyrat, J, Maitrepierre, C, Louche-Pelissier, C, Bruzeau, J, Goudable, J, Lassel, T, Vidal, H & Laville, M (2007) Daily intake of conjugated linoleic acid-enriched yoghurts: effects on energy metabolism and adipose tissue gene expression in healthy subjects. *Br J Nutr*, 97, 273-80.
- Nugent, A P, Roche, H M, Noone, E J, Long, A, Kelleher, D K & Gibney, M J (2005) The effects of conjugated linoleic acid supplementation on immune function in healthy volunteers. *Eur J Clin Nutr*, 59, 742-50.
- Ou, L, Wu, Y, Ip, C, Meng, X, Hsu, Y C & Ip, M M (2008) Apoptosis induced by t10,c12-conjugated linoleic acid is mediated by an atypical endoplasmic reticulum stress response. *J Lipid Res*, 49, 985-94.
- Pfeuffer, M, Fielitz, K, Laue, C, Winkler, P, Rubin, D, Helwig, U, Giller, K, Kammann, J, Schwedhelm, E, Boger, R H, Bub, A, Bell, D & Schrezenmeir, J (2011) CLA does not impair endothelial function and decreases body weight as compared with safflower oil in overweight and obese male subjects. *J Am Coll Nutr*, 30, 19-28.
- Poirier, H, Niot, I, Clement, L, Guerre-Millo, M & Besnard, P (2005) Development of conjugated linoleic acid (CLA)-mediated lipoatrophic syndrome in the mouse. *Biochimie*, 87, 73-9.
- Poirier, H, Shapiro, J S, Kim, R J & Lazar, M A (2006) Nutritional Supplementation With trans-10, cis-12-Conjugated Linoleic Acid Induces Inflammation of White Adipose Tissue. *Diabetes*, 55, 1634-41.
- Poudyal, H, Panchal, S K, Diwan, V & Brown, L (2011) Omega-3 fatty acids and metabolic syndrome: Effects and emerging mechanisms of action. *Prog Lipid Res*, 50, 372-387.
- Racine, N M, Watras, A C, Carrel, A L, Allen, D B, McVean, J J, Clark, R R, O'Brien, A R, O'Shea, M, Scott, C E & Schoeller, D A (2010) Effect of conjugated linoleic acid on body fat accretion in overweight or obese children. *Am J Clin Nutr*, 91, 1157-64.
- Raff, M, Tholstrup, T, Basu, S, Nonboe, P, Sorensen, M T & Straarup, E M (2008) A diet rich in conjugated linoleic acid and butter increases lipid peroxidation but does not affect atherosclerotic, inflammatory, or diabetic risk markers in healthy young men. *J Nutr*, 138, 509-14.
- Ramakers, J D, Plat, J, Sebedio, J L & Mensink, R P (2005) Effects of the individual isomers cis-9,trans-11 vs. trans-10,cis-12 of conjugated linoleic acid (CLA) on inflammation parameters in moderately overweight subjects with LDL-phenotype B. *Lipids*, 40, 909-18.
- Riserus, U, Basu, S, Jovinge, S, Fredrikson, G N, 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, 1925-9.
- 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, 279-83.
- Sluijs, I, Plantinga, Y, De Roos, B, Mennen, L I & Bots, M L (2010) Dietary supplementation with cis-9,trans-11 conjugated linoleic acid and aortic stiffness in overweight and obese adults. *American Journal of Clinical Nutrition*, 91, 175-183.
- Smedman, A, Basu, S, Jovinge, S, Fredrikson, G N & Vessby, B (2005) Conjugated linoleic acid increased C-reactive protein in human subjects. *Br J Nutr*, 94, 791-5.
- Smedman, A, Vessby, B & Basu, S (2004) Isomer-specific effects of conjugated linoleic acid on lipid peroxidation in humans: regulation by alpha-tocopherol and cyclo-oxygenase-2 inhibitor. *Clin Sci (Lond)*, 106, 67-73.
- Smit, L A, Baylin, A & Campos, H (2010) Conjugated linoleic acid in adipose tissue and risk of myocardial infarction. *American Journal of Clinical Nutrition*, 92, 34-40.
- Smit, L A, Katan, M B, Wanders, A J, Basu, S & Brouwer, I A (2011) A High Intake of trans Fatty Acids Has Little Effect on Markers of Inflammation and Oxidative Stress in Humans. *J Nutr*, 141, 1673-8.
- Sofi, F, Buccioni, A, Cesari, F, Gori, A M, Minieri, S, Mannini, L, Casini, A, Gensini, G F, Abbate, R & Antongiovanni, M (2010) Effects of a dairy product (pecorino cheese) naturally rich in cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid on lipid, inflammatory and haemorrhological variables: A dietary intervention study. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 20, 117-124.
- Song, H J, Grant, I, Rotondo, D, Mohede, I, Sattar, N, Heys, S D & Wahle, K W (2005) Effect of CLA supplementation on immune function in young healthy volunteers. *Eur J Clin Nutr*, 59, 508-17.
- Steck, S E, Chalecki, A M, Miller, P, Conway, J, Austin, G L, Hardin, J W, Albright, C D & Thuillier, P (2007) Conjugated linoleic acid supplementation for twelve weeks increases lean body mass in obese humans. *J Nutr*, 137, 1188-93.

- Taylor, J S, Williams, S R, Rhys, R, James, P & Frenneaux, M P (2006) Conjugated linoleic acid impairs endothelial function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 26, 307-12.
- Tholstrup, T, Raff, M, Straarup, E M, Lund, P, Basu, S & Bruun, J M (2008) An oil mixture with trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid increases markers of inflammation and in vivo lipid peroxidation compared with cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid in postmenopausal women. *J Nutr*, 138, 1445-51.
- Thrush, A B, Chabowski, A, Heigenhauser, G J, McBride, B W, Or-Rashid, M & Dyck, D J (2007) Conjugated linoleic acid increases skeletal muscle ceramide content and decreases insulin sensitivity in overweight, non-diabetic humans. *Appl Physiol Nutr Metab*, 32, 372-82.
- Tomey, K M, Sowers, M R, Li, X, McConnell, D S, Crawford, S, Gold, E B, Lasley, B & Randolph, J F, Jr. (2007) Dietary fat subgroups, zinc, and vegetable components are related to urine F2a-isoprostane concentration, a measure of oxidative stress, in midlife women. *J Nutr*, 137, 2412-9.
- Tricon, S, Burdge, G C, Jones, E L, Russell, J J, El-Khazen, S, Moretti, E, Hall, W L, Gerry, A B, Leake, D S, Grimble, R F, Williams, C M, Calder, P C & Yaqoob, P (2006) Effects of dairy products naturally enriched with cis-9,trans-11 conjugated linoleic acid on the blood lipid profile in healthy middle-aged men. *Am J Clin Nutr*, 83, 744-53.
- Tsuboyama-Kasaoka, N, Takahashi, M, Tanemura, K, Kim, H J, 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, 1534-42.
- Turpeinen, A M, Ylonen, N, von Willebrand, E, Basu, S & Aro, A (2008) Immunological and metabolic effects of cis-9, trans-11-conjugated linoleic acid in subjects with birch pollen allergy. *Br J Nutr*, 100, 112-9.
- Venkatramanan, S, Joseph, S V, Chouinard, P Y, Jacques, H, Farnworth, E R & Jones, P J (2010) Milk enriched with conjugated linoleic acid fails to alter blood lipids or body composition in moderately overweight, borderline hyperlipidemic individuals. *J Am Coll Nutr*, 29, 152-9.
- Wanders, A J, Brouwer, I A, Siebelink, E & Katan, M B (2010) Effect of a high intake of conjugated linoleic acid on lipoprotein levels in healthy human subjects. *PLoS One*, 5, e9000.
- Watras, A C, Buchholz, A C, Close, R N, Zhang, Z & Schoeller, D A (2007) The role of conjugated linoleic acid in reducing body fat and preventing holiday weight gain. *Int J Obes (Lond)*, 31, 481-7.
- Whigham, L D, O'Shea, M, Mohede, I C, Walaski, H P & Atkinson, R L (2004) Safety profile of conjugated linoleic acid in a 12-month trial in obese humans. *Food Chem Toxicol*, 42, 1701-9.
- Whigham, L D, Watras, A C & Schoeller, D A (2007) Efficacy of conjugated linoleic acid for reducing fat mass: a meta-analysis in humans. *Am J Clin Nutr*, 85, 1203-11.

Annexe(s)

Tableau 1 : Etudes humaines analysant l'impact d'une supplémentation avec un mélange de CLA et/ou un des deux isomères majoritaires sur les marqueurs de l'inflammation systémique. Les références citées dans le rapport de l'EFSA (EFSA Journal 2010 ; (5) :1600) sont indiquées dans les cellules grisées.

Reference	Study design	CLA isomers, doses and duration	Results
(Smedman et al. 2005)	53 women and men aged 23-63 years were randomized either in control group (placebo olive oil) or in CLA group. Average of BMI : 25	CLA: 4.2g /day (purity: 76%) C9,t11/t10,c12-CLA: 1/1 3 months	CLA supplementation increased levels of C-reactive protein but not TNF- α , VCAM-1 plasma level.
(Watras et al. 2007)	40 healthy, overweight subjects (age: 18-44 years; BMI: 25-30).	placebo-controlled study of 3.2 g/day CLA 6 months.	CLA did not affect insulin resistance, blood lipids and markers of liver function or markers of inflammation, with the exception of a significant decrease in a biomarker of endothelial dysfunction.
(Gaulhier et al. 2007)	118 healthy, overweight and obese adults. (BMI: 28–32 kg/m ²) were randomized in 2 groups: control and CLA groups.	CLA: 3.4g/day (4.5g Clarinol) cis-9,trans-11 (37.5 %) and trans-10,cis12 (38 %) 6 months	CLA supplementation increased levels of C-reactive protein but not TNF- α or IL-6. However CRP level in CLA group will be in normal range.
(Moloney et al. 2004)	32 subjects with stable, diet-controlled type 2 diabetes were randomized in 2 groups: control and CLA groups.	CLA : 3.0 g/d cis-9,trans-11 CLA and trans-10,cis-12 : 1/1 8 weeks.	C-reactive protein and interleukin 6 plasma levels were stable

Avis de l'Anses
Saisine n° 2011-SA-0185
Saisine(s) liée(s) n° 2008-SA-0176

(Naumann et al. 2006)	92 middle aged (35–65 years) healthy men (n = 51) and women (n = 41) classified as having the LDL phenotype B were included in the study. All subjects were moderately overweight (BMI 25–32.5 kg/m ²)	Group 1: 3 g of high oleic acid sunflower oil. Group 2: 3 g of c9, t11 CLA (80%); Group 3 : 3 g of t10, c12 CLA (80%). 13 weeks	C-reactive protein plasma level was stable
(Ramakers et al. 2005)	42 women and men with a high risk of coronary heart disease characterized by moderate overweight (body-mass index, 25-32.5 kg/m ²) in combination with LDL-phenotype B were randomized in control and CLA group.	3 g of c9,t11 or t10,c12-CLA 13 weeks	C-reactive protein plasma level was stable
(Song et al. 2005)	28 healthy male and female participants aged 25–50 y received either high oleic sunflower oil (reference) or CLA-triglyceride form. A 12-week washout period followed the intervention period.	CLA : 3g/day c9–t11/t10,c12 : 1/1 12 weeks.	CRP plasma level was not affected by CLA supplementation. CLA supplementation decreased the levels of the proinflammatory cytokines, TNF-a and IL-1b, but increased the levels of the anti-inflammatory cytokine, IL-10.
(Mullen et al. 2007)	A double-blind placebo controlled intervention trial in a cohort of healthy middle-aged male volunteers (50 old, BMI 26)	CLA : 2.2 g 50:50 isomeric of (c9, t11)-CLA and (t10, c12)-CLA or placebo 8 weeks.	Inflammatory markers associated with CVD, including IL-6, CRP and fibrinogen, were not affected by CLA supplementation.

Avis de l'Anses
Saisine n° 2011-SA-0185
 Saisine(s) liée(s) n° 2008-SA-0176

(Aryaeian et al. 2008)	A randomized double blind placebo controlled trial was conducted in 87 patients with active Rheumatoid arthritis.	CLA: 2.5 g equivalent to 2 g mixture of 9c,11t and 10t,12c in a rate of 50/50; Group E: vitamin E: 400 mg; Group CE: CLAs and vitamin E 12 weeks	CRP level was not modified by CLA.
(Joseph et al. 2011)	A double-blinded, 3-phase crossover trial was conducted in 36 overweight (BMI : 25 kg/m ²), borderline hypercholesterolemic [LDL-cholesterol (C) : 2.5 mmol/L] men aged 18–60 y. During three 8-wk phases, each separated by a 4-wk washout period, 27 participants consumed under supervision in random order 3.5 g/d of safflower oil (control), a 50:50 mixture of trans 10, cis 12 and cis 9, trans 11 (c9, t11) CLA:Clarinol G-80, and c9, t11 isomer:c9, t11 CLA	Control : 3.5 g/d of safflower oil, 3.5 g/d of a 50:50 mixture of t10, c12 and c9, t11 CLA oil (containing 2.8 g of total CLA), 3.5 g/d of c9,t11 CLA (c9, t11 CLA oil, containing 2.7 g of total CLA) 8 weeks	The current study did not show such an increase in circulating hs-CRP after 8 wk of both CLA treatments compared with control. None of the 2 other serum inflammatory markers (TNF-a and IL-6) analyzed varied upon CLA intake. CLA supplementation for 8 wk did not modify plasma Ox-LDL, suggesting that CLA supplementation does not affect oxidative status in men.

Avis de l'Anses
Saisine n° 2011-SA-0185
Saisine(s) liée(s) n° 2008-SA-0176

(Venkatramanan et al. 2010)	A randomized, 3-phase, crossover, single-blind clinical trial was carried out in moderately overweight, borderline hyperlipidemic individuals who consumed (1) milk naturally enriched in CLA; (2) milk enriched with a synthetic mixture of t-10, c-12 and c-9, t-11 CLA isomers providing 1.3 g/d of CLA; or (3) untreated milk as a control providing 0.2 g/d CLA. Dietary phases were each in duration and were separated by 4-week washout periods	Group 1: in CLA (4.2%) containing c-9, t-11 only providing 1.3 g/d of CLA; Group 2: milk enriched with a 4.2% synthetic mixture of t-10, c-12 and c-9, t-11 CLA isomers providing 1.3 g/d of CLA; Group 3: untreated milk as a control providing 0.2 g/d CLA. 8 weeks	CLA consumption did not significantly affect plasma alanine transaminase, total bilirubin, C-reactive protein, or tumor necrosis factor-alpha concentrations.
(Sluijs et al. 2010)	In a double-blind, randomized, placebo-controlled, parallel group trial, 401 subjects, aged 40–70 years and with a BMI=25, received either CLA or placebo supplements.	4 g CLA/da 2.5 g c9,t11 CLA/day and 0.6 g trans-10,cis-12 CLA/day or placebo supplements 6 months	There was no effect of c9,t11 CLA supplementation on blood pressure, body composition, insulin resistance, or concentrations of lipid, glucose, and C-reactive protein.
(Pfeuffer et al. 2011)	85 overweight men (aged 45-68 years, body mass index 25-35 kg/m ²) were randomized to receive the CLA isomeric mixture, safflower oil, heated safflower oil, or olive oil in double-blind study.	CLA: 4.5 g/day CLA isomeric mixture (c9,t11/t10,c12:1/1) 4 weeks	CRP plasma level was stable

(Nugent et al. 2005)	A total of 55 healthy volunteers (n=20 males, n=35 females) were randomised into one of three study groups who received 3 g/day of a fatty acid blend containing a 50:50 cis-9, trans-11: trans-10, cis-12 CLA isomer blend (control, 2 g linoleic acid).	3 g/day of a fatty acid blend containing: a 50:50 cis-9, trans-11/ trans-10, cis-12 CLA isomer blend (2 g CLA), or a 80:20 cis-9, trans-11: trans-10, cis-12 CLA isomer blend (1.76 g CLA) or linoleic acid (control, 2 g linoleic acid) 8 weeks	Supplementation with the 80:20 CLA isomer blend significantly (Pr0.05) enhanced PHA-induced lymphocyte proliferation. CLA decreased basal interleukin (IL)-2 secretion (Pr0.01) and increased PHA-induced IL-2 and tumor necrosis factor α (TNF α) production (P<0.01). However, these effects were not solely attributable to CLA as similar results were observed with linoleic acid.
(Smit et al. 2011)	25 men and 36 women study in double-blind, randomized, multiple cross over trial with 3 consecutive periods of 21 days. Control (oleic acid), industrial trans fatty acid then CLA.	Oleic sunflower oil, C18:1trans and CLA oil: (c9,t11/t10,c12: 6.9/1.5): 7% total energy of diet Lipids were incorporated in margarine and yogurt drinks 3 weeks	No effect of CLA on plasma levels of inflammatory markers (IL-6, TNF- α , CRP, MCP-1).
(Sofi et al. 2010)	Ten subjects (6 F; 4 M) with a median age of 51.5 followed for 10 weeks a diet containing 200 g/week of cheese naturally rich in CLA (intervention period) and for the same period a diet containing a commercially available cheese of the same quantity (placebo period).	A diet containing 200 g/week of cheese naturally rich in c9,t11-CLA 10 weeks	Dietary intervention with pecorino cheese with a grass naturally rich in cis-9, trans-11 CLA determined a consistent reduction of inflammatory cytokines: IL-6 et TNF- α .

Avis de l'Anses
Saisine n° 2011-SA-0185
 Saisine(s) liée(s) n° 2008-SA-0176

(Steck et al. 2007)	38 participants (13 males and 35 females) (BMI between 30 and 35 kg/m ² were randomized to receive placebo (8 g safflower oil/d), or CLA.	3.2 g/d CLA or 6.4 g/d CLA cis-9, trans-11/ trans-10, cis-12 : 50:50 12 weeks	Significant decreases in serum HDL-cholesterol and sodium, hemoglobin, and hematocrit, and significant increases in serum alkaline phosphatase, C-reactive protein and IL-6 and white blood cells occurred in the 6.4 g/d CLA group, although all values remained within normal limits.
---------------------	--	--	---

Tableau 2 : Impact chez l'Homme d'une supplémentation avec des CLA sur le nombre de leucocytes circulants.

Reference	Study design	CLA isomers, doses and duration	Results
(Gaullier et al. 2004)	180 healthy volunteer men and women aged 18–65 years were randomised in 3 groups.	Group control : 4.5 g olive oil Group FFA CLA: 4.5 g 80% CLA-Free Fatty Acids (3.6 g active CLA isomers), Group TG CLA : 4.5 g 76% CLA-triacylglycerol (3.4 g active isomers) 1 year	Leukocyte number was increased in both CLA groups (5.3 ± 1.62 vs 6.0 ± 1.69 leucocytes ($10^9/L$) after 12 months.
(Larsen et al. 2006)	122 obese healthy subjects (BMI 28) underwent an 8-wk dietary run-in with energy restriction (3300–4200 kJ/d). 101 subjects who lost .8% of their initial body weight were subsequently randomly assigned to a double-blind CLA (n . 51) or placebo (olive oil; n . 50) supplementation regime in combination with a modest hypocaloric diet of .1250 kJ/d.	The 2 treatment groups received either 4.5g CLA oil/day (3.4 g CLA/d) or 4.5 g olive oil) per day. c9,t11 CLA/t10,c12 CLA : 1/1 as triacylglycerols 1 year	Leukocyte number was increased in both CLA groups (6.21 ± 1.43 vs 6.36 ± 1.66 leucocytes ($10^9/L$) after 52 weeks.

(Gaullier et al. 2005)	<p>The 134 (24 men and 110 women) subjects of (Gaullier et al. 2004) who had been randomised in 3 groups as in CLAFFA supplemented with CLA-FFA; group CLATG and group PLAC the placebo (olive oil) group, were supplemented with TG-CLA.</p>	<p>6 opaque soft gel capsules of CLA-TG 4.5 g (3.4 g CLA isomers; Natural Lipids) 12 (Gaullier 2004) + 12 months</p>	<p>Leukocytes were increased in groups supplemented in CLA and previously supplemented with CLAFFA and CLATG during 12 months (exemple CLATG: 5.30 ± 1.57 vs 6.19 ± 1.65 leucocytes ($10^9/L$) after 24 months)</p> <p>Thrombocytes levels at mo 24 had increased in groups CLAFFA and CLATG compared with mo 0 and in group PLAC compared with mo 12 (P . 0.001) In the present study, 2 of 134 subjects had increased levels of transaminases (ASAT and ALAT) at the end of the study. The transaminases levels returned to normal values 4 wk after ending the CLA treatment, indicating that a relation to CLA treatment cannot beexcluded.</p>
(Whigham et al. 2004)	<p>Obese humans who were generally healthy were randomized, in double-blind study consisting of three phases in which subjects were given CLA or placebo. Phase 1 was a low calorie diet (13 kcal/kg desirable weight) for 12 weeks or until 10-20% of initial body weight was lost. In phase 2, from weeks 12 to 28, subjects were re-fed a diet providing 25-30 kcal/kg of desirable body weight. Phase 3 was open label, with subjects from both groups taking CLA from weeks 28 to 52.</p>	<p>given 6 g/day of CLA or placebo CLA: 6g/day c9,t10/T10,c12 : 50/50 1 year</p>	<p>No effect of CLA supplementation on lymphocytes, neutrophils and monocytes. ALAT and ASAT levels were decreased in CLA group.</p>

Tableau 3 : Etudes humaines analysant l'impact d'une supplémentation avec un mélange de CLA et/ou un des deux isomères majoritaires sur les marqueurs de la peroxydation des lipides. Les références citées dans le rapport de l'EFSA (EFSA Journal 2010 ; (5) :1600) sont indiquées dans les cellules grisées.

Reference	Study design	CLA isomers, doses and duration	Results
(Taylor et al. 2006)	Control group : 19 overweight white men (Placebo : olive oil) and CLA group : 21 healthy white men (35 to 60 old; BMI > 27)	CLA : 4.5g/day c9,t11/t10,c12 : 1/1 3 months	Plasma F2 isoprostanes was increased in the CLA groups compared to controls. No effect on TNF-a and CRP
(Basu et al. 2000b)	Control group : 25 healthy subjects (Placebo : olive oil) and CLA group : 28 healthy subjects (23 to 63 old; BMI: 25± 4; men/female: 25/26) n used for statistical analysis: 53	CLA : 4.2g/day c9,t11/t10,c12 : 1/1 3 months	Plasma and urinary (x3) 8-iso-prostaglandin F2a levels were increased in the CLA groups compared to controls. Urinary 15-keto-dihydroprostaglandin F2a level was also increased in CLA group (2 fold).
(Basu et al. 2000a)	Control group : 10 men in metabolic syndrome (Placebo : olive oil, BMI: 31.4 ±1.9) and CLA group : 14 men in metabolic syndrome (manage 53 years; BMI: 32.2±23.4)	CLA : 4.2g/day c9,t11-CLA/t10,c12-CLA : 1/1 1 month	Urinary 8-iso-prostaglandin F2a (marker of non-enzymatic lipid peroxidation) and 15-keto-dihydroprostaglandin F2a (marker of enzymatic lipid peroxidation and systemic inflammation) levels were increased in CLA group by 4 and 2, respectively.
(Riserus et al. 2004)	Control group : 12 abdominally obese white men (Placebo : olive oil, BMI: 30.4±2.5) and CLA group : 13 abdominally obese white men (around 56 old; BMI: 30.6 ±2.0)	CLA : 3g/day c9,t11-CLA (83%), t10,c12-CLA (7.3%) 3 months	Urinary 8-iso-prostaglandin F2a (marker of non-enzymatic lipid peroxidation) and 15-keto-dihydroprostaglandin F2a (marker of enzymatic lipid peroxidation and systemic inflammation) levels were increased in CLA group.

Avis de l'Anses
Saisine n° 2011-SA-0185
Saisine(s) liée(s) n° 2008-SA-0176

(Riserus et al. 2002)	60 men in metabolic syndrome were randomized in 3 groups: Controls, t10,c12-CLA, mixture CLA) (around 56 old; BMi: 30.6 ±2.0)	3.4g/day of olive oil (placebo), purified t10,c12-CLA (76.5%) or CLA mixture (c9,t11 and t10,c12-CLA: 1/1). 3 months	t10c12 CLA markedly increased urinary 8-iso-PGF 2. (578%) and 15-keto-dihydroprostaglandin F2a and plasma C-reactive protein (110%) compared with placebo. TNFa and IL-6 plasma levels were not affected.
(Raff et al. 2008)	38 healthy young men were randomized in 2 groups (placebo: butter, CLA group)	CLA oil : 5.5g/day C9,t11/t10,c12-CLA: 1/1 5 weeks	CLA supplementation markedly increased urinary 8-iso-PGF 2
(Tholstrup et al. 2008)	75 postmenopausal women were randomized in 3 groups: controls (olive oil), mixture CLA group, c9,t11-CLA group. BMi around 25.	Supplementation: 5.5g/day Mixture CLA group: 4.6g/day (c9,t11/t10,c12-CLA: 1/1) c9,t11-CLA group: 5.1g/day (85%) and t10,c12-CLA (7%) 16 weeks	MCP-1 and IL-6 plasma levels were stable. Plasma concentrations of CRP was increased only in CLA mix groups. Urinary 8-iso-PGF2a concentration was increased more in CLA mix group than in c9,t11-CLA group.
(Smedman et al. 2004)	60 men and women were randomized in 3 groups: control group without supplementation, cyclooxygenase 2 (COX-2) inhibitor group (rofecoxib) and a-tocopherol group. The 3 groups were subsequently randomized to take CLA mix or purified t10,c12-CLA	CLA mix (c9,t11/t10,c12: 1/1): 3.4g.day Purified t10,c12-CLA : 4g/day 4 weeks	Plasma and urinary concentration of 8-iso-PGF 2 and 15-keto-dihydroprostaglandin F2a were increased after CLA administration, with a significant larger increase in the t10,c12-CLA group. Only the supplementation with Cox-2 inhibitor counteracted the increase in plasma isoprostane level and 15-keto-dihydroprostaglandin F2a

(Smit et al. 2011)	25 men and 36 women study in double-blind, randomized, multiple cross over trial with 3 consecutive periods of 21 days. Control (oleic acid), industrial trans fatty acid then CLA.	Oleic sunflower oil, C18:1trans and CLA oil: (c9,t11/t10,c12: 6.9/1.5): 7% total energy of diet Lipids were incorporated in margarine and yogurt drinks	CLA and industrial trans fatty acid supplementation increased urinary 8-iso-PGF 2 level by + 170% and + 5%, respectively.
(Kim et al. 2011)	29 healthy overweight/obese participants (2 men, 27 women) were randomized in 2 groups	3 weeks CLA: 2.4g/day C9/t11/t10,c12 : 1/1	No effect of CLA on lipid peroxidation (plasma total radical-trapping antioxidant potential (TRAP) and antioxidant metabolism
(Turpeinen et al. 2008)	A randomised, placebo-controlled study, 40 subjects (20–46 years) with diagnosed birch pollen allergy received. The supplementation began 8 weeks before the birch pollen season and continued throughout the season.	8 weeks 2 g CLA/d in capsules, 65.3 % cis-9, trans-11-CLA and 8.5 % trans-10, cis-12-CLA (n 20), or placebo (high-oleic acid sunflower-seed oil) (n 20) 12 weeks	Total plasma IgE and birch-specific IgE concentrations did not differ between groups, whereas plasma IgA, granulocyte macrophage colony-stimulating factor and eosinophil-derived neurotoxin concentrations were lower after CLA supplementation. Urinary excretion of 8-iso-PGF 2a and 15-keto-dihydro-PGF 2a , a primary PGF 2a metabolite increased in the CLA group.
(Pfeuffer et al. 2011)	85 overweight men (aged 45-68 years, body mass index 25-35 kg/m ²) were randomized to receive the CLA isomeric mixture, safflower oil, heated safflower oil, or olive oil in double-blind study.	CLA: 4.5 g/day CLA isomeric mixture (c9,t11/t10,c12:1/1) 4 weeks	the concentrations of the F(2)-isoprostane 8-iso-prostaglandin F (PGF)(2a) were increased in urine. Increased F(2)-isoprostane concentrations in this context may not indicate increased oxidative stress.

Avis de l'Anses
Saisine n° 2011-SA-0185
 Saisine(s) liée(s) n° 2008-SA-0176

(Joseph et al. 2011)	<p>A double-blinded, 3-phase crossover trial was conducted in 36 overweight (BMI : 25 kg/m²), borderline hypercholesterolemic [LDL-cholesterol (C) : 2.5 mmol/L] men aged 18–60 y. During three 8-wk phases, each separated by a 4-wk washout period, 27 participants consumed under supervision in random order 3.5 g/d of safflower oil (control), a 50:50 mixture of trans 10, cis 12 and cis 9, trans 11 (c9, t11) CLA:Clarinol G-80, and c9, t11 isomer:c9, t11 CLA</p>	<p>Control : 3.5 g/d of safflower oil, 3.5 g/d of a 50:50 mixture of t10, c12 and c9, t11 CLA oil (containing 2.8 g of total CLA), 3.5 g/d of c9,t11 CLA (c9, t11 CLA oil, containing 2.7 g of total CLA)</p> <p>8 weeks</p>	<p>CLA supplementation for 8 wk did not modify plasma Ox-LDL,suggesting that CLA supplementation does not affect oxidative status in men.</p>
----------------------	---	--	---