

## Kan Kolesterol Seviyelerinin Yönetiminde Bitki Stanolleri ve Sterollerinin Etkinliği ve Güvenliği

MARTIJN B. KATAN, PhD; SCOTT M. GRUNDY, MD, PhD; PETER JONES, PhD; MALCOLM LAW, FRCP; TATU MIETTINEN, MD, PhD; AND RODOLFO PAOLETTI, MD, PhD, STRESA ÇALIŞTAY KATILIMCILARI İÇİN

Bitkisel stanol veya sterol esterleri içeren gıdalar serum kolesterol seviyelerini düşürür. Sterol ve stanollerin etkinliği ve güvenliğine ilişkin 32 uzman görüşünü özetliyoruz. Yapılan 41 çalışmanın meta-analizi, 2 g/gün stanol veya sterol alımının düşük yoğunluklu lipoproteini (LDL) %10 oranında azalttığını; daha yüksek alımların ise çok az katkı sağladığını göstermiştir. Steroller ve stanoller için etkinlik benzerdir, ancak gıda formu LDL azalmasını önemli ölçüde etkileyebilir. Etkiler diyet veya ilaç müdahaleleri ile eklenebilir: doymuş yağ ve kolesterol oranı düşük ve stanol veya sterol oranı yüksek gıdalar tüketmek LDL'yi %20 azaltabilir; statin ilacına sterol veya stanol eklemek statin dozunu iki katına çıkarmaktan daha etkilidir. Vitamin başına 10 ila 15 çalışmanın meta analizi, A ve D vitaminlerinin plazma seviyelerinin stanollerden veya sterollerden etkilenmediğini göstermiştir. Alfa karoten, likopen ve E vitamini seviyeleri, taşıyıcı molekülleri olan LDL'ye göre sabit kalmıştır. Beta karoten seviyeleri düşmüş, ancak olumsuz sağlık sonuçları beklenmemiştir. Sterolle zenginleştirilmiş gıdalar plazma sterol seviyelerini artırmış ve çalıştay katılımcıları homozigot fitosterolemili hastalarda aterosklerozun belirgin şekilde arttığı göz önüne alındığında bunun riski artırıp artırmayacağını tartışmıştır.

Bu riskin büyük ölçüde varsayımsal olduğuna inanılmaktadır ve plazma bitki sterollerindeki küçük artıştan kaynaklanan herhangi bir artış, plazma LDL'sindeki azalma ile fazlasıyla dengelenebilir. Bitki stanollerinin veya sterollerinin kolon karsinogenezini önlediğini veya teşvik ettiğini gösteren yeterli veri bulunmamaktadır. Sterol ve stanollerin güvenliği, genel nüfustan alınan örneklerin takibi ile izlenmektedir; ancak bu tür çalışmaların, eğer varsa, yaygın hastalıklardaki seyrek artışları tespit etme gücü sınırlıdır. Klinik sonuçları olan bir çalışma muhtemelen seyrek görülen advers etkilerle ilgili kalan soruları yanıtlamayacaktır. İntimamedia kalınlığı gibi vekil sonlanım noktalarıyla yapılan çalışmalar, aterosklerozu azaltmada beklenen etkinliği destekleyebilir. Bununla birlikte, mevcut kanıtlar koroner kalp hastalığı riski yüksek olan kişilerde LDL kolesterol seviyelerini düşürmek için sterol ve stanollerin kullanımını teşvik etmek için yeterlidir.

*Mayo Clin Proc. 2003;78:965-978*

ABC = ATP (adenozin trifosfat) bağlayıcı kaset; ABCG5 = ABC alt ailesi G, üye 5; KKH = koroner kalp hastalığı; LDL = düşük yoğunluklu lipoprotein; NCEP = Ulusal Kolesterol Eğitim Programı

Wageningen Üniversitesi, Wageningen, Hollanda, İnsan Beslenme ve Epidemiyoloji Bölümü (M.B.K.); Teksas Üniversitesi, Güneybatı Tıp Merkezi, İnsan Beslenme Merkezi, Dallas (S.M.G.); McGill Üniversitesi, Diyetetik ve İnsan Beslenme Okulu, Montreal, Quebec (P.J.); Wolfson Önleyici Tıp Enstitüsü, St Bartholomew's ve Kraliyet Londra Tıp ve Diş Hekimliği Okulu, Londra, İngiltere (M.L.); İç Hastalıkları Bölümü, Helsinki Üniversitesi Merkez Hastanesi, Helsinki, Finlandiya (T.M.); ve İtalya Farmakoloji Bilimleri ve Beslenme Vakfı, Milano (R.P.). Stresa Steroller ve Stanoller Çalıştay katılımcılarının tam listesi bu makalenin sonunda yer almaktadır.

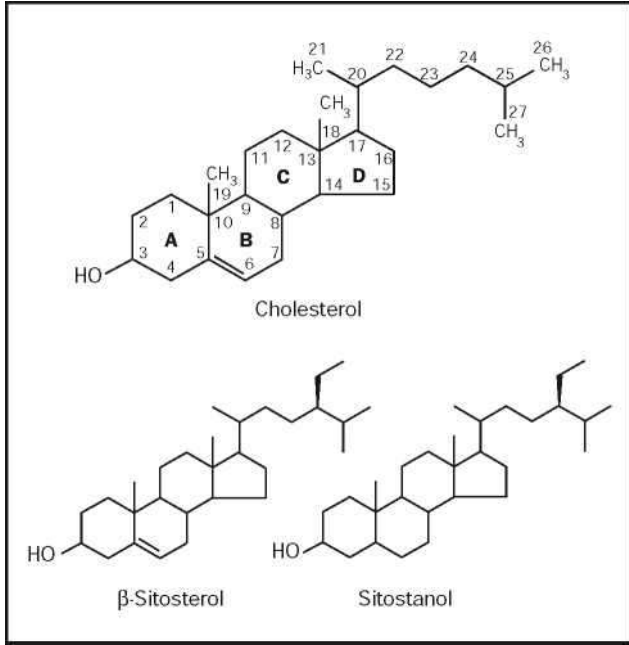
Stresa Çalıştay'ının organizasyonu McNeil Consumer Healthcare, Fort Washington, Pa; Unilever N.V., Rotterdam, Hollanda; ve Forbes MediTech Inc, Functional Foods and Nutraceuticals, Vancouver, British Columbia'dan sağlanan sınırsız hibelerle mümkün olmuştur. Dr. Katan, sterollerin lipoproteinler üzerindeki etkilerini incelemek üzere Unilever Araştırma Laboratuvarı'ndan hibe almıştır. Dr. Grundy, stanol araştırmaları için McNeil Corporation'dan hibe almıştır. Dr. Miettinen, bitkisel stanol ester marmarını hazırlanmasına ilişkin bir patente (ABD patenti 1996) katkıda bulunmuştur ve Raisio Group'ta hisse sahibidir. Dr. Jones'un bir patenti bulunmaktadır: US 5770, 75 (23 Haziran 1998).

Yazışmalar için adres: Martijn B. Katan, PhD, İnsan Beslenmesi ve Epidemiyoloji Bölümü, Wageningen Üniversitesi, Roenenweg 2, 6703 HD Wageningen, Hollanda (e-posta: w.b.k@wur.nl).

Diyet tedavisi, serum düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterol seviyelerini düşürme ve koroner kalp hastalığı (KKH) riskini azaltma stratejilerinin temel taşıdır.

Bitki sterolü ve stanol esterleri ile zenginleştirilmiş gıdaların günlük diyeteye dahil edilmesi, halihazırda statin ilaçları kullanan hastalar da dahil olmak üzere diyetin kolesterol düşürücü etkisini önemli ölçüde artırabilir. Bu nedenle, son zamanlarda dünyanın birçok yerinde stanol ve sterolle zenginleştirilmiş gıdaların piyasaya sürülmesi önemli bir gelişmedir.<sup>1-3</sup> çünkü KKH dünya çapında morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenidir. Bitki steroller ve stanollerinin etkinliği, güvenliği ve gelecekte yapılması gereken araştırmaları tartışmak üzere İtalya Beslenme Vakfı'nın himayesinde 7-9 Mart 2001 tarihlerinde Stresa, İtalya'da bir araya gelen 32 lipid, beslenme ve kalp hastalıkları uzmanının görüşlerini özetliyoruz. (Bu makale boyunca sterol ve stanol esterlerinin miktarlarının serbest [yani esterleşmemiş] sterol ve stanollerin eşdeğer ağırlıkları olarak ifade edildiğini unutmayın).





Şekil 1. Sterollerin yapıları. Kolesterol, memeli hücrelerinin sterolüdür.  $\beta$ -Sitosterol bitkilerde en yaygın steroldür; C-24'e bağlı bir etil grubuna sahip olmasıyla kolesterolden ayrılır.  $\beta$ -Sitosterolün 5,6 çift bağının hidrojenasyonu onu sitostanole dönüştürür.<sup>5</sup> Kampesterol ve kampestanol C-24'te etil yerine metil grubu taşır.

Sterollerin bitkilerde, hayvanlardaki kolesterole benzer hücresel işlevleri vardır (2 ana bitki sterolü ve kolesterolün yapıları Şekil 1'de karşılaştırılmıştır). 40'tan fazla bitki sterolü (veya fitosterol) tanımlanmıştır, ancak sitosterol, kampesterol ve stigmasterol en bol bulunanlardır. Stanoller doymuş sterollerdir (sterol halka yapısında çift bağ bulunmaz). Başlıca bitki stanolleri sitostanol ve kampestanoldür; doğada sterollerden çok daha az bulunurlar. Kolesterolün yaklaşık %50'si bağırsak kanalında emilirken, bitki stanolleri ve sterolleri çok daha az emilir: emilim kampesterol ve kampestanol için yaklaşık %10 ila %15, sitosterol için %4 ila %7,<sup>6-8</sup> ve sitostanol için %1'dir.<sup>9</sup> Bitkisel stanol veya sterol esterleri ile zenginleştirilmiş gıdalar, kolesterolün bağırsaktan emilimini azaltarak serum kolesterol seviyelerini düşürür.<sup>1,10-12</sup> Stanol (ve muhtemelen sterol) esterleri üst ince bağırsakta hidrolize edilir.<sup>13</sup> Serbest stanoller ve steroller muhtemelen kolesterolü karışık misellerden uzaklaştırır ve böylece bağırsak kolesterol emilimini azaltır, ancak kesin mekanizma bilinmemektedir. Stanol ve sterollerin etkileri muhtemelen ATP (adenozin trifosfat) bağlayıcı kaset (ABC) alt ailesi G, üye 5 (ABC G5) ve ABC G8 taşıyıcı proteinlerini içerir. Bu membran proteinleri fitosterolleri seçici olarak enterositlerden bağırsak lümenine pompalar ve böylece emilimlerini düşük tutar.<sup>14,15</sup>

Bitkisel stanol veya sterol esterleri test edilen en düşük sterol ve stanol miktarı yaklaşık 700 ila 1000 mg/gün'dür.<sup>16-18</sup> Son çalışmaların ışığında 1500 ila 3300 mg/gün bitki stanolleri veya esterleştirilmiş, yağda çözünen formlarındaki steroller kullanılmıştır. Bu miktarlar tipik günlük alım miktarından

çok daha yüksektir. Batı toplumlarında sitosterol alımı yaklaşık 150 ila 350 mg/gün, stanol alımı ise yaklaşık 15 ila 50 mg/gündür.<sup>19-21</sup> Vejetaryenler yaklaşık 325 mg/gün sitosterol ve yaklaşık 60 mg/gün kampesterol tüketirler.<sup>22</sup> Bu nedenle, bitki sterolleri ve stanollerinin normal günlük alımı 150 ila 400 mg/gün arasında değişmektedir.

Bitki sterollerinin aşırı yüksek alımının (10-20 g/gün) kolesterol düşürücü etkisi 1950'lerden 1970'lere kadar fark edilmiş<sup>2,23,24</sup> ve bu alandaki 2 öncü tarafından gözden geçirilmiştir.<sup>23</sup> Kolesterol dengesi çalışmaları, bu etkinin kolesterol emiliminin azalmasından kaynaklandığını ortaya koymuştur.<sup>25</sup> Bununla birlikte, bitki sterollerinin kolesterol düşürücü maddeler olarak yaygın kullanımı, bu maddelerin büyük miktarlarının hacmi ve tadı ve daha etkili kolesterol düşürücü maddelerin piyasaya sürülmesiyle sınırlanmıştır. Daha sonraki çalışmalar ve kolesterol düşürücü klinik deneylerde KKH riskinin azaltıldığının gösterilmesi, bitki sterollerine olan ilgiyi yenilemiştir. Günde 3 g'lık bir miktar, uygun fiziksel formda sunulması halinde kolesterol emilimini azaltmada daha yüksek miktarlar kadar etkili olmuştur.<sup>26</sup> Mattson ve diğerleri<sup>27</sup> bitki sterollerini diyet yağında çözünür hale getirmek için esterifikasyon sürecini önermiştir. Sitostanol veya sitosterolün yağ asitleri ile esterleştirilmesinin hem mayonez ve margarinlerdeki çözünürlüklerini hem de bağırsakta dağılımlarını artırdığı ve böylece etkinliklerini artırdığı bulunmuştur.

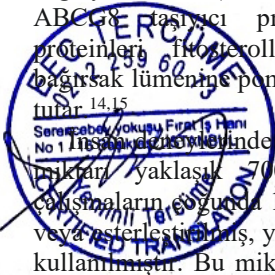
Bitkisel stanol veya sterol esterleri içeren margarinler birçok ülkede pazarlanmaktadır. Yoğurt, krem peynir ve tahıl barları da dahil olmak üzere diğer formülasyonlar bazı ülkelerde piyasaya sürülmüştür ve serbest (yani esterleşmemiş) bitki sterolleri ve stanolleri içeren tahıllar ve meyve suyu Amerika Birleşik Devletleri'nde test edilmektedir.<sup>11,28</sup>

Bu ürünlerin pazarlanmasındaki artış göz önüne alındığında, etkinlik ve güvenliğin gözden geçirilmesinin zamanı gelmiştir.

## ETKİNLİK

### Çeşitli Sterol ve Stanollerin Plazma Lipoproteinleri Üzerindeki Etkisi Nedir?

Stanol veya sterol içeren gıdaların test edildiği yayınlanmış randomize çalışmalardan elde edilen veriler Tablo 1'de özetlenmiştir.<sup>5,11,16-18,28-63</sup> Bu çalışmalardan elde edilen veriler önceki bir metaanalizi güncelledi.<sup>64</sup> Çalışmalar MEDLINE'dan ve derleme makalelerden ve çalışmamızdaki uzman katılımcılara sorularak belirlenmiştir. Toplamda, 58 tedavi kolu veya dönemi ve 41 plasebo kolu veya dönemi ile 41 çalışmada tanımlanmıştır. Steroller ve stanoller, yağ içeren gıdalarda doğrudan çözündürüldükleri 2 deneme dışında esterleştirilmiştir. Stanoller ve steroller margarine (veya 7 denemede mayonez, zeytinyağı veya tereyağına) eklendi ve



Tablo 1. Bitki Stanollerini veya Sterollerini Eklemiş ve Eklememiş Gıdaları Karşılaştıran Randomize Çift Kör Çalışmalar\*

Atıf	Ülke	Katılımcı sayısı			Ort. Yaş (yıl)	Süre (hafta)	Stanol veya sterol	Doz (gr/gün)	Placebo ile ayarlanmış serum LDL kolesterolünde azalma (mg/dL)
		Çapraz-denemeler	Paralel Denemeler Tedavi	Paralel Denemeler Plasebo					
Williams ve diğerleri <sup>29</sup>	ABD	19	Yok	Yok	4	4	Stanol	1,0	11
Tammi <sup>30</sup>	Finlandiya	72	Yok	Yok	6	13	Stanol	1,6	8
Vissers ve diğerleri <sup>5</sup>	Hollanda	60	Yo	Yok	23	3	Sterol	2,1	8
Matvienko ve diğerleri <sup>31</sup>	ABD	Yok	17	17	23	4	Sterol	2,7	17
Plat ve diğerleri <sup>32</sup>	Hollanda	39	Yo	Yok	31	4	Sterol	2,5	12
Plat & Mensink <sup>33</sup>	Hollanda	Yok	70	42	33	8	Stanol	4,0	14
Jones ve diğerleri <sup>34</sup>	Kanada	22	Yok	Yok	35	1,4	Sterol	1,6	12
Mensink ve diğerleri <sup>35</sup>	Hollanda	Yok	30	30	36	4	Stanol	3,0	15
Hendriks ve diğerleri <sup>16</sup>	Hollanda	80	Yo	Yok	37	3,5	Sterol	0,8	8
							Sterol	1,6	10
							Sterol	3,2	12
Niinikoski ve diğerleri <sup>36</sup>	Finlandiya	Yok	12	12	37	5	Stanol	3,0	19
Mussner ve diğerleri <sup>37</sup>	Almanya	63	Yok	Yok	42	3	Sterol	1,8	10
Hallikainen & Uusitupa <sup>38</sup>	Finlandiya	Yok	38	17	43	8	Stanol	2,3	18
Sierksma ve diğerleri <sup>39</sup>	Hollanda	76	Yo	Yok	44	3	Sterol	0,7	7
Weststrate & Meijer <sup>40</sup>	Hollanda	80	Yok	Yok	45	3,5	Stanol	2,7	16
							Sterol	3,2	17
Miettinen & Vanhanen <sup>41</sup>	Finlandiya	Yok	[7]	8	45	9	Sterol	0,8	10
		Yok	[9]	Yok	Yok	Yok	Stanol	1,0	11
Davidson ve diğerleri <sup>42</sup>	ABD	Yok	21	21	45	8	Sterol	3,0	5
Vanhanen ve diğerleri <sup>43</sup>	Finlandiya	Yok	34	33	46	6	Stanol	3,4	13
Vanhanen ve diğerleri <sup>17</sup>	Finlandiya	Yok	[7]	8	47	6	Stanol	0,8	11
		Yok	[7]	Yok	Yok	Yok	Stanol	2,0	21
Homma ve diğerleri <sup>44</sup>	Japonya	Yok	[34]	34	47	4	Stanol	2,0	13
		Yok	[36]	Yok	Yok	Yok	Stanol	3,0	10
Vanstone ve diğerleri <sup>45</sup>	Kanada	15	Yok	Yok	48	3	Sterol	1,8	16
							Stanol	1,8	16
Hallikainen ve diğerleri <sup>46</sup>	Finlandiya	34	Yok	Yok	49	4	Sterol	2,1	17
							Stanol	2,0	21
Miettinen ve diğerleri <sup>47</sup>	Finlandiya	Yok	[51]	51	50	52	Stanol	1,8	16
ve Gylling ve diğerleri <sup>48</sup>		Yok	[51]	Yok	Yok	Yok	Stanol	2,6	22
Jones ve diğerleri <sup>28</sup>	Kanada	Yok	16	16	50	4	Stanol	1,7	25
Gylling ve diğerleri <sup>49</sup>	Finlandiya	22	Yok	Yok	51	7	Stanol	3,0	20
Christiansen ve diğerleri <sup>50</sup>	Finlandiya	Yok	[47]	44	51	26	Sterol	1,5	18
		Yok	[43]	Yok	Yok	Yok	Sterol	3,0	19
Hallikainen ve diğerleri <sup>18</sup>	Finlandiya	22	Yok	Yok	51	4	Stanol	0,8	3
							Stanol	1,6	10
							Stanol	2,3	18
							Stanol	3,0	20
Volpe ve diğerleri <sup>51</sup>	İtalya	30	Yok	Yok	51	4	Sterol	1,0	13
Jones ve diğerleri <sup>11</sup> ve Racini-Sarjaz ve	Kanada	15	Yok	Yok	52	3	Stanol	1,8	10
							Sterol	1,9	22
Neil ve diğerleri <sup>53</sup>	Britanya	29	Yo	Yok	52	8	Sterol	2,5	20
Gylling & Miettinen <sup>54</sup>	Finlandiya	21	Yok	Yok	53	5	Stanol	2,4	17
Nguyen ve diğerleri <sup>55</sup>	ABD	Yok	77	76	53	8	Stanol	2,0	8
							Stanol	3,0	17
Andersson ve diğerleri <sup>56</sup>	İsveç	Yok	19	21	55	8	Stanol	2,0	11
Blair ve diğerleri <sup>57</sup>	ABD	Yok	71	77	56	8	Stanol	3,0	15
Tikkanen ve diğerleri <sup>58</sup>	Finlandiya	Yok	36	35	56	5	Sterol	0,9	10
		Yok	36	35	56	5	Sterol	1,9	14
		Yok	36	35	56	5	Sterol	4,2	15
Noakes ve diğerleri <sup>59</sup>	Avustralya	46	Yo	Yok	57	3	Sterol	2,3	13
							Stanol	2,5	16
		35	Yok	Yok	57	3	Sterol	2,0	15
Gylling & Miettinen <sup>60</sup>	Finlandiya	11	Yok	Yok	58	6	Stanol	3,0	20
Nigon ve diğerleri <sup>61</sup>	Fransa	53	Yo	Yok	58	8	Sterol	1,6	9
Maki ve diğerleri <sup>62</sup>	ABD	Yok	[90]	39	59	5	Sterol	1,1	17
Westal ve diğerleri <sup>63</sup>	Avustralya	Yok	[90]	Yok	Yok	Yok	Sterol	2,2	20
		15	Yo	Yok	60	4	Sterol	2,4	23

\*Parantezler çoklu tedavi gruplarını göstermektedir. LDL = düşük yoğunluklu lipoprotein; YOK = geçerli değil.



Tablo 2. Yaşa Göre LDL Kolesteroldeki Mutlak ve Yüzde Azalmaların Randomize Plasebo Kontrollü Çalışmalardan Özet Tahminleri\*

Katılımcıların ortalama yaşı (y)	Deneme kolu sayısı	LDL kolesterolde azalma	
		Mutlak (mg/dL) (%95 CI)	% (95 CI)
4-6	2	8 (7-9)	8,0 (5.2-10.8)
20-29	2	11 (2-19)	10,0 (7.0-13.0)
30-39	7	12 (10-14)	10,5 (8.3-12.6)
40-49	13	15 (13-17)	10,3 (8.5-12.0)
50-60	26	16 (14-18)	9,6 (8.4-10.7)

\*Veriler, günlük  $\geq 1,5$  g/gün stanol/sterol dozlarını test eden 50 deneme kolundan (yetişkinlerde) elde edilmiştir. CI = güven aralığı; LDL = düşük yoğunluklu lipoprotein.

denemeleri çift kör yapmak için plasebo margarinler veya diğer gıdalar kullanılmıştır. Her bir çalışmada, LDL kolesterolde plaseboya göre ayarlanmış ortalama düşüş hesaplanmıştır. STATA istatistik yazılımını (Stata Corp, College Station, Tex) kullanarak, LDL kolesterolündeki ortalama düşüşü tüm çalışmalarda ve belirli çalışma alt gruplarında belirledik. Rastgele etkiler modeli kullanılmıştır; ancak çalışma sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir heterojenlik bulunmamıştır. Bu nedenle, özet tahminler, her bir denemenin sonucunun varyansının tersi ile ağırlıklandırılmasına eşdeğerdir. Bu denemelerdeki denekler genellikle nispeten yüksek kolesterol seviyelerine sahip oldukları için seçilmiştir, ancak plasebo gruplarındaki ortalama LDL kolesterol seviyeleri, denemelerin çoğunun yapıldığı kuzey Avrupa için yaşa özgü ortalama değerlere yakın olduğu için bu seçimin etkisi çok az olmuştur (tüm çalışmalarda plasebo gruplarındaki ortalama LDL değerleri 45-54 yaşlarında 137 mg/dL veya 3,55 mmol/L ve 55-64 yaşlarında 161 mg/dL veya 4,17 mmol/L idi). Ailesel hiperkolesterolemili çocuklarda yapılan çalışmalar analize dahil edilmemiş ve ayrı olarak tartışılmıştır.

Steroller ve stanoller tarafından LDL kolesterolde plaseboya göre ayarlanmış mutlak azalma yaşla birlikte artmaktadır (Tablo 2); bunun nedeni LDL kolesterolün başlangıç değerlerinin yaşla birlikte artması olabilir. LDL kolesteroldeki azalma yüzdesi yaşa göre önemli ölçüde değişmemiştir.

Dozun bir fonksiyonu olarak LDL kolesteroldeki yüzde azalma Şekil 2 ve Tablo 3'te gösterilmiştir. Etkinin yaklaşık 2 g/gün veya daha fazla alımlarda azaldığı ve 2,5 g/gün'den daha yüksek dozlarda çok az ek etki olduğu görülmüştür (Tablo 3): Maksimum etki tahmini olarak %11,3'tür. Denemelerde, 0,7 ile 1,1 g/gün dozlarının test edilmesi, bu dozda etkinin yaklaşık yarısının elde edilebileceğini göstermiştir. Çocuklarda yapılan 2 çalışma ve yetişkinlerde yapılan 8 düşük doz ( $\leq 1,1$  g/gün) çalışmanın birisi, tutulduğu bir analizde, LDL kolesterol seviyesindeki ortalama düşüş, stanoller test eden 27 çalışmada, ortalama doz, 2,5 g/gün) %10,1 (%95 güven aralığı, 8,3-11,9) ve steroller test eden 21 çalışmada (ortalama doz, 2,3 g/gün) %9,7 (%95 güven aralığı, %8,5-10,1) olmuştur.

Karşılaştırma orta düzeyde bir farkı tespit edecek istatistiksel güçten yoksun olmasına rağmen fark anlamlı değildi. Dolayısıyla, bu denemeler herhangi birinin diğerinden daha iyi olduğu iddiasını destekleyemez. Yüksek yoğunluklu lipoprotein seviyelerinde artışlar ve trigliserit seviyelerinde düşüşler ara sıra görülmüş olsa da,<sup>54,60</sup> stanoller ve steroller genel olarak yüksek yoğunluklu lipoprotein veya çok düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterolünde çok az değişiklik yaratmış veya hiç değişiklik yaratmamıştır, dolayısıyla LDL ve toplam kolesterol seviyelerindeki mutlak düşüşler neredeyse aynıdır. Stanoller, LDL apolipoprotein B üretimini inhibe ederek LDL seviyelerini düşürür.<sup>65</sup> Apolipoprotein B için yanıt eğrisi LDL kolesterol için olana benzerdi, bu da stanollerin ve sterollerin LDL'yi boyutlarından veya bileşimlerinden ziyade partikül sayısını azaltarak düşürdüğünü düşündürmektedir.<sup>18,66</sup>

Stanollerin ve sterollerin plazma lipoproteinleri üzerindeki etkisi öncelikle birkaç hafta içinde ortaya çıkmış ve 1 yıl süren çalışmalarda sabit kalmıştır.<sup>47</sup> Bu çalışmalarda, 1,8 g/gün stanol ile tedavi, 1 yıl sonra LDL kolesterolü %8,5 oranında düşürürken, <sup>47</sup> 1,6 g/gün sterol ile tedavi, 1 yıl sonra LDL kolesterolü %5,9 oranında düşürmüştür.<sup>67</sup> Her iki sonuç da eşzamanlı plasebo grubundaki değişime göre elde edilmiştir. Bunun steroller ve stanoller arasında uzun vadeli etkinlik açısından bir fark gösterip göstermediği konusu uzmanlar tarafından kapsamlı bir şekilde tartışıldı, ancak verilerin tek çalışmalarda sınırlı olması, dozların biraz farklı olması ve uyum konusunda kesin veriler olmaması nedeniyle kesin sonuçlara varmak mümkün değildir. Bu uzun vadeli etkiler hakkında daha fazla bilgiye ihtiyaç olduğu açıktır.

#### Formülasyonun Etkisi Nedir?

Sterollerin ve stanollerin fiziksel formu önemlidir. Serbest (yani esterleşmemiş) steroller ve stanoller, plazma lipoproteinleri üzerinde stanol ve sterol esterleri ile aynı etkiye sahip olabilir<sup>2,28</sup>; Bununla birlikte, matris ve emülsifikasyon önemlidir ve negatif sonuçlar yaygındır.<sup>68</sup> Bu nedenle, yeni gıda formları daha önce test edilmiş formlardan büyük ölçüde farklılık gösteriyorsa etkinlik açısından değerlendirilmelidir. Bir çalışma<sup>69</sup> lesitin ile emülsifiye edilmiş serbest stanollerin tek öğünlük testlerde kolesterol emilimini %37 oranında azalttığını göstermiştir. Diasilgliserol içinde çözülmüş serbest bitki sterollerinin<sup>70</sup> ve ekmek ve tahıllar<sup>63</sup> veya az yağlı yoğurt gibi az yağlı ürünlere dahil edilmiş bitki sterol ve stanol esterlerinin etkinliğine dair kanıtlar da bulunmaktadır.

Pirinç kepeğinden elde edilen dimetilsterollerin lipoproteinler üzerindeki etkileri, sitosterol gibi kolesterolden türetilen sterollerinkinden daha azdır (Şekil 1).<sup>5</sup>

#### Alım Sıklığının Etkileri Nelerdir?

Çalışmaların çoğunda, bitki stanollerini ve sterollerinin günlük toplam alımı gün içinde 2 veya 3 porsiyona bölünmüştür, ancak 1 çalışma, öğle yemeğinde alınan 2,5 g bitki stanolünün, 3 öğüne bölünen 2,5 g bitki stanolü ile aynı LDL düşürücü etkileri yarattığını göstermiştir.<sup>32</sup>

Bu nedenle, alımın gün içindeki dağılımı etkinliğin önemli bir belirleyicisi olmayabilir ve kolesterol emiliminin engellenmesi için karışık misellerden kolesterolün değiştirilmesi dışındaki mekanizmalar dikkate alınmalıdır, çünkü bu muhtemelen her öğünde stanol ve sterollerin alınmasını gerektirecektir. Farklı doz rejimlerinin etkinliğini ve etkililiğini karşılaştırmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Sterol ve stanollerin kolesterol taşıyıcıları üzerindeki etkilerine ilişkin çalışmalar da bu konuya ışık tutabilir.<sup>14,15</sup>

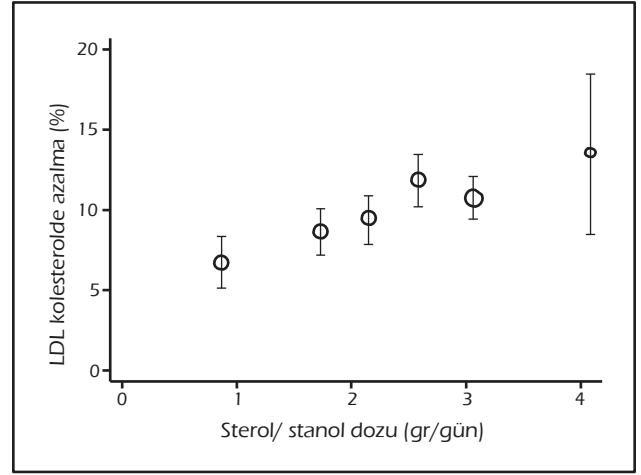
### Çocuklar, Diyabetli Hastalar ve Tanımlanmış Genotiplere Sahip Kişileri İçeren Alt Grupların Yanıtları Nelerdir?

İki çalışma, stanol esterleri ile tedavi edilen ailesel hiperkolesterolemili çocuklarda LDL kolesterolde yaklaşık %15'lik bir azalma olduğunu göstermiştir ki bu, ortalama LDL kolesterol seviyesine sahip çocuklarda görülen %8'lik azalma ile karşılaştırıldığında olumlu bir sonuçtur (Tablo 2). Esterleşmemiş sitostanol ile yapılan bir çalışma daha da belirgin bir etki göstermiştir.<sup>71</sup> Sterol esterleri de LDL kolesterolde bir azalma sağlamıştır.<sup>53</sup> Bu nedenle, steroller ve stanoller ailesel hiperkolesterolemili çocuklarda en az etkilenmemiş çocuklardaki kadar etkili görünmektedir.

Stanol esterleri diyabetik kişilerde LDL kolesterol seviyelerini, diyabetik olmayan kişilerdeki düşüşlere benzer şekilde %9 oranında düşürmüştür.<sup>60</sup> Kolesterol emilimi apolipoprotein E genotipinden etkilenebilir, ancak çoğu çalışmada apolipoprotein E genotipinin LDL'nin sterollere ve stanollere verdiği yanıt üzerinde çok az etkisi vardır.<sup>18,33,46,72</sup> Diğer polimorfizmler yaygın olarak çalışılmamıştır.

### Stanol ve Sterollerin Etkileri Diyetin Etkilerine Katkıda Bulunur mu?

Stanollerin ve sterollerin etkilerinin arka plandaki diyetten bağımsız olduğu görülmektedir.<sup>62</sup> Böylece, 2,3 g/gün stanol ester ilavesi, düşük yağlı Ulusal Kolesterol Eğitim Programı (NCEP) basamak 1 diyetinin etkisini iki katına çıkararak LDL kolesterol seviyesinde toplam %23'lük bir düşüş sağlamıştır.<sup>38</sup> Benzer etkiler serbest steroller ve stanoller ile de görülmüştür.<sup>28</sup> Bu nedenle, birkaç katılımcı sterol ve stanollerin sağlıklı beslenen kişilerde bile kolesterol seviyelerini düşüreceğine dikkat çekmiştir. Bununla birlikte, KKH'nin önlenmesi için önerilen diyetler LDL'yi düşürmekten daha fazlasını sağlar; diyet lifi, esansiyel yağ asitleri, vitaminler, mineraller ve meyve ve sebzelerden elde edilen faydalı maddeler sağlar.<sup>73</sup> Bu nedenle, çalışmaya katılımcılarının çoğu sterol ve stanollerin doymuş yağ ve kolesterol bakımından düşük, meyve, sebze ve tam tahıllar bakımından yüksek, yağ kaynağı olarak balık yağı ve bitkisel yağların kullanıldığı sağlıklı bir beslenmeyi tamamlaması gerektiğine inanmaktadır.



Şekil 2. Düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesteroldeki yüzde düşüşlerin randomize plasebo kontrollü çalışmalardan elde edilen özet tahminleri, doza göre %95 güven aralıklarıyla birlikte. Her dairenin alanı, her doz aralığındaki denemelerdeki toplam kişi sayısı ile orantılıdır. Gösterilen günlük doz aralıkları (parantez içindeki deneme kolları sayısı) 0,7 ila 1,1 gr (8), 1,5 ila 1,9 gr (13), 2,0 ila 2,4 gr (14), 2,5 ila 2,9 gr (5), 3,0 ila 3,4 gr (13) ve 4,0 ila 4,2 gr (2) şeklindedir. (Çocuklarda yapılan iki çalışma, dozlar çocuklarda ve yetişkinlerde eşdeğer olmadığı için çıkarılmıştır).

### Sterol ve Stanollerin Etkileri Kolesterol Düşürücü İlaçların Etkilerine Katkıda Bulunuyor mu?

Statin tedavisi alan 167 yetişkin üzerinde yapılan bir çalışmada, stanol ester margarin ilavesi LDL kolesterol seviyelerini plasebo ilavesine göre %10 daha fazla düşürmüştür.<sup>57</sup> KKH'li hastalarda<sup>49</sup> ve simvastatin<sup>74</sup> ile tedavi edilen ailesel hiperkolesterolemili yetişkinlerde yapılan daha küçük çalışmalarda LDL kolesterol seviyesinde sırasıyla %16 ve %20 ilave düşüşler bulunmuştur. Tip 2 diyabetli hastalar üzerinde yapılan küçük bir çalışmada, pravastatin tedavisine stanol esterlerinin eklenmesi LDL kolesterolde %14'lük bir düşüşe neden olmuştur.<sup>65</sup> Steroller ayrıca statinlerle tedavi edilen hastalarda LDL seviyelerini düşürmüştür.<sup>53</sup> Stanol ve sterollerin eklenmesi, genellikle LDL kolesterol seviyelerinde yalnızca %5 ila %7 oranında ek bir düşüş sağlayan statin dozunun iki katına çıkarılmasından biraz daha etkili görünmektedir.<sup>57,75,76</sup>

Tablo 3. Doza Göre LDL Kolesterolde Ortalama Yüzde Azalmalar\*

Sterol ve stanol dozu (g/d)	Deneme kolu sayısı	LDL kolesterolde azalma (%) (%95 CI)
0.7-1.1	8	6,7 (4.9-8.6)
1.5-1.9	13	8,5 (7.0-10.1)
2.0-2.4	14	8,9 (7.4-10.5)
≥2,5	21	11,3 (10.2-12.3)

\*Veriler stanoller/steroller test eden 56 çalışma kolundan elde edilmiştir (çocuklarda yapılan 2 çalışma hariç tutulmuştur). CI = güven aralığı; LDL = düşük yoğunluklu lipoprotein.

Bu nedenle, statin alan ve ek kolesterol düşürmeye ihtiyaç duyan hastalar için, diyetlerine stanol ve sterol eklemek statin dozlarını arttırmaktan daha etkilidir ve bu seçeneğin hiperkolesterolemili hastaları tedavi eden doktorlar tarafından dikkate alınması gerekir.

Kolesterol emiliminin neomisin ile engellendiği diyabetli hastalarda, stanol esterlerinin eklenmesi LDL seviyelerini %11 oranında düşürmüştür.<sup>77</sup> Kolestiramin de ek bir etki yaratıyor gibi görünmektedir<sup>78</sup> ancak sterollerin ve stanollerin niyasin ve ezetimibe ile kombine etkilerine ilişkin veriler gibi daha fazla veriye ihtiyaç vardır.

### **Hayvanlarda Ateroskleroz Üzerindeki Etkileri Nelerdir?**

Steroller ve stanoller farelerde, tavşanlarda ve hamsterlerde arteriyel lipid birikimini azalttı<sup>79-82</sup> ancak yerleşik aterosklerozda gerilemeye neden olmadı.<sup>83</sup> Aterojenik diyetlerle beslenen tavşanlarda, bitki stanolu tüketimi, serum kolesterol seviyelerinin belirgin şekilde yükselmesine rağmen arteriyel plak gelişimini engellemiştir, bu da lipid seviyelerinin basitçe düşürülmesinden başka bir süreci düşündürmektedir.<sup>80</sup>

### **KKH Riskinin Azaltılması için Potansiyel Etki Nedir?**

İlaç denemelerinden elde edilen veriler,<sup>84,85</sup> LDL kolesterol seviyelerinde yaklaşık %10'luk bir düşüşün iskemik kalp hastalığı insidansını 5 yıl içinde yaklaşık %12 ila %20 oranında azaltmasını beklenebileceğini göstermektedir. Kohort çalışmalarının analizi, uzun vadeli risk azalmasının yaklaşık %20 olacağını göstermektedir.<sup>86</sup> Hiçbir çalışma sterol ve stanollerin KKH insidansı üzerindeki etkilerini doğrudan test etmemiştir; bu nedenle KKH üzerinde beklenen faydalı etkinin tam olarak gerçekleşmemesi teorik bir olasılıktır. Bununla birlikte, çalıştay katılımcılarının çoğu LDL kolesterol düşürücü müdahalenin randomize çalışmalarda test edildiğinde iskemik kalp hastalığı insidansını azaltmada nadiren başarısız olduğuna inanmaktadır.<sup>86</sup> Diğer katılımcılar, kesin son noktaları olan bir çalışmanın sağladığı güveneyi istemektedir.

### **Bitki Steroller ve Stanoller Kolesterol Düşürmeye Yönelik Klinik ve Halk Sağlığı Yaklaşımlarına Nasıl Dahil Edilmelidir?**

Stanol ve sterollerin LDL seviyelerini %10 düşürücü etkisi, enerjinin %8'inin doymuş yağ olarak tekli doymamış ve çoklu doymamış yağlarla değiştirilmesine benziyor.<sup>87</sup> Steroller ve stanoller, doymuş yağ ve kolesterol bakımından düşük diyetlerle birleştirildiğinde, %20 veya daha fazla azalma elde edilebilir. Bitki stanollerinin ve sterollerinin LDL kolesterol seviyelerini düşürmek için klinik terapötik yaşam tarzı değişikliklerinde potansiyel faydası yakın zamanda NCEP tarafından kabul edilmiştir.<sup>88</sup> NCEP'in Terapötik Yaşam Tarzı Değişiklikleri diyeti bu nedenle doymuş yağ tüketimini toplam kalorinin (<%7'si) ve kolesterolün %20'ine kadar azaltılmasını önermekte ve diyetin LDL kolesterol düşürücü etkisini artırmak için bitkisel sterol/steroller (2 g/gün) ve çözünür lif (10-25 g/gün) kullanımını tavsiye etmektedir.

Terapötik Yaşam Tarzı Değişikliklerinin diğer bileşenleri olan kilo verme ve fiziksel aktivitenin artırılması ile ilave LDL düşüşü sağlanabilir.

Margarinlerden elde edilen en uygun sterol/stanol dozu, 2 g'ı doymuş olmak üzere 7 g yağ ile tüketilir; düşük yağlı gıda formları da mevcuttur. Bu nedenle, stanol ve sterol içeren gıdaların kullanımının kilo veya diğer risk faktörleri üzerinde olumsuz etkileri olması beklenmemektedir. Amerika Birleşik Devletleri'ndeki mevcut ortalama LDL kolesterol seviyeleri ve önerilen LDL kolesterol tedavi hedefleri temelinde, yaklaşık 65 milyon ABD'li yetişkin bu yaşam tarzı değişiklikleri için adaydır. Ayrıca, ilaç tedavisi kullanıldığında bile terapötik diyet hasta yönetiminin ayrılmaz bir parçası olmalıdır, çünkü kolesterol düşürücü ilaçlarla tedavi edilen hastalar diyetlerine bitki stanollerini/sterollerini eklediğinde ek önemli LDL kolesterol düşüşü elde eder ve LDL hedeflerinde olmayanların çoğunun bu hedeflere ulaşmasını sağlar. Ayrıca, bitki stanollerinin/sterollerinin birlikte kullanımı daha düşük dozda ilaç kullanımına olanak sağlayabilir.

Bitki stanollerini/sterollerini çocuklarda, özellikle de ailesel hiperkolesterolemisi olanlarda yüksek LDL kolesterol seviyelerinin klinik yönetiminde rol oynayabilir. Daha düşük dozda ilaç kullanımını kolaylaştırabilir veya ilaç tedavisine başlanmasını geciktirebilirler. Çocuklarda bitki stanollerini ve sterollerinin kullanımına ilişkin uzun vadeli veriler eksiktir ve bu tür verilere ihtiyaç vardır. Bununla birlikte, yetişkinlerde yapılan çalışmalardan elde edilen veriler, çocuklar tarafından kullanımla ilgili herhangi bir özel endişeye işaret etmemektedir. Özellikle çocuklar için önemli olan A vitamini (retinol) ve D vitamini seviyeleri, yetişkinlerde sterol ve stanol kullanımından etkilenmez.

### **GÜVENLİK**

Stanol ve sterollerin güvenliği çeşitli düzenleyici kurumlar tarafından gözden geçirilmiştir. ABD Gıda ve İlaç İdaresi, bitki sterol/stanol esterlerinin üreticiler tarafından Genel Olarak Güvenli Olarak Tanınan (GRAS) olduğunu kabul etmiştir. Gıda ve İlaç İdaresi de bitkisel sterol/ stanol esterleri içeren gıdaların KKH riskini azaltabileceğine dair bir iddiaya izin vermiştir (8 Eylül 2000 tarihli Federal Kayıt [65 FR 54686]). Avrupa Birliği Gıdalar Bilimsel Komitesi, fitosterol ester margarinin insan kullanımı için güvenli olduğu sonucuna varmıştır ([http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out56\\_en.pdf](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out56_en.pdf)). Stanol ve sterol esterlerinin kullanım verileri şu anda Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa'da 2 yıla kadar ve Finlandiya'da 5 yıldan fazla süredir mevcuttur ve herhangi bir yan etki bildirilmemiştir. Dolayısıyla, risk ve fayda dengesi olumlu görünmektedir. Ancak, uzun vadeli (≥5 yıl) deneyim eksikliği, öngörülemeyen etkilerin ortaya çıkma ihtimalini doğurmaktadır.

## Hayvanlarda Yapılan Toksikolojik Testler Bitki Stanol ve Sterollerinin Güvenliği Hakkında Ne Söylüyor?

Sıçanlarda yapılan çalışmalar, stanol ve sterollerin zayıf bir şekilde emildiğini doğrulamaktadır.<sup>89</sup> Bitki stanol ve sterollerini esas olarak adrenal bezlerde ve yumurtalıklarda tespit edilmiştir. İnsanlarda  $\beta$ sitosterol, adrenal bezlerde, testislerde ve term plasentalarda kolesterol ile aynı yolları izleyerek pregnenelona metabolize edilebilir.<sup>90</sup> Bitki stanollerinin aynı şekilde metabolize edilip edilmediği bilinmemektedir.

2 çalışmada, sıçanlara yüksek dozlarda bitki sterol esterleri ve stanol esterleri yedirilmiştir.<sup>91,92</sup> Günde vücut ağırlığının kilogramı başına 4,1 g bitki stanolüne (insanlarda önerilen 2 g/gün dozundan yaklaşık 150 kat daha yüksek) eşdeğer olan %5'lik en yüksek dozda yağda çözünen vitaminlerde bir miktar azalma dışında herhangi bir toksisite veya yan etki belirtisi görülmemiştir. Çok nesilli sıçan çalışmalarında,<sup>93,94</sup> bitki sterol esterleri, yemin ağırlıkça %5'ine kadar üreme veya gelişim üzerinde hiçbir etki yaratmamıştır. Bitki stanol esterleri için, yüksek doz grubundaki yavruların vücut ağırlığı üzerinde tedaviye bağlı etkiler görüldüğünden, Gözlemlenen Ters Etki Yok Seviyesi orta doz olan %2,5 bitki stanolüdür.

Bitki sterollerini ve stanollerini için teratojenik etkiye dair bir kanıt yoktur.<sup>95</sup> Bazı raporlar bitki sterollerini ve stanollerinin östrojenik etkileri olduğunu söylüyor<sup>96-98</sup>; bununla birlikte, bitki sterollerini östrojen reseptörüne bağlanmaz<sup>99</sup> ve çeşitli in vitro ve in vivo deneylerde stanoller için östrojenik aktivite kanıtı yoktur.<sup>100</sup> Bitki sterollerini ve stanollerini in vitro (bakteriyel mutasyon deneyi; insan lenfositlerinin metafaz kromozom analizi; memeli hücre gen mutasyon deneyi; memeli hücre kromozom aberasyon deneyi) veya in vivo sıçanlarda (sıçan karaciğerinde programlanmamış DNA sentezi; sıçan kemik iliğinde mikronükleus indüksiyonu) genotoksik değildir.<sup>92,101,102</sup>

Bitki stanollerini ve sterollerinin artan tüketimi kalın bağırsaktaki kolesterol miktarını yükseltmiştir. Kolesterol, bağırsak mikroflorası tarafından 4cholesten-3-one'a metabolize edilir ve sağlıklı gönüllülerin 4 hafta boyunca 8,6 g/gün fitosterol tüketmesinin ardından 4-cholesten-3-one'un fekal konsantrasyonunda küçük bir artış bulunmuştur.<sup>103</sup> 4-Cholesten-3-one'un bazı in vitro testlerde mutajenik olduğu bildirilmiştir.<sup>104,105</sup> Bununla birlikte, 4cholesten-3-one'un bakteriyel mutasyon testinde ve in vitro kromozom aberasyon testinde değerlendirilmesi mutajenik aktiviteye dair bir kanıt ortaya koymamıştır.<sup>102,106</sup>

Hayvan çalışmalarının bir sınırlaması, insan ve sıçanların mikroflorasının farklı olmasıdır. Bu durum, bitki sterollerini ve stanollerini ile kolesterolün bağırsakta nasıl metabolize edildiğini etkileyebilir. Ayrıca, sıçan ve insanın gastrointestinal sistemleri belirgin şekilde farklıdır. Son olarak, toksikolojik çalışmalar doğal stanollerini ve sterollerle sınırlı kalmıştır. Eğer stanol ve sterollerini zenginleştirilmiş ürünler kızartma amacıyla kullanılırsa, öncelikle stanol ve sterollerinin kızartmadaki stabilitesinin belirlenmesi gerekecektir.

## Steroller ve Stanoller Fitosterollerin ve Stanollerin Emilimini ve Plazma Seviyelerini Nasıl Etkiler?

Normal bireylerde, 2 g/gün bitki sterolü alımı plazma kampesterol seviyelerini yaklaşık iki katına çıkarır; sitosterol seviyeleri de artar. Artan stanol alımı plazma seviyelerini yükseltir, ancak stanol konsantrasyonları her zaman sterollerden 10 ila 100 kat daha düşüktür<sup>46,55</sup>; Buna ek olarak, stanol tüketimi plazma sterol konsantrasyonlarını azaltır.<sup>8,11,46,107</sup> Sterol ester margarin tüketen deneklerde plazmadaki bitkisel sterol konsantrasyonları 0,6 ila 2,0 mg/dL aralığındadır.<sup>40,46</sup> Bu, fitosterolemi için homozigot olan hastalara göre 20 ila 100 kat daha düşüktür.

Fitosterolemi (sitosterolemi olarak da bilinir) son derece nadir görülen resesif bir hastalıktır.<sup>6,108</sup> Homozigot durum, geniş bir belirsizlik payı ile yaklaşık 5 milyon kişiden 1'inde görülür. Hastalar erken ateroskleroz ve KKH'ye yatkındır. Homozigot bireylerde sitosterol emilimi normal kişilerde %5 veya daha az iken tipik olarak %15 ila %25'tir ve atılım azalır. Plazma konsantrasyonları için tipik aralıklar sitosterol için 14 ila 65 mg/dL ve kampesterol için 7 ila 21 mg/dL'dir. Bağırsak ABCG5 ve ABCG8 taşıyıcılarındaki mutasyonlar en azından bazı fitosterolemi formlarından sorumludur.<sup>14,15,109</sup>

Heterozigot kişilerde (yaklaşık 1100'de 1), fitosterollerin emilimi normal<sup>110</sup> veya %15'e kadar olabilir<sup>6</sup> ancak karaciğer tarafından uzaklaştırılması hızlı olduğu için vücut havuzları büyük ölçüde yükselmez. Heterozigot kişilerde bitki sterollerinin plazma seviyeleri normal veya hafifçe yüksektir.<sup>111</sup> Bir çalışma, sterol margarin tüketiminin fitosterolemi için heterozigot kişilerde plazma kampesterol konsantrasyonlarını 2 ila 3 kat artırdığını ve bunun mutasyonu olmayan kişilerdeki etkiye benzer olduğunu göstermiştir.<sup>112</sup> Bu güven vericidir çünkü heterozigotluk homozigotluktan çok daha yaygındır ve heterozigotluk genellikle tespit edilmez.

## Bitki Sterollerini ve Stanollerinin Emilimi Aterosklerozu Teşvik Eder mi?

Aterom lezyonlarında steroller ve stanoller bulunmuştur. Hafif hiperfitosterolemi kalıtsaldır<sup>113</sup> ve artmış erken KKH riski ile ilişkilidir<sup>114,115</sup>; homozigot fitosterolemili hastalarda erken aterosklerozun dolaşımdaki sitosterol ve kampesterolün aterojenik etkisinden kaynaklandığı öne sürülmüştür. Ancak, fitosterolemili hastalardaki yüksek ateroskleroz oranı, genetik bozukluğun diğer sonuçlarına bağlı olabilir.

Bazı çalıştay katılımcıları, bitki sterol esterleriyle zenginleştirilmiş gıdaların tüketimiyle plazma sterollerinde meydana gelen hafif artışın, LDL kolesterolündeki düşüşün ateroskleroz üzerindeki yararlı etkisini azaltabileceğine inanmaktadır.



Tablo 4. Stanol/Sterollerin Randomize Plasebo Kontrollü Çalışmalarında Vitaminlerin Serum Konsantrasyonlarındaki Ortalama Değişim (%95 CI)\*

Vitamin	Deneme sayısı	Ortalama değişiklik (%)	Toplam serum kolesterolündeki değişime göre ayarlanmış ortalama değişim (%)	Referanslar
$\alpha$ -Tokoferol	15	-5,9 (-8,0 ila -3,8) ( $P<,001$ )	-2,1 (-0,3 ila +4,5) ( $P<,001$ )	16,18,32,35,38,42,46,48,50,52,54,56,59,62,116
Alfa karoten	13	-8,7 (-13,8 ila -3,5) ( $P<,001$ )	-0,3 (-5,7 ila +5,2) ( $P<,001$ )	18,32,35,42,46,48,50,52,54,56,59,62,116
Beta karoten	15	-19,9 (-24,9 ila -15,0) ( $P<,001$ )	-12,1 (-17,4 ila -6,8) ( $P<,001$ )	18,32,35,38,42,46,48,50,52,54-56,59,62,116
Likopen	13	-7,3 (-13,1 ila -1,4) ( $P=,01$ )	-0,1 (-6,1 ila +5,9) ( $P=NS$ )	16,18,32,35,39,40,42,46,52,56,59,62,116
Retinol	14	-0,1 (-1,6 ila +1,5)	Yok	18,32,38,42,46,48,50,52,54-56,59,62,116
Vitamin D	10	+0,5 (-2,6 ila +3,6)	Yok	16,38,42,46,48,52,54-56,62

\*Sadece  $\geq 1,5$  g/gün dozlarını test eden çalışmalar dahil edilmiştir. CI = güven aralığı; Yok = geçerli değil; NS = anlamlı değil.

Diğerleri, eğer varsa, bu etkinin plazma LDL'sindeki azalma ile tamamen telafi edildiğine inanmaktadır. ABC taşıyıcılarındaki kusurların fitosterolemili hastalarda ateroskleroz ve KKH'ye neden olduğu mekanizma üzerine yapılacak daha ileri çalışmalar bu noktayı açıklığa kavuşturabilir. Bununla birlikte, ön veriler olmasına rağmen mevcut veriler, sadece normal deneklerin değil aynı zamanda fitosterolemi için heterozigot deneklerin de olumsuz etkiler olmaksızın bitki sterollerini tüketebileceğini göstermektedir.<sup>112</sup>

#### Stanoller ve Steroller Yağda Çözünen Vitaminlerin Plazma Düzeylerini Nasıl Etkiler?

Etkinlikle ilgili metaanalizde tanımlanan sterol ve stanol çalışmalarından (Tablo 1), 1,5 g/gün veya daha fazla dozları test eden 18 çalışma yağda çözünen vitaminlerin plazma konsantrasyonlarını bildirmiştir. Tablo 4 denemeler arasındaki ortalama değişiklikleri özetlemektedir. Hidrokarbon karotenlerin plazma konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı düşüşler meydana gelmiştir: alfa karoten %9, beta karoten %28 ve likopen %7. Bu azalmanın bir kısmı muhtemelen karotenlerin emiliminin azalmasından, geri kalanı ise lipoprotein taşıyıcı LDL konsantrasyonlarının azalmasından kaynaklanmaktadır; stanoller ve steroller tarafından indüklenen toplam kolesteroldeki azalma düzeltildikten sonra, beta karoten için istatistiksel olarak anlamlı bir azalma kalmıştır, ancak alfa karoten veya likopen için azalma olmamıştır.  $\alpha$ -Tokoferoldeki azalma da benzer şekilde kolesteroldeki azalma ile açıklanmıştır (Tablo 4). Beta karotenin azalması, diyetle yeterli miktarda meyve ve sebze eklenerek önlenebilir.<sup>59</sup> D vitamini ve A vitamini (retinol) konsantrasyonları sterol ve stanollerden ortalama olarak etkilenmez (Tablo 4). K vitaminine bağlı faktörleri stanollerle beslenen deneklerde değişmemiştir.<sup>33</sup> Kumarin alan 8 hastaya stanol esterleri verildiğinde, protrombin zamanında önemli bir değişiklik olmamıştır.<sup>76</sup> Kumarin dozunda önemli bir değişiklik gözlemlenmiştir, bu da K vitamini durumunun değişmediğini göstermektedir.<sup>117</sup>

#### Karotenlerin Azalmış Emilimi ve/veya Azalmış Plazma Seviyeleri Sağlık Riski Oluşturur mu?

Dolaşımdaki karotenoidleri azaltabilen maddeler teorik bir halk sağlığı sorunu oluşturmaktadır çünkü dolaşımdaki karotenoidlerin düşük seviyeleri KKH, bazı kanserler ve maküler dejenerasyon dahil olmak üzere çeşitli kronik hastalık riskinin artmasıyla ilişkilendirilmiştir.<sup>118-120</sup> Gözlemsel çalışmalarda, lutein maküler dejenerasyonla, beta karoten akciğer kanseriyle, likopen prostat kanseriyle ve dolaşımdaki tüm ana karotenoidler KKH ile ters orantılı olarak ilişkilendirilmiştir.<sup>120</sup>

Bitki stanoller ve sterollerinin serum karotenoid seviyelerinde neden olduğu düşüş miktarı, dolaşımdaki seviyeleri etkileyen diğer diyet faktörleri bağlamında değerlendirilmelidir. Buğday kepeği ile birlikte kakao tüketimi likopen ve lutein emilimini önemli ölçüde engeller.<sup>121</sup> Olestra (8 g/gün) tüketen gönüllülerin beta karoten seviyeleri 8 hafta sonra kontrol grubuna göre %38 daha düşüktü.<sup>122</sup> Ayrıca, bazı lipid düşürücü ilaçlar (probucol ve cholestyramine) beta karoten seviyelerinde, ilaçların tek başına LDL düşürücü etkilerinden beklenenin ötesinde düşüşlere neden olur.<sup>123</sup> Epidemiyolojik çalışmalar, çeşitli karotenoidler ve hastalık sonuçları arasındaki ilişkilerin nedensel mi yoksa karıştırıcı faktörlerden mi kaynaklandığını belirleyemez. Birkaç randomize çalışma, ilave beta karotenin kanser ve KKH üzerindeki etkilerini test etmiştir.<sup>124-128</sup> Bu denemeler hiçbir fayda sağlamamakta ve sigara içenlerde zarar verdiğine dair kanıtlar göstermektedir.<sup>124,126</sup> Bu durum, beta karotenin kemoprotektif bir ajan olma özelliğini zayıflatmaktadır. Yine de, takviye denemelerinin stanoller ve steroller tarafından indüklenen plazma karotenoidindeki azalmaların etkisini tahmin etmekle ilgili olup olmadığı açık değildir.



Bu azalmaların bir kısmı, yağda çözünen vitaminler için taşıyıcı olan dolaşımdaki LDL seviyelerindeki düşüşlerden kaynaklanmaktadır. Statinlerin kullanıldığı 2 büyük birincil önleme çalışmasında (her biri ortalama 5 yıllık takip), LDL seviyelerindeki büyük düşüşler herhangi bir kanserde artış ile ilişkili bulunmamıştır.<sup>84,85</sup> Bu ilaçların karotenoid seviyeleri üzerindeki etkileri rapor edilmemiştir; dolayısıyla, bu çalışmaların karotenoid azalması açısından yorumlanması biraz spekülatiftir.

Safra asidi tutucu bir reçine olan kolestiramin, dolaşımdaki karotenoid seviyelerini LDL'nin düşürülmesine bağlı olarak beklenen düşüşten daha fazla azaltır. Lipid Araştırma Klinikleri Koroner Birincil Önleme Çalışması'nda<sup>129</sup> LDL seviyelerindeki %19'luk düşüşe kıyasla, 1 yıllık müdahalenin ardından 3806 erkekte toplam karotenoid seviyeleri %26 azalmıştır. Karotenoid seviyelerindeki bu büyük düşüşe rağmen, koroner olaylardaki azalma tam olarak serum lipidlerindeki değişikliklerin öngördüğü şekilde olmuştur.<sup>130</sup> Çalışmanın kanser son noktaları için gücü yetersiz olmasına rağmen, deneme içi (10 yıla kadar takip) ve deneme sonrası (6 yıllık ek takip) deneyim, plasebo grubuna kıyasla müdahale grubunda karotenoid bağlantılı kanserlerde hafif bir azalma olduğunu göstermiştir.<sup>131</sup>

Özetle, sterol/stanol alımına bağlı olarak azalan karotenoid seviyeleri ile ilişkili riskler bu noktada teoriktir, ancak bu konuyu tam olarak ele almak için çalışmaların daha uzun süre takip edilmesi arzu edilir.

### **Steroller ve Stanoller Hormonlar Dahil Tedavi Edici İlaçların Emilimine ve Etkisine Müdahale Eder mi?**

Sterol/stanolün terapötik ilaçların emilimi ve etkisi ile etkileşimi hakkında bilgi sınırlıdır. 318 katılımcı üzerinde yapılan 8 haftalık bir çalışmada, stanol alımının ilaçlarla olumsuz bir etkileşimi olmadığı bildirilmiştir.<sup>55</sup> Diyabetli hastalarda, stanollerin diyabetik kontrol üzerinde bir etkisi olmamıştır.<sup>60</sup>

Stanoller ve steroller teorik olarak siklosporin emilimini engelleyebilir; daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Çok az hasta siklosporin alır ve seviyeler yakından izlenir. Ancak, transplantasyon birimleri bu potansiyel etkileşimin farkında olmalıdır.

### **Stanoller ve Steroller veya Metabolitleri Kolonda Olumsuz Etkilere Sahip Olabilir mi?**

Bitki steroller ve stanollerinin tüketimi, kolesterol ve metabolitlerinin fekal atılımını artırır. 1960'larda ve 1970'lerde safra asitleri ve kolesterolün bakteriyel metabolitlerinin kolon kanserinin oluşumunda rol oynadığına dair hipotezler geliştirilmiştir.<sup>132</sup> Bu konudaki hayvan testleri daha önce tartışılmıştır. İnsan ve kınyasal olarak indüklenmiş kanserli hayvanlarda yapılan diğer deneyler, diyetle alınan bitki sterollerinin kolon, meme ve prostat kanserine karşı koruyucu sağlayabileceğini göstermiştir.<sup>133,134</sup>

Bununla birlikte, insanlarda yapılan ileriye dönük bir çalışma, bitki sterollerinin kolon veya rektum kanserine karşı herhangi bir koruyucu etkisini desteklememiştir.<sup>21</sup> Dolayısıyla, bitki stanoller ve sterollerinin kolon karsinogenezine katkıda bulunduğunu veya önlediğini gösteren ikna edici veriler bulunmamaktadır.

### **Stanol ve Sterollerin Güvenli Üst Alım Seviyesi Nedir? Uygulamada Bu Düzeyin Aşılması Muhtemel mi?**

Daha önce özetlenen kanıtlar, önerilen 2 g/gün sterol ve stanol alımının LDL kolesterol seviyelerini etkili bir şekilde düşürdüğünü, ciddi bir yan etki yaratmadığını ve endişe verici bir sağlık riski oluşturmadığını göstermektedir. Bazı tüketiciler, stanoller ve sterollerle zenginleştirilmiş geniş bir ürün yelpazesi tüketirlerse daha yüksek alım seviyelerine ulaşabilirler. Bu kadar yüksek alımların zarara neden olduğuna dair bir kanıt yoktur. Bununla birlikte, stanol ve sterol alımının 2 g/gün'ün üzerine çıkarılması LDL'yi çok az düşürür ve bu nedenle tavsiye edilmez.

### **GELECEKTE YAPILMASI ÖNERİLEN ARAŞTIRMALAR Sterol/Stanol Ürünlerini Kimler Tüketiyor ve Genel Popülasyondaki Etkinlikleri Nedir?**

Finlandiya'da yapılan bir araştırmada<sup>135</sup> Bitki stanol esterli margarin kullanan kişilerin %46'sında kardiyovasküler hastalık olduğu bildirilmiştir. Kullanıcılar çoğunlukla 55 yaş ve üzerindedir, daha iyi eğitimlidir ve kullanmayanlara göre daha yüksek gelire sahiptir. Ayrıca daha sağlıklı bir yaşam tarzları vardı. Kullanıcıların başlangıçtaki kolesterol seviyeleri veya sterol ve stanol bakımından zengin gıdalar toplumlara sunulduğunda elde edilen kolesterol düşürme derecesi hakkında hiçbir veri mevcut değildir. Bu nedenle, sterollerin ve stanollerin genel popülasyondaki etkinliği (etkinlik ile uyumluluk çarpımı) hala belirsizdir.

### **Pazarlama Sonrası Gözetim (Lansman Sonrası İzleme) Yapılıyor mu ve Öngörülemez Etkilerin Tespit Edilmesinde Yararlı mı?**

Finlandiya'da yaklaşık 2500 stanollü margarin kullanıcısı ve eşleştirilmiş kontroller takip edilmekte olup, ulusal hastalık ve ölüm kayıtları kohort ile ilişkilendirilerek hem yararlı hem de olumsuz olası uzun vadeli sağlık etkileri belirlenecektir.<sup>135</sup> Değerli olmasına rağmen, bu çalışmanın nadir görülen advers etkileri tespit etme gücü muhtemelen sınırlıdır. Randomize olmayan tasarım, gözlemsel çalışmalarda kaçınılması zor olan karışıklıklara da yol açmaktadır. Telefon yardım hatları kurulmuştur ve stanol ve sterol margarinlerin kendiliğinden bildirilen olumsuz etkileri izlenmektedir.

### **Zor Son Noktaları (Hastalık ve Ölüm) Olan Bir Deneme Gerekli mi?**

Randomize bir klinik çalışma, stanollerin ve sterollerin KKH'yi azaltmadaki etkinliği hakkında kesinlik sağlayabilir.



Diğer diyet faktörleri için olduğu gibi, böyle bir araştırmanın maliyeti ve fizibilitesi oldukça yüksektir. KKH'de 5 yıl içinde beklenen %12 ila %20'lik azalmayı göstermek için gereken KKH hasta sayısı 10.000 ila 15.000 olacaktır. Sağlıklı bireylerde olay oranları daha düşük ve gerekli sayılar orantılı olarak daha yüksektir. Örneğin, toplam kolesterolde %6'lık bir düşüşle (LDL kolesterolde %9'luk bir düşüşe karşılık gelir), %86'lık bir güçle KKH'de beklenen %14'lük düşüşü göstermek için 50.000'e yakın postmenopozal kadının randomize edilmesi ve 9 yıl boyunca takip edilmesi gerekebilir.<sup>136,137</sup> Dahası, böyle bir çalışma uzun vadeli advers etkilerin yokluğu konusunda tam bir güvence sağlamayacaktır çünkü bunlar muhtemelen nadirdir ve klinik bir çalışma bunları tespit etmek için ciddi şekilde yetersiz kalacaktır.

Kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde beklenen etkinliği desteklemek için vekil sonlanım noktalarına sahip çalışmalar kullanılabilir. En ikna edici vekil sonuç, karotid arterin intima-media kalınlığının ilerlemesinde bir azalma olacaktır ve bazı çalıştay katılımcıları böyle bir çalışmanın başlatılmasının faydalı olacağına inanmaktadır. Bununla birlikte, çoğu kişi mevcut kanıtların sterol ve stanollerin kullanımını teşvik etmek için yeterli olduğu konusunda hemfikiridir.

## SONUÇLAR

Bol miktarda kanıt, günde 2 g sterol ve stanol tüketiminin LDL seviyelerini %10 oranında düşürdüğünü ve epidemiyolojik verilere ve kolesterol düşürücü ilaçlarla yapılan denemelere dayanarak, uzun süreli kullanımın KKH riskini ilk 5 yılda %12 ila %20 ve yaşam boyu %20 oranında azaltacağını göstermektedir. Sterol ve stanollerin güvenlik testleri, yaygın olarak yenen ve genel olarak güvenli kabul edilen sıradan gıda maddelerinin testlerini aşmıştır. Bitki sterollerinin dolaşımdaki emiliminin olumsuz etkileri yetişkinlerde büyük ölçüde varsayımsal görünmektedir. Plazmadaki beta karoten seviyelerinde gözlenen düşümlere bağlı olumsuz sağlık sonuçları spekülatiftir ve önemli bir endişe kaynağı değildir. Güvenlik, bu gıdaları tüketen genel nüfustan alınan örneklerin takibiyle izlenmektedir; ancak bu tür çalışmaların, varsa nadir görülen olumsuz etkileri tespit etme gücü sınırlıdır. Bir klinik çalışma son derece pahalı olacaktır ve muhtemelen seyrek görülen yan etkilerle ilgili kalan soruları yanıtlamayacaktır. İntimamedia kalınlığı gibi vekil sonlanım noktalarıyla yapılan çalışmalar, stanollerin ve sterollerin aterosklerozun ilerlemesini azaltmada beklenen etkinliğini destekleyebilir. Bununla birlikte, mevcut kanıtlar, yüksek kolesterolü olan ve KKH riski yüksek olan kişilerde sterol ve stanollerin kullanımını teşvik etmek için zaten yeterlidir.

Çalışmanın düzenlenmesindeki önemli rolleri için Dianora Feretti ve Daniela Gially ve organizasyonel ve idari destek için Rianne Heilmassa teşekkür ederiz. Dr. Nilo Cater, Andrea Poli, Paul Hepburn, Stephen Kritchevsky, Ronald Mensink, Joan Morris, Jogchum Plat ve Jacques Rossouw'un bu makaleye yaptıkları önemli katkıları minnetle anıyoruz.

## Stresa Steroller ve Stanoller Çalıştayı -Çalıştay katılımcıları:

Atif B. Awad, Buffalo Üniversitesi, Buffalo, NY; Klaus von Bergmann, Bonn Üniversitesi, Bonn, Almanya; Nilo Cater, Güneybatı Tıp Merkezi, Teksas Üniversitesi, Dallas; Jiri Frohlich, St Paul's Hastanesi ve Britanya Kolombiya Üniversitesi, Vancouver, Britanya Kolombiya; Helena Gylling, Kuopio Üniversitesi, Kuopio, Finlandiya; Paul A. Hepburn, Güvenlik ve Çevre Güvencesi Merkezi Unilever, Sharnbrook, Birleşik Krallık; Thomas E. Kottke, Mayo Clinic, Rochester, Minn; Stephen B. Kritchevsky, Tennessee Üniversitesi, Memphis; Gilbert A. Leveille, McNeil Consumer Healthcare, Fort Washington, Pensilvanya; Gert W. Meijer, Unilever Bestfoods NA, Englewood Cliffs, New Jersey; Ronald P. Mensink, Maastricht Üniversitesi, Maastricht, Hollanda; Mohammed H. Moghadasian, British Columbia Üniversitesi, Vancouver, British Columbia; Paul Nestel, Baker Tıbbi Araştırma Enstitüsü, Melbourne, Avustralya; Fady Y. Ntanios, Unilever Sağlık Enstitüsü, Vlaardingen, Hollanda; Richard Ostlund, Washington Üniversitesi Tıp Fakültesi, St Louis, Missouri; Vieno I. Piironen, Helsinki Üniversitesi, Helsinki, Finlandiya; Andrea Poli, İtalya Beslenme Vakfı, Milano; Pekka Puska, Dünya Sağlık Örgütü, Cenevre, İsviçre; Jacques E. Rossouw, Ulusal Kalp, Akciğer ve Kan Enstitüsü, Bethesda, Maryland; Gerald Salen, New Jersey Tıp Fakültesi, Newark; Olli Simell, Turku Üniversitesi, Turku, Finlandiya; Michihiro Sugano, Kumamoto Prefektürel Üniversitesi, Kumamoto, Japonya; Matti Usitupa, Kuopio Üniversitesi ve Kuopio Üniversite Hastanesi, Kuopio, Finlandiya; Bengt Vessby, Uppsala Üniversitesi, Uppsala, İsveç; Ingmar Wester, Raisio Group, Raisio, Finlandiya; ve Jan A. Weststrate, Unilever Sağlık Enstitüsü, Vlaardingen, Hollanda.

## REFERANSLAR

1. Lichtenstein AH, Deckelbaum RJ. AHA Science Advisory: stanol/sterol ester-containing foods and blood cholesterol levels: a statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism of the American Heart Association. *Circulation*. 2001; 103:1177-1179.
2. Jones PJ, Raeini-Sarjaz M. Plant sterols and their derivatives: the current spread of results. *Nutr Rev*. 2001;59(1, pt 1):21-24.
3. Plat J, Mensink RP. Effects of plant sterols and stanols on lipid metabolism and cardiovascular risk. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2001;11:31-40.
4. Vahouny GV, Kritchevsky D. Plant and marine sterols and cholesterol metabolism. In: Spiller GA, ed. *Nutritional Pharmacology*. New York, NY: Alan R Liss; 1981:31-72.
5. Vissers MN, Zock PL, Meijer GW, Katan MB. Effect of plant sterols from rice bran oil and triterpene alcohols from sheanut oil on serum lipoprotein concentrations in humans. *Am J Clin Nutr*. 2000;72:1510-1515.
6. Salen G, Shefer S, Nguyen L, Ness GC, Tint GS, Shore V. Sitosterolemia. *J Lipid Res*. 1992;33:945-955.
7. Heinemann T, Axtmann G, von Bergmann K. Comparison of intestinal absorption of cholesterol with different plant sterols in man. *Eur J Clin Invest*. 1993;23:827-831.

8. Lütjohann D, Björkhem I, Beil UF, von Bergmann K. Sterol absorption and sterol balance in phytosterolemia evaluated by deuterium-labeled sterols: effect of sitostanol treatment. *J Lipid Res.* 1995;36:1763-1773.
9. Czubayko F, Beumers B, Lammsfuss S, Lütjohann D, von Bergmann K. A simplified micro-method for quantification of fecal excretion of neutral and acidic sterols for outpatient studies in humans. *J Lipid Res.* 1991;32:1861-1867.
10. von Bergmann K, Prange W, Lütjohann D. Metabolism and mechanism of action of plant sterols. *Eur Heart J Suppl.* 1999; 1(suppl N):S45-S49.
11. Jones PJ, Raeini-Sarjaz M, Ntanos FY, Vanstone CA, Feng JY, Parsons WE. Modulation of plasma lipid levels and cholesterol kinetics by phytosterol versus phytostanol esters. *J Lipid Res.* 2000;41:697-705.
12. Normen L, Dutta P, Lia A, Andersson H. Soy sterol esters and beta-sitostanol ester as inhibitors of cholesterol absorption in human small bowel. *Am J Clin Nutr.* 2000;71:908-913.
13. Miettinen TA, Vuoristo M, Nissinen M, Jarvinen HJ, Gylling H. Serum, biliary, and fecal cholesterol and plant sterols in colectomized patients before and during consumption of stanol ester margarine. *Am J Clin Nutr.* 2000;71:1095-1102.
14. Lee MH, Lu K, Hazard S, ve diğerleri Identification of a gene, ABCG5, important in the regulation of dietary cholesterol absorption. *Nat Genet.* 2001;27:79-83.
15. Berge KE, Tian H, Graf GA, ve diğerleri Accumulation of dietary cholesterol in sitosterolemia caused by mutations in adjacent ABC transporters. *Science.* 2000;290:1771-1775.
16. Hendriks HF, Weststrate JA, van Vliet T, Meijer GW. Spreads enriched with three different levels of vegetable oil sterols and the degree of cholesterol lowering in normocholesterolaemic and mildly hypercholesterolaemic subjects. *Eur J Clin Nutr.* 1999;53: 319-327.
17. Vanhanen HT, Kajander J, Lehtovirta H, Miettinen TA. Serum levels, absorption efficiency, faecal elimination and synthesis of cholesterol during increasing doses of dietary sitostanol esters in hypercholesterolaemic subjects. *Clin Sci (Lond).* 1994;87:61-67.
18. Hallikainen MA, Sarkkinen ES, Uusitupa MI. Plant stanol esters affect serum cholesterol concentrations of hypercholesterolemic men and women in a dose-dependent manner. *J Nutr.* 2000;130: 767-776.
19. Morton GM, Lee SM, Buss DH, Lawrence P. Intakes and major dietary sources of cholesterol and phytosterols in the British diet. *J Hum Nutr Diet.* 1995;8:429-440.
20. Miettinen TA, Tilvis RS, Kesaniemi YA. Serum plant sterols and cholesterol precursors reflect cholesterol absorption and synthesis in volunteers of a randomly selected male population. *Am J Epidemiol.* 1990;131:20-31.
21. Normen AL, Brants HA, Voorrips LE, Andersson HA, van den Brandt PA, Goldbohm RA. Plant sterol intakes and colorectal cancer risk in the Netherlands Cohort Study on diet and cancer. *Am J Clin Nutr.* 2001;74:141-148.
22. Vuoristo M, Miettinen TA. Absorption, metabolism, and serum concentrations of cholesterol in vegetarians: effects of cholesterol feeding. *Am J Clin Nutr.* 1994;59:1325-1331.
23. Pollak OJ, Kritchevsky D. *Sitosterol.* Basel, Switzerland: S Karger; 1981. Monographs on Atherosclerosis, vol 10.
24. Cater NB, Grundy SM. Lowering serum cholesterol with plant sterols and stanols: historical perspectives. In: Nguyen TT, ed. *New Developments in the Dietary Management of High Cholesterol.* Minneapolis, Minn: McGraw-Hill; 1998:6-14. Postgraduate Medicine Special Report.
25. Grundy SM, Ahrens EH Jr, Davignon J. The interaction of cholesterol absorption and cholesterol synthesis in man. *J Lipid Res.* 1969;10:304-315.
26. Grundy SM, Mok HY. Determination of cholesterol absorption in man by intestinal perfusion. *J Lipid Res.* 1977;18:263-271.
27. Mattson FH, Volpenhein RA, Erickson BA. Effect of plant sterol esters on the absorption of dietary cholesterol. *J Nutr.* 1977;107: 1139-1146.
28. Jones PJ, Ntanos FY, Raeini-Sarjaz M, Vanstone CA. Cholesterol-lowering efficacy of a sitostanol-containing phytosterol mixture with a prudent diet in hyperlipidemic men. *Am J Clin Nutr.* 1999;69:1144-1150.
29. Williams CL, Bollella MC, Strobino BA, Boccia L, Campanaro L. Plant stanol ester and bran fiber in childhood: effects of lipids, stool weight and stool frequency in preschool children. *J Am Coll Nutr.* 1999;18:572-581.
30. Tammi A, Ronnema T, Gylling H, ve diğerleri Plant stanol ester margarine lowers serum total and low-density lipoprotein cholesterol concentrations of healthy children: the STRIP Project. *J Pediatr.* 2000;136:503-510.
31. Matvienko OA, Lewis DS, Swanson M, ve diğerleri A single daily dose of soybean phytosterols in ground beef decreases serum total cholesterol and LDL cholesterol in young, mildly hypercholesterolemic men. *Am J Clin Nutr.* 2002;76:57-64.
32. Plat J, van Onselen EN, van Heugten MM, Mensink RP. Effects on serum lipids, lipoproteins and fat soluble antioxidant concentrations of consumption frequency of margarines and shortenings enriched with plant stanol esters. *Eur J Clin Nutr.* 2000;54:671-677.
33. Plat J, Mensink RP. Vegetable oil based versus wood based stanol ester mixtures: effects on serum lipids and hemostatic factors in non-hypercholesterolemic subjects. *Atherosclerosis.* 2000;148: 101-112.
34. Jones PJ, Howell T, MacDougall DE, Feng JY, Parsons W. Shortterm administration of tall oil phytosterols improves plasma lipid profiles in subjects with different cholesterol levels. *Metabolism.* 1998;47:751-756.
35. Mensink RP, Ebbing S, Lindhout M, Plat J, van Heugten MM. Effects of plant stanol esters supplied in a low-fat yoghurt on serum lipids and lipoproteins, non-cholesterol sterols and fat soluble antioxidant concentrations. *Atherosclerosis.* 2002;160: 205-213.
36. Niinikoski H, Viikari J, Palmu T. Cholesterol-lowering effect and sensory properties of sitostanol ester margarine in normocholesterolemic adults. *Scand J Nutr.* 1997;41:9-12.
37. Mussner MJ, Parhofer KG, von Bergmann K, Schwandt P, Broedl U, Otto C. Effects of phytosterol ester-enriched margarine on plasma lipoproteins in mild to moderate hypercholesterolemia are related to basal cholesterol and fat intake. *Metabolism.* 2002;51: 189-194.
38. Hallikainen MA, Uusitupa MI. Effects of 2 low-fat stanol estercontaining margarines on serum cholesterol concentrations as part of a low-fat diet in hypercholesterolemic subjects. *Am J Clin Nutr.* 1999;69:403-410.
39. Sierksma A, Weststrate JA, Meijer GW. Spreads enriched with plant sterols, either esterified 4,4-dimethylsterols or free 4desmethylsterols, and plasma totaland LDL-cholesterol concentrations. *Br J Nutr.* 1999;82:273-282.
40. Weststrate JA, Meijer GW. Plant sterol-enriched margarines and reduction of plasma totaland LDL-cholesterol concentrations in normocholesterolaemic and mildly hypercholesterolaemic subjects. *Eur J Clin Nutr.* 1998;52:334-343.
41. Miettinen TA, Vanhanen H. Dietary sitostanol related to absorption, synthesis and serum level of cholesterol in different apolipoprotein E phenotypes. *Atherosclerosis.* 1994;105:217-226.
42. Davidson MH, Maki KC, Umporowics DM, ve diğerleri Safety and tolerability of esterified phytosterols administered in reduced-fat spread and salad dressing to healthy adult men and women. *J Am Coll Nutr.* 2001;20:307-319.
43. Vanhanen HT, Blomqvist S, Ehnholm C, ve diğerleri Serum cholesterol, cholesterol precursors, and plant sterols in hypercholesterolemic subjects with different apoE phenotypes during dietary sitostanol ester treatment. *J Lipid Res.* 1993;34:1535-1544.



44. Homma Y, Ishikawa T, Tateno M, Mitaniyama A, Sugano M. Cholesterol and apolipoprotein-lowering effect of plant stanol ester in healthy Japanese men and women. *J Jpn Soc Nutr Food Sci.* 2000;53:155-162.
45. Vanstone CA, Raeini-Sarjaz M, Parsons WE, Jones PJ. Unesterified plant sterols and stanols lower LDL-cholesterol concentrations equivalently in hypercholesterolemic persons. *Am J Clin Nutr.* 2002;76:1272-1278.
46. Hallikainen MA, Sarkkinen ES, Gylling H, Erkkila AT, Uusitupa MI. Comparison of the effects of plant sterol ester and plant stanol ester-enriched margarines in lowering serum cholesterol concentrations in hypercholesterolaemic subjects on a low-fat diet. *Eur J Clin Nutr.* 2000;54:715-725.
47. Miettinen TA, Puska P, Gylling H, Vanhanen HT, Vartiainen E. Reduction of serum cholesterol with sitostanol-ester margarine in a mildly hypercholesterolemic population. *N Engl J Med.* 1995; 333:1308-1312.
48. Gylling H, Puska P, Vartiainen E, Miettinen TA. Retinol, vitamin D, carotenes and alpha-tocopherol in serum of a moderately hypercholesterolemic population consuming sitostanol ester margarine. *Atherosclerosis.* 1999;145:279-285.
49. Gylling H, Radhakrishnan R, Miettinen TA. Reduction of serum cholesterol in postmenopausal women with previous myocardial infarction and cholesterol malabsorption induced by dietary sitostanol ester margarine: women and dietary sitostanol. *Circulation.* 1997;96:4226-4231.
50. Christiansen LI, Lähteenmäki PL, Mannelin MR, Seppänen-Laakso TE, Hiltunen RV, Yliruusi JK. Cholesterol-lowering effect of spreads enriched with microcrystalline plant sterols in hypercholesterolemic subjects. *Eur J Nutr.* 2001;40:66-73.
51. Volpe R, Niittynen L, Korpela R, ve diğerleri Effects of yoghurt enriched with plant sterols on serum lipids in patients with moderate hypercholesterolaemia. *Br J Nutr.* 2001;86:233-239.
52. Raeini-Sarjaz M, Ntanos FY, Vanstone CA, Jones PJ. No changes in serum fat-soluble vitamin and carotenoid concentrations with the intake of plant sterol/stanol esters in the context of a controlled diet. *Metabolism.* 2002;51:652-656.
53. Neil HA, Meijer GW, Roe LS. Randomised controlled trial of use by hypercholesterolaemic patients of a vegetable oil sterolenriched fat spread. *Atherosclerosis.* 2001;156:329-337.
54. Gylling H, Miettinen TA. Cholesterol reduction by different plant stanol mixtures and with variable fat intake. *Metabolism.* 1999; 48:575-580.
55. Nguyen TT, Dale LC, von Bergmann K, Croghan IT. Cholesterol-lowering effect of stanol ester in a US population of mildly hypercholesterolemic men and women: a randomized controlled trial. *Mayo Clin Proc.* 1999;74:1198-1206.
56. Andersson A, Karlström B, Mohsen R, Vessby B. Cholesterol-lowering effects of a stanol ester-containing low-fat margarine used in conjunction with a strict lipid-lowering diet. *Eur Heart J Suppl.* 1999;1(suppl N):S80-S90.
57. Blair SN, Capuzzi DM, Gottlieb SO, Nguyen T, Morgan JM, Cater NB. Incremental reduction of serum total cholesterol and low-density lipoprotein cholesterol with the addition of plant stanol ester-containing spread to statin therapy. *Am J Cardiol.* 2000;86:46-52.
58. Tikkanen MJ, Högström P, Tuomilehto J, Keinänen-Kiukaanniemi S, Sundvall J, Karppanen H. Effect of a diet based on low-fat foods enriched with nonesterified plant sterols and essential nutrients on serum cholesterol. *Am J Cardiol.* 2001;88:1571-1576.
59. Sacks FN, Clifton P, Ntanos F, Shrapnel W, Record I, McInerney J. An increase in dietary carotenoids when consuming plant sterols or stanols is effective in maintaining cholesterol concentrations. *Am J Clin Nutr.* 2002;75:79-84.
60. Gylling H, Miettinen TA. Serum cholesterol and cholesterol and lipoprotein metabolism in hypercholesterolaemic NIDDM patients before and during sitostanol ester-margarine treatment. *Diabetologia.* 1994;37:773-780.
61. Nigon F, Serfaty-Lacroisnière C, Beucler I, ve diğerleri Plant sterolenriched margarine lowers plasma LDL in hyperlipidemic subjects with low cholesterol intake: effect of fibrate treatment. *Clin Chem Lab Med.* 2001;39:634-640.
62. Maki KC, Davidson MH, Umporowicz DM, ve diğerleri Lipid responses to plant-sterol-enriched reduced-fat spreads incorporated into a National Cholesterol Education Program Step I diet. *Am J Clin Nutr.* 2001;74:33-43.
63. Nestel P, Cehun M, Pomeroy S, Abbey M, Weldon G. Cholesterol-lowering effects of plant sterol esters and non-esterified stanols in margarine, butter and low-fat foods. *Eur J Clin Nutr.* 2001;55:1084-1090.
64. Law M. Plant sterol and stanol margarines and health. *BMJ.* 2000; 320:861-864.
65. Gylling H, Miettinen TA. Effects of inhibiting cholesterol absorption and synthesis on cholesterol and lipoprotein metabolism in hypercholesterolemic non-insulin-dependent diabetic men. *J Lipid Res.* 1996;37:1776-1785.
66. Blomqvist SM, Jauhainen M, Van Tol A, Hyvönen M, Torstila I, Vanhanen HT. Effect of sitostanol ester on composition and size distribution of LDL and HDL. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 1993;3:158-164.
67. Hendriks HF, Brink EJ, Meijer GW, Princen HM, Ntanos FY. Safety of long-term consumption of plant sterol esters-enriched spread. *Eur J Clin Nutr.* 2003;57:681-692.
68. Denke MA. Lack of efficacy of low-dose sitostanol therapy as an adjunct to a cholesterol-lowering diet in men with moderate hypercholesterolemia. *Am J Clin Nutr.* 1995;61:392-396.
69. Ostlund RE Jr, Spilburg CA, Stenson WF. Sitostanol administered in lecithin micelles potently reduces cholesterol absorption in human subjects. *Am J Clin Nutr.* 1999;70:826-831.
70. Meguro S, Higashi K, Hase T, ve diğerleri Solubilization of phytosterols in diacylglycerol versus triacylglycerol improves the serum cholesterol-lowering effect. *Eur J Clin Nutr.* 2001;55:513-517.
71. Becker M, Staab D, Von Bergmann K. Treatment of severe familial hypercholesterolemia in childhood with sitosterol and sitostanol. *J Pediatr.* 1993;122:292-296.
72. Geelen A, Zock PL, de Vries JH, Katan MB. Apolipoprotein E polymorphism and serum lipid response to plant sterols in humans. *Eur J Clin Invest.* 2002;32:738-742.
73. Jenkins DJ, Kendall CW, Popovich DG, ve diğerleri Effect of a veryhigh-fiber vegetable, fruit, and nut diet on serum lipids and colonic function. *Metabolism.* 2001;50:494-503.
74. Vuorio AF, Gylling H, Turtola H, Kontula K, Ketonen P, Miettinen TA. Stanol ester margarine alone and with simvastatin lowers serum cholesterol in families with familial hypercholesterolemia caused by the FH-North Karelia mutation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20:500-506.
75. Bradford RH, Shear CL, Chremos AN, ve diğerleri Expanded Clinical Evaluation of Lovastatin (EXCEL) study results, I: efficacy in modifying plasma lipoproteins and adverse event profile in 8245 patients with moderate hypercholesterolemia. *Arch Intern Med.* 1991;151:43-49.
76. Jones P, Kafonek S, Laurora I, Hunninghake D. Comparative dose efficacy study of atorvastatin versus simvastatin, pravastatin, lovastatin, and fluvastatin in patients with hypercholesterolemia (the CURVES study) [published correction appears in *Am J Cardiol.* 1998;82:128]. *Am J Cardiol.* 1998;81:582-587.
77. Gylling H, Miettinen TA. The effect of cholesterol absorption inhibition on low density lipoprotein cholesterol level. *Atherosclerosis.* 1995;117:305-308.
78. Gylling H, Miettinen TA. LDL cholesterol lowering by bile acid malabsorption during inhibited synthesis and absorption of cholesterol in hypercholesterolemic coronary subjects. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2002;12:19-23.



79. Moghadasian MH, McManus BM, Pritchard PH, Frohlich JJ. "Tall oil"-derived phytosterols reduce atherosclerosis in ApoE-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17:119-126.
80. Ntanios FY, Jones PJ, Frohlich JJ. Dietary sitostanol reduces plaque formation but not lecithin cholesterol acyl transferase activity in rabbits. *Atherosclerosis.* 1998;138:101-110.
81. Volger OL, Mensink RP, Plat J, Hornstra G, Havekes LM, Princen HM. Dietary vegetable oil and wood derived plant stanol esters reduce atherosclerotic lesion size and severity in apoE\*3-Leiden transgenic mice. *Atherosclerosis.* 2001;157:375-381.
82. Moghadasian MH, McManus BM, Godin DV, Rodrigues B, Frohlich JJ. Proatherogenic and antiatherogenic effects of probucol and phytosterols in apolipoprotein E-deficient mice: possible mechanisms of action. *Circulation.* 1999;99:1733-1739.
83. Moghadasian MH, Godin DV, McManus BM, Frohlich JJ. Lack of regression of atherosclerotic lesions in phytosterol-treated apo E-deficient mice. *Life Sci.* 1999;64:1029-1036.
84. Shepherd J, Cobbe SM, Ford I, et al, West of Scotland Coronary Prevention Study Group. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. *N Engl J Med.* 1995;333:1301-1307.
85. Downs JR, Clearfield M, Weis S, ve diğerleri Primary prevention of acute coronary events with lovastatin in men and women with average cholesterol levels: results of AFCAPS/TexCAPS: Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study. *JAMA.* 1998;279:1615-1622.
86. Law MR, Wald NJ, Thompson SG. By how much and how quickly does reduction in serum cholesterol concentration lower risk of ischaemic heart disease? *BMJ.* 1994;308:367-372.
87. Mensink RP, Katan MB. Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins: a meta-analysis of 27 trials. *Arterioscler Thromb.* 1992;12:911-919.
88. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP). *JAMA.* 2001;285:2486-2497.
89. Sanders DJ, Minter HJ, Howes D, Hepburn PA. The safety evaluation of phytosterol esters, part 6: the comparative absorption and tissue distribution of phytosterols in the rat. *Food Chem Toxicol.* 2000;38:485-491.
90. Aringer L, Eneroth P, Nordstrom L. Side-chain cleavage of 4-cholesten-3-one, 5-cholesten-3 alpha-ol, beta-sitosterol, and related sterols in endocrine tissues from rat and man. *J Steroid Biochem.* 1979;11:1271-1285.
91. Hepburn PA, Horner SA, Smith M. Safety evaluation of phytosterol esters, part 2: subchronic 90-day oral toxicity study on phytosterol esters—a novel functional food. *Food Chem Toxicol.* 1999;37:521-532.
92. Turnbull D, Whittaker MH, Frankos VH, Jonker D. 13-Week oral toxicity study with stanol esters in rats. *Regul Toxicol Pharmacol.* 1999;29(2, pt 1):216-226.
93. Waalkens-Berendsen DH, Wolterbeek AP, Wijnands MV, Richold M, Hepburn PA. Safety evaluation of phytosterol esters, part 3: two-generation reproduction study in rats with phytosterol esters—a novel functional food. *Food Chem Toxicol.* 1999;37:683-696.
94. Whittaker MH, Frankos VH, Wolterbeek AP, Waalkens-Berendsen DH. Two-generation reproductive toxicity study of plant stanol esters in rats. *Regul Toxicol Pharmacol.* 1999;29(2, pt 1):196-204.
95. Slesinski J, S. Turnbull D, Frankos VH, Wolterbeek AP, Waalkens-Berendsen DH. Developmental toxicity study of vegetable oil-derived stanol fatty acid esters. *Regul Toxicol Pharmacol.* 1999;29(2, pt 1):227-233.
96. Vanithakumari G. Effect of beta-sitosterol on uterine biochemistry: a comparative study with estradiol and progesterone. *Biochem Mol Biol Int.* 1993;31:659-668.
97. Mellanen P, Petanen T, Lehtimäki J, ve diğerleri Wood-derived estrogens: studies in vitro with breast cancer cell lines and in vivo in trout. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1996;136:381-388.
98. MacLachy DL, Van Der Kraak GJ. The phytoestrogen betasitosterol alters the reproductive endocrine status of goldfish. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1995;134:305-312.
99. Baker VA, Hepburn PA, Kennedy SJ, ve diğerleri Safety evaluation of phytosterol esters, part 1: assessment of oestrogenicity using a combination of in vivo and in vitro assays. *Food Chem Toxicol.* 1999;37:13-22.
100. Turnbull D, Frankos VH, Leeman WR, Jonker D. Short-term tests of estrogenic potential of plant stanols and plant stanol esters. *Regul Toxicol Pharmacol.* 1999;29(2, pt 1):211-215.
101. Hepburn PA, Lea L, Wolfreys A. The assessment of phytosterols and phytosterol-esters for potential mutagenic activity. *Toxicologist.* 2001;60:412.
102. Wolfreys AM, Hepburn PA. Safety evaluation of phytosterol esters, part 7: assessment of mutagenic activity of phytosterols, phytosterol esters and the cholesterol derivative, 4-cholesten-3-one. *Food Chem Toxicol.* 2002;40:461-470.
103. Weststrate JA, Ayesh R, Bauer-Plank C, Drewitt PN. Safety evaluation of phytosterol esters, part 4: faecal concentrations of bile acids and neutral sterols in healthy normolipidaemic volunteers consuming a controlled diet either with or without a phytosterol ester-enriched margarine. *Food Chem Toxicol.* 1999;37:1063-1071.
104. Suzuki K, Bruce WR, Baptista J, Furrer R, Vaughan DJ, Krepsinsky JJ. Characterization of cytotoxic sterols in human faeces and their putative role in the etiology of human colonic cancer. *Cancer Lett.* 1986;33:307-316.
105. Kaul HK, Couch DB, Gingerich JD, Bruce WR, Heddl JA. Genotoxicity of two fecal sterols in murine colonic epithelium assessed by the sister chromatid exchange technique. *Mutagenesis.* 1987;2:441-444.
106. Wolfreys A, Lea L, Hepburn PA. The assessment of the cholesterol breakdown product 4-cholesten-3-one for potential mutagenic activity. *Toxicologist.* 2001;60:412.
107. Gylling H, Puska P, Vartiainen E, Miettinen TA. Serum sterols during stanol ester feeding in a mildly hypercholesterolemic population. *J Lipid Res.* 1999;40:593-600.
108. Björkhem I, Boberg KM. Inborn errors in bile acid biosynthesis and storage of sterols other than cholesterol. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease* [book on CD-ROM]. Vol 2. 7th ed. New York, NY: McGraw-Hill; 1995:2073-2099.
109. Lu K, Lee MH, Hazard S, ve diğerleri Two genes that map to the STSL locus cause sitosterolemia: genomic structure and spectrum of mutations involving sterolin-1 and sterolin-2, encoded by ABCG5 and ABCG8, respectively. *Am J Hum Genet.* 2001;69:278-290.
110. Lütjohann D, Björkhem I, Ose L. Phytosterolaemia in a Norwegian family: diagnosis and characterization of the first Scandinavian case. *Scand J Clin Lab Invest.* 1996;56:229-240.
111. Lütjohann D, von Bergmann K. Phytosterolaemia: diagnosis, characterization and therapeutic approaches. *Ann Med.* 1997;29:181-184.
112. Stalenhof AF, Hectors M, Demacker PN. Effect of plant sterolenriched margarine on plasma lipids and sterols in subjects heterozygous for phytosterolaemia. *J Intern Med.* 2001;249:163166.
113. Berge KE, von Bergmann K, Lütjohann D, ve diğerleri Heritability of plasma noncholesterol sterols and relationship to DNA sequence polymorphism in ABCG5 and ABCG8. *J Lipid Res.* 2002;43:486494.
114. Glueck CJ, Speirs J, Tracy T, Streicher P, Illig E, Vandegrift J. Relationships of serum plant sterols (phytosterols) and cholesterol in 595 hypercholesterolemic subjects, and familial aggregation of



- phytosterols, cholesterol, and premature coronary heart disease in hyperphytosterolemic probands and their first-degree relatives. *Metabolism*. 1991;40:842-848.
115. Sudhop T, Gottwald BM, von Bergmann K. Serum plant sterols as a potential risk factor for coronary heart disease. *Metabolism*. 2002;51:1519-1521.
116. Plat J, Mensink RP. Effects of diets enriched with two different plant stanol ester mixtures on plasma ubiquinol-10 and fat-soluble antioxidant concentrations. *Metabolism*. 2001;50:520-529.
117. Nguyen TT, Dale LC. Plant stanol esters and vitamin K [letter]. *Mayo Clin Proc*. 1999;74:642-643.
118. Kritchevsky SB. Beta-carotene, carotenoids and the prevention of coronary heart disease. *J Nutr*. 1999;129:5-8.
119. Expert Panel of the Diet and Cancer Project. *Food, Nutrition and the Prevention of Cancer: A Global Perspective*. Washington, DC: American Institute for Cancer Research; 1997:412413.
120. Institute of Medicine, Food and Nutrition Board. *Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids*. Washington, DC: National Academy Press; 2000:342350.
121. Riedl J, Linseisen J, Hoffmann J, Wolfram G. Some dietary fibers reduce the absorption of carotenoids in women. *J Nutr*. 1999;129: 2170-2176.
122. Schlagheck TG, Riccardi KA, Zorich NL, Torri SA, Dugan LD, Peters JC. Olestra dose response on fat-soluble and watersoluble nutrients in humans. *J Nutr*. 1997;127(8, suppl):1646S1665S.
123. Elinder LS, Hadell K, Johansson J, ve diğerleri Probiocul treatment decreases serum concentrations of diet-derived antioxidants. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1995;15:1057-1063.
124. Alpha-Tocopherol, Beta Carotene Cancer Prevention Study Group. The effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. *N Engl J Med*. 1994;330:1029-1035.
125. Greenberg ER, Baron JA, Karagas MR, ve diğerleri Mortality associated with low plasma concentration of beta carotene and the effect of oral supplementation. *JAMA*. 1996;275:699-703.
126. Omenn GS, Goodman GE, Thornquist MD, ve diğerleri Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. *N Engl J Med*. 1996;334:1150-1155.
127. Hennekens CH, Buring JE, Manson JE, ve diğerleri Lack of effect of long-term supplementation with beta carotene on the incidence of malignant neoplasms and cardiovascular disease. *N Engl J Med*. 1996;334:1145-1149.
128. Lee IM, Cook NR, Manson JE, Buring JE, Hennekens CH. Beta-carotene supplementation and incidence of cancer and cardiovascular disease: the Women's Health Study. *J Natl Cancer Inst*. 1999;91:2102-2106.
129. Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial results, I: reduction in incidence of coronary heart disease. *JAMA*. 1984;251:351-364.
130. Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial results, II: the relationship of reduction in incidence of coronary heart disease to cholesterol lowering. *JAMA*. 1984;251:365-374.
131. Lipid Research Clinics Investigators. The Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial: results of 6 years of post-trial follow-up. *Arch Intern Med*. 1992;152:1399-1410.
132. Drasar BS, Hill MJ. Intestinal bacteria and cancer. *Am J Clin Nutr*. 1972;25:1399-1404.
133. Wilt TJ, MacDonald R, Ishani A. Beta-sitosterol for the treatment of benign prostatic hyperplasia: a systematic review. *BJU Int*. 1999;83:976-983.
134. Awad AB, Fink CS. Phytosterols as anticancer dietary components: evidence and mechanism of action. *J Nutr*. 2000;130:21272130.
135. Anttolainen M, Luoto R, Uutela A, ve diğerleri Characteristics of users and nonusers of plant stanol ester margarine in Finland: an approach to study functional foods. *J Am Diet Assoc*. 2001;10113651368.
136. LaRosa JC, He J, Vupputuri S. Effect of statins on risk of coronary disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *JAMA*. 1999;282:2340-2346.
137. Women's Health Initiative Study Group. Design of the Women's Health Initiative clinical trial and observational study. *Control Clin Trials*. 1998;19:61-109.

**İngilizceden Türkçeye yapılmış olan bu çevirinin tarafımdan aslına uygun olarak yapıldığını onaylıyorum.**  
**Yeminli Tercüman Deniz Esen**





## Efficacy and Safety of Plant Stanols and Sterols in the Management of Blood Cholesterol Levels

MARTIJN B. KATAN, PhD; SCOTT M. GRUNDY, MD, PhD; PETER JONES, PhD; MALCOLM LAW, FRCP; TATU MIETTINEN, MD, PhD; AND RODOLFO PAOLETTI, MD, PhD, FOR THE STRESA WORKSHOP PARTICIPANTS

Foods with plant stanol or sterol esters lower serum cholesterol levels. We summarize the deliberations of 32 experts on the efficacy and safety of sterols and stanols. A meta-analysis of 41 trials showed that intake of 2 g/d of stanols or sterols reduced low-density lipoprotein (LDL) by 10%; higher intakes added little. Efficacy is similar for sterols and stanols, but the food form may substantially affect LDL reduction. Effects are additive with diet or drug interventions: eating foods low in saturated fat and cholesterol and high in stanols or sterols can reduce LDL by 20%; adding sterols or stanols to statin medication is more effective than doubling the statin dose. A meta-analysis of 10 to 15 trials per vitamin showed that plasma levels of vitamins A and D are not affected by stanols or sterols. Alpha carotene, lycopene, and vitamin E levels remained stable relative to their carrier molecule, LDL. Beta carotene levels declined, but adverse health outcomes were not expected. Sterol-enriched foods increased plasma sterol levels, and workshop participants discussed whether this would increase risk, in view of the marked increase of atherosclerosis in patients with homozygous phytosterolemia. This risk is believed to be largely hypothetical, and

any increase due to the small increase in plasma plant sterols may be more than offset by the decrease in plasma LDL. There are insufficient data to suggest that plant stanols or sterols either prevent or promote colon carcinogenesis. Safety of sterols and stanols is being monitored by follow-up of samples from the general population; however, the power of such studies to pick up infrequent increases in common diseases, if any exist, is limited. A trial with clinical outcomes probably would not answer remaining questions about infrequent adverse effects. Trials with surrogate end points such as intima-media thickness might corroborate the expected efficacy in reducing atherosclerosis. However, present evidence is sufficient to promote use of sterols and stanols for lowering LDL cholesterol levels in persons at increased risk for coronary heart disease.

*Mayo Clin Proc.* 2003;78:965-978

ABC = ATP (adenosine triphosphate)-binding cassette; ABCG5 = ABC subfamily G, member 5; CHD = coronary heart disease; LDL = low-density lipoprotein; NCEP = National Cholesterol Education Program

From the Division of Human Nutrition and Epidemiology, Wageningen University, Wageningen, the Netherlands (M.B.K.); University of Texas, Southwestern Medical Center, Center for Human Nutrition, Dallas (S.M.G.); School of Dietetics and Human Nutrition, McGill University, Montreal, Quebec (P.J.); Wolfson Institute of Preventive Medicine, St Bartholomew's and the Royal London School of Medicine and Dentistry, London, England (M.L.); Department of Internal Medicine, Helsinki University Central Hospital, Helsinki, Finland (T.M.); and Department of Pharmacological Sciences and Nutrition Foundation of Italy, Milano (R.P.). A complete list of participants in the Stresa Workshop on Sterols and Stanols appears at the end of this article.

Organization of the Stresa Workshop was made possible through unrestricted grants from McNeil Consumer Healthcare, Fort Washington, Pa; Unilever N.V., Rotterdam, the Netherlands; and Forbès Medi-Tech Inc, Functional Foods and Nutraceuticals, Vancouver, British Columbia. Dr Katan has received a grant from Unilever Research Laboratory to study the effects of sterols on lipoproteins. Dr Grundy has received grants from the McNeil Corporation for research in stanols. Dr Miettinen has contributed to a patent on preparation of plant stanol ester margarine (US patent 1996) and holds shares in the Raisio Group. Dr Jones holds one patent: US 5770, 75 (June 23, 1998).

Address reprint requests and correspondence to Martijn B. Katan, PhD, Division of Human Nutrition and Epidemiology, Wageningen University, Bomenweg 2, 6703 HD Wageningen, the Netherlands (e-mail: wcf1@wur.nl).

*Mayo Clin Proc.* 2003;78:965-978

965

© 2003 Mayo Foundation for Medical Education and Research

Dietary therapy is the cornerstone of strategies to lower serum low-density lipoprotein (LDL) cholesterol levels and reduce the risk for coronary heart disease (CHD). Incorporating foods fortified with plant sterol and stanol esters into the daily diet can substantially enhance the cholesterol-lowering effect of diet, including in patients who are already taking statin drugs. Thus, the recent introduction of stanol- and sterol-enriched foods in many parts of the world<sup>1-3</sup> is an important development because CHD is the leading cause of morbidity and mortality worldwide. We summarize the deliberations of 32 experts on lipids, nutrition, and heart disease who met in Stresa, Italy, on March 7-9, 2001, under the auspices of the Nutrition Foundation of Italy to discuss the efficacy, safety, and future research required on plant sterols and stanols. (Note that throughout this article, quantities of sterol and stanol esters are expressed as the equivalent weights of free [ie, unesterified] sterols and stanols.)

### BACKGROUND

Sterols have cellular functions in plants analogous to those of cholesterol in animals<sup>4</sup> (the structures of 2 major plant

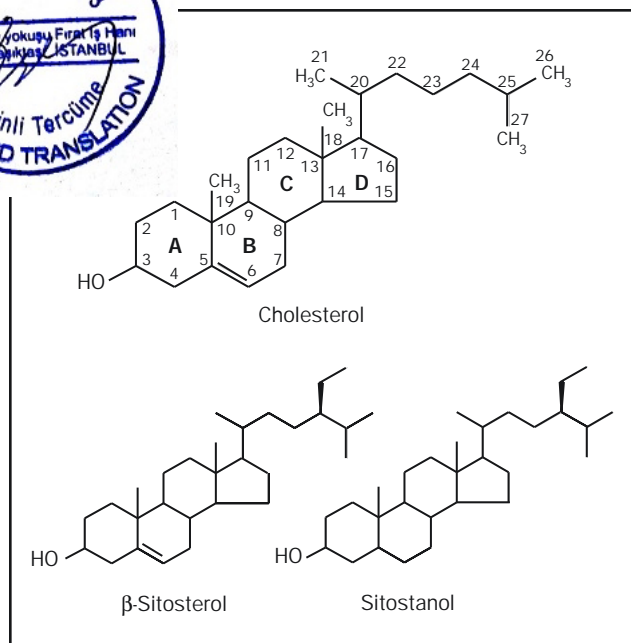


Figure 1. Structures of sterols. Cholesterol is the sterol of mammalian cells.  $\beta$ -Sitosterol is the most common sterol in plants; it differs from cholesterol by having an ethyl group attached at C-24. Hydrogenation of the 5,6 double bond of  $\beta$ -sitosterol converts it into sitostanol.<sup>5</sup> Campesterol and campestanol carry a methyl instead of ethyl group at C-24.

sterols and cholesterol are compared in Figure 1<sup>5</sup>). More than 40 plant sterols (or phytosterols) have been identified, but sitosterol, campesterol, and stigmasterol are the most abundant. Stanols are saturated sterols (they have no double bonds in the sterol ring structure). The major plant stanols are sitostanol and campestanol; they are much less abundant in nature than sterols. Whereas about 50% of cholesterol is absorbed in the intestinal tract, plant stanols and sterols are absorbed much less: absorption is about 10% to 15% for campesterol and campestanol, 4% to 7% for sitosterol,<sup>6-8</sup> and 1% for sitostanol.<sup>9</sup> Foods enriched with plant stanol or sterol esters lower serum cholesterol levels by reducing intestinal absorption of cholesterol.<sup>1,10-12</sup> Stanol (and presumably sterol) esters are hydrolyzed in the upper small gut.<sup>13</sup> Free stanols and sterols presumably displace cholesterol from mixed micelles and thereby reduce intestinal cholesterol absorption, but the exact mechanism is unknown. The effects of stanols and sterols probably involve the ATP (adenosine triphosphate)-binding cassette (ABC) subfamily G, member 5 (ABCG5) and ABCG8 transporter proteins. These membrane proteins selectively pump phytosterols from the enterocytes into the intestinal lumen, thus keeping their absorption low.<sup>14,15</sup>

The lowest amount of sterols and stanols tested in human trials is about 700 to 1000 mg/d.<sup>16-18</sup> Most recent

studies used amounts of 1500 to 3300 mg/d of plant stanols or sterols in their esterified, fat-soluble forms. These amounts are much higher than the typical daily intake. In Western populations, the intake of sitosterol is about 150 to 350 mg/d and that of stanols is about 15 to 50 mg/d.<sup>19-21</sup> Vegetarians consume about 325 mg/d of sitosterol and about 60 mg/d of campesterol.<sup>22</sup> Thus, the usual daily intake of plant sterols and stanols ranges from 150 to 400 mg/d.

The cholesterol-lowering effect of extremely high intakes of plant sterols (10-20 g/d) was recognized in the 1950s through the 1970s<sup>2,23,24</sup> and reviewed by 2 pioneers in the field.<sup>23</sup> Cholesterol balance studies established that this effect was due to reduced cholesterol absorption.<sup>25</sup> However, widespread use of plant sterols as cholesterol-lowering agents was limited by the bulk and taste of large amounts of these agents and by the introduction of more effective cholesterol-lowering agents. Subsequent studies and demonstration of CHD risk reduction in cholesterol-lowering clinical trials renewed interest in plant sterols. An amount of 3 g/d was as effective as higher amounts in reducing cholesterol absorption if presented in appropriate physical form.<sup>26</sup> Mattson et al<sup>27</sup> suggested the esterification process to make plant sterols soluble in dietary fat. Esterification of sitostanol or sitosterol with fatty acids was found to enhance both their solubility in mayonnaise and margarines and their dispersion in the intestine, thereby promoting their efficacy.

Margarines containing either plant stanol or sterol esters are marketed in many countries. Other formulations, including yogurt, cream cheese spreads, and cereal bars, have been introduced in some countries, and cereals and fruit juice containing free (ie, unesterified) plant sterols and stanols are being test-marketed in the United States.<sup>11,28</sup>

Given the increased marketing of these products, a review of efficacy and safety is timely.

## EFFICACY

### What Is the Effect of Various Sterols and Stanols on Plasma Lipoproteins?

Data from published randomized trials that tested foods containing stanols or sterols are summarized in Table 1<sup>5,11,16-18,28-63</sup>; data from these trials updated a previous meta-analysis.<sup>64</sup> The trials were identified from MEDLINE and from review articles and by questioning the expert participants at our workshop. In total, 41 trials were identified, with 58 treatment arms or periods and 41 placebo arms or periods. The sterols and stanols were esterified except in 2 trials in which they were directly solubilized in fat-containing foods. The stanols and sterols were added to margarine (or to mayonnaise, olive oil, or butter in 7 trials), and





**Table 2. Summary Estimates From Randomized Placebo-Controlled Trials of the Absolute and Percentage Reductions in LDL Cholesterol According to Age\***

Mean age of trial subjects (y)	No. of trial arms	Reductions in LDL cholesterol	
		Absolute (mg/dL) (95% CI)	% (95% CI)
4-6	2	8 (7-9)	8.0 (5.2-10.8)
20-29	2	11 (2-19)	10.0 (7.0-13.0)
30-39	7	12 (10-14)	10.5 (8.3-12.6)
40-49	13	15 (13-17)	10.3 (8.5-12.0)
50-60	26	16 (14-18)	9.6 (8.4-10.7)

\*Data are from 50 trial arms (in adults) that tested daily doses of stanols/sterols of  $\geq 1.5$  g/d. CI = confidence interval; LDL = low-density lipoprotein.

placebo margarines or other foods were used to make the trials double-blind. In each trial, the average placebo-adjusted reduction in LDL cholesterol was calculated. Using STATA statistical software (Stata Corp, College Station, Tex), we determined the average reduction in LDL cholesterol across all the trials and across specified subgroups of trials. A random effects model was used; however, there was no statistically significant heterogeneity between trial results. Therefore, the summary estimates are equivalent to weighting the result of each trial by the inverse of its variance. The subjects in these trials often were selected for having relatively high cholesterol levels, but the effect of such selection proved slight because the average LDL cholesterol levels in the placebo groups were close to the age-specific average values for northern Europe where most of the trials were done (mean LDL values in the placebo groups across all trials were 137 mg/dL or 3.55 mmol/L at ages 45-54 years and 161 mg/dL or 4.17 mmol/L at ages 55-64 years). Trials in children with familial hypercholesterolemia were not included in the analysis and are discussed separately.

The absolute placebo-adjusted reduction in LDL cholesterol produced by sterols and stanols increases with age (Table 2); this may be due to the increase of the baseline values of LDL cholesterol with age. The percentage reduction in LDL cholesterol did not vary significantly with age.

The percentage reduction in LDL cholesterol as a function of dose is shown in Figure 2 and Table 3. The effect appeared to taper off at intakes of about 2 g/d or more, and there is little additional effect at doses higher than 2.5 g/d (Table 3): The maximum effect is an estimated 11.3%. In the trials, testing doses of 0.7 to 1.1 g/d suggested that approximately half the effect may be attained at this dose. In an analysis that excluded 2 trials in children and 8 low-dose ( $\leq 1.1$  g/d) trials in adults, the mean reduction in the LDL cholesterol level was 10.1% (95% confidence interval, 8.9%-11.3%) in 27 trials testing stanols (mean dose,

2.5 g/d) and 9.7% (95% confidence interval, 8.5%-10.8%) in 21 trials testing sterols (mean dose, 2.3 g/d). The difference was not significant although the comparison lacked the statistical power to detect a moderate difference. Therefore, these trials cannot support a claim that either is better than the other. Although increases in high-density lipoprotein levels and reductions in triglyceride levels have been seen sporadically,<sup>54,60</sup> stanols and sterols in general produced little or no change in high-density lipoprotein or very low-density lipoprotein cholesterol, so the absolute reductions in LDL and total cholesterol levels were almost identical. Stanols lower LDL levels by inhibiting LDL apolipoprotein B production.<sup>65</sup> The response curve for apolipoprotein B was similar to that for LDL cholesterol, suggesting that stanols and sterols lower LDL by reducing the number of particles rather than their size or composition.<sup>18,66</sup>

The effect of stanols and sterols on plasma lipoproteins is primarily established within a few weeks, and it remained stable in studies lasting 1 year.<sup>47</sup> In these studies, treatment with 1.8 g/d of stanols lowered LDL cholesterol by 8.5% after 1 year,<sup>47</sup> and treatment with 1.6 g/d of sterols lowered LDL cholesterol by 5.9% after 1 year,<sup>67</sup> both relative to the change in the concurrent placebo group. The issue of whether this shows a difference in long-term efficacy between sterols and stanols was debated extensively by the experts, but firm conclusions are impossible because the data are limited to single studies, the doses were somewhat different, and there are no hard data on compliance. More information on these long-term effects obviously is needed.

### What Is the Effect of Formulation?

The physical form of the sterols and stanols is important. Free (ie, unesterified) sterols and stanols can have the same effect on plasma lipoproteins as stanol and sterol esters<sup>2,28</sup>; however, the matrix and emulsification are important, and negative results are common.<sup>68</sup> Therefore, new food forms should be evaluated for efficacy if they differ greatly from previously tested forms. One study<sup>69</sup> showed that free stanols emulsified with lecithin reduced cholesterol absorption by 37% in single-meal tests. There is also evidence for efficacy of free plant sterols dissolved in diacylglycerol<sup>70</sup> and of plant sterol and stanol esters incorporated into low-fat products such as bread and cereals<sup>63</sup> or low-fat yogurt.

The effects of dimethylsterols from rice bran on lipoproteins are less than those of sterols derived from cholesterol, such as sitosterol (Figure 1).<sup>5</sup>

### What Are the Effects of Intake Frequency?

In most of the trials, the total daily intake of plant stanols and sterols was divided into 2 or 3 portions over the day, but 1 study showed that 2.5 g of plant stanols taken at lunch



produced the same LDL-lowering effects as 2.5 g of plant stanols divided over the 3 meals.<sup>32</sup> Thus, the distribution of intake over the day may not be an important determinant of efficacy, and mechanisms other than replacing cholesterol from mixed micelles for inhibition of cholesterol absorption must be considered because this would presumably require ingestion of stanols and sterols with every meal. More trials to compare the efficacy and effectiveness of different dosing regimens are required. Studies of the effects of sterols and stanols on transporters of cholesterol may also shed light on this issue.<sup>14,15</sup>

**What Are the Responses of Subgroups Including Children, Patients With Diabetes, and People With Defined Genotypes?**

Two studies showed an LDL cholesterol reduction of about 15% in children with familial hypercholesterolemia treated with stanol esters, which compares favorably with the 8% reduction in children with average levels of LDL cholesterol (Table 2). A study with unesterified sitostanol showed an even more pronounced effect.<sup>71</sup> Sterol esters also produced a reduction in LDL cholesterol.<sup>53</sup> Therefore, sterols and stanols appear at least as effective in children with familial hypercholesterolemia as in children not so affected.

Stanol esters lowered LDL cholesterol levels by 9% in diabetic persons, similar to reductions in nondiabetic persons.<sup>60</sup> Absorption of cholesterol may be affected by apolipoprotein E genotype, but in most studies, the apolipoprotein E genotype has little effect on the response of LDL to sterols and stanols.<sup>18,33,46,72</sup> Other polymorphisms have not been studied widely.

**Are the Effects of Stanols and Sterols Additive to Those of Diet?**

The effects of stanols and sterols appear to be independent of the background diet.<sup>62</sup> Thus, addition of 2.3 g/d of stanol esters doubled the effect of a low-fat National Cholesterol Education Program (NCEP) step 1 diet, producing a total decrease in the LDL cholesterol level of 23%.<sup>38</sup> Similar effects were seen with free sterols and stanols.<sup>28</sup> Therefore, a few participants pointed out that sterols and stanols will lower cholesterol levels even in people eating otherwise unhealthy diets. However, diets recommended for the prevention of CHD provide more than just LDL lowering; they provide dietary fiber, essential fatty acids, vitamins, minerals, and beneficial substances from fruits and vegetables.<sup>73</sup> Therefore, most workshop participants believe that sterols and stanols should complement a healthy diet low in saturated fat and cholesterol and high in fruits, vegetables, and whole grains, with unhardened oils as the fat source.

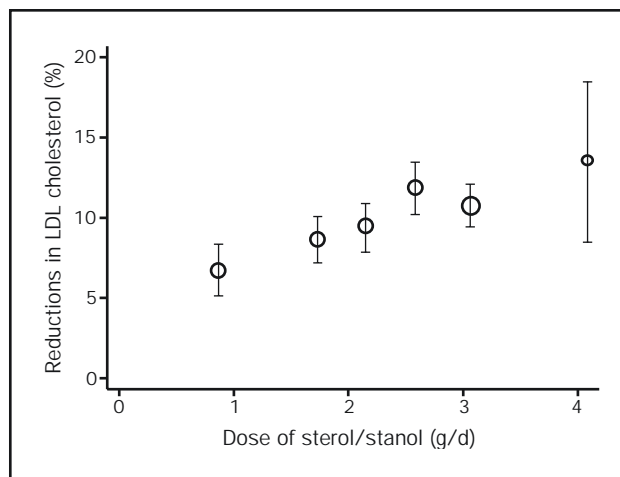


Figure 2. Summary estimates from randomized placebo-controlled trials of the percentage reductions in low-density lipoprotein (LDL) cholesterol with 95% confidence intervals according to dose. The area of each circle is proportional to the total number of persons in the trials in each dose range. The ranges of daily doses shown (number of trial arms in parentheses) are 0.7 to 1.1 g (8), 1.5 to 1.9 g (13), 2.0 to 2.4 g (14), 2.5 to 2.9 g (5), 3.0 to 3.4 g (13), and 4.0 to 4.2 g (2). (Two trials in children were omitted because doses are not equivalent in children and adults.)

**Are the Effects of Sterols and Stanols Additive to Those of Cholesterol-Lowering Drugs?**

In a trial of 167 adults receiving statin therapy, addition of stanol ester margarine lowered LDL cholesterol levels 10% more than addition of placebo.<sup>57</sup> Smaller studies in patients with CHD<sup>49</sup> and in adults with familial hypercholesterolemia treated with simvastatin<sup>74</sup> found additional LDL cholesterol level reductions of 16% and 20%, respectively. In a small study of patients with type 2 diabetes, addition of stanol esters to pravastatin therapy resulted in an LDL cholesterol reduction of 14%.<sup>65</sup> Sterols also reduced LDL levels in patients treated with statins.<sup>53</sup> Adding stanols and sterols appears somewhat more effective than doubling the statin dose, which usually produces an additional lowering of LDL cholesterol levels of only 5% to 7%.<sup>57,75,76</sup> Thus, for patients who are taking statins and need

Table 3. Mean Percentage Reductions in LDL Cholesterol According to Dose\*

Dose of sterol and stanol (g/d)	No. of trial arms	Reduction in LDL cholesterol (%) (95% CI)
0.7-1.1	8	6.7 (4.9-8.6)
1.5-1.9	13	8.5 (7.0-10.1)
2.0-2.4	14	8.9 (7.4-10.5)
≥2.5	21	11.3 (10.2-12.3)

\*Data are from 56 trial arms that tested stanols/sterols (2 trials in children excluded). CI = confidence interval; LDL = low-density lipoprotein.



additional cholesterol lowering, it is more effective to add stanols and sterols to their diets than to increase their statin doses, and this option needs to be considered by physicians treating patients with hypercholesterolemia.

In patients with diabetes in whom cholesterol absorption was inhibited with neomycin, addition of stanol esters lowered LDL levels by 11%.<sup>77</sup> Cholestyramine also seems to produce an additive effect,<sup>78</sup> but more data are needed, as are data on the combined effects of sterols and stanols with niacin and ezetimibe.

#### What Are the Effects on Atherosclerosis in Animals?

Sterols and stanols lowered arterial lipid accumulation in mice, rabbits, and hamsters<sup>79-82</sup> but did not cause regression of established atherosclerosis.<sup>83</sup> In rabbits fed atherogenic diets, plant stanol consumption inhibited development of arterial plaque despite markedly elevated serum cholesterol levels, suggesting a process other than simple lowering of lipid levels.<sup>80</sup>

#### What Is the Potential Impact for CHD Risk Reduction?

Data from drug trials<sup>84,85</sup> indicate that the reduction in LDL cholesterol levels of about 10% could be expected to reduce the incidence of ischemic heart disease by about 12% to 20% over 5 years. An analysis of cohort studies indicates that the longer-term risk reduction would be about 20%.<sup>86</sup> No trials have directly tested the effects of sterols and stanols on CHD incidence; thus, there is a theoretical possibility that the expected beneficial effect on CHD will not be realized fully. However, most workshop participants believe that LDL cholesterol-lowering intervention rarely has failed to reduce the incidence of ischemic heart disease when tested in randomized trials.<sup>86</sup> Other participants would like the reassurance provided by a trial with hard end points.

#### How Should Plant Sterols and Stanols Be Incorporated Into the Clinical and Public Health Approaches to Cholesterol Lowering?

The lowering effect of stanols and sterols on LDL levels of 10% is similar to that of replacing 8% of energy as saturated fat by monounsaturated and polyunsaturated fats.<sup>87</sup> When sterols and stanols are combined with diets low in saturated fat and cholesterol, reductions of 20% or more can be achieved. The potential utility of plant stanols and sterols in clinical therapeutic lifestyle changes to lower LDL cholesterol levels has been recognized recently by the NCEP.<sup>88</sup> The NCEP's Therapeutic Lifestyle Changes diet thus recommends reduced intakes of saturated fat (<7% of total calories) and cholesterol (<200 mg/d) and encourages use of plant stanols/sterols (2 g/d) and

soluble fiber (10-25 g/d) to enhance the LDL cholesterol-lowering effect of diet. Additional LDL lowering can result from weight reduction and increased physical activity, the other components of the Therapeutic Lifestyle Changes.

The optimal dose of stanol/stanol from margarines is consumed with 7 g of fat, of which 2 g is saturated; low-fat food forms also are available. Therefore, use of stanol- and stanol-containing foods is not expected to have adverse effects on weight or other risk factors. On the basis of current average LDL cholesterol levels in the United States and the recommended LDL cholesterol treatment goals, approximately 65 million US adults are candidates for these lifestyle changes. Also, the therapeutic diet should be an integral part of patient management, even when drug therapy is used, because patients treated with cholesterol-lowering drugs obtain additional significant LDL cholesterol reduction when plant stanols/sterols are added to their diets, enabling many of those not at their LDL goals to achieve those goals. Moreover, concomitant use of plant stanols/sterols may allow lower doses of drugs.

Plant stanols/sterols can have a role in the clinical management of high LDL cholesterol levels in children, particularly in those with familial hypercholesterolemia. They can facilitate use of lower doses of drugs or delay initiation of drug therapy. Long-term data on use of plant stanols and sterols in children are lacking, and such data are needed. However, data from studies in adults do not suggest any specific concerns regarding use by children. Specifically, levels of vitamin A (retinol) and D, which are particularly important for children, are not affected by the use of sterols and stanols in adults.

#### SAFETY

The safety of stanols and sterols has been reviewed by several regulatory agencies. The US Food and Drug Administration has accepted that plant stanol/sterol esters are asserted to be Generally Recognized as Safe (GRAS) by manufacturers. The Food and Drug Administration also has authorized a claim that foods containing plant stanol/sterol esters may reduce the risk of CHD (Federal Register of September 8, 2000 [65 FR 54686]). The Scientific Committee on Foods of the European Union concluded that phytosterol ester margarine was safe for human use ([http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out56\\_en.pdf](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out56_en.pdf)). In-use data of stanol and stanol esters are now available for up to 2 years in the United States and Europe and over 5 years in Finland, and no adverse effects have been reported. Thus, the balance of risk and benefit appears to be favorable. However, the lack of long-term (≥5 years) experience leaves a possibility of unforeseen effects.



### What Do Toxicologic Tests in Animals Say About the Safety of Plant Stanols and Sterols?

Studies in rats confirm that stanols and sterols are absorbed poorly.<sup>89</sup> Plant stanols and sterols mainly were detected in the adrenal glands and ovaries. In humans,  $\beta$ -sitosterol can be metabolized to pregnenolone in adrenal glands, testes, and term placentas following the same pathways as cholesterol.<sup>90</sup> Whether plant stanols are metabolized in the same way is unknown.

In 2 studies, high doses of plant sterol esters and stanol esters were fed to rats.<sup>91,92</sup> There were no signs of toxicity or adverse effects except for some reduction of fat-soluble vitamins at the highest dose of 5%, equivalent to 4.1 g of plant stanols per kilogram of body weight per day (about 150 times higher than the recommended dose of 2 g/d in humans). In multigenerational rat studies,<sup>93,94</sup> plant sterol esters produced no effects on reproduction or development at up to 5% wt/wt of feed. For plant stanol esters, the No Observed Adverse Effect Level was the mid dose of 2.5% plant stanol because there were treatment-related effects on body weight of offspring in the high-dose group.

There is no evidence of a teratogenic effect for plant sterols and stanols.<sup>95</sup> Some reports say plant sterols and stanols have estrogenic effects<sup>96-98</sup>; however, plant sterols do not bind to the estrogen receptor,<sup>99</sup> and in various *in vitro* and *in vivo* assays there is no evidence of estrogenic activity for stanols.<sup>100</sup> Plant sterols and stanols are not genotoxic *in vitro* (bacterial mutation assay; metaphase chromosome analysis of human lymphocytes; mammalian cell gene mutation assay; mammalian cell chromosome aberration assay) or in rats *in vivo* (unscheduled DNA synthesis in rat liver; induction of micronuclei in rat bone marrow).<sup>92,101,102</sup>

Increased consumption of plant stanols and sterols elevated the amount of cholesterol in the large intestine. Cholesterol is metabolized by intestinal microflora into 4-cholesten-3-one, and a small increase in the fecal concentration of 4-cholesten-3-one was found after healthy volunteers consumed 8.6 g/d of phytosterols for 4 weeks.<sup>103</sup> 4-Cholesten-3-one has been reported to be mutagenic in some tests *in vitro*.<sup>104,105</sup> However, assessment of 4-cholesten-3-one in a bacterial mutation assay and in an *in vitro* chromosome aberration assay produced no evidence of mutagenic activity.<sup>102,106</sup>

One limitation of the animal studies is that the microflora of humans and rats are different. This might affect how plant sterols and stanols and cholesterol are metabolized in the gut. Also, the gastrointestinal systems of the rat and human are distinctly different. Finally, toxicologic studies have been confined to native stanols and sterols. If stanol- and sterol-enriched products were to be marketed

for frying purposes, the stability of stanols and sterols on frying would need to be established first.

### How Do Sterols and Stanols Affect the Absorption and Plasma Levels of Phytosterols and Stanols?

In normal subjects, intake of 2 g/d of plant sterols approximately doubles plasma campesterol levels; sitosterol levels increase also. Increased intake of stanols increases their plasma levels, but stanol concentrations are always a factor of 10 to 100 lower than sterols<sup>46,55</sup>; in addition, stanol consumption reduces plasma sterol concentrations.<sup>8,11,46,107</sup> Concentrations of plant sterols in plasma in subjects consuming sterol ester margarine are within the range of 0.6 to 2.0 mg/dL.<sup>40,46</sup> This is 20 to 100 times lower than in patients homozygous for phytosterolemia.

Phytosterolemia (also known as sitosterolemia) is an extremely rare recessive disease.<sup>6,108</sup> The homozygous state occurs in about 1 in 5 million people, with a wide margin of uncertainty. Patients are prone to premature atherosclerosis and CHD. Sitosterol absorption in homozygous individuals is typically 15% to 25% as opposed to 5% or less in normal persons, and excretion is reduced. Typical ranges for plasma concentrations are 14 to 65 mg/dL for sitosterol and 7 to 21 mg/dL for campesterol. Mutations in intestinal ABCG5 and ABCG8 transporters are responsible for at least some forms of phytosterolemia.<sup>14,15,109</sup>

In heterozygous persons (about 1 in 1100), absorption of phytosterols may be normal<sup>110</sup> or up to 15%,<sup>6</sup> but body pools are not greatly elevated because removal by the liver is rapid. Plasma levels of plant sterols in heterozygous people are normal or slightly elevated.<sup>111</sup> One study showed that consuming sterol margarine increased plasma campesterol concentrations 2- to 3-fold in people heterozygous for phytosterolemia, which is similar to the effect in people without the mutation.<sup>112</sup> This is reassuring because heterozygosity is much more common than homozygosity, and heterozygosity usually is undetected.

### Does Absorption of Plant Sterols and Stanols Promote Atherosclerosis?

Sterols and stanols have been found in atheroma lesions. Mild hyperphytosterolemia is inherited<sup>113</sup> and is associated with an augmented risk of premature CHD<sup>114,115</sup>; it has been suggested that premature atherosclerosis in patients with homozygous phytosterolemia is due to an atherogenic effect of circulating sitosterol and campesterol. However, the high rate of atherosclerosis in patients with phytosterolemia could be due to other consequences of the genetic defect.

Some workshop participants believe that the slight increase in plasma sterols on consumption of foods enriched with plant sterol esters might detract from the beneficial effect on atherosclerosis produced by the decrease in LDL



Table 4. Mean Change (95% CI) in Serum Concentrations of Vitamins in Randomized Placebo-Controlled Trials of Stanols/Sterols\*

Vitamin	No. of trials	Mean change (%)	Mean change, adjusted for change in total serum cholesterol (%)	References
$\alpha$ -Tocopherol	15	-5.9 (-8.0 to -3.8) ( $P < .001$ )	2.1 (-0.3 to +4.5) ( $P = \text{NS}$ )	16,18,32,35,38,42,46,48,50,52,54,56,59,62,116
Alpha carotene	13	-8.7 (-13.8 to -3.5) ( $P < .001$ )	-0.3 (-5.7 to +5.2) ( $P = \text{NS}$ )	18,32,35,42,46,48,50,52,54,56,59,62,116
Beta carotene	15	-19.9 (-24.9 to -15.0) ( $P < .001$ )	-12.1 (-17.4 to -6.8) ( $P < .001$ )	18,32,35,38,42,46,48,50,52,54-56,59,62,116
Lycopene	13	-7.3 (-13.1 to -1.4) ( $P = .01$ )	-0.1 (-6.1 to +5.9) ( $P = \text{NS}$ )	16,18,32,35,39,40,42,46,52,56,59,62,116
Retinol	14	-0.1 (-1.6 to +1.5)	NA	18,32,38,42,46,48,50,52,54-56,59,62,116
Vitamin D	10	+0.5 (-2.6 to +3.6)	NA	16,38,42,46,48,52,54-56,62

\*Only trials testing doses  $\geq 1.5$  g/d are included. CI = confidence interval; NA = not applicable; NS = not significant.

cholesterol. Others believe that the effect, if any, is completely compensated for by the decrease in plasma LDL. Further studies on the mechanism through which defects in ABC transporters produce atherosclerosis and CHD in patients with phytosterolemia might clarify this point. However, current data, although preliminary, suggest that not only normal subjects but also subjects heterozygous for phytosterolemia can consume plant sterols without adverse effects.<sup>112</sup>

#### How Do Stanols and Sterols Affect Plasma Levels of Fat-Soluble Vitamins?

Of the trials of sterols and stanols identified in the meta-analysis on efficacy (Table 1), 18 trials testing doses of 1.5 g/d or more reported plasma concentrations of fat-soluble vitamins. Table 4 summarizes the mean changes across trials. Statistically significant reductions occurred in the plasma concentrations of the hydrocarbon carotenes: alpha carotene by 9%, beta carotene by 28%, and lycopene by 7%. Part of this reduction probably is due to reduced absorption of carotenes and the rest to reduced concentrations of the lipoprotein carrier, LDL; after the decrease in total cholesterol induced by stanols and sterols was corrected for, a statistically significant reduction remained for beta carotene but not for alpha carotene or lycopene. The reduction in  $\alpha$ -tocopherol was explained similarly by the reduction in cholesterol (Table 4). The decrease in beta carotene could be prevented by adding sufficient fruits and vegetables to the diet.<sup>59</sup> Vitamin D and vitamin A (retinol) concentrations are on average unaffected by sterols and stanols (Table 4). Vitamin K-dependent clotting factors did not change in subjects fed stanols.<sup>33</sup> When 8 patients taking coumarin were given stanol esters, no significant changes occurred in prothrombin time, and no major

changes were needed in coumarin dose, suggesting that vitamin K status was unchanged.<sup>117</sup>

#### Do Reduced Absorption and/or Decreased Plasma Levels of Carotenes Constitute a Health Risk?

Substances that can reduce circulating carotenoids pose a theoretical public health concern because low levels of circulating carotenoids have been associated with increased risk of several chronic diseases including CHD, certain cancers, and macular degeneration.<sup>118-120</sup> In observational studies, lutein has been inversely associated with macular degeneration, beta carotene with lung cancer, lycopene with prostate cancer, and all the major circulating carotenoids with CHD.<sup>120</sup>

The amount of decrease in the serum carotenoid levels caused by plant stanols and sterols should be viewed in the context of other dietary factors that influence circulating levels. Coconsumption with wheat bran significantly inhibits lycopene and lutein absorption.<sup>121</sup> Volunteers who consumed olestra (8 g/d) had 38% lower levels of beta carotene than did controls after 8 weeks.<sup>122</sup> In addition, some lipid-lowering drugs (probucol and cholestyramine) cause decreases in beta carotene levels beyond what would be expected from the LDL-lowering effects of the drugs alone.<sup>123</sup>

Epidemiological studies cannot determine whether the associations between various carotenoids and disease outcomes are causal or due to confounding factors. Several randomized trials have tested the effects of supplemental beta carotene on cancer and CHD.<sup>124-128</sup> These trials show no benefit and in smokers show evidence of harm.<sup>124,126</sup> This weakens the case for beta carotene as a chemoprotective agent. Still, it is unclear whether supplement trials are relevant to predicting the effect of reductions in plasma carotenoid induced by stanols and sterols.



Part of these reductions are due to decreases in circulating LDL levels, which are the carriers for fat-soluble vitamins. In 2 large primary prevention trials using statins (each averaging about 5 years of follow-up), large reductions in LDL levels were not associated with an increase in any cancer.<sup>84,85</sup> The effects of these drugs on carotenoid levels have not been reported; thus, the interpretation of these trials with respect to carotenoid lowering is somewhat speculative.

Cholestyramine, a bile acid sequestering resin, reduces circulating carotenoid levels in excess of the decrease expected due to LDL lowering. In the Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial,<sup>129</sup> total carotenoid levels decreased 26% in 3806 men after 1 year of intervention compared with a 19% decrease in LDL levels. Despite this large reduction in carotenoid levels, the reduction in coronary events was exactly that which would have been predicted by the changes in serum lipids.<sup>130</sup> Although the trial was underpowered for cancer end points, the on-trial (up to 10 years of follow-up) and posttrial (6 additional years of follow-up) experience showed a slight decrease in carotenoid-linked cancers in the intervention group relative to the placebo group.<sup>131</sup>

In summary, risks associated with decreased carotenoid levels secondary to sterol/stanol intake are theoretical at this point, but longer follow-up of studies would be desirable to fully address this issue.

### **Do Sterols and Stanols Interfere With the Absorption and Action of Therapeutic Drugs, Including Hormones?**

Information is limited about sterol/stanol interference with the absorption and action of therapeutic drugs. An 8-week study of 318 subjects reported no adverse interactions of stanol intake with drugs.<sup>55</sup> In patients with diabetes, stanols had no effect on diabetic control.<sup>60</sup>

Stanols and sterols might theoretically interfere with cyclosporine absorption; further studies are needed. Few patients take cyclosporine, and levels are closely monitored. However, transplantation units should be aware of this potential interaction.

### **Could Stanols and Sterols or Their Metabolites Have Adverse Effects in the Colon?**

Consumption of plant sterols and stanols increases the fecal excretion of cholesterol and its metabolites. Hypotheses were advanced in the 1960s and 1970s that bacterial metabolites of bile acids and cholesterol were involved in the genesis of colon cancer.<sup>132</sup> Toxicologic animal tests on this subject were discussed previously. Other experiments in vitro and in animals with chemically induced cancers suggested that dietary plant sterols may protect against

colon, breast, and prostate cancer.<sup>133,134</sup> However, a prospective study in humans did not support any protective effect of plant sterols against colon or rectal cancer.<sup>21</sup> Thus, there are no convincing data to suggest that plant stanols and sterols either contribute to or prevent colon carcinogenesis.

### **What Is the Safe Upper Level of Intake of Stanols and Sterols? Is This Level Likely to Be Exceeded in Practice?**

The evidence summarized previously suggests that intake of the recommended 2 g/d of sterols and stanols effectively lowers LDL cholesterol levels, produces no serious adverse effects, and poses no health risks of concern. Some consumers might reach higher intake levels if they consume a wide range of products enriched with stanols and sterols. There is no evidence that such higher intakes cause harm. However, increasing intake beyond 2 g/d of stanols and sterols produces little additional LDL lowering and therefore is not recommended.

### **RECOMMENDED FUTURE RESEARCH Who Consumes Sterol/Stanol Products and What Is Their Effectiveness in the General Population?**

In a Finnish survey,<sup>135</sup> 46% of people who used plant stanol ester margarine reported having cardiovascular disease. Users were mostly aged 55 years or older, were better educated, and had higher incomes than nonusers. They also had a healthier lifestyle. No data are available on the initial cholesterol levels of the users or on the extent of cholesterol lowering obtained when sterol- and stanol-rich foods were introduced into communities. Therefore, the effectiveness (efficacy multiplied by compliance) of sterols and stanols in the general population is still unclear.

### **Is Postmarketing Surveillance (Postlaunch Monitoring) Being Done, and Is It Useful for Detecting Unforeseen Effects?**

About 2500 users of stanol margarines and matched controls are being followed up in Finland, and possible long-term health effects, both beneficial and adverse, will be determined by linking national disease and mortality registries with the cohort.<sup>135</sup> Although valuable, this study probably has limited power to detect rare adverse effects. The nonrandomized design also introduces confounding, difficult to avoid in observational studies. Telephone help lines have been installed and are monitored for self-reported adverse effects of stanol and sterol margarines.

### **Is a Trial With Hard End Points (Disease and Death) Required?**

A randomized clinical trial might provide certainty about the efficacy of stanols and sterols in reducing CHD.



The costs and feasibility of a such a trial are prohibitive, as they have been for other dietary factors. The numbers of CHD patients needed to show the expected 12% to 20% reduction in CHD over 5 years would be 10,000 to 15,000. In healthy subjects, event rates are lower and required numbers proportionally higher. For example, with a 6% reduction in total cholesterol (corresponding to a 9% reduction in LDL cholesterol), close to 50,000 postmenopausal women might need to be randomized and followed up for 9 years to show the expected reduction of 14% in CHD at a power of 86%.<sup>136,137</sup> Moreover, such a trial would not provide total reassurance about the absence of long-term adverse effects because they are likely to be rare, and a clinical trial would be severely underpowered to detect them.

Trials with surrogate end points could be used to corroborate the expected efficacy for cardiovascular disease prevention. The most convincing surrogate outcome would be a decrease in the progression of intima-media thickness of the carotid artery, and some workshop participants believe that initiating such a trial would be useful. However, most agree that current evidence is sufficient to encourage use of sterols and stanols.

## CONCLUSIONS

Abundant evidence shows that consuming 2 g/d of sterols and stanols lowers LDL levels by 10%, and based on epidemiological data and trials with cholesterol-lowering drugs, long-term use likely will lower CHD risk by 12% to 20% in the first 5 years and by 20% over a lifetime. Safety testing of sterols and stanols has exceeded that of ordinary foodstuffs that are eaten widely and generally recognized as safe. Adverse effects of the absorption of plant sterols into the circulation appear largely hypothetical in adults. Adverse health outcomes due to observed decreases in beta carotene levels in plasma are speculative and are of no major concern. Safety is being monitored by follow-up of samples from the general population eating these foods; however, the power of such studies to detect rare adverse effects, if any exist, is limited. A clinical trial would be extremely expensive and would probably not answer remaining questions about infrequent adverse effects. Trials with surrogate end points such as intima-media thickness might corroborate the expected efficacy of stanols and sterols in reducing the progression of atherosclerosis. However, current evidence is already sufficient to encourage use of sterols and stanols in persons with elevated cholesterol who are at increased risk for CHD.

We thank Dianora Feretti and Daniela Galli for their crucial role in organizing the workshop and Rianne Hermus for organizational and administrative support. We gratefully acknowledge the

important contributions of Drs Nilo Cater, Andrea Poli, Paul Hepburn, Stephen Kritchevsky, Ronald Mensink, Joan Morris, Jogchum Plat, and Jacques Rossouw to this article.

## Stresa Workshop on Sterols and Stanols.—Workshop participants:

Atif B. Awad, University at Buffalo, Buffalo, NY; Klaus von Bergmann, University of Bonn, Bonn, Germany; Nilo Cater, Southwestern Medical Center, University of Texas, Dallas; Jiri Frohlich, St Paul's Hospital and University of British Columbia, Vancouver, British Columbia; Helena Gylling, University of Kuopio, Kuopio, Finland; Paul A. Hepburn, Safety & Environmental Assurance Centre Unilever, Sharnbrook, United Kingdom; Thomas E. Kottke, Mayo Clinic, Rochester, Minn; Stephen B. Kritchevsky, University of Tennessee, Memphis; Gilbert A. Leveille, McNeil Consumer Healthcare, Fort Washington, Pa; Gert W. Meijer, Unilever Bestfoods NA, Englewood Cliffs, NJ; Ronald P. Mensink, Maastricht University, Maastricht, the Netherlands; Mohammed H. Moghadasian, University of British Columbia, Vancouver, British Columbia; Paul Nestel, Baker Medical Research Institute, Melbourne, Australia; Fady Y. Ntanios, Unilever Health Institute, Vlaardingen, the Netherlands; Richard E. Ostlund, Washington University Medical School, St Louis, Mo; Vieno I. Piironen, University of Helsinki, Helsinki, Finland; Andrea Poli, Nutrition Foundation of Italy, Milan; Pekka Puska, World Health Organization, Geneva, Switzerland; Jacques E. Rossouw, National Heart, Lung, and Blood Institute, Bethesda, Md; Gerald Salen, New Jersey Medical School, Newark; Olli Simell, University of Turku, Turku, Finland; Michihiro Sugano, Prefectural University of Kumamoto, Kumamoto, Japan; Matti Uusitupa, University of Kuopio and Kuopio University Hospital, Kuopio, Finland; Bengt Vessby, University of Uppsala, Uppsala, Sweden; Ingmar Wester, Raisio Group, Raisio, Finland; and Jan A. Weststrate, Unilever Health Institute, Vlaardingen, the Netherlands.

## REFERENCES

1. Lichtenstein AH, Deckelbaum RJ. AHA Science Advisory: stanol/sterol ester-containing foods and blood cholesterol levels: a statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism of the American Heart Association. *Circulation*. 2001; 103:1177-1179.
2. Jones PJ, Raeini-Sarjaz M. Plant sterols and their derivatives: the current spread of results. *Nutr Rev*. 2001;59(1, pt 1):21-24.
3. Plat J, Mensink RP. Effects of plant sterols and stanols on lipid metabolism and cardiovascular risk. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2001;11:31-40.
4. Vahouny GV, Kritchevsky D. Plant and marine sterols and cholesterol metabolism. In: Spiller GA, ed. *Nutritional Pharmacology*. New York, NY: Alan R Liss; 1981:31-72.
5. Vissers MN, Zock PL, Meijer GW, Katan MB. Effect of plant sterols from rice bran oil and triterpene alcohols from sheanut oil on serum lipoprotein concentrations in humans. *Am J Clin Nutr*. 2000;72:1510-1515.
6. Salen G, Shefer S, Nguyen L, Ness GC, Tint GS, Shore V. Sitosterolemia. *J Lipid Res*. 1992;33:945-955.
7. Heinemann T, Axtmann G, von Bergmann K. Comparison of intestinal absorption of cholesterol with different plant sterols in man. *Eur J Clin Invest*. 1993;23:827-831.



8. Lütjohann D, Björkhem I, Beil UF, von Bergmann K. Sterol absorption and sterol balance in phytosterolemia evaluated by deuterium-labeled sterols: effect of sitostanol treatment. *J Lipid Res.* 1995;36:1763-1773.
9. Czubayko F, Beumers B, Lammsfuss S, Lütjohann D, von Bergmann K. A simplified micro-method for quantification of fecal excretion of neutral and acidic sterols for outpatient studies in humans. *J Lipid Res.* 1991;32:1861-1867.
10. von Bergmann K, Prange W, Lütjohann D. Metabolism and mechanism of action of plant sterols. *Eur Heart J Suppl.* 1999;1(suppl N):S45-S49.
11. Jones PJ, Raeini-Sarjaz M, Ntanos FY, Vanstone CA, Feng JY, Parsons WE. Modulation of plasma lipid levels and cholesterol kinetics by phytosterol versus phytostanol esters. *J Lipid Res.* 2000;41:697-705.
12. Normen L, Dutta P, Lia A, Andersson H. Soy sterol esters and beta-sitostanol ester as inhibitors of cholesterol absorption in human small bowel. *Am J Clin Nutr.* 2000;71:908-913.
13. Miettinen TA, Vuoristo M, Nissinen M, Jarvinen HJ, Gylling H. Serum, biliary, and fecal cholesterol and plant sterols in colectomized patients before and during consumption of stanol ester margarine. *Am J Clin Nutr.* 2000;71:1095-1102.
14. Lee MH, Lu K, Hazard S, et al. Identification of a gene, ABCG5, important in the regulation of dietary cholesterol absorption. *Nat Genet.* 2001;27:79-83.
15. Berge KE, Tian H, Graf GA, et al. Accumulation of dietary cholesterol in sitosterolemia caused by mutations in adjacent ABC transporters. *Science.* 2000;290:1771-1775.
16. Hendriks HF, Weststrate JA, van Vliet T, Meijer GW. Spreads enriched with three different levels of vegetable oil sterols and the degree of cholesterol lowering in normocholesterolaemic and mildly hypercholesterolaemic subjects. *Eur J Clin Nutr.* 1999;53:319-327.
17. Vanhanen HT, Kajander J, Lehtovirta H, Miettinen TA. Serum levels, absorption efficiency, faecal elimination and synthesis of cholesterol during increasing doses of dietary sitostanol esters in hypercholesterolaemic subjects. *Clin Sci (Lond).* 1994;87:61-67.
18. Hallikainen MA, Sarkkinen ES, Uusitupa MI. Plant stanol esters affect serum cholesterol concentrations of hypercholesterolemic men and women in a dose-dependent manner. *J Nutr.* 2000;130:767-776.
19. Morton GM, Lee SM, Buss DH, Lawrence P. Intakes and major dietary sources of cholesterol and phytosterols in the British diet. *J Hum Nutr Diet.* 1995;8:429-440.
20. Miettinen TA, Tilvis RS, Kesaniemi YA. Serum plant sterols and cholesterol precursors reflect cholesterol absorption and synthesis in volunteers of a randomly selected male population. *Am J Epidemiol.* 1990;131:20-31.
21. Normen AL, Brants HA, Voorrips LE, Andersson HA, van den Brandt PA, Goldbohm RA. Plant sterol intakes and colorectal cancer risk in the Netherlands Cohort Study on diet and cancer. *Am J Clin Nutr.* 2001;74:141-148.
22. Vuoristo M, Miettinen TA. Absorption, metabolism, and serum concentrations of cholesterol in vegetarians: effects of cholesterol feeding. *Am J Clin Nutr.* 1994;59:1325-1331.
23. Pollak OJ, Kritchevsky D. *Sitosterol*. Basel, Switzerland: S Karger; 1981. Monographs on Atherosclerosis, vol 10.
24. Cater NB, Grundy SM. Lowering serum cholesterol with plant sterols and stanols: historical perspectives. In: Nguyen TT, ed. *New Developments in the Dietary Management of High Cholesterol*. Minneapolis, Minn: McGraw-Hill; 1998:6-14. Postgraduate Medicine Special Report.
25. Grundy SM, Ahrens EH Jr, Davignon J. The interaction of cholesterol absorption and cholesterol synthesis in man. *J Lipid Res.* 1969;10:304-315.
26. Grundy SM, Mok HY. Determination of cholesterol absorption in man by intestinal perfusion. *J Lipid Res.* 1977;18:263-271.
27. Mattson FH, Volpenhein RA, Erickson BA. Effect of plant sterol esters on the absorption of dietary cholesterol. *J Nutr.* 1977;107:1139-1146.
28. Jones PJ, Ntanos FY, Raeini-Sarjaz M, Vanstone CA. Cholesterol-lowering efficacy of a sitostanol-containing phytosterol mixture with a prudent diet in hyperlipidemic men. *Am J Clin Nutr.* 1999;69:1144-1150.
29. Williams CL, Bollella MC, Strobino BA, Boccia L, Campanaro L. Plant stanol ester and bran fiber in childhood: effects of lipids, stool weight and stool frequency in preschool children. *J Am Coll Nutr.* 1999;18:572-581.
30. Tammi A, Ronnema T, Gylling H, et al. Plant stanol ester margarine lowers serum total and low-density lipoprotein cholesterol concentrations of healthy children: the STRIP Project. *J Pediatr.* 2000;136:503-510.
31. Matvienko OA, Lewis DS, Swanson M, et al. A single daily dose of soybean phytosterols in ground beef decreases serum total cholesterol and LDL cholesterol in young, mildly hypercholesterolemic men. *Am J Clin Nutr.* 2002;76:57-64.
32. Plat J, van Onselen EN, van Heugten MM, Mensink RP. Effects on serum lipids, lipoproteins and fat soluble antioxidant concentrations of consumption frequency of margarines and shortenings enriched with plant stanol esters. *Eur J Clin Nutr.* 2000;54:671-677.
33. Plat J, Mensink RP. Vegetable oil based versus wood based stanol ester mixtures: effects on serum lipids and hemostatic factors in non-hypercholesterolemic subjects. *Atherosclerosis.* 2000;148:101-112.
34. Jones PJ, Howell T, MacDougall DE, Feng JY, Parsons W. Short-term administration of tall oil phytosterols improves plasma lipid profiles in subjects with different cholesterol levels. *Metabolism.* 1998;47:751-756.
35. Mensink RP, Ebbing S, Lindhout M, Plat J, van Heugten MM. Effects of plant stanol esters supplied in a low-fat yoghurt on serum lipids and lipoproteins, non-cholesterol sterols and fat soluble antioxidant concentrations. *Atherosclerosis.* 2002;160:205-213.
36. Niinikoski H, Viikari J, Palmu T. Cholesterol-lowering effect and sensory properties of sitostanol ester margarine in normocholesterolemic adults. *Scand J Nutr.* 1997;41:9-12.
37. Mussner MJ, Parhofer KG, von Bergmann K, Schwandt P, Broedl U, Otto C. Effects of phytosterol ester-enriched margarine on plasma lipoproteins in mild to moderate hypercholesterolemia are related to basal cholesterol and fat intake. *Metabolism.* 2002;51:189-194.
38. Hallikainen MA, Uusitupa MI. Effects of 2 low-fat stanol ester-containing margarines on serum cholesterol concentrations as part of a low-fat diet in hypercholesterolemic subjects. *Am J Clin Nutr.* 1999;69:403-410.
39. Sierksma A, Weststrate JA, Meijer GW. Spreads enriched with plant sterols, either esterified 4,4-dimethylsterols or free 4-desmethylsterols, and plasma total- and LDL-cholesterol concentrations. *Br J Nutr.* 1999;82:273-282.
40. Weststrate JA, Meijer GW. Plant sterol-enriched margarines and reduction of plasma total- and LDL-cholesterol concentrations in normocholesterolaemic and mildly hypercholesterolaemic subjects. *Eur J Clin Nutr.* 1998;52:334-343.
41. Miettinen TA, Vanhanen H. Dietary sitostanol related to absorption, synthesis and serum level of cholesterol in different apolipoprotein E phenotypes. *Atherosclerosis.* 1994;105:217-226.
42. Davidson MH, Maki KC, Umporowics DM, et al. Safety and tolerability of esterified phytosterols administered in reduced-fat spread and salad dressing to healthy adult men and women. *J Am Coll Nutr.* 2001;20:307-319.
43. Vanhanen HT, Blomqvist S, Ehnholm C, et al. Serum cholesterol, cholesterol precursors, and plant sterols in hypercholesterolemic subjects with different apoE phenotypes during dietary sitostanol ester treatment. *J Lipid Res.* 1993;34:1535-1544.



44. Homma Y, Ishikawa T, Tateno M, Mitaniyama A, Sugano M. Cholesterol and apolipoprotein-lowering effect of plant stanol ester in healthy Japanese men and women. *J Jpn Soc Nutr Food Sci.* 2000;53:155-162.
45. Vanstone CA, Raeini-Sarjaz M, Parsons WE, Jones PJ. Unesterified plant sterols and stanols lower LDL-cholesterol concentrations equivalently in hypercholesterolemic persons. *Am J Clin Nutr.* 2002;76:1272-1278.
46. Hallikainen MA, Sarkkinen ES, Gylling H, Erkkilä AT, Uusitupa MI. Comparison of the effects of plant stanol ester and plant stanol ester-enriched margarines in lowering serum cholesterol concentrations in hypercholesterolaemic subjects on a low-fat diet. *Eur J Clin Nutr.* 2000;54:715-725.
47. Miettinen TA, Puska P, Gylling H, Vanhanen HT, Vartiainen E. Reduction of serum cholesterol with sitostanol-ester margarine in a mildly hypercholesterolemic population. *N Engl J Med.* 1995;333:1308-1312.
48. Gylling H, Puska P, Vartiainen E, Miettinen TA. Retinol, vitamin D, carotenes and alpha-tocopherol in serum of a moderately hypercholesterolemic population consuming sitostanol ester margarine. *Atherosclerosis.* 1999;145:279-285.
49. Gylling H, Radhakrishnan R, Miettinen TA. Reduction of serum cholesterol in postmenopausal women with previous myocardial infarction and cholesterol malabsorption induced by dietary sitostanol ester margarine: women and dietary sitostanol. *Circulation.* 1997;96:4226-4231.
50. Christiansen LI, Lähteenmäki PL, Mannelin MR, Seppänen-Laakso TE, Hiltunen RV, Yliruusi JK. Cholesterol-lowering effect of spreads enriched with microcrystalline plant sterols in hypercholesterolemic subjects. *Eur J Nutr.* 2001;40:66-73.
51. Volpe R, Niittynen L, Korpela R, et al. Effects of yoghurt enriched with plant sterols on serum lipids in patients with moderate hypercholesterolaemia. *Br J Nutr.* 2001;86:233-239.
52. Raeini-Sarjaz M, Ntanos FY, Vanstone CA, Jones PJ. No changes in serum fat-soluble vitamin and carotenoid concentrations with the intake of plant stanol/sterol esters in the context of a controlled diet. *Metabolism.* 2002;51:652-656.
53. Neil HA, Meijer GW, Roe LS. Randomised controlled trial of use by hypercholesterolaemic patients of a vegetable oil sterol-enriched fat spread. *Atherosclerosis.* 2001;156:329-337.
54. Gylling H, Miettinen TA. Cholesterol reduction by different plant stanol mixtures and with variable fat intake. *Metabolism.* 1999;48:575-580.
55. Nguyen TT, Dale LC, von Bergmann K, Croghan IT. Cholesterol-lowering effect of stanol ester in a US population of mildly hypercholesterolemic men and women: a randomized controlled trial. *Mayo Clin Proc.* 1999;74:1198-1206.
56. Andersson A, Karlström B, Mohsen R, Vessby B. Cholesterol-lowering effects of a stanol ester-containing low-fat margarine used in conjunction with a strict lipid-lowering diet. *Eur Heart J Suppl.* 1999;1(suppl N):S80-S90.
57. Blair SN, Capuzzi DM, Gottlieb SO, Nguyen T, Morgan JM, Cater NB. Incremental reduction of serum total cholesterol and low-density lipoprotein cholesterol with the addition of plant stanol ester-containing spread to statin therapy. *Am J Cardiol.* 2000;86:46-52.
58. Tikkanen MJ, Högström P, Tuomilehto J, Keinänen-Kiukkaanniemi S, Sundvall J, Karppanen H. Effect of a diet based on low-fat foods enriched with nonesterified plant sterols and mineral nutrients on serum cholesterol. *Am J Cardiol.* 2001;88:1157-1162.
59. Noakes M, Clifton P, Ntanos F, Shrapnel W, Record I, McInerney J. An increase in dietary carotenoids when consuming plant sterols or stanols is effective in maintaining plasma carotenoid concentrations. *Am J Clin Nutr.* 2002;75:79-86.
60. Gylling H, Miettinen TA. Serum cholesterol and cholesterol and lipoprotein metabolism in hypercholesterolaemic NIDDM patients before and during sitostanol ester-margarine treatment. *Diabetologia.* 1994;37:773-780.
61. Nigon F, Serfaty-Lacroisnière C, Beucler I, et al. Plant sterol-enriched margarine lowers plasma LDL in hyperlipidemic subjects with low cholesterol intake: effect of fibrate treatment. *Clin Chem Lab Med.* 2001;39:634-640.
62. Maki KC, Davidson MH, Umporowicz DM, et al. Lipid responses to plant-sterol-enriched reduced-fat spreads incorporated into a National Cholesterol Education Program Step I diet. *Am J Clin Nutr.* 2001;74:33-43.
63. Nestel P, Cehun M, Pomeroy S, Abbey M, Weldon G. Cholesterol-lowering effects of plant sterol esters and non-esterified stanols in margarine, butter and low-fat foods. *Eur J Clin Nutr.* 2001;55:1084-1090.
64. Law M. Plant stanol and stanol margarines and health. *BMJ.* 2000;320:861-864.
65. Gylling H, Miettinen TA. Effects of inhibiting cholesterol absorption and synthesis on cholesterol and lipoprotein metabolism in hypercholesterolemic non-insulin-dependent diabetic men. *J Lipid Res.* 1996;37:1776-1785.
66. Blomqvist SM, Jauhiainen M, Van Tol A, Hyvönen M, Torstila I, Vanhanen HT. Effect of sitostanol ester on composition and size distribution of LDL and HDL. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 1993;3:158-164.
67. Hendriks HF, Brink EJ, Meijer GW, Princen HM, Ntanos FY. Safety of long-term consumption of plant sterol esters-enriched spread. *Eur J Clin Nutr.* 2003;57:681-692.
68. Denke MA. Lack of efficacy of low-dose sitostanol therapy as an adjunct to a cholesterol-lowering diet in men with moderate hypercholesterolemia. *Am J Clin Nutr.* 1995;61:392-396.
69. Ostlund RE Jr, Spilburg CA, Stenson WF. Sitostanol administered in lecithin micelles potentially reduces cholesterol absorption in human subjects. *Am J Clin Nutr.* 1999;70:826-831.
70. Meguro S, Higashi K, Hase T, et al. Solubilization of phytoosterols in diacylglycerol versus triacylglycerol improves the serum cholesterol-lowering effect. *Eur J Clin Nutr.* 2001;55:513-517.
71. Becker M, Staab D, Von Bergmann K. Treatment of severe familial hypercholesterolemia in childhood with sitosterol and sitostanol. *J Pediatr.* 1993;122:292-296.
72. Geelen A, Zock PL, de Vries JH, Katan MB. Apolipoprotein E polymorphism and serum lipid response to plant sterols in humans. *Eur J Clin Invest.* 2002;32:738-742.
73. Jenkins DJ, Kendall CW, Popovich DG, et al. Effect of a very-high-fiber vegetable, fruit, and nut diet on serum lipids and colonic function. *Metabolism.* 2001;50:494-503.
74. Vuorio AF, Gylling H, Turtola H, Kontula K, Ketonen P, Miettinen TA. Stanol ester margarine alone and with simvastatin lowers serum cholesterol in families with familial hypercholesterolemia caused by the FH-North Karelia mutation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20:500-506.
75. Bradford RH, Shear CL, Chremos AN, et al. Expanded Clinical Evaluation of Lovastatin (EXCEL) study results, I: efficacy in modifying plasma lipoproteins and adverse event profile in 8245 patients with moderate hypercholesterolemia. *Arch Intern Med.* 1991;151:43-49.
76. Jones P, Kafonek S, Laurora I, Hunninghake D. Comparative dose efficacy study of atorvastatin versus simvastatin, pravastatin, lovastatin, and fluvastatin in patients with hypercholesterolemia (the CURVES study) [published correction appears in *Am J Cardiol.* 1998;82:128]. *Am J Cardiol.* 1998;81:582-587.
77. Gylling H, Miettinen TA. The effect of cholesterol absorption inhibition on low density lipoprotein cholesterol level. *Atherosclerosis.* 1995;117:305-308.
78. Gylling H, Miettinen TA. LDL cholesterol lowering by bile acid malabsorption during inhibited synthesis and absorption of cholesterol in hypercholesterolemic coronary subjects. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2002;12:19-23.



79. Moghadasian MH, McManus BM, Pritchard PH, Frohlich JJ. "Tall oil"-derived phytosterols reduce atherosclerosis in ApoE-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17:119-126.
80. Ntanos FY, Jones PJ, Frohlich JJ. Dietary sitosterol reduces plaque formation but not lecithin cholesterol acyl transferase activity in rabbits. *Atherosclerosis.* 1998;138:101-110.
81. Volger OL, Mensink RP, Plat J, Hornstra G, Havekes LM, Princen HM. Dietary vegetable oil and wood derived plant stanol esters reduce atherosclerotic lesion size and severity in apoE\*3-Leiden transgenic mice. *Atherosclerosis.* 2001;157:375-381.
82. Moghadasian MH, McManus BM, Godin DV, Rodrigues B, Frohlich JJ. Proatherogenic and antiatherogenic effects of probucol and phytosterols in apolipoprotein E-deficient mice: possible mechanisms of action. *Circulation.* 1999;99:1733-1739.
83. Moghadasian MH, Godin DV, McManus BM, Frohlich JJ. Lack of regression of atherosclerotic lesions in phytosterol-treated apo E-deficient mice. *Life Sci.* 1999;64:1029-1036.
84. Shepherd J, Cobbe SM, Ford I, et al, West of Scotland Coronary Prevention Study Group. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. *N Engl J Med.* 1995;333:1301-1307.
85. Downs JR, Clearfield M, Weis S, et al. Primary prevention of acute coronary events with lovastatin in men and women with average cholesterol levels: results of AFCAPS/TexCAPS: Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study. *JAMA.* 1998;279:1615-1622.
86. Law MR, Wald NJ, Thompson SG. By how much and how quickly does reduction in serum cholesterol concentration lower risk of ischaemic heart disease? *BMJ.* 1994;308:367-372.
87. Mensink RP, Katan MB. Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins: a meta-analysis of 27 trials. *Arterioscler Thromb.* 1992;12:911-919.
88. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP). *JAMA.* 2001;285:2486-2497.
89. Sanders DJ, Minter HJ, Howes D, Hepburn PA. The safety evaluation of phytosterol esters, part 6: the comparative absorption and tissue distribution of phytosterols in the rat. *Food Chem Toxicol.* 2000;38:485-491.
90. Aringer L, Eneroth P, Nordstrom L. Side-chain cleavage of 4-cholesten-3-one, 5-cholesten-3 alpha-ol, beta-sitosterol, and related steroids in endocrine tissues from rat and man. *J Steroid Biochem.* 1979;11:1271-1285.
91. Hepburn PA, Horner SA, Smith M. Safety evaluation of phytosterol esters, part 2: subchronic 90-day oral toxicity study on phytosterol esters—a novel functional food. *Food Chem Toxicol.* 1999;37:521-532.
92. Turnbull D, Whittaker MH, Frankos VH, Jonker D. 13-Week oral toxicity study with stanol esters in rats. *Regul Toxicol Pharmacol.* 1999;29(2, pt 1):216-226.
93. Waalkens-Berendsen DH, Wolterbeek AP, Wijnands MV, Richold M, Hepburn PA. Safety evaluation of phytosterol esters, part 3: two-generation reproduction study in rats with phytosterol esters—a novel functional food. *Food Chem Toxicol.* 1999;37:683-696.
94. Whittaker MH, Frankos VH, Wolterbeek AP, Waalkens-Berendsen DH. Two-generation reproductive toxicity study of plant stanol esters in rats. *Regul Toxicol Pharmacol.* 1999;29(2, pt 1):196-204.
95. Slesinski RS, Turnbull D, Frankos VH, Wolterbeek AP, Waalkens-Berendsen DH. Developmental toxicity study of vegetable oil-derived stanol fatty acid esters. *Regul Toxicol Pharmacol.* 1999;29(2, pt 1):227-233.
96. Malini T, Vanithakumari G. Effect of beta-sitosterol on uterine biochemistry: a comparative study with estradiol and progesterone. *Biochem Mol Biol Int.* 1993;31:659-668.
97. Mellanen P, Petanen T, Lehtimäki J, et al. Wood-derived estrogens: studies in vitro with breast cancer cell lines and in vivo in trout. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1996;136:381-388.
98. MacLachy DL, Van Der Kraak GJ. The phytoestrogen beta-sitosterol alters the reproductive endocrine status of goldfish. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1995;134:305-312.
99. Baker VA, Hepburn PA, Kennedy SJ, et al. Safety evaluation of phytosterol esters, part 1: assessment of oestrogenicity using a combination of in vivo and in vitro assays. *Food Chem Toxicol.* 1999;37:13-22.
100. Turnbull D, Frankos VH, Leeman WR, Jonker D. Short-term tests of estrogenic potential of plant stanols and plant stanol esters. *Regul Toxicol Pharmacol.* 1999;29(2, pt 1):211-215.
101. Hepburn PA, Lea L, Wolfreys A. The assessment of phytosterols and phytosterol-esters for potential mutagenic activity. *Toxicologist.* 2001;60:412.
102. Wolfreys AM, Hepburn PA. Safety evaluation of phytosterol esters, part 7: assessment of mutagenic activity of phytosterols, phytosterol esters and the cholesterol derivative, 4-cholesten-3-one. *Food Chem Toxicol.* 2002;40:461-470.
103. Weststrate JA, Ayesh R, Bauer-Plank C, Drewitt PN. Safety evaluation of phytosterol esters, part 4: faecal concentrations of bile acids and neutral sterols in healthy normolipidaemic volunteers consuming a controlled diet either with or without a phytosterol ester-enriched margarine. *Food Chem Toxicol.* 1999;37:1063-1071.
104. Suzuki K, Bruce WR, Baptista J, Furrer R, Vaughan DJ, Krepinsky JJ. Characterization of cytotoxic steroids in human faeces and their putative role in the etiology of human colonic cancer. *Cancer Lett.* 1986;33:307-316.
105. Kaul HK, Couch DB, Gingerich JD, Bruce WR, Heddle JA. Genotoxicity of two fecal steroids in murine colonic epithelium assessed by the sister chromatid exchange technique. *Mutagenesis.* 1987;2:441-444.
106. Wolfreys A, Lea L, Hepburn PA. The assessment of the cholesterol breakdown product 4-cholesten-3-one for potential mutagenic activity. *Toxicologist.* 2001;60:412.
107. Gylling H, Puska P, Vartiainen E, Miettinen TA. Serum sterols during stanol ester feeding in a mildly hypercholesterolemic population. *J Lipid Res.* 1999;40:593-600.
108. Björkhem I, Boberg KM. Inborn errors in bile acid biosynthesis and storage of sterols other than cholesterol. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease* [book on CD-ROM]. Vol 2. 7th ed. New York, NY: McGraw-Hill; 1995:2073-2099.
109. Lu K, Lee MH, Hazard S, et al. Two genes that map to the STSL locus cause sitosterolemia: genomic structure and spectrum of mutations involving sterolin-1 and sterolin-2, encoded by ABCG5 and ABCG8, respectively. *Am J Hum Genet.* 2001;69:278-290.
110. Lütjohann D, Björkhem I, Ose L. Phytosterolaemia in a Norwegian family: diagnosis and characterization of the first Scandinavian case. *Scand J Clin Lab Invest.* 1996;56:229-240.
111. Lütjohann D, von Bergmann K. Phytosterolaemia: diagnosis, characterization and therapeutic approaches. *Ann Med.* 1997;29:181-184.
112. Stalenhoef AF, Hectors M, Demacker PN. Effect of plant sterol-enriched margarine on plasma lipids and sterols in subjects heterozygous for phytosterolaemia. *J Intern Med.* 2001;249:163-166.
113. Berge KE, von Bergmann K, Lütjohann D, et al. Heritability of plasma noncholesterol sterols and relationship to DNA sequence polymorphism in ABCG5 and ABCG8. *J Lipid Res.* 2002;43:486-494.
114. Glueck CJ, Speirs J, Tracy T, Streicher P, Illig E, Vandegrift J. Relationships of serum plant sterols (phytosterols) and cholesterol in 595 hypercholesterolemic subjects, and familial aggregation of

- phytosterols, cholesterol, and premature coronary heart disease in hyperphytosterolemic probands and their first-degree relatives. *Metabolism*. 1991;40:842-848.
115. Sudhop T, Gottwald BM, von Bergmann K. Serum plant sterols as a potential risk factor for coronary heart disease. *Metabolism*. 2002;51:1519-1521.
  116. Plat J, Mensink RP. Effects of diets enriched with two different plant stanol ester mixtures on plasma ubiquinol-10 and fat-soluble antioxidant concentrations. *Metabolism*. 2001;50:520-529.
  117. Nguyen TT, Dale LC. Plant stanol esters and vitamin K [letter]. *Mayo Clin Proc*. 1999;74:642-643.
  118. Kritchevsky SB. Beta-carotene, carotenoids and the prevention of coronary heart disease. *J Nutr*. 1999;129:5-8.
  119. Expert Panel of the Diet and Cancer Project. *Food, Nutrition and the Prevention of Cancer: A Global Perspective*. Washington, DC: American Institute for Cancer Research; 1997:412-413.
  120. Institute of Medicine, Food and Nutrition Board. *Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids*. Washington, DC: National Academy Press; 2000:342-350.
  121. Riedl J, Linseisen J, Hoffmann J, Wolfram G. Some dietary fibers reduce the absorption of carotenoids in women. *J Nutr*. 1999;129:2170-2176.
  122. Schlagheck TG, Riccardi KA, Zorich NL, Torri SA, Dugan LD, Peters JC. Olestra dose response on fat-soluble and water-soluble nutrients in humans. *J Nutr*. 1997;127(8, suppl):1646S-1665S.
  123. Elinder LS, Hadell K, Johansson J, et al. Probucol treatment decreases serum concentrations of diet-derived antioxidants. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1995;15:1057-1063.
  124. Alpha-Tocopherol, Beta Carotene Cancer Prevention Study Group. The effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. *N Engl J Med*. 1994;330:1029-1035.
  125. Greenberg ER, Baron JA, Karagas MR, et al. Mortality associated with low plasma concentration of beta carotene and the effect of oral supplementation. *JAMA*. 1996;275:699-703.
  126. Omenn GS, Goodman GE, Thornquist MD, et al. Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. *N Engl J Med*. 1996;334:1150-1155.
  127. Hennekens CH, Buring JE, Manson JE, et al. Lack of effect of long-term supplementation with beta carotene on the incidence of malignant neoplasms and cardiovascular disease. *N Engl J Med*. 1996;334:1145-1149.
  128. Lee IM, Cook NR, Manson JE, Buring JE, Hennekens CH. Beta-carotene supplementation and incidence of cancer and cardiovascular disease: the Women's Health Study. *J Natl Cancer Inst*. 1999;91:2102-2106.
  129. Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial results, I: reduction in incidence of coronary heart disease. *JAMA*. 1984;251:351-364.
  130. Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial results, II: the relationship of reduction in incidence of coronary heart disease to cholesterol lowering. *JAMA*. 1984;251:365-374.
  131. Lipid Research Clinics Investigators. The Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial: results of 6 years of post-trial follow-up. *Arch Intern Med*. 1992;152:1399-1410.
  132. Drasar BS, Hill MJ. Intestinal bacteria and cancer. *Am J Clin Nutr*. 1972;25:1399-1404.
  133. Wilt TJ, MacDonald R, Ishani A. Beta-sitosterol for the treatment of benign prostatic hyperplasia: a systematic review. *BJU Int*. 1999;83:976-983.
  134. Awad AB, Fink CS. Phytosterols as anticancer dietary components: evidence and mechanism of action. *J Nutr*. 2000;130:2127-2130.
  135. Anttolainen M, Luoto R, Uutela A, et al. Characteristics of users and nonusers of plant stanol ester margarine in Finland: an approach to study functional foods. *J Am Diet Assoc*. 2001;101:1365-1368.
  136. LaRosa JC, He J, Vupputuri S. Effect of statins on risk of coronary disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *JAMA*. 1999;282:2340-2346.
  137. Women's Health Initiative Study Group. Design of the Women's Health Initiative clinical trial and observational study. *Control Clin Trials*. 1998;19:61-109.

