

NOVÉ POHLEDY NA ROLI LIPIDŮ VE VÝŽIVĚ

Prof. MUDr. Vladimír Bláha, CSc.

Klinika gerontologická a metabolická FN a LF UK, Hradec Králové

Kromě nepříznivého vlivu na sérový lipidogram může konzumace *trans* mononesaturovaných mastných kyselin z hydrogenovaných olejů zvýšit plazmatickou koncentraci markerů chronického zánětu a navodit tak proaterogenní stav. Závěry z epidemiologických studií neumožňují navzájem odlišit kardiovaskulární účinky *trans* mastných kyselin z průmyslově vyráběných produktů a ze živočišných zdrojů. Na rozdíl od in-vitro a experimentálních studií chybí důkazy o rozdílném vlivu dvou nejčastěji se vyskytujících isomerů konjugované kyseliny linolové (CLA) (*cis*9,*trans*11-CLA a *trans*10,*cis*12-CLA) na složení lidského těla. Dlouhodobé podávání nicméně mírně redukuje obsah tuku v těle bez aparentního vlivu na metabolismus glukózy a lipidů. Jsou k dispozici dokonce data o opačných důsledcích suplementace CLA na inzulinovou rezistenci a peroxidace lipidů. Širší doporučení k využití potravinových doplňků obsahujících CLA s cílem intervenovat obezitu vyžaduje další a podrobnější analýzu.

Klíčová slova: tělesné složení, konjugovaná kyselina linolová, metabolismus glukózy, metabolismus lipidů, *trans* mastné kyseliny.

NEW ASPECTS OF LIPIDS IN NUTRITION

Isomeric fatty acids have the same number of carbon and hydrogen atoms, but may have distinct metabolic and health effects. Two well-known examples of isomeric fatty acids are *cis* and *trans* monounsaturated fatty acids, and conjugated isomers of linoleic acid (CLA). Apart from an unfavorable effect on serum lipoproteins, *trans* monounsaturated fatty acids from hydrogenated oils may increase plasma markers for a low-grade inflammatory state. From epidemiological studies, however, it is not possible to conclude if effects of ruminant and industrial *trans* fatty acids on cardiovascular risk are different. In contrast to in-vitro and animal studies, there are no indications that in humans the two most common CLA isomers (*cis*9,*trans*11-CLA and *trans*10,*cis*12-CLA) affect body composition differently. Longer-term supplementation, however, may slightly decrease body fat mass without apparent effects on plasma markers for glucose and lipid metabolism. Other studies have even reported adverse effects of CLA supplementation on insulin resistance and lipid peroxidation. Thus evidence is increasing that *trans* monounsaturated fatty acids from hydrogenated oils increase plasma markers of low-grade chronic inflammation. From epidemiological studies, however, it is not clear if effects of ruminant and industrial *trans* fatty acids on cardiovascular risk are different. Effects of CLA on body composition remain controversial and more research is needed before the widely available CLA supplements should be advocated as an adjunct to control body weight.

Key words: body composition, conjugated linoleic acid, glucose metabolism, inflammation, lipid metabolism, *trans* fatty acids.

Úvod

V naší běžné dietě přijímáme komplexní směs satureovaných a nesatureovaných mastných kyselin. Satureované mastné kyseliny se navzájem liší pouze délkou řetězce, zatímco nesatureované mastné kyseliny mají rozdílný počet, pozici a geometrii dvojných vazeb. Dvě nesatureované mastné kyseliny tak mohou mít totožný počet uhlíkových a vodíkových atomů, ale zcela odlišné vlastnosti. Nazýváme je isomery mastných kyselin. Příkladem je kyselina olejová (*cis*-C18:1(n-9)) a kyselina elaidová (*trans*-C18:1(n-9)) – dva geometrické isomery – dva uhlíkové atomy navzájem spojené dvojnou vazbou mají stejný směr (*cis* konfigurace) nebo obrácenou pozici (*trans* konfigurace). V případě pozičních isomerů (např. *cis*-C18:1(n-9) a *cis*-C18:1(n-7)) je jedinou odlišností poloha dvojná vazba. Obdobně naše dieta je směsí pozičních a geometrických konjugovaných isomerů kyseliny linolové (*cis*-9, *cis*-12 oktadekadienová kyselina). Společné označení této skupiny mastných kyselin je

konjugovaná kyselina linolová (CLA). Isomery mastných kyselin mohou mít rozdílné metabolické vlivy. Například kyselina olejová má pozitivní vliv na sérový lipidogram, protože snižuje LDL (low density lipoprotein) cholesterol a zvyšuje HDL (high density lipoprotein) cholesterol ve srovnání s *trans* mononesaturovanými mastnými kyselinami (14). Různé isomery CLA mají rozdílné účinky na složení těla a metabolismus lipidů (11). Rozdílné působení jednotlivých isomerů mastných kyselin má zásadní dopad na tvorbu dietních doporučení a vývoj potravinových doplňků.

Trans mononesaturované mastné kyseliny

Řada studií prokázala, že *trans* mononesaturované mastné kyseliny derivované z hydrogenovaných olejů a tuků mají nepříznivý dopad na sérový lipidogram. Ve srovnání s *cis* nesaturovanými mastnými kyselinami *trans* mononesaturované mastné kyseliny snižují HDL cholesterolemii a zvyšují koncentraci LDL

cholesterolu a triacylglycerolů (19). Korelace mezi příjmem *trans* mononesaturovaných mastných kyselin a kardiovaskulárním rizikem je v observačních studiích významnější než předpoklad odvozený ze změn lipidogramu (2). Proto předpokládáme, že *trans* mononesaturované mastné kyseliny mají i další, přímý vliv na kardiovaskulární rizikové faktory. Mauger *et al.* (18) prokázali, že konzumace *trans* mononesaturovaných mastných kyselin zvyšuje počet „small, dense“ LDL částic a tak pozitivně koreluje s rizikem kardiovaskulárního onemocnění (15). Předchozí intervenční studie nicméně tento vztah neprokázaly (8). Dvě další studie hodnotily vliv *trans* mastných kyselin na markery chronického zánětu. V tzv. Nurses' Health Study (20) zvýšený příjem *trans* mastných kyselin pozitivně koreloval s koncentrací receptorů solubilního tumor necrosis faktoru α 1 a 2. Zvýšené hodnoty těchto receptorů dokumentují vystupňovanou aktivitu systému tumor necrosis faktoru (1). C-reaktivní protein (CRP) a koncentrace IL-6 neměly vztah

k příjmu *trans* mastných kyselin. V intervenční studii Baera *et al.* (3) přijímalo 50 zdravých dobrovolníků – mužů – šest různých typů diet. Každá dieta byla podávána po dobu 6 týdnů. Autoři prokázali, že záměna 8% energie ze sacharidů prostřednictvím kyseliny olejové nebo stearové (C18:0) plus *trans* mastné kyseliny signifikantně zvyšuje koncentraci CRP v plazmě. Podávání diety obsahující kyselinu laurovou (C12:0), myristovou (C14:0) a palmitovou (C16:0) nebo stearovou nemělo vliv na koncentraci CRP. Diety bohaté na *trans* mastné kyseliny a kyselinu stearovou prokázaly nejméně příznivý vliv na koncentraci IL-6, zatímco E-selektin byl nejvíce zvýšen po podávání diety bohaté na *trans* mastné kyseliny. Koncentrace fibrinogenu byla nejvíce zvýšena po požívání diety obohacené na kyselinu stearovou. Proto autoři studie předpokládají, že jak *trans* mastné kyseliny, tak kyselina stearová mají nepříznivý vliv na plazmatické markery chronického zánětu a jsou tak proaterogenní.

Další důležitou otázkou v oblasti nutriční je to, zda *trans* mastné kyseliny získané ze živočišných produktů mají stejné nepříznivé účinky jako průmyslově produkováné výrobky. Jedním z nejvýznamnějších rozdílů mezi těmito dvěma zdroji *trans* mastných kyselin je pozice dvojně vazby. U živočišných tuků tvoří kyselina vakcenová (*trans*-C18:1(n-7)) 30–50% celkového množství *trans*-C18:1 isomerů. U částečně hydrogenovaných tuků je pozice dvojně vazby nejpravděpodobněji situována mezi polohou (n-12) a (n-4). Kyselina elaidová (*trans*-C18:1(n-9)) zde tvoří 20–30% *trans*-C18:1 isomerů a kyselina vakcenová 10–20% (30).

Jsou k dispozici také dvě prospektivní studie, které předpokládaly vztah mezi *trans* mastnými kyselinami a kardiovaskulárním rizikem při konzumaci *trans* mastných kyselin z hydrogenovaných tuků (22, 29). Další studie tento fenomén nepotvrdila (21). Je třeba kriticky poznamenat, že ve zmíněných sledováních byl hodnocen relativní příjem (tj. quintily příjmu) (22, 29). V praxi je však příjem *trans* monone-saturovaných živočišných mastných kyselin zhruba 2–4x nižší než průmyslově vyráběných hydrogenovaných tuků (22). Vztah dvou typů *trans* mastných kyselin a jejich poměr v dietě a následný dopad na kardiovaskulární riziko nebyl zohledněn. Při porovnání a adjustaci na příjem 2,5 g denně, což je přibližně horní hranice příjmu *trans* mastných kyselin živočišného původu, nebyl vliv mezi dvěma zdroji *trans* mastných kyselin na kardiovaskulární riziko z předchozích studií (21, 22, 29) signifikantní (28).

Clifton *et al.* (7) hodnotil poměr různých *trans* mastných kyselin v tukové tkáni mezi pacienty hospitalizovanými pro první akutní infarkt myokardu a výsledky porovnával

s kontrolami. Vyřazení byli pacienti s předchozím infarktem myokardu, hyperlipidemií nebo diabetem, takže byla minimalizována ta možnost, že pacienti upravili dietní zvyklosti ze zdravotních důvodů resp. že se stravovali cíleně zdravě. Výsledky prokázaly zvýšený obsah *trans* mastných kyselin v tukové tkáni, a to jak tuků živočišného původu, tak průmyslově vyráběných tuků. U dospělých v Costa Rice (4) byl v tukové tkáni, také prokázán zvýšený obsah *trans*-C16:1 (biomarker příjmu živočišných tuků), a obsah *trans*-C18:1 a *trans*-C18:2 byl zvýšen u pacientů s prvním nonfatálním infarktem myokardu. Korelace byla nejtěsnější v případě kyseliny *trans*-C18:2, vyráběné parciální hydrogenací rostlinných olejů.

Konjugovaná kyselina linolová (CLA)

Řada experimentálních studií z posledních let prokazuje zdravotní účinky CLA. Jedná se zejména o pozitivní vliv na obsah tělesného tuku a aktivní tělesné hmoty v experimentech na zvířatech (5). Řada dietních doplňků a přípravků k redukci hmotnosti je obohacována o CLA. Data ze studií v humánní patologii jsou však méně přesvědčivá. Dva současné články dokonce deklarovaly, že suplementace CLA nevede k redukci hmotnosti obézních pacientů (16, 26). Je však třeba odlišit fakt, že humánní studie používaly především směsi různých isomerů CLA a že příznivá změna ve složení těla ve studiích na zvířatech a in-vitro nastala prokazatelně při konzumaci *trans*10, *cis*12-CLA (t10,c12-CLA) ve srovnání s *cis*9, *trans*11-CLA (c9,t11-CLA) (11).

Malpuech-Brugère *et al.* (17) jako první zkoumali, zda se výše uvedené běžné isomery CLA podávané lidem ve formě triacylglycerolů liší v jejich vlivu na složení těla. Během 6 týdnů dostávalo 81 dobrovolníků s nadváhou nápoj, obsahující 3 g slunečnicového oleje bohatého na kyselinu olejovou. Dobrovolníci byli randomizováni do pěti skupin, kterým byl podáván kontrolní nápoj nebo nápoj obohacený o 1,5 nebo 3 g c9,t11-CLA nebo 1,5 či 3 g t10,c12-CLA. Experiment probíhal po dobu dalších 18 týdnů. Po randomizaci a na konci studie byl hodnocen procentuální obsah tělesného tuku a netukové hmoty pomocí duální rentgenové absorptometrie (přesná metoda na hodnocení skladby těla). Dále byl prováděn záznam jídelníčku. Ve srovnání s kontrolní skupinou došlo ke snížení obsahu tělesného tuku o -0,4 kg ve skupině konzumující 1,5 g c9,t11-CLA a o -0,9 kg ve skupině s 3,0 g c9,t11-CLA. Dvě skupiny pacientů konzumující t10,c12-CLA redukovaly o -0,1 resp. o -1,0 kg hmotnosti. Rozdíly mezi skupinami nebyly signifikantní. Aktivní tělesná hmotnost a příjem stravy se mezi skupinami také nelišily. Zdá se, že u jedinců s nadváhou

nemají mastné kyseliny c9,t11-CLA a t10,c12-CLA vliv na vývoj skladby těla. Ani zvýšený příjem CLA nemá žádný vliv.

Gaullier *et al.* (12) v déleodobější studii nicméně prokázal, že směs dvou izomerů CLA u lidí s nadváhou signifikantně snižuje obsah tuku v těle (studie pomocí duální X-ray absorptometrie). Stoosmdesát dobrovolníků denně přijímalo kontrolní kapsle, naplněné olivovým olejem, obsahující 3,6 g CLA jako volné mastné kyseliny, resp. 3,4 g CLA jako triacylglyceroly. Oproti kontrolní skupině došlo k redukci obsahu tuku v těle o -1,9 kg za 12 měsíců, pokud byla CLA podávána ve formě volných mastných kyselin, a o -2,6 kg při podávání ve formě triacylglycerolů. Efekt formy CLA nebyl signifikantně rozdílný. Aktivní tělesná hmotnost se mírně zvýšila. Po 6 měsících suplementace se úbytek tukové hmoty zpomalil, proto autoři předpokládají, že efekt suplementace CLA se projeví až po delší době podávání. Nedošlo ke změnám v koncentraci celkového, LDL ani HDL cholesterolu v séru. Toto zjištění je překvapující. Všeobecně se očekává, že redukce tukové hmoty zlepší sérový lipidogram (9). Navíc došlo k nepříznivé elevaci Lp(a) ve skupině, kde byla CLA podávána ve formě volných mastných kyselin. Glykoregulace nebyla narušena, nedošlo ke změně koncentrace HbA_{1c}. Podobně jako v případě sérových lipoproteinů také toto zjištění je obtížně interpretovatelné, protože redukce hmotnosti obvykle zlepšuje kontrolu glykémie (10). Možným vysvětlením poznatků ze studie (12) je to, že pokles hmotnosti byl relativně nízký, aby se projevil pozitivním ovlivněním metabolismu lipidů a glukózy. Alternativním vysvětlením je však také možnost, že příznivý efekt suplementace CLA na obsah tuku v těle je spojen s nežádoucím ovlivněním metabolismu lipidů a glukózy.

V nedávné době studoval Tricon *et al.* (27) skupinu zdravých mužů, kterým podával tři různé dávky c9,t11-CLA nebo t10,c12-CLA. Každá dávka (cca 0,6, 1,2 resp. 2,5 g denně) a každý izomer byly podávány po dobu 8 následujících týdnů. Nebyl pozorován žádný vliv obou izomerů na složení těla, pravděpodobně na vrub relativně krátké doby suplementace nebo proto, že sledované subjekty neměly nadváhu. Ve srovnání s izomery c9,t11-CLA zvýšilo podávání t10,c12-CLA plazmatickou koncentraci triacylglycerolů, celkového a LDL cholesterolu a glykémii. Terpstra (26) v recentním přehledu uzavírá, že CLA nemá žádný významný vliv na plazmatický lipidogram. Naopak Risérus *et al.* (23) popsal, že podávání CLA negativně ovlivňuje metabolismus glukózy. Při podávání t10,c12-CLA došlo u obézních mužů s metabolickým syndromem ke zvýšení inzulinové rezistence. Konzumace směsi dvou izomerů CLA nevedla ke změně inzulinové rezistence. V jiné studii, s komparativním vzorkem

populace, denní příjem 3g přípravku obsahujícího CLA (zejména c9,t11-CLA (83%)) po dobu 3 měsíců vedl také ke zvýšení inzulínové rezistence (hodnoceno pomocí hyperinzulinemického euglykemického clampu (24)). Glykémie nalačno a koncentrace inzulínu se nezměnila. Navíc bylo prokázáno zvýšení peroxidace lipidů. I když obě zmíněné studie (23, 24) předpokládají, že jednotlivé izomery CLA se liší od směsi obou CLA izomerů, je zřejmé, že k definitivnímu závěru je třeba problém dále studovat. Vliv isomerů CLA je také s největší pravděpodobností závislý na studované populaci, protože u diabetiků 2. typu bylo prokázáno snížení plazmatické koncentrace glukózy (5).

Navodit dlouhodobý pokračující pokles hmotnosti je obtížné. Proto Kamphuis *et al.* (13) studovali vliv směsi CLA na opětovný vzestup tělesné hmotnosti po předchozí redukci. Čtyřiapadesát obézních dobrovolníků nejprve konzumovalo nízkoenergickou dietu po dobu 3 týdnů. Následujících 13 týdnů bylo dobrovolníkům podáváno buď placebo, nebo 1,8g resp. 3,6g CLA. Opětovný vzestup tělesné hmotnosti činil průměrně 40%, suplementace CLA byla bez efektu.

Závěr

Ačkoliv mají geometrické a poziční izomery mastných kyselin korespondující počet a typ atomů, mají zcela rozdílné metabolické charakteristiky. Kromě již dříve známého vlivu na sérový lipidogram přibývá poznatků o nepříznivém vlivu *trans* mononesaturovaných mastných kyselin na plazmatické markery chronického zánětu. Ateroskleróza je v současné době považována za chronické zánětlivé onemocnění (25), a je proto třeba zkoumat a odlišit vlivy *trans* mononesaturovaných mastných kyselin závislé a nezávislé na alteraci plazmatického lipidogramu. V současné chvíli je obtížné uzavřít, zda se v tomto směru uplatňuje také poloha dvojnásobné vazby, protože dietní produkty jsou směsí pozičních izomerů *trans* mononesaturovaných mastných kyselin. Vliv polohy dvojnásobné vazby nebyl u humánní patologie dosud sledován. Klinické studie hodnotící vliv CLA na složení těla nepřinášejí konzistentní výsledky co do účinků přípravků v závislosti na jejich složení a délce aplikace. Nezdá se však, že by u lidí mělo podávání dvou nejčastěji se vyskytujících izomerů CLA (c9,t11-CLA a t10,c12-CLA) vliv na tělesnou skladbu podobně jako ve studiích experimentálních a in-

-vitro. Je evidentní, že dosažení hodnotitelné změny obsahu tuku lze docílit po minimálně 6 měsíčním podávání přípravků CLA. Vliv CLA na obsah tuku v těle není vždy spojen s příznivým ovlivněním metabolického profilu. Jsou popisovány dokonce nepříznivé účinky. Proto

lze závěrem konstatovat, že širší využití potravinových doplňků obsahujících CLA s cílem intervenovat obezitu vyžaduje další a podrobnější analýzu.

Poděkování: Práce byla podpořena výzkumným záměrem MSM0021620820.

Literatura

1. Aderka D. The potential biological and clinical significance of the soluble tumor necrosis factor receptors. *Cytokine Growth Factor Rev* 1996; 146: 231–240.
2. Ascherio A, Katan MB, Zock PL, et al. Trans fatty acids and coronary heart disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 1994–1998.
3. Baer DJ, Judd JT, Clevidence BA, Tracy RP. Dietary fatty acids affect plasma markers of inflammation in healthy men fed controlled diets: a randomized crossover study. *Am J Clin Nutr* 2004; 79: 969–973.
4. Baylin A, Kabagambe EK, Ascherio A, et al. High 18:2 trans-fatty acids in adipose tissue are associated with increased risk of nonfatal acute myocardial infarction in Costa Rican adults. *J Nutr* 2003; 133: 1186–1191.
5. Belury MA, Mahon A, Banni S. The conjugated linoleic acid (CLA) isomer t10,c12-CLA is inversely associated with changes in body weight and serum leptin in subjects with type 2 diabetes mellitus. *J Nutr* 2003; 133: 257S–260S.
6. Belury MA. Dietary conjugated linoleic acid in health: physiological effects and mechanisms of action. *Annu Rev Nutr* 2002; 22: 505–531.
7. Clifton PM, Keogh JB, Noakes M. Trans fatty acids in adipose tissue and the food supply are associated with myocardial infarction. *J Nutr* 2004; 134: 874–879.
8. Cuchel M, Schwab US, Jones PJH, et al. Impact of hydrogenated fat consumption on endogenous cholesterol synthesis and susceptibility of low-density lipoprotein to oxidation in moderately hypercholesterolemic individuals. *Metabolism* 1996; 45: 241–247.
9. Dattilo AM, Kris-Etherton PM. Effects of weight reduction on blood lipids and lipoproteins: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 1992; 56: 320–328.
10. Diabetes Prevention Program Research Group. Reduction in body the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med* 2002; 346: 393–404.
11. Evans ME, Brown JM, McIntosh MK. Isomer-specific effects of conjugated linoleic acid (CLA) on adiposity and lipid metabolism. *J Nutr Biochem* 2002; 13: 508–516.
12. Gaullier J-M, Halse J, Hye K, Kristiansen K, et al. Conjugated linoleic acid supplementation for 1 y reduces body fat mass in healthy overweight humans. *Am J Clin Nutr* 2004; 79: 1118–1125.
13. Kamphuis MMJW, Lejeune MPM, Saris WHM, Westerterp-Plantenga MS. The effect of conjugated linoleic acid supplementation after weight loss on body composition, and resting metabolic rate in overweight subjects. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003; 27: 840–847.
14. Katan MB, Mensink RP, Zock PL. Trans fatty acids and their effects on lipoproteins in man. *Ann Rev Nutr* 1995; 15: 473–493.
15. Kraus RM. Dietary and genetic effects on low-density lipoprotein heterogeneity. *Annu Rev Nutr* 2001; 21: 283–295.
16. Larsen TM, Toubro S, Astrup A. Efficacy and safety of dietary supplements containing CLA for the treatment of obesity: evidence from animal and human studies. *J Lipid Res* 2003; 44: 2234–2241.
17. Malpuech-Brugère C, Verboeket-van de Venne WPHG, Mensink RP, et al. Effects of two conjugated linoleic acid isomers on body fat mass in overweight humans. *Obes Res* 2004; 12: 591–598.
18. Mauger J-F, Lichtenstein AH, Ausman LM, et al. Effect of different forms of dietary hydrogenated fats on LDL particle size. *Am J Clin Nutr* 2003; 78: 370–375.
19. Mensink RP, Zock PL, Kester A, Katan MB. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol ratio and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 1146–1155.
20. Mozaffarian D, Pischon T, Hankinson SE, et al. Dietary intake of trans fatty acids and systemic inflammation in women. *Am J Clin Nutr* 2004; 79: 606–612.
21. Oomen CM, Ocké MC, Feskens EJM, et al. 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* 2001; 357: 746–751.
22. Pietinen P, Ascherio A, Korhonen P, et al. 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* 1997; 145: 876–887.
23. Risérus U, Arner P, Brismar K, Vessby B. Treatment with dietary trans10cis12 conjugated linoleic acid causes isomer-specific insulin resistance in obese men with the metabolic syndrome. *Diabetes Care* 2002; 25: 1516–1521.
24. Risérus U, Vessby B, Årnlöv J, Basu S. Effects of cis9,trans-11 conjugated linoleic acid supplementation on insulin sensitivity, lipid peroxidation, and proinflammatory markers in obese men. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 279–283.
25. Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 115–126.
26. Terpstra AHM. Effect of conjugated linoleic acid on body composition and plasma lipids in human: an overview of the literature. *Am J Clin Nutr* 2004; 79: 352–361.
27. Tricon S, Burdge GC, Kew S, et al. 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* 2004; 80: 614–620.
28. Weggemans RM, Rudrum M, Trautwein EA. Intake of ruminant versus industrial trans fatty acids and risk of coronary heart disease: what is the evidence? *Eur J Lipid Sci Technol* 2004; 106: 390–397.
29. Willett WC, Stampfer MJ, Manson JE, et al. Intake of trans fatty acids and risk of coronary heart disease among women. *Lancet* 1993; 341: 581–585.
30. Wolff RL, Precht D, Molkentin J. Occurrence and distribution profiles of trans-18:1 acids in edible fats of natural origin. In: Sébédio JL, Christie WW, editors. *Trans fatty acids in human nutrition*. Dundee: The Oily Press; 1998: 1–33.