

Metabolik sendromlu bireylerde serbest fitosterol nanopartiküllerinin sulu dispersiyonunun günlük tüketiminin etkileri: Randomize, Çift Kör, Plasebo Kontrollü Klinik Çalışma

Yasna K. Palmeiro-Silva ¹, Raul I. Aravena ², Lisette Ossio ¹ and Javiera Parro Fluxa ¹

¹ Hemşirelik Fakültesi, Universidad de los Andes, Las Condes 7550000, Şili; lisette.ossio@gmail.com (L.O.); jfparro@uandes.cl (J.P.F.)

² Kimya Mühendisliği Bölümü, Imperial College London, London SW7 2BX, UK; rial8@ic.ac.uk

* Yazışma: ypalmeiro@uandes.cl; Tel./Fax: +56-2-226181332

Alınma Tarihi 16 Temmuz 2020; Kabul Tarihi: 5 Ağustos 2020; Yayımlanma Tarihi: 10 Ağustos 2020

Özet: Metabolik sendrom (MS), nüfusun %40'ına kadarını etkiler ve kalp yetmezliği, felç ve diyabet ile ilişkilidir. Fitosteroller (PS), bir veya daha fazla MS kriterinin yönetilmesine yardımcı olabilir. Bu çalışmanın amacı, MS hastalarında altı aylık bir müdahale süresi boyunca, 2 g serbest fitosterol nanopartiküllerinin sulu dispersiyonunun günlük takviyesinin terapötik etkisini plasebo ile karşılaştırarak değerlendirmektir. Bu çift kör çalışma, randomize olarak fitosterol (n = 102) ve plasebo (n = 100) gruplarına ayrılmış 202 MS hastasını içermektedir. Katılımcılar başlangıçta, 4, 12 ve 24. haftalarda değerlendirildi. Genel sağlık soruları, antropometrik ölçümler ve kan parametreleri analiz edildi. 24. haftada, fitosterol grubunda trigliserid düzeyi yüksek (>150 mg/dL) olan katılımcıların oranı, plasebo grubuna göre %15,65 daha düşüktü (p-değeri = 0,023). Benzer şekilde, fitosterol grubundaki katılımcıların yarısı bel çevresini 4 cm'ye kadar azaltırken, plasebo grubunda bu değer 0 cm'dir (p-değeri = 0,0001). Herhangi bir yan etki (ishal veya D vitamini azalması) bildirilmemiştir; bununla birlikte, fitosterol grubundaki katılımcıların yaklaşık %70'i bağırsak alışkanlıklarında iyileşme olduğunu bildirmiştir. Serbest PS nanopartiküllerinin günlük alımı, bazı MS kriterlerini iyileştirmiştir; bu nedenle, MS hastaları için umut verici bir yardımcı tedavi olabilir (NCT02969720).

Anahtar kelimeler: fitosteroller; metabolik sendrom; bel çevresi; trigliseritler; lipoprotein; kabızlık

1. Giriş

Metabolik sendrom (MS), dünya çapında %5 ile %40 arasında bir prevalansa ulaşan, birbiriyle ilişkili fizyolojik ve metabolik değişikliklerin bir kümesidir [1-5]. MS'nin farklı klinik tanımlarına rağmen, lipit profilindeki değişiklikler, hiperglisemi, obezite ve yüksek tansiyon yaygın özelliklerdir [6-12]. Aşırı kilo, obezite ve insülin direnci, MS'nin ana nedenleri olarak gösterilmekte olup, bunlar beslenme ve fiziksel aktivite ile yakından ilişkilidir [13,14]. Tamamlayıcı olarak, MS ve bileşenleri, kısmen kimyasal ve hormonal değişikliklerin neden olduğu hücresel işlev bozukluklarının yanı sıra kümülatif makro- ve mikrovasküler değişiklikler nedeniyle [15,16] kısa ve uzun vadeli kardiyovasküler riskleri artırabilir [16,17]. Bu patofizyolojik bozukluklar kalp yetmezliği, felç ve diyabet riskini artırır [18,19] ve önemli bir hastalık yükü oluşturur [20-22].

MS, genellikle her bir MS kriterine odaklanan yaşam tarzı değişiklikleri ve/veya farmakolojik müdahalelerle önlenir veya kısmen geri döndürülebilir. İkinci durum sıklıkla çoklu ilaç kullanımı [23] ve çoklu advers ilaç olaylarına yol açarak olumsuz sağlık sonuçlarına ve ilaç uyumsuzluğuna neden olmaktadır. [24]. Bu bağlamda, nutrasötikler bu dezavantajları aşmak için doğal alternatifler olarak önerilmiştir. Bu alternatiflerde, fitosteroller (PS) veya bitki steroller, fizyolojik ve metabolik değişiklikleri olan bireyler için yardımcı tedavi olarak değerlendirilmektedir [25, 26].

PS ve fitostanol (PSn), sebze ve meyvelerde doğal olarak bulunan kolesterol benzeri moleküllerdir. PS, 1950'li yıllarda Pollak ve arkadaşlarının PS alımının diyet kolesterol emilimini azaltabileceğini bildirmesinden bu yana serum kolesterolünü yönetmek için önerilmiştir [27]. O zamandan beri, birçok çalışma günlük PS tüketiminin serum toplam kolesterol (TChol) ve düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-c) düzeylerini azaltabileceğini bildirmiştir [28-30]. Ek olarak, PS/PSn alımı diğer fizyolojik ve metabolik parametreleri de iyileştirebilir. Plat ve arkadaşları, 8 hafta boyunca 2 gram PSn tüketen bireylerde, yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol, TChol ve trigliserid (TG) düzeylerinde azalma olduğunu bulmuşlardır [31]. Sialvera ve arkadaşları, iki aylık müdahalenin ardından dört gram



PS tüketen MS hastalarında TChol, LDL-c, TG ve küçük yoğun LDL düzeylerinde azalma gözlemlenmiştir [32]. Buna karşılık, başka bir çalışmada, üç ay boyunca iki gram PS alımının MS hastalarının lipit profilinde iyileşme sağlamadığı gösterilmiştir [33]. Diğer çalışmalar, PS'nin açlık glikozunu [34] ve kan basıncını [35] iyileştirebileceğini belirtmiştir.

Bu farklı bulguları çeşitli faktörler açıklayabilir, örneğin PS/PSn'nin verildiği gıda matrisi, PS/PSn'nin günlük dozu, serbest veya esterleştirilmiş formu ve nüfus özellikleri [36-39]. Özellikle, serbest PS nanopartiküller (<1 pm) hiperkolesterolemik bireylerde PS esterlere kıyasla hipotrigliseridemik etkiler göstermiştir [40]. Ancak, bilginiz dahilinde, MS hastalarında serbest fitosterol nanopartiküllerinin (f-PSnano) sulu dispersiyonunun etkisini değerlendiren hiçbir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmanın temel amacı, altı aylık bir müdahale süresi boyunca MS hastalarına günlük olarak 2 g f-PSnano içeren sulu dispersiyonun terapötik etkisini plasebo ile karşılaştırarak değerlendirmektir. PS tüketiminin MS'li bireylerdeki diğer metabolik değişiklikler üzerindeki etkilerine ilişkin bilginizi genişletmek amacıyla ikincil ve keşifsel analizler yapılmıştır.

2. Malzemeler ve Yöntemler

2.1. Tasarım

Bu çalışma, MS hastalarında f-PSnano'nun paralel, randomize, çift kör, plasebo kontrollü bir denemesidir. Bu deneme, 2018 yılının Ocak ayından Kasım ayına kadar Şili'de birincil bakım merkezi olarak kabul edilen üç merkezde gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, bu çalışma Helsinki Bildirgesi ve İyi Klinik Uygulama kılavuzlarına uygun olarak gerçekleştirilmiş, Şili Doğu Metropolitan Sağlık Hizmetleri Etik Kurulu tarafından onaylanmış ve ClinicalTrials.gov (NCT02969720) kayıtlıdır.

2.2. Katılımcılar

Katılımcılar, aşağıdaki kriterleri karşılamalıydı: (i) 18 ile 65 yaşları arasında olmak; (ii) sabah randevularına katılabilmek; (iii) metabolik sendrom tanısı almış olmak veya çalışmanın başlangıcında tanı kriterlerini karşılamak. Kişi, Alberti ve diğerleri tarafından önerilen MS kriterlerinden (Tablo 1) en az üçünü karşıladığında MS tanısı alır [13]. Öte yandan, aşağıdaki durumlarda katılımcılar çalışmaya dahil edilmedi: (i) alkolle ilgili sorunları olanlar; (ii) ailesinde sitosterolemi veya hiperkolesterolemi öyküsü olanlar; (iii) çalışma sırasında fitosterol tüketenler; (iv) hamile veya emzirenler; (v) miyokard enfarktüsü, inme, dekompanse diyabet veya hipertansiyon öyküsü olanlar; (vi) kendi adına karar veremeyenler; (vii) kilo kontrol hapları kullananlar. Bu çalışma sırasında, ilaç alımı veya beslenme alışkanlıklarında herhangi bir kısıtlama uygulanmamıştır.

Tablo 1. 2009 yılında kabul edilen metabolik sendrom (MS) kriterleri.

Kriter	Kategorik Kesme Noktası
Bel çevresi Trigliseritler	Etnik ve ülkeye özgü tanımlara bağlıdır ¹ >150 mg/dL veya özel tedavi (fibratlar veya nikotinik asit)
Yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL-c)	Erkeklerde <40 mg/dL; kadınlarda <50 mg/dL veya özel tedavi (fibratlar veya nikotinik asit)
Kan basıncı (BP)	Sistolik kan basıncı > 130 veya diyastolik kan basıncı > 85 mmHg veya önceden teşhis edilmiş hipertansiyon tedavisi
Açlık glikemisi	>100 mg/dL veya daha önce tip 2 diyabet tanısı almış

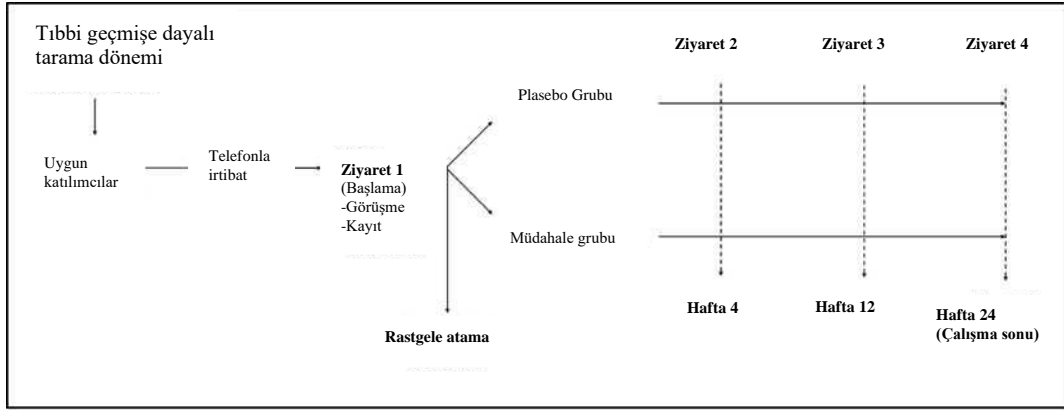
¹ Bu çalışma için Güney Amerika nüfusu dikkate alınmıştır: >90 cm (erkekler) ve >80 cm (kadınlar). Kaynak: [13].

Gerekli katılımcı sayısı, iki bağımsız grup ve başarı/başarısızlık şeklinde ikiye ayrılan sonlanım noktası dikkate alınarak hesaplandı; burada başarı, anormal bir kriterle başlayıp normal bir kriterle sona ermesi olarak kabul edildi (Tablo 1). İstatistiksel parametreler 1:1 kayıt oranı, %5 alfa, %90 güç ve gruplar arasındaki %10 farktı. Bu hesaplama sonucunda 190 katılımcı elde edildi, ancak %15 oranında katılımcı kaybı olacağını göz önünde bulundurarak, nihai örneklem büyüklüğü her grup için 110 katılımcı olarak belirlendi.

2.3. Prosedürler ve Değerlendirmeler

Bu çalışma, bir tarama dönemi, bir başlangıç ziyareti (V1) ve üç ziyaret içeren 24 haftalık müdahale aşamasını kapsamaktadır (Şekil 1).





Şekil 1. Çalışmanın genel şeması.

Katılımcılar, birincil merkezlerdeki tıbbi sağlık kayıtlarından taranmış ve bu çalışma için uygunluk kriterlerini karşılayanlar seçilmiştir. Karşılıyorlar ise baş araştırmacı (PI) tarafından iletişime geçildi ve ilk toplantıya davet edildi. Katılımcılar kabul ederse, V1 düzenlendi ve iki aşamadan oluştu. İlk olarak, PI çalışmayı ayrıntılı olarak açıkladı ve tüm katılımcıların sorularını yanıtladı. Katılımcılar katılmayı kabul edip yazılı bilgilendirilmiş onam verdikten sonra, müdahale grubu veya plasebo grubuna rastgele dağıtıldılar. V1'nin ikinci bölümünde, bir hemşire protokol uyarınca katılımcıları değerlendirdi ve öğle yemeğinde takviyenin nasıl tüketileceğine dair genel talimatlarla birlikte bir beyaz kutu verdi (doğrudan veya bir bardak suyla seyreltilerek). Ayrıca, katılımcılara günlük bir defter verildi. Bu deftere, katılımcılar "ekstra" veya "garip" semptomları, atlanan dozları veya diyet veya düzenli ilaç alımındaki değişiklikleri not edebildiler.

Tüm ziyaretlerde yapılan değerlendirmeler şunları içeriyordu: genel sağlık durumuyla ilgili sorular; ürün toleransı; yaşamsal belirtiler; antropometrik ölçümler; kan testleri; katılımcıların defterlerinin analizi. Özellikle, hayati belirtiler arasında Omron 7120 monitörleri kullanılarak ölçülen kan basıncı (BP) ve kalp atışı hızı (HR) yer almaktaydı. Antropometrik ölçümler boy, kilo ve bel çevresi (WC) idi. Kan analizi, lipit profili (TChol, LDL-c, çok düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (VLDL-c), HDL-c, TG ve lipit partikülleri), biyokimyasal profil (glikozillenmiş hemoglobin (HbA1c), insülin, açlık glikemisi ve insülin direncinin homeostatik model değerlendirmesi (HOMA-IR) indeksi) ve D vitamini değerlerini içermektedir. Kan örnekleri, 12 saatlik açlık sonrasında, pıhtı aktivatörü ve jel serum ayırıcı, sodyum florür/potasyum oksalat ve etilendiamintetraasetik asit (EDTA) içeren tüplere, Vacutainer sistemi® veya gerektiğinde şırınga kullanılarak alınmıştır. Toplandıktan sonra, numuneler kan numune kabına konuldu ve Şili'deki 'Instituto Radiológico Providencia'ya götürüldü. Açlık glikemisi ve insülin, sırasıyla glikoz heksokinaz (Glu-HK) ve kemilüminesans yöntemleri kullanılarak analiz edildi; glikozillenmiş hemoglobin, kapiler elektroforez yöntemi ile elde edildi; lipit profili, kolesterol oksidaz fenol 4-aminoantipirin peroksidaz (CHOD-PAP) yöntemine göre elde edildi ve vitamin D, kemilüminesans yöntemi kullanılarak elde edildi.

Bağırsak alışkanlıkları, kendi algıları ve katılımcıların raporlarına göre değerlendirildi. Katılımcıların veya araştırma ekibinin ihtiyaçlarına göre, çalışma boyunca telefonla iletişim sürdürüldü.

2. ziyaret (V2-4. hafta), 3. ziyaret (V3-12. hafta) ve 4. ziyaret (V4-24. hafta) sırasında katılımcılar protokole göre değerlendirildi ve V4 tedavisinde her katılımcıya ataması açıklandı. Ek Materyallerdeki Tablo S1, her ziyarette hangi değerlendirmenin yapıldığını göstermektedir.

2.4. Randomizasyon ve Maskeleye

Kayıt olduktan sonra, katılımcılar STATA 13.0 yazılımı tarafından oluşturulan basit rastgele bir sıraya göre 1:1 oranında müdahale grubu (fitosterol grubu) veya plasebo grubuna ayrıldı. PI, klinik araştırma hemşirelerine plasebo veya f-PSnano poşetleri içeren kodlanmış beyaz kutular teslim etti. Katılımcılar ve hemşireler bilgilendirilmedi.

2.5. Müdahale

Müdahale grubuna ayrılan katılımcılar, altı aylık bir süre boyunca günde 2 g f-PSnano içeren sulu bir dispersiyon tükettiler. Her bir dispersiyon poşeti (8 ml) çamdan elde edilen f-PSnano, yüzey aktif maddeler (<0,5%) ve su içerir. Kontrol grubundaki katılımcılara titanyum dioksit, ksantan zıncı, karragenan, yüzey aktif maddeler (<0,5%) potasyum sorbat, sitrik asit ve sudan oluşan bir sulu dispersiyon (10 mL) verildi. Ürün ile plasebo arasındaki 2 mL'lik fark, her bir poşetin boyutunu değiştirmez ve fitosteroller/plasebo doğrudan tüketildiğinde veya bir bardak su ile seyreltildiğinde aynı beyaz rengi elde etmek için yapılmıştır.

f-PSnano ve plasebo'nun sulu dispersiyonu Nutrartis S.A. tarafından üretilmiş ve temin edilmiştir. Her katılımcıya çalışma boyunca çift maskeleye sağlamak için 35 adet düz poşet içeren, aynı kodlu beyaz düz küp kutularla teslim



edilmiştir.

2.6. Çıktılar

Birincil sonuç, fitosterol ve plasebo grupları arasında V4'te 'anormal'/normal' MS kriterlerine göre sınıflandırılan katılımcıların oranıydı. Bireylere MS dahil olmak üzere ilaçlarını kesmeleri istenmediğinden, çalışma sonunda MS'ten 'kurtulmuş' katılımcıların oranı değerlendirilemedi. Ancak, her iki grup için V4'te iyileşen MS parametrelerinin oranını, yani 'anormal'den 'normal'e geçiş oranını dikkate aldık. 'Anormal' olarak bel çevresi >90 cm (erkekler) veya >80 cm (kadınlar); trigliserit >150 mg/dL; yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol <40 mg/dL (erkekler) veya <50 mg/dL (kadınlar); sistolik kan basıncı >130 mmHg veya diyastolik kan basıncı >85 mmHg; açlık glikemi >100 mg/dL olarak kabul edildi. Bununla birlikte, bu ikili sınıflandırma, bireyler arasındaki metabolik riskteki önemli farklılıkları gizleyebilir; bu nedenle, genel metabolik sendromun şiddetini daha net bir şekilde belirlemek için Gurka ve arkadaşları tarafından önerilen [41,42] bel çevresi temel alınarak metabolik sendrom şiddet Z skoru (MetS-Z) değerlendirilmiştir. Bu puanın ABD nüfusu temel alınarak oluşturulduğu ve Şili nüfusu için geçerliliğinin doğrulanması gerektiği unutulmamalıdır.

Başlıca ikincil sonuçlar, toplam kolesterol (TChol), LDL-c, çok düşük yoğunluklu lipoproteinler (VLDL-c), yüksek yoğunluklu lipoproteinler (HDL-c), trigliseritler (TG), açlık glikemisi (FG), glikozillenmiş hemoglobin (HbA1c), açlık insülini (FI), HOMA-IR indeksi, vücut ağırlığı, vücut kitle indeksi (BMI), bel çevresi (WC), sistolik ve diyastolik kan basıncı (SBP ve DBF, sırasıyla) V2, V3 ve V4'te, ayrıca her ziyaret ile başlangıç arasındaki fark ve gruplar arasındaki farktı. Keşif amaçlı sonuçlar, her ziyaret sırasında katılımcıların bir alt grubunun lipoprotein parçacık sayısını içeriyordu. Güvenlik sonuçları, olumsuz ve ciddi olayları içermektedir. Çalışmaya başlamadan önce, kolesterol emilimindeki değişiklikler nedeniyle PS tüketiminin bağırsak alışkanlıklarını değiştirebileceğinden, ishal potansiyel bir yan etki olarak değerlendirildi. Ayrıca, lipofilik vitamin emiliminde olası bir değişiklik nedeniyle D vitamini ölçümü yapılmıştır [43]; bu nedenle, bunlar rutin değerlendirmelere dahil edilmiştir. Müdahale nedeniyle tıbbi veya cerrahi müdahale gerektiren her olay, ciddi bir advers olay olarak kabul edildi.

2.7. İstatistiksel Analizler

Her MS kriteri, Tablo 1'de sunulan kesme noktalarına göre kategorik bir değişken ('normal'/anormal') olarak değerlendirildi ve metabolik sendrom şiddet skoru Gurka ve diğerlerine göre hesaplandı [41,42]. Bazı katılımcılar geri döndürülemez bir durum olan ilaç kullanımı nedeniyle, daha kesin değişiklikleri ve başlangıç değerinden itibaren değişimin büyüklüğünü gözlemek için tamamlayıcı MS kriterleri ve ikincil sonuçlar sürekli değişkenler olarak analiz edildi; bu nedenle başlangıç değerleri önemlidir. Cinsiyet farklılıklarını (kadınlar/erkekler) araştırmak için alt grup analizleri yapılmıştır. Keşif amaçlı sonuçlar betimsel olarak analiz edildi.

Veri normalliği özet ölçümler, histogramlar ve Shapiro-Wilk testi kullanılarak değerlendirildi. Normal dağılım gösteren veriler için ortalama ve standart sapma (SD) sunulmuş ve parametrik testler (Student's T-testi) kullanılmıştır; aksi takdirde, medyan ve 25. ve 75. yüzdilik dilimler (p25-p75) dikkate alınmış ve parametrik olmayan testler (Mann-Whitney U testi) uygulanmıştır. Kategorik verileri karşılaştırırken, Ki-kare testi veya kesin Fisher testi kullanılmış ve oranların testi uygun şekilde uygulanmıştır.

Heterojen olmayan gruplar için, genel doğrusal regresyon modelleri kullanarak cinsiyet, yaş ve bazal koşullar için etkileri ayarladık.

Tüm testlerde anlamlılık düzeyi %5'in altında olarak belirlenmiş ve tüm istatistiksel analizler STATA 13.0 kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3. Sonuçlar

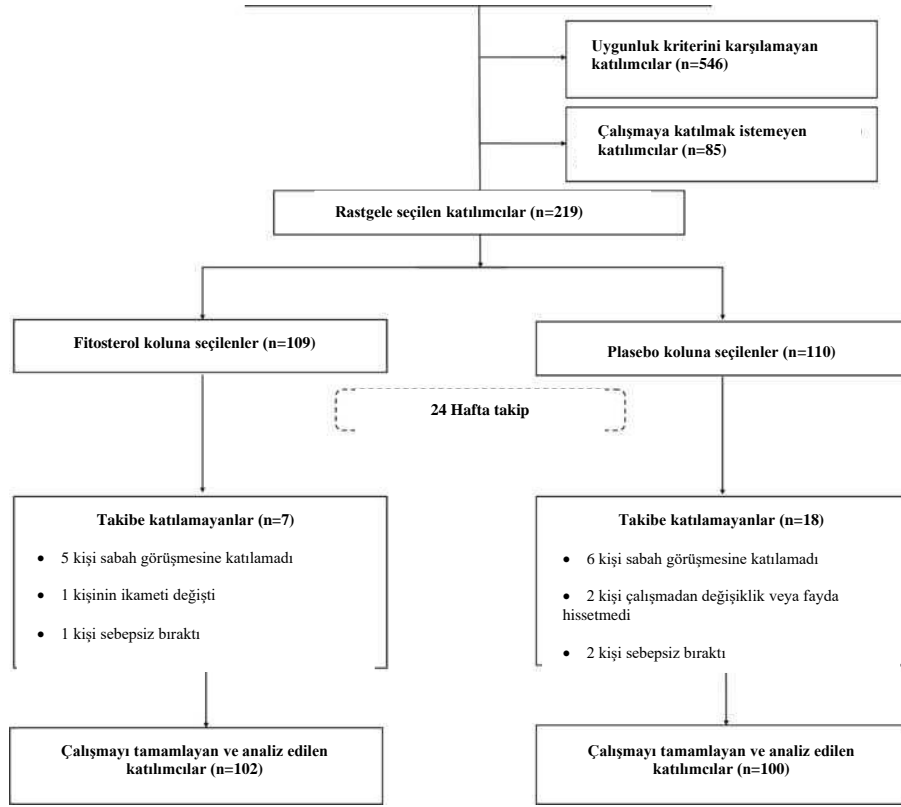
3.1. Örnek Özellikleri

Tıbbi kayıtlardan 850 kişiyi taradık ve bunlardan 546'sı MS kriterlerini karşılamadığı için uygun bulunmadı. Toplam 219 katılımcı kayıt edildi ve rastgele fitosterol (n = 109) veya plasebo (n = 110) grubuna ayrıldı. Çalışma boyunca, 17 katılımcı çoğunlukla sabah değerlendirmelerine katılmak için yeterli zamanı olmadığı için çalışmadan ayrıldı. Toplam ayrılma sıklığı aşağıdaki gibidir: V2'de 12 katılımcı (altısı plasebo grubundan ve altısı fitosterol grubundan), V3'te 14 katılımcı (yedisi plasebo grubundan ve yedisi fitosterol grubundan) ve V4'te 17 katılımcı (on tanesi plasebo grubundan ve yedisi fitosterol grubundan) araştırmadan ayrıldı. Bu ayrılmalara rağmen, 202 katılımcı bu çalışmayı %100 veri ile tamamladı. Şekil 2, çalışmanın akış şemasını göstermektedir.

Başlangıçtaki katılımcıların özellikleri gruplar arasında dengeli olup, başlangıçta sosyodemografik, sağlık ve fizyolojik değişkenler açısından önemli farklılıklar görülmemiştir (Tablo 2).

Uygunluk açısından değerlendirilen katılımcılar (n=850)





Şekil 2. Çalışmanın akış şeması.

Tablo 2. Gruplara göre temel katılımcıların özellikleri.

KERRYPNX	Fitosterol (n = 102)	Plasebo (n = 100)	p-Değeri
Sosyo-demografik değişkenler			
Ay cinsinden yaş, medyan (p25-p75)	520 (407-636)	527,5 (414-632.5)	0,9568
Cinsiyet			
Erkek, n (%)	28	26	0,816
Kadın, n (%)	74	74	
Sosyoekonomik durum (kendi beyanına göre)			
Yüksek, n (%)	3 (2,94)	2(2)	0,733
Orta, n (%)	93 (91,18)	90 (90)	
Düşük, n (%)	6 (5,88)	8(8)	
Genel sağlıkla ilgili bilgiler			
Alta yatan sağlık durumu			
Evet, n (%)	86 (84,31)	79 (79)	0,329
Hayır, n (%)	16 (15,69)	21 (21)	
Eşzamanlı ilaç kullanımı			
Evet, n (%)	63 (61,76)	57 (57)	0,491
Hayır, n (%)	39 (38,24)	43 (43)	
Sigara			
Evet, n (%)	55 (53,92)	44 (44)	0,158
Hayır, n (%)	47 (46,08)	56 (56)	
Alkol tüketimi			
Evet, n (%)	67 (65,69)	72 (72)	0,333
Hayır, n (%)	35 (34,31)	28 (28)	
Günde yemek sayısı, medyan (p25-p75)	3 (3-3)	3 (3-3)	0,1777
Fiziksel aktivite			
Evet, n (%)	44 (43,14)	46 (46)	0,682
Hayır, n (%)	58 (56,86)	54 (54)	

Tablo 2. Devamı

KERRYPNX	Fitosterol (n = 102)	Plasebo (n = 100)	p-Değeri
Kan testi parametreleri, medyan (p25-p75)			
Toplam kolesterol (mg/dL)	196(169-224)	196 (168.5-225)	0,9789
LDL-c (mg/dL)	118,5 (99-144)	118,5 (100.5-147.5)	0,8069
VLDL-c (mg/dL)	26,5 (20-42)	28,5 (20-10.5)	0,9625
İnsülin (µl/mL)	15,6 (10.38-23.7)	13,36 (9.07-18.48)	0,1065
HOMA-IR indeksi	3,02 (1.94-4.26)	3,62 (2.28-5.52)	0,0684
Glikozillenmiş hemoglobin - HbA1c (%)	5,215 (4.98-5.77)	5,305 (4.96-5.69)	0,7361
Vitamin D (ng/mL)	24,6 (19.9-29)	24,25 (19.7-29.55)	0,9109
Antropometrik ölçümler ve yaşamsal belirtiler, medyan (p25-p75)			
Ağırlık (kg)	78,95 (71.2-90.1)	80,6 (70.5-89.75)	0,8985
Boy (m)	1,585 (1.55-1.67)	1,59 (1.545-1.675)	0,7413
Vücut kitle indeksi (kg/m ²)	30,63 (27.46-34.4)	30,55 (28-34.46)	0,5298
Kalp atış hızı (dakikada atış sayısı)	72 (67-80)	71 (65-76.5)	0,0455
Metabolik sendrom değişkenleri, medyan (p25-p75)			
Bel çevresi (cm)	99,5 (93-105)	100,5 (92-108.5)	0,4795
Trigliseritler (mg/dL)	138 (105-221)	143,5 (100.5-202.5)	0,8303
HDL-c (mg/dL)	43,5 (37-52)	43 (37.5-51)	0,9875
Sistolik kan basıncı (mm Hg)	122 (113-133)	119,5 (110.5-132)	0,2176
Diyastolik kan basıncı (mm Hg)	83 (78-90)	82 (76-89)	0,6188
Açlık glikemi (mg/dL)	93,5 (88-99)	91 (85.5-98)	0,0910
Metabolik sendrom kriterleri, n (%)			
3	71 (69,61)	76 (76)	
4	22 (21,57)	20 (20)	0,379
5	9 (8,82)	4(4)	
MetS-Z, medyan (p25-p75)	0,463 (0.06-0.99)	0,489 (-0.02-0.93)	0,5947

(p25-p75): 25. persentil ve 75. persentil; LDL-c: düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol; VLDL-c: çok düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol; HDL-c: yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol; MetS-Z: metabolik sendrom şiddet Z skoru.

3.2. Birincil Çıktı

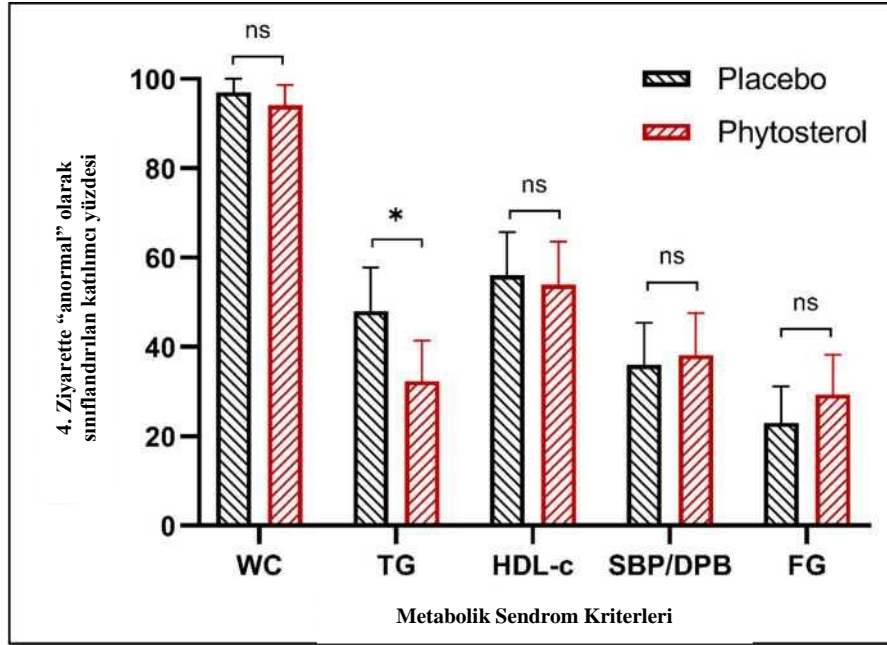
Bu çalışmanın başlangıcında, katılımcılar üç ila beş MS kriterini karşılıyordu (Tablo 2) ve dağılım gruplar arasında benzerdi (tablo p = 0,379). V4'te, bazı katılımcılar düzenli ilaçların kesilmediği veya değiştirilmediği göz önüne alınarak, sadece kan testleri, WC ve BP ölçümlerine dayanarak bu kriterlerin durumunu değiştirdiler. Tablo 3, V4'te katılımcıların karşıladığı MS kriterlerinin dağılımını ve V4 ile V1 arasındaki bu sayıdaki farkı göstermektedir.

Tablo 3. V4'te katılımcıların karşıladığı MS kriterlerinin dağılımını ve V4 ile V1 arasındaki fark.

Kriter Sayısı	4. Ziyaret			Kriter Sayısı	V4 ve V1 Arasındaki Fark		
	Fitosterol (n = 102)	Plasebo (n = 100)	p-Değeri		Fitosterol (n = 102)	Plasebo (n = 100)	Değer
0, n (%)	2 (1,96)	1(1)		-3, n (%)	3 (2,94)	1(1)	
1, n (%)	16 (15,69)	16(16)		-2, n (%)	24 (23,53)	19 (19)	
2, n (%)	39 (38,24)	30 (30)		-1, n (%)	45 (44,12)	40 (40)	
3, n (%)	29 (28,43)	35 (35)	0,563	0, n (%)	23 (22,55)	31 (31)	0,648
4, n (%)	9 (8,82)	14 (14)		1, n (%)	6 (5,88)	8(8)	
5, n (%)	7 (6,86)	4(4)		2, n (%)	1 (0,98)	1(1)	

Her bir MS kriterinin analizi göz önüne alındığında, fitosterol ve plasebo grupları arasında yüksek veya 'anormal' TG seviyelerine (>150 mg/dL) sahip katılımcıların oranı başlangıçta benzerdi ve farkın %2,06'sına ulaşıyordu (p-değeri = 0,7691); ancak bu oran V4'te önemli ölçüde farklıydı ve gruplar arasındaki farkın %15,65'ine ulaşıyordu (p-değeri = 0,023). Bu fark, PS grubunda yüksek TG düzeylerine sahip katılımcıların sayısında azalma ve plasebo grubunda artışla açıklanmıştır. Diğer tüm kriterler için, V4'te 'anormal' seviyelere sahip katılımcıların oranı gruplar arasında istatistiksel olarak farklı değildi (Şekil 3). Ayrıntılı bilgi için Ek Materyallerdeki Tablo S2'ye bakınız.





Şekil 3. V4'te bel çevresi, trigliserid, yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL-c), sistolik/diyastolik kan basıncı ve açlık glikemisi düzeyleri 'anormal' olan katılımcıların dağılımı (%), grup bazında, ns = anlamlı değil; * istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$).

Tablo 4, sürekli verileri dikkate alan her bir MS kriterini göstermektedir. 4. ziyaretinde, WC gruplar arasında önemli ölçüde farklılık gösterdi; fitosterol grubundaki katılımcıların yarısı 94 cm'ye kadar, plasebo grubundaki katılımcıların yarısı ise 99 cm'ye kadar WC değerleri gösterdi ($p = 0,0022$). TG ve HDL-c'de diğer küçük farklılıklar gözlemlenmiştir, ancak bunlar istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Tablo 4. Ziyaret 4'te MS kriterleri (sürekli veriler) ve grup bazında V4 ile V1 arasındaki mutlak fark. Tüm veriler medyan ve 25-75. yüzdeler dilim olarak sunulmuştur.

	4. Ziyaret		p-Değeri	V4 ve V1 Arasındaki Fark		p-Değeri
	Fitosterol (n = 102)	Plasebo (n = 100)		Fitosterol (n = 102)	Plasebo (n = 100)	
WC (cm)						
Hepsi	94 (89-102)	99 (93-109.5)	0,0022	-4 (-7-1)	0 (-3-2.5)	0,0001
Erkek	99,5 (94.5-105)	103(94-109)	0,5732	-3 (-5-0)	0 (-3-3)	0,0875
Kadın	92 (86-99)	99 (93-110)	0,0007	-5 (-8-1)	0 (-3-2)	0,0001
TG (mg/dL)						
Hepsi	123 (87-175)	145 (99.5-191.5)	0,1137	-16,5 (-57-15)	1,5 (-40-32)	0,0245
Erkek	150 (123-243.5)	188 (122-245)	0,4566	-21,5 (-87-3.5)	-37 (-54-13)	0,9724
Kadın	112,5 (82-152)	134,5 (86-168)	0,1176	-14 (-57-17)	3,5 (-32-32)	0,0074
HDL-c (mg/dL)						
Hepsi	46 (40-55)	45 (39-53.5)	0,6839	1 (-1-5)	1 (-2-5)	0,6563
Erkek	39,5 (35.5-46)	37,5 (31-45)	0,3721	0 (3.5-2)	0 (-3-2)	0,5037
Kadın	48 (42-58)	47 (41-55)	0,6071	2 (-1-6)	2 (-2-5)	0,8102
SBP (mm Hg)						
Hepsi	119 (112-129)	119 (112.4-128)	0,9242	-2 (-12-5)	-1 (-10.5-7.5)	0,2753
Erkek	125 (118-131)	127,5 (117-136)	0,6093	0 (-12.5-7)	2,5 (-9-8)	0,7095
Kadın	116,5 (112-126)	118 (108-126)	0,7735	-2,5 (-12M)	-1 (-11-7)	0,2939

Tablo 4. Devamı

	4. Ziyaret		p-Değeri	V4 ve V1 Arasındaki Fark		p-Değeri
	Fitosterol (n = 102)	Plasebo (n = 100)		Fitosterol (n = 102)	Plasebo (n = 100)	
DBF (mm Hg)						
Hepsi	79,5 (73-87)	80 (72.5-86)	0,6820	-2,5 (-9-3)	-3 (3.5-10)	0,9099
Erkek	85 (78.5-91)	84 (75-91)	0,6398	-2 (2.5-9)	-5(-15-2)	0,3630
Kadın	78(72-85)	79(70-85)	0,9480	-3 (-9-3)	-2,5 (-10-5)	0,4508
FG (mg/dL)						
Hepsi	95(90-102)	92 (87-98)	0,1712	2 (-3-7)	1,5 (-3-6)	0,9760
Erkek	96 (90-99.5)	94 (92-105)	0,7947	2 (-2-12)	3,5 (0-7)	0,9378



WC: bel çevresi; TG: trigliserit; HDL-c: yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol; SBP: sistolik kan basıncı; DBF: diyastolik kan basıncı; FG: açlık glikemi.

Her bir parametre için V4 ve V1 arasındaki fark açısından, WC ve TG grupları arasında önemli ölçüde farklılık göstermiştir. Fitosterol grubundaki katılımcıların yarısı, plasebo grubundaki 0 cm'ye kıyasla WC'yi 4 cm'ye kadar azalttı. Bu, fitosterol grubundaki katılımcıların plasebo grubundan daha iyi performans göstererek WC'yi %5,05 oranında azalttığı anlamına gelir. Benzer şekilde, fitosterol grubundaki katılımcıların yarısı TG düzeylerini 16,5 mg/dL'ye kadar düşürdü. Bu bulgu, fitosterol grubunun plasebo grubuna göre daha iyi performans gösterdiğini ve TG düzeylerinde %15,17'lik bir azalma olduğunu göstermektedir.

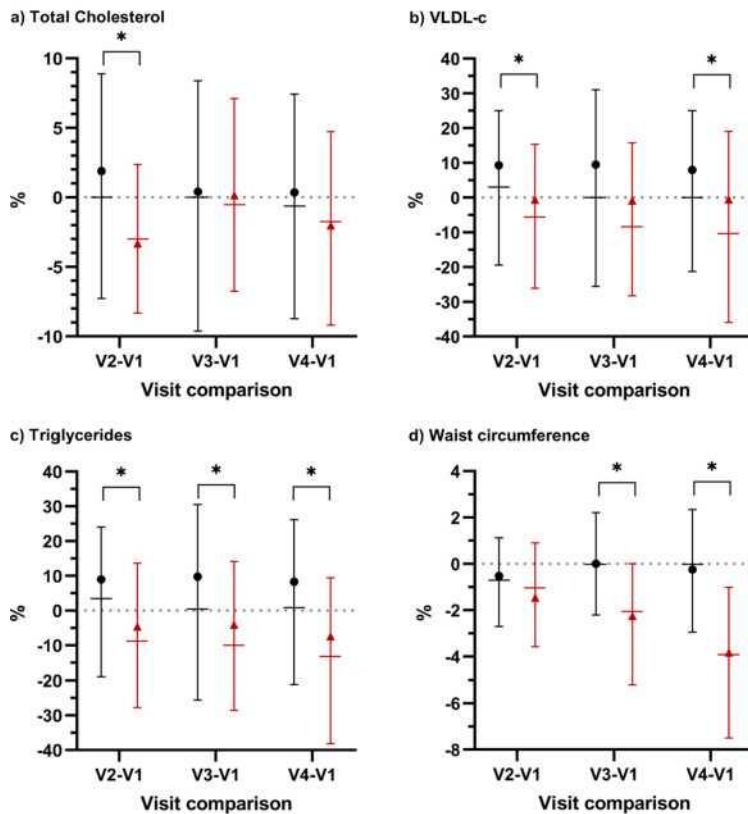
Metabolik sendromun ciddiyeti, bel çevresi temel alınarak MetS-Z ile değerlendirildi. V1'de bu puan her iki grup için de benzerdi ($p = 0,5947$), ancak V4'te bu puan 0,199 azaldı (25. persentil: -0,559; 75. persentil: 0,106) fitosterol grubunda ve 0,009 (25. persentil: -0,301; 75. persentil: 0,25) plasebo grubunda artmıştır; bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p = 0,0024$).

V4'te ve genelleştirilmiş doğrusal modellere dayanarak, yaş, cinsiyet ve WC başlangıç değerleri dikkate alınarak, fitosterol grubundaki katılımcıların plasebo grubundaki katılımcılara göre ortalama 3,76 cm daha az WC'ye sahip olduğunu gözlemledik (p -değeri = 0,001 ve %95 güven aralığı -5,1 cm ile -2,4 cm arasında). Benzer şekilde, yaş, cinsiyet ve TG başlangıç düzeyleri ayarlandıktan sonra, fitosterol grubundaki katılımcılar, plasebo grubuna göre ortalama 27,49 mg/dL daha düşük TG düzeyleri sergilemiştir (p -değeri = 0,004 ve %95 güven aralığı -46,26 mg/dL ile -8,73 mg/dL arasında).

3.3. İkincil Çıktı

İkincil sonuçlar arasında V1, V2, V3 ve V4'te lipid profili (TChol, LDL-c, VLDL-c, HDL-c, TG), FG, FI, HOMA-IR indeksi, ağırlık, BMI, WC, SBP ve DPB analizleri yer aldı. Temel değerler Tablo 2'de gösterilmiştir ve her ziyaret sırasında her bir değişken için ayrıntılı değerler Ek Materyallerdeki Tablo S3-S5'te gösterilmiştir.

Fitosterol grubundaki katılımcıların, plasebo grubuna göre TChol, VLDL-c, TG, HOMA-IR indeksi ve WC açısından tutarlı olarak daha iyi sonuçlar gösterdiğini gözlemledik. Her ziyaret (V2, V3, V4) sırasında TChol düzeyleri ve HOMA-IR indeksinin başlangıç düzeylerine göre göreceli farkı, fitosterol grubunda plasebo grubuna göre tutarlı bir şekilde daha düşük olmakla birlikte, bu fark yalnızca V2 ve V1 arasında istatistiksel olarak anlamlıydı (sırasıyla $p = 0,012$ ve $p = 0,0211$) (Ek Materyallerdeki Tablo S5). Ortalama azalmayı analiz eden araştırmacılar, fitosterol alan katılımcıların TChol düzeylerinde %3,3 azalma olduğunu, plasebo grubundaki katılımcıların ise müdahalenin ilk ayı sonunda TChol düzeylerinde %1,9 artış olduğunu tespit etti (Şekil 4a).



a) Toplam Kolesterol
b) VLDL-c
c) Trigliseritler
d) Bel çevresi

Visit Comparison: Ziyaret Kıyaslaması



Şekil 4. (a) toplam kolesterol için V2 ile V1, V3 ile V1 ve V4 ile V1 arasındaki göreceli fark (%);

(b) çok düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (VLDL-c); (c) trigliseritler; (d) grup bazında bel çevresi. * İstatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$). Siyah çizgiler plasebo grubunu, kırmızı çizgiler ise fitosterol grubunu temsil etmektedir. Yatay çizgiler, çeyrekler arası aralığı ve medyanı temsil eder. Siyah noktalar (•) plasebo grubunun ortalamasını, kırmızı üçgenler (▲) ise fitosterol grubunun ortalamasını temsil etmektedir.

Benzer şekilde, fitosterol grubu, her ziyaretinde, başlangıç değerine kıyasla plasebo grubuna göre VLDL-c'de tutarlı ve sistematik azalmalar göstermiştir. Fitosterol grubundaki katılımcıların VLDL-c'sindeki ortalama göreceli azalma, V2, V3 ve V4'ü başlangıç değerleriyle karşılaştırıldığında sırasıyla %5,6, %7,7 ve %10,5 olarak ölçülmüştür. Buna karşılık, plasebo grubu için bu değerler her zaman %0'a yakındı (Şekil 4b).

Aynı şekilde, TG düzeyleri de VLDL-c ile benzer bir eğilim izlemiştir. Fitosterol grubundaki katılımcılar, plasebo grubuna kıyasla tüm zamanlarda TG'de önemli düşüşler göstermiştir. Şekil 4c'de, fitosterol grubundaki katılımcıların yarısının TG düzeylerinin V2 ile V1 arasında %7,9, V3 ile V1 arasında %9,7, V4 ile V1 arasında %12,6 azaldığı, plasebo grubunda ise neredeyse %0'lık bir değişiklik olduğu gözlemlenmiştir. Bu fark, her zaman istatistiksel olarak anlamlıydı (Ek Materyallerdeki Tablo S4).

Son olarak, bel çevresi, V3 ve V1 ile V4 ve V1 arasındaki göreceli farklar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar gösterdi (Şekil 4d). V3'te, PS grubundaki katılımcıların yarısı WC'sinde %2,09 azalma gösterirken, plasebo grubunda bu azalma %0 idi (p -değeri = 0,0007). V4'te bu fark daha da büyüktü. Plasebo grubundaki katılımcıların yarısı başlangıç değerinden %0'lık bir değişiklik gösterirken, fitosterol grubundaki bu azalma %3,74'e ulaştı (p -değeri = 0,0001).

3.4. Güvenlik Çıktıları

Başlangıçta ve V4'te gruplar arasında D vitamini düzeyleri benzerdi. Başlangıçtaki sonuçlar için bkz. Tablo 2. V4'te D vitamini için medyan değer fitosterol grubu için 18,1 ng/mL (25. persentil: 14,1 ng/mL; 75. persentil: 23,8 ng/mL) ve plasebo grubu için 17,6 ng/mL (25. persentil: 13,85 ng/mL; 75. persentil: 23,4 ng/mL) olup istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemektedir (p -değeri = 0,5313).

Bağırsak alışkanlıkları konusunda danışmanlık verilirken, bu çalışma sırasında hiçbir katılımcı ishal vakası bildirmemiştir. Ancak, fitosterol grubundaki katılımcıların çoğu, V4'te bağırsak alışkanlıklarında bir iyileşme olduğunu bildirmişlerdir; bu durum, plasebo grubunda gözlemlenmemiştir (Tablo 5). Katılımcıların açıklamalarına göre, plasebo veya fitosterol grubunda, çoğu katılımcı sert veya kuru dışkı nedeniyle daha önce "kabızlık" yaşadığını bildirmiştir; ancak, 4. ziyaretinde, fitosterol grubundaki katılımcıların neredeyse %70'i bu durumun düzeldiğini, kabızlığın azaldığını ancak ishalin görülmediğini bildirmiştir (p -değeri = 0,001).

Tablo 5. Gruplara göre katılımcıların V4'teki bağırsak alışkanlıklarına ilişkin algıları

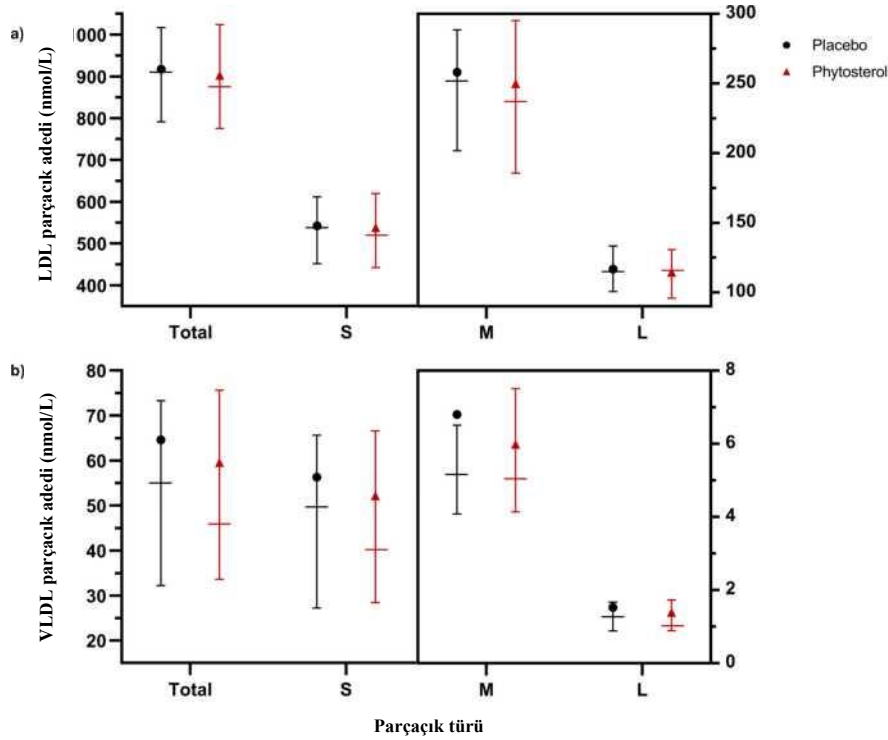
	Fitosterol (n = 102)	Plasebo (n = 100)
V1'e göre bağırsak alışkanlığı düzeldi, n	69 (67,65)	4(4)
V1'e göre bağırsak alışkanlığı değişmedi, n	31 (30,39)	90 (90)
V1'e göre bağırsak alışkanlığı kötüleşti,	2 (1,96)	6(6)

3.5. Keşif Çıktıları

Katılımcıların rastgele seçilen bir alt örnekleminde, her ziyaret sırasında VLDL (VLDL-p), LDL (LDL-p) ve HDL (HDL-p) partikül sayısı ve bunların farklı alt sınıfları (küçük, orta ve büyük) üzerinde fitosterollerin etkilerini araştırdık. Bu parametreler, fitosterol grubundan 59 katılımcı ve plasebo grubundan 57 katılımcı için analiz edildi. Sosyoekonomik, fizyolojik değişkenler ve partikül sayısının başlangıç değerleri her iki grupta da benzerdi; bu nedenle, bunların karşılaştırılabilir olduğu sonucuna vardık (Ek Materyallerdeki Tablo S6).

V4'te, fitosterol grubundaki katılımcıların plasebo grubuna göre LDL-p ve VLDL-p düzeylerinin daha düşük olma eğiliminde olduğunu gözlemledik (Şekil 5). Ayrıntılı değerler için Ek Materyallerdeki Tablo S7'ye bakınız.





Şekil 5. Grupta V4'te alt sınıflara göre (küçük, orta ve büyük) LDL-p (a) ve VLDL-p (b) sayısı. Siyah çizgiler plasebo grubunu, kırmızı çizgiler ise fitosterol grubunu temsil etmektedir. Yatay çizgiler, çeyrekler arası aralığı ve medyayı temsil eder. Siyah noktalar (•) plasebo grubunun ortalamasını, kırmızı üçgenler (▲) ise fitosterol grubunun ortalamasını temsil etmektedir. M ve L parçacıkları doğru y eksenine ile ölçülür.

4. Tartışma

Bu çalışmada, MS hastalarında altı aylık bir müdahale süresi boyunca 2 g f-PSnano içeren sulu dispersiyonun günlük takviyesinin terapötik etkisini plasebo ile karşılaştırarak değerlendirdik. Altı aylık müdahalenin ardından, fitosterol grubunda TG düzeylerinde ve WC'de önemli bir azalma gözlemledik. Bu sonuçlar önemlidir çünkü yüksek TG düzeyleri ve WC, kardiyovasküler hastalıklar [44-51] ve metabolik bozukluklar [52,53] için kritik risk faktörleri olarak yaygın bir şekilde bildirilmiştir. Ek olarak, MetS-Z'ye göre, fitosterol grubu plasebo grubuna kıyasla metabolik sendromun şiddetini azaltmıştır. Bu, fitosterol tüketen bireylerin metabolik sendromun şiddetini azaltabileceği anlamına gelmektedir. Ancak, bu puan Şili nüfusu için standartlaştırılmalı ve geçerliliği doğrulanmalıdır.

PS'nin hipotrigliseridemik etkileri önceki çalışmalarda tutarlı olmamıştır. Naumann ve diğerleri [54] ve Demonty ve diğerleri [55] ve Rideout ve diğerleri [56], TG düzeylerindeki azalmanın başlangıçtaki TG düzeylerine büyük ölçüde bağlı olduğunu ve başlangıçtaki TG düzeyleri yüksek olan bireylerde azalmanın daha fazla olduğunu ortaya koymuştur. Özellikle, V4'te gruplar arasında TG düzeylerinde %15,17'lik bir fark gözlemledik, bu da Plat ve diğerleri [31] Sialvera ve diğerleri [32] tarafından MS'li bireylerde bildirilen sonuçlarla tutarlıydı.

PS'nin hipotrigliseridemik etkisi tam olarak anlaşılmamış olsa da, bunu açıklamak için bazı mekanizmalar önerilmiştir. [31,32,57]. Keşifsel analizlerimiz, f-PSnano tüketen katılımcıların plasebo grubuna kıyasla daha düşük VLDL-p değerlerine sahip olma eğiliminde olduğunu göstermiştir. Bu bulgu, MS'li bireylerin PSn esterleri tükettikten sonra plasebo grubuna kıyasla büyük ve küçük VLDL-p değerlerinde önemli bir azalma olduğunu bildiren Plat ve diğerlerinin bulguları ile uyumludur [57]. TG'nin esas olarak VLDL-p tarafından taşındığı bilinmektedir, bu nedenle TG düzeylerinin azalması, VLDL-p'nin karaciğer sentezindeki azalma ile ilişkili olabilir; ancak bu hipotezi doğrulamak için daha fazla lipoprotein sentezi çalışması yapılması gerekmektedir.

Bilgimiz dahilinde, bu çalışma PS tüketen katılımcılarda kabızlığın hafiflemesi ve bel çevresi çevresinin azalmasını gösteren ilk çalışmadır. Karışık miselden kolesterolün yer değiştirmesi nedeniyle bağırsak kolesterol emiliminin azalması [58,59] bu sonuçları açıklayabilir. Bu bağlamda, f-PSnano tüketimi sonrası hipotrigliseridemik etkilerin, kabızlığın giderilmesinin ve bel çevresinin azalmasının, yağ asidi emiliminin azalmasıyla ilişkili olabileceği hipotezini ortaya attık.

Yüksek yağ asidi emilimi, visceral adipozite (VA) artışına bağlı olarak WC'de artışa neden olabilir. Birkaç çalışma, daha yüksek WC'nin bireylerde daha yüksek VA miktarı ile pozitif korelasyon gösterdiğini öne sürmüştür [60-62]. Daha yüksek VA miktarı, bu dokunun lipolitik aktivitesini artırma eğilimindedir [63]. VA dokusunda yüksek trigliserid dönüşümü oluşturur [64]. VA, lipit metabolizmasını güçlü bir şekilde etkilediğinden [65-68], VA artışları,



daha yüksek TG dönüşümü nedeniyle portal ven yoluyla karaciğere yağ asitlerinin taşınmasını teşvik edebilir [69]. Sonuç olarak, VA'nın artması, karaciğere TG taşınmasının ve konsantrasyonunun artmasına yol açarak VLDL-c üretiminde bir artışa neden olabilir [65,70,71]. Bu nedenle, yağ asidi emiliminin azalması, VA dokusunda bir azalmaya ve VA'dan karaciğere yağ asitlerinin çıkışında bir azalmaya yol açarak karaciğer TG konsantrasyonunu düşürebilir. Daha sonra, karaciğerde TG'nin daha düşük seviyelerde bulunması, VLDL-c üretiminde ve vasküler sisteme aktarımında azalmaya yol açarak serum TG seviyesini düşürebilir. Buna ek olarak, bağırsaklarda yağ asidi emiliminin azalması, dışkı bileşimini değiştirerek kabızlığı iyileştirir.

PS tüketiminin iyi bilinen kolesterol düşürücü etkileriyle ilgili olarak, fitosterol grubunda TChol düzeylerinin daha düşük olma eğilimi gösterdiğini ve gruplar arasında yalnızca V1'de önemli değişiklikler gözlemledik. Bu bulgular üç ana nedenden kaynaklanıyor olabilir. İlk olarak, bu çalışmaya katılanların çoğu normokolesterolemik idi; bu nedenle, TChol ve LDL-c'de sadece hafif değişiklikler beklenirdi [38,54]. İkincisi, uzun süreli klinik çalışmalarda, PS tüketen normokolesterolemik ve hafif hiperkolesterolemik bireylerde, kısa süreli çalışmalara kıyasla TChol'da küçük düşüşler bildirilmiştir [72-74]. Bu gözlem, Plat ve ark. [31] ile Sialvera ve diğerlerinin [32] 8 haftalık müdahale sonrasında TChol ve LDL-c'de önemli bir azalma bildirirken, Hernández-Mijares ve diğerlerinin 12 haftalık müdahale sonrasında bu parametreler üzerinde önemli bir etki bildirmediklerini açıklayabilir [33]. Son olarak, PS kolesterol emilimini azaltarak TChol ve LDL-c'yi düşürür, ancak MS hastalarında kolesterol emilimi düşük ve endojen kolesterol sentezi yüksektir [75]; bu nedenle, uzun süreli çalışmalarda PS'nin emilimi azaltıcı etkisi, MS hastalarında endojen kolesterol sentezi ile dengelenebilir. Nitekim, PS müdahalesi altında hiperkolesterolemik bireylerde endojen kolesterol sentezinde artış gözlemlenmiştir [76,77].

İlginç bir şekilde, çalışma boyunca her iki grupta da D vitamini düzeyleri azalmış ve V4'te gruplar arasında önemli bir fark görülmemiştir. Bu olayı mevsimsellik etkisi olarak açıkladık, çünkü işe almaya yaz aylarında başladık ve V3 ve V4 sonbahar-kış mevsimlerinde gerçekleştirildi.

MS hastaları, sağlıklı bireylere kıyasla daha yüksek VLDL-p ve LDL-p değerleri sergilerler [78]; bu nedenle, f-PSnano tüketiminin lipoprotein partikül sayısı üzerindeki etkilerini araştırdık. Sonuçlarımız, f-PSnano tüketen bireylerde VLDL-p ve LDL-p konsantrasyonlarının plasebo grubuna kıyasla daha düşük olma eğiliminde olduğunu göstermiştir. Daha önce de belirtildiği gibi, VLDL-p'nin azalması, yağ asitlerinin emiliminin azalması nedeniyle TG ve WC'nin azalmasıyla ilişkili olabilir. Fitosterol grubunda plasebo grubuna kıyasla LDL-p düzeylerinin daha düşük olması, PS'nin hipokolesterolemik ve hipotrigliseridemik etkileriyle açıklanabilir olsa da çalışma boyunca her iki grupta da LDL-p düzeylerinin neden arttığını açıklayamadık. Bunun, yıl boyunca beslenme alışkanlıklarında veya fiziksel aktivitede meydana gelen değişikliklerle ilişkili olabileceğini varsaydık. V2'de fitosterol grubunda küçük LDL-p'nin daha düşük olduğu ve bunun TChol, VLDL-c ve TG düzeylerinde azalma ile örtüştüğü dikkat çekicidir.

Bu çalışmanın birçok güçlü yanı vardır. Bu, MS hastalarında f-PSnano'yu değerlendiren ilk çalışmadır. Ayrıca, önceki çalışmalara kıyasla daha büyük bir örneklem büyüklüğü içermekte ve gerçek rutin klinik uygulamaları yansıtmaya çalışmıştır. Bilgimiz dahilinde, bu çalışma, kardiyovasküler risk ile yakından ilişkili bir antropometrik parametre olan WC'nin f-PSnano tüketimine bağlı olarak azaldığını bildiren ilk çalışmadır. Son olarak, bu çalışma bağırsak alışkanlıklarında bir iyileşme göstermiştir; bu nedenle, f-PSnano, yağda çözünen vitaminler üzerinde olumlu bir etkisi olmaksızın, fizyolojik ve metabolik değişikliklerin yanı sıra kabızlık sorunu yaşayan birçok kişi için etkili bir çözüm olabilir. Bununla birlikte, bu çalışmanın potansiyel sınırlamaları bulunmaktadır. Sadece üç ana merkez dikkate alındığından, sonuçların temsil gücü ve genelleştirilebilirliği sınırlı olabilir. Ayrıca, örneklem çoğunlukla kadınlardan oluşuyordu, bu da cinsiyet temsiline bir önyargı oluşturabilir. Bu dezavantaj, regresyon analizleri yapılarak giderilmiştir. Son olarak, bu çalışma altı aylık bir müdahaleyi kapsamıştır ve f-PSnano tüketiminin uzun vadeli etkileri değerlendirilmemiştir.

5. Sonuçlar

Sonuç olarak, bu çalışma f-PSnano'nun sulu dispersiyonunun MS hastalarında ilginç bir yardımcı tedavi olabileceğini göstermiştir. Ayrıca, uzun vadeli etkiler ve fizyolojik ve metabolik değişiklikler üzerindeki diğer potansiyel etkilerin değerlendirilmesi için daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

Ek Materyaller: Aşağıdakiler çevrimiçi olarak mevcuttur: <http://www.mdpi.com/2072-6643/12/8/2392/sl>, Table S1: Her ziyaret için prosedür ve değerlendirme programı; Tablo S2: Başlangıçta ve 4. ziyaret sırasında her MS kriteri için 'anormal' seviyelere sahip katılımcıların dağılımı (%); Tablo S3: Grup bazında 2., 3. ve 4. ziyaretlerde her bir ikincil sonuç için medyan ve 25-75. yüzdalık dilimler; Tablo S4: Grup bazında her bir ikincil çıktı için V2 ile V1, V3 ile V1 ve V4 ile V1 arasındaki mutlak fark; Tablo S5: Grup bazında her bir ikincil sonuç için V2 ile V1, V3 ile V1 ve V4 ile V1 arasındaki göreceli fark (%); Tablo S6: Grup bazında lipoproteinlerin partikül sayısını değerlendirmek için alt örneklerdeki katılımcıların temel özellikleri; Tablo S7: Grup tarafından yapılan 2., 3. ve 4. ziyaretlerde her lipoprotein için medyan ve 25-75. yüzdalık dilimler.

Yazarların Katkıları: Kavramsallaştırma, Y.K.P.-S.; metodoloji, Y.K.P.-S.; resmi analiz, Y.K.P.-S. ve R.I.A.; araştırma, Y.K.P.-S., L.O. ve J.P.F.; veri düzenleme, Y.K.P.-S.; yazım—orijinal taslak hazırlama, Y.K.P.-S. ve R.I.A.; yazım—inceleme ve düzenleme, Y.K.P.-S., R.I.A., L.O. ve J.P.F.; görselleştirme, Y.K.P.-S.; denetim, Y.K.P.-S.; proje yönetimi, Y.K.P.-S.; fon temini, Y.K.P.-S. ve R.I.A. Tüm yazarlar, makalenin yayınlanan halini okumuş ve onaylamıştır.



Finansman: Bu araştırma, Corporation de Fomento de la Production (CORFO, hibe numarası 15COTE46282) ve “Nutrartis S.A.” tarafından finanse edilmiştir.

Teşekkürler: Yazarlar, tüm katılımcılara, birinci basamak sağlık merkezlerindeki sağlık çalışanlarına, Şili'deki Institute Radiologico Providencia'nın klinik laboratuvarına, Şili'deki Universidad de Los Andes'in İnovasyon Departmanına, CORFO Şili'ye ve Nutrartis S.A.'ya teşekkür eder. Nutrartis S.A.'dan Tomas Cerda Drago ve Cecilia Brahes'e, araştırma ekibine aşağıdaki faaliyetlerde destek verdikleri için özel teşekkürlerimizi sunarız: üretim ve kaynak sağlama (TCD), makalenin eleştirel incelemesi (TCD, CB), biyokimyasal danışman ve fitosterol uzmanı (CB).

Çıkar Çatışmaları: YKPS, LO ve JPF, çıkar çatışması olmadığını beyan eder. RIA, 2014'ten 2018'e kadar Nutrartis S.A.'da çalıştı. Finansman sağlayıcılar, çalışmanın tasarımında, verilerin toplanması, analizi veya yorumlanmasında, makalenin yazılmasında veya sonuçların yayınlanmasına ilişkin kararda hiçbir rol oynamamıştır.

Referanslar

1. Moore, J.X.; Chaudhary, N.; Akinyemiju, T. Metabolic Syndrome Prevalence by Race/Ethnicity and Sex in the United States, National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-2012. *Prev. Chronic Dis.* **2018**, *14*, 160287. [CrossRef]
2. Cameron, A.J.; Magliano, D.J.; Zimmet, P.Z.; Welborn, T.; Shaw, J.E. The Metabolic Syndrome in Australia: Prevalence using four definitions. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **2007**, *77*, 471-478. [CrossRef] [PubMed]
3. Li, Y.; Zhao, L.; Yu, D.; Wang, Z.; Ding, G. Metabolic syndrome prevalence and its risk factors among adults in China: A nationally representative cross-sectional study. *PLoS ONE* **2018**, *13*, e0199293. [CrossRef] [PubMed]
4. Sigit, F.S.; Tahapary, D.L.; Trompet, S.; Sartono, E.; Willems Van Dijk, K.; Rosendaal, F.R.; De Mutsert, R. The prevalence of metabolic syndrome and its association with body fat distribution in middle-aged individuals from Indonesia and the Netherlands: A cross-sectional analysis of two population-based studies. *Diabetol. Metab. Syndr.* **2020**, *12*, 2. [CrossRef]
5. Van Vliet-Ostaptchouk, J.V.; Nuotio, M.L.; Slagter, S.N.; Doiron, D.; Fischer, K.; Foco, L.; Gaye, A.; Gögele, M.; Heier, M.; Hiekkalinna, T.; ve diğerleri, The prevalence of metabolic syndrome and metabolically healthy obesity in Europe: A collaborative analysis of ten large cohort studies. *BMC Endocr. Disord.* **2014**, *14*. [CrossRef] [PubMed]
6. Alberti, K.G.M.M.; Zimmet, P.Z. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO Consultation. *Diabet. Med.* **1998**, *15*, 539-553. [CrossRef]
7. Cleeman, J.I.; Grundy, S.M.; Becker, D.; Clark, L. Expert Panel on Detection Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* **2001**, *285*, 2486-2497.
8. International Diabetes Federation. *The IDF Consensus Worldwide Definition of the Metabolic Syndrome*. IDF Communications: Brussels, Belgium, 2006.
9. Balkau, B.; Charles, M.A. Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabet. Med.* **1999**, *16*, 442-443.
10. National Cholesterol Education Program Coordinating Committee. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* **2002**, *106*, 3143-3421. [CrossRef]
11. Einhorn, D.; Reaven, G.M.; Cobin, R.H.; Ford, E.; Ganda, O.P.; Handelsman, Y.; Hellman, R.; Jellinger, P.S.; Kendall, D.; Krauss, R.M.; ve diğerleri, American College of Endocrinology position statement on the insulin resistance syndrome. *Endocr. Pract.* **2003**, *9*, 237-252.
12. Grundy, S.M.; Cleeman, J.I.; Daniels, S.R.; Donato, K.A.; Eckel, R.H.; Franklin, B.A.; Gordon, D.J.; Krauss, R.M.; Savage, P.J.; Smith, S.C.; ve diğerleri, Diagnosis and Management of the Metabolic Syndrome: An American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* **2005**, *112*, 2735-2752. [CrossRef] [PubMed]
13. Alberti, K.G.M.M.; Eckel, R.H.; Grundy, S.M.; Zimmet, P.Z.; Cleeman, J.I.; Donato, K.A.; Fruchart, J.C.; James, W.P.T.; Loria, C.M.; Smith, S.C.; ve diğerleri, Harmonizing the metabolic syndrome: A joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International. *Circulation* **2009**, *120*, 1640-1645. [CrossRef] [PubMed]
14. Myers, J.; Kokkinos, R.; Nyelin, E. Physical activity, cardiorespiratory fitness, and the metabolic syndrome. *Nutrients* **2019**, *11*, 1652. [CrossRef] [PubMed]
15. Grundy, S.M. Metabolic syndrome update. *Trends Cardiovasc. Med.* **2016**, *26*, 364-373. [CrossRef] [PubMed]
16. Tune, J.D.; Goodwill, A.G.; Sassoon, D.J.; Mather, K.J. Cardiovascular consequences of metabolic syndrome. *Transl. Res.* **2017**, *183*, 57-70. [CrossRef]
17. Berwick, Z.C.; Dick, G.M.; Tune, J.D. Heart of the matter: Coronary dysfunction in metabolic syndrome. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **2012**, *52*, 848-856. [CrossRef]
18. Bozkurt, B.; Aguilar, D.; Deswal, A.; Dunbar, S.B.; Francis, G.S.; Horwich, T.; Jessup, M.; Kosiborod, M.; Pritchett, A.M.; Ramasubbu, K.; ve diğerleri, Contributory Risk and Management of Comorbidities of Hypertension, Obesity, Diabetes Mellitus, Hyperlipidemia, and Metabolic Syndrome in Chronic Heart Failure: A Scientific Statement from the American Heart



- Association. *Circulation* **2016**,*134*, e535-e578. [CrossRef]
19. Grandi, G.; Wolfrum, C. Hemostasis, endothelial stress, inflammation, and the metabolic syndrome. *Semin. Immunopathol.* **2018**, *40*, 215-224. [CrossRef]
 20. Stanaway, J.D.; Afshin, A.; Gakidou, E.; Lim, S.S.; Abate, D.; Hassen Abate, K.; Abbafati, C.; Abbasi, N.; Abastabar, H.; Abd-Allah, F.; ve diğerleri, Global, regional, and national comparative risk assessment of 84 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks for 195 countries and territories, 1990-2017: A systematic analysis for the Global Burden of Disease S. *Lancet* **2018**, *392*,1923-1994. [CrossRef]
 21. Johnson, C.O.; Nguyen, M.; Roth, G.A.; Nichols, E.; Alam, T.; Abate, D.; Abd-Allah, E.; Abdelalim, A.; Abraha, H.N.; Abu-Rmeileh, N.M.; ve diğerleri, Global, regional, and national burden of stroke, 1990-2016: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol.* **2019**,*18*,439-458. [CrossRef]
 22. Conrad, N.; Judge, A.; Tran, J.; Mohseni, H.; Hedgecott, D.; Crespillo, A.P.; Allison, M.; Hemingway, H.; Cleland, J.G.; McMurray, J.J.V.; ve diğerleri, Temporal trends and patterns in heart failure incidence: A population-based study of 4 million individuals. *Lancet* **2018**, *391*, 572-580. [CrossRef]
 23. Grundy, S.M. Metabolic Syndrome: A Multiplex Cardiovascular Risk Factor. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2007**, *92*, 399-404. [CrossRef] [PubMed]
 24. Grundy, S.M. Drug therapy of the metabolic syndrome: Minimizing the emerging crisis in polypharmacy. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2006**, *5*, 295-309. [CrossRef] [PubMed]
 25. Poli, A.; Visioli, F. Pharmacology of nutraceuticals with lipid lowering properties. *High Blood Press. Cardiovasc. Prev.* **2019**, *26*,113-118. [CrossRef]
 26. Rivellese, A.A.; Ciciola, P.; Costabile, G.; Vetrani, C.; Vitale, M. The Possible Role of Nutraceuticals in the Prevention of Cardiovascular Disease. *High Blood Press. Cardiovasc. Prev.* **2019**, *26*,101-111. [CrossRef]
 27. Pollak, J. Reduction of Blood Cholesterol in Man. *Circulation* **1953**, *7*, 702-706. [CrossRef]
 28. Reaver, A.; Hewlings, S.; Westerman, K.; Blander, G.; Schmeller, T.; Heer, M.; Rein, D. A randomized, placebo-controlled, double-blind crossover study to assess a unique phytosterol ester formulation in lowering LDL cholesterol utilizing a novel virtual tracking tool. *Nutrients* **2019**,*11*, 2108. [CrossRef]
 29. Ostlund, R.E. Phytosterols in Human Nutrition. *Annu. Rev. Nutr.* **2002**, *22*, 533-549. [CrossRef]
 30. Ras, R.T.; Geleijnse, J.M.; Trautwein, E.A. LDL-cholesterol-lowering effect of plant sterols and stanols across different dose ranges: A meta-analysis of randomised controlled studies. *Br. J. Nutr.* **2014**, *112*, 214-219. [CrossRef]
 31. Plat, J.; Brufau, G.; Dallinga-Thie, G.M.; Dasselaaar, M.; Mensink, R.P. A Plant Stanol Yogurt Drink Alone or Combined with a Low-Dose Statin Lowers Serum Triacylglycerol and Non-HDL Cholesterol in Metabolic Syndrome Patients. *J. Nutr.* **2009**,*139*,1143-1149. [CrossRef]
 32. Sialvera, T.E.; Pounis, G.D.; Koutelidakis, A.E.; Richter, D.J.; Yfanti, G.; Kapsokefalou, M.; Gounas, G.; Chionis, A.; Diamantopoulos, E.; Zampelas, A. Phytosterols supplementation decreases plasma small and dense LDL levels in metabolic syndrome patients on a westernized type diet. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **2012**, *22*, 843-848. [CrossRef] [PubMed]
 33. Hernández-Mijares, A.; Bahuls, C.; Jover, A.; Sola, E.; Bellod, L.; Martínez-Triguero, M.L.; Lagarda, M.J.; Victor Aguilera, M.; Rocha, M. Low intestinal cholesterol absorption is associated with a reduced efficacy of phytosterol esters as hypolipemic agents in patients with metabolic syndrome. *Clin. Nutr.* **2011**, *30*, 604-609. [CrossRef] [PubMed]
 34. Chen, D.L.; Huang, P.H.; Chiang, C.H.; Leu, H.B.; Chen, J.W.; Lin, S.J. Phytosterols increase circulating endothelial progenitor cells and insulin-like growth factor-1 levels in patients with nonalcoholic fatty liver disease: A randomized crossover study. *J. Funct. Foods* **2015**,*13*,148-157. [CrossRef]
 35. Ghaedi, E.; Foshati, S.; Ziaei, R.; Beigrezaei, S.; Kord-Varkaneh, H.; Ghavami, A.; Miraghajani, M. Effects of phytosterols supplementation on blood pressure: A systematic review and meta-analysis. *Clin. Nutr.* **2020**. [CrossRef]
 36. Trautwein, E.; Vermeer, M.; Fliemstra, F.I.; Ras, R. LDL-Cholesterol Lowering of Plant Sterols and Stanols—Which Factors Influence Their Efficacy? *Nutrients* **2018**,*10*,1262. [CrossRef] [PubMed]
 37. Ferguson, J.J.A.; Stojanovski, E.; MacDonald-Wicks, L.; Garg, M.L. Fat type in phytosterol products influence their cholesterol-lowering potential: A systematic review and meta-analysis of RCTs. *Prog. Lipid Res.* **2016**, *64*,16-29. [CrossRef]
 38. AbuMweis, S.S.; Barake, R.; Jones, P.J.H. Plant sterols/stanols as cholesterol lowering agents: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Food Nutr. Res.* **2008**, *52*. [CrossRef]
 39. Jones, P.J.H.; Shamloo, M.; MacKay, D.S.; Rideout, T.C.; Myrie, S.B.; Plat, J.; Rouillet, J.-B.; Baer, D.J.; Calkins, K.L.; Davis, H.R.; ve diğerleri, Progress and prospective of plant sterol and plant stanol research. *Nutr. Rev.* **2018**, *76*, 725-746. [CrossRef]
 40. Amir Shaghghi, M.; Harding, S.V.; Jones, P.J.H. Water dispersible plant sterol formulation shows improved effect on lipid profile compared to plant sterol esters. *J. Funct. Foods* **2014**, *6*, 280-289. [CrossRef]
 41. Gurka, M.J.; Lilly, C.L.; Oliver, M.N.; DeBoer, M.D. An examination of sex and racial/ethnic differences in the metabolic syndrome among adults: A confirmatory factor analysis and a resulting continuous severity score. *Metabolism* **2014**, *63*, 218-225. [CrossRef]
 42. Deboer, M.D.; Gurka, M.J. Clinical utility of metabolic syndrome severity scores: Considerations for practitioners. *Diabetes Metab. Syndr. Obes. Targets Ther.* **2017**,*10*, 65-72. [CrossRef] [PubMed]
 43. Baumgartner, S.; Ras, R.T.; Trautwein, E.A.; Mensink, R.P.; Plat, J. Plasma fat-soluble vitamin and carotenoid concentrations after plant sterol and plant stanol consumption: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur. J. Nutr.* **2017**, *56*, 909-923. [CrossRef] [PubMed]



44. Nordestgaard, B.G.; Varbo, A. Triglycerides and cardiovascular disease. *Lancet* **2014**, *384*, 626-635. [[CrossRef](#)]
45. Ye, X.; Kong, W.; Zafar, M.L.; Chen, L.L. Serum triglycerides as a risk factor for cardiovascular diseases in type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Cardiovasc. Diabetol.* **2019**, *18*, 48. [[CrossRef](#)]
46. Castelli, W.P. Epidemiology of triglycerides: A view from Framingham. *Am. J. Cardiol.* **1992**, *70*, H3. [[CrossRef](#)]
47. Assmann, G.; Schulte, H.; Von Eckardstein, A. Hypertriglyceridemia and elevated lipoprotein(a) are risk factors for major coronary events in middle-aged men. *Am. J. Cardiol.* **1996**, *77*, 1179-1184. [[CrossRef](#)]
48. Visscher, T.L.S.; Seidell, J.C.; Molarius, A.; van der Kuip, D.; Hofman, A.; Witteman, J.C.M. A comparison of body mass index, waist-hip ratio and waist circumference as predictors of all-cause mortality among the elderly: The Rotterdam study. *Int. J. Obes.* **2001**, *25*, 1730-1735. [[CrossRef](#)]
49. Dobbela, C.J.; Joffres, M.R.; MacLean, D.R.; Flowerdew, G.; Balram, C.; Blair, L.; Butler-Jones, D.; Cameron, R.; Collins-Nakai, R.; Connelly, P.W.; ve diğerleri, A comparative evaluation of waist circumference, waist-to-hip ratio and body mass index as indicators of cardiovascular risk factors. The Canadian heart health surveys. *Int. J. Obes.* **2001**, *25*, 652-661. [[CrossRef](#)]
50. German, C.A.; Laughey, B.; Bertoni, A.G.; Yeboah, J. Associations between BMI, waist circumference, central obesity and outcomes in type II diabetes mellitus: The ACCORD Trial. *J. Diabetes Complicat.* **2020**, *34*, 107499. [[CrossRef](#)]
51. Mulligan, A.A.; Lentjes, M.A.H.; Luben, R.N.; Wareham, N.J.; Khaw, K.T. Changes in waist circumference and risk of all-cause and CVD mortality: Results from the European Prospective Investigation into Cancer in Norfolk (EPIC-Norfolk) cohort study. *BMC Cardiovasc. Disord.* **2019**, *19*, 1-15. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Wei, M.; Gaskill, S.P.; Haffner, S.M.; Stern, M.P. Waist Circumference as the Best Predictor of Noninsulin Dependent Diabetes Mellitus (NIDDM) Compared to Body Mass Index, Waist/hip Ratio and Other Anthropometric Measurements in Mexican Americans-A 7-Year Prospective Study. *Obes. Res.* **1997**, *5*, 16-23. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Chen, H.-Y.; Su, J.; Liu, H. A study of the correlation of waist circumference with metabolic risks among non-obese populations. *Eur. Rev. Medicin Pharmacol. Sci.* **2019**, *23*, 4391-4397.
54. Naumann, E.; Plat, J.; Kester, A.D.M.; Mensink, R.P. The Baseline Serum Lipoprotein Profile Is Related to Plant Stanol Induced Changes in Serum Lipoprotein Cholesterol and Triacylglycerol Concentrations. *J. Am. Coll. Nutr.* **2008**, *27*, 117-126. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
55. Demonty, I.; Ras, R.T.; Van Der Knaap, H.C.M.; Meijer, L.; Zock, P.L.; Geleijnse, J.M.; Trautwein, E.A. The effect of plant sterols on serum triglyceride concentrations is dependent on baseline concentrations: A pooled analysis of 12 randomised controlled trials. *Eur. J. Nutr.* **2013**, *52*, 153-160. [[CrossRef](#)]
56. Rideout, T.C.; Marinangeli, C. P.H.; Harding, S. V Triglyceride-Lowering Response to Plant Sterol and Stanol Consumption. *J. AOAC int.* **2015**, *98*, 707. [[CrossRef](#)]
57. Plat, J.; Mensink, R.P. Plant stanols lower serum triacylglycerol concentrations via a reduced hepatic VLDL-1 production. *Lipids* **2009**, *44*, 1149-1153. [[CrossRef](#)]
58. Smet, E.D.; Mensink, R.P.; Plat, J. Effects of plant sterols and stands on intestinal cholesterol metabolism: Suggested mechanisms from past to present. *Mol. Nutr. Food Res.* **2012**, *56*, 1058-1072. [[CrossRef](#)]
59. Trautwein, E.A.; Duchateau, G.S.M.J.E.; Lin, Y.; Mel'nikov, S.M.; Molhuizen, H.O.F.; Ntanos, F.Y. Proposed mechanisms of cholesterol-lowering action of plant sterols. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2003**, *105*, 171-185. [[CrossRef](#)]
60. Amato, M.C.; Giordano, C.; Galia, M.; Criscimanna, A.; Vitabile, S.; Midiri, M.; Galluzzo, A. Visceral adiposity index: A reliable indicator of visceral fat function associated with cardiometabolic risk. *Diabetes Care* **2010**, *33*, 920-922. [[CrossRef](#)]
61. Wu, J.; Gong, L.; Li, Q.; Hu, J.; Zhang, S.; Wang, Y.; Zhou, H.; Yang, S.; Wang, Z. A Novel Visceral Adiposity Index for Prediction of Type 2 Diabetes and Pre-diabetes in Chinese adults: A 5-year prospective study. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 1-9. [[CrossRef](#)]
62. Oh, S.-K.; Cho, A.-R.; Kwon, Y.-J.; Lee, H.-S.; Lee, J.-W. Derivation and validation of a new visceral adiposity index for predicting visceral obesity and cardiometabolic risk in a Korean population. *PLoS ONE* **2018**, *13*, e0203787. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
63. Robinson, C.; Tamborlane, W.V.; Maggs, D.G.; Enoksson, S.; Sherwin, R.S.; Silver, D.; Shulman, G.I.; Caprio, S. Effect of insulin on glycerol production in obese adolescents. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **1998**, *274*, E737-E743. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
64. Spalding, K.L.; Bernard, S.; Naslund, E.; Salehpour, M.; Possnert, G.; Appelsved, L.; Fu, K.Y.; Alkass, K.; Druid, H.; Thorell, A.; ve diğerleri, Impact of fat mass and distribution on lipid turnover in human adipose tissue. *Nat. Commun.* **2017**, *8*, 1-9. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
65. Choi, S.H.; Ginsberg, H.N. Increased very low density lipoprotein (VLDL) secretion, hepatic steatosis, and insulin resistance. *Trends Endocrinol. Metab.* **2011**, *22*, 353-363. [[CrossRef](#)]
66. Adiels, M.; Olofsson, S.-O.; Taskinen, M.-R.; Boren, J. Overproduction of very low-density lipoproteins is the hallmark of the dyslipidemia in the metabolic syndrome. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **2008**, *28*, 1225-1236. [[CrossRef](#)]
67. Ebbert, J.; Jensen, M. Fat Depots, Free Fatty Acids, and Dyslipidemia. *Nutrients* **2013**, *5*, 498-508. [[CrossRef](#)]
68. Saponaro, C.; Gaggini, M.; Carli, E.; Gastaldelli, A. The Subtle Balance between Lipolysis and Lipogenesis: A Critical Point in Metabolic Homeostasis. *Nutrients* **2015**, *7*, 9453-9474. [[CrossRef](#)]
69. Nielsen, S.; Guo, Z.K.; Johnson, C.M.; Hensrud, D.D.; Jensen, M.D. Splanchnic lipolysis in human obesity. *J. Clin. Investig.* **2004**, *113*, 1582-1588. [[CrossRef](#)]
70. Riches, F.M.; Watts, G.F.; Hua, J.; Stewart, G.R.; Naoumova, R.P.; Barrett, P.H.R. Reduction in Visceral Adipose Tissue Is



Associated with Improvement in Apolipoprotein B-100 Metabolism in Obese Men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1999,84,2854—2861. [CrossRef]

71. Nielsen, S.; Karpe, F. Determinants of VLDL-triglycerides production. *Curr. Opin. Lipidol.* 2012, 23, 321-326. [CrossRef]
72. Miettinen, T.A.; Puska, P.; Gylling, H.; Vanhanen, H.; Vartiainen, E. Reduction of Serum Cholesterol with Sitostanol-Ester Margarine in a Mildly Hypercholesterolemic Population. *N. Engl. J. Med.* 1995, 333, 1308-1312. [CrossRef] [PubMed]
73. Hendriks, H.F.J.; Brink, E.J.; Meijer, G.W.; Princen, H.M.G.; Ntanios, F.Y. Safety of long-term consumption of plant sterol esters-enriched spread. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2003, 57, 681-692. [CrossRef] [PubMed]
74. Gylling, H.; Hallikainen, M.; Raitakari, O.T.; Laakso, M.; Vartiainen, E.; Salo, R.; Korpelainen, V.; Sundvall, J.; Miettinen, T.A. Long-term consumption of plant stanol and sterol esters, vascular function and genetic regulation. *Br. J. Nutr.* 2009, 101, 1688-1695. [CrossRef] [PubMed]
75. Ooi, E.M.M.; Ng, T.W.K.; Chan, D.C.; Watts, G.F. Plasma markers of cholesterol homeostasis in metabolic syndrome subjects with or without type-2 diabetes. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2009, 85, 310-316. [CrossRef]
76. De Graaf, J.; de Sauvage Nolting, P.R.W.; van Dam, M.; Belsey, E.M.; Kastelein, Haydn Pritchard, P.; Stalenhoef, A.F.H. Consumption of tall oil-derived phytosterols in a chocolate matrix significantly decreases plasma total and low-density lipoprotein-cholesterol levels. *Br. J. Nutr.* 2002, 88, 479-488. [CrossRef]
77. Lin, X.; Racette, S.B.; Lefevre, M.; Spearie, C.A.; Most, M.; Ma, L.; Ostlund, R.E. The effects of phytosterols present in natural food matrices on cholesterol metabolism and LDL-cholesterol: A controlled feeding trial. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2010, 64, 1481-1487. [CrossRef]
78. Kathiresan, S.; Otvos, J.D.; Sullivan, L.M.; Keyes, M.J.; Schaefer, E.J.; Wilson, P.W.F.; D'Agostino, R.B.; Vasan, R.S.; Robins, S.J. Increased small low-density lipoprotein particle number: A prominent feature of the metabolic syndrome in the Framingham Heart Study. *Circulation* 2006, 113, 20-29. [CrossRef]

© 2020 tüm hakkı yazarlara aittir. Lisans sahibi MDPI, Basel, İsviçre. Bu makale, Creative Commons Attribution (CC BY) lisansının hüküm ve koşulları altında dağıtılan açık erişimli bir makaledir. (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

I, the undersigned, Deniz Esen, certify that I am fluent in the English and Turkish languages, and that this document is an accurate translation of the attached document. - Capacity: Notary Certified Translator
Date: 17 May 2025
Address: Serencebey Yokuşu Fırat İşhanı No:1-16 Beşiktaş - İstanbul 34353
Contact Details: 0212 - 259 60 73 - 0212 - 259 60 92 Fax: 0212 259 61 05





Article

Effects of Daily Consumption of an Aqueous Dispersion of Free-Phytosterols Nanoparticles on Individuals with Metabolic Syndrome: A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Trial

Yasna K. Palmeiro-Silva ^{1,*}, Raúl I. Aravena ², Lisette Ossio ¹ and Javiera Parro Fluxa ¹

¹ School of Nursing, Universidad de los Andes, Las Condes 7550000, Chile; lisette.ossio@gmail.com (L.O.); jfparro@uandes.cl (J.P.F.)

² Department of Chemical Engineering, Imperial College London, London SW7 2BX, UK; ria18@ic.ac.uk

* Correspondence: ypalmeiro@uandes.cl; Tel./Fax: +56-2-226181332

Received: 16 July 2020; Accepted: 5 August 2020; Published: 10 August 2020



Abstract: Metabolic syndrome (MS) affects up to 40% of the population and is associated with heart failure, stroke and diabetes. Phytosterols (PS) could help to manage one or more MS criteria. The purpose of this study was to evaluate the therapeutic effect of daily supplementation of an aqueous dispersion of 2 g of free-phytosterols nanoparticles in individuals with MS over six months of intervention, compared with placebo. This double-blind study included 202 participants with MS randomly assigned into phytosterol ($n = 102$) and placebo ($n = 100$) groups. Participants were assessed at baseline, 4, 12 and 24 weeks. General health questions, anthropometric measurements and blood parameters were analysed. At week 24, the proportion of participants with high triglycerides (≥ 150 mg/dL) in the phytosterol group was 15.65% lower than in the placebo group (p -value = 0.023). Similarly, half of the participants in the phytosterol group decreased their waist circumference up to 4 cm compared with 0 cm in the placebo group (p -value = 0.0001). We reported no adverse effects (diarrhoea or vitamin D reduction); nonetheless, almost 70% of participants in the phytosterol group self-reported an improvement in bowel habits. Daily intake of free-PS nanoparticles improved some MS criteria; therefore, it might be a promising adjuvant therapy for individuals with MS (NCT02969720).

Keywords: phytosterols; metabolic syndrome; waist circumference; triglycerides; lipoprotein; constipation

1. Introduction

Metabolic syndrome (MS) is a cluster of interrelated physiologic and metabolic alterations that reaches a prevalence between 5% and 40% worldwide [1–5]. Despite different clinical definitions of MS, alterations in the lipidic profile, hyperglycaemia, obesity and high blood pressure are common characteristics [6–12]. Overweight, obesity and insulin resistance have been associated with MS as the main causes, which are strongly associated with diet and physical activity [13,14]. Complementary, MS and its components might increase short and long-term cardiovascular risks [15,16], partly because of cumulative macro- and microvascular changes as well as cellular dysfunction mediated by chemical and hormonal alterations [16,17]. These pathophysiological impairments increase the risk of heart failure, stroke and diabetes [18,19], representing a substantial burden of disease [20–22].

MS can be prevented or partially reversed by lifestyle changes and/or pharmacologic interventions usually focused on each MS criterion. The latter situation frequently leads to polypharmacy [23] and



multiple adverse drug events, resulting in negative health outcomes and medication non-adherence [24]. In this regard, nutraceuticals have been proposed as natural alternatives to overcome these drawbacks, in which phytosterols (PS) or plant sterols are considered an adjuvant therapy for individuals with physiologic and metabolic alterations [25,26].

PS and phytosterols (PSn) are cholesterol-like molecules naturally found in vegetables and fruits. PS has been proposed to manage serum cholesterol since the 1950s when Pollak et al. reported that PS intake could reduce dietary cholesterol resorption [27]. Ever since then, several studies have reported that daily PS consumption may reduce serum levels of total cholesterol (TChol) and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-c) [28–30]. Additionally, PS/PSn intake could improve other physiological and metabolic parameters. Plat et al. found that individuals who consumed two grams of PSn for 8-weeks reduced non-high-density lipoprotein cholesterol, TChol and triglycerides (TG) levels [31]. Sialvera et al. observed reductions in TChol, LDL-c, TG and small dense LDL amongst individuals with MS who consumed four grams of PS after two months of the intervention [32]. Conversely, another study demonstrated that taking two grams of PS for three months did not improve the lipidic profile in individuals with MS [33]. Other studies have stated that PS could improve fasting glucose [34] and blood pressure [35].

Different factors could explain these diverse findings, for example, the food matrix in which PS/PSn is delivered, the daily dose of PS/PSn, free or esterified form, and population characteristics [36–39]. Particularly, free-PS nanoparticles (<1 µm) have shown hypotriglyceridaemic effects in comparison to PS esters in hypercholesterolaemic individuals [40]. However, to the best of our knowledge, no study has evaluated the effect of an aqueous dispersion of free-phytosterols nanoparticles (f-PSnano) in individuals with MS.

The primary purpose of this study was to evaluate the therapeutic effect of daily supplementation of an aqueous dispersion of 2 g of f-PSnano in individuals with MS over six months of intervention, compared with placebo. Secondary and exploratory analyses were conducted to expand our knowledge of the effects of PS consumption on other metabolic changes in individuals with MS.

2. Materials and Methods

2.1. Design

This study was a parallel, randomised, double-blind, placebo-controlled trial of f-PSnano in individuals with MS. This trial was conducted in three sites, considered as primary care centres, from January to November 2018, in Chile. Besides, this study adhered to the Declaration of Helsinki and Good Clinical Practice guidelines, was approved by the East Metropolitan Health Service Ethics Committee in Chile and registered at [ClinicalTrials.gov](https://www.clinicaltrials.gov) (NCT02969720).

2.2. Participants

To be eligible, participants had to meet the following criteria: (i) age between 18 and 65 years; (ii) availability to attend morning appointments; (iii) have been diagnosed with metabolic syndrome or met diagnosis criteria at the beginning of the study. The individual is diagnosed with MS if she/he meets, at least, three out of five of the MS criteria (Table 1) proposed by Alberti et al. [13]. On the other hand, participants were not eligible if they: (i) had alcohol-related problems; (ii) had familial sitosterolaemia or hypercholesterolaemia; (iii) were consuming phytosterols at the moment of this study; (iv) were pregnant or breastfeeding; (v) had a medical history of myocardial infarction, stroke, decompensated diabetes or hypertension; (vi) not able to make decisions for themselves; (vii) people consuming weight management pills. During this study, there was no restriction on medication intake or dietary patterns.



Table 1. Metabolic syndrome (MS) criteria agreed in 2009.

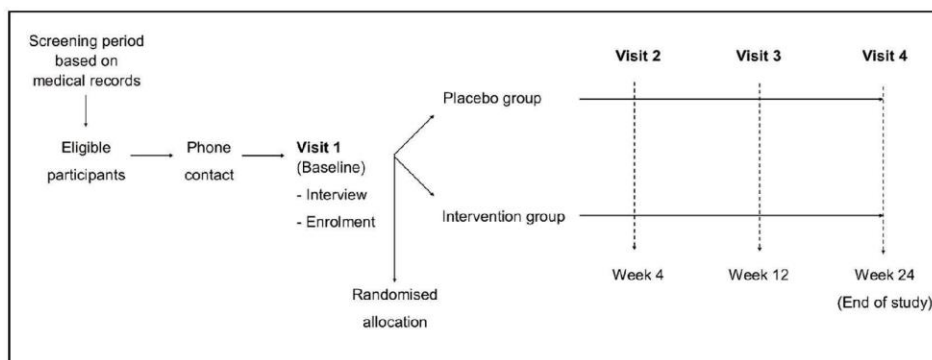
Criterion	Categorical Cut-Off Point
Waist circumference	Depends on ethnic and country-specific definitions ¹
Triglycerides	≥150 mg/dL or specific treatment (fibrates or nicotinic acid)
High-density lipoprotein cholesterol (HDL-c)	<40 mg/dL in males; <50 mg/dL in females, or specific treatment (fibrates or nicotinic acid)
Blood pressure (BP)	Systolic BP ≥ 130 or Diastolic BP ≥ 85 mmHg, or treatment of previously diagnosed hypertension
Fasting glycaemia	≥100 mg/dL, or previously diagnosed with type 2 diabetes

¹ South American population is considered for this study: ≥90 cm (males) and ≥80 cm (females). Source: [13].

The number of participants required was calculated considering two independent groups and dichotomous endpoint of success/failure, where success was considered starting with an abnormal criterion and finishing with a normal criterion (Table 1). Statistical parameters were a 1:1 enrolment ratio, alpha of 5%, power of 90% and 10% of the difference between groups. This calculation resulted in 190 participants, but we considered 15% of dropouts; thus, the final sample size was 110 participants per group.

2.3. Procedures and Assessments

This study included a screening period, one baseline visit (V1) and 24-weeks of the intervention phase, which included three visits (Figure 1).

**Figure 1.** General diagram of the study.

Participants were screened from medical health records at the primary centres and selected if they fulfilled eligibility criteria for this study. If yes, they were contacted by the principal investigator (PI) and invited to the first meeting. If participants accepted, V1 was arranged and consisted of two phases. First, the PI explained the study in-depth and answered all participants' questions. Once participants agreed to participate and provided written informed consent, they were randomly allocated to the intervention or placebo group. During the second part of V1, a nurse assessed participants according to the protocol and delivered one white box along with general instructions on how to consume the supplement at lunch (directly or diluted in a glass of water). Besides, a daily notebook was provided, in which participants could note any "extra" or "strange" symptom, missed doses or changes in diet or regular medication.

Assessments for all visits included: questions related to general health status; product tolerance; vital signs; anthropometric measures; blood tests; the analysis of participant's notebook. In particular, vital signs included blood pressure (BP) and heart rate (HR), which were obtained using Omron 7120 monitors. Anthropometric measurements included height, weight and waist circumference (WC). Blood analysis included lipidic profile (TChol, LDL-c, very low-density lipoprotein cholesterol (VLDL-c), HDL-c, TG and lipid particles), biochemical profile (glycated haemoglobin (HbA1c), insulin,

fasting glycaemia and homeostatic model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) index) and vitamin D. Blood samples were collected after 12-h of fasting, in tubes containing clot activator and gel serum separator, sodium fluoride/potassium oxalate and ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), using a Vacutainer system[®] or syringe when necessary. After collection, samples were placed in a blood sample container and taken to the 'Instituto Radiologico Providencia' in Chile. Fasting glycaemia and insulin were analysed using the glucose hexokinase (Glu-HK) and chemiluminescence methods, respectively; glycated haemoglobin was obtained through capillary electrophoresis method; lipid profile was obtained based on the cholesterol oxidase phenol 4-aminoantipyrine peroxidase (CHOD-PAP) method, and vitamin D was obtained using chemiluminescence method.

Bowel habit was evaluated based on self-perception and participant reports. Phone contact was maintained throughout the entire study according to the needs of participants or the research team.

At visit 2 (V2-week 4), visit 3 (V3-week 12) and visit 4 (V4-week 24), participants were assessed according to the protocol, and at V4 treatment, the allocation was revealed to each participant. Table S1 in Supplementary Materials shows which assessment was performed at each visit.

2.4. Randomisation and Masking

Once enrolled, participants were allocated to the intervention group (phytosterol group) or placebo group in a 1:1 ratio according to a simple random sequence generated by STATA 13.0 software. The PI delivered coded white plain boxes containing placebo or f-PSnano sachets to the clinical research nurses. Participants and nurses were blinded.

2.5. Intervention

Participants allocated in the intervention group consumed an aqueous dispersion of 2 g of f-PSnano per day over six months period. Each sachet of dispersion (8 mL) contained f-PSnano from pine, surfactants (<0.5%) and water. Participants in the control group received an aqueous dispersion (10 mL) that consisted of titanium dioxide, xanthan gum, carrageenan, surfactants (<0.5%), potassium sorbate, citric acid and water. The difference of 2 mL between the product and placebo did not change the size of each sachet and was done to achieve the same white colour when phytosterols/placebo were consumed directly or diluted in a glass of water.

The aqueous dispersion of f-PSnano and placebo were manufactured and provided by Nutrartis S.A. Both were delivered in identical coded white plain cube boxes with 35 plain sachets, each one to ensure double-masking throughout the study.

2.6. Outcomes

The primary outcome was the proportion of participants classified with 'abnormal'/'normal' MS criteria at V4 between phytosterol and placebo groups. As individuals were not asked to suspend medication, including for MS, the proportion of participants 'free' of MS at the end of the study was not possible to evaluate. However, we considered the proportion of MS parameters that improved at V4 for both groups, which means going from 'abnormal' to 'normal'. 'Abnormal' was understood as waist circumference ≥ 90 cm (men) or ≥ 80 cm (women); triglycerides ≥ 150 mg/dL; high-density lipoprotein cholesterol < 40 mg/dL (men) or < 50 mg/dL (women); systolic blood pressure ≥ 130 mmHg or diastolic blood pressure ≥ 85 mmHg; fasting glycaemia ≥ 100 mg/dL. Nonetheless, this binary classification could mask important differences in metabolic risk between individuals; therefore, we evaluated the metabolic syndrome severity Z score (MetS-Z), based on waist circumference, proposed by Gurka et al. [41,42], in order to obtain a clearer degree of the overall metabolic syndrome severity. It is worth noting that this score was created based on the USA population and needs to be validated to the Chilean population.

Major secondary outcomes were values of total cholesterol (TChol), LDL-c, very-low-density lipoproteins (VLDL-c), high-density lipoproteins (HDL-c), triglycerides (TG), fasting glycaemia (FG), glycated haemoglobin (HbA1c), fasting insulin (FI), HOMA-IR index, weight, body mass index (BMI),



waist circumference (WC), systolic and diastolic blood pressure (SBP and DBP, respectively) at V2, V3 and V4, as well as the difference between each visit and baseline, between groups. Exploratory outcomes included the particle number of lipoproteins for a subgroup of participants at each visit. Safety outcomes included adverse and serious events. Before starting the study, diarrhoea was considered as a potential adverse effect because PS consumption could modify bowel habits due to changes in cholesterol absorption. Besides, Vitamin D was measured because of a possible alteration in lipophilic vitamin absorption [43]; therefore, they were included as routine assessments. Any event that required medical or surgical intervention due to the intervention was considered a serious adverse event.

2.7. Statistical Analyses

Each MS criterion was considered as a categorical variable ('normal'/'abnormal') according to cut-off points presented in Table 1, and the metabolic syndrome severity score was calculated according to Gurka et al. [41,42]. Complementary, MS criteria and secondary outcomes were analysed as continuous variables in order to observe more precise changes and the magnitude of change from the baseline because some participants were taking medications, a situation that could not be reversed; thus, baseline values matter. Subgroups analyses were conducted to explore sex differences (women/men). Exploratory outcomes were analysed descriptively.

Data normality was assessed using summary measures, histograms and the Shapiro–Wilk test. For normally distributed data, mean and standard deviation (SD) are presented, and parametric tests were used (Student's T-test); otherwise, median and 25th and 75th percentiles (p25–p75) were considered, and non-parametric tests were applied (Mann–Whitney U test). When comparing categorical data, Chi-square test or exact Fisher's test were used, and the test of proportions was applied accordingly.

In the case of non-heterogeneous groups, we adjusted effects for sex, age and basal conditions using generalised linear regression models.

For all tests, the level of significance was set at less than 5%, and all statistical analyses were performed using STATA 13.0.

3. Results

3.1. Sample Characteristics

From medical records, we screened 850 individuals, of whom 546 were not eligible for not fulfilling MS criteria. A total of 219 participants were enrolled and randomly assigned to either phytosterol ($n = 109$) or placebo ($n = 110$) arm. Throughout the study, 17 participants dropped out mostly because they did not have enough time to attend morning assessments. The cumulative frequency of dropout was the following: 12 participants dropped out at V2 (six from placebo and six from phytosterol), 14 participants at V3 (seven from placebo and seven from phytosterol) and 17 participants at V4 (ten from placebo and seven from phytosterol). Despite these dropouts, 202 participants completed this study with 100% of data. Figure 2 shows the flow chart of the study.

Baseline participants' characteristics were well balanced between groups, not having significant differences regarding sociodemographic, health-related and physiologic variables at baseline (Table 2).



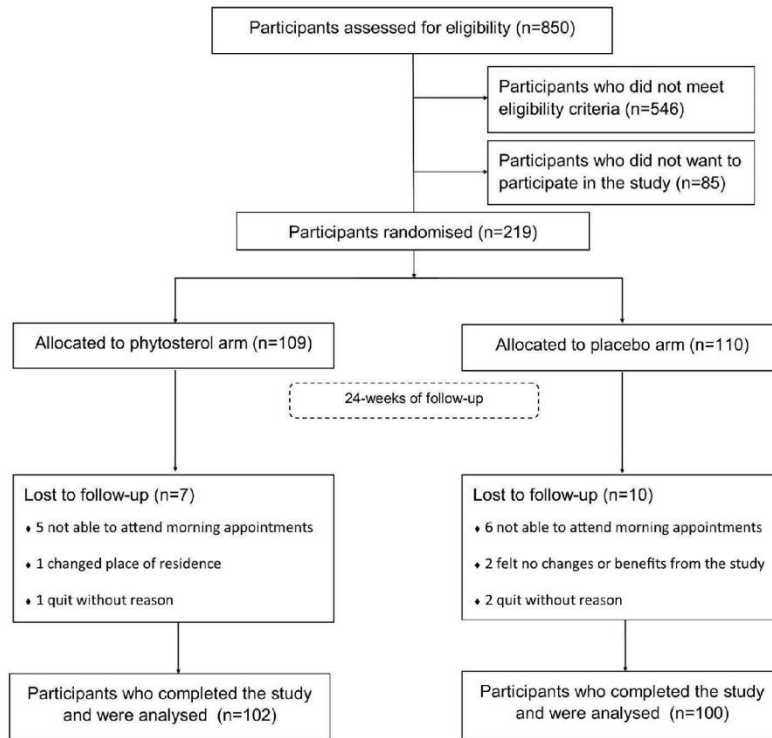


Figure 2. Flow chart of the study.

Table 2. Baseline participants’ characteristics by the group.

KERRYPNX	Phytosterol (n = 102)	Placebo (n = 100)	p-Value
Sociodemographic variables			
Age in months, median (p25–p75)	520 (407–636)	527.5 (414–632.5)	0.9568
Sex			
Men, n (%)	28	26	0.816
Women, n (%)	74	74	
Socioeconomic status (self-reported)			
High, n (%)	3 (2.94)	2 (2)	0.733
Middle, n (%)	93 (91.18)	90 (90)	
Low, n (%)	6 (5.88)	8 (8)	
General health-related information			
Underlying health condition			
Yes, n (%)	86 (84.31)	79 (79)	0.329
No, n (%)	16 (15.69)	21 (21)	
Concomitant medication			
Yes, n (%)	63 (61.76)	57 (57)	0.491
No, n (%)	39 (38.24)	43 (43)	
Smoking			
Yes, n (%)	55 (53.92)	44 (44)	0.158
No, n (%)	47 (46.08)	56 (56)	
Alcohol consumption			
Yes, n (%)	67 (65.69)	72 (72)	0.333
No, n (%)	35 (34.31)	28 (28)	
Number of meals per day, median (p25–p75)	3 (3–3)	3 (3–3)	0.1777
Physical activity			
Yes, n (%)	44 (43.14)	46 (46)	0.682
No, n (%)	58 (56.86)	54 (54)	



Table 2. Cont.

KERRYPNX	Phytosterol (n = 102)	Placebo (n = 100)	p-Value
Blood test parameters, median (p25–p75)			
Total cholesterol (mg/dL)	196 (169–224)	196 (168.5–225)	0.9789
LDL-c (mg/dL)	118.5 (99–144)	118.5 (100.5–147.5)	0.8069
VLDL-c (mg/dL)	26.5 (20–42)	28.5 (20–40.5)	0.9625
Insulin (μ U/L)	15.6 (10.38–23.7)	13.36 (9.07–18.48)	0.1065
HOMA-IR index	3.02 (1.94–4.26)	3.62 (2.28–5.52)	0.0684
Glycated haemoglobin - HbA1c (%)	5.215 (4.98–5.77)	5.305 (4.96–5.69)	0.7361
Vitamin D (ng/mL)	24.6 (19.9–29)	24.25 (19.7–29.55)	0.9109
Anthropometric measurements and vital signs, median (p25–p75)			
Weight (kg)	78.95 (71.2–90.1)	80.6 (70.5–89.75)	0.8985
Height (m)	1.585 (1.55–1.67)	1.59 (1.545–1.675)	0.7413
Body mass index (kg/m ²)	30.63 (27.46–34.4)	30.55 (28–34.46)	0.5298
Heart rate (beats per minute)	72 (67–80)	71 (65–76.5)	0.0455
Metabolic syndrome variables, median (p25–p75)			
Waist circumference (cm)	99.5 (93–105)	100.5 (92–108.5)	0.4795
Triglycerides (mg/dL)	138 (105–221)	143.5 (100.5–202.5)	0.8303
HDL-c (mg/dL)	43.5 (37–52)	43 (37.5–51)	0.9875
Systolic blood pressure (mm Hg)	122 (113–133)	119.5 (110.5–132)	0.2176
Diastolic blood pressure (mm Hg)	83 (78–90)	82 (76–89)	0.6188
Fasting glycaemia (mg/dL)	93.5 (88–99)	91 (85.5–98)	0.0910
Metabolic syndrome criteria, n (%)			
3	71 (69.61)	76 (76)	
4	22 (21.57)	20 (20)	0.379
5	9 (8.82)	4 (4)	
MetS-Z, median (p25–p75)	0.463 (0.06–0.99)	0.489 (−0.02–0.93)	0.5947

(p25–p75): 25th percentile and 75th percentile; LDL-c: low-density lipoprotein cholesterol; VLDL-c: very-low-density lipoprotein cholesterol; HDL-c: high-density lipoprotein cholesterol; MetS-Z: metabolic syndrome severity Z score.

3.2. Primary Outcome

At the beginning of this study, participants met between three and five MS criteria (Table 2), and the distribution was similar between groups (table $p = 0.379$). At V4, some participants changed the status of these criteria just based on blood tests, WC and BP measurements, considering that no regular medication was suspended or changed. Table 3 shows the distribution of MS criteria met by participants at V4 and the difference in this number between V4 and V1.

Table 3. Distribution of MS criteria met by participants at V4 and the difference between V4 and V1.

N° of Criteria	Visit 4			N° of Criteria	Difference Between V4 and V1		
	Phytosterol (n = 102)	Placebo (n = 100)	p-Value		Phytosterol (n = 102)	Placebo (n = 100)	p-Value
0, n (%)	2 (1.96)	1 (1)		−3, n (%)	3 (2.94)	1 (1)	
1, n (%)	16 (15.69)	16 (16)		−2, n (%)	24 (23.53)	19 (19)	
2, n (%)	39 (38.24)	30 (30)	0.563	−1, n (%)	45 (44.12)	40 (40)	0.648
3, n (%)	29 (28.43)	35 (35)		0, n (%)	23 (22.55)	31 (31)	
4, n (%)	9 (8.82)	14 (14)		1, n (%)	6 (5.88)	8 (8)	
5, n (%)	7 (6.86)	4 (4)		2, n (%)	1 (0.98)	1 (1)	

Considering the analysis of each MS criterion, the proportion of participants with high or ‘abnormal’ TG levels (≥ 150 mg/dL) between phytosterol and placebo groups were similar at baseline, reaching 2.06% of the difference (p -value = 0.7691); however, this proportion was significantly different at V4, reaching 15.65% of the difference between groups (p -value = 0.023). This difference was explained by a decrease in participants with high TG levels in the PS group and an increase in the placebo group. For all other criteria, the proportion of participants with ‘abnormal’ levels at V4 was not statistically different between groups (Figure 3). For detailed information, see Table S2 in the Supplementary Materials.



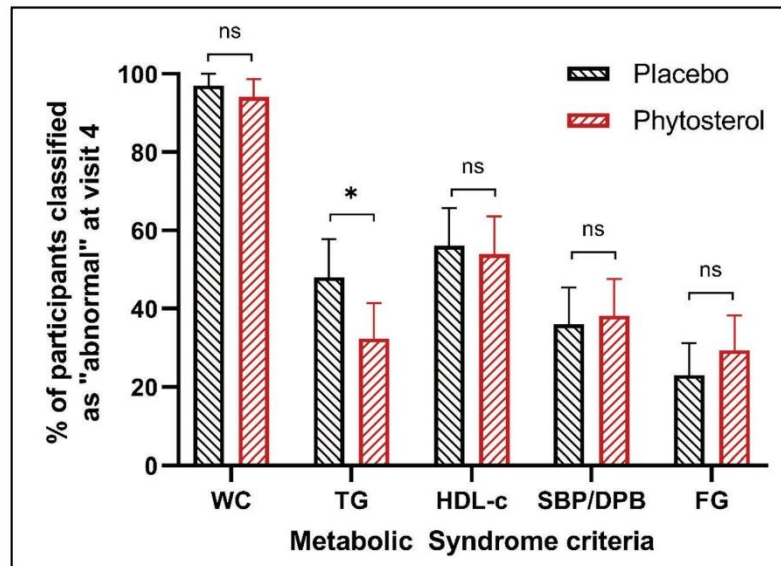


Figure 3. Distribution of participants (%) with ‘abnormal’ levels of waist circumference, triglycerides, high-density lipoprotein cholesterol (HDL-c), systolic/diastolic blood pressure and fasting glycaemia at V4 by the group. ns = non-significant; * statistically significant ($p < 0.05$).

Table 4 presents each MS criterion considering continuous data. At visit 4, WC was significantly different between groups, where half of the participants in the phytosterol versus placebo group presented WC up to 94 and 99 cm, respectively ($p = 0.0022$). Other small differences were observed in TG and HDL-c, but they were not statistically significant.

Table 4. MS criteria (continuous data) at visit 4 and the absolute difference between V4 and V1 by the group. All data are presented as median and 25th–75th percentiles.

	Visit 4		p-Value	Difference Between V4–V1		
	Phytosterol (n = 102)	Placebo (n = 100)		Phytosterol (n = 102)	Placebo (n = 100)	p-Value
WC (cm)						
All	94 (89–102)	99 (93–109.5)	0.0022	−4 (−7–−1)	0 (−3–2.5)	0.0001
Men	99.5 (94.5–105)	103 (94–109)	0.5732	−3 (−5–0)	0 (−3–3)	0.0875
Women	92 (86–99)	99 (93–110)	0.0007	−5 (−8–−1)	0 (−3–2)	0.0001
TG (mg/dL)						
All	123 (87–175)	145 (99.5–191.5)	0.1137	−16.5 (−57–15)	1.5 (−40–32)	0.0245
Men	150 (123–243.5)	188 (122–245)	0.4566	−21.5 (−87–3.5)	−37 (−54–13)	0.9724
Women	112.5 (82–152)	134.5 (86–168)	0.1176	−14 (−57–17)	3.5 (−32–32)	0.0074
HDL-c (mg/dL)						
All	46 (40–55)	45 (39–53.5)	0.6839	1 (−1–5)	1 (−2–5)	0.6563
Men	39.5 (35.5–46)	37.5 (31–45)	0.3721	0 (3.5–−2)	0 (−3–2)	0.5037
Women	48 (42–58)	47 (41–55)	0.6071	2 (−1–6)	2 (−2–5)	0.8102
SBP (mm Hg)						
All	119 (112–129)	119 (112.4–128)	0.9242	−2 (−12–5)	−1 (−10.5–7.5)	0.2753
Men	125 (118–131)	127.5 (117–136)	0.6093	0 (−12.5–7)	2.5 (−9–8)	0.7095
Women	116.5 (112–126)	118 (108–126)	0.7735	−2.5 (−12–4)	−1 (−11–7)	0.2939



Table 4. Cont.

	Visit 4		<i>p</i> -Value	Difference Between V4–V1		
	Phytosterol (<i>n</i> = 102)	Placebo (<i>n</i> = 100)		Phytosterol (<i>n</i> = 102)	Placebo (<i>n</i> = 100)	<i>p</i> -Value
DBP (mm Hg)						
All	79.5 (73–87)	80 (72.5–86)	0.6820	−2.5 (−9–3)	−3 (3.5–10)	0.9099
Men	85 (78.5–91)	84 (75–91)	0.6398	−2 (2.5–9)	−5 (−15–2)	0.3630
Women	78 (72–85)	79 (70–85)	0.9480	−3 (−9–3)	−2.5 (−10–5)	0.4508
FG (mg/dL)						
All	95 (90–102)	92 (87–98)	0.1712	2 (−3–7)	1.5 (−3–6)	0.9769
Men	96 (90–99.5)	94 (92–105)	0.7947	2 (−2–12)	3.5 (0–7)	0.9378
Women	94.5 (86–103)	91.5 (85–97)	0.1179	1 (−4–6)	1 (−3–6)	0.9480

WC: waist circumference; TG: triglycerides; HDL-c: high-density lipoprotein cholesterol; SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure; FG: fasting glycaemia.

In terms of the difference between V4 and V1 for each parameter, WC and TG were significantly different between groups. Half of the participants in the phytosterol group decreased WC up to 4 cm in comparison with 0 cm in the placebo group, which means that participants in the phytosterol group outperformed placebo, decreasing WC by 5.05%. Similarly, half of the participants in the phytosterol group decreased TG levels up to 16.5 mg/dL. This finding means that the phytosterol group outperformed placebo group, showing a 15.17% reduction in TG levels.

The metabolic syndrome severity was evaluated through the MetS-Z based on waist circumference. At V1, this score was similar for both groups ($p = 0.5947$), but at V4, this score decreased by 0.199 (25th percentile: -0.559 ; 75th percentile: 0.106) for the phytosterol group and increased by 0.009 (25th percentile: -0.301 ; 75th percentile: 0.25) for the placebo group, this difference being statistically significant ($p = 0.0024$).

At V4 and based on generalised linear models, we observed that participants in the phytosterol group had, on average, 3.76 cm less WC than participants in the placebo group, adjusting for age, sex and WC baseline values (p -value = 0.001 and 95% confidence interval from -5.1 cm to -2.4 cm). Similarly, participants in the phytosterol group presented, on average, 27.49 mg/dL less of TG levels than the placebo group, after adjusting for age, sex and TG baseline levels (p -value = 0.004 and 95% confidence interval from -46.26 mg/dL to -8.73 mg/dL).

3.3. Secondary Outcomes

Secondary outcomes included analysis of lipidic profile (TChol, LDL-c, VLDL-c, HDL-c, TG), FG, FI, HOMA-IR index, weight, BMI, WC, SBP and DPB at V1, V2, V3 and V4. Baseline values are shown in Table 2, and detailed values for each variable at each visit are shown in Tables S3–S5 in the Supplementary Materials.

We observed that participants in the phytosterol group showed consistently better results for TChol, VLDL-c, TG, HOMA-IR index and WC than the placebo group. The relative difference of TChol levels and HOMA-IR index at each visit (V2, V3, V4) in comparison with baseline levels was consistently lower for the phytosterol group than the placebo group, but this difference was only statistically significant between V2 and V1 ($p = 0.012$ and $p = 0.0211$, respectively) (Table S5 in Supplementary Materials). Analysing the average reduction, participants taking phytosterols reduced TChol levels by 3.3%, while participants in the placebo group increased TChol levels by 1.9% at the end of the first month of intervention (Figure 4a).



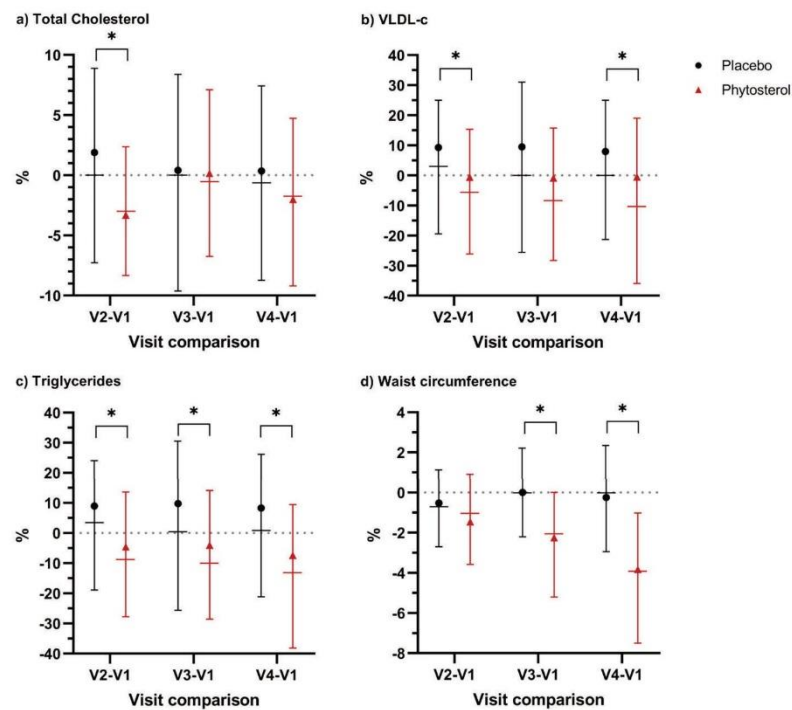


Figure 4. Relative difference (%) between V2 and V1, V3 and V1 and V4 and V1 for (a) total cholesterol; (b) very-low-density lipoprotein cholesterol (VLDL-c); (c) triglycerides; (d) waist circumference by the group. * Statistically significant ($p < 0.05$). Black lines represent the placebo group, and red lines the phytosterol group. Horizontal lines represent the interquartile range and the median. Black points (●) represent the mean for the placebo group, and red triangles (▲) represent the mean for the phytosterol group.

Similarly, the phytosterol group presented consistent and systematic reductions of VLDL-c than the placebo group at each visit compared with baseline. The median relative reduction in VLDL-c amongst participants in the phytosterol group was 5.6%, 7.7% and 10.5% when comparing V2, V3 and V4 with baseline values, respectively. In contrast, these values for the placebo group were close to 0% at all times (Figure 4b).

In the same way, TG levels followed a similar trend to that of VLDL-c. Participants in the phytosterol group had significant reductions in TG compared with the placebo group at all times. In Figure 4c, we observe that half of the participants in the phytosterol group reduced TG levels by 7.9% between V2 and V1; 9.7% between V3 and V1; 12.6% between V4 and V1, while the placebo group showed a change of almost 0%. This difference was statistically significant at all times (Table S4 in Supplementary Materials).

Finally, waist circumference showed statistically significant results when comparing relative differences between V3 and V1 and V4 and V1 (Figure 4d). At V3, half of the participants in the PS group had reduced WC by 2.09%, while this reduction was 0% in the placebo group (p -value = 0.0007). At V4, this difference was even larger. Half of the participants in the placebo group presented a change of 0% from the baseline, while this reduction in the phytosterol group reached 3.74% (p -value = 0.0001).

3.4. Safety Outcomes

Vitamin D levels were similar between groups at baseline and V4. For results at baseline, see Table 2. The median for vitamin D at V4 was 18.1 ng/mL for the phytosterol group (25th percentile: 14.1 ng/mL; 75th percentile: 23.8 ng/mL) and 17.6 ng/mL for the placebo group (25th percentile: 13.85 ng/mL; 75th percentile: 23.4 ng/mL), showing a not statistically significant difference (p -value = 0.5313).



When consulting for bowel habits, no participant reported diarrhoea episodes during this study. However, most of the participants in the phytosterol group self-reported an improvement in their bowel habits at V4, a situation that was not observed in the placebo group (Table 5). According to participants' description, either in the placebo or phytosterol group, most of them self-reported a previous state of "constipation" due to hard or dry stools; however, at visit 4, almost 70% of participants in the phytosterol group described an improvement in this condition, relieving constipation but not presenting diarrhoea (p -value = 0.001).

Table 5. Participants' perception regarding bowel habits at V4 by the group.

	Phytosterol ($n = 102$)	Placebo ($n = 100$)
Bowel habit improved from V1, n (%)	69 (67.65)	4 (4)
Bowel habit did not change from V1, n (%)	31 (30.39)	90 (90)
Bowel habit worsened from V1, n (%)	2 (1.96)	6 (6)

3.5. Exploratory Outcomes

In a random subsample of participants, we explored the effects of phytosterols on the particle number for VLDL (VLDL-p), LDL (LDL-p) and HDL (HDL-p) and their different subclasses (small, medium and large) at each visit. These parameters were analysed for 59 participants from the phytosterol group and 57 participants from the placebo group. Socioeconomic, physiological variables and baseline values of the particle number were similar in both groups; therefore, we concluded that they were comparable (Table S6 in the Supplementary Materials).

We observed that at V4, participants in the phytosterol group tended to have lower LDL-p and VLDL-p than the placebo group (Figure 5). For detailed values, see Table S7 in the Supplementary Materials.

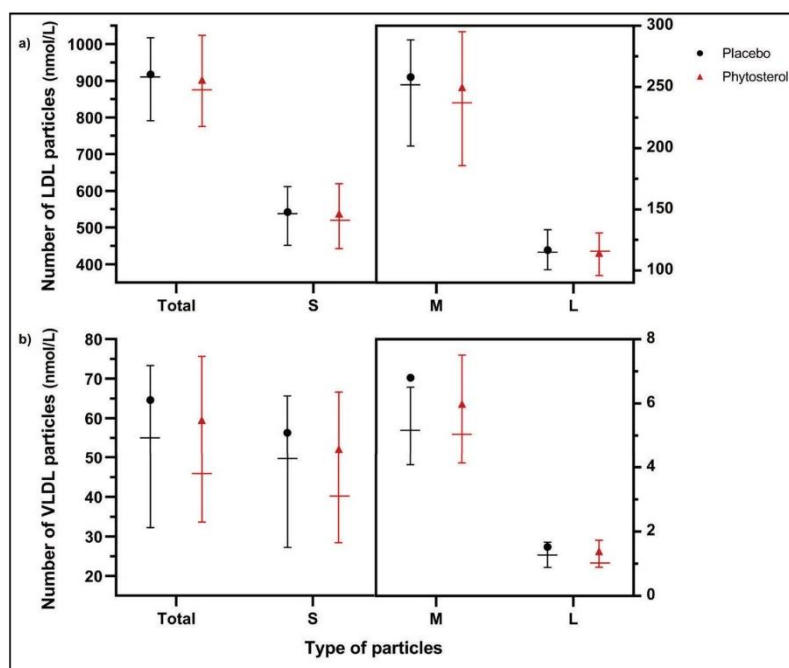


Figure 5. Number of LDL-p (a) and VLDL-p (b) by subclass (small, medium and large) at V4 by the group. Black lines represent the placebo group, and red lines the phytosterol group. Horizontal lines represent the interquartile range and the median. Black points (●) represent the mean for the placebo group, and red triangles (▲) represent the mean for the phytosterol group. M and L particles are measured with the right y-axis.

4. Discussion

In this study, we evaluated the therapeutic effect of daily supplementation of an aqueous dispersion of 2 g of f-PSnano in individuals with MS over six months of intervention, compared with placebo. We observed that the phytosterol group reduced significantly TG levels and WC after six months of intervention. These results are of importance because high TG levels and WC have been widely reported as critical risk factors for cardiovascular diseases [44–51] and metabolic disorders [52,53]. Additionally, based on the MetS-Z, the phytosterol group decreased its metabolic syndrome severity in comparison with the placebo group, which means that individuals who consume phytosterols could decrease their metabolic syndrome severity. However, this score needs to be standardized and validated to the Chilean population.

Hypotriglyceridaemic effects of PS have not been consistent in previous studies. Naumann et al. [54], Demonty et al. [55] and Rideout et al. [56] established that TG levels reduction was highly dependent on TG levels at baseline, being the reduction greater in individuals with higher TG baseline levels. In particular, we observed a difference of 15.17% in TG levels between groups at V4, which was consistent with the results reported by Plat et al. [31] and Sialvera et al. [32] in individuals with MS.

Although the hypotriglyceridaemic effect of PS is not well understood, some mechanisms have been proposed to explain it [31,32,57]. Our exploratory analyses showed that participants who consumed f-PSnano tended to have lower VLDL-p compared with the placebo group, which agreed with Plat et al., who reported that individuals with MS presented a significant reduction in large and small VLDL-p after PSn esters consumption compared with placebo [57]. It is well-known that TG is mainly carried by VLDL-p, whereby TG levels reduction could be mediated by a reduction in the hepatic synthesis of VLDL-p; however, more lipoprotein synthesis studies are needed to confirm this hypothesis.

To the best of our knowledge, this is the first study that showed constipation relief and reduction of WC amongst participants who consume PS. A decrease in intestinal cholesterol absorption due to cholesterol displacement from the mixed micelle [58,59] could explain these results. In this regard, we hypothesised that hypotriglyceridaemic effects, constipation relief and WC reduction after consumption of f-PSnano could be driven by a reduction in fatty acid absorption.

High fatty acid absorption could lead to an increment in WC by an increment in visceral adiposity (VA). Several studies have proposed that higher WC is positively correlated with a higher amount of VA in individuals [60–62]. A higher amount of VA tends to increase the lipolytic activity of this tissue [63], producing a high triglyceride turnover in VA tissue [64]. As VA strongly influences lipid metabolism [65–68], VA increments could promote fatty acids delivery to the liver through the portal vein [69] because of a higher TG turnover. Consequently, an increment of VA could lead to a higher TG transportation to and concentration in the liver, triggering an increase in VLDL-c production [65,70,71]. Therefore, a reduction in fatty acid absorption could lead to a reduction in the VA tissue and a reduction in the efflux of fatty acids from the VA to the liver, decreasing liver TG concentration. Then, the lower availability of TG in the liver could lead to a reduction in VLDL-c production and exportation to the vascular system, reducing the serum TG level. Complementary, the reduction of intestinal fatty acid absorption would improve constipation by changing the faeces composition.

Regarding the well-known hypocholesterolaemic effects of PS consumption, we observed that TChol levels tended to be lower in the phytosterol group, observing significant changes between groups only at V1. These findings could be explained by three main reasons. First, most of the participants in this study were normo-cholesterolaemic; thus, only slight changes in TChol and LDL-c would be expected [38,54]. Second, long-term clinical trials have reported minor TChol reductions in normo-cholesterolaemic and mild-hypercholesterolaemic individuals who consumed PS in comparison with short-term trials [72–74]. This observation could explain why Plat et al. [31] and Sialvera et al. [32] reported a significant reduction in TChol and LDL-c after 8-weeks of intervention, while Hernández-Mijares et al. reported non-significant effects over these parameters after 12-weeks of the intervention [33]. Finally, PS reduces TChol and LDL-c by decreasing cholesterol absorption, but



individuals with MS present low cholesterol absorption and high endogenous cholesterol synthesis [75]; therefore, the PS lowering absorption effect could be compensated with the endogenous synthesis of cholesterol in individuals with MS in long-term studies. Indeed, increased endogenous cholesterol synthesis has been observed in hypercholesterolaemic individuals under PS intervention [76,77].

Interestingly, vitamin D levels decreased in both groups throughout the study, showing no significant difference between groups at V4. We explained this phenomenon as a seasonality effect because we started recruiting in summer, and V3 and V4 were performed during fall-winter seasons.

Individuals with MS exhibit higher VLDL-p and LDL-p in comparison with healthy individuals [78]; therefore, we explored the effects of f-PSnano consumption on lipoprotein particle number. Our results showed that VLDL-p and LDL-p concentration tended to be lower in individuals who consumed f-PSnano compared with the placebo group. As it was mentioned before, reduction in VLDL-p could be related to reductions in TG and WC because of reduced fatty acids absorption. Although lower LDL-p in the phytosterol group in comparison with placebo group could be explained by the hypocholesterolaemic and hypotriglyceridaemic effects of PS, we were not able to explain why LDL-p increased in both groups along the study. We hypothesised that it could be related to changes in dietary habits or physical activity throughout the year. It is worth noting that small LDL-p was lower in the phytosterol group at V2, which coincided with a reduction of TCHol, VLDL-c and TG levels.

This study has several strengths. It is the first study that evaluated f-PSnano in participants with MS. It also included a larger sample size compared to previous studies and was done according to a real routine clinical practice. To the best of our knowledge, this is the first study that reported a reduction in WC due to f-PSnano consumption, an anthropometric parameter that is highly associated with cardiovascular risk. Finally, this study showed an improvement in bowel habit; therefore, f-PSnano could be an interesting solution for many individuals who have physiologic and metabolic alterations, as well as constipation, without adverse effects on fat-soluble vitamins. Nonetheless, this study has potential limitations. It considered only three primary centres, so, representativeness and generalisation of results could be limited. Besides, the sample was mainly integrated by women, which could be a bias in terms of sex representation. This drawback was addressed performing regression analyses. Finally, this study covered six months of intervention, and long-term effects of f-PSnano consumption were not evaluated.

5. Conclusions

In conclusion, this study showed that an aqueous dispersion of f-PSnano could be an interesting adjuvant therapy in individuals with MS. Besides, more studies are needed to evaluate long-term effects and other potential effects on physiologic and metabolic alterations.

Supplementary Materials: The following are available online at <http://www.mdpi.com/2072-6643/12/8/2392/s1>, Table S1: Schedule of procedures and assessments at each visit; Table S2: Distribution of participants (%) with 'abnormal' levels for each MS criterion at baseline and visit 4 by the group; Table S3: Median and 25th–75th percentiles for each secondary outcome at visits 2, 3 and 4 by the group; Table S4: Absolute difference between V2 and V1, V3 and V1 and V4 and V1 for each secondary outcome by the group; Table S5: Relative difference (%) between V2 and V1, V3 and V1 and V4 and V1 for each secondary outcome by the group; Table S6: Baseline characteristics of participants in the sub-sample to evaluate the particle number for lipoproteins by the group; Table S7: Median and 25th–75th percentiles for each lipoprotein at visits 2, 3 and 4 by the group.

Author Contributions: Conceptualization, Y.K.P.-S.; methodology, Y.K.P.-S.; formal analysis, Y.K.P.-S. and R.I.A.; investigation, Y.K.P.-S., L.O. and J.P.F.; data curation, Y.K.P.-S.; writing—original draft preparation, Y.K.P.-S. and R.I.A.; writing—review and editing, Y.K.P.-S., R.I.A., L.O. and J.P.F.; visualization, Y.K.P.-S.; supervision, Y.K.P.-S.; project administration, Y.K.P.-S.; funding acquisition, Y.K.P.-S. and R.I.A. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by Corporación de Fomento de la Producción (CORFO, grant number 15COTE46282" and "Nutrartis S.A.").

Acknowledgments: The authors would like to thank all participants; healthcare workers at primary centres, the clinical laboratory of Instituto Radiológico Providencia in Chile; the Innovation Department at Universidad de Los Andes, Chile; CORFO Chile; Nutrartis S.A. Special acknowledgements to Tomás Cerda Drago and Cecilia Brañas



from Nutrartis S.A., who supported the research team in the following activities: manufacturing and resources provision (TCD), critical review of the manuscript (TCD, CB), biochemical advisor and phytosterols expert (CB).

Conflicts of Interest: YKPS, LO and JPF declare no conflict of interest. RIA was an employee of Nutrartis S.A. from 2014 to 2018. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

References

- Moore, J.X.; Chaudhary, N.; Akinjemiju, T. Metabolic Syndrome Prevalence by Race/Ethnicity and Sex in the United States, National Health and Nutrition Examination Survey, 1988–2012. *Prev. Chronic Dis.* **2018**, *14*, 160287. [[CrossRef](#)]
- Cameron, A.J.; Magliano, D.J.; Zimmet, P.Z.; Welborn, T.; Shaw, J.E. The Metabolic Syndrome in Australia: Prevalence using four definitions. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **2007**, *77*, 471–478. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Li, Y.; Zhao, L.; Yu, D.; Wang, Z.; Ding, G. Metabolic syndrome prevalence and its risk factors among adults in China: A nationally representative cross-sectional study. *PLoS ONE* **2018**, *13*, e0199293. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Sigit, F.S.; Tahapary, D.L.; Trompet, S.; Sartono, E.; Willems Van Dijk, K.; Rosendaal, F.R.; De Mutsert, R. The prevalence of metabolic syndrome and its association with body fat distribution in middle-aged individuals from Indonesia and the Netherlands: A cross-sectional analysis of two population-based studies. *Diabetol. Metab. Syndr.* **2020**, *12*, 2. [[CrossRef](#)]
- Van Vliet-Ostapchouk, J.V.; Nuotio, M.L.; Slagter, S.N.; Doiron, D.; Fischer, K.; Foco, L.; Gaye, A.; Gögele, M.; Heier, M.; Hiekkalinna, T.; et al. The prevalence of metabolic syndrome and metabolically healthy obesity in Europe: A collaborative analysis of ten large cohort studies. *BMC Endocr. Disord.* **2014**, *14*. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Alberti, K.G.M.M.; Zimmet, P.Z. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO Consultation. *Diabet. Med.* **1998**, *15*, 539–553. [[CrossRef](#)]
- Cleeman, J.I.; Grundy, S.M.; Becker, D.; Clark, L. Expert Panel on Detection Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* **2001**, *285*, 2486–2497.
- International Diabetes Federation. *The IDF Consensus Worldwide Definition of the Metabolic Syndrome*; IDF Communications: Brussels, Belgium, 2006.
- Balkau, B.; Charles, M.A. Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabet. Med.* **1999**, *16*, 442–443.
- National Cholesterol Education Program Coordinating Committee. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* **2002**, *106*, 3143–3421. [[CrossRef](#)]
- Einhorn, D.; Reaven, G.M.; Cobin, R.H.; Ford, E.; Ganda, O.P.; Handelsman, Y.; Hellman, R.; Jellinger, P.S.; Kendall, D.; Krauss, R.M.; et al. American College of Endocrinology position statement on the insulin resistance syndrome. *Endocr. Pract.* **2003**, *9*, 237–252.
- Grundy, S.M.; Cleeman, J.I.; Daniels, S.R.; Donato, K.A.; Eckel, R.H.; Franklin, B.A.; Gordon, D.J.; Krauss, R.M.; Savage, P.J.; Smith, S.C.; et al. Diagnosis and Management of the Metabolic Syndrome: An American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* **2005**, *112*, 2735–2752. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Alberti, K.G.M.M.; Eckel, R.H.; Grundy, S.M.; Zimmet, P.Z.; Cleeman, J.I.; Donato, K.A.; Fruchart, J.C.; James, W.P.T.; Loria, C.M.; Smith, S.C.; et al. Harmonizing the metabolic syndrome: A joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International. *Circulation* **2009**, *120*, 1640–1645. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Myers, J.; Kokkinos, P.; Nyelin, E. Physical activity, cardiorespiratory fitness, and the metabolic syndrome. *Nutrients* **2019**, *11*, 1652. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Grundy, S.M. Metabolic syndrome update. *Trends Cardiovasc. Med.* **2016**, *26*, 364–373. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]



16. Tune, J.D.; Goodwill, A.G.; Sassoon, D.J.; Mather, K.J. Cardiovascular consequences of metabolic syndrome. *Transl. Res.* **2017**, *183*, 57–70. [[CrossRef](#)]
17. Berwick, Z.C.; Dick, G.M.; Tune, J.D. Heart of the matter: Coronary dysfunction in metabolic syndrome. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **2012**, *52*, 848–856. [[CrossRef](#)]
18. Bozkurt, B.; Aguilar, D.; Deswal, A.; Dunbar, S.B.; Francis, G.S.; Horwich, T.; Jessup, M.; Kosiborod, M.; Pritchett, A.M.; Ramasubbu, K.; et al. Contributory Risk and Management of Comorbidities of Hypertension, Obesity, Diabetes Mellitus, Hyperlipidemia, and Metabolic Syndrome in Chronic Heart Failure: A Scientific Statement from the American Heart Association. *Circulation* **2016**, *134*, e535–e578. [[CrossRef](#)]
19. Grandl, G.; Wolftrum, C. Hemostasis, endothelial stress, inflammation, and the metabolic syndrome. *Semin. Immunopathol.* **2018**, *40*, 215–224. [[CrossRef](#)]
20. Stanaway, J.D.; Afshin, A.; Gakidou, E.; Lim, S.S.; Abate, D.; Hassen Abate, K.; Abbafati, C.; Abbasi, N.; Abbastabar, H.; Abd-Allah, F.; et al. Global, regional, and national comparative risk assessment of 84 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks for 195 countries and territories, 1990–2017: A systematic analysis for the Global Burden of Disease S. *Lancet* **2018**, *392*, 1923–1994. [[CrossRef](#)]
21. Johnson, C.O.; Nguyen, M.; Roth, G.A.; Nichols, E.; Alam, T.; Abate, D.; Abd-Allah, F.; Abdelalim, A.; Abraha, H.N.; Abu-Rmeileh, N.M.; et al. Global, regional, and national burden of stroke, 1990–2016: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol.* **2019**, *18*, 439–458. [[CrossRef](#)]
22. Conrad, N.; Judge, A.; Tran, J.; Mohseni, H.; Hedgecott, D.; Crespillo, A.P.; Allison, M.; Hemingway, H.; Cleland, J.G.; McMurray, J.J.V.; et al. Temporal trends and patterns in heart failure incidence: A population-based study of 4 million individuals. *Lancet* **2018**, *391*, 572–580. [[CrossRef](#)]
23. Grundy, S.M. Metabolic Syndrome: A Multiplex Cardiovascular Risk Factor. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2007**, *92*, 399–404. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Grundy, S.M. Drug therapy of the metabolic syndrome: Minimizing the emerging crisis in polypharmacy. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2006**, *5*, 295–309. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Poli, A.; Visioli, F. Pharmacology of nutraceuticals with lipid lowering properties. *High Blood Press. Cardiovasc. Prev.* **2019**, *26*, 113–118. [[CrossRef](#)]
26. Rivellese, A.A.; Ciciola, P.; Costabile, G.; Vetrani, C.; Vitale, M. The Possible Role of Nutraceuticals in the Prevention of Cardiovascular Disease. *High Blood Press. Cardiovasc. Prev.* **2019**, *26*, 101–111. [[CrossRef](#)]
27. Pollak, J. Reduction of Blood Cholesterol in Man. *Circulation* **1953**, *7*, 702–706. [[CrossRef](#)]
28. Reaver, A.; Hewlings, S.; Westerman, K.; Blander, G.; Schmeller, T.; Heer, M.; Rein, D. A randomized, placebo-controlled, double-blind crossover study to assess a unique phytosterol ester formulation in lowering LDL cholesterol utilizing a novel virtual tracking tool. *Nutrients* **2019**, *11*, 2108. [[CrossRef](#)]
29. Ostlund, R.E. Phytosterols in Human Nutrition. *Annu. Rev. Nutr.* **2002**, *22*, 533–549. [[CrossRef](#)]
30. Ras, R.T.; Geleijnse, J.M.; Trautwein, E.A. LDL-cholesterol-lowering effect of plant sterols and stanols across different dose ranges: A meta-analysis of randomised controlled studies. *Br. J. Nutr.* **2014**, *112*, 214–219. [[CrossRef](#)]
31. Plat, J.; Brufau, G.; Dallinga-Thie, G.M.; Dasselaar, M.; Mensink, R.P. A Plant Stanol Yogurt Drink Alone or Combined with a Low-Dose Statin Lowers Serum Triacylglycerol and Non-HDL Cholesterol in Metabolic Syndrome Patients. *J. Nutr.* **2009**, *139*, 1143–1149. [[CrossRef](#)]
32. Sialvera, T.E.; Pounis, G.D.; Koutelidakis, A.E.; Richter, D.J.; Yfanti, G.; Kapsokefalou, M.; Goumas, G.; Chiotinis, N.; Diamantopoulos, E.; Zampelas, A. Phytosterols supplementation decreases plasma small and dense LDL levels in metabolic syndrome patients on a westernized type diet. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **2012**, *22*, 843–848. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Hernández-Mijares, A.; Bañuls, C.; Jover, A.; Solá, E.; Bellod, L.; Martínez-Triguero, M.L.; Lagarda, M.J.; Víctor, V.M.; Rocha, M. Low intestinal cholesterol absorption is associated with a reduced efficacy of phytosterol esters as hypolipemic agents in patients with metabolic syndrome. *Clin. Nutr.* **2011**, *30*, 604–609. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Chen, D.L.; Huang, P.H.; Chiang, C.H.; Leu, H.B.; Chen, J.W.; Lin, S.J. Phytosterols increase circulating endothelial progenitor cells and insulin-like growth factor-1 levels in patients with nonalcoholic fatty liver disease: A randomized crossover study. *J. Funct. Foods* **2015**, *13*, 148–157. [[CrossRef](#)]



35. Ghaedi, E.; Foshati, S.; Ziaei, R.; Beigrezaei, S.; Kord-Varkaneh, H.; Ghavami, A.; Miraghajani, M. Effects of phytosterols supplementation on blood pressure: A systematic review and meta-analysis. *Clin. Nutr.* **2020**. [[CrossRef](#)]
36. Trautwein, E.; Vermeer, M.; Hiemstra, H.; Ras, R. LDL-Cholesterol Lowering of Plant Sterols and Stanols—Which Factors Influence Their Efficacy? *Nutrients* **2018**, *10*, 1262. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. Ferguson, J.J.A.; Stojanovski, E.; MacDonald-Wicks, L.; Garg, M.L. Fat type in phytosterol products influence their cholesterol-lowering potential: A systematic review and meta-analysis of RCTs. *Prog. Lipid Res.* **2016**, *64*, 16–29. [[CrossRef](#)]
38. AbuMweis, S.S.; Barake, R.; Jones, P.J.H. Plant sterols/stanols as cholesterol lowering agents: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Food Nutr. Res.* **2008**, *52*. [[CrossRef](#)]
39. Jones, P.J.H.; Shamlou, M.; MacKay, D.S.; Rideout, T.C.; Myrie, S.B.; Plat, J.; Rouillet, J.-B.; Baer, D.J.; Calkins, K.L.; Davis, H.R.; et al. Progress and prospective of plant sterol and plant stanol research. *Nutr. Rev.* **2018**, *76*, 725–746. [[CrossRef](#)]
40. Amir Shaghaghi, M.; Harding, S.V.; Jones, P.J.H. Water dispersible plant sterol formulation shows improved effect on lipid profile compared to plant sterol esters. *J. Funct. Foods* **2014**, *6*, 280–289. [[CrossRef](#)]
41. Gurka, M.J.; Lilly, C.L.; Oliver, M.N.; DeBoer, M.D. An examination of sex and racial/ethnic differences in the metabolic syndrome among adults: A confirmatory factor analysis and a resulting continuous severity score. *Metabolism* **2014**, *63*, 218–225. [[CrossRef](#)]
42. Deboer, M.D.; Gurka, M.J. Clinical utility of metabolic syndrome severity scores: Considerations for practitioners. *Diabetes Metab. Syndr. Obes. Targets Ther.* **2017**, *10*, 65–72. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Baumgartner, S.; Ras, R.T.; Trautwein, E.A.; Mensink, R.P.; Plat, J. Plasma fat-soluble vitamin and carotenoid concentrations after plant sterol and plant stanol consumption: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur. J. Nutr.* **2017**, *56*, 909–923. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Nordestgaard, B.G.; Varbo, A. Triglycerides and cardiovascular disease. *Lancet* **2014**, *384*, 626–635. [[CrossRef](#)]
45. Ye, X.; Kong, W.; Zafar, M.I.; Chen, L.L. Serum triglycerides as a risk factor for cardiovascular diseases in type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Cardiovasc. Diabetol.* **2019**, *18*, 48. [[CrossRef](#)]
46. Castelli, W.P. Epidemiology of triglycerides: A view from Framingham. *Am. J. Cardiol.* **1992**, *70*, H3. [[CrossRef](#)]
47. Assmann, G.; Schulte, H.; Von Eckardstein, A. Hypertriglyceridemia and elevated lipoprotein(a) are risk factors for major coronary events in middle-aged men. *Am. J. Cardiol.* **1996**, *77*, 1179–1184. [[CrossRef](#)]
48. Visscher, T.L.S.; Seidell, J.C.; Molarius, A.; van der Kuip, D.; Hofman, A.; Witteman, J.C.M. A comparison of body mass index, waist-hip ratio and waist circumference as predictors of all-cause mortality among the elderly: The Rotterdam study. *Int. J. Obes.* **2001**, *25*, 1730–1735. [[CrossRef](#)]
49. Dobbelsteyn, C.J.; Joffres, M.R.; MacLean, D.R.; Flowerdew, G.; Balram, C.; Blair, L.; Butler-Jones, D.; Cameron, R.; Collins-Nakai, R.; Connelly, P.W.; et al. A comparative evaluation of waist circumference, waist-to-hip ratio and body mass index as indicators of cardiovascular risk factors. The Canadian heart health surveys. *Int. J. Obes.* **2001**, *25*, 652–661. [[CrossRef](#)]
50. German, C.A.; Laughy, B.; Bertoni, A.G.; Yeboah, J. Associations between BMI, waist circumference, central obesity and outcomes in type II diabetes mellitus: The ACCORD Trial. *J. Diabetes Complicat.* **2020**, *34*, 107499. [[CrossRef](#)]
51. Mulligan, A.A.; Lentjes, M.A.H.; Luben, R.N.; Wareham, N.J.; Khaw, K.T. Changes in waist circumference and risk of all-cause and CVD mortality: Results from the European Prospective Investigation into Cancer in Norfolk (EPIC-Norfolk) cohort study. *BMC Cardiovasc. Disord.* **2019**, *19*, 1–15. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Wei, M.; Gaskill, S.P.; Haffner, S.M.; Stern, M.P. Waist Circumference as the Best Predictor of Noninsulin Dependent Diabetes Mellitus (NIDDM) Compared to Body Mass Index, Waist/hip Ratio and Other Anthropometric Measurements in Mexican Americans-A 7-Year Prospective Study. *Obes. Res.* **1997**, *5*, 16–23. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Chen, H.-Y.; Su, J.; Liu, H. A study of the correlation of waist circumference with metabolic risks among non-obese populations. *Eur. Rev. Medicin Pharmacol. Sci.* **2019**, *23*, 4391–4397.
54. Naumann, E.; Plat, J.; Kester, A.D.M.; Mensink, R.P. The Baseline Serum Lipoprotein Profile Is Related to Plant Stanol Induced Changes in Serum Lipoprotein Cholesterol and Triacylglycerol Concentrations. *J. Am. Coll. Nutr.* **2008**, *27*, 117–126. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]



55. Demonty, I.; Ras, R.T.; Van Der Knaap, H.C.M.; Meijer, L.; Zock, P.L.; Geleijnse, J.M.; Trautwein, E.A. The effect of plant sterols on serum triglyceride concentrations is dependent on baseline concentrations: A pooled analysis of 12 randomised controlled trials. *Eur. J. Nutr.* **2013**, *52*, 153–160. [CrossRef]
56. Rideout, T.C.; Marinangeli, C.P.F.; Harding, S. V Triglyceride-Lowering Response to Plant Sterol and Stanol Consumption. *J. AOAC Int.* **2015**, *98*, 707. [CrossRef]
57. Plat, J.; Mensink, R.P. Plant stanol esters lower serum triacylglycerol concentrations via a reduced hepatic VLDL-1 production. *Lipids* **2009**, *44*, 1149–1153. [CrossRef]
58. Smet, E.D.; Mensink, R.P.; Plat, J. Effects of plant sterols and stanols on intestinal cholesterol metabolism: Suggested mechanisms from past to present. *Mol. Nutr. Food Res.* **2012**, *56*, 1058–1072. [CrossRef]
59. Trautwein, E.A.; Duchateau, G.S.M.J.E.; Lin, Y.; Mel'nikov, S.M.; Molhuizen, H.O.F.; Ntanos, F.Y. Proposed mechanisms of cholesterol-lowering action of plant sterols. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2003**, *105*, 171–185. [CrossRef]
60. Amato, M.C.; Giordano, C.; Galia, M.; Criscimanna, A.; Vitabile, S.; Midiri, M.; Galluzzo, A. Visceral adiposity index: A reliable indicator of visceral fat function associated with cardiometabolic risk. *Diabetes Care* **2010**, *33*, 920–922. [CrossRef]
61. Wu, J.; Gong, L.; Li, Q.; Hu, J.; Zhang, S.; Wang, Y.; Zhou, H.; Yang, S.; Wang, Z. A Novel Visceral Adiposity Index for Prediction of Type 2 Diabetes and Pre-diabetes in Chinese adults: A 5-year prospective study. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 1–9. [CrossRef]
62. Oh, S.-K.; Cho, A.-R.; Kwon, Y.-J.; Lee, H.-S.; Lee, J.-W. Derivation and validation of a new visceral adiposity index for predicting visceral obesity and cardiometabolic risk in a Korean population. *PLoS ONE* **2018**, *13*, e0203787. [CrossRef] [PubMed]
63. Robinson, C.; Tamborlane, W.V.; Maggs, D.G.; Enoksson, S.; Sherwin, R.S.; Silver, D.; Shulman, G.I.; Caprio, S. Effect of insulin on glycerol production in obese adolescents. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **1998**, *274*, E737–E743. [CrossRef] [PubMed]
64. Spalding, K.L.; Bernard, S.; Näslund, E.; Salehpour, M.; Possnert, G.; Appelsved, L.; Fu, K.Y.; Alkass, K.; Druid, H.; Thorell, A.; et al. Impact of fat mass and distribution on lipid turnover in human adipose tissue. *Nat. Commun.* **2017**, *8*, 1–9. [CrossRef] [PubMed]
65. Choi, S.H.; Ginsberg, H.N. Increased very low density lipoprotein (VLDL) secretion, hepatic steatosis, and insulin resistance. *Trends Endocrinol. Metab.* **2011**, *22*, 353–363. [CrossRef]
66. Adiels, M.; Olofsson, S.-O.; Taskinen, M.-R.; Borén, J. Overproduction of very low-density lipoproteins is the hallmark of the dyslipidemia in the metabolic syndrome. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **2008**, *28*, 1225–1236. [CrossRef]
67. Ebbert, J.; Jensen, M. Fat Depots, Free Fatty Acids, and Dyslipidemia. *Nutrients* **2013**, *5*, 498–508. [CrossRef]
68. Saponaro, C.; Gaggini, M.; Carli, F.; Gastaldelli, A. The Subtle Balance between Lipolysis and Lipogenesis: A Critical Point in Metabolic Homeostasis. *Nutrients* **2015**, *7*, 9453–9474. [CrossRef]
69. Nielsen, S.; Guo, Z.K.; Johnson, C.M.; Hensrud, D.D.; Jensen, M.D. Splanchnic lipolysis in human obesity. *J. Clin. Investig.* **2004**, *113*, 1582–1588. [CrossRef]
70. Riches, F.M.; Watts, G.F.; Hua, J.; Stewart, G.R.; Naoumova, R.P.; Barrett, P.H.R. Reduction in Visceral Adipose Tissue Is Associated with Improvement in Apolipoprotein B-100 Metabolism in Obese Men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **1999**, *84*, 2854–2861. [CrossRef]
71. Nielsen, S.; Karpe, F. Determinants of VLDL-triglycerides production. *Curr. Opin. Lipidol.* **2012**, *23*, 321–326. [CrossRef]
72. Miettinen, T.A.; Puska, P.; Gylling, H.; Vanhanen, H.; Vartiainen, E. Reduction of Serum Cholesterol with Sitostanol-Ester Margarine in a Mildly Hypercholesterolemic Population. *N. Engl. J. Med.* **1995**, *333*, 1308–1312. [CrossRef] [PubMed]
73. Hendriks, H.F.J.; Brink, E.J.; Meijer, G.W.; Princen, H.M.G.; Ntanos, F.Y. Safety of long-term consumption of plant sterol esters-enriched spread. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2003**, *57*, 681–692. [CrossRef] [PubMed]
74. Gylling, H.; Hallikainen, M.; Raitakari, O.T.; Laakso, M.; Vartiainen, E.; Salo, P.; Korpelainen, V.; Sundvall, J.; Miettinen, T.A. Long-term consumption of plant stanol and sterol esters, vascular function and genetic regulation. *Br. J. Nutr.* **2009**, *101*, 1688–1695. [CrossRef] [PubMed]
75. Ooi, E.M.M.; Ng, T.W.K.; Chan, D.C.; Watts, G.F. Plasma markers of cholesterol homeostasis in metabolic syndrome subjects with or without type-2 diabetes. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **2009**, *85*, 310–316. [CrossRef]



76. De Graaf, J.; de Sauvage Nolting, P.R.W.; van Dam, M.; Belsey, E.M.; Kastelein, J.J.P.; Haydn Pritchard, P.; Stalenhoef, A.F.H. Consumption of tall oil-derived phytosterols in a chocolate matrix significantly decreases plasma total and low-density lipoprotein-cholesterol levels. *Br. J. Nutr.* **2002**, *88*, 479–488. [CrossRef]
77. Lin, X.; Racette, S.B.; Lefevre, M.; Spearie, C.A.; Most, M.; Ma, L.; Ostlund, R.E. The effects of phytosterols present in natural food matrices on cholesterol metabolism and LDL-cholesterol: A controlled feeding trial. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2010**, *64*, 1481–1487. [CrossRef]
78. Kathiresan, S.; Otvos, J.D.; Sullivan, L.M.; Keyes, M.J.; Schaefer, E.J.; Wilson, P.W.F.; D'Agostino, R.B.; Vasan, R.S.; Robins, S.J. Increased small low-density lipoprotein particle number: A prominent feature of the metabolic syndrome in the Framingham Heart Study. *Circulation* **2006**, *113*, 20–29. [CrossRef]



© 2020 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).



multiple adverse drug events, resulting in negative health outcomes and medication non-adherence [24]. In this regard, nutraceuticals have been proposed as natural alternatives to overcome these drawbacks, in which phytosterols (PS) or plant sterols are considered an adjuvant therapy for individuals with physiologic and metabolic alterations [25,26].

PS and phytosterols (PSn) are cholesterol-like molecules naturally found in vegetables and fruits. PS has been proposed to manage serum cholesterol since the 1950s when Pollak et al. reported that PS intake could reduce dietary cholesterol resorption [27]. Ever since then, several studies have reported that daily PS consumption may reduce serum levels of total cholesterol (TChol) and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-c) [28–30]. Additionally, PS/PSn intake could improve other physiological and metabolic parameters. Plat et al. found that individuals who consumed two grams of PSn for 8-weeks reduced non-high-density lipoprotein cholesterol, TChol and triglycerides (TG) levels [31]. Sialvera et al. observed reductions in TChol, LDL-c, TG and small dense LDL amongst individuals with MS who consumed four grams of PS after two months of the intervention [32]. Conversely, another study demonstrated that intaking two grams of PS for three months did not improve the lipidic profile in individuals with MS [33]. Other studies have stated that PS could improve fasting glucose [34] and blood pressure [35].

Different factors could explain these diverse findings, for example, the food matrix in which PS/PSn is delivered, the daily dose of PS/PSn, free or esterified form, and population characteristics [36–39]. Particularly, free-PS nanoparticles (<1 µm) have shown hypotriglyceridaemic effects in comparison to PS esters in hypercholesterolaemic individuals [40]. However, to the best of our knowledge, no study has evaluated the effect of an aqueous dispersion of free-phytosterols nanoparticles (f-PSnano) in individuals with MS.

The primary purpose of this study was to evaluate the therapeutic effect of daily supplementation of an aqueous dispersion of 2 g of f-PSnano in individuals with MS over six months of intervention, compared with placebo. Secondary and exploratory analyses were conducted to expand our knowledge of the effects of PS consumption on other metabolic changes in individuals with MS.

2. Materials and Methods

2.1. Design

This study was a parallel, randomised, double-blind, placebo-controlled trial of f-PSnano in individuals with MS. This trial was conducted in three sites, considered as primary care centres, from January to November 2018, in Chile. Besides, this study adhered to the Declaration of Helsinki and Good Clinical Practice guidelines, was approved by the East Metropolitan Health Service Ethics Committee in Chile and registered at [ClinicalTrials.gov](https://www.clinicaltrials.gov) (NCT02969720).

2.2. Participants

To be eligible, participants had to meet the following criteria: (i) age between 18 and 65 years; (ii) availability to attend morning appointments; (iii) have been diagnosed with metabolic syndrome or met diagnosis criteria at the beginning of the study. The individual is diagnosed with MS if she/he meets, at least, three out of five of the MS criteria (Table 1) proposed by Alberti et al. [13]. On the other hand, participants were not eligible if they: (i) had alcohol-related problems; (ii) had familial sitosterolaemia or hypercholesterolaemia; (iii) were consuming phytosterols at the moment of this study; (iv) were pregnant or breastfeeding; (v) had a medical history of myocardial infarction, stroke, decompensated diabetes or hypertension; (vi) not able to make decisions for themselves; (vii) people consuming weight management pills. During this study, there was no restriction on medication intake or dietary patterns.

