

Bitki steroller ve stanollerinin farklı doz aralıklarında LDL-kolesterol düşürücü etkisi: randomize kontrollü çalışmaların meta-analizi

Rouyanne T. Ras^{1*}, Johanna M. Geleijnse² ve Elke A. Trautwein¹

¹Unilever RGD Vlaardingen, Olivier van Noortlaan 120, PO Box 114, 3130 AC Vlaardingen, Hollanda

²İnsan Beslenmesi Bölümü, Wageningen Üniversitesi, Bomenweg 2, 6703 HD Wageningen, Hollanda

(Gönderim tarihi: 7 Kasım 2013 - Son revizyon alınma tarihi: 28 Şubat 2014 - Kabul tarihi: 5 Mart 2014 - İlk çevrimiçi yayınlanma tarihi: 30 Nisan 2014)

Özet

Fitosterollerin (PS, bitki steroller ve bitki stanollerinden oluşur) LDL-kolesterol konsantrasyonlarını düşürdüğü kanıtlanmıştır. Bu etki için doz-yanıt ilişkisi, farklı doz aralıkları için ortalamalar hesaplanarak veya sürekli doz-yanıt fonksiyonları uygulanarak çeşitli meta-analizlerde değerlendirilmiştir. Her iki yaklaşımın da avantajları ve dezavantajları vardır. Şimdiye kadar, farklı doz aralıkları için ortalamaların hesaplanması bitki steroller ve stanoller için ayrı yapılmamıştır. Bu meta-analizin amacı, farklı doz aralıklarında sınıflandırıldığında bitki steroller ve stanollerinin birleşik ve ayrı etkilerini araştırmaktır. Çalışmalar araştırılmış ve önceden tanımlanmış kriterlere göre seçilmiştir. İlgili veriler çıkarılmıştır. Ortalama LDL-kolesterol etkileri, çalışmalar doza göre kategorize edildiğinde, varyansı ağırlık faktörü olarak kullanırken rastgele etki modellerine göre hesaplanmıştır. Bu işlem bitki steroller ve stanoller için ayrı ayrı ve birlikte yapılmıştır. Toplamda 124 çalışma (201 tabaka) dahil edilmiştir. Bitki steroller ve stanoller sırasıyla 129 ve elli dokuz tabakada uygulanmıştır; geri kalanlarda ise her ikisinin karışımı kullanılmıştır. Ortalama PS dozu 2,1 (aralık 0,2 - 9,0) g/gün idi. Günde 0,6 - 3,3 g PS alımının LDL-kolesterol konsantrasyonlarını kademeli olarak ortalama %6 - 12 oranında azalttığı bulunmuştur. Bitki steroller ve stanoller ayrı ayrı analiz edildiğinde, net ve karşılaştırılabilir doz-yanıt ilişkileri gözlemlenmiştir. PS dozları 4 g/gün'ü aşan çalışmalar, az sayıda ve geniş bir doz aralığına dağılmış olduğundan bir havuzda toplanmamıştır. Sonuç olarak, hem bitki sterollerinin hem de stanollerin LDL-kolesterol düşürücü etkisi yaklaşık 3 g/gün'lük alımlara kadar artmaya devam etmekte ve ortalama %12'lik bir etkiye ulaşmaktadır.

Anahtar kelimeler: Bitki steroller; Bitki stanoller; LDL-kolesterol; Doz-yanıt yöntemleri; Meta-analizler

Hem bitki sterollerini hem de bitki stanollerini içeren fitosteroller (PS), bitkisel yağlar, kabuklu yemişler, tohumlar, tahıl ürünleri, meyveler ve sebzeler gibi bitkisel kaynaklı tüm gıdalarda doğal olarak bulunan bileşiklerdir. Doğal oluşumlu PS'nin genel beslenmeyle alımı yaklaşık 200-400 mg/gün'dür⁽¹⁻³⁾. Daha yüksek PS alımları, PS alımlarının neredeyse iki katına çıktığı vejetaryen diyetler gibi sebze bazlı diyetler tüketerek^(4,5) veya PS ile zenginleştirilmiş gıda ürünleri tüketerek elde edilebilir. PS ile zenginleştirilmiş gıdaların toplam kolesterolü ve özellikle LDL-kolesterolü düşürücü özellikleri iyi bilinmektedir⁽⁶⁾. Yüksek LDL-kolesterol konsantrasyonlarına sahip olmak KVH için en önemli risk faktörlerinden biridir. PS ile zenginleştirilmiş gıdalar, hiperkolesterolemi yönetiminde sağlıklı beslenme ve yaşam tarzı değişikliklerinin bir parçası olarak değerli bir seçenek olarak kabul edilmektedir^(7,8).

1950'lerden bu yana, PS'nin LDL-kolesterol düşürücü etkisi üzerine çok sayıda araştırma yapılmış ve bu zengin kanıtlar çeşitli meta-analizlerde özetlenmiştir^(6,9-12). Bu meta-analizlerde, PS'nin LDL-kolesterol düşürücü etkinliği için doz-yanıt ilişkisi araştırılmıştır. Law⁽⁹⁾, Katan ve arkadaşları⁽⁶⁾ ve Abumweis ve arkadaşları⁽¹⁰⁾ tarafından gerçekleştirilen meta-analizler, farklı PS doz kategorileri için ortalama LDL-kolesterol düşürücü etkilerin hesaplanmasına dayanan bir doz-yanıt ilişkisi tanımlamıştır.

Daha yakın zamanda, Demonty ve arkadaşları⁽¹¹⁾, kolesterol taşınması ve emiliminde yer alan süreçlerin doyurulabilir olduğu varsayımına dayanan birinci dereceden bir eliminasyon fonksiyonu tarafından belirlenen sürekli bir doz-yanıt ilişkisini araştırmışlardır. Musa-Veloso ve arkadaşları⁽¹²⁾ daha sonra bu sefer bitki steroller ve stanoller için ayrı ayrı olmak üzere benzer sürekli doz-yanıt eğrileri oluşturmuştur. Genel olarak bu analizler, artan PS dozuyla birlikte LDL-kolesterol düşürücü etkinin arttığı, ancak bu etkinin 2-3 g/gün dozlarında azaldığı sonucuna varmıştır.

Doz-yanıt ilişkisini incelemek için kullanılan uygulamalı yaklaşımlar, doz aralıkları için ortalama etkileri göstermek ve sürekli doz-yanıt fonksiyonları oluşturmak arasında farklılık gösterir. Her iki yaklaşımın da avantajları ve dezavantajları vardır. Sürekli bir doz-yanıt ilişkisinin kurulması, belirli bir PS dozu için etkilerin tahmin edilmesine olanak sağlama avantajına sahiptir. Bununla birlikte, eğrinin şekli büyük ölçüde çalışmaların tüm doz aralığındaki dağılımına bağlıdır; bu dağılım dengeli değilse, bu tür bir analiz belirli dozlarda tahmin edilen etkilerin aşırı veya düşük tahmin edilmesine karşı savunmasız hale gelebilir.

Kısaltma: PS, fitosteroller.

* Sorumlu yazar: R. T. Ras, faks+ 31 10 460 5993, e-posta rouyanne.ras@unilever.com



Örneğin, Musa-Veloso ve arkadaşları⁽¹²⁾ tarafından gerçekleştirilen meta-analizde, tasvir edilen bitki sterol eğrisi, 2,7-3,3 g/gün dozlarında bitki sterollerinin etkilerini açıkça olduğundan az göstermiştir. Sonuç olarak, bitki sterollerine kıyasla bitki stanollerini için daha büyük bir maksimal düşürücü etkinin mevcut olduğu öne sürülmüştür. Önceden tanımlanmış PS doz aralıkları için ortalama etkilerin hesaplanması, potansiyel aşırı veya eksik tahminlere karşı daha az hassastır, ancak bu yaklaşım, sürekli bir doz aralığı üzerindeki etkilerin tahmin edilmesine izin vermemektedir.

Şimdiye kadar, farklı doz aralıkları için tartılmış ortalamaların hesaplanması bitki sterollerini ve stanollerini için ayrı ayrı yapılmamıştır. Böyle bir analiz, bazı tartışmaların mevcut olduğu bu iki PS türünün LDL-kolesterol düşürücü etkinliğinin karşılaştırılmasında faydalı bilgiler sağlayacaktır⁽¹²⁻¹⁵⁾. Bu nedenle, mevcut analizin temel amacı, farklı doz aralıklarında sınıflandırıldığında bitki sterollerini ve stanollerinin birleşik ve ayrı LDL-kolesterol düşürücü etkilerini araştırmak olmuştur. Bitki sterollerini ve stanollerinin en azından ortalama 3 g/gün⁽¹⁶⁾ alımına kadar benzer bir LDL-kolesterol düşürücü etki göstereceği varsayılmıştır.

Veri çıkarma ve istatistiksel analiz

Mevcut analiz için aşağıdaki veriler çıkarılmıştır: referans bilgileri (ilk yazar ve yayın yılı); çalışma tasarımı (paralel veya çapraz); denek sayısı (örnekleme büyüklüğü); test ürünü özellikleri (doz, PS türü (bitki sterollerini veya bitki stanollerini veya karışımı) ve gıda formatı); LDL-kolesterol konsantrasyonunda plaseboya göre ayarlanmış göreceli (%) değişiklik ve buna eşlik eden varyans ölçüsü. Göreceli değişikliklerin rapor edilmemesi durumunda, bunlar aşağıdaki şekilde hesaplanmıştır:

Paralel çalışmalar için,

$$LDL_{change} \approx \% \Delta LDL_{treatment} - \% \Delta LDL_{control},$$

Burada:

$$\% \Delta LDL_{treatment} \approx 100 \times \frac{LDL_{treatment_end} - LDL_{treatment_baseline}}{LDL_{treatment_baseline}}$$

ve

$$\% \Delta LDL_{control} \approx 100 \times \frac{LDL_{control_end} - LDL_{control_baseline}}{LDL_{control_baseline}}.$$

Çapraz çalışmalar için,

$$LDL_{change} \approx 100 \times \frac{LDL_{treatment_end} - LDL_{control_end}}{LDL_{control_end}}.$$

DeneySEL yöntemler

Arama stratejisi ve uygun çalışmaların seçimi

Mevcut analize uygun potansiyel olarak ilgili insan çalışmalarını elde etmek amacıyla, neredeyse aynı arama stratejilerini kullanan en son iki meta-analizin^(11,12) yazarları tarafından yürütülen sistematik aramalara dayalı olarak hareket ettik. Demonty ve arkadaşları⁽¹²⁾ tarafından yürütülen meta-analize 141 çalışma koluna sahip seksen bir çalışma dahil edilirken, Musa-Veloso ve arkadaşları⁽¹²⁾ tarafından yürütülen daha yeni meta-analize 182 çalışma koluna sahip 114 çalışma dahil edilmiştir. Bu iki meta-analizden sonra yayınlanan uygun çalışmaları elde etmek için, Eylül 2010'dan Eylül 2011'e kadar dokuz veri tabanı (MEDLINE, Embase, BIOSIS, CAB Abstracts, FROSTI, Food Science and Technology Abstracts, Chemical Abstracts, PASCAL ve AGRICOLA) kullanılarak ek bir arama yapılmıştır. Yine aynı arama terimleri kullanılmış, dil kısıtlaması olmaksızın insan çalışmalarıyla sınırlandırılmıştır.

En son yayınlanan iki meta-analizde^(11,12) açıklanan kriterlere dayanarak, daha yakın zamanda yayınlanan çalışmaları seçmek üzere aşağıdaki kriterleri formüle ettik: (1) yetişkin insanlarda randomize kontrollü çalışmalar; (2) soya fasulyesi yağı, kolza tohumu yağı ve uzun boylu yağ gibi bitkisel yağlardan elde edilen 4-desmetilsteroller ve/veya 4-desmetilstanoller ile tedavi (yani pirinç kepeği yağı veya karite fındığı yağından elde edilenler gibi ferüle PS hariç); (3) birincil veya ikincil sonuç olarak kan lipitlerinin araştırılması; (4) PS ile zenginleştirilmiş gıdaların veya takviyelerin alınımının izole edilemediği bir ortak müdahalenin olmaması; (5) ilgili LDL-kolesterol verilerinin mevcudiyeti; (6) kontrol grubunda/döneminde uygun plasebo kullanımı; (7) en az 2 hafta boyunca PS tüketimi; (8) 10 g/gün'ü aşmayan PS dozu; (9) kolektomili hastaları içeren çalışmaların olmaması (kolektominin etkinlik üzerinde bir etkisi olmadığı fikri dışlanamayacağı için).

LDL-kolesterol konsantrasyonları müdahale sırasında çeşitli zaman noktalarında ölçüldüğünde, analiz için 4 haftalık zaman noktasına karşılık gelen veya yakın olan konsantrasyon alınmıştır. Göreceli değişikliklerin varyans ölçümleri sağlanmadığında ve P değerlerine veya %95 CI'ya dayalı olarak elde edilemediğinde, bunlar aktif ve plasebo gruplarında/dönemlerinde başlangıç ve müdahale sonundaki varyans ölçümleri kullanılarak hesaplanmıştır ve daha önceki bir araştırmaya dayalı olarak⁽¹⁷⁾ denek içi korelasyon katsayısının 0,8 olduğu varsayılmıştır.

İnsan müdahalesi çalışmaları PS dozlarına göre altı kategoriye ayrılmıştır: doz < 1.0 g/gün; ≥ 1.0 doz < 1.5 g/gün; ≥ 1.5 doz < 2.0 g/gün; ≥ 2.0 doz < 2.5 g/gün; ≥ 2.5 doz < 3.0 g/gün; ≥ 3.0 doz ≤ 4.0 g/gün. Bu yaklaşım, 0,5 ve 3,5 ile 4,0 g/gün arasındaki dozları kullanan çalışmaların sayısı oldukça sınırlı olduğu için (her biri n 6), en düşük ve en yüksek kategoriler dışında artan doz adımı 0,5 g/gün olacak şekilde seçilmiştir. Dozları 4 g/gün'ü aşan çalışma kolları az olmuş (n 5) ve geniş bir PS dozu aralığına (5,8-9,0 g/gün) dağılmıştır; bu nedenle, bu çalışmaların tek bir kategoride toplanmasının uygun olmadığına karar verilmiştir; bu çalışmalar yalnızca tanımlayıcı amaçlar için kullanılmıştır. Her çalışma için PS dozu uygulanan gerçek doza göre belirlenmiştir; rapor edilmediğinde amaçlanan doz kullanılmıştır. Bu makale boyunca, bitki sterollerini/stanollerinin dozları serbest (esterleşmemiş) bitki sterolu/stanol eşdeğerleri olarak ifade edilmiş ve virgülden sonra bir haneye yuvarlanmıştır.

Havuzda toplanan LDL-kolesterol etkileri, çalışmalar PS dozlarına göre kategorize edilirken (yani PS dozu ile tanımlanan alt gruplarla alt grup analizi), DerSimonian & Laird⁽¹⁸⁾ tarafından açıklanan yöntemlere göre rastgele-etki modelleri kullanılarak hesaplanmıştır. Rastgele etki modelleri, çalışmalar içinde ve arasında gözlemlenen LDL-kolesterol düşürücü etkilerdeki çeşitliliği dikkate aldığı için kullanılmıştır.



Çalışmalar varyanslarının tersine göre ağırlıklandırılmıştır ($1/SE^2$). Analizler bitki sterollerini ve stanoller için birlikte ve ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir. Gerektiğinde, gıda formatının PS'nin LDL-kolesterol düşürücü etkinliği üzerindeki etkisini araştırmak için daha derinlemesine bir analiz yapılmıştır. Havuzda toplanan tahminler ve bunlara eşlik eden %95 CI, SAS Sisteminin PROC MIXED fonksiyonu kullanılarak belirlenmiştir (sürüm 9.2; SAS Institute).

Sonuçlar

Dahil edilen çalışmalara genel bakış

Toplamda, 201 çalışma koluna sahip 124 insan çalışması mevcut analize dahil edilmiştir. 116 çalışma kolunda paralel tasarım, seksen beş çalışma kolunda çapraz tasarım kullanılmıştır. Bitki sterollerini ve stanoller sırasıyla 129 ve elli dokuz çalışma kolunda uygulanmıştır; kalan on üç çalışma kolunda ise bitki sterollerini ve stanollerin bir karışımı uygulanmıştır. Çalışma kolu başına denek sayısı ortalama 48'dir (aralık 7-201). Ortalama PS dozu 2.1 (aralık 0.2-9.0) g/gün olmuştur. Çalışmaların çoğunda PS ile zenginleştirme için (az yağlı) margarinler/sürülebilir ürünler veya süt tipi ürünler kullanılmıştır; diğer gıda formatları arasında tahıllar, mayonez, salata sosu, soya ürünleri, unlu mamuller, portakal suyu ve bitkisel yağlar yer almaktadır. Dahil edilen çalışmalara genel bir bakış çevrimiçi ek materyalde verilmiştir.

Bitki sterollerini ve stanollerinin birlikte ve ayrı ayrı LDL-kolesterol düşürücü etkisi

Tanımlanan doz aralıklarının her biri için ortalama PS dozları ve LDL-kolesterol konsantrasyonları üzerindeki göreceli etkiler Tablo 1'de özetlenmiştir. Bitki sterollerini ve stanoller birlikte analiz edildiğinde, PS alımlarının LDL-kolesterol konsantrasyonlarını doza bağlı bir şekilde azalttığı bulunmuştur ($P < 0.001$; Şekil 1). Bitki sterollerini ve stanoller ayrı ayrı analiz edildiğinde, net ve karşılaştırılabilir doz-yanıt ilişkileri gözlenmiştir (Şekil 2). Dozun etkisi her iki analizde de önemli olmuştur (bitki sterollerini için $P < 0.001$ ve bitki stanollerini için $P = 0.001$).

Mevcut analizde, ≥ 2.0 doz < 2.5 g/gün kategorisinde, bitki sterollerini ve stanoller arasında LDL-kolesterol düşürücü etkinlikte %2'lik belirgin bir fark gözlenmiştir. Bu bulguyu açıklayabilecek faktörleri araştırmak için yapılan *post hoc* analizde, gıda formatının kıvamının (katı/yenilebilir veya sıvı/içilebilir) bir rol oynayabileceği görülmüştür. Aslında, bu özel doz kategorisinde, kırk bitki sterolü çalışmasının on beşinde sıvı gıda formatı kullanılırken, on sekiz stanol çalışmasının sadece dördünde bu tür gıda formatı kullanılmıştır. Kullanılan PS türünden bağımsız olarak, sıvı gıdalar LDL-kolesterol konsantrasyonlarını ortalama %6,5 oranında düşürürken, katı gıdalar LDL-kolesterol konsantrasyonlarını ortalama %9,2 oranında düşürmüştür ($P = 0,003$).

Tartışma

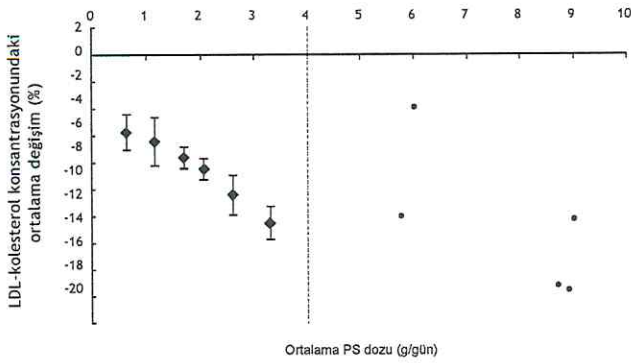
Doz aralıklarına dayanan mevcut meta-analiz, bitki sterollerini ve stanollerin LDL-kolesterol konsantrasyonlarını en azından yaklaşık 3 g/gün'e kadar benzer ölçüde ve doza bağlı bir şekilde düşürdüğünü göstermiştir. Bitki sterollerini ve stanoller arasında kolesterol düşürme potansiyelleri açısından gözlenen karşılaştırılabilirlik, yakın zamanda yapılan bir meta-analizin bulgularıyla uyumludur⁽¹⁶⁾. Bu meta-analize⁽¹⁶⁾ 0,6 ila 3,3 g/gün arasında değişen PS dozlarında bitki sterollerinin LDL-kolesterol düşürücü etkinliğini bitki stanollerininki ile yan yana karşılaştıran on dört çalışma dahil edilmiştir. Kullanılabilir LDL-kolesterol verilerini rapor eden on beş çalışma kolundan yedi çalışma kolu, bitki sterollerini için bitki stanollerine kıyasla anlamlı olmayan şekilde daha büyük bir LDL-kolesterol düşürücü etki gösterirken, sekiz çalışma kolu bitki stanollerini için bitki sterollerine kıyasla nispeten daha büyük bir etki göstermiştir. Genel olarak, bitki sterollerini ve stanollerinin kan lipitleri üzerinde istatistiksel veya klinik olarak anlamlı farklı etkileri olmadığı sonucuna varılmıştır. Daha yüksek alımlarda (> 4 g/gün), bazı bireysel çalışmalar bitki stanollerini^(19,20) için bitki sterollerine⁽²¹⁾ kıyasla daha büyük bir LDL-kolesterol düşürücü etki olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, yüksek doz çalışmaları azdır ve geniş bir PS dozu aralığına (5.8 - 9.0 g/gün) dağılmıştır. Uygun yüksek doz eşdeğerlik testi için, aynı koşullar altında yüksek doz bitki sterolü veya yüksek doz bitki stanolü tedavisi gören deneklerle doğrudan bir karşılaştırma çalışmasına ihtiyaç duyulacaktır.

Tablo 1. Fitosterollerin (PS) farklı doz aralıkları için kombine ve bitki sterollerini ve stanollerini için ayrı ayrı ortalama LDL-kolesterol düşürücü etki (Ortalama değerler ve %95 güven aralıkları)

PS doz kategorileri (g/gün)*	Ortalama PS dozu (g/gün)	Ortalama LDL-kolesterol etkisi (%)								
		Kombine		Bitki sterollerini		Bitki stanollerini				
		Ortalama	%95 CI	Ortalama	%95 CI	Ortalama	%95 CI	Ortalama	%95 CI	
Doz < 1.0	24 (1 karışım, 22 sterol, 1 stanol)	0.6	-5.7	-7.1, -4.4	-5.6	-7.1, -4.2	-7.4	-15.2, 0.4		
≥ 1.0 doz < 1.5	13 (2 karışım, 9 sterol, 2 stanol)	1.1	-6.4	-8.2, -4.6	-6.5	-8.6, -4.4	-6.3	-12.0, -0.6		
≥ 1.5 doz < 2.0	55 (7 karışım, 39 sterol, 9 stanol)	1.7	-7.6	-8.4, -6.8	-7.6	-8.6, -6.7	-6.7	-8.8, -4.7		
≥ 2.0 doz < 2.5	60 (2 karışım, 40 sterol, 18 stanol)	2.1	-8.4	-9.2, -7.6	-8.0	-9.0, -7.0	-10.0	-11.3, -8.6		
≥ 2.5 doz < 3.0	17 (0 karışım, 6 sterol, 11 stanol)	2.6	-10.3	-11.8, -8.9	-10.5	-13.7, -7.3	-10.4	-11.7, -9.1		
≥ 3.0 doz ≤ 4.0	27 (1 karışım, 11 sterol, 15 stanol)	3.3	-12.4	-13.6, -11.2	-12.3	-14.0, -10.6	-12.5	-14.1, -10.8		
P (doz etkisi)			<0.001		<0.001		0.001			

* 4 g/gün'ü aşan dozlar kullanılarak yapılan çalışmalar az sayıda ve geniş bir doz aralığına dağılmış olduğundan bu analize dahil edilmemiştir; bunların kümeleneşinin uygun olmadığına karar verilmiştir.





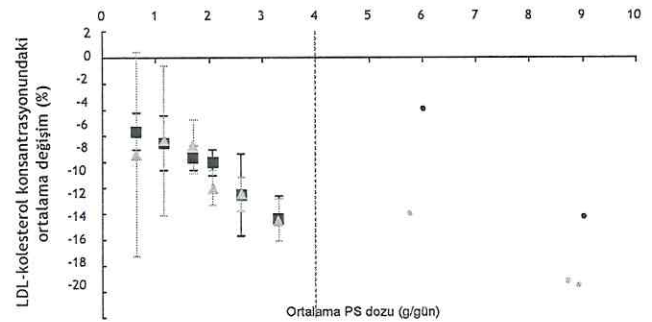
Şekil 1. Fitosterollerin (PS) 4 g/gün'e kadar farklı doz aralıkları için LDL-kolesterol konsantrasyonu üzerindeki ortalama etkileri. ●, az sayıda ve geniş bir doz aralığına dağılmış oldukları için bir havuzda toplanmayan tekli yüksek doz çalışmalarının sonuçlarını temsil etmektedir. Değerler ortalamadır ve %95 CI dikey çubuklarla gösterilmiştir.

Şimdiye kadar böyle bir çalışma yapılmadığından, Plat ve arkadaşları tarafından yakın zamanda tartışıldığı gibi, daha yüksek dozlarda bitki sterollerini ve stanoller arasındaki potansiyel etkinlik farklılıkları hakkında bir sonuç çıkarmak uygun değildir⁽¹³⁾.

PS'nin LDL-kolesterol düşürücü etkisinin doza bağlı olduğu daha önce çeşitli meta-analizlerde^(6,9-12) ve bireysel doz-yanıt çalışmalarında^(19,22-24) gösterilmiştir. Bugüne kadar, meta-analizler PS'nin LDL-kolesterol düşürücü etkisinin 2-3 g/gün'lük alımlarda azaldığını ve daha yüksek alımlarda çok az ek fayda sağladığını göstermiştir^(6,11). Sonuç olarak, çeşitli sağlık otoriteleri hiperkolesterolemi yönetiminde beslenme ve yaşam tarzı kurallarının bir parçası olarak zenginleştirilmiş gıdalardan 2 g/gün'lük PS'yi dahil etmişlerdir^(7,8,25). Mevcut analizden, en azından yaklaşık 3 g/gün'lük PS'ye kadar orantılı bir doz-yanıt etkisi olduğu görülmektedir. Kolesterol emiliminin PS tarafından engellenmesi muhtemelen doyurulabilir bir süreç olduğundan, muhtemelen 3 g/gün'den biraz daha yüksek dozlarda bir miktar azalma etkisi beklenmektedir. Gerçekten de >3 g/gün'lük PS alımları daha fazla LDL-kolesterol faydasına yol açıyorsa bu durum klinik açıdan anlamlı olacaktır çünkü ilave LDL-kolesterol düşüşü daha fazla KVH riski azalması ile sonuçlanabilir. Bununla birlikte, gıdalara daha yüksek miktarlarda PS eklemenin teknik fizibilitesi, maliyet-fayda yönleri ve özellikle tüketicilerin uyumu gibi daha yüksek PS alımlarının pratikte sonuçlarının dikkate alınması gerekmektedir. PS eklenmiş gıdaları gerçekten kullanan popülasyonlarda yapılan araştırmalara dayanarak, gerçek hayatta PS alımının tavsiyenin çok altında olduğu görülmektedir^(26,27); ortalama olarak kullanıcılar 14 g/gün PS ile zenginleştirilmiş margarin tüketmektedir, bu da yaklaşık 1 g/gün PS alımına karşılık gelmektedir. Bu nedenle, insanları yaklaşık 3 g/gün'ü aşan miktarlarda PS tüketmeye teşvik etmek gerçekçi görünmemektedir. Buna ek olarak, nadir homozigot sitosterolemik hastalarda erken ateroskleroz gözlemlenmesi⁽²⁸⁾ ve plazma bitki sterol konsantrasyonları ile KVH riski arasında pozitif bir ilişki olduğunu gösteren epidemiyolojik kanıtlar⁽²⁹⁾ nedeniyle, zenginleştirilmiş gıdalardan yüksek miktarda bitki sterolü alımı takiben plazma bitki sterol konsantrasyonlarındaki artışla ilgili bazı endişeler öne sürülmüştür.

Bununla birlikte, yakın zamanda yapılan bir meta-analiz, mütevazı düzeyde yüksek plazma bitki sterol konsantrasyonları ile KVH riski arasındaki ilişkiyi araştıran gözlemsel çalışmaların tamamını özetlemiş ve böyle bir ilişkinin mevcut olmadığı sonucuna varmıştır⁽³⁰⁾. Ayrıca, bitki sterollerini eklenmiş gıdaların alımından sonra plazma bitki sterol konsantrasyonları, kanda dolaşan toplam sterol konsantrasyonlarının %1'inin altında kalmaktadır⁽¹⁷⁾. Sonuç olarak, bu hususlar dikkate alındığında, önemli bir kolesterol düşürücü etki elde etmek için günde 2-3 g'lık PS tüketilmesine yönelik mevcut tavsiyeler hala geçerli görünmektedir.

Meta-analizlerde doz-yanıt ilişkilerini araştırmak için farklı yaklaşımları kullanılması bazen farklı sonuçlara varılmasına neden olabilir. Örneğin, Musa-Veloso ve arkadaşları⁽¹²⁾ daha önce sürekli doz-yanıt eğrilerini analiz ederken maksimum LDL-kolesterol düşürücü etkinliğin bitki stanollerini için (%16,4) bitki sterollerinden (%8,3) daha fazla olduğu sonucuna varmıştır. Demonty ve arkadaşları⁽¹¹⁾ tarafından gerçekleştirilen meta-analizde de, sürekli analize dayalı olarak bitki stanollerini ve sterollerini arasında maksimum kolesterol düşürücü etkinlikte %6,7'lik anlamlı olmayan bir fark gözlemlenmiştir. Böyle bir yaklaşım, belirli bir PS dozunun LDL-kolesterol düşürücü etkisini tahmin etme fırsatı sunmaktadır. Bununla birlikte, uygulanan model, bitki sterollerinin yaklaşık 3 g/gün dozlarında LDL-kolesterol düşürücü etkisini hafife alıyor gibi görünmektedir. Bunun bitki sterollerini için genel doz-yanıt eğrisinin şeklini etkilemiş olması muhtemeldir. Bu düşük tahmin, çalışmaların tüm doz aralığında eşit olmayan dağılımından kaynaklanmış olabilir. Aslında, nispeten yüksek etkinliğe sahip çok sayıda düşük doz sterol çalışmasının mevcudiyeti muhtemelen bitki sterol eğrisini daha kıvrımlı bir şekilde doğru çekerken, stanol eğrisi çoğunlukla yüksek doz çalışmalarından etkilenmiştir; gerçekten de düşük dozlar (<1,5 g/gün) kullanılarak yapılan stanol çalışmalarının sayısı sınırlıdır. Mevcut analizde yapıldığı gibi, farklı doz aralıkları için ortalama etkilerin hesaplanması, tüm doz aralığındaki veri noktalarının dengesizliğinden daha az etkilendir. Ayrıca bu yaklaşım, rastgele etkili modellerin kullanılması yoluyla çalışmalar arasındaki büyük varyasyonu daha iyi hesaba katma fırsatı sunmaktadır. Öte yandan, doz-yanıt yaklaşımının sınırlamalarından biri de doz aralıklarının tanımının oldukça öznel olmasıdır.



Şekil 2. Fitosterollerin (PS) farklı doz aralıkları için LDL-kolesterol konsantrasyonu üzerindeki ortalama etkileri, bitki sterollerini (■) ve bitki stanollerini (▲) için ayrı ayrı olmak üzere. ●, az sayıda ve geniş bir doz aralığına dağılmış oldukları için bir havuzda toplanmayan tekli yüksek doz çalışmalarının sonuçlarını temsil etmektedir. Değerler ortalamadır ve %95 CI dikey çubuklarla gösterilmiştir.



Özellikle 1,5 ve 2,5 g/gün arasında, kesme değerlerindeki küçük farklılıklar (< 2 veya ≤ 2 g/gün gibi) bitişik doz aralıklarındaki çalışmaların dağılımı ve daha sonra bu belirli doz aralıkları için havuzda toplanmış ortalamalar üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilir. Mevcut analizde, aksi takdirde bu aralıklar çok küçük olacağından, en dış doz aralıkları hariç olmak üzere, bitişik doz aralıkları arasında 0,5 g/gün'lük doz adımları kullanılmıştır. Bu yaklaşım, farklı doz aralıklarındaki çalışma sayısının simetrik bir dağılımına yol açsa da (artan aralıklarda n 24, n 13, n 55, n 60, n 17 ve n 27), bitki sterolu çalışmalarının bitki stanolu çalışmalarına oranı bu tanıma göre orantısızdır (sırasıyla 22:1, 9:2, 39:9, 40:18, 6:11 ve 11:15). Her durumda, doz-yanıt yaklaşımlarından hiçbirinin ideal olmadığı kabul edilmeli ve ele alınan araştırma soruları için hangi yaklaşımın seçileceğine karar vermeden önce doz aralığına karşı sürekli yaklaşımın artıları ve eksileri göz önünde bulundurulmalıdır.

Yukarıda tartışıldığı gibi uygulanan doz-yanıt yönteminin sınırlamalarının yanı sıra, diğer bazı sınırlamalardan da bahsedilmelidir. Mevcut analiz tipik bir meta-analiz olarak kurgulanmamıştır, ancak aslında farklı analiz tekniklerinin kullanılmasının önemini vurgulayarak daha önce yayınlanmış meta-analizler^(11,12) üzerine inşa edilmiştir. Bu nedenle, heterojenlik testleri ve yayın yanlılığı testleri yapılmamıştır. Ancak, çalışmalar arası varyasyon hiçbir zaman göz ardı edilemeyeceğinden, bu varyasyonun bir kısmını dikkate alan rastgele etkiler modellerini kullanmaya önceden karar verilmiştir. Ayrıca, başlangıçtaki kolesterol konsantrasyonunun ve PS dozunun PS'nin LDL-kolesterol düşürücü etkisinin boyutunu etkileyen önemli faktörler olduğu gösterilmiştir^(6,10,11); göreceli değişikliklere ve doz-yanıt ilişkilerine bakarak, bu iki önemli faktörü ele aldığımızı inanıyoruz. Bununla birlikte, PS dozları aralığında gıda formatlarındaki farklılıklar gibi diğer faktörlerin çalışma sonuçlarını etkilemiş olabileceğini göz ardı edemeyiz. Örneğin, mevcut analizde, ≥ 2.0 doz < 2.5 g/gün kategorisinde bitki sterollerini için bitki stanollerine göre biraz daha düşük etkinlik bulunmuştur; bunun nedeni muhtemelen bitki sterolu çalışmaları arasında bitki stanolu çalışmalarına göre daha fazla sayıda sıvı gıda formatı olmasıdır. Katı gıdalara kıyasla sıvı gıdalardaki PS, gastrointestinal sistemdeki geçiş süresinin daha kısa olması nedeniyle kolesterol konsantrasyonlarını düşürmede daha az etkili olabilir. Ayrıca, sıvı gıdalar (içecekler) tanım gereği bir öğünle birlikte tüketilmemektedir; PS'nin misel birleşmesi için kolesterolle en iyi şekilde rekabet etmesi ve bunun sonucunda kolesterol emilimini en iyi şekilde engellemesi amacıyla safra salınımını tetiklemek için yeterli miktarda gıda (yani yağ) alınması gerekmektedir⁽³¹⁾. Dahil edilen önemli sayıda çalışma göz önüne alındığında, yayın yanlılığının bulguları ciddi şekilde etkilemediğini varsayıyoruz. Son olarak, çalışma kalitesini değerlendirmenin oldukça öznel bir egzersiz olduğuna inandığımızdan ve düşük kaliteli çalışmaların hariç tutulmasının farklı sonuçlara yol açtığı kanıtlanmadığından çalışmaların kalitesi değerlendirilmemiştir⁽¹⁰⁾.

Özet olarak, mevcut analiz PS'nin LDL-kolesterol düşürücü etkisinin yaklaşık 3 g/gün'lük alımlara kadar artmaya devam ederek ortalama %12'lik bir etkiye ulaştığını göstermiştir. Bu durum hem bitki sterollerini hem de stanoller için gösterilmiştir.

Farklı meta-analitik doz-yanıt yöntemlerinin avantaj ve dezavantajlarını göz önünde bulundurmanın önemli tartışılmıştır; gelecekteki çalışmalar, ele alınan araştırma sorularına ve elde edilen verilere bağlı olarak en uygun doz-yanıt yaklaşımına karar vermelidir.

Tamamlayıcı materyal

Bu makalenin tamamlayıcı materyallerini görüntülemek için lütfen <http://dx.doi.org/10.1017/S0007114514000750> adresini ziyaret edin.

Teşekkür

Yazarların katkıları aşağıdaki gibidir: R. T. R. ve E. A. T. araştırma sorularını formüle etmiş ve araştırmayı yürütmüştür. Tüm yazarlar araştırmayı tasarlamış, verileri yorumlamış ve makaleyi yazmıştır.

R. T. R. ve E. A. T. Unilever tarafından istihdam edilmektedir. Unilever bitki sterollerini ile zenginleştirilmiş gıda ürünleri pazarlamaktadır. J. M. G.'nin beyan edeceği herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Kaynaklar

1.





LDL-cholesterol-lowering effect of plant sterols and stanols across different dose ranges: a meta-analysis of randomised controlled studies

Rouyanne T. Ras^{1*}, Johanna M. Geleijnse² and Elke A. Trautwein¹

¹Unilever R&D Vlaardingen, Olivier van Noortlaan 120, PO Box 114, 3130 AC Vlaardingen, The Netherlands

²Division of Human Nutrition, Wageningen University, Bomenweg 2, 6703 HD Wageningen, The Netherlands

(Submitted 7 November 2013 – Final revision received 28 February 2014 – Accepted 5 March 2014 – First published online 30 April 2014)

Abstract

Phytosterols (PS, comprising plant sterols and plant stanols) have been proven to lower LDL-cholesterol concentrations. The dose–response relationship for this effect has been evaluated in several meta-analyses by calculating averages for different dose ranges or by applying continuous dose–response functions. Both approaches have advantages and disadvantages. So far, the calculation of averages for different dose ranges has not been done for plant sterols and stanols separately. The objective of the present meta-analysis was to investigate the combined and separate effects of plant sterols and stanols when classified into different dose ranges. Studies were searched and selected based on predefined criteria. Relevant data were extracted. Average LDL-cholesterol effects were calculated when studies were categorised by dose, according to random-effects models while using the variance as weighing factor. This was done for plant sterols and stanols combined and separately. In total, 124 studies (201 strata) were included. Plant sterols and stanols were administered in 129 and fifty-nine strata, respectively; the remaining used a mix of both. The average PS dose was 2.1 (range 0.2–9.0) g/d. PS intakes of 0.6–3.3 g/d were found to gradually reduce LDL-cholesterol concentrations by, on average, 6–12%. When plant sterols and stanols were analysed separately, clear and comparable dose–response relationships were observed. Studies carried out with PS doses exceeding 4 g/d were not pooled, as these were scarce and scattered across a wide range of doses. In conclusion, the LDL-cholesterol-lowering effect of both plant sterols and stanols continues to increase up to intakes of approximately 3 g/d to an average effect of 12%.

Key words: Plant sterols: Plant stanols: LDL-cholesterol: Dose–response methods: Meta-analyses

Phytosterols (PS), comprising both plant sterols and plant stanols, are compounds that naturally occur in all foods of plant origin such as vegetable oils, nuts, seeds, grain products, fruits and vegetables. The intake of naturally occurring PS from the general diet is about 200–400 mg/d^(1–3). Higher PS intakes can be achieved by consuming vegetable-based diets such as vegetarian diets for which PS intakes are almost doubled^(4,5) or by consuming food products enriched with PS. PS-enriched foods are well known for their total cholesterol- and especially LDL-cholesterol-lowering properties⁽⁶⁾. Having elevated LDL-cholesterol concentrations is one of the most important risk factors for CVD. PS-enriched foods are considered a valuable option as part of healthy diet and lifestyle changes in the management of hypercholesterolaemia^(7,8).

Since the 1950s, abundant research into the LDL-cholesterol-lowering effect of PS has been carried out and this wealth of evidence has been summarised in several meta-analyses^(6,9–12). In these meta-analyses, the dose–response relationship for the LDL-cholesterol-lowering efficacy of PS has been investigated. The meta-analyses carried out by Law⁽⁹⁾, Katan *et al.*⁽⁶⁾ and

Abumweis *et al.*⁽¹⁰⁾ described a dose–response relationship based on the calculation of average LDL-cholesterol-lowering effects for different categories of PS doses. More recently, Demonty *et al.*⁽¹¹⁾ have investigated a continuous dose–response relationship, as determined by a first-order elimination function based on the assumption that processes involved in cholesterol transport and absorption are saturable. Musa-Veloso *et al.*⁽¹²⁾ subsequently established similar continuous dose–response curves, but this time for plant sterols and stanols separately. Overall, these analyses concluded that with an increasing dose of PS, the LDL-cholesterol-lowering effect increases, but that this effect tapers off at doses of 2–3 g/d.

The applied approaches used to study the dose–response relationship differ between showing average effects for ranges of doses and establishing continuous dose–response functions. Both approaches have advantages and disadvantages. Establishing a continuous dose–response relationship has the advantage that it allows predicting effects for a given dose of PS. However, the shape of the curve largely depends on the distribution of studies across the entire range of doses; if this distribution is

Abbreviation: PS, phytosterols.

* **Corresponding author:** R. T. Ras, fax +31 10 460 5993, email rouyanne.ras@unilever.com





not balanced, this type of analysis may become vulnerable for over- or underestimation of the estimated effects at certain doses. For example, in the meta-analysis carried out by Musa-Veloso *et al.*⁽¹²⁾, the depicted plant sterol curve clearly underestimated the effects of plant sterols at doses of 2.7–3.3 g/d. As a result, it was suggested that a larger maximal lowering effect exists for plant stanols than for plant sterols. The calculation of average effects for predefined ranges of PS doses is less sensitive to potential over- or underestimation, but this approach does not allow predicting effects over a continuous range of doses.

So far, the calculation of weighed averages for different dose ranges has not been done for plant sterols and stanols separately. Such an analysis would provide useful insights into the comparison of the LDL-cholesterol-lowering efficacy of these two types of PS for which some debate exists^(12–15). Therefore, the main objective of the present analysis was to investigate the combined and separate LDL-cholesterol-lowering effects of plant sterols and stanols when classified into different dose ranges. It was hypothesised that plant sterols and stanols would exert a similar LDL-cholesterol-lowering effect at least up to intakes of, on average, 3 g/d⁽¹⁶⁾.

Experimental methods

Search strategy and selection of eligible studies

To retrieve potentially relevant human studies eligible for the present analysis, we relied on the systematic searches carried out by the authors of the two most recent meta-analyses^(11,12) that used almost identical search strategies. In the meta-analysis carried out by Demonty *et al.*⁽¹¹⁾, eighty-one studies with 141 study arms were included, whereas in the more recent meta-analysis carried out by Musa-Veloso *et al.*⁽¹²⁾, 114 studies with 182 study arms were included. To retrieve eligible studies that had been published after these two meta-analyses, an additional search was carried out using nine databases (MEDLINE, Embase, BIOSIS, CAB Abstracts, FROSTI, Food Science and Technology Abstracts, Chemical Abstracts, PASCAL and AGRICOLA) from September 2010 to September 2011. Again, identical search terms were used, limited to human studies with no restriction on language.

Based on the criteria described in the two most recent meta-analyses^(11,12), we formulated the following criteria for selecting more recently published studies: (1) randomised controlled studies in human adults; (2) treatment with 4-desmethylsterols and/or 4-desmethylstanols extracted from vegetable oils such as soyabean oil, rapeseed oil and tall oil (so no ferulated PS such as those from rice bran oil or shea nut oil); (3) investigation of blood lipids as primary or secondary outcomes; (4) absence of a co-intervention from which the intake of PS-enriched foods or supplements could not be isolated; (5) availability of relevant LDL-cholesterol data; (6) use of proper placebo in the control group/period; (7) consumption of PS for at least 2 weeks; (8) dose of PS not exceeding 10 g/d; (9) no studies including colectomised patients because it cannot be excluded that colectomy does not have an impact on efficacy.

Data extraction and statistical analysis

For the present analysis, the following data were extracted: reference information (first author and year of publication); study design (parallel or cross-over); number of subjects (sample size); test product characteristics (dose, type of PS (plant sterols or plant stanols or mix) and food format); the placebo-adjusted relative (%) change in LDL-cholesterol concentration plus accompanying variance measure. In case relative changes were not reported, these were calculated as follows:

For parallel studies,

$$LDL_{\text{change}} \approx \% \Delta LDL_{\text{treatment}} - \% \Delta LDL_{\text{control}},$$

where

$$\% \Delta LDL_{\text{treatment}} \approx 100 \times \frac{LDL_{\text{treatment_end}} - LDL_{\text{treatment_baseline}}}{LDL_{\text{treatment_baseline}}}$$

and

$$\% \Delta LDL_{\text{control}} \approx 100 \times \frac{LDL_{\text{control_end}} - LDL_{\text{control_baseline}}}{LDL_{\text{control_baseline}}}$$

For cross-over studies,

$$LDL_{\text{change}} \approx 100 \times \frac{LDL_{\text{treatment_end}} - LDL_{\text{control_end}}}{LDL_{\text{control_end}}}$$

When LDL-cholesterol concentrations were measured at various time points during the intervention, the concentration corresponding to or closest to the 4-week time point was taken for the analysis. When variance measures of the relative changes were not provided and could not be retrieved based on *P* values or 95% CI, these were calculated using variance measures at baseline and end of the intervention in active and placebo groups/periods assuming, based on an earlier investigation⁽¹⁷⁾, a within-subject correlation coefficient of 0.8.

Human intervention studies were divided into six categories based on their PS dose: dose <1.0 g/d; ≥1.0 dose <1.5 g/d; ≥1.5 dose <2.0 g/d; ≥2.0 dose <2.5 g/d; ≥2.5 dose <3.0 g/d; ≥3.0 dose ≤4.0 g/d. This approach was chosen so that the incremental dose step was 0.5 g/d except for the lowest and highest categories as the number of studies using doses <0.5 and between 3.5 and 4.0 g/d was rather limited (*n* 6 each). Study arms with doses exceeding 4 g/d were scarce (*n* 5) and scattered across a wide range of PS doses (5.8–9.0 g/d); therefore, pooling these studies into a single category was judged to be inappropriate; these studies were solely used for descriptive purposes. For each study, the PS dose was determined by the actual dose administered; when not reported, the intended dose was used. Throughout this article, the doses of plant sterols/stanols are expressed as free (unesterified) plant sterol/stanol equivalents, rounded off at one decimal.

Pooled LDL-cholesterol effects were calculated while studies were categorised based on their PS dose (i.e. subgroup analysis with subgroups defined by the PS dose), using random-effects models according to the methods described by DerSimonian & Laird⁽¹⁸⁾. Random-effects models were used as





they take into account the variation in LDL-cholesterol-lowering effects observed within and between studies. Studies were weighted by the inverse of their variance ($1/SE^2$). Analyses were carried out for plant sterols and stanols combined and separately. When required, a more in-depth analysis was carried out to investigate the impact of food format on the LDL-cholesterol-lowering efficacy of PS. The pooled estimates and accompanying 95% CI were determined using the PROC MIXED function of the SAS System (version 9.2; SAS Institute).

Results

Overview of the included studies

In total, 124 human studies with a total of 201 study arms were included in the present analysis. In 116 study arms, a parallel design was used whereas in eighty-five study arms, a cross-over design was used. Plant sterols and stanols were administered in 129 and fifty-nine study arms, respectively; in the remaining thirteen study arms, a mix of plant sterols and stanols was administered. The number of subjects per study arm was, on average, 48 (range 7–201). The average PS dose was 2.1 (range 0.2–9.0) g/d. In most of the studies, (low-fat) margarines/spreads or dairy-type products were used for enrichment with PS; other food formats included, among others, cereals, mayonnaise, salad dressing, soya products, bakery products, orange juice and vegetable oils. An overview of the included studies is given in online supplementary material.

LDL-cholesterol-lowering effect of plant sterols and stanols combined and separately

The average PS doses and relative effects on LDL-cholesterol concentrations for each of the defined dose ranges are summarised in Table 1. When plant sterols and stanols were analysed together, PS intakes were found to reduce LDL-cholesterol concentrations in a dose-dependent manner ($P < 0.001$; Fig. 1). When plant sterols and stanols were analysed separately, clear and comparable dose–response

relationships were observed (Fig. 2). The impact of dose was significant in both analyses ($P < 0.001$ for plant sterols and $P = 0.001$ for plant stanols).

In the present analysis, in the dose category ≥ 2.0 dose < 2.5 g/d, an apparent difference of 2% in LDL-cholesterol-lowering efficacy was observed between plant sterols and stanols. In *post hoc* analysis that was set up to investigate factors that might explain this finding, it was observed that the consistency of the food format (either solid/edible or liquid/drinkable) may play a role. In fact, within this particular dose category, fifteen of forty plant sterol studies used liquid food formats, whereas only four of eighteen stanol studies used this type of food format. Irrespective of the type of PS used, liquid foods lowered LDL-cholesterol concentrations by, on average, 6.5%, whereas solid foods lowered LDL-cholesterol concentrations by, on average, 9.2% ($P = 0.003$).

Discussion

The present meta-analysis based on dose ranges showed that plant sterols and stanols lower LDL-cholesterol concentrations to a similar extent and in a dose-dependent manner, at least up to approximately 3 g/d. The observed comparability between plant sterols and stanols with regard to their cholesterol-lowering potential is in line with the findings of a recent meta-analysis⁽¹⁶⁾. In this meta-analysis⁽¹⁶⁾, fourteen studies that side by side compared the LDL-cholesterol-lowering efficacy of plant sterols with that of plant stanols at PS doses ranging from 0.6 to 3.3 g/d were included. Of the fifteen study arms reporting usable LDL-cholesterol data, seven study arms showed a non-significantly larger LDL-cholesterol-lowering effect for plant sterols than for plant stanols, whereas eight study arms showed a relatively larger effect for plant stanols than for plant sterols. Overall, it was concluded that plant sterols and stanols do not have statistically or clinically relevant differing effects on blood lipids. At higher intakes (> 4 g/d), some individual studies suggest a larger LDL-cholesterol-lowering effect for plant stanols^(19,20) than for plant sterols⁽²¹⁾. However, high-dose studies are scarce and scattered across a wide range of PS doses (5.8–9.0 g/d). For proper high-dose

Table 1. Average LDL-cholesterol-lowering effect for different dose ranges of phytosterols (PS) combined and separately for plant sterols and stanols (Mean values and 95% confidence intervals)

PS dose categories (g/d)*	Study arms (n)	Average PS dose (g/d)	Average LDL-cholesterol effect (%)					
			Combined		Plant sterols		Plant stanols	
			Mean	95% CI	Mean	95% CI	Mean	95% CI
Dose < 1.0	24 (1 mix, 22 sterol, 1 stanol)	0.6	-5.7	-7.1, -4.4	-5.6	-7.1, -4.2	-7.4	-15.2, 0.4
≥ 1.0 dose < 1.5	13 (2 mix, 9 sterol, 2 stanol)	1.1	-6.4	-8.2, -4.6	-6.5	-8.6, -4.4	-6.3	-12.0, -0.6
≥ 1.5 dose < 2.0	55 (7 mix, 39 sterol, 9 stanol)	1.7	-7.6	-8.4, -6.8	-7.6	-8.6, -6.7	-6.7	-8.8, -4.7
≥ 2.0 dose < 2.5	60 (2 mix, 40 sterol, 18 stanol)	2.1	-8.4	-9.2, -7.6	-8.0	-9.0, -7.0	-10.0	-11.3, -8.6
≥ 2.5 dose < 3.0	17 (0 mix, 6 sterol, 11 stanol)	2.6	-10.3	-11.8, -8.9	-10.5	-13.7, -7.3	-10.4	-11.7, -9.1
≥ 3.0 dose ≤ 4.0	27 (1 mix, 11 sterol, 15 stanol)	3.3	-12.4	-13.6, -11.2	-12.3	-14.0, -10.6	-12.5	-14.1, -10.8
<i>P</i> (dose effect)				< 0.001		< 0.001		0.001

* Studies carried out using doses exceeding 4 g/d were not included in the present analysis, as these were scarce and scattered across a wide range of doses; clustering them was judged to be inappropriate.



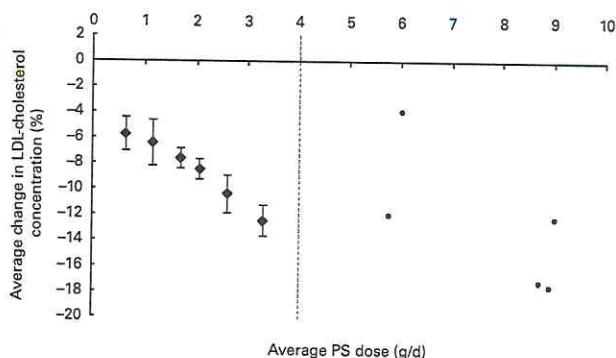


Fig. 1. Average effects on LDL-cholesterol concentration for different dose ranges of phytosterols (PS) up to 4 g/d. The ● represent outcomes of single high-dose studies that were not pooled as these were scarce and scattered across a wide range of doses. Values are means, with 95% CI represented by vertical bars.

equivalence testing, a direct comparison study would be needed with subjects on either high-dose plant sterol or high-dose plant stanol treatment being studied under the same conditions. As such a study has so far not been carried out, drawing conclusions on potential differences in efficacy between plant sterols and stanols at higher doses is not justified, as has been recently discussed by Plat *et al.*⁽¹³⁾.

The dose dependency of the LDL-cholesterol-lowering effect of PS has previously been demonstrated in several meta-analyses^(6,9–12) and in individual dose–response studies^(19,22–24). So far, meta-analyses have suggested that the LDL-cholesterol-lowering effect of PS tapers off at intakes of 2–3 g/d with little additional benefit at higher intakes^(6,11). Consequently, several health authorities have included 2 g/d of PS from enriched foods as part of their diet and lifestyle guidelines in the management of hypercholesterolaemia^(7,8,25). From the present analysis, it appears that at least up to approximately 3 g/d of PS, there is a proportional dose–response effect. As the inhibition of cholesterol absorption by PS is probably a saturable process, some tapering-off effect would, however, be expected, but probably at doses slightly higher than 3 g/d. If indeed PS intakes >3 g/d lead to a greater LDL-cholesterol benefit, this would be meaningful from a clinical view point as additional LDL-cholesterol lowering could lead to a greater CVD risk reduction. However, the practical implications of higher PS intakes, such as the technical feasibility of incorporating higher amounts of PS into foods, cost–benefit aspects and, especially, the compliance of consumers, need to be considered. Based on research in populations that actually use foods with added PS, it appears that the intake of PS in real life is far below the recommendation^(26,27); on average, users consume 14 g/d of PS-enriched margarine, which corresponds to a PS intake of approximately 1 g/d. Therefore, encouraging people to consume PS at amounts exceeding approximately 3 g/d seems unrealistic. In addition, because of the observations of premature atherosclerosis in rare homozygous sitosterolaemic patients⁽²⁸⁾ and due to epidemiological evidence suggesting a positive association between plasma plant sterol concentrations and CVD risk⁽²⁹⁾, some concerns have been raised related to the increase in plasma plant sterol concentrations following

high intakes of plant sterols from enriched foods. However, a recent meta-analysis summarised the totality of observational studies that investigated the association between modestly elevated plasma plant sterol concentrations and CVD risk and concluded that such an association does not exist⁽³⁰⁾. Furthermore, plasma plant sterol concentrations after the intake of foods with added plant sterols remain below 1% of total sterol concentrations circulating in the blood⁽¹⁷⁾. All in all, taking these aspects into account, the current recommendations to consume 2–3 g/d of PS for achieving a significant cholesterol-lowering effect seem to be still valid.

The use of different approaches to investigate dose–response relationships in meta-analyses may sometimes lead to different conclusions being drawn. For instance, Musa-Veloso *et al.*⁽¹²⁾ previously concluded that the maximal LDL-cholesterol-lowering efficacy was greater for plant stanols (16.4%) than for plant sterols (8.3%) when analysing continuous dose–response curves. Also in the meta-analysis carried out by Demonty *et al.*⁽¹¹⁾, a non-significant 6.7% difference in maximal cholesterol-lowering efficacy was observed between plant stanols and sterols based on continuous analysis. Such an approach offers the opportunity to predict the LDL-cholesterol-lowering effect of a given PS dose. However, the applied model seems to underestimate the LDL-cholesterol-lowering effect of plant sterols at doses of about 3 g/d. It is likely that this has affected the shape of the overall dose–response curve for plant sterols. This underestimation may have been caused by an unequal distribution of studies across the entire dose range. In fact, the availability of a large number of low-dose sterol studies with relatively high efficacy probably pulled the plant sterol curve towards a more curvy shape, whereas the stanol curve was mostly influenced by high-dose studies; indeed the number of stanol studies carried out using low doses (<1.5 g/d) was limited. The calculation of average effects for different dose ranges, as has been done in the present analysis, is less influenced by an imbalance of data points across the entire dose range. Moreover, this approach offers the opportunity to better take into account the large between-study variation by means of using random-effects models. On the other hand, one of the limitations of the dose–response

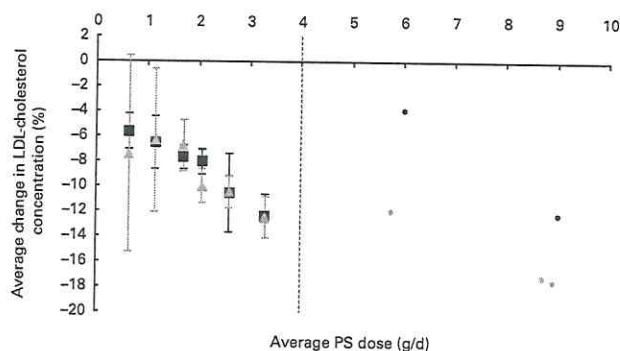


Fig. 2. Average effects on LDL-cholesterol concentration for different dose ranges of phytosterols (PS), separately for plant sterols (■) and plant stanols (▲). The ● represent outcomes of single high-dose studies that were not pooled as these were scarce and scattered across a wide range of doses. Values are means, with 95% CI represented by vertical bars.





approach is that the definition of the dose ranges is rather subjective. Especially between 1.5 and 2.5 g/d, small differences in cut-off values (e.g. < 2 or ≤ 2 g/d) could have a significant impact on the distribution of studies in the adjacent dose ranges and subsequently on the pooled averages for these particular dose ranges. In the present analysis, dose steps of 0.5 g/d were used between adjacent dose ranges, except for the outmost dose ranges, as these ranges would otherwise become too small. Although this approach led to a symmetrical distribution of the number of studies in the different dose ranges (n 24, n 13, n 55, n 60, n 17 and n 27 in ascending ranges), the ratio of plant sterol studies:plant stanol studies was disproportional by this definition (22:1, 9:2, 39:9, 40:18, 6:11 and 11:15, respectively). In any case, one should acknowledge that none of the dose-response approaches is ideal and should consider the pros and cons of the dose range *v.* the continuous approach before deciding which approach to choose for the research questions being addressed.

Besides the limitations of the applied dose-response method as discussed above, some other limitations should be mentioned. The present analysis was not set up as a typical meta-analysis, but in fact builds on previous published meta-analyses^(11,12) by highlighting the importance of using different analysis techniques. Therefore, heterogeneity tests and publication bias tests were not carried out. However, as between-study variation can never be ruled out, we decided beforehand to use random-effects models that take into account some of this variation. In addition, the baseline cholesterol concentration and the dose of PS have been shown to be important factors affecting the size of the LDL-cholesterol-lowering effect of PS^(6,10,11); by looking at relative changes and dose-response relationships, we believe that we have addressed these two important factors. Nevertheless, we cannot exclude that confounding by other factors, such as differences in food formats across the range of PS doses, might have affected the study outcomes. For example, in the present analysis, we found slightly lower efficacy for plant sterols than for plant stanols in the dose category ≥ 2.0 dose < 2.5 g/d; this was probably due to a larger number of liquid food formats among the plant sterol studies than among the plant stanol studies. PS in liquid foods *v.* solid foods might be less effective at lowering cholesterol concentrations due to a shorter transit time in the gastrointestinal tract. Also, liquid foods (drinks) are not per definition consumed together with a meal; sufficient ingestion of food (i.e. fat) is required to trigger bile release for PS to optimally compete with cholesterol for micellar incorporation and subsequently to optimally inhibit cholesterol absorption⁽³¹⁾. Given the substantial number of studies included, we assume that publication bias had not affected the findings severely. Lastly, the quality of studies was not assessed as we believe that rating study quality is a rather subjective exercise and it has not been shown that excluding low-quality studies leads to different conclusions⁽¹⁰⁾.

In summary, the present analysis showed that the LDL-cholesterol-lowering effect of PS continues to increase up to intakes of approximately 3 g/d to an average effect of 12%. This was shown for both plant sterols and stanols.

The importance of considering the advantages and disadvantages of different meta-analytical dose-response methods was discussed; future studies should decide on the most suitable dose-response approach depending on the research questions being addressed and the data available.

Supplementary material

To view supplementary material for this article, please visit <http://dx.doi.org/10.1017/S0007114514000750>

Acknowledgements

The authors' contributions are as follows: R. T. R. and E. A. T. formulated the research questions and conducted the research. All authors designed the research, interpreted the data and wrote the paper.

R. T. R. and E. A. T. are employed by Unilever. Unilever markets food products enriched with plant sterols. J. M. G. has no conflicts of interest to declare.

References

1. Klingberg S, Ellegard L, Johansson I, *et al.* (2008) Inverse relation between dietary intake of naturally occurring plant sterols and serum cholesterol in northern Sweden. *Am J Clin Nutr* **87**, 993–1001.
2. Sioen I, Matthys C, Huybrechts I, *et al.* (2011) Consumption of plant sterols in Belgium: estimated intakes and sources of naturally occurring plant sterols and β -carotene. *Br J Nutr* **105**, 960–966.
3. Jimenez-Escrig A, Santos-Hidalgo AB & Saura-Calixto F (2006) Common sources and estimated intake of plant sterols in the Spanish diet. *J Agricult Food Chem* **54**, 3462–3471.
4. Jenkins DJ, Kendall CW, Popovich DG, *et al.* (2001) Effect of a very-high-fiber vegetable, fruit, and nut diet on serum lipids and colonic function. *Metabolism* **50**, 494–503.
5. Racette SB, Spearie CA, Phillips KM, *et al.* (2009) Phytosterol-deficient and high-phytosterol diets developed for controlled feeding studies. *J Am Diet Assoc* **109**, 2043–2051.
6. Katan MB, Grundy SM, Jones P, *et al.* (2003) Efficacy and safety of plant stanols and sterols in the management of blood cholesterol levels. *Mayo Clin Proc* **78**, 965–978.
7. International Atherosclerosis Society (IAS) Executive Board (2013) An International Atherosclerosis Society position paper: global recommendations for the management of dyslipidemia. Full report. http://www.athero.org/download/IASPPGuidelines_FullReport_2.pdf
8. Gylling H, Plat J, Turley S, *et al.* (2014) Plant sterols and plant stanols in the management of dyslipidaemia and prevention of cardiovascular disease. *Atherosclerosis* **232**, 346–360.
9. Law M (2000) Plant sterol and stanol margarines and health. *Br Med J* **320**, 861–864.
10. Abumweis SS, Barake R & Jones PJH (2008) Plant sterols/stanols as cholesterol lowering agents: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Food Nutr Res* **52** (Epublication 18 August 2008).
11. Demonty I, Ras RT, Van der Knaap HCM, *et al.* (2009) Continuous dose-response relationship of the LDL-cholesterol-lowering effect of phytosterol intake. *J Nutr* **139**, 271–284.
12. Musa-Veloso K, Poon TH, Elliot JA, *et al.* (2011) A comparison of the LDL-cholesterol lowering efficacy of plant stanols and plant sterols over a continuous dose range: results of a





- meta-analysis of randomized, placebo-controlled trials. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* **85**, 9–28.
13. Plat J, Mackay D, Baumgartner S, *et al.* (2012) Progress and prospective of plant sterol and plant stanol research: report of the Maastricht meeting. *Atherosclerosis* **225**, 521–533.
 14. Maki KC & Rains TM (2011) Hypocholesterolemic effects of plant sterols and stanols: do the dose–response curves diverge? *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* **85**, 5–6.
 15. Demonty I, Ras RT & Trautwein EA (2011) Comment on: “A comparison of the LDL-cholesterol lowering efficacy of plant stanols and plant sterols over a continuous dose range: results of a meta-analysis of randomized, placebo controlled trials” by Musa-Veloso K *et al.*, *Prostagl. Leucot. Essent Fatty Acids* 2011, 9–28. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* **85**, 7–8.
 16. Talati R, Sobieraj DM, Makanji SS, *et al.* (2010) The comparative efficacy of plant sterols and stanols on serum lipids: a systematic review and meta-analysis. *J Am Diet Assoc* **110**, 719–726.
 17. Ras RT, Hiemstra H, Lin Y, *et al.* (2013) Consumption of plant sterol-enriched foods and effects on plasma plant sterol concentrations – a meta-analysis of randomized controlled studies. *Atherosclerosis* **230**, 336–346.
 18. DerSimonian R & Laird N (1986) Meta-analysis in clinical trials. *Control Clin Trials* **7**, 177–188.
 19. Mensink RP, de Jong A, Lutjohann D, *et al.* (2010) Plant stanols dose-dependently decrease LDL-cholesterol concentrations, but not cholesterol-standardized fat-soluble antioxidant concentrations, at intakes up to 9 g/d. *Am J Clin Nutr* **92**, 24–33.
 20. Gylling H, Hallikainen M, Nissinen MJ, *et al.* (2010) Very high plant stanol intake and serum plant stanols and non-cholesterol sterols. *Eur J Nutr* **49**, 111–117.
 21. Davidson MH, Maki KC, Umporowicz DM, *et al.* (2001) Safety and tolerability of esterified phytosterols administered in reduced-fat spread and salad dressing to healthy adult men and women. *J Am Coll Nutr* **20**, 307–319.
 22. Hendriks HF, Weststrate JA, van Vliet T, *et al.* (1999) 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* **53**, 319–327.
 23. Clifton PM, Mano M, Duchateau GS, *et al.* (2008) Dose–response effects of different plant sterol sources in fat spreads on serum lipids and C-reactive protein and on the kinetic behavior of serum plant sterols. *Eur J Clin Nutr* **62**, 968–977.
 24. Cater NB, Garcia-Garcia AB, Vega GL, *et al.* (2005) Responsiveness of plasma lipids and lipoproteins to plant stanol esters. *Am J Cardiol* **96**, 23D–28D.
 25. Lichtenstein AH, Appel LJ, Brands M, *et al.* (2006) Diet and lifestyle recommendations revision 2006: a scientific statement from the American Heart Association Nutrition Committee. *Circulation* **114**, 82–96.
 26. Wolfs M, de Jong N, Ocke MC, *et al.* (2006) Effectiveness of customary use of phytosterol/stanol-enriched margarines on blood cholesterol lowering. *Food Chem Toxicol* **44**, 1682–1688.
 27. de Jong N, Zuur A, Wolfs MC, *et al.* (2007) Exposure and effectiveness of phytosterol/stanol-enriched margarines. *Eur J Clin Nutr* **61**, 1407–1415.
 28. Sudhop T & Von Bergmann K (2004) Sitosterolemia – a rare disease. Are elevated plant sterols an additional risk factor? *Z Kardiol* **93**, 921–928.
 29. Assmann G, Cullen P, Erbey JR, *et al.* (2006) Plasma sitosterol elevations are associated with an increased incidence of coronary events in men: results of a nested case–control analysis of the Prospective Cardiovascular Munster (PROCAM) study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* **16**, 13–21.
 30. Genser B, Silbernagel G, De Backer G, *et al.* (2012) Plant sterols and cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis. *Eur Heart J* **33**, 444–451.
 31. Keszthelyi D, Knol D, Troost FJ, *et al.* (2013) Time of ingestion relative to meal intake determines gastrointestinal responses to a plant sterol-containing yoghurt drink. *Eur J Nutr* **52**, 1417–1420.