

Растительные стерины и станолы как пищевые факторы, снижающие гиперхолестеринемию путем ингибирования всасывания холестерина в кишечнике

М.А. Хучиева*, Н.В. Перова, Н.М. Ахмеджанов

ФГУ Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины
Минздравоохранения России. Москва, Россия

Plant sterols and stanols as dietary factors reducing hypercholesterolemia by inhibiting intestinal cholesterol absorption

М.А. Khuchieva*, N.V. Perova, N.M. Akhmedzhanov

State Research Centre for Preventive Medicine. Moscow, Russia

Обзор посвящен механизму действия, гиполипидемической активности, структурной характеристике и безопасности применения растительных стеринов и станолов. Фитостерины и фитостанолы ингибируют всасывание холестерина (ХС) в кишечнике, тем самым снижают его уровень в плазме крови. Особое внимание уделено проспективным эпидемиологическим исследованиям, в которых на репрезентативной выборке показано, что концентрация фитостеринов и фитостанолов в плазме крови у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) была значительно ниже по сравнению с лицами без этого заболевания. При оценке относительного риска было обнаружено, что двукратное увеличение концентрации ситостерина в сыворотке крови связано со снижением риска ИБС на 22 %. Показано, что эфиры растительных стеринов и станолов могут рассматриваться как эффективные и безопасные ингредиенты, обогащение пищи которыми снижает уровень ХС в крови — одного из основных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний.

Ключевые слова: растительные станолы-фитостанолы, растительные стерины-фитостерины, дислипидемия, гиперхолестеринемия, атеросклероз.

The review is focussed on the mechanisms of action, lipid-lowering activity, structural characteristics, and safety of plant sterins and stanols. Phytosterins and phytostanols inhibit intestinal cholesterol (CH) absorption, therefore decreasing plasma CH levels. The emphasis is put on prospective epidemiological studies of representative samples, which demonstrated that plasma concentrations of phytosterins and phytostanols in patients with coronary heart disease (CHD) are substantially lower than in CHD-free participants. A two-fold increase in serum sytosterin concentration was associated with a reduction in relative risk of CHD by 22 %. Plant sterin and sterol esters could be regarded as effective and safe dietary ingredients decreasing blood levels of CH — one of the major cardiovascular disease risk factors.

Key words: Plant stanols — phytostanols, plant sterins — phytosterins, dyslipidemia, hypercholesterolemia, atherosclerosis.

Три главных фактора риска (ФР): повышенный уровень холестерина (ХС) сыворотки крови, курение и повышенное артериальное давление (АД) или их комбинация ответственны за 75 % всех сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) в мире. Клинические исследования показали, что снижение гиперхолестеринемии (ГХС) с помощью модификации диеты или с использованием фармацевтических препаратов сопряжено со снижением частоты новых случаев и смертности от ишемической болезни сердца (ИБС) [1]. Эти проблемы актуальны для населения

России, в которой заболеваемость и смертность от ССЗ, обусловленных атеросклерозом, высока. По официальным данным Федеральной службы государственной статистики лишь с 2005г наметилась небольшая тенденция к снижению [2].

В международных и национальных научных программах по первичной и вторичной профилактике ССЗ и их осложнений были достигнуты значительные успехи в снижении частоты клинических проявлений ИБС и смертности от ССЗ. Примечательно, что основным эффектом

©Коллектив авторов, 2011
e-mail: mad2997@yandex.ru
Тел.: (915) 209-33-10

[Хучиева М.А. (*контактное лицо) — м.н.с. отдела вторичной профилактики ХНИЗ, Перова Н.В. — в.н.с. отдела изучения биохимических маркеров риска ХНИЗ, Ахмеджанов Н.М. — в.н.с. отдела вторичной профилактики ХНИЗ].

в этих программах было снижение уровня в плазме крови ХС преимущественно за счет уменьшения уровня ХС, входящего в состав липопротеидов низкой плотности (ЛНП). В ряде научных программ было доказано, что снижение уровня ХС ЛНП даже у лиц без ГХС ведет к положительным сдвигам в течении ИБС и смертности от нее [3-11].

В практическом здравоохранении России гиполипидемическая терапия, в основном с использованием таких мощных холестерин-снижающих препаратов, как статины, назначается пациентам преимущественно при наличии клинических симптомов ИБС, реже при других ССЗ, и практически не применяется для снижения даже значительно повышенного уровня ХС в сыворотке крови в отсутствие клинической картины ССЗ, связанных с атеросклерозом. В то же время опыт западных стран, например, Финляндии, свидетельствует о том, что значительное снижение заболеваемости и смертности от ИБС на национальном уровне достигается при активном оздоровлении образа жизни населения всех возрастных групп (гр.) с включением факторов питания, снижающих уровень ХС [12]. В материалах Национальной образовательной программы по холестерину (NCEP) США содержатся рекомендации по изменению образа жизни и привычек питания, направленные на снижение уровня ХС в сыворотке крови, а также приводятся доказательства взаимосвязи оздоровления питания каждого человека со снижением его суммарного риска развития или осложнений ССЗ [13]. В Европейских рекомендациях по профилактике ССЗ также делается акцент на модификации образа жизни и здоровой диете. Диета — обязательный компонент контроля сердечно-сосудистого риска. Разнообразное и сбалансированное питание в сочетании с регулярными физическими нагрузками имеет ключевое значение для сохранения функции сердечно-сосудистой системы [14]. Всероссийское научное общество кардиологов в своих национальных клинических рекомендациях по профилактике ССЗ показывает, что регулярный прием растительных станолов (не менее 3 г в сут.) сопровождается снижением концентрации в сыворотке крови общего ХС (ОХС) и ХС ЛНП на 10-15 % [15].

Холестерин эндогенный и экзогенный

ХС в физиологических условиях — жизненно необходимое организму человека вещество: он входит в состав мембран всех клеток; является предшественником стероидных гормонов, в т.ч. половых; из ХС образуются желчные кислоты, необходимые в кишечнике для всасывания жиров. Основные источники ХС плазмы крови: эндогенный — синтез в организме, преимущественно в печени, и экзогенный — всасывание в тонком кишечнике ХС, поступающего с пищей, а также с желчью из печени. Организм освобождается от ХС через билиарный клиренс и экскрецию [16]. За сутки в организме человека синтезируется 1000-1200 мг ХС; с пищей в кишечник поступает в среднем еще 400 мг. Количество ХС, равное сумме синтезированного и всосавшегося из кишечника ХС, должно ежедневно выводиться из организма. Катаболизм ХС, помимо печени, осуществляется лишь в нескольких тканях, причем в малых количествах: 50 мг/сут. расходуется на биосинтез стероидных гормонов в надпочечниках, яичках и яичниках, еще ~ 100 мг/сут. ХС удаляется вместе с отшелушивающимся эпидермисом. Основным органом, обеспечивающим выведение ХС с желчью — до 200 мг/сут., является печень. В кишечнике ~ 50 мг билиарного ХС реабсорби-

руется энтероцитами; ~ 1200 мг ХС свободного и 400 мг ХС в виде желчных кислот выводится из организма с кишечным содержимым [16].

При нарушении процессов обмена ХС, например, повышенном синтезе или замедленном катаболизме, уровень ХС в плазме крови, взятой натощак, повышается. Это обусловлено в основном увеличением содержания ХС, входящего в состав аполипопротеин (апо) В-100-содержащих липопротеидов: ЛНП и липопротеинов очень низкой плотности (ЛОНП). Они несут ХС из мест его основного синтеза — печени к внепеченочным тканям, в т.ч. осуществляют транспорт в артериальную стенку, что способствует развитию атеросклеротического повреждения сосуда.

При всасывании пищевого и билиарного ХС в составе мицелл — комплексов липидов с желчными кислотами, из просвета кишечника в энтероциты, в этих клетках происходит активная эстерификация ХС с участием фермента ацетилхолестерин ацилтрансферазы (АХАТ). В энтероцитах из эфиров ХС, триглицеридов (ТГ) и апоВ-48 образуются хиломикроны (ХМ), которые секретируются в лимфатическую систему, транспортирующую их в кровеносное русло. В капиллярах большая часть ТГ в составе ХМ подвергается под действием фермента липопротеинлипазы (ЛПЛ) гидролизу с образованием “остатков”, или “ремнантов” ХМ, которые, с одной стороны, могут участвовать в формировании атеросклеротических бляшек (АБ), а с другой — поступать в клетки печени, транспортируя в нее преимущественно экзогенный ХС. Вследствие этого синтез собственного эндогенного ХС в клетках несколько уменьшается, но принесенные “ремнантами” липиды становятся источником избыточной продукции и поступления в кровоток апоВ-100 содержащих ЛОНП, которые под действием ферментов ЛПЛ и печеночной липазы превращаются в липопротеины промежуточной плотности (ЛПП) и далее в наиболее атерогенные ЛНП.

Растительные стерины и станола

Всасывание в кишечнике и метаболизм

Если ХС является незаменимым компонентом клеточных мембран у высших видов животных организмов, включая человека, то растительные стерины и станола выполняют аналогичную функцию в растениях; они содержатся в малых количествах в растительных маслах, семенах растений, орехах [17]. Стерины (в западной литературе их называют стеролами) и станола растительного происхождения — фитостерины и фитостанола, по структуре близки ХС. Из растительных стеринов наиболее распространены ситостерин (С-29) и кампестерин (С-28), которые отличаются от молекул ХС наличием дополнительной метильной или этильной группы в боковой цепи. При полном насыщении водородом молекул фитостеринов ликвидируется единственная двойная связь, и образуются соединения, называемые станолами. Наиболее распространенный растительный станол — ситостанол — представляет собой насыщенный продукт ситостерина.

На первом этапе всасывания в тонком кишечнике молекулы ХС, фитостеринов и станолов входят в состав мицелл, растворимость которых обусловлена желчными кислотами, формирующими эти мицеллы. Фитостерины и особенно фитостанола обладают большей гидрофобностью, чем молекулы ХС [18], поэтому они конкурируют с ХС за “место” в мицеллах и вытесняют часть молекул

ХС из них. Нагруженные стеринами и станолами мицеллы взаимодействуют со щеточной каймой энтероцитов и легко транспортируются из просвета кишечника внутрь клетки [19]. Молекулы ХС, которые не вошли в состав мицелл, не могут абсорбироваться эпителиальными клетками кишечника и выводятся из организма с кишечным содержимым.

Абсорбция ХС и фитостеринов происходит с участием белка, подобного регулятору трансмембранного транспорта ряда веществ, так называемого Niemann — Pick C1 Like I Protein (NPC1L1). Согласно полученным данным, у трансгенных мышей, дефицитных по NPC1L1, в сыворотке крови отсутствуют определяемые концентрации стерина, что подтверждает роль NPC1L1 в их абсорбции [20].

Избыток всосавшихся молекул неэстерифицированного ХС и фитостеринов транспортируются из энтероцитов обратно в просвет кишечника посредством специфического, так называемого, стеринового насоса (“sterolin pump”), содержащего АТФ-связывающие кассетные белки ABCG5 и ABCG8 [21-22].

Фитостерины всасываются в кишечнике менее эффективно, чем ХС, и это является одной из причин того, что содержание фитостеринов в сыворотке крови составляет в норме <0,5 % от содержания ХС. Другая причина такого различия в том, что уровень ХС в крови в значительной степени определяется его эндогенным синтезом. Растительные станолы абсорбируются еще в меньшей степени, чем растительные стеринны, и их уровень в сыворотке крови составляет ничтожную долю — ~ 0,05 % от содержания ХС. Если абсорбция ХС в кишечнике составляет 20-80 %, то абсорбции поступившего с пищей ситостерина — всего 1,5-5 % [23]. Уровень в сыворотке крови ситостерина составляет 0,3-1,7 мг/дл [24], а содержание станолов еще меньше, тогда как уровень ХС в крови в норме ~ 200 мг/дл.

Таким образом, из вышеизложенного можно сделать вывод, что фитостерины и, особенно, фитостанолы в кишечнике всасываются хуже, чем ХС, но ингибируют его всасывание.

Влияние на обмен ХС

Первые экспериментальные исследования по изучению способности растительных стерина снижать уровень ХС в сыворотке крови и печени были проведены на цыплятах в начале 50-х годов прошлого века [25]. Позднее в опытах на крысах было показано, что потребление повышенных количеств растительных станолов, наряду со снижением алиментарной ГХС, ведет к снижению проявлений экспериментального атеросклероза [26]. ХС-снижающее действие растительных стерина было продемонстрировано в клиническом исследовании у лиц с ГХС [27]. В первых работах использовались большие количества превалирующего фитостанола — ситостанола до 10 г/сут., что приводило к снижению уровня ОХС сыворотки крови на 20 %, хотя высокая доза и меловой (известковый) привкус ситостанола лимитировали его использование для снижения ГХС у людей. Было показано, что потребление человеком растительного ситостанола в количестве всего 3 г/сут. приводит к снижению его всасывания в кишечнике и вследствие этого снижению его уровня в сыворотке крови на ~ 10 % [28].

В опытах *in vitro* было показано, что включение молекул станолов в смешанные мицеллы увеличивает экспрессию АТФ-связывающего кассетного транспортера ABCA1 в энтероцитах, выделенных из кишечника челове-

ка [29]. Предположение об участии этого транспортера, в обеспечении выброса всосавшегося с мицелл ими свободного ХС из энтероцитов обратно в просвет кишечника, было опровергнуто данными о том, что транспортер ABCA1 располагается на базолатеральной мембране энтероцита, т. е. на поверхности клетки, обращенной к подлежащим тканям кишечной стенки, поэтому не может опосредовать выброс ХС в просвет кишечника.

Для выявления других возможных посредников снижения всасывания ХС фитостанолами было выполнено исследование с участием пациентов, которые в течение 8 нед. принимали 3,8-4,0 г/сут. эфиров фитостанолов [30]. Это исследование позволило показать, что эффективность фитостанолов в отношении снижения уровня ХС ЛНП не зависела от уровня и активности таких регуляторов обмена ХС, как апоА-IV, сквенджер-рецептор В-1 (SR-B1) рецептор, ГМГ-КоА-редуктаза, белок-переносчик эфиров ХС и генотип апоЕ. В экспериментах на хомячках было показано, что введение в их пищу эфиров фитостанолов снижает уровень ХС в плазме крови на 36 %, при этом в энтероцитах накапливаются вместе с ХС и эфиры растительных станолов [31]. Однако это не приводит к изменениям в уровне матричной рибонуклеиновой кислоты (м-РНК) какого-либо из кассетных ABC-белков, транспортирующих ХС и другие стеринны через мембрану энтероцита, а также белка NPC1L1. Однако если бы механизм снижения всасывания ХС в кишечнике под действием фитостанолов был бы связан только с их высоким сродством к мицеллам, то максимальная эффективность станолов по снижению уровня ХС в крови проявлялась бы только в период их поступления в составе пищи. Однако было показано, что потребление 2,5 г эфиров фитостанолов один раз в сут. оказывает такое же снижающее действие на уровень ХС ЛНП, как прием той же дозы фитостанолов, разделенной на 3 порции в сут. (на завтрак, обед и ужин) [32]. Иными словами, уменьшение включения ХС в смешанные мицеллы не является единственным механизмом ХС-снижающего действия фитостанолов. Авторы исследования предполагают наличие посттранскрипционного механизма регуляции содержания или активности белков-транспортеров ABCG5/ABCG8 фитостанолами. Не исключено также, что супрессия белка NPC1L1 при накоплении в энтероцитах ХС и растительных станолов предохраняет организм от избыточной абсорбции ХС.

Вследствие мощного ингибирования фитостеринами и фитостанолами всасывания как экзогенного, так и эндогенного ХС уменьшается, снижается его поступление в гепатоциты. В ответ на это в гепатоцитах несколько увеличивается синтез ХС и значительно возрастает рецепторный захват клетками печени из плазмы крови ЛНП, благодаря увеличению экспрессии рецепторов к белкам этих липопротеидов. Суммарным итогом этих процессов является снижение содержания на 8-14 % ОХС и ХС, входящего в состав наиболее атерогенных ЛНП. Это весьма существенно, поскольку, согласно данных мета-анализа, снижение уровня ОХС сыворотки крови на 10 % ведет к снижению риска развития ИБС на 20-50 % [33], причем этот факт зависит от возраста: чем моложе пациент, тем более выражено у них уменьшение риска развития ИБС при снижении ХС крови.

Фитостеринемия

В 1974г было описано заболевание ситостеринемия, которое характеризуется накоплением в сыворотке крови

и тканях растительных стеринах в связи с их повышенной абсорбцией в кишечнике, что сопряжено с преждевременным развитием атеросклероза [34-35]. Ситостеринемия (фитостеринемия) представляет собой крайне редкое наследуемое по аутосомно-рецессивному типу заболевание, которое в популяции встречается у 1 на 5 млн. человек, и связано с гомозиготным дефектом одного из генов белков-транспортёров стерина: ABCG5 или ABCG8 [36]. У пациентов с фитостеринемией имеются или две мутантных аллели ABCG5, или две мутантных аллели ABCG8, но клинической разницы между гомозиготами по этим генам не обнаружено [37]. Известно, что гиперабсорбция фитостерина, обусловленная генетическим дефектом белков-транспортёров стерина ABCG5/ABCG8, может способствовать преждевременному развитию ИБС. Это позволило высказать предположение о том, что резко повышенный уровень в плазме крови фитостерина может быть добавочным фактором развития ИБС в популяции и влиять на индивидуальный риск развития ИБС [36]. У гетерозигот, по функциональным дефектам в ABCG5 или ABCG8, какие бы то ни было симптомы ССЗ, отсутствуют, хотя обнаружено умеренное увеличение абсорбции фитостерина при нормальной или увеличенной их экскреции [35], поэтому общее количество стерина в организме остается нормальным.

Белки-транспортёры ABCG5 и ABCG8 не только регулируют обратный выброс стерина из энтероцитов кишечника, но и ответственны за билиарную экскрецию фитостерина. В ограниченном сравнительном исследовании было показано, что количество ситостерина в организме практически здорового человека составлял 290 мг, а у 2 пациентов с гомозиготной фитостеринемией количество ситостерина в 13 (3 500 мг) и в 17 (4 800 мг) раз больше, как из-за повышенной абсорбции, так и из-за сниженной экскреции ситостерина [38].

Фитостеринемия сопряжена со сниженным синтезом ХС на 50-80 % из-за низкой активности его ключевого фермента ГМГ-КоА-редуктазы, в основном в печени. При этом активность рецепторов ЛНП остается неизменной или даже возрастает, видимо для компенсации сниженной продукции ХС в клетках [39]. При ситостеринемии угнетена активность изоформы СУР7А цитохрома Р450 и печеночного фермента 27-гидроксилазы, в результате чего синтез желчных кислот из ХС снижается, а уровень ХС в крови повышается. Вследствие вариации активности этих взаимосвязанных множественных механизмов обмена ситостерина и ХС детерминанты, определяющие нормальный или повышенный уровень ХС при ситостеринемии и связь их с ССЗ, четко не установлены [40].

Генетически обусловленную фитостеринемию обычно предполагают у детей и в юношеском возрасте при наличии сухожильных ксантом в отсутствие анамнеза семейной ГХС, несмотря на повышенный у них уровень ХС. Определение повышенного уровня ХС у пациентов с фитостеринемией часто является следствием того, что стандартные методы определения ХС не позволяют дифференцировать его от фитостерина; для того, чтобы отличить повышение уровня фитостерина от ГХС, используют газожидкостную хроматографию или жидкостную хроматографию высокого разрешения либо масс-спектрометрию [41].

Наряду с фитостеринемией возможно повышение уровня ХС в плазме крови [40,42]. Подозрение на генети-

чески обусловленную фитостеринемию может возникать в тех случаях, когда на фоне холестерин-снижающей диеты уровень ХС в сыворотке крови снижается на > 45 %, тогда как обычный эффект диеты составляет не более 10-12 %. Наблюдается меньшее, чем обычно, снижение уровня ХС и ХС ЛНП при лечении препаратами, угнетающими синтез ХС [42]. Это было связано с тем, что определяющие ХС методы не были специфичны и оценивали, как ОХС, так и стерины.

При выявлении лиц с генетически детерминированной гомозиготной фитостеринемией, обусловленной резким повышением всасывания из кишечника всех стеринах (и фитостеринах, и ХС), необходимо начать раннюю профилактику атеросклероза. В последние годы активно применяется эзетимиб, который ингибирует абсорбцию из кишечника всех стеринах, в т.ч. фитостеринах.

Ассоциация уровня в крови растительных стеринах с проявлениями ИБС

В связи с данными об опасности наследственной фитостеринемии в отношении усугубляющего влияния на развитие атеросклероза возникает необходимость в отношении использования пищевых стеринах и станола, т.к. при этом несколько повышается их уровень в крови. При обследовании группы лиц (n=595) с ГХС и их ближайших родственников была обнаружена связь повышенного уровня в крови стеринах с клиническими проявлениями ИБС [15]. Более высокое содержание в крови кампестерина и ситостерина, сопряженное с их повышенным отношением к уровню ХС, было обнаружено у пациентов с семейным анамнезом наличия ИБС, перенесших аортокоронарное шунтирование (АКШ), а также у женщин в постменопаузе, что объяснили повышенной абсорбцией в кишечнике всех стеринах [40,43].

В эпидемиологическом исследовании PROCAM (Prospective Cardiovascular Münster study), проведенном в Германии, показано, что повышенный уровень ситостерина в плазме крови у лиц с ГХС удваивает риск развития ИБС [44]. Фитостерины были обнаружены в АБ, полученных при артериоэктомии [45].

В основе участия фитостеринах в развитии атеросклеротического повреждения артериальной стенки, помимо избыточного их всасывания, может лежать и ряд других механизмов. Фитостерины способны ускорять воспалительные процессы, а также посредством неизвестных пока механизмов повышать отложение ХС в тканях; об этом свидетельствует то, что сухожильные ксантомы при гиперситостеринемии состоят в основном из ХС. Фитостерины подвержены окислению в большей степени, чем ХС, что также может усиливать их атерогенный потенциал [40,46].

Тот факт, что при повышенном потреблении стеринах их уровень в плазме крови и тканях, включая артериальную стенку, увеличивается, был известен и ранее. Но поскольку на клапанах аорты часто развиваются АБ с накоплением большого количества ХС, трудно сделать однозначный вывод о клиническом значении существенно меньших в сравнении с ХС депозитов фитостеринах в ткани клапанов [47].

В исследованиях на экспериментальных животных, мышцах с "выбитыми" генами белков ABCG8, развивалась гиперфитостеринемия, не сопровождающаяся более высоким, чем в контроле, уровнем в крови ХС или более

развитыми атеросклеротическими повреждениями артерий. Эти результаты свидетельствуют о том, что уровень в сыворотке крови фитостеринов и фитостанолов все-таки не может рассматриваться как фактор, способствующий развитию атеросклеротического поражения артериальной стенки [48].

В 2008г было показано, что у мышей 4-недельное вскармливание обычной для них пищей, обогащенной 2 % эфиров растительных стерина, не привело к снижению уровня ХС плазмы крови, хотя уровень стерина в ней увеличился [49]. Во фрагменте *in vitro* указанной работы в ответ на добавление в инкубационную среду вазорелаксирующих агентов снижалась ст. эндотелий-зависимой вазодилатации (ЭЗВД) фрагмента аорты, полученной от животных, которым стерина давали с пищей, хотя эндотелий-независимая вазодилатация (ЭНЗВД) оставалась неизменной. Авторы работы делают заключение, что фитостерины в эксперименте на животных вызывают снижение ЭЗВД. Однако вряд ли можно перенести эти результаты на человека, т. к. в экспериментах на мышцах фитостерины применялись в 100 раз более высокой дозе, чем в клинических исследованиях. Был изучен вопрос о возможной роли эфиров фитостеринов в формировании атеросклеротических поражений аортальных клапанов у людей [49]. В исследовании участвовали 82 пациента с высоким риском осложнений ССЗ, госпитализированных по поводу атеросклеротических поражений створок аортальных клапанов для их замены. Среди них 10 пациентов в течение последних 2 лет потребляли спреды, обогащенные эфирами стерина, в т.ч. 6 человек — регулярно в дозе 1,5 г/сут. Была обнаружена прямая корреляция между содержанием растительных стерина в плазме крови и в ткани створок аортальных клапанов. Следует отметить, что лечение статинами, также сопровождается увеличением содержания растительных стерина в очагах атеросклеротического поражения, но это никак не отражается на их высокой клинической эффективности. Эти данные дают основание полагать, что появление растительных стерина в области атеросклеротического поражения не имеет выраженного патологического значения.

В редакционном комментарии к опубликованной работе [49] говорится, что у людей растительные стерина снижают уровень ХС плазмы крови, и поэтому фитостерины широко рекомендуются для использования в популяционной стратегии лечения ГХС [49,50]. В ряде недавних работ показано, что потребление человеком растительных стерина и станолов улучшает функции эндотелия, что противоречит данным, изложенным в работе [51].

Есть публикации, согласно которым повышенная концентрация растительных стерина в плазме крови способствует развитию атеросклероза и ИБС [52-55]. Однако данные современных эпидемиологических исследований такую ассоциацию не подтверждают [56-57]. Наиболее убедительными представляются результаты недавно выполненного, большого, когортного исследования LASA (Longitudinal Aging Study Amsterdam) с участием 1242 пожилых людей > 65 лет [57]. Случайные выборки лиц этого возраста были обследованы в трех регионах Нидерландов. Из числа обследованных 125 человек страдали ИБС. Было обнаружено, что концентрация растительных стерина в плазме крови у пациентов с ИБС была значительно ниже по сравнению с обследованными лицами без этого заболевания. Полученные в разных исследо-

ваниях противоречивые данные об ассоциации уровня растительных стерина и ИБС могут быть объяснены различными методами их определения, характеризующимися разной специфичностью в отношении отдельных стерина. В исследовании LASA была применена наиболее чувствительная комбинация современных методов газовой хроматографии и масс-спектрометрии с селективным мониторингом ионов, исключавшая перекрестное определение индивидуальных фитостерина и ХС или его предшественников [57]. Результаты исследования LASA, проведенного на популяционном уровне у пожилых лиц, показали, что концентрация растительных стерина в плазме крови и их отношение к уровню ХС значительно выше у лиц без ИБС, чем у пациентов с этим заболеванием. Иными словами, повышенная концентрация растительных стерина в крови была ассоциирована не с повышенным, а, напротив, со сниженным риском ИБС. При оценке относительного риска было обнаружено, что двукратное увеличение концентрации стерина в сыворотке крови ассоциировалось со снижением риска ИБС на 22 %. Авторы популяционного исследования сделали вывод, что низкая концентрация в крови растительных стерина может представлять собой новый независимый ФР ССЗ, обусловленных атеросклерозом.

Создание и применение “функциональных” продуктов, обогащенных растительными стеринами и станолами

Безопасность применения растительных стерина и станолов

Фитостерины и их эфиры в настоящее время широко используются для обогащения ими продуктов питания, которые, способствуют снижению уровня ОХС и ХС ЛНП, являющихся доказанными классическими ФР развития ИБС. Результаты исследований по изучению безопасности потребления фитостерина и фитостанолов в составе обогащенных ими пищевых продуктов не подтвердили каких-либо серьезных нежелательных эффектов (НЭ), или высокой частоты клинических проявлений атеросклероза у лиц, потреблявших продукты обогащенные станолами [58]. Это было подтверждено в длительной профилактической программе, проведенной в Финляндии, при наблюдении за большой когортой лиц (n=2500), употреблявших обогащенные растительными станолами маргарины (спреды), при сравнении с контролем, т. е. лицами, употреблявшими аналогичные спреды без станолов [59].

Более чем в 40 исследованиях не было обнаружено серьезных НЭ продуктов, содержащих эфиры станолов, включая отсутствие нежелательных реакций желудочно-кишечного тракта [60]. Отсутствовали НЭ ситостанола у детей с ГХС, которые получали его в течение 7 мес. Длительный прием продуктов, обогащенных эфирами фитостанолов, безопасен в связи с их хорошей переносимостью и минимальной абсорбцией в кишечнике, он не влияет заметно на уровень в сыворотке крови жирорастворимых гормонов [61].

История создания “функциональных” продуктов и эффекты их использования

На пути создания пищевых продуктов, обогащенных растительными стеринами и станолами в нужном количестве, было много препятствий. В первую очередь, широкому практическому использованию этих соединений мешала низкая растворимость стерина и станолов. Было показано, что фитостерины и фитостанолы эффективны в присутствии незначительных количеств лецити-

на, или растительных масел. Эти ограничения явились главным побуждающим мотивом применения эстерификации стеринов и станолов, что превращает их из кристаллического порошка, практически нерастворимого ни в жировых, ни в водных средах, в жировую субстанцию, которую можно легко включить в различные пищевые продукты: спреды, кефир, йогурт, молоко и др. Технология этого процесса принадлежит финским исследователям [60], которые, добавив к препарату станолов растительное (рапсовое) масло и проведя реакцию эстерификации, получили эфиры станолов, которые прекрасно смешивались с любыми пищевыми продуктами, при этом станола не теряли свойств ингибировать всасывание ХС в энтероцитах тонкой кишки. Эфиры растительных стеринов и станолов легко включаются в состав спредов и менее жирных молочных продуктов (молока, йогурта, кефира и др.). Такие продукты, обогащенные эфирами фитостеринов и фитостанолов, в связи с эффективностью по снижению ГХС и с безопасностью применения стали называть “функциональными” [32].

За последние годы во всем мире было проведено > 40 клинических исследований по оценке эффективности различных видов пищевых продуктов, обогащенных растительными стеринами и станолами. В одном из них изучали эффект потребления майонеза из рапсового масла, содержащего и не содержащего эфиры ситостанола, пациентами с умеренной ГХС [62]. После введения с пищей эфиров ситостанола, в количестве 3,4 г/сут. (в пересчете на свободный станол) в течение 6 нед. по сравнению с плацебо (майонезом), уровень ХС ЛНП снизился на 10 %. В аналогичном исследовании было выявлено снижение ХС ЛНП на ~ 16 % после употребления эфиров ситостанола в дозе 2 г/сут. в виде майонеза, тогда как значимого эффекта при использовании ситостанола в меньшей дозе 800 мг/сут. получено не было [63]. Снижение уровней ОХС и ХС ЛНП под действием эфиров ситостанола в дозе 3 г/сут. было продемонстрировано у больных сахарным диабетом 2-го типа (СД-2) и у детей с семейной ГХС (снижение уровня ХС ЛНП на 15 %) [64].

Кульминацией успеха была публикация в 1995г. результатов исследования в рамках Северо-Карельского проекта, в котором изучали влияние на уровень ХС ЛНП краткосрочного и длительного до 1 года введения в рацион пациентов с умеренной ГХС спреда на базе рапсового масла, содержащего различные дозы эфиров ситостанола. Результаты были впечатляющими: замена обычного диетического жира (24 г/сут.) на спред из рапсового масла с добавкой эфиров ситостанола (2,6 г/сут.) в течение первых 6 мес. привела к устойчивому снижению уровня ХС ЛНП на 12,9-13,5 % [60]. Через 6 мес. группа была разделена на 2 подгруппы: 50 % пациентов продолжали получать эфиры ситостанола в той же дозе (2,6 г/сут.), а другие 50 % пациентов перешли на прием меньшего количества эфиров фитостанолов (1,8 г/сут.). В результате, у тех, кто продолжал получать 2,6 г/сут. эфиров станола, уровень ХС ЛНП еще более снизился, и к концу года приема был на 15,2 % ниже исходного, или на 14 % ниже, чем в группе, получавшей спред плацебо (без ситостанола). Содержание ХС ЛНП у пациентов, переведенных на меньшую дозу станола (1,8 г/сут.), осталось на уровне, достигнутом за 6 мес. приема дозы 2,6 г/сут., т. е. на 13,5 % ниже исходного. Таким образом, было выявлено, что эффективность эфиров станола в кол. 1,8 г/сут. при длительном приме-

нии эквивалентна их эффективности в дозе 2,6 г/сут. при более коротком приеме. Примечательно, что снижение уровня ХС ЛНП отмечалось уже через 1-2 нед. после начала приема эфиров станола. Эти результаты свидетельствуют о том, что конкурентное ингибирование всасывания ХС в кишечнике эфирами станолов сказывается на снижении ХС ЛНП сыворотки крови очень рано, а достигнутый уровень поддерживается в течение длительного времени.

Таким образом, в Северо-Карельском проекте было доказано, что употребление эфиров фитостанолов в дозах > 1,8 г/сут. является эффективным, длительно действующим вмешательством по снижению ХС и ХС ЛНП плазмы крови. Результаты этого проекта послужили основой для рекомендаций по широкому использованию “функциональных” продуктов для немедикаментозной коррекции содержания ХС и ХС ЛНП, сначала в Финляндии, затем в других регионах Европы, а также Северной Америке.

В 2007-2008 гг. были опубликованы результаты 3 рандомизированных, плацебо-контролируемых исследований, проведенных по единому протоколу в 23 центрах Франции (n=194) [65], Италии (n=116) [66] и Испании (n=86) [67] с участием лиц в возрасте 18-85 лет с уровнем ХС ЛНП 3,35-4,9 ммоль/л. На протяжении 6 нед. пациенты получали ежедневно 100 г йогурта, содержащего 1,6 г эфиров фитостеринов. Все три группы (гр.), получавшие йогурт с фитостеринами, включали 199 человек, 3 гр. плацебо - 195 человек. Во всех 3 исследованиях [65-67] опытная и контрольная гр. не различались по исходным величинам исследуемых параметров. Через 3 нед. лечения у пациентов, принимавших продукт, обогащенный фитостеринами, снижение содержания ОХС в сыворотке крови по сравнению с исходными величинами составило от 5,7 % до 13,9 %, через 6 нед. — от 5,6 % до 10,2 %. У лиц разных групп через 3 нед. потребления йогурта, обогащенного фитостеринами, уровень ХС ЛНП снижался с 8,6 % до 10,6 %, а через 6 нед. — с 8,5 % до 12,2 % по сравнению с исходными значениями и с 7,8 % до 11,3 % по сравнению с контрольной гр. В гр., получавших контрольный продукт, не содержащий фитостерина, через 3 и 6 нед. достоверных изменений содержания ОХС и ХС ЛНП не наблюдалось.

Одной из основных задач испанского исследования [67] была оценка способности фитостерин-содержащего низкожирового йогурта снижать уровень ХС ЛНП до целевого (<3,3 ммоль/л) у лиц из гр. низкого риска, т. е. без клинических проявлений атеросклероза при наличии ≥ 2 липидных ФР, а также снижать уровень ХС ЛНП (<2,6 ммоль/л) у пациентов, перенесших первое сосудистое осложнение или страдающих СД с клиническими проявлениями. Через 6 нед. исследования указанные целевые значения в гр. лиц, получивших фитостерина, были достигнуты в 50 % случаев, по сравнению с 20 % в гр. контроля.

В связи с имеющимися в литературе данными [68] о том, что потребление фитостерин-содержащих продуктов снижает всасывание жирорастворимых витаминов, в первую очередь β-каротина, в рассматриваемых 3 работах [65-67], были исследованы различные показатели окислительной системы. В исследовании, проведенном во Франции [43], было обнаружено снижение содержания в плазме крови β-каротина на 12 % в гр. пациентов, получавших фитостерина, по сравнению с контрольной гр. Однако после стандартизации данных по уровню ХС ЛНП различия между опытной и контрольной гр. оказались статистически не значимыми. Более того, было показано, что при потреблении йогурта, обогащенного фитостеринами, в плазме крови снизился уровень окисленных форм

ЛНП, а это является одним из маркеров снижения окислительного стресса (ОС). Окисленные ЛНП обладают провоспалительными свойствами и усугубляют атеросклеротическое повреждение сосудистой стенки, включая разрыв АБ, сопровождающийся клиническими осложнениями атеротромбоза, как на ранних, так и на поздних стадиях развития [69]. Концентрация окисленных ЛНП в плазме крови является прогностическим показателем риска развития острых осложнений ИБС [70].

В исследовании, проведенном в Италии [66], в качестве еще одного показателя влияния фитостероидов на ОС использовались уровень в плазме крови его признанного маркера изопростана. Изопростаны, высвобождаясь из мембран под действием фосфолипаз, способствуют спазму сосудов, агрегации тромбоцитов и пролиферации клеток. В исследовании [66] было показано, что уровень изопростана в плазме крови лиц, употреблявших обогащенный фитостеринами йогурт, снизился за 6 нед. в гораздо большей степени, чем в контрольной гр.

Таким образом, результаты 3 международных, многоцентровых, плацебо-контролируемых исследований показывают, что потребление фитостероидов в дозе 1,6 г дают следующие эффекты: снижение уровня ОХС до 13,9 % и ХС ЛНП до 12,2 %, не вызывают изменения или даже снижают показатели ОС.

Небольших количеств фитостероидов и фитостанолов, содержащихся в природных растительных пищевых продуктах, не достаточно для того, чтобы снизить уровень ХС в крови. В среднем за сут. человек потребляет с растительной пищей 30-50 мг станолов (пшеница, рис, кукуруза, соевое масло), тогда как минимальная суточная доза станола, снижающая ОХС и ХС ЛНП, составляет 1,5 г [63]. При сходной способности фитостероидов и фитостанолов препятствовать всасыванию ХС клетками кишечника сами станола в меньшей степени, чем фитостерины, абсорбируются энтероцитами; более того, они препятствуют всасыванию энтероцитами не только ХС, но и растительных стеринов и в большей степени, чем стерины выводятся из организма.

Согласно данным многочисленных исследований по оценке количества потребления в пищевые продукты растительных стеринов и станолов, которое требуется для адекватного снижения абсорбции ХС в кишечнике и снижения уровня ХС сыворотки крови, в основном за счет снижения ХС ЛНП, оно должно составлять 1,6-2,6 г/сут. В варианте диеты, рекомендуемой NCEP (II этап), появилась рекомендация ввести в ежедневное потребление населением продуктов, содержащих растительные стерины или станола в дозе 2 г/сут. [71].

В 2009г были опубликованы данные результаты изучавшей влияние фитостероидов на липиды сыворотки крови у мужчин и женщин с ГХС, различавшихся по генотипу апоЕ. Фитостерины снижают уровень ОХС и ХС ЛНП, но с большой вариабельностью у разных людей. В этом двойном слепом, рандомизированном исследовании приняли участие 217 пациентов. В течение 4 нед. они соблюдали гиполипидемическую диету, после чего в течение 5 нед. употребляли в пищу контрольный маргарин (n=87), либо маргарин с фитостеринами (n=120). У 26 из пациентов была аллель E2, у 51 — аллель E4 и у 130 пациентов — аллель E3. Из исследования выбыли 10 пациентов. Исходно концентрация ХС ЛНП была ниже у пациентов с аллелью E2, чем у пациентов с аллелями E3 и E4. Во время лечения стеринами уровень

ОХС и ХС ЛНП и соотношения ХС / ХС ЛНП и ХС ЛНП / ХС ЛВП снизилось у пациентов с аллелями E2 и E3. Таким образом, был сделан вывод, что ответ на фитостерины зависит от генотипа, т. е. его различий по аллельному составу апоЕ и наименее эффективно лечение фитостеринами пациентов с апоЕ4 [72].

Во Франции было выполнено исследование, цель которого заключалась в изучении влияния соевого напитка, обогащенного фитостеринами, на профилях липидов крови у пациентов с умеренной ГХС. В этом двойном слепом, рандомизированном исследовании приняли участие 50 пациентов, часть из которых употребляла соевый напиток, обогащенный эфирами фитостероидов (2,6 г) и контрольная гр., употреблявшая соевый напиток без фитостероидов. Регулярное потребление напитка сои, обогащенного фитостеринами, в течение 8 недель значительно уменьшило содержание ХС ЛНП плазмы крови на 7 % по сравнению с исходным уровнем. ОХС и ХС не-ЛВП снизились на 7 % и 9 %, соответственно. Результаты были высокодостоверными, достоверное снижение ЛНП в гр. плацебо отсутствовало. Данный соевый продукт хорошо переносился пациентами. Из вышеизложенного был сделан вывод, что регулярное потребление соевого напитка, обогащенного фитостеринами, приводит к значительному снижению как ОХС, так и ХС ЛНП плазмы крови и оказывает помощь в коррекции умеренной ГХС [73].

В международном исследовании LURIC (Ludwigshafen Risk and Cardiovascular health study) с участием 2440 пациентов, в котором исследовалась взаимосвязь ХС, фитостероидов в плазме крови с тяжестью ИБС был сделан вывод, что атерогенная роль фитостероидов сама по себе маловероятна, и скорее не связана с атеросклерозом у людей без наследственной гиперситостеринемии [74].

Управление по пищевым продуктам и лекарствам США (FDA-Food and Drug Administration) включила в рекомендации по здоровому образу жизни питание, содержащее фитостерины при ограничении насыщенного жира и ХС [70]. Американская Ассоциация сердца представила фитостерины как средство терапевтического выбора для пациентов с умеренно повышенным уровнем ХС [75]. Ряд других хорошо известных научных кардиологических обществ рекомендовал регулярное потребление пищевых продуктов, обогащенных фитостеринами как важное диетологическое вмешательство с целью немедикаментозного снижения умеренной ГХС [76-78].

Продукты, обогащенные эфирами фитостероидов и фитостанолов — растительных соединений, близких по формуле к ХС и снижающих его всасывание в кишечнике (йогурты, кефир, молоко, маргарины-спреды и др.), вошли в число первых, по праву заслуживающих название “функциональных” пищевых продуктов. Полученные в многочисленных, международных исследованиях результаты дают основания полагать, что такие “функциональные” продукты могут использоваться в комплексе немедикаментозных мероприятий, по снижению уровня ГХС и повышенного ХС ЛНП. Как показали последние эпидемиологические исследования несколько повышенный уровень ситостерина в крови, который может развиваться при применении фитостероидов, ассоциируется со сниженным риском ИБС. Использование в России “функциональных” продуктов, обогащенных растительными стеринами и станолами, даст возможность снижать ХС у населения России.

Литература

1. Оганов Р.Г., Масленникова Г.Я., Шальнова С.А., Деев А.Д. Значение сердечно-сосудистых и других неинфекционных заболеваний для здоровья населения России. Профил заб укреп здор 2002; 2: 2-3.
2. Федеральная служба государственной статистики. Российский статистический ежегодник 2009.
3. Plehn JF, Davis BR, Sacks FM, et al. Reduction of stroke incidence after myocardial infarction with pravastatin: the cholesterol and recurrent events (CARE) study. Circulation 1999; 99: 216-23.
4. Long Term Intervention with Pravastatin in Ischaemic Disease (LIPID) Study Group. Prevention of cardiovascular events and death with pravastatin in patients with coronary heart disease and broad range of initial cholesterol levels. N Eng J Med 1998; 339: 1349-57.
5. West of Scotland Coronary Prevention Group. West of Scotland Coronary Prevention Study: identification of highrisk groups and comparison with other cardiovascular intervention trials. Lancet 1996; 348: 1339-42.
6. Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). Lancet 1994; 344: 138-9.
7. Shwartz GG, Waters D, Olsson AG. Rationale and design of the Myocardial Ischemia Reduction with Aggressive Cholesterol Lowering (MIRACLE) study that evaluates atorvastatin in unstable angina pectoris and in non-Q-wave acute myocardial infarction. Am J Cardiol 1998; 81: 578-81.
8. Downs JR, Clearfield M, Tyroler HA, et al. Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study (AFCAPS/TEXCAPS): additional perspectives on tolerability of long-term treatment with lovastatin. Am J Cardiol 2001; 87(9): 1074-9.
9. Сусеков А.В., Соловьева Е.Ю. и др. Симвастатин (Зокор) 20 мг и ловастатин (Холетар) 40 мг у больных ИБС и первичной гиперхолестеринемией. Исследование эквивалентных доз. Клин фармак тер 2001; 10(4): 1-4.
10. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomized placebo-controlled trial. Lancet 2002; 360(9326): 7-22.
11. MAAS investigators. Effect of simvastatin on coronary atheroma: the Multicentre Anti-Atheroma Study (MAAS). Lancet 1994; 344(8923): 633-8.
12. Puska P. Successful strategies to influence national diets: the Finnish experience. Zdrav Var 2003; 43: 191-6.
13. Grundy SM. United States Cholesterol Guidelines 2001: expanded scope of intensive low-density-lipoprotein-lowering therapy. Am J Cardiol 2001; 88(suppl2): 23J-7.
14. Graham I, Atar D, Borch-Johnsen K, et al. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: full text. Fourth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and other societies on cardiovascular disease prevention in clinical practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). Eur J Cardiovasc Prev Rehabil 2007; 14 Suppl 2: S1-113.
15. Российские национальные клинические рекомендации (IV пересмотр). Диагностика и коррекция нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза. Кардиоваск тер профил 2009; 6 приложение 3: 29-30.
16. Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations. 5th ed. New-york: Wiley-Liss 2002; 1150.
17. Weihrauch JL, Gardner JM. Sterol content of foods of plant origin. J Am Diet Assoc 1978; 73: 39-47.
18. Plat J, Mensink P. Plant stanol and sterol esters in the control of blood cholesterol levels: mechanism and safety aspects. Am J Cardiol 2005; 96(1A): I5D-22.
19. Igel M, Giesa U, Lutjohann D, von Bergmann K. Comparison of the intestinal uptake of cholesterol, plant sterols, and stanols in mice. J Lipid Res 2003; 44: 3: 533-8.
20. Altmann SW, Davis JHR, Zhu LJ, et al. Niemann-Pick C1 Like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption. Science 2004; 303: 881-8.
21. Yu L, Hammer PE, Li-Hawkins J, et al. Disruption of ABCG5 and ABCG8 in mice reveals their crucial role in biliary cholesterol secretion. Proc Natl Acad Sci USA 2002; 99: 16237-42.
22. von Bergmann K, Sudhop T, Lutjohann D. Cholesterol and plant sterols absorption: recent insights. Am J Cardiol 2005; 96 (1A): I0D.
23. Kritchevsky D. Phytosterols. In: Kritchevsky D, Bonfield C (eds). Dietary Fiber in Health and Disease. NY: Plenum Press New-York 1997; 235-43.
24. Glueck CJ, Speirs J, Tracy T, et al. Relationships of serum plant sterols (phytosterols and cholesterol in 595 hypercholesterolemic subjects, and familial aggregation of phytosterols, cholesterol, and premature CHD in hyperphytosterolemic probands and their first-degree relatives Metabolism 1991; 40: 842-8.
25. Peterson DW. Effect of soybean in the diet on plasma and liver cholesterol in chickens. Proc Soc Exp Biol Med 1951; 78: 143-7.
26. Sugano MF, Kamo I, Ikeda I, et al. Lipid-lowering activity of fitostanols in rats. Atherosclerosis 1976; 24: 301-9.
27. Lees AM, Mok HY, Lees RS, et al. Plant sterols as cholesterol-lowering agents: clinical trials in patients with hypercholesterolemia and studies of sterol balance. Atherosclerosis 1977; 28: 325-8.
28. Grundy SM, Mok HY. Effect of low dose phytosterols on cholesterol absorption in man. In: Greten H. (ed). Lipoprotein Metabolism. Berlin: Springer-Verlag 1976; 112-8.
29. Plat J, Mensink RP. Increased intestinal ABCA1 expression contributes to the decrease in cholesterol absorption after plant stanol consumption. FASEB J 2002; 16:10: 1248-53.
30. Plat J, Mensink RP. Relationship of genetic variation in genes encoding apolipoprotein A-IV, scavenger receptor BI, HMG-CoA reductase, CETP and apolipoprotein E with cholesterol metabolism and the response to plant stanol ester consumption. Eur J Clin Invest 2002; 32: 4: 242-50.
31. Field FJ, Born E, Mathur SN. Stanol esters decrease plasma cholesterol independently of intestinal ABC sterol transporters and Niemann-Pick C1-like protein gene expression. J Lipid Res 2004; 45: 2252-9.
32. Ptat 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; 54:4: 671.
33. Law MR, Wald NJ, Thompson SG. By how much and how quickly does reduction in serum cholesterol concentration lower risk of ischaemic heart disease? BMJ 1994; 308: 367-72.
34. Bhattacharyya AK, Connor WE. Beta-sitosterolemia and xanthomatosis. A newly described lipid storage disease in two sisters. J Clin Invest 1974; 53: 1033-43.
35. Salen G, Shefer S, Nguyen L, et al. Sitosterolemia. J Lipid Res 1992; 33: 945-55.
36. Berge KE, von Bergmann K, Lutjohann D, et al. Heritability of plasma noncholesterol sterols and relationship to DNA sequence polymorphism in ABCG5 and ABCG8. J Lipid Res 2002; 43: 486-94.
37. Lu K, Lee MH, Hazard S, et al. Two genes that map to the STSL locus cause sitosterolemia: genomic structure and spectrum of mutations involving sterolin-1 and sterolin-2, encoded by ABCG5 and ABCG8, respectively. Am J Hum Genet 2001;

- 69: 278-9.
38. Salen G, Shore V, Tim GS, et al. Increased sitosterol absorption, decreased removal, and expanded body pools compensate for reduced cholesterol synthesis in sitosterolemia with xanthomatosis. *J Lipid Res* 1989; 30: 1319-30.
39. Nguyen LB, Shefer G, Salen G, et al. A molecular defect in hepatic cholesterol biosynthesis in sitosterolemia with xanthomatosis. *J Clin Invest* 1990; 86: 923-31.
40. Patel MD, Thompson PD. Phytosterols and vascular disease. Review. *Atherosclerosis* 2006; 186: 12-9.
41. Hidaka H, Nikamura T, Aoki T, et al. Increased plasma plant sterol levels in heterozygotes with sitosterolemia and Xanthomatosis. *J Lipid Res* 1990; 31: 827-31.
42. Belamarich PF, Deckelbaum RJ, Start CJ, et al. Response to diet and cholestyramine in patient with sitosterolemia. *Pediatrics* 1990; 86: 977-81.
43. Subhop T, Gottwald BM, von Bergmann K. Serum plant sterols as a potential risk factor for CHD. *Metabolism* 2002; 51: 1519-21.
44. Assman G, Gullen P. Elevation of plasma sitosterol concentration is associated with an increased risk for coronary events in the PROCAM study. *Suppl IV Circ* 2003; 108: 730.
45. Mellies MJ, Ishikawa TT, Glueck CJ. Phytosterols in aortic tissue in adults and infants. *J Lab Clin Med* 1976; 88: 914-21.
46. Salen G, Horak I, Rothkopf M, et al. Lethal atherosclerosis associated with abnormal plasma and tissue sterol composition in sitosterolemia with xanthomatosis. *J Lipid Res* 1985; 26: 1126-33.
47. Miettinen TA, Railo M, Lepantalo M, et al. Plant sterols in serum and in atherosclerotic plaques of patients undergoing carotid endarterectomy. *JACC* 2005; 45: 1794-801.
48. Wilund KR, Yu I, Xu F, et al. No association between plasma levels of plant sterols and atherosclerosis in mice and men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 2326-32.
49. Weingartner O, Lutjohann D, Ji S, et al. Vascular effects of Diet Supplementation with Plant Sterols. *JACC* 2008; 51: 1553-61.
50. Miettinen T, Gylling H. Vascular Effects of Diets, Especially Plant Sterol Ester Consumption. *JACC* 2008; 51: 1562-3.
51. de Jong A, Plat J, Hoeks AP, Mensink RP. Effects of long-term plant sterol or stanol ester consumption on endothelial function and arterial stiffness in patients on statin treatment. *Atherosclerosis* 2007; 8: 1.
52. Weingartner O, Bohm M, Laufs U. Controversial role of plant sterol esters in the management of hypercholesterolemia. *EJH* 2009; 30: 404-9.
53. Sutherland WHF, Williams MJA, Hye ER, et al. Association of plasma noncholesterol sterol levels with severity of coronary artery disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 1998; 8: 386-91.
54. Rajaratnam RA, Gylling H, Miettinen TA. Independent association of serum squalene and noncholesterol sterols with coronary artery disease in postmenopausal women. *JACC* 2000; 35: 1185-91.
55. Assmann G, Gullen P. Elevation in plasma sitosterol concentration is associated with increased risk for coronary events in the PROCAM study. *Circulation* 2003; 108(Suppl.): 3300.
56. Wilund KR, Yu I, Xu F, et al. No association between plasma levels of plant sterols and atherosclerosis in mice and men. *Arterioscler Tromb Vasc Biol* 2004; 24: 2326-32.
57. Fassbender K, Lutjohann D, Miranda G, et al. Moderately elevated plant sterol levels are associated with reduced cardiovascular risk — The LASA study. *Atherosclerosis* 2008; 196: 283-8.
58. Katan MB, Grundy SM, Jones P, et al. Efficacy and safety of plant stanols and sterols in the management of blood cholesterol levels. *Mayo Clin Proc* 2003; 78: 965-78.
59. Anttolainen M, Luoto R, Uutela A, et al. Characteristics of users and nonusers of plant stanol ester margarine in Finland; an approach to study functional foods. *J Am Diet Assoc* 2001; 101: 1365-8.
60. Miettinen TA, Puska P, Gylling H, et al. Reduction of serum cholesterol with sitostanol-ester margarine in a mildly hypercholesterolemic population. *N Engl J Med* 1995; 333: 1308-12.
61. Becker M, Staab D, van Bergmann K. Treatment of severe familial hypercholesterolemia in children with sitosterol and sitostanol. *J Pediatr* 1993; 122: 292-6.
62. Vanhanen HT, Blomquist S, Ehnholm C, et al. Serum cholesterol, cholesterol precursors and plant sterols in hypercholesterolemic subjects with different apo E phenotypes during dietary sitostanol treatment. *J Lipid Res* 1993; 34: 1535-44.
63. Vanhanen HT, Hajander J, Lehtovirta H, Miettinen TA. Serum levels, absorption efficiency, faecal elimination and synthesis of cholesterol during increasing doses of dietary sitostanol esters in hypercholesterolaemic subjects. *Clin Sci (Lond.)* 1994; 87: 61-7.
64. Miettinen TA, Vanhanen HT. Dietary sitostanol related to absorption. Synthesis and serum level of cholesterol in different apolipoprotein phenotypes. *Atherosclerosis* 1994; 105: 217-26.
65. Hansel B, Nicolle C, Lalanne F, et al. Effect of low-fat, fermented milk enriched with plant sterols on serum lipid profile and oxidative stress in moderate hypercholesterolemia. *Am J Clin Nutr* 2007; 86: 790-6.
66. Mannarino EM, Pirro M, Coriese C, et al. Effects of a phytosterol-enriched dairy product on lipids, sterols and 8-isoprostane in hypercholesterolemic patients: A multicenter Italian study. *Nutr Metabol Cardiovasc Dis* 2008; 20: 1-7.
67. Plana N, Nicolle C, Ferre R, et al. Plant sterol-enriched fermented milk enhances the attainment of LDL-cholesterol goal in hypercholesterolemic subjects. *Eur J Nutr* 2008; 47: 32-9.
68. Law M. Plant sterol and stanol margarines and health. *BMJ* 2000; 320: 861-4.
69. Lusis AJ. Atherosclerosis. *Nature* 2000; 407: 233-41.
70. FDA talk paper. FDA authorizes new coronary plant stanol esters. <http://www.cfscan.fda.gov/lrd/tpsterol.html> (15 desember 2008).
71. Grundy SM. Stanol esters as a component of maximal dietary Therapy in the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III report. *Am J Cardiol* 2005; 96 (1A): 47D-50.
72. Francisco J, Sanchez-Muniz, Kevin C, et al. Serum lipid and antioxidant responses in hypercholesterolemic men and women receiving plant sterol esters vary by apolipoprotein E genotype. *J Nutr* 2009; 139: 13-9.
73. Weidner C, Krempf M, Bard J, et al. Cholesterol lowering effect of a soy drink enriched with plant sterols in a French population with moderate hypercholesterolemia. *Lipids in health and disease* 2008; 7: 35.
74. Silbernagel G, Rentier W, Landl E, et al. The relationships of cholesterol metabolism and plasma plant sterols with the severity of coronary artery disease. *Lipid Res* 2009; 50: 334-41.
75. Lichtenstein AH, Appel LJ, Brands M, et al. Summary of American Heart Association Diet and Lifestyle Recommendation revision. *Arterioscler Tromb Vasc Biol* 2006; 26: 2186-91.
76. Dietary Recommendations. Cella Villalobos, Spain; Spanish Cardiology Society/ Spanish Health Minister; 2001.
77. Cholesterol lowering diet. Diet in promotion of heart health. Association of Clinical and Public Health Nutritionists in Finland 2002; Report 2.
78. Plant sterols and stanols. A position. statement from the Heart Foundations of Australia; 1999.