



ELSEVIER

ScienceDirect'te bulunan içerik listeleri

Pharmacological Research

dergi ana sayfası: www.elsevier.com/locate/yphrs



İnceleme

Fitosteroller ve kardiyovasküler sağlık

Franca Marangoni, Andrea Poli*

İtalya Beslenme Vakfı, Viale Tunisia 38, 20124 Milano, İtalya

MAKALE BİLGİLERİ

Makale geçmişi:

Alındı: 10 Kasım 2009

Revize haliyle alındı:

31 Aralık 2009

Kabul edildi: 5 Ocak 2010

Anahtar Kelimeler:

Fitosteroller

Stanoller

Kolesterol

Kolesterol emilimi

Nutrasötikler

Ateroskleroz

Fonksiyonel gıdalar

ÖZET

Fitosteroller bitkilerin hücre duvarlarının tipik bileşenleridir. Bitkisel gıdalarla birlikte alındıklarında, kolesterol ile yapısal benzerlikleri nedeniyle bağırsaktan kolesterol emilimini azaltırlar. Son yıllarda, saflaştırılmış bitki steroller veya stanoller, kayda değer hipokolesterolemik aktiviteye sahip fonksiyonel gıdalar elde etmek için çeşitli gıda maddelerine eklenmiştir. Bu gıdalara eklenen günlük 1,6-2 g/gün bitki sterolu veya stanol alımı, bağırsaktan kolesterol emilimini yaklaşık %30 ve plazma LDL kolesterol seviyelerini %8-10 oranında azaltabilmektedir. Bitki sterollerinin veya stanollerinin plazma LDL kolesterolü üzerindeki etkisi statinlerinkine eklendiğinden, plazma LDL kolesterol seviyelerinde belirgin bir düşüşe ihtiyaç duyan hastalarda birincisi, ikincisinin hipokolesterolemik etkisini artırmak için kullanılabilir. Fitosteroller, günde 3 g'a kadar, güvenli ve etkili kolesterol düşürücü ajanlardır.

© 2010 Elsevier Ltd. Tüm hakları saklıdır.

İçindekiler

1. Giriş.....	193
2. Biyokimya.....	194
3. Besinsel kaynakları ve alımı.....	194
4. Metabolizma.....	195
4.1. Emilim.....	195
4.2. Dağılım ve atılım.....	195
5. Hipokolesterolemik aktivite mekanizmaları.....	196
6. PS alımı ve plazma kolesterol düzeyleri arasındaki ilişki: epidemiyolojik kanıtlar ve klinik çalışmalar.....	196
7. Fitosteroller ve gıdalar.....	197
8. Güvenlik.....	197
8.1. Toksikite.....	197
8.2. Plazma karotenoidleri üzerindeki etkiler.....	197
8.3. Sitosterolemi (fitosterolemi).....	197
8.4. Fitosterol plazma düzeyleri ve ateroskleroz.....	198
9. İlaçlarla kombinasyon.....	198
10. Sonuçlar.....	198
Referanslar.....	198

1. Giriş

Plazma lipid profilinin farmakolojik olmayan kontrolü, çeşitli ajanlar/besinler/nutrasötikler/fonksiyonel gıdalar kullanılarak aktif bir şekilde araştırılmaktadır [1-3]. Bu tür ajanlar arasında fitosteroller yaygın olarak kullanılmaktadır ve çeşitli gıda maddeleri ve takviyelerinin bir parçasıdır.

Fitosterollerin (bitki steroller ve stanoller, PS) hipokolesterolemik etkileri, 2 hafta boyunca 5-10 g/gün PS ile takviye edilen 26 sağlıklı deneğin plazma kolesterol seviyelerinde yaklaşık %27'lik bir düşüşün gözlemlendiği 1950 yılı civarından beri bilinmektedir. Daha sonraki çalışmalar, 3-5 hafta boyunca alınan yüksek doz PS'nin (10 g/gün üzerinde) kan kolesterol seviyelerini ortalama %20'ye kadar düşürebildiğini göstermiştir [4].

* Sorumlu yazar. Tel: +39 0276399532.

E-posta adresi: poli@nutrition-foundation.it (A. Poli).



Sonuç olarak, kan kolesterolünü düşürmek için önerilen PS dozları 70'lerin sonlarına kadar 9 ila 30 g/gün arasında değişmekteydi. İlk PS preparatları hem bileşim hem de kaynak açısından oldukça heterojendi, ancak hepsinin etkili ve güvenli olduğu görülüyordu. Farmakolojik uygulamaları, o zamanlar, esas olarak yüksek safliktaki bileşiklerin yüksek maliyeti nedeniyle ciddi hiperkolesterolemilerle sınırlıydı.

Ataların diyetindeki büyük PS miktarlarının hesaplanması, özellikle modern diyetlerde bu bileşiklerin düşük alımını düzeltmek amacıyla insan sağlığındaki rolleri üzerine araştırmaları teşvik etmiştir. Bu nedenle, PS doğal gıda bileşenleri olmaktan çıkıp ilaç ve takviye olarak formüle edilmeye veya geleneksel gıdalara dahil edilmeye başlanmıştır. İlk olarak, çoğunlukla margarinler olmak üzere lipit bazlı ürünlere dahil edilmişlerdir. Daha sonra, gıda teknolojilerindeki ilerleme, çözünürlüklerinin geliştirilmesine ve meyve suyu, dondurma, fırında pişmiş ürünler gibi farklı gıda ürünlerine dahil edilmelerine olanak sağlamıştır. [5].

2. Biyokimya

Hem yapısal hem de biyosentetik olarak ilişkili oldukları kolesterol gibi, PS de tetrasiklik bir halka ve 17 numaralı karbona bağlı bir yan zincir ile triterpenler ailesine aittir. Δ5 pozisyonunda bir çift bağın varlığına veya yokluğuna göre steroller ve stanoller olarak sınıflandırılabilirler. PS serbest veya esterleşmiş formlarda bulunur: serbest steroller hücre duvarının bir parçasını oluşturur ve burada önemli yapısal işlevler görürler, sterol esterleri ise hücre içindeki depolama ürünlerini temsil eder [6] (Şekil 1).

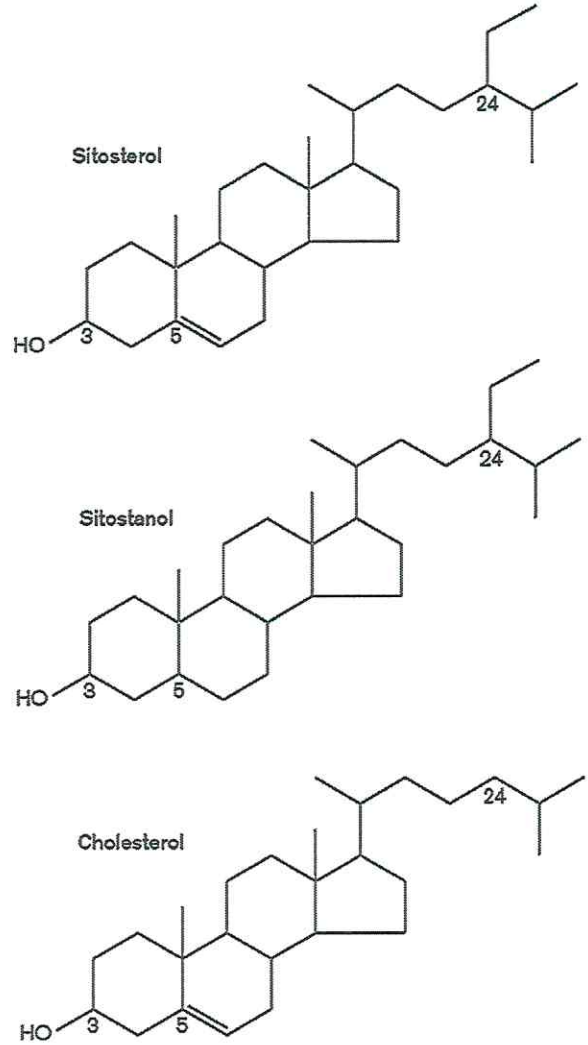
Bugüne kadar 250'den fazla farklı PS molekülü tanımlanmıştır; β-sitosterol bunlar arasında en bol bulunanıdır. Sitosterol ve kolesterol arasındaki tek yapısal fark, sitosterolde C-24 pozisyonunda bulunan ve muhtemelen zayıf emiliminden sorumlu olan ek bir etil grubundan oluşur. Kampesterol, stigmasterol ve dihidrobrassikasterol gibi diğer bitki sterollerini bitkisel gıdalarda çok daha düşük konsantrasyonlarda bulunur; doymuş türevler kampestanol ve sitostanol bitkilerde neredeyse ihmal edilebilir miktarlarda bulunur [7]. Buna karşılık, en yaygın diyet PS'leri, toplam diyet alımının yaklaşık %98'ine katkıda bulunan sitosterol, kampesterol ve stigmasteroldür.

3. Besinsel kaynakları ve alımı

Başlıca PS kaynakları bitkisel yağlar, kabuklu yemişler, tahıllar ve tahıl türevi ürünlerdir; ayrıca filizler, lahanalar, karnabaharlar, yeşil ve siyah zeytinler bitki sterollerini ve stanollerini içerir (Tablo 1). Bitkisel olmayan gıdalar arasında yumurta sarısı, memeli karaciğeri ve kabuklular Batı diyetlerinde önemli PS kaynaklarını temsil etmektedir. Cevizde PS, toplam lipit fraksiyonunun %0,1-0,2'sini temsil eder; toplam PS'nin yaklaşık %87'si sitosterol ile temsil edilir. Macadamia cevizi, gram lipit başına yaklaşık 1,3 mg PS içerir [8].

Ticari ürünlere dahil edilmek üzere kullanılan başlıca bitki sterol kaynakları, %80'e kadar β-sitosterol içeren tall yağı ve soya fasulyesi yağı üretiminden yan ürünlerdir. Hem steroller hem de stanoller sıklıkla esterleştirilmiş formlarda, yağ asidi esterleri olarak kullanılır; bu, çözünürlüklerini artırır ve lipit bazlı gıdalara katılmalarına izin verir [7].

Dünya genelinde bitkisel gıdaların tüketimindeki büyük farklılıklar nedeniyle, PS'nin diyetle alımı İngiltere'de 167 mg/gün (çoğunlukla bitkisel yağlardan) ile Japonya'da 375 mg/gün arasında değişmektedir [9]. Bununla birlikte, Batılı nüfus grupları arasında da büyük farklılıklar göstermekte olup vejetaryenlerde belirgin şekilde daha yüksektir (+%50). EPIC çalışmasının (European Prospective Investigation into Cancer) 22.256 denek üzerinde gerçekleştirilen geniş örnekleminde, PS alımı 463 mg/gün (en yüksek beşte birlik dilim) ile 178 mg/gün (en düşük beşte birlik dilim) arasında değişmektedir [10,11]. Bitki stanollerinin beslenmeyle alımı çok daha düşük olup, yaklaşık 50 mg/gün civarındadır [10].



Şekil 1. Sitosterol ve sitostanolün yapıları.

PS insanlar tarafından endojen olarak sentezlenemediğinden, dolaşımdaki seviyeleri yalnızca diyetle ve emilim etkinliğine bağlıdır. Miittinen ve arkadaşları [12] dolaşımdaki kampesterol ve sitosterol konsantrasyonu ile alınan diyet PS miktarı arasında ve ayrıca diyet yağının çoklu doymamış/doymuş yağ asidi oranı ile plazma ve diyet lipitlerinin linoleik asit içerikleri arasında pozitif bir korelasyon bulmuşlardır. Tüketilen bitkisel gıdaların türüne ve miktarına bağlı olarak, PS tüketimi ve dolayısıyla PS kan seviyeleri popülasyonlar içinde ve arasında büyük farklılıklar gösterebilir.

Müdahale çalışmalarından elde edilen sonuçlar, takviye şeklinde daha yüksek PS alımının dolaşımdaki PS seviyelerini artırdığını, bitki stanol takviyesinin ise azalttığını göstermektedir [9].

Bireyler arası değişkenlik fitosterollerin emilimini etkiler: PS'nin emilim yolunun, etkinliği ApoE polimorfizmlerinden etkilenen kolesterolünkine benzer olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, farklı popülasyonlardaki çalışmalardan elde edilen veriler tutarsız ve henüz kesin olmasa bile, farklı ApoE fenotipleri PS'nin plazma konsantrasyonlarını değiştirebilir. Bununla birlikte, ApoE fenotipinin, farklı popülasyon grupları içinde ve arasında PS konsantrasyonlarındaki varyasyonların neden var olduğunu açıklamada bir rol oynaması muhtemeldir [13].



Tablo 1
Bazı bitkisel gıdalardaki ortalama sterol ve stanol içeriği (mg/100 g).

Gıda	Toplam fitosteroller (mg/100 g) ^a
Yağlar ve katı yağlar	
Buğday tohumu yağı	919
Mısır yağı	909
Kolza yağı	668
Ayçiçek yağı	411
Soya fasulyesi yağı	320
Yer fıstığı yağı	258
Üzüm çekirdeği yağı	215
Margarin	217 (92-721)
Zeytinyağı	154
Palmye yağı	39
Fındık ve tohumlar	
Susam tohumları	360
Ay çekirdeği	300
Antep fıstığı	276
Badem	183
Fındık	138
Ceviz	127
Yer fıstığı	104
Tahıllar	
Buğday tohumu	344
Buğday kepeği	200
Karabuğday unu	99
Tam buğday ekmeği	86
Çavdar unu	86
Tam buğday unu	70
Buğday	69
Çavdar	69
Krakerler	67
Müslü	63
Mısır unu	52
Ekmeç	44
Pirinç	30
Buğday unu	28
Pirinç unu	23
Mısır gevreği	22
Şişirilmiş pirinç	20
Meyveler	
Çarkifelek meyveleri	44
Portakallar	24
İncir	22
Limonlar	18
Greyfurtlar	18
Ananaslar	17
Mandalinalar	16
Şeftali	15
Elmalar	13
Armutlar	12
Kivi	9
Kavunlar	2
Karpuzlar	1
Sebzeler	
Siyah zeytin	50
Brüksel lahanası	43
Karnabaharlar	40
Brokoli	39
Yeşil zeytin	35
Mantarlar	18
Kerevizler	17
Havuçlar	16
Rezeneler	10
Soğan	8
Pırasa	8
Biber, yeşil	7
Domates	5
Haşlanmış patates	4

^a Sitosterol, kampesterol, stigmasterol, sitostanol ve kampestanolün bir toplamıdır.

4. Metabolizma

4.1. Emilim

Geçen yüzyılın başında yapılan ilk çalışmalar, PS'nin insanlar tarafından önemli ölçüde emilmediğini göstermiştir. Daha yakın zamanlarda, döteryum etiketli PS'nin insan deneklere uygulanması, çeşitli bileşenlerin oldukça düşük, ancak farklı emilim oranlarının değerlendirilmesine olanak sağlamıştır. Bu oranlar sitosterol ve kampesterol için sırasıyla yaklaşık %0,5 ila %1,9 arasında değişmektedir; karşılık gelen doymuş PS için rakamlar yaklaşık bir büyüklük sırasına göre azalmaktadır (sitostanol için %0,044 ve kampestanol için %0,155) [7].

Heinemann ve arkadaşları [14] PS'nin bağırsaktan emilim oranının yan zincir uzunluğu ile ters orantılı olduğunu göstermiştir: normal koşullar altında, uzun yan zincirli PS, kolesterol ile karşılaştırıldığında minimum düzeyde emilir.

Emilim sırası hem kolesterol hem de PS için benzerdir. Bu sterollerin her ikisi de pankreatik ester hidrolizaz tarafından esterlerin hidrolizinden sonra karışık miseller içinde çözünür. Enterosite ya pasif difüzyonla ya da reseptör aracılı bir süreçle nüfuz eder. Kolesterol ve PS'nin varsayılan spesifik taşıyıcısı, yakın zamanda tanımlanan bir trans-membran taşıma proteini olan NPC1L1'dir [15]. Gerçekten de, ezetimibe ile seçici NPC1L1 blokajı hem kolesterol hem de PS emilimini yarıya indirmektedir [16].

PS yan zinciri, adenozin trifosfat (ATP) bağlayıcı kaset (ABC) taşıyıcıları ABCG5 ve ABCG8'in aracılık ettiği sitosterol ve diğer PS'lerin enterositlerden bağırsak lümenine seçici olarak salgılanmasından sorumludur [7]. Son bulgular ABCG5 ve ABCG8'in sterollerin biliyer sekresyonunda da rol oynadığını göstermektedir.

Mukoza içinde, PS'nin bir kısmı ACAT tarafından yeniden esterleştirilir. Sterollerin ACAT tarafından bağırsakta esterleştirilmesinin PS için kolesterole göre önemli ölçüde daha az etkili olduğu bildirilmiştir [17].

Sonuç olarak, insanlarda PS'nin plazma seviyeleri normalde kolesterolün yaklaşık %0,5'i kadardır, bu hem karaciğerdeki yüksek endojen kolesterol sentezini hem de PS'nin ince bağırsak tarafından daha az etkili emilimini yansıtmaktadır. Bitki stanollerinin plazmadaki konsantrasyonları kolesterolün sadece %0,05'i kadardır [18].

4.2. Dağılım ve atılım

Absorbe edilen PS, kolesterol gibi şilomikronlar aracılığıyla karaciğere taşınır. Ancak deneysel modellerde, PS'nin yalnızca %12'si (emilen kolesterolün %70-80'ine kıyasla) şilomikronlarda esterleşmiş formda taşınır. Serbest PS bu partiküllerde yüzey lipitleri olarak taşınır.

Karaciğer tarafından şilomikron kalıntılarında alındıktan sonra PS, VLDL partiküllerinin bileşenleri olarak kana salgılanır. VLDL ve LDL'deki esterleşmiş PS ve esterleşmiş kolesterol yüzdesi esasen aynıdır. HDL'nin ise LDL ve VLDL'ye kıyasla daha yüksek PS/kolesterol oranına sahip olması, PS'nin tercihen bu partiküller tarafından taşındığına işaret etmektedir. HDL ile ilişkili PS'nin seçici olarak safraya salgılandığı ve PS/kolesterol oranının safrada genellikle plazmadakinden daha yüksek olduğu gözlemleriyle birlikte, bu veriler HDL lipoproteinlerinin PS'nin vücuttan atılmasında önemli bir rol oynadığını göstermektedir [19].

Hücresel düzeyde, PS sitoplazmada depolanır veya hücre zarına dahil edilir. Bilinen biyolojik veya işlevsel rolleri yoktur [17].

Emilen PS'nin atılımı öncelikle safra yolu ile gerçekleşirken, küçük bir kısmı deri yoluyla atılır. Düşük emilim ile birlikte, PS'nin atılımı hızlıdır ve PS'nin endojen havuz boyutunun kolesterolünkinden daha küçük olmasından sorumludur.



PS'den safra asitleri biyosentezine ilişkin veriler çelişkilidir. Son kanıtlar, yan zincirlerini kaybettikten sonra farklı organlarda - kolesterol gibi - katabolize olduklarını göstermektedir [17].

5. Hipokolesterolemik aktivite mekanizmaları

Gıda ile PS alımı bağırsak kolesterol emilimini azaltır ve sonuçta plazma toplam ve LDL kolesterol konsantrasyonlarında bir azalmaya neden olur [19]. İlk çalışmalar, bitki stanollerinin kolesterol emilimini azaltmada sterollerden daha etkili olduğunu göstermiştir, bu da daha büyük bir kolesterol düşürücü etkiye işaret etmektedir [10]. Ancak daha yakın zamanlarda, tereyağı veya margarine katılan bitki sterol ve stanol esterlerinin kolesterol emilimi ve dolayısıyla plazma kolesterol seviyeleri üzerindeki etkisinin karşılaştırılabilir olduğu gösterilmiştir. İlginç bir şekilde, PS'nin HMG-CoA redüktaz aktivitesini destekleme kapasitesi kolesterole kıyasla daha düşüktür. Bu, PS'nin kolesterol düşürücü etkisinin endojen kolesterol sentezinin baskılanmasını içermediği bulgusuyla uyumludur.

Kolesterol emiliminde PS kaynaklı azalmanın temel mekanizmaları açıklığa kavuşturulmuştur. Kısaca, PS bağırsak kanalındaki karışık misellere dahil olmak için kolesterol molekülleriyle rekabet eder. Kolesterol ile birlikte kristalleşerek kolesterolün fekal atılımının artmasına neden olur.

Birkaç çalışma, PS'nin tek bir dozda veya 3 öğüne bölünerek uygulanmasıyla benzer etkilerin elde edilebileceğini göstermektedir; bu, günlük alım modelinin plazma kolesterol seviyeleri üzerindeki PS etkinliğini etkilemediğini ve kolesterolün karışık misellere dahil edilmesinin azalmasını, PS'nin öğünlerle birlikte varsayılan kolesterol düşürücü etkisinden yalnızca kısmen sorumlu olabileceğini düşündürmektedir. Plat ve Mensink, PS'nin enterositlere girdiğini ve böylece bağırsak lipoprotein metabolizmasını etkilediğini öne sürmüştür [19]. Kolesterolün aksine, PS sadece minimal düzeyde esterleşir ve şilomikronlar yoluyla dolaşıma dahil edilerek salgılanır.

Kolesterol ile karşılaştırıldığında, PS daha kolay hidrolize olur. Bu süreç, kolesterolün misellere daha az çözünmesine yol açarak emilimini azaltır ve dolayısıyla kolesterol ve metabolitlerinin fekal atılımını artırır.

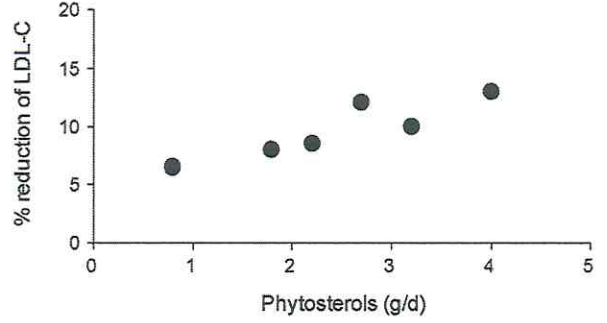
PS, enterositin apikal yüzeyinde bulunan ATP taşıyıcı kaset taşıyıcıları ABCG-5 ve ABCG-8'in yukarı regülasyonu yoluyla da kolesterol seviyelerini etkileyebilir.

6. PS alımı ve plazma kolesterol düzeyleri arasındaki ilişki: epidemiyolojik kanıtlar ve klinik çalışmalar

PS'nin kan kolesterolü üzerindeki etkisi insanlarda kapsamlı olarak incelenmiştir. Kuzey İsviç ve Büyük Britanya'da yapılan gözlemsel çalışmalarda, gıda ile PS alımının en üst beşte birlik dilimindeki serbest yaşayan denekler, en düşük alım beşte birlik dilimindeki deneklere kıyasla önemli ölçüde daha düşük plazma toplam ve LDL kolesterolüne sahiptir [11,20].

İnsanlarda PS kullanılarak yapılan randomize klinik çalışmaların çoğunda LDL kolesterol seviyelerinde de önemli düşüşler elde edilmiştir. Doz-etki ilişkisi, yaklaşık 500 mg/gün'lük alımlarda önemli hipokolesterolemik etkiler göstermeye başlar (bu da daha önce açıklanan epidemiyolojik kanıtlarla uyumludur). Bu etki 500-2500 mg/gün aralığındaki günlük alımlar için artarken, daha yüksek alımlar için LDL kolesterol seviyeleri üzerindeki etki dengeleniyor gibi görünmektedir [21].

Yakın zamanda yapılan bir meta-analiz, yetişkinlerde dolaşımdaki kolesterol seviyeleri üzerinde 2 veya daha fazla hafta süren müdahalelerin (PS'nin gıda matrislerine dahil edildiği) etkinliğini test etmek için yürütülen 59 seçilmiş randomize plasebo kontrollü çalışmayı değerlendirmiştir [22]. Yaklaşık 4500 denek üzerinde yapılan genel havuz tahmininde, çalışmalar arasında gözlemlenen büyük klinik ve metodolojik heterojenliğe rağmen, LDL seviyeleri plasebo ile karşılaştırıldığında ortalama 0,31 mmol/L azalmıştır.



Şekil 2. Randomize plasebo kontrollü çalışmalarda kaydedilen düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-K) yüzde düşüşlerinin tahminleri. Gösterilen günlük doz aralıkları (deneme kolu sayısı parantez içinde) 0,7-1,1 g (8), 1,5-1,9 g (13), 2,0-2,4 g (14), 2,5-2,9 g (5), 3,0-3,4 g (13) ve 4,0-4,2 g'dir (2). Katan ve arkadaşlarından uyarlanmıştır [21].

ATP III'e göre düşük ve yüksek olarak tanımlanan başlangıç LDL kolesterol konsantrasyonlarına göre deneklerin iki gruba ayrılması, optimal başlangıç seviyelerine sahip bireylerde daha fazla LDL azalmasını meydana geldiğinin belirtilmesine olanak sağlamıştır. Bu sonuçlar yakın zamanda 84 çalışmayı analiz eden ve "Daha yüksek başlangıç LDL-K konsantrasyonlarının daha büyük mutlak LDL-K azalmalarıyla sonuçlandığı" sonucuna varan Demonty ve arkadaşları tarafından tartışılmıştır [23]. Katan ve arkadaşları [21] tarafından yapılan daha yakın tarihli bir çalışmada, PS ile ilişkili LDL kolesteroldeki plaseboya göre ayarlanmış azalmanın yaşla birlikte, muhtemelen başlangıç seviyelerindeki progresif artış nedeniyle arttığı, ancak azalma yüzdesinin genç ve yaşlı kişilerde önemli ölçüde farklı olmadığı sonucuna varılmıştır.

Abumweis [22] tarafından yayınlanan bir metanalizin sonuçları, Katan tarafından daha önce gösterildiği gibi, 1,5 g ila 2,5 g/gün arasında değişen dozlarda PS'nin doz-yanıt etkisini doğrulamaktadır (Şekil 2). Günde 2,5 g'dan daha yüksek dozlarda çok az ek etki kaydedilmiştir. Bununla birlikte, 0,7-1,1 g/gün dozları test edilirken tahmin edilen %5-10'luk etki, daha yüksek miktarlarda gözlenen etkinin yaklaşık yarısının bu dozda elde edilebileceğini düşündürmektedir.

Kısa ve uzun vadeli çalışmalardan elde edilen veriler, PS'nin kolesterol düşürücü etkisinin birkaç hafta içinde fark edilebilir olduğunu ve 1 yıla kadar takviye süresince stabil kaldığını göstermektedir. Özellikle, bitki sterollerinin 6 ay boyunca 1,5 ve 3 g/gün dozlarında margarinerle birlikte uygulanması hem toplam (-%8,9'a karşı -%8,3) hem de LDL kolesterolde (-%11,3'e karşı %10,6) aynı azalmaya neden olmuştur [19]. Bununla birlikte, düzenli alımların kesilmesi PS'nin etkilerini durdurarak kolesterol konsantrasyonlarını bazal koşullara geri getirebilir.

Daha önce de belirtildiği gibi, PS'nin hipokolesterolemik etkisi alım sıklığı ve zamanından da etkilenebilir. Sıklıkla ilgili olarak, margarinerde esterleştirilmiş, öğle yemeğinde günde bir kez tüketilen veya üç porsiyona bölünmüş aynı PS alımı, benzer LDL düşürücü etkilerle sonuçlanmıştır [24].

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, PS'nin gıda ile veya gıdasız alımı karşılaştırılmıştır. Sonuçlar, gıda ile tüketimlerinin metabolik etkilerini artırabileceğini göstermiştir (aşağıya bakınız) [25].

Diyabetik hastalarda PS kullanımı da literatürün sistematik bir incelemesine konu olmuştur [26]. Ele alınan 18 çalışmadan, 3-12 hafta boyunca tedavi edilen 148 denegi içeren sterol takviyeli margariner ($n = 4$) ve granola barlar ($n = 1$) ile yapılan 5 klinik çalışma meta-analize dahil edilmiştir. Sonuçlara göre, diyabet hastalarının 1,6-3 g/gün bitki steroller/stanoller ile takviye edilmesi, trigliserit seviyelerini etkilemeksizin toplam ve LDL kolesterolü önemli ölçüde azaltmıştır (sırasıyla ortalama -10,3 mg/dL ve -12,2 mg/dL). HDL-kolesterol seviyeleri artma eğiliminde olmuş, ancak bu etki istatistiksel olarak anlamlı olmamıştır. Bu gözlemlerin daha büyük hasta grupları üzerinde daha uzun süreli klinik çalışmalarla doğrulanması gerekse de, özellikle LDL kolesteroldeki her %1'lik azalmanın tip 2 diyabetten etkilenenler gibi yüksek kardiyovasküler risk altındaki bireyler için KKH göreceli riskinde %1'lik bir azalmaya karşılık geldiğine dair endikasyon göz önünde bulundurulduğunda klinik önem taşımaktadır.



7. Fitosteroller ve gıdalar

PS'nin kolesterol düşürmedeki etkinliği, ağırlıklı olarak normal veya düşük yağlı sürülebilir ürünlere dahil edilerek test edilmiştir [27]. Hem bitki sterollerini hem de stanoller az yağlı süt ve yoğurt, unlu mamuller, portakal suyu, tahıl barları, az yağlı ve yağsız içecekler ve çikolataya entegre edilmiştir. Farklı gıda bileşimlerinin PS'nin hipokolesterolemik etkisi üzerindeki etkisi, aynı gıda taşıyıcısı ile yürütülen klinik çalışmalardan elde edilen verilerin büyük değişkenliği nedeniyle henüz tam olarak açıklığa kavuşturulmamıştır. Abumweis ve arkadaşları [22], PS'nin uygulanması için kullanılan farklı gıda taşıyıcılarının yağ içeriğine ve fiziksel biçimine göre dikkate alınan 59 çalışmayı dört grupta sınıflandırmıştır: yağlı sürülebilir ürünler, mayonez ve salata sosu, süt ve yoğurt ve diğerleri (çikolata, tahıl barları, içecekler, meyve suları, et ve fırında pişmiş ürünler dahil). Sürülebilir gıdalara, mayonez/salata sosuna ve süt/yoğurda katılması, LDL kolesterolün düşürülmesinde diğer gıdalara katılmasından daha büyük bir etkinlikle ilişkilendirilmiştir; bu da gıda matrisinin kolesterol düşürücü etkisi etkilemedeki önemli rolünü ortaya koymaktadır. Özellikle, bitki stanol esterlerinin düşük yağlı süt ile birlikte kullanımının ekmek ve kahvaltılık tahıllara kıyasla neredeyse üç kat daha etkili olduğu gösterilmiştir [28].

8. Güvenlik

ABD Gıda ve İlaç Dairesi ve Avrupa Birliği Bilimsel Komitesi, fonksiyonel gıdalarda kullanılmalarını onaylamadan önce ve onayladıktan sonra fitosterollerin, fitostanollerin güvenliği kapsamlı bir şekilde incelemiştir.

8.1. Toksikite

İlk toksisite çalışması, 1950'lerde kolesterol düşürmek için pazarlanan ve %65 ila 90 sitosterol içeren PS preparatları ile yapılmıştır. Büyük miktarlarda PS ile beslenen siçan, tavşan ve köpeklerde 2 yıl boyunca büyüme, serum proteinleri, kan üre azotu, kaba ve mikroskobik görünüm açısından saptanabilir bir etki gözlenmemiştir. Daha sonra, 90 gün boyunca %0,1-5,0 (ağırlıkça/ağırlıkça) seviyelerinde karışık PS ile beslenen siçanlarda PS için toksisite ve genotoksisite eksikliği değerlendirilmiştir [29].

PS (steroller ve stanoller) esterleri için kadınlarda üreme hormonları seviyeleri ve sağlıklı gönüllülerde dışkı bakteriyel enzimleri veya kısa zincirli yağ asitleri üzerinde herhangi bir etki gözlenmemiştir [29].

8.2. Plazma karotenoidleri üzerindeki etkiler

PS (stanoller ve steroller) tüketimi, muhtemelen plazmadaki vitamin taşıyıcıları olan lipoproteinlerdeki azalmanın bir sonucu olarak, yağda çözünen vitaminlerin plazma seviyelerinde bir azalma ile ilişkilendirilmiştir [21]. Bir meta-analiz A, D ve E vitaminleri, alfa karoten ve likopenin dolaşımdaki konsantrasyonlarının LDL plazma seviyelerine göre ayarlandıktan sonra PS'den etkilenmediğini göstermiştir [21]. Ayrıca, karotenoid kaynaklarının (havuç, kabak, kayısı, ıspanak, brokoli) tüketimindeki bir artış, PS takviyesini takiben plazma karotenoid azalmasını dengeleyebilir gibi görünmektedir [30].

Öte yandan, PS tüketiminden sonra beta karoten plazma seviyeleri, lipoprotein etkisi ayarlandıktan sonra da önemli ölçüde azalmıştır.

Bununla birlikte, günde önerilen 5 porsiyon meyve ve sebze şeklinde diyeti karotenoidlerin eklenmesi, PS ile desteklenen deneklerde karotenoid seviyelerini normal aralıkta etkili bir şekilde korumaktadır [31]. Sürülebilir gıdalara veya ekmek ve tahıllara katılan PS ile takviye edilen denekler üzerinde yapılan çalışmalar, meyve ve sebze tüketiminin artırılmasının dolaşımdaki karotenoid seviyelerini düzeltmek ve korumak için yeterli olduğunu göstermiştir [31]. PS'nin karotenoidi düşürmesi konusu emziren kadınlarda da ele alınmıştır, ancak bunun bebek gelişimi üzerindeki sonuçları hala açıklığa kavuşturulmamıştır [32].

2002 yılında, Avrupa Komisyonu Gıda Bilimsel Komitesi'nin bir belgesi "fitosterollerce zenginleştirilmiş gıdaların uzun süreli tüketiminin neden olduğu kan β -karoten ve diğer yağda çözünen besin maddeleri seviyelerinde beklenen azalmayı dengelemek için doğal β -karoten kaynaklarının, yani karotenoid bakımından zengin sebze ve meyvelerin kullanılmasını önermektedir" [33].

2004 yılında Avrupa Komisyonu, 608/2004 sayılı Komisyon Tüzüğü (EC) "fitosteroller, fitosterol esterleri, fitostanoller ve/veya fitostanol esterleri eklenmiş gıdalara ve gıda bileşenlerinin" etiketlenmesi için özel kurallar kabul etmiş ve "bu gıdanın, plazma karotenoid seviyelerinin korunmasına yardımcı olmak için düzenli meyve ve sebze tüketimi de dahil olmak üzere dengeli bir beslenmenin parçası olması gerektiğini" belirtmiştir [34].

8.3. Sitosterolemi (fitosterolemi)

Sitosterolemi, enterositten alınan bitki sterollerini bağırsak lümenine geri atarak bağırsak bitki sterol emilimini düzenlemede önemli bir rol oynayan yarı taşıyıcılar olan ABCG5 ve ABCG8'den yalnızca birindeki mutasyonlarla ilişkili, nadir görülen kalıtsal bir otozomal resesif hastalıktır [9,35]. Sitosterolemili ailelerde tanımlanan ABCG5 ve ABCG8'deki mutasyonların bazıları, normal işlevsellikten yoksun kesilmiş proteinlerle sonuçlanmaktadır.

ABCG5/ABCG8 eksikliği olan fareler üzerinde yapılan çalışmalar, nakavt hayvanların daha yüksek kolesterol dışı sterol konsantrasyonlarına sahip olduğunu göstermiştir, bu da ABCG5 ve ABCG8'in hücre membranlarında kolesterolü korumak için gerekli olduğunu düşündürmektedir [36]. Daha yüksek hepatik kolesterol konsantrasyonlarına rağmen safradaki daha düşük sterol konsantrasyonları, ABCG5 ve ABCG8 eksikliğinin safrada tercihli sterol salgılanmasının kaybıyla ilişkili olduğunu göstermektedir.

Sitosterolemi aslında bitki ve kabuklu deniz ürünleri sterollerini de dahil olmak üzere seçici olmayan sterol hiperabsorpsiyonu ile karakterize olup ksantom ve erken KKH gelişimine yol açmaktadır [37]. Sitosterolemisi olan hastalar, normal bireylerde emilen %5'ten daha azına kıyasla, alınan sitosterolün %15 ila 60'ını emer. Bu kişilerde, kolesterolün safraya salgılanması gibi, beslenmeyle alınan kolesterolün bağırsaktan emilimi de artmaktadır.

Bağırsaktan alımın artması ve hepatik salgının azalması sonucunda, PS ve diğer nötr sterollerin plazma konsantrasyonları sağlıklı bireylerdekinden yaklaşık 50-100 kat daha yüksektir.

Bu nedenle, dolaşımdaki seviyeleri daha da yükselebilecek olan homozigot sitosterolemik hastalarda diyet PS kontrendikedir. Genel olarak, 2-3 g/gün bitki sterolü alımının serum sitosterol ve kampesterol konsantrasyonlarını sağlıklı bireylerde sırasıyla %30 ve %70, heterozigot sitosterolemik hastalarda ise sırasıyla %50 ve %125 oranında yükselttiği gösterilmiştir; bu da neredeyse normal fonksiyon için sadece bir fonksiyonel ABCG5 veya ABCG8 alelinin yeterli olduğunu düşündürmektedir.

Sitosterolemi aynı zamanda HMG-CoA redüktaz ve kolesterol biyosentez yolunda yer alan diğer enzimlerin düşük aktivitesi ve LDL reseptörünün artmış ekspresyonu ile ilişkilidir, bu da baskılanmış kolesterol seviyeleri ile sonuçlanmaktadır [38].

Sitosteroleminin yanı sıra, plazma kampesterol/kolesterol ve sitosterol/kolesterol oranları ile PS plazma konsantrasyonlarını belirleyen birkaç yaygın dizi varyasyonu tanımlanmıştır. Kısacası, kolesterol (ve PS) metabolizması ile vasküler fonksiyon ve yapı arasındaki gen tarafından düzenlenen etkileşimin açıklığa kavuşturulması, uygun takviyenin uyarlanmasına yardımcı olacaktır [39].



8.4. Fitosterol plazma düzeyleri ve ateroskleroz

Sitosterolemisi olan birkaç kişide erken KKH gelişmesi, yüksek serum PS seviyelerinin varlığının özellikle ateroskleroz olabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, yüksek serum bitkisel sterol seviyeleri ile geniş bir popülasyon çalışmasında [40] kaydedilen KKH insidansı arasındaki ilişki, benzer özelliklere sahip diğer iki vaka kontrol çalışmasında doğrulanmamıştır [41,42]. Yaşları 30-67 arasında değişen 2542 kişide yapılan elektron ışını bilgisayar tomografisi, sitosterol veya kampesterol değil ama kolesterol plazma seviyelerinin koroner kalsiyum varlığında önemli ölçüde yüksek olduğunu ortaya koymuş ve yüksek plazma PS seviyeleri ile ateroskleroz arasındaki ilişkiyi desteklememiştir. Ayrıca, normal bireylerde serum PS seviyeleri ile ilişkili risk derecesi, sitosterolemi hastalarında gözlenen seviyelerin çok altındadır [43].

Daha yüksek alımlardan kaynaklanan bitki sterollerinin artan emiliminin ateroskleroz riskini artırabileceği öne sürülmüştür; ancak, hiperkolesterolemiye diyetle tedavi edici bir yaklaşım olarak gram miktarlarında PS alımı, PS plazma seviyelerini sitosterolemili hastalarda gözlenen 20-100 kat daha düşük değerlere yükseltir, yine de normal fizyolojik aralığındadır [44].

PS alımı ile ateroskleroz gelişme riski arasındaki ilişkiye dair kanıtlar, PS'nin aterosklerotik bir risk faktörü olarak lehinde ve aleyhinde mevcut verilerin analiz edildiği son incelemelerde özetlenmiştir [9,44]. Özetle, dolaşımdaki PS artışı ile KKH riski arasında bir ilişki gözlemsel çalışmalarla (prospektif kohort çalışmaları, vaka-kontrol çalışmaları) varsayılmıştır [21]. Bugün itibarıyla, bu konuyu ele alan kontrollü müdahale çalışmaları bulunmamaktadır. PS ile zenginleştirilmiş gıdaların potansiyel riskinin daha önemli bir kardiyovasküler risk faktörü olan ve azalması KKH riskinde azalma ile ilişkilendirilen LDL kolesterolünün azaltılmasındaki etkinliği ile dengelenebileceğini öne sürüyoruz. Her halükarda, yalnızca ileriye dönük müdahale denemeleri bu sorunu nihayetinde tam olarak çözüme kavuşturacaktır.

Weingartner ve arkadaşları [45] tarafından yakın zamanda yayınlanan bir makalede PS ile desteklenmiş bir Batı diyetiyle beslenen apoE^{-/-} farelerinde artmış ateroskleroz ile korelasyon gösteren artmış plazma sterol konsantrasyonları bildirilmiştir. Aynı yazarlar PS tüketen hastaların aort kapak dokusunda artmış plazma konsantrasyonları ve 5 kat daha yüksek sterol konsantrasyonları kaydetmişlerdir. Buna karşılık, klinik son noktalarla ilgili çalışmalar eksiktir ve şu anda kolesterolemi gibi vekil belirteçlere güvenmek durumundayız.

9. İlaçlarla kombinasyon

Fitosterolün statinlere ek hipokolesterolemik etkisi ilk olarak yüksek dozlarda gösterilmiştir: 5,1 g/gün bitki stanoller/steroller LDL konsantrasyonlarında %15'lik ek bir azalma sağlamaktadır [46].

Statin alan hastalar için fitosterollerin etkileri, 4-8 hafta boyunca 2-3 g/gün dozlarında hem stanollerin hem de sterollerin kullanıldığı ve %7-11 oranında LDL kolesterol azalmasıyla sonuçlanan çift kör, randomize, plasebo kontrollü çalışmalarla doğrulanmıştır [47]. LDL kolesteroldeki ilave düşüşün büyüklüğü statin dozunun dört katına çıkarılmasından beklenenden biraz daha düşük olmuştur.

Başta ezetimibe olmak üzere diğer lipid düşürücü ajanlar da PS ile kombinasyon halinde araştırılmıştır. Assman ve arkadaşları, ezetimibe tedavisi sırasında PS emiliminin azaldığını göstermiştir [48].

Gerçekten de, iki ajan benzer etki mekanizmalarını paylaşmaktadır ve kolesterol ve PS emilimi için birbirleriyle rekabet edebilirler: Jakulj ve ark. ezetimibe tedavisine PS eklenmesinin ek bir faydası olmadığını göstermiştir [49]. Farelerde yapılan çalışmalarda [50] fibrat-PS kombinasyonunun sinerjik etkileri kanıtlanmamıştır; Nigon ve arkadaşları PS takviyesinin hafif bir katkı etkisi olduğunu bildirmiş olsalar da [51], bu durum henüz tam olarak araştırılmayı beklemektedir.

10. Sonuçlar

Sonuç olarak, alışımlı gıda maddeleriyle birlikte tüketilen bitki steroller ve stanoller genel olarak güvenli olarak kabul edilmektedir ve yetişkinlerde kullanımlarının olumsuz etkileri pek olası görünmemektedir [29]. Mevcut kanıtlar, tercihen yağ zengini bir gıda matrisinde çözünmüş ve bir öğünün sonunda tüketilen yaklaşık 1,6-2 g/gün'lük sterol ve stanol tüketiminin LDL kolesterol seviyelerini %10 oranında düşürmede etkili olduğunu göstermektedir. Bu azalma, takip eden 5 yıl içinde KKH riskinin %12-20 oranında düşmesine karşılık gelebilir, ancak bu hipotezin doğrulanması gerekmektedir ve klinik son noktaları olan çalışmalar eksiktir.

Kaynaklar

[1]





Review

Phytosterols and cardiovascular health

Franca Marangoni, Andrea Poli*

Nutrition Foundation of Italy, Viale Tunisia 38, 20124 Milano, Italy

ARTICLE INFO

Article history:

Received 10 November 2009

Received in revised form

31 December 2009

Accepted 5 January 2010

Keywords:

Phytosterols

Stanols

Cholesterol

Cholesterol absorption

Nutraceuticals

Atherosclerosis

Functional foods

ABSTRACT

Phytosterols are typical constituents of plants' cell walls. When ingested with plant foods, they reduce cholesterol absorption from the gut, due to their structural similarity with cholesterol. In the last decades, purified plant sterols or stanols have been added to various foods items to obtain functional foods with remarkable hypocholesterolemic activity. A daily intake of plant sterols or stanols of 1.6–2 g/day, incorporated in these foods, is able to reduce cholesterol absorption from the gut by about 30%, and plasma LDL cholesterol levels by 8–10%. Since the action of plant sterols or stanols on plasma LDL cholesterol is additive to that of statins, the former can be used to increase the latter's hypocholesterolemic action in patients needing a marked reduction in plasma LDL cholesterol levels. Phytosterols, up to 3 g/day, are safe and effective cholesterol-lowering agents.

© 2010 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Contents

1. Introduction	193
2. Biochemistry	194
3. Dietary sources and intake	194
4. Metabolism	195
4.1. Absorption	195
4.2. Distribution and excretion	195
5. Mechanisms of hypocholesterolemic activity	196
6. Association between PS intake and plasma cholesterol levels: epidemiological evidence and clinical trials	196
7. Phytosterols and foods	197
8. Safety	197
8.1. Toxicity	197
8.2. Effects on plasma carotenoids	197
8.3. Sitosterolemia (phytosterolemia)	197
8.4. Phytosterol plasma levels and atherosclerosis	198
9. Combination with drugs	198
10. Conclusions	198
References	198

1. Introduction

Non-pharmacological control of plasma lipid profile is being actively explored with the use of a variety of agents/nutrients/nutraceuticals/functional foods [1–3]. Among such

agents, phytosterols are being widely employed and are part of several food items and supplements.

The hypocholesterolemic effects of phytosterols (plant sterols and stanols, PS) have been known since about 1950, when a fall of about 27% was observed in the plasma cholesterol levels of 26 healthy subjects supplemented with 5–10 g/day of PS, for 2 weeks. Subsequent studies demonstrated that high doses of PS (over 10 g/day), taken for 3–5 weeks, were able to decrease blood cholesterol levels, on average, up to 20% [4].

* Corresponding author. Tel.: +39 0276399532.

E-mail address: poli@nutrition-foundation.it (A. Poli).

The doses of PS recommended to reduce blood cholesterol, consequently, ranged between 9 and 30 g/day up to the late '70s. The first PS preparations were quite heterogeneous in terms of both composition and source, but they all appeared to be effective and safe. Their pharmacological application was limited, at those times, to severe hypercholesterolemias, mainly due to the elevated cost of high-purity compounds.

Calculations of the large amounts of PS in the ancestral diet stimulated research on their role in human health, notably with the aim to correct the low intake of these compounds in modern diets. Hence, PS shifted from being natural food components to being formulated into medications and supplements or incorporated in conventional foods. Firstly, they were incorporated into lipid-based products, mostly margarines. Subsequently, the progress of food technologies has allowed to improve their solubility and incorporation in different food products such as fruit juice, ice cream, oven baked products, etc. [5].

2. Biochemistry

Like cholesterol, to which they are related both structurally and biosynthetically, PS belong to the family of triterpenes, with a tetracyclic ring and a side chain linked to carbon 17. They can be classified into sterols and stanols, according to the presence or absence of a double bond at the Δ^5 position. PS exist in free or esterified forms: free sterols form part of the cellular wall, where they play important structural functions, whereas sterol esters represent storage products within the cell [6] (Fig. 1).

More than 250 different PS molecules have been identified to date; β -sitosterol is the most abundant among them. The only structural difference between sitosterol and cholesterol consists of an additional ethyl group present at position C-24 in sitosterol, which is probably responsible for its poor absorption. Other plant sterols such as campesterol, stigmasterol, and dihydrobrassicasterol are present in vegetal foods at much lower concentrations; the saturated derivatives campestanol and sitostanol are found in almost negligible amounts in plants [7]. In turn, the most common dietary PS are sitosterol, campesterol, and stigmasterol, that contribute to about 98% of the total dietary intake.

3. Dietary sources and intake

The main PS sources are vegetable oils, nuts, grains, and grain-derived products; also sprouts, cabbages, cauliflowers, green and black olives contain plant sterols and stanols (Table 1). Among non-vegetable foods, egg yolks, mammalian liver and crustaceans represent important sources of PS in Western diets. In walnuts, PS represent 0.1–0.2% of the total lipid fraction; about 87% of the total PS is represented by sitosterol. Macadamia nuts contain about 1.3 mg of PS per gram of lipids [8].

The major sources of plant sterols used for incorporation into commercial products are tall oil – which contains up to 80% β -sitosterol – and the by-products of soybean oil production. Both sterols and stanols are frequently used in esterified forms, as fatty acid esters: this increases their solubility and allows their incorporation into lipid-based foods [7].

Due to large differences in the consumption of plant foods throughout the world, the dietary intake of PS ranges from 167 mg/day in Britain (mainly from vegetable oils) to 375 mg/day in Japan [9]. However, it varies greatly also within Western population groups, being markedly higher (+50%) in vegetarians. In the large sample of the EPIC study (European Prospective Investigation into Cancer), performed on 22,256 subjects, PS intake ranged from 463 mg/day (highest quintile) to 178 mg/day (lowest quintile)

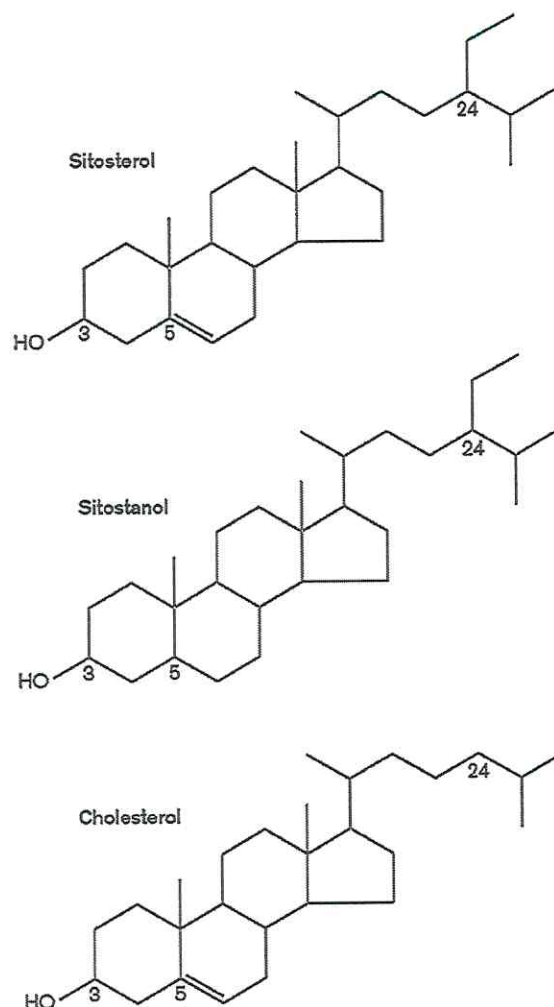


Fig. 1. Structures of sitosterol and sitostanol.

[10,11]. The dietary intake of plant stanols is much lower, about 50 mg/day [10].

As PS cannot be endogenously synthesized by humans, their circulating levels are only dependent upon diet and absorption efficiency. Miettinen and coworkers [12] found a positive correlation between the circulating concentration of campesterol and sitosterol and the amount of dietary PS ingested, as well as the polyunsaturated/saturated fatty acid ratio of dietary fat and the linoleic acid contents of plasma and dietary lipids. Depending on the type and amount of plant foods consumed, PS consumption, and therefore PS blood levels, may vary greatly within and between populations.

Results from intervention studies suggest that higher PS intake in the form of supplements increases circulating levels of PS, while plant stanol supplementation decreases them [9].

Inter-individual variability affects phytosterols' absorption: it is known that the absorption route of PS is similar to that of cholesterol, whose efficiency is affected by ApoE polymorphisms. Therefore different ApoE phenotypes may modify plasma concentrations of PS, even if data from studies in different populations are inconsistent and not as yet conclusive. However, it is likely that the ApoE phenotype plays a role in explaining why variations in PS concentrations exist within and across different population groups [13].



Table 1
Mean content of sterols and stanols in some vegetable foods (mg/100 g).

Food	Total phytosterols (mg/100 g) ^a
Oils and fats	
Wheat germ oil	919
Corn oil	909
Rapeseed oil	668
Sunflower oil	411
Soybean oil	320
Peanut oil	258
Grape seed oil	215
Margarine	217 (92–721)
Olive oil	154
Palm oil	39
Nuts and seeds	
Sesame seeds	360
Sunflower seeds	300
Pistachio nuts	276
Almonds	183
Hazelnuts	138
Walnuts	127
Peanuts	104
Cereals	
Wheat germ	344
Wheat bran	200
Buckwheat flour	99
Whole wheat bread	86
Rye flour	86
Whole wheat flour	70
Wheat	69
Rye	69
Crackers	67
Muesli	63
Orn flour	52
Bread	44
Rice	30
Wheat flour	28
Rice flour	23
Corn flakes	22
Puffed rice	20
Fruits	
Passion fruits	44
Oranges	24
Figs	22
Lemmons	18
Grapefruits	18
Pineapples	17
Clementines	16
Peaches	15
Apples	13
Pears	12
Kiwi	9
Melons	2
Watermelons	1
Vegetables	
Black olives	50
Bruxelles sprouts	43
Cauliflowers	40
Broccoli	39
Green olives	35
Mushrooms	18
Celeries	17
Carrots	16
Fennels	10
Onions	8
Leeks	8
Peppers, green	7
Tomatoes	5
Boiled potatoes	4

^a Sum of sitosterol, campesterol, stigmasterol, sitostanol and campestanol.

4. Metabolism

4.1. Absorption

The first studies, carried out at the beginning of the last century, indicated that PS were not significantly absorbed by humans. More recently, the administration of deuterium-labelled PS to human subjects has allowed assessing the quite low, but different, absorption rates of the various components. These rates range from about 0.5% to 1.9% for sitosterol and campesterol, respectively; the figures for the corresponding saturated PS are reduced by approximately an order of magnitude (0.044% for sitostanol and 0.155% for campestanol) [7].

Heinemann et al. [14] demonstrated that the rate of intestinal absorption of PS is inversely associated with the side chain length: under normal conditions, PS with a long side chain are minimally absorbed as compared with cholesterol.

The absorption sequence is similar for both cholesterol and PS. Both these sterols are solubilized in mixed micelles, after the hydrolyzation of esters by a pancreatic ester hydroxylase. The enterocyte is penetrated by either passive diffusion or by a receptor-mediated process. The putative specific carrier of cholesterol and PS is NPC1L1, a trans-membrane transport protein that was recently described [15]. Indeed, selective NPC1L1 blockade by ezetimibe halves both cholesterol and PS absorption [16].

The PS side chain is responsible for the selective secretion of sitosterol and other PS from the enterocyte into the intestinal lumen, mediated by the adenosine triphosphate (ATP) binding cassette (ABC) transporters ABCG5 and ABCG8 [7]. Recent findings suggest that ABCG5 and ABCG8 play a role also in the biliary secretion of sterols.

Within the mucosa, a fraction of PS is re-esterified by the ACAT. The intestinal esterification of sterols by ACAT was reported to be significantly less efficient for PS than for cholesterol [17].

As a consequence, plasma levels of PS in humans are normally about 0.5% of those of cholesterol, reflecting both the high endogenous cholesterol synthesis in the liver and the less efficient absorption of PS by the small intestine. Plant stanols concentrations in plasma are only 0.05% that of cholesterol [18].

4.2. Distribution and excretion

Absorbed PS are transported to the liver via chylomicrons, as is cholesterol. In experimental models, however, only 12% of PS (as compared to 70–80% of the absorbed cholesterol) is transported in the esterified form in the chylomicrons. Free PS are carried as surface lipids in these particles.

Once taken up by the liver from the chylomicrons remnants, PS are secreted into blood as constituents of VLDL particles. The percentage of esterified PS and esterified cholesterol in VLDL and LDL is essentially identical. HDL, on the opposite, have a higher PS/cholesterol ratio in comparison with LDL and VLDL, suggesting that PS are preferentially carried by these particles. Together with the observations that the HDL-associated PS seem to be selectively secreted into bile and that the PS/cholesterol ratio is usually higher in bile than in plasma, these data indicate that HDL lipoproteins play an important role in the removal of PS from the body [19].

At the cellular level, PS are stored in the cytoplasm or incorporated into the cell membrane. They play no known biological or functional role [17].

Excretion of absorbed PS takes place primarily via the biliary route, while a minor fraction is excreted through the skin. Together with lower absorption, PS's excretion is rapid and responsible for the fact that endogenous pool size of PS are smaller than those of cholesterol.



Data on bile acids biosynthesis from PS are conflicting. Recent evidence indicates that, after losing their side chain, they are catabolised – like cholesterol – in the different organs [17].

5. Mechanisms of hypocholesterolemic activity

PS intake with food decreases intestinal cholesterol absorption, eventually inducing a reduction in plasma total and LDL cholesterol concentrations [19]. Early studies showed that plant stanols were more effective in decreasing cholesterol absorption than sterols, suggesting a greater cholesterol-lowering effect [10]. More recently, however, the effect of plant sterol and stanol esters – incorporated in butter or margarine – on cholesterol absorption and, consequently, on plasma cholesterol levels, has been shown to be comparable. Interestingly, PS have a reduced capacity to suppress HMG-CoA reductase activity as compared to cholesterol. This is in accordance to the finding that the cholesterol-lowering effect of PS does not involve suppression of the endogenous cholesterol synthesis.

The principal mechanisms of PS-induced reduction in cholesterol absorption have been elucidated. In brief, PS compete with cholesterol molecules for incorporation into mixed micelles in the intestinal tract. A co-crystallization with cholesterol, yielding an increased fecal excretion of cholesterol, takes also place.

A few studies suggest that similar effects can be obtained by administering PS in a single dose or divided into the 3 meals; this suggests that the daily intake pattern does not affect PS efficacy on plasma cholesterol levels, and that the reduced incorporation of cholesterol into mixed micelles may only partially be responsible for the cholesterol-lowering effect of PS assumed with meals. Plat and Mensink have proposed that PS enter the enterocytes, thereby affecting intestinal lipoprotein metabolism [19]. In contrast to cholesterol, PS are only minimally esterified, incorporated, and secreted into the circulation via the chylomicrons.

As compared with cholesterol, PS are more readily hydrolyzed. This process leads to a lower solubilization of cholesterol into micelles, decreasing its absorption and, in turn, increasing fecal excretion of cholesterol and its metabolites.

PS may affect cholesterol levels also through the upregulation of the ATP-binding cassette transporters ABCG-5 and ABCG-8, located at the apical surface of the enterocyte.

6. Association between PS intake and plasma cholesterol levels: epidemiological evidence and clinical trials

The effect of PS on blood cholesterol has been extensively studied in humans. In observational studies, performed in Northern Sweden and in Great Britain, free living subjects in the top quintiles of PS intake with food have a significantly lower plasma total and LDL cholesterol as compared to subjects in the lowest intake quintile [11,20].

Significant reductions of LDL cholesterol levels have also been obtained in most of randomized clinical trials performed using PS in humans. The dose–effect relationship starts to exhibit significant hypocholesterolemic effects at intakes of about 500 mg/day (in good accordance with the epidemiological evidence previously described). This effect is increased for daily intakes in the range 500–2500 mg/day, while for greater intakes the effect on LDL cholesterol levels seems to level off [21].

A recent meta-analysis has considered 59 selected randomized placebo-controlled studies, conducted to test the efficacy of interventions lasting 2 or more weeks (with PS incorporated into food matrices), on circulating cholesterol levels in adults [22]. In the

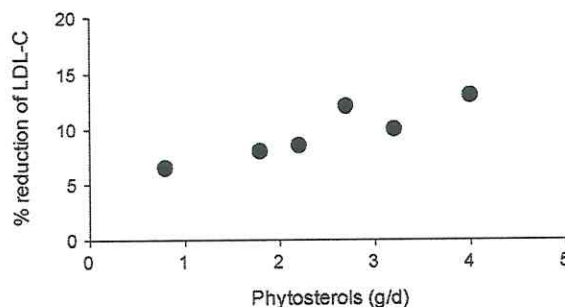


Fig. 2. Estimates of low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) percentage reductions as recorded in randomized placebo-controlled trials. The ranges of daily doses shown (number of trial arms in parentheses) are 0.7–1.1 g (8), 1.5–1.9 g (13), 2.0–2.4 g (14), 2.5–2.9 g (5), 3.0–3.4 g (13), and 4.0–4.2 g (2). Adapted from Katan et al. [21].

overall pooled estimate on about 4500 subjects, LDL levels significantly decreased by 0.31 mmol/L on the average, compared with placebo, despite the great clinical and methodological heterogeneity observed between the trials. The splitting of subjects into two groups according to the baseline LDL cholesterol concentrations, defined low and high according to ATP III, has allowed noting that the greater LDL reduction occurred in individuals with optimal initial levels. These results were recently discussed by Demonty et al., who analyzed 84 trials and concluded that “Higher baseline LDL-C concentrations resulted in greater absolute LDL-C reductions” [23]. A less recent study from Katan et al. [21] has concluded that the placebo-adjusted reduction in LDL cholesterol associated with PS rises with age, probably due to the progressive increase of the baseline levels, even though the percentage reduction was not significantly different in younger vs. older people.

The results of a meta-analysis published by Abumweis [22] confirm the dose–response effect of PS, at doses ranging from 1.5 g to 2.5 g/day, as already shown by Katan (Fig. 2). Little additional effects were recorded at doses higher than 2.5 g/d. However, the 5–10% effect estimated while testing doses of 0.7–1.1 g/d suggests that about half the effect observed with higher amounts may be attained at this dose.

Data from short- and long-term trials indicate that the cholesterol-lowering effect of PS is noticeable within few weeks and that it remains stable for up to 1 year of supplementation. In particular, the administration of plant sterols with margarines at doses of 1.5 and 3 g/day for 6 months induced the same reduction in both total (–8.9% vs. –8.3%) and LDL cholesterol (–11.3% vs. 10.6%) [19]. However, interruption of regular intakes may halt the effects of PS, bringing cholesterol concentrations back to basal conditions.

As already mentioned, the hypocholesterolemic effect of PS may also be affected by the frequency and the time of their intake. Concerning frequency, the same intake of PS esterified in margarines, consumed once per day at lunch or divided over three portions resulted in similar LDL lowering effects [24].

In a recent study, the intake of PS with or without food was compared. The results suggested that their consumption with food may increase their metabolic effects (see below) [25].

The use of PS in diabetic patients has also been the subject of a systematic review of the literature [26]. From the 18 studies considered, 5 clinical trials with sterol-fortified margarines ($n=4$) and granola bars ($n=1$), involving 148 subjects treated for 3–12 weeks, were included in the meta-analysis. According to the results, the supplementation of diabetic patients with 1.6–3 g/day of plant sterols/stanols significantly reduced total and LDL cholesterol (–10.3 mg/dL and –12.2 mg/dL on average, respectively), without affecting triglyceride levels. HDL-cholesterol levels tended to increase, but the effect was not statistically significant. Although



these observations need further confirmations by longer term clinical trials on larger groups of patients, they are of clinical relevance, especially according to the indication that each 1% reduction in LDL cholesterol corresponds to a 1% reduction in CHD relative risk, especially for subjects at high cardiovascular risk, like those affected by type 2 diabetes.

7. Phytosterols and foods

The efficacy of PS in cholesterol lowering have been tested predominantly by incorporating them into either regular or low fat spreads [27]. Both plant sterols and stanols have been integrated into low fat milk and yoghurt, bakery products, orange juice, cereal bars, low and non-fat beverages, chocolate. The impact of different food compositions on the hypocholesterolemic effect of PS has not yet been completely clarified, due to the great variability of data from clinical trials carried on with the same food carrier. Abumweis and coworkers [22] have classified all the 59 considered studies according to the fat content and the physical form of the different food carrier used for the administration of PS into four groups: fat spreads, mayonnaise and salad dressing, milk and yoghurt and others (including chocolate, cereal bars, beverages, juices, meat and oven baked products). The incorporation into spreads, mayonnaise/salad dressing, milk/yoghurt, was associated with a greater efficacy in LDL cholesterol reduction than incorporation into other foods, suggesting the important role of the food matrix in affecting the cholesterol-lowering effect. In particular, it has been demonstrated that plant stanol esters with low fat milk are almost three times more effective than with bread and breakfast cereals [28].

8. Safety

The US Food and Drug Administration and the European Union Scientific Committee have thoroughly reviewed the safety of phytosterols, phytostanols, before and after approving their use in functional foods.

8.1. Toxicity

The first toxicity study was performed with PS preparations to be marketed in the 1950s for cholesterol lowering, containing from 65 to 90% of sitosterol. No detectable effects were observed in rats, rabbits, and dogs fed large amounts of PS over a 2-year period with regard to growth, serum proteins, blood urea nitrogen, gross and microscopic appearance. Afterwards, the lack of toxicity and genotoxicity has been assessed for PS in rats fed mixed PS at levels of 0.1–5.0% (wt/wt) for 90 days [29].

No effect has been observed for PS (sterols and stanols) esters on levels of reproductive hormones in women and on fecal bacterial enzymes or short-chain fatty acids in healthy volunteers [29].

8.2. Effects on plasma carotenoids

The consumption of PS (stanols and sterols) has been associated with a reduction in plasma levels of fat-soluble vitamins, probably the result of a reduction in the lipoproteins which are the vitamin carriers in plasma [21]. A meta-analysis has shown that circulating concentrations of vitamins A, D and E, alpha carotene and lycopene are not affected by PS after adjustment for LDL plasma levels [21]. An increase in consumption of carotenoids sources (carrots, pumpkins, apricots, spinach, broccoli), moreover, seems to be able to balance the plasma carotenoid reduction following PS supplementation [30].

Beta carotene plasma levels, after PS consumption, are on the other hand significantly reduced also after adjusting for the lipopro-

tein effect. However, the addition of carotenoids to the diet in the form of the recommended 5 servings of fruit and vegetables per day effectively maintains carotenoid levels in the normal range in subjects supplemented with PS [31]. Studies on subjects supplemented with PS incorporated in spreads or bread and cereals have demonstrated that increasing the consumption of fruits and vegetables is enough to correct and to maintain circulating carotenoid levels [31]. The issue of carotenoid lowering by PS has also been addressed in lactating women, but its consequences on infant development are still to be elucidated [32].

In 2002, a document of the Scientific Committee on Food of the European Commission “recommends the use of natural sources of β -carotene, i.e. carotenoid-rich vegetables and fruits, to counterbalance the expected reduction of blood β -carotene and other fat-soluble nutrients levels caused by long-term consumption of foods enriched in phytosterols” [33].

In 2004, the European Commission adopted specific rules for labeling “foods and food ingredients with added phytosterols, phytosterol esters, phytostanols and/or phytostanol esters” in Commission Regulation (EC) No. 608/2004 and stated that “this food should be part of a balanced diet, including regular consumption of fruits and vegetables to help maintain plasma carotenoids levels” [34].

8.3. Sitosterolemia (phytosterolemia)

Sitosterolemia is a rare inheritable autosomal recessive disease, associated with mutations in only one of ABCG5 and ABCG8, the half-transporters which play an important role in regulating intestinal plant sterol absorption by excreting plant sterols that have already been taken up from the enterocyte back into the intestinal lumen [9,35]. Some of the mutations in ABCG5 and ABCG8, identified in families with sitosterolemia, result in truncated proteins that lack normal functionality.

Studies on ABCG5/ABCG8-deficient mice have demonstrated that knockout animals have higher concentrations of non-cholesterol sterols, suggesting that ABCG5 and ABCG8 are necessary to maintain cholesterol in cell membranes [36]. The lower concentrations of sterols in the bile, despite the higher hepatic cholesterol concentrations, indicate that the lack of ABCG5 and ABCG8 is associated with the loss of preferential sterol secretion in the bile.

Sitosterolemia is, in fact, characterized by non-selective sterol hyperabsorption, including plant and shellfish sterols, leading to the development of xanthomas and premature CHD [37]. Patients with sitosterolemia absorb between 15 and 60% of the ingested sitosterol, compared to less than 5% absorbed in normal subjects. In these subjects, the intestinal absorption of dietary cholesterol is enhanced too, as the secretion of cholesterol into the bile.

As a result of the increased intestinal uptake and the decreased hepatic secretion, plasma concentrations of PS and other neutral sterols are approximately 50–100 times higher than that in healthy subjects.

For this reason, dietary PS are contraindicated in homozygous sitosterolemic patients, whose circulating levels could be further elevated. In general, it has been demonstrated that the intake of 2–3 g/d of plant sterols elevates serum sitosterol and campesterol concentrations by 30% and 70%, respectively, in healthy subjects, and by 50% and 125%, respectively, in heterozygous sitosterolemic patients, suggesting that only one functional ABCG5 or ABCG8 allele is sufficient for nearly normal function.

Sitosterolemia is also associated with lower activity of HMG-CoA reductase and other enzymes involved in the cholesterol biosynthesis pathway and with the increased expression of the LDL receptor, resulting in suppressed cholesterol levels [38].

Aside from sitosterolemia, several common sequence variations have been described, determining the plasma campe-



terol/cholesterol and sitosterol/cholesterol ratios, as well as PS plasma concentrations. In brief, clarification of the gene-regulated interaction between cholesterol (and PS) metabolism and vascular function and structure will help tailoring the appropriate supplementation [39].

8.4. Phytosterol plasma levels and atherosclerosis

The development of premature CHD in several individuals with sitosterolemia suggests that the presence of high serum PS levels may be particularly atherogenic. However, the association between elevated serum plant sterol levels and the incidence of CHD registered in a large population study [40] has not been confirmed in two other case-control studies of similar characteristics [41,42]. Electron beam computer tomography in 2542 subjects aged 30–67 has revealed that plasma levels of cholesterol, but not sitosterol or campesterol, were significantly higher in the presence of coronary calcium, not supporting the relationship between elevated plasma PS levels and atherosclerosis. Furthermore the degree of risk associated with serum PS levels in otherwise normal individuals is much below the levels observed in patients with sitosterolemia [43].

It has been proposed that increased absorption of plant sterols, resulting from higher intakes, may increase the risk of atherosclerosis; however, the intake of PS in gram quantities, as a dietary therapeutic approach to hypercholesterolemia, increases PS plasma levels to values 20–100 times lower than those observed in patients with sitosterolemia, still within the normal physiologic range [44].

The evidence on the relationship between PS intake and the risk of developing atherosclerosis has been summarized in recent reviews [9,44], in which the available data in favor and against PS as an atherosclerotic risk factor have been analyzed. In brief, an association between the increase in circulating PS and CHD risk has been hypothesized by observational studies (prospective cohort studies, case-control studies) [21]. As of today, there are no controlled intervention studies that have addressed this issue. We propose that the potential risk of PS enriched foods may be counterbalanced by their efficacy in reducing LDL cholesterol, a more relevant cardiovascular risk factor, whose reduction is associated with a decrease in CHD risk. In any case, only prospective intervention trials would eventually fully resolve this issue.

It should be noted that a recent paper by Weingartner et al. [45] reported increased plasma sterol concentrations correlating with increased atherosclerosis in apoE^{-/-} mice fed a Western diet supplemented with PS. The same authors noted increased plasma concentrations and 5-fold higher sterol concentrations in aortic valve tissue of patients consuming PS. In turn, studies with clinical endpoints are lacking and, at present, we have to rely on surrogate markers such as cholesterolemia.

9. Combination with drugs

The additive hypocholesterolemic effect of phytosterol to statins has been firstly demonstrated with high doses: 5.1 g/day of plant stanols/sterols produce an additional 15% reduction in LDL concentrations [46].

The effects of phytosterols for patients receiving statins have been confirmed by double-blind, randomized, placebo-controlled trials using both stanols and sterols in doses of 2–3 g/day for 4–8 weeks and resulting in LDL cholesterol reduction of 7–11% [47]. The magnitude of the additional decrease in LDL cholesterol was slightly lower than that which would be expected from quadrupling the statin dosage.

Other lipid-lowering agents, notably ezetimibe, have also been investigated in combination with PS. Assman et al., showed

decreased PS absorption during ezetimibe treatment [48]. Indeed, the two agents share similar mechanisms of action and might compete with each other for cholesterol and PS absorption: Jakulj et al. showed no additional benefit of PS addition to ezetimibe treatment [49]. Studies in mice [50] did not prove synergistic effects of a combination fibrates-PS, which remains to be fully explored, even though Nigon et al. reported a mild additive effect of PS supplementation [51].

10. Conclusions

In conclusion, plant sterols and stanols consumed with habitual foodstuffs are generally recognized as safe and adverse effects of their use seem to be very unlikely in adults [29]. The available evidence demonstrates that the consumption of about 1.6–2 g/d of sterols and stanols, preferably dissolved in a fat rich food matrix, and consumed at the end of a meal, is effective in lowering LDL cholesterol levels by 10%. This reduction may correspond to a fall of CHD risk by 12–20% in the following 5 years, though this hypothesis needs confirmation and trials with clinical endpoints are lacking.

References

- [1] Poli A, Marangoni F, Paoletti R, Mannarino E, Lupattelli G, Notarbartolo A, et al. Non-pharmacological control of plasma cholesterol levels. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2008;18:51–16.
- [2] Chen ZY, Jiao R, Ma KY. Cholesterol-lowering nutraceuticals and functional foods. *J Agric Food Chem* 2008;56:8761–73.
- [3] Richard D, Kefi K, Barbe U, Poli A, Bausero P, Visioli F. Weight and plasma lipid control by decaffeinated green tea. *Pharmacol Res* 2009;59:351–4.
- [4] Thompson GR, Grundy SM. History and development of plant sterol and stanol esters for cholesterol-lowering purposes. *Am J Cardiol* 2005;96:3D–9D.
- [5] St Onge MP, Jones PJ. Phytosterols and human lipid metabolism: efficacy, safety, and novel foods. *Lipids* 2003;38:367–75.
- [6] Devaraj S, Jialal I. The role of dietary supplementation with plant sterols and stanols in the prevention of cardiovascular disease. *Nutr Rev* 2006;64:348–54.
- [7] Fernandez ML, Vega-Lopez S. Efficacy and safety of sitosterol in the management of blood cholesterol levels. *Cardiovasc Drug Rev* 2005;23:57–70.
- [8] Ostlund Jr RE. Phytosterols and cholesterol metabolism. *Curr Opin Lipidol* 2004;15:37–41.
- [9] Chan YM, Varady KA, Lin Y, Trautwein E, Mensink RP, Plat J, et al. Plasma concentrations of plant sterols: physiology and relationship with coronary heart disease. *Nutr Rev* 2006;64:385–402.
- [10] Ostlund Jr RE. Phytosterols in human nutrition. *Annu Rev Nutr* 2002;22:533–49.
- [11] Andersson SW, Skinner J, Ellegard L, Welch AA, Bingham S, Mulligan A, et al. Intake of dietary plant sterols is inversely related to serum cholesterol concentration in men and women in the EPIC Norfolk population: a cross-sectional study. *Eur J Clin Nutr* 2004;58:1378–85.
- [12] 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.
- [13] 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;32:738–42.
- [14] Heinemann T, Axtmann G, von Bergmann K. Comparison of intestinal absorption of cholesterol with different plant sterols in man. *Eur J Clin Invest* 1993;23:827–31.
- [15] Davis Jr HR, Altmann SW, Niemann-Pick C1 Like 1 (NPC1L1) an intestinal sterol transporter. *Biochim Biophys Acta* 2009;1791:679–83.
- [16] Wang DQ. Regulation of intestinal cholesterol absorption. *Annu Rev Physiol* 2007;69:221–48.
- [17] Trautwein E, Duchateau GS, Lin Y, Melnikov SM, Molhuizen H, Ntanos F. Proposed mechanisms of cholesterol-lowering action of plant sterols. *Eur J Lipid Sci Technol* 2003;105:171–85.
- [18] de Jong A, Plat J, Mensink RP. Metabolic effects of plant sterols and stanols (Review). *J Nutr Biochem* 2003;14:362–9.
- [19] Plat J, Mensink RP. Plant stanol and sterol esters in the control of blood cholesterol levels: mechanism and safety aspects. *Am J Cardiol* 2005;96:15D–22D.
- [20] Klingberg S, Ellegard L, Johansson I, Hallmans G, Weinehall L, Andersson H, et al. Inverse relation between dietary intake of naturally occurring plant sterols and serum cholesterol in northern Sweden. *Am J Clin Nutr* 2008;87:993–1001.
- [21] Katan MB, Grundy SM, Jones P, Law M, Miettinen T, Paoletti R. Efficacy and safety of plant stanols and sterols in the management of blood cholesterol levels. *Mayo Clin Proc* 2003;78:965–78.
- [22] Abumweis SS, Barake R, Jones PJ. Plant sterols/stanols as cholesterol lowering agents: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Food Nutr Res* 2008;52.



- [23] Demonty I, Ras RT, van der Knaap HC, Duchateau GS, Meijer L, Zock PL, et al. Continuous dose–response relationship of the LDL-cholesterol-lowering effect of phytosterol intake. *J Nutr* 2009;139:271–84.
- [24] 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;54:671–7.
- [25] Doornbos AM, Meynen EM, Duchateau GS, van der Knaap HC, Trautwein EA. Intake occasion affects the serum cholesterol lowering of a plant sterol-enriched single-dose yoghurt drink in mildly hypercholesterolaemic subjects. *Eur J Clin Nutr* 2006;60:325–33.
- [26] Baker WL, Baker EL, Coleman CI. The effect of plant sterols or stanols on lipid parameters in patients with type 2 diabetes: a meta-analysis. *Diabetes Res Clin Pract* 2009;84:e33–7.
- [27] Abumweis SS, Vanstone CA, Ebine N, Kassiss A, Ausman LM, Jones PJ, et al. Intake of a single morning dose of standard and novel plant sterol preparations for 4 weeks does not dramatically affect plasma lipid concentrations in humans. *J Nutr* 2006;136:1012–6.
- [28] Clifton PM, Noakes M, Ross D, Fassoulakis A, Cehun M, Nestel P. High dietary intake of phytosterol esters decreases carotenoids and increases plasma plant sterol levels with no additional cholesterol lowering. *J Lipid Res* 2004;45:1493–9.
- [29] Lea LJ, Hepburn PA. Safety evaluation of phytosterol-esters. Part 9. Results of a European post-launch monitoring programme. *Food Chem Toxicol* 2006;44:1213–22.
- [30] Ntanos FY, Duchateau GS. A healthy diet rich in carotenoids is effective in maintaining normal blood carotenoid levels during the daily use of plant sterol-enriched spreads. *Int J Vitam Nutr Res* 2002;72:32–9.
- [31] 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.
- [32] Laitinen K, Isolauri E, Kaipiainen L, Gylling H, Miettinen TA. Plant stanol ester spreads as components of a balanced diet for pregnant and breast-feeding women: evaluation of clinical safety. *Br J Nutr* 2009;101:1797–804.
- [33] European Commission. Scientific Committee on Food. General view of the Scientific Committee on Food on the long-term effects of the intake of elevated levels of phytosterols from multiple dietary sources, with particular attention to the effects on β -carotene; 2002.
- [34] Commission regulation (EC) no 608/2004; 2004.
- [35] Sabeva NS, Liu J, Graf GA. The ABCG5/ABCG8 sterol transporter and phytosterols: implications for cardiometabolic disease. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2009;16:172–7.
- [36] Tang W, Ma Y, Jia L, Ioannou YA, Davies JP, Yu L. Genetic inactivation of NPC1L1 protects against sitosterolemia in mice lacking ABCG5/ABCG8. *J Lipid Res* 2009;50:293–300.
- [37] Patel SB. Plant sterols and stanols: their role in health and disease. *J Clin Lipidol* 2008;2:S11–9.
- [38] Honda A, Salen G, Nguyen LB, Tint GS, Batta AK, Shefer S. Down-regulation of cholesterol biosynthesis in sitosterolemia: diminished activities of acetoacetyl-CoA thiolase, 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase, reductase, squalene synthase, and 7-dehydrocholesterol delta7-reductase in liver and mononuclear leukocytes. *J Lipid Res* 1998;39:44–50.
- [39] Gylling H, Hallikainen M, Raitakari OT, Laakso M, Vartiainen E, Salo P, et al. Long-term consumption of plant stanol and sterol esters, vascular function and genetic regulation. *Br J Nutr* 2009;101:1688–95.
- [40] Assmann G, Cullen P, Erbey J, Ramey DR, Kannenberg F, Schulte H. 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* 2006;16:13–21.
- [41] Fassbender K, Lutjohann D, Dik MG, Bremmer M, Konig J, Walter S, et al. Moderately elevated plant sterol levels are associated with reduced cardiovascular risk—the LASA study. *Atherosclerosis* 2008;196:283–8.
- [42] Windler E, Zyriax BC, Kuipers F, Linseisen J, Boeing H. Association of plasma phytosterol concentrations with incident coronary heart disease: data from the CORA study, a case-control study of coronary artery disease in women. *Atherosclerosis* 2009;203:284–90.
- [43] Wilund KR, Yu L, Xu F, Vega GL, Grundy SM, Cohen JC, et al. No association between plasma levels of plant sterols and atherosclerosis in mice and men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:2326–32.
- [44] Calpe-Berdiel L, Mendez-Gonzalez J, Blanco-Vaca F, Carles Escola-Gil J. Increased plasma levels of plant sterols and atherosclerosis: a controversial issue. *Curr Atheroscler Rep* 2009;11:391–8.
- [45] Weingartner O, Lutjohann D, Ji S, Weisshoff N, List F, Sudhop T, et al. Vascular effects of diet supplementation with plant sterols. *J Am Coll Cardiol* 2008;51:1553–61.
- [46] 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.
- [47] Thompson GR. Additive effects of plant sterol and stanol esters to statin therapy. *Am J Cardiol* 2005;96:37D–9D.
- [48] Assmann G, Kannenberg F, Ramey DR, Musliner TA, Gutkin SW, Veltri EP. Effects of ezetimibe, simvastatin, atorvastatin, and ezetimibe-statin therapies on non-cholesterol sterols in patients with primary hypercholesterolemia. *Curr Med Res Opin* 2008;24:249–59.
- [49] Jakulj L, Trip MD, Sudhop T, von Bergmann K, Kastelein JJ, Vissers MN. Inhibition of cholesterol absorption by the combination of dietary plant sterols and ezetimibe: effects on plasma lipid levels. *J Lipid Res* 2005;46:2692–8.
- [50] Yeganeh B, Moshaghghi-Kashanian GR, Declercq V, Moghadasian MH. Combination of dietary phytosterols plus niacin or fenofibrate: effects on lipid profile and atherosclerosis in apo E-KO mice. *J Nutr Biochem* 2005;16:222–8.
- [51] Nigon F, Serfaty-Lacrosniere C, Beucler I, Chauvois D, Neveu C, Giral P, 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;39:634–40.