



Le directeur général

Maisons-Alfort, le 6 juin 2014

AVIS **de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,** **de l'environnement et du travail**

relatif à « Evaluation du risque et du bénéfice liés à la consommation de produits alimentaires enrichis en phytostérols ou en phytostanols »

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).

Ses avis sont rendus publics.

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa¹) a été saisie le 15 janvier 2010 par l'UFC – QUE CHOISIR pour la réalisation de l'expertise suivante : Evaluation du risque et du bénéfice liés à la consommation de produits alimentaires enrichis en phytostérols ou en phytostanols.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

L'autorité européenne de sécurité alimentaire (Efsa) a autorisé des allégations associant une 1^{ère} phrase indiquant que les phytostérols ou les phytostanols diminuent le cholestérol sanguin et une 2^{ème} indiquant que réduire le cholestérol sanguin peut réduire le risque de maladies coronariennes. L'association UFC – QUE CHOISIR s'interroge sur l'existence d'études démontrant un lien direct entre consommation d'aliments enrichis en phytostérols ou phytostanols et risque cardiovasculaire. Dans le cas d'une insuffisance d'éléments de démonstration, l'association s'interroge sur la nécessité de revoir les mentions d'étiquetage des produits enrichis en phytostérols ou phytostanols.

Par ailleurs, la question du risque associé à la consommation d'aliments enrichis en phytostérols/stanols repose sur quelques études scientifiques montrant une augmentation de la concentration plasmatique en phytostérols suite à l'ingestion de ces produits (Fransen *et al.*, 2007), et sur d'autres études associant des teneurs plasmatiques élevées en phytostérols et une augmentation du risque cardiovasculaire (Assmann *et al.*, 2006).

Par ailleurs, les personnes atteintes de sitostérolémie présentent des concentrations anormalement élevées de phytostérols dans le sang et les tissus, entraînant un développement d'athérosclérose prématuré. Chez ces sujets, la consommation de produits enrichis en phytostérols ou phytostanols est dangereuse. L'association s'interroge, de ce fait, sur la nécessité d'une mention spécifique à ce sujet, qui pourrait être apposée sur l'emballage de ces produits.

¹L'Afssa et l'Afsset (Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail) ont depuis fusionné pour former l'Anses, l'agence nationale de sécurité sanitaire.

Afin de répondre aux interrogations du demandeur, les points suivants ont été abordés et sont développés dans le rapport d'expertise collective :

Aspects généraux :

- Absorption et métabolisme des phytostérols/stanols
- Niveau de consommation des phytostérols/stanols dans la population française, par l'alimentation courante et par les aliments enrichis.

Questions relatives à l'efficacité :

- La baisse du LDL-C est-elle présente sur le long terme ?
- La variabilité interindividuelle est-elle forte ? Peut-on quantifier la proportion d'individus pour lesquels les phytostérols ne baisseront pas le LDL-C ?
- La diminution attendue du risque cardiovasculaire par les phytostérols/stanols est une projection de ce qui a été observé avec des médicaments hypolipémiants (statines) dont le mécanisme d'action est différent. La diminution du LDL-C par les phytostérols/stanols est-elle associée à une diminution du risque cardiovasculaire ? Si oui, de quelle ampleur ?
- Les phytostérols/stanols sont-ils efficaces chez les enfants ?

Questions relatives au risque :

- Quels sont les risques toxicologiques ?
- Quels sont les risques liés à une diminution de l'absorption des vitamines liposolubles (β -carotène), notamment à long terme ?
- Quels sont les risques liés à une phytostérolémie élevée ?
- Quels sont les risques d'interactions médicamenteuses ?
- Quels sont les risques pour les enfants, femmes enceintes et allaitantes ?
- Quels sont les risques pour les sujets sitostérolémiques ?

Cet avis se focalise sur quatre points majeurs de cette expertise :

- Variabilité de l'effet hypocholestérolémiant
- Conséquences de l'augmentation des concentrations plasmatiques de phytostérols
- Conséquences sur le risque cardiovasculaire
- Cas des populations particulières

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

Le groupe s'est appuyé sur les études scientifiques réalisées chez l'homme ainsi que celles réalisées sur des modèles animaux et publiées avant janvier 2013.

Une première recherche bibliographique a été réalisée fin 2010 dans Pubmed et Scopus en croisant les mots-clés relatifs aux phytostérols et phytostanols et relatifs aux effets à long terme sur le LDL-C, au risque cardiovasculaire, à la phytostérolémie, à différents polymorphismes génétiques, aux interactions médicamenteuses, à la toxicologie, au β -carotène et aux vitamines liposolubles, à la consommation ainsi qu'aux enfants et femmes enceintes et allaitantes. Environ 1200 articles sont ressortis de cette première approche, dont environ 500 ont été retenus car en lien avec la problématique générale étudiée. Une seconde recherche sur les phytostérols et les phytostanols a été réalisée fin 2012 dans les mêmes bases de données sur la période 2010-2012 afin de compléter la précédente recherche. Environ 150 articles sont ressortis de cette recherche dont 117 ont été jugés pertinents pour notre analyse. Ce fonds documentaire a été mis à la disposition des experts selon les questions qui leur ont été attribuées. Il a été enrichi, le cas échéant, par des références issues de recherches bibliographiques spécifiques réalisées par les experts.

Par ailleurs, les industriels commercialisant des aliments enrichis en phytostérols ou phytostanols ou fournisseurs d'ingrédients à base de phytostérols ou phytostanols ont été auditionnés afin de recueillir toute information scientifique ou technique utile à l'évaluation.

L'analyse du marché français des produits enrichis en phytostérols a été réalisée par l'Unité « Observatoire de la qualité nutritionnelle des aliments (Ciqual-Oqali) », UOQNA, sur la base des données de l'Oqali², qui constitue la "section nutritionnelle chargée des questions relatives à l'offre et aux caractéristiques des aliments" de l'Observatoire de l'Alimentation.

Les données de consommation de phytostérols et phytostanols ont été obtenues sur la base des données de l'enquête INCA 2, réalisée par l'Unité « Observatoire des consommations » (UOCA) de l'Anses, et de données de composition des aliments courants (base CIQUAL).

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise. Dans le cas présent, l'expertise collective a été réalisée par le comité d'experts spécialisé (CES) « nutrition humaine » sur la base d'un travail porté par un groupe de 7 rapporteurs. L'expertise de ces rapporteurs s'est appuyée sur une analyse bibliographique préliminaire. Celle-ci a fait l'objet d'un examen critique par les rapporteurs et a été enrichie et actualisée par la coordination scientifique de l'Agence. Le rapport a été discuté par le CES « Nutrition Humaine » entre le 21 février 2013 et le 7 mars 2014, tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques. Le rapport final intégrant les conclusions du CES a été adopté par le CES « Nutrition Humaine », à l'exception de 3 experts qui n'ont pas participé à la validation du rapport suite à l'analyse de leur déclaration publique d'intérêt.

Le présent avis reprend la synthèse et les conclusions du CES.

Les déclarations d'intérêts des experts sont rendues publiques *via* le site internet de l'Anses (www.anses.fr).

3. EVALUATIONS ANTERIEURES ET CONTEXTE REGLEMENTAIRE

1.1 Evaluations antérieures

L'introduction sur le marché des aliments enrichis en phytostérols et phytostanols s'est faite dans le cadre de la procédure relative aux nouveaux aliments (Règlement CE N°258/97) et a conduit à des évaluations européennes et françaises de la sécurité de ces aliments.

Evaluations européennes

Le comité scientifique de l'alimentation (SCF) a évalué une première fois en 2000 le risque lié à l'adjonction d'un mélange spécifique d'esters de phytostérols aux aliments. Cet avis a notamment porté sur les données toxicologiques fournies dans le dossier. Ces données n'ont pas évoqué de préoccupations sanitaires majeures liées à la consommation de ce mélange, lorsqu'il est apporté à une teneur maximale de 8 % de phytostérols libres dans le produit (SCF, 2000).

Par la suite, le SCF a rendu un avis de portée générale concluant à une absence de toxicité des phytostanols et à un effet similaire des phytostanols et des phytostérols sur la baisse des concentrations plasmatiques de LDL-C. Le SCF a également estimé que les données ne permettent pas de définir une limite maximale d'apport de phytostérols. Cependant, considérant les niveaux d'apport efficaces des phytostérols/stanols, considérant qu'au-delà de ces niveaux, aucun bénéfice supplémentaire n'est observé et considérant que les apports élevés pourraient induire des effets indésirables, le SCF a estimé prudent d'éviter des apports en phytostérols supérieurs à 1-3 g/j (SCF, 2002a).

Plusieurs autres avis ont été rendus dans le cadre de la procédure relative aux nouveaux aliments, pour des adjonctions de mélanges de phytostérols et/ou de phytostanols à de nombreux vecteurs entre 2000 et 2007, sous forme estérifiée ou libre (SCF, 2000, SCF, 2002a, SCF, 2002b, SCF, 2003c, SCF, 2003b, SCF, 2003a, NDA, 2003, NDA, 2006, NDA, 2007). Des éléments de risque ou réserves ont toutefois été évoqués :

- les sujets phytostérolémiques doivent être informés de la présence de phytostérols afin d'éviter de consommer les produits en contenant ;
- les patients sous hypocholestérolémiants ne devraient consommer le produit que sous surveillance médicale ;
- la consommation de phytostérols et de phytostanols interfère avec l'absorption des caroténoïdes. La diminution des caroténoïdes plasmatiques semble atteindre un plateau pour des doses de 2,2 g/j. Une baisse de 33 % a été observée après un an de consommation d'une margarine apportant 3 g/j

² <http://www.oqali.fr/oqali/>

(SCF, 2002a). Le SCF estime que ce risque doit être communiqué au consommateur (risque particulier pour les femmes enceintes, les femmes allaitantes et les enfants) et que la consommation de fruits et légumes doit être conseillée.

Par la suite, l'Efsa a évalué le bien fondé des allégations portant sur les phytostérols et phytostanols, dans le cadre général du règlement (CE) N°1924/2006, article 14 (NDA, 2009a, NDA, 2009b, NDA, 2008a, NDA, 2008b). L'Efsa a considéré que les termes suivants reflètent les preuves scientifiques disponibles :

- "Plant sterols have been shown to lower/reduce blood cholesterol. Blood cholesterol lowering may reduce the risk of coronary heart disease";
- "Plant stanol esters have been shown to lower/reduce blood cholesterol. Blood cholesterol lowering may reduce the risk of coronary heart disease";
- "Phytosterols have been shown to lower/reduce blood cholesterol. High blood cholesterol is a risk factor in the development of coronary heart disease".

Dans ces avis, l'Efsa a également indiqué qu'un apport quotidien de phytostérols ou de phytostanols de 1,5 g à 2,4 g, peut induire une baisse de LDL-C de 7 à 10,5 %. L'Efsa a considéré que cette diminution revêt une signification biologique en termes de réduction du risque de maladie coronarienne.

Evaluations nationales

En 1999, le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France (CSHPF) a rendu un 1er avis sur un aliment enrichi en phytostérols (CSHPF, 1999). Dans cet avis, le CSHPF considérait que l'enrichissement d'aliments en phytostérols pouvait présenter un intérêt pour les sujets hypercholestérolémiques. Cependant, il jugeait non opportun que des sujets hypo- ou normocholestérolémiques, à risque cardiovasculaire bas, consomment ces produits. Le CSHPF demandait également que la preuve de l'innocuité à très long terme de cet enrichissement soit apportée, en établissant la réalité d'un bénéfice cardiovasculaire.

Par la suite, de nombreux avis ont été rendus sur des produits alimentaires variés enrichis en différents mélanges de phytostérols ou de phytostanols.

En 2002, l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (Afssa) a déconseillé la consommation des aliments enrichis en phytostérols aux femmes enceintes et allaitantes et aux enfants, par manque de données de sécurité à long terme dans ces populations (Afssa, 2002). Elle a mis en garde contre le risque de surconsommation liée à la multiplication des aliments enrichis et a demandé aux industriels un suivi de consommation. Il a également été indiqué que la dose efficace de phytostérols pour obtenir la baisse de la concentration plasmatique en LDL-C est d'environ 2 g.j-1, toutes sources confondues.

En 2003, l'Agence a recommandé qu'une mention relative à l'importance de la consommation de fruits et légumes pour pallier la baisse des concentrations plasmatiques de β -carotène, apparaisse sur l'étiquetage des produits enrichis en phytostérols (Afssa, 2003).

En 2005, l'Agence a rappelé que les effets à long terme d'un apport élevé de phytostérols, compte tenu du cumul de doses, étaient encore mal connus et a recommandé un suivi médical en cas d'utilisation prolongée (Afssa, 2005).

En Allemagne, le BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung) a demandé, dans son avis du 1^{er} décembre 2011, que l'Efsa évalue de nouveau le risque lié à la consommation de produits enrichis en phytostérols, sur la base d'une part d'une nouvelle étude chez l'homme évoquant une augmentation du risque cardiovasculaire liée à la consommation de ces produits et d'autre part de données récentes de consommations allemandes et belges (BfR, 2011). Ces dernières indiquent que parmi les consommateurs de ces produits, se trouve un pourcentage non négligeable d'enfants et que seuls 58 % des adultes consommateurs de ces produits connaissent leur cholestérolémie. Le BfR en conclut que les mentions d'étiquetage ne sont pas suffisantes pour assurer que ces produits sont consommés par la population ciblée.

1.2 Réglementations

Suite à ces évaluations européennes et nationales, une première décision d'autorisation de mise sur le marché d'un aliment riche en esters de phytostérols a été rendue le 24 juillet 2000, dans le cadre du règlement N°258/97 encadrant la mise sur le marché des nouveaux-aliments. Il s'agissait d'une matière grasse à tartiner (décision 2000/500/CE). S'en sont suivies 10 décisions d'autorisation de mise sur le marché³ pour d'autres aliments vecteurs tels que d'autres matières grasses à tartiner, des boissons à base

³ Décisions 2008/36/CE, 2007/343/CE, 2006/58/CE, 2006/59/CE, 2007/343/CE, 2004/845/CE, 2004/336/CE, 2004/335/CE, 2004/334/CE, 2004/333/CE

de lait ou un assaisonnement pour salade. Le règlement (CE) 608/2004 de la Commission européenne prévoit des mentions d'étiquetage, notamment doivent figurer :

- une mention précisant que le produit contient des stérols végétaux/stanols végétaux ajoutés;
- la teneur en phytostérols (stanols) du produit ;
- une mention indiquant que le « produit est destiné exclusivement aux personnes souhaitant abaisser leur cholestérolémie » ;
- une mention indiquant que « les patients sous hypocholestérolémiants sont invités à ne consommer le produit que sous contrôle médical » ;
- une mise en garde pour enfants et femmes enceintes : « le produit peut ne pas convenir, du point de vue nutritionnel, aux femmes enceintes et allaitantes et aux enfants âgés de moins de cinq ans » ;
- une mention recommandant un régime équilibré et varié comprenant une consommation régulière de fruits et légumes en vue de maintenir les niveaux de caroténoïdes ;
- une mention précisant qu'il convient d'éviter de consommer plus de 3 g/j de stérols végétaux/ stanols végétaux ajoutés ;
- une définition d'une portion de l'aliment ou de l'ingrédient alimentaire concerné (de préférence en grammes ou en millilitres), avec indication de la quantité de stérols végétaux/stanols végétaux que contient chaque portion.

Le nouveau règlement (UE) N°1169/2011 concernant l'information des consommateurs sur les denrées alimentaires, reprend ces mentions d'étiquetage en apportant une modification, via le règlement délégué N°78/2014 du 22 novembre 2013, sur le 3^{ème} point : la mention concernant la population cible sera libellée comme suit : « il est signalé que le produit n'est pas destiné aux personnes qui n'ont pas besoin de contrôler leur taux de cholestérol sanguin. ».

En ce qui concerne les allégations, le règlement (UE) N°384/2010 du 5 mai 2010 entérine l'allégation proposée par l'Efsa « Il a été démontré que les stérols végétaux et les esters de stanols végétaux abaissaient/réduisaient le cholestérol sanguin. Une cholestérolémie élevée constitue un facteur de risque de développement d'une maladie cardiaque coronarienne » dans la mesure où le consommateur est informé que l'effet bénéfique est obtenu par la consommation journalière de 1,5 à 2,4 g de stérols/stanols végétaux.

4. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES NUTRITION HUMAINE

Les phytostérols ou stérols végétaux sont des composés naturels présents dans les plantes, notamment les graines et les oléagineux. Ils ont une structure similaire à celle du cholestérol mais diffèrent par leur chaîne latérale en C24 et/ou la position et la configuration des doubles liaisons. Les phytostanols sont issus de l'hydrogénation des phytostérols.

Aucun apport nutritionnel de référence n'est défini pour ces substances qui ne sont pas des molécules essentielles au fonctionnement de l'organisme.

Ces composés entrent en compétition avec le cholestérol au niveau de l'absorption intestinale et limitent ainsi l'absorption du cholestérol.

Les phytostérols sont moins absorbés que le cholestérol et leur concentration plasmatique est environ 200 fois plus faible que celle du cholestérol mais elle augmente avec les apports en phytostérols. Les phytostanols sont encore moins bien absorbés et leurs concentrations plasmatiques plus basses que celles des phytostérols.

4.1 Des effets hypocholestérolémiants limités à une fraction de la population

Le CES « Nutrition Humaine » confirme les évaluations précédentes de l'Afssa et de l'Efsa, à savoir que les phytostérols et les phytostanols, consommés à hauteur de 1,5-2,4 g/j, font baisser la cholestérolémie totale et la concentration en LDL-C d'environ 10 % sur des périodes de quelques semaines à 1 ou 2 ans. Cependant, il est important de souligner que la variabilité individuelle de réponse aux phytostérols est grande : on peut estimer que chez 30 % des sujets, sujets non répondeurs, la concentration de LDL-C ne diminue pas. La réponse aux phytostérols varie notamment selon les capacités de synthèse de cholestérol : les sujets non répondeurs aux phytostérols/stanols ayant une capacité de synthèse du cholestérol plus élevée.

A notre connaissance, aucune donnée sur la variabilité de réponse aux phytostanols n'existe.

L'ampleur de la baisse du LDL-C est également fonction de la concentration initiale de LDL-C. En effet, la diminution semblant constante en pourcentage dans les essais ayant évalué ce point précis, elle est plus élevée en valeur absolue chez les sujets présentant une concentration initiale de LDL-C plus élevée.

Concernant l'influence génétique, les quelques études portant sur les sujets hétérozygotes pour une mutation des gènes ABCG5/G8 (à l'origine de la sitostérolémie à l'état homozygote), montrent une baisse similaire du LDL-C suite à la consommation d'aliments enrichis en phytostérols ou en phytostanols chez les sujets hétérozygotes et chez les sujets non porteurs de la mutation.

Les essais évaluant l'influence du polymorphisme génétique sur la variabilité de réponse aux phytostérols ou aux phytostanols sont peu concluants : dans le cas du polymorphisme de l'apolipoprotéine E, les études ne sont pas concordantes, dans le cas du transporteur ABCG5/G8, il n'y aurait pas d'influence majeure et dans les cas du transporteur NPC1L1, de la protéine de transfert CETP et de l'enzyme CYP7A1, une influence du polymorphisme reste à confirmer.

4.2 Une augmentation des concentrations de phytostérols aux conséquences méconnues

La consommation d'aliments enrichis en phytostérols à la dose de 1,6 g/j augmente d'environ 30 % les concentrations plasmatiques de phytostérols, alors que la consommation de phytostanols à la dose de 0,6 g/j, diminue les concentrations plasmatiques en phytostérols tout en augmentant de 170 % celles de phytostanols. Un certain nombre d'études d'observation a porté sur les conséquences des concentrations plasmatiques élevées en phytostérols sur le risque cardiovasculaire. Aucune n'a porté sur une éventuelle association entre les concentrations en phytostanols et le risque cardiovasculaire.

Les données sur la relation entre les concentrations plasmatiques de phytostérols et le risque cardiovasculaire ne sont pas convergentes. Plus précisément, les études cas-témoins, chez l'homme, sont divergentes, certaines suggérant une association positive entre les taux plasmatiques de phytostérols et le risque cardiovasculaire, d'autres une absence d'association voire une association négative. Parmi les 5 études de cohorte réalisées, 4 rapportent une association positive significative entre les concentrations plasmatiques de phytostérols et le risque d'évènements cardiovasculaires, et une, comportant un nombre limité de sujets, retrouve un effet opposé. Une récente méta-analyse de l'ensemble de ces études conclut à une absence d'association entre les concentrations plasmatiques de phytostérols et le risque cardiovasculaire, mais la très forte hétérogénéité entre les études ($I^2 = 84 \%$, $P = 0,002$), par ailleurs peu nombreuses, pourrait être la cause de cette absence d'association.

A cette hétérogénéité de résultats entre les études, s'ajoute une difficulté supplémentaire liée à l'interprétation des concentrations plasmatiques en phytostérols. En effet, les concentrations plasmatiques de phytostérols varient en fonction de leurs apports alimentaires mais aussi de la capacité individuelle d'absorption des stérols (cholestérol et phytostérols). Or, quelques études montrent une association positive entre la capacité d'absorption des stérols et le risque cardiovasculaire. Par conséquent, l'augmentation du risque cardiovasculaire rapportée dans certaines études peut être liée à des apports élevés en phytostérols, ou à des capacités d'absorption de stérols élevées. Un troisième élément à prendre en compte dans l'interprétation des résultats réside dans le fait que ces études ont été réalisées chez des sujets ne consommant pas d'aliments enrichis en phytostérols, et leurs concentrations plasmatiques en phytostérols sont de ce fait a priori inférieures à celles des consommateurs réguliers d'aliments enrichis apportant 1,6-1,7 g/j de phytostérols.

Pour conclure, l'ensemble des données à notre disposition ne montre pas un risque cardiovasculaire lié à la teneur plasmatique en phytostérols, mais ne permet pas de l'exclure.

En ce qui concerne les phytostanols, aucune étude portant sur le lien entre leur concentration plasmatique et le risque cardiovasculaire n'existe à notre connaissance.

4.3 Quelle résultante sur le risque cardiovasculaire ?

L'athérogenèse à l'origine de nombreuses maladies cardiovasculaires est un processus complexe impliquant un dépôt de cholestérol dans les artères, des phénomènes d'oxydation, d'inflammation, de prolifération et de migration cellulaire et une réorganisation de la paroi vasculaire. Il s'agit d'une physiopathologie multifactorielle pour laquelle la HAS reconnaît les facteurs de risque suivants : l'âge, le tabagisme, la présence d'antécédents familiaux d'accident cardiovasculaire précoce, hypertension artérielle permanente, diabète de type 2, microalbuminurie et dyslipidémie (LDL-C élevé, HDL-C bas).

Les études portant sur les effets des phytostérols et des phytostanols sur certains paramètres associés au risque cardiovasculaire (lipides circulants, processus d'oxydation, élasticité artérielle) ne permettent pas de conclure quant aux effets des phytostérols et des phytostanols alimentaires sur la réduction de la morbidité et la mortalité cardiovasculaire. En outre, la seule étude épidémiologique portant sur les événements cardiovasculaires n'apporte pas d'élément suffisant pour conclure à un bénéfice.

Par ailleurs, les données manquent pour se prononcer sur les conséquences cardiovasculaires d'une augmentation de la phytostérolémie induite par la consommation d'aliments enrichis en phytostérols. Bien qu'il existe une association inverse entre taux plasmatique de caroténoïdes et risque cardiovasculaire, on ne peut pas non plus conclure quant aux conséquences cardiovasculaires d'une baisse des caroténoïdes plasmatiques induite par la consommation d'aliments enrichis en phytostérols.

En ce qui concerne les phytostanols, les données disponibles suggèrent un effet similaire à celui des phytostérols sur les lipides et les caroténoïdes plasmatiques, mais à notre connaissance aucune étude n'existe sur la variabilité interindividuelle de leur effet hypocholestérolémiant ni sur l'association potentielle entre la concentration plasmatique de phytostanols et le risque cardiovasculaire.

En l'absence de données issues d'études d'intervention, il n'est pas possible de se prononcer sur l'effet des phytostérols et des phytostanols sur la morbidité et la mortalité cardiovasculaires, en accord avec les conclusions de la société européenne d'athérosclérose (EAS) (Gylling et al., 2014).

4.4 Cas des populations particulières

Les enfants

La plupart des études relatives aux phytostérols chez l'enfant a été réalisée chez des enfants atteints d'hypercholestérolémie familiale hétérozygote. La consommation d'aliments enrichis en phytostérols/stanols est cliniquement bien tolérée chez l'enfant. Chez les enfants hypercholestérolémiques, elle permet une diminution significative du LDL-C à court et moyen termes, mais n'a pas d'effet démontré sur la fonction artérielle.

La consommation de phytostérols chez l'enfant entraîne, comme chez l'adulte, une élévation de la concentration plasmatique de sitostérol et de campestérol. Une baisse de la concentration plasmatique en β -carotène est également observée suite à la consommation de phytostérols et de phytostanols. Les études pédiatriques ne permettent pas de conclure sur les conséquences éventuelles de leur consommation sur l'absorption des autres vitamines liposolubles.

Ainsi, la consommation d'aliments enrichis en phytostérols/stanols semble avoir les mêmes conséquences à court et moyen termes chez l'enfant de plus de 4 ans que chez l'adulte en termes de baisse de la concentration plasmatique de β -carotène et de LDL-C et d'augmentation de celle des phytostérols plasmatiques dans le cas d'un enrichissement en phytostérols. Tout comme pour l'adulte, les études d'intervention sur la morbidité et la mortalité cardiovasculaire manquent pour pouvoir conclure.

A ce jour, la réglementation impose de mentionner sur les produits enrichis en phytostérols/stanols que « le produit peut ne pas convenir, du point de vue nutritionnel, aux femmes enceintes et allaitantes et aux enfants âgés de moins de cinq ans » (règlement (CE) 608/2004).

Sur la base de cette nouvelle évaluation, le CES « Nutrition Humaine » estime que les produits enrichis en phytostérols/stanols ne doivent pas être consommés par les enfants, quel que soit leur âge, sauf avis médical spécifique.

Les femmes enceintes ou allaitantes

Seules trois études sont disponibles chez la femme enceinte ou allaitante. D'après ces données, le CES « Nutrition Humaine » conclut que les apports en phytostérols chez les femmes allaitantes ont un effet sur la concentration en phytostérols de leur lait. Par ailleurs, des apports maternels élevés sont susceptibles d'augmenter indirectement la phytostérolémie des nourrissons allaités et d'abaisser leur concentration plasmatique en β -carotène. Ces études ne permettent cependant pas de conclure sur un éventuel effet d'une consommation maternelle élevée en phytostérols sur le métabolisme du cholestérol (synthèse vs absorption) chez les nourrissons.

A ce jour, la réglementation impose de mentionner sur les produits enrichis en phytostérols/stanols que « le produit peut ne pas convenir, du point de vue nutritionnel, aux femmes enceintes et allaitantes et aux enfants âgés de moins de cinq ans » (règlement (CE) 608/2004).

Etant donné que les phytostérols sont retrouvés dans le lait maternel et dans le sang des nourrissons et qu'ils induisent une baisse de leur concentration en β -carotène, le CES « nutrition humaine » estime que les produits enrichis en phytostérols/stanols ne doivent pas être consommés par les femmes enceintes ou allaitantes sauf avis médical spécifique.

Les sujets sitostérolémiques hétérozygotes

Les sujets souffrant de sitostérolémie, une maladie génétique rare caractérisée par des concentrations de phytostérols excessivement élevées (multipliées par 30 ou 100 par rapport à la population générale) doivent suivre un régime pauvre en phytostérols, phytostanols et cholestérol. Il leur est de ce fait exclu de consommer des aliments enrichis en phytostérols/stanols et une information claire de la présence de phytostérols/stanols dans les produits leur est nécessaire.

En revanche, les sujets hétérozygotes pour les mutations des gènes ABCG5/G8 ne sont pas identifiables en pratique. De plus, en cas de consommation de produits enrichis en phytostérols, leur cholestérolémie baisse et leur phytostérolémie, qui au niveau basal est légèrement plus élevée, augmente dans les mêmes proportions que chez les sujets non porteurs de la mutation. Ainsi, le CES « Nutrition Humaine » estime qu'une information spécifique dédiée à leur intention n'apparaît pas pertinente.

4.5 Produits enrichis en phytostérols/stanols et données de consommation

Le marché français des aliments enrichis en phytostérols se concentre sur les 3 secteurs des matières grasses végétales, des produits laitiers frais et de la vinaigrette, malgré des autorisations accordées pour d'autres vecteurs. Aucun produit enrichi en phytostanols n'est présent à l'heure actuelle sur le marché français.

D'après l'étude INCA 2, les consommateurs de ces produits représentaient, en 2006-2007, moins de 3 % des adultes (70 sujets adultes sur 2554 individus représentatifs des français) et 0,7 % des enfants (10 sur 1145). Parmi les adultes, la tranche d'âge des 46-79 ans, qu'on peut considérer comme plus à risque d'hypercholestérolémie, est plus représentée. Les niveaux d'apports moyens en phytostérols chez l'adulte via l'alimentation courante étaient d'environ 200 mg/j. Les niveaux d'apports moyens en phytostérols via les aliments enrichis étaient de 450 mg/j chez les sujets de 18 à 45 ans et de 700 mg/j chez les sujets de 46 à 79 ans consommant des aliments enrichis. Ainsi chez les sujets âgés de 46 à 79 ans, les niveaux d'apports moyens en phytostérols apportés par les deux sources s'élèvent à 900 mg/j, ce qui reste inférieur à la dose efficace reconnue par l'Efsa (1,5-2,4 g/j). Chez ces sujets, la dose efficace est atteinte à partir du 90^{ème} percentile.

Il est rassurant de constater qu'il n'y a pas de dépassement notable de la dose de 3 g/j qu'il est déconseillé de dépasser chez l'adulte. Cependant, cette dose a été définie sans prendre en compte la baisse du β -carotène plasmatique car les mentions d'étiquetage obligatoires recommandent d'accroître la consommation de fruits et légumes pour pallier cette baisse. Or une baisse de la concentration en β -carotène est observée suite à la consommation de produits enrichis en apportant 1,1 g/j de phytostérols. Ainsi, dans les conditions réelles de consommation, ce risque potentiel ne peut être écarté.

Le niveau d'apport maximal chez les enfants enquêtés est de 1,1 g/j mais aucune comparaison n'est possible en l'absence de niveau maximal d'apport défini. Ces données soulèvent la question de la consommation de produits enrichis en phytostérols/stanols par les enfants (10 enfants parmi les 80 sujets consommateurs), notamment pour les produits utilisés dans la préparation des repas familiaux. Toutefois les données de consommation datent de 2006-2007 et il est possible que le marché des produits enrichis et leur consommation aient évolué depuis.

4.6 Conclusion du CES « Nutrition Humaine »

La présente évaluation confirme que la consommation d'aliments enrichis en phytostérols/stanols à hauteur de 1,5-2,4 g/j induit en moyenne une baisse des concentrations plasmatiques en LDL-C d'environ 10 %. Cependant, elle soulève un certain nombre d'incertitudes sur les bénéfices et les risques liés à la consommation des aliments enrichis en phytostérols/stanols :

- la consommation d'aliments enrichis en phytostérols n'induit pas de baisse de LDL-C chez environ 30 % des sujets ;
- la consommation de ces aliments entraîne une augmentation des concentrations plasmatiques en phytostérols dont on ne connaît pas les conséquences sur le risque cardiovasculaire ;
- en l'absence de données issues d'études d'intervention, il n'est pas possible de se prononcer sur l'effet des phytostérols et des phytostanols sur la morbidité et la mortalité cardiovasculaires ;
- les conditions de commercialisation des produits enrichis en phytostérols/stanols rendent accessibles ces produits aux enfants, comme cela a été observé dans l'enquête INCA2, malgré les avertissements sur l'étiquetage.

Ainsi, le CES « Nutrition Humaine » considère que :

- sur le plan de la santé publique, les données disponibles ne permettent pas de considérer les aliments enrichis en phytostérols/stanols comme un moyen approprié de prévention des maladies cardiovasculaires ;
- sur le plan individuel, la consommation d'aliments enrichis en phytostérols/stanols devrait faire l'objet d'une évaluation du rapport bénéfice/risque au cas par cas par un professionnel de santé.

Il est souhaitable que la consommation de produits enrichis en phytostérols/stanols soit associée à une augmentation de la consommation de fruits et légumes afin de compenser la baisse des caroténoïdes plasmatiques.

Le CES « Nutrition Humaine » rappelle que la maladie athéromateuse est multifactorielle et qu'il convient de prendre en compte chacun des facteurs impliqués par des mesures hygiéno-diététiques appropriées, telles que l'arrêt du tabagisme, l'augmentation de l'activité physique, la réduction de la sédentarité et l'amélioration de l'équilibre alimentaire en veillant à une forte consommation de fruits et légumes, un apport équilibré en acides gras et à une consommation modérée de sucres et de sel.

Enfin, d'une manière générale, cette expertise rappelle que dans le cadre d'une maladie multifactorielle, la démonstration de la réduction d'un seul facteur de risque n'est pas suffisante pour conclure à un bénéfice sur le risque d'occurrence de la maladie.

5. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

Les phytostérols et stanols, composés aux propriétés hypocholestérolémiantes, sont naturellement présents dans l'alimentation et le niveau d'apport moyen des adultes français par l'alimentation courante est de l'ordre de 200 mg/j

Sur le marché français, les produits enrichis en phytostérols se concentrent actuellement sur trois secteurs : les margarines, les produits laitiers frais et assimilés (yaourts) et les sauces condimentaires (vinaigrettes). Ces produits représentent moins de 4 % des parts de marché de ces secteurs et sont consommés par environ 3 % de la population française. La majorité des consommateurs appartient à la tranche d'âge « 46-79 ans », toutefois, 12,5 % des consommateurs sont des enfants.

L'Efsa a reconnu en 2008 l'effet des phytostérols sur une réduction d'environ 10 % de la cholestérolémie totale et de la teneur en LDL-C circulant. Toutefois, la variabilité de la réponse est grande et environ 30 % de la population peut être considérée comme « non répondeur ». De plus, cet effet s'observe pour des apports évalués entre 1,5 et 2,4 g/j, alors que les apports actuels en phytostérols des consommateurs de produits enrichis sont inférieurs (de l'ordre de 900 mg/j). Il existe donc un doute sur la capacité de ces produits à entraîner au niveau populationnel une diminution significative de la cholestérolémie et du LDL-C.

Au-delà de cette première source d'incertitude, il convient de souligner que si la concentration plasmatique en LDL-C est considérée comme un facteur de risque cardiovasculaire, les maladies cardio-vasculaires sont des maladies multifactorielles impliquant un grand nombre de facteurs de risque et de facteurs protecteurs. De ce fait la diminution d'un facteur de risque n'entraîne pas nécessairement la diminution du risque de la maladie. L'Anses estime que seule une étude évaluant l'impact des produits enrichis en phytostérols ou en phytostanols sur le risque de survenue d'événements cardiovasculaires permettrait d'évaluer la résultante de l'ensemble de leurs effets sur le risque de développement de ces maladies.

Par ailleurs, la consommation de phytostérols en agissant sur la concentration plasmatique de LDL-C, diminue celle de β -carotène et augmente celle des phytostérols. Ces modifications pourraient augmenter le risque de maladies cardiovasculaires. Dans ce contexte, l'utilisation d'une allégation portant sur les phytostérols pour la valorisation de produits enrichis doit être pondérée au regard des incertitudes portant sur ces différents paramètres influençant le risque cardiovasculaire (Annexe 1).

L'Anses adopte les conclusions du CES « Nutrition humaine » qui estime que les données actuellement disponibles ne permettent pas de considérer, au plan de la santé publique, les aliments enrichis en phytostérols/stanols comme un moyen approprié de prévention des maladies cardiovasculaires.

Ainsi l'Anses recommande :

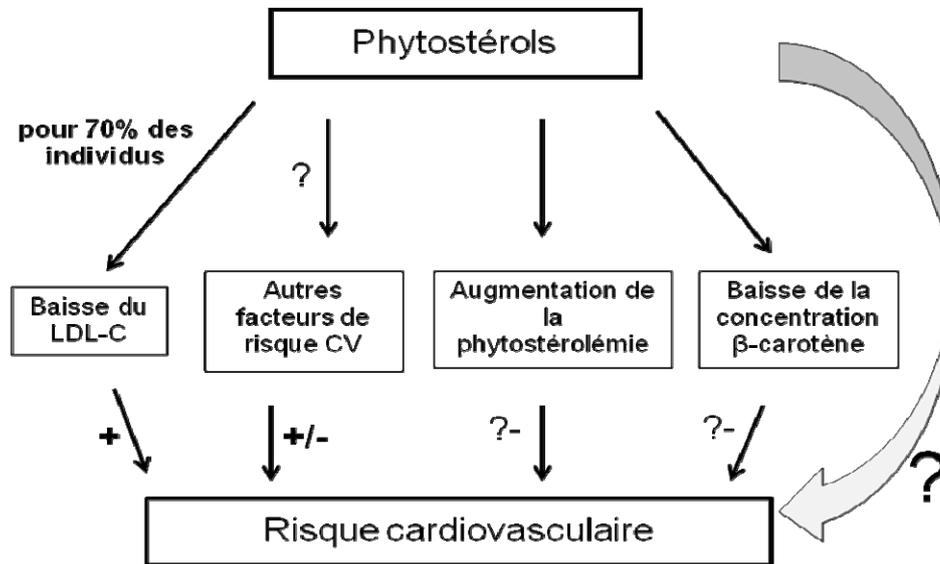
- aux personnes soucieuses de leur cholestérolémie de consulter un professionnel de santé qui pourra notamment leur indiquer les mesures hygiénico-diététiques les plus adaptées à leurs situations, permettant de maintenir une cholestérolémie normale : arrêt du tabagisme, l'augmentation de l'activité physique, la réduction de la sédentarité et l'amélioration de l'équilibre alimentaire en veillant à une consommation adéquate de fruits et légumes, un apport équilibré en acides gras et à une consommation modérée de sucres et de sel ;
- aux consommateurs de produits enrichis en phytostérols/stanols de veiller à atteindre a minima les recommandations du programme national nutrition santé (PNNS) en fruits et légumes ;
- d'éviter la consommation par les enfants de produits enrichis en phytostérols/stanols, et souligne que malgré ses précédentes recommandations et les mentions d'étiquetage, 12,5 % des consommateurs de ces produits sont des enfants ;
- d'éviter la consommation de produits enrichis en phytostérols/stanols par les femmes enceintes et allaitantes.

Enfin, l'Anses estime qu'il n'est pas nécessaire de recommander une mention d'étiquetage spécifique dédiée aux sujets souffrant de phytostérolémie.

Dans une perspective plus globale, la réglementation européenne sur l'adjonction de nutriments et substances aux aliments s'articule autour de plusieurs textes distincts. Ainsi l'évaluation des bénéfices se fait à travers une démarche indépendante (règlement 1924/2006 sur les allégations) de celle des risques (règlements 258/97 et 1925/2006). Dans ces conditions, il est difficile de mettre en balance ces deux aspects ; cette évaluation, tout comme celle réalisée en 2010 au sujet des aliments enrichis, illustrent la nécessité de la prise en compte conjointe des bénéfices et des risques.

Marc Mortureux

ANNEXE



Annexe 1. Effets des aliments enrichis en phytostérols sur le risque cardiovasculaire

MOTS-CLES

Phytostérols, phytostanols, LDL-C, cholestérolémie, sitostérolémie, phytostérolémie, risque, bénéfique, cardiovasculaire, vitamines liposolubles, apports

REFERENCES

Publications

- Afssa 2002. Avis du 1er août 2002 relatif à l'évaluation du rapport initial établi par les autorités finlandaises concernant l'adjonction de phytostérols dans les produits alimentaires (yaourt, fromage frais, boisson lactée aux fruits). Saisine 2001-SA-0180.
- Afssa 2003. Avis du 3 février 2003 relatif à l'évaluation du rapport initial établi par les autorités britanniques concernant une gamme de produits (lait écrémé, lait demi-écrémé, produits laitiers à base d'huile végétale, yaourts nature et yaourts aromatisés aux fruits) enrichis en stérols végétaux, au titre du règlement CE n°258/97, et à l'évaluation des justificatifs de l'allégation envisagée relative au cholestérol pour la gamme de produits considérée. Saisine 2002-SA-0244.
- Afssa 2005. Avis du 24 juin 2005 relatif à l'évaluation du rapport initial établi par les autorités britanniques concernant l'emploi de jus et de nectars de fruits enrichis en phytostérols. Saisine 2005-SA-0136.
- Assmann, G., Cullen, P., Erbey, J., Ramey, D. R., Kannenberg, F. & Schulte, H. 2006. Plasma sitosterol elevations are associated with an increased incidence of coronary events in men: results of a nested case-control analysis of the Prospective Cardiovascular Munster (PROCAM) study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 16, 13-21.
- BfR2011. Opinion of the 1st December 2011. Addition of plant sterols and stanols to food: assessment of a new study from the Netherlands. BfR opinion 006/2012.

- CSHPPF 1999. Avis du 14 septembre 1999 rendu au titre du CSHPPF relatif à une demande d'emploi de matières grasses tartinables additionnées d'esters de phytostérols. .
- Fransen, H. P., De Jong, N., Wolfs, M., Verhagen, H., Verschuren, W. M. M., Lütjohann, D., Von Bergmann, K., Plat, J. & Mensink, R. P. 2007. Customary use of plant sterol and plant stanol enriched margarine is associated with changes in serum plant sterol and stanol concentrations in humans. *Journal of Nutrition*, 137, 1301-1306.
- Gylling, H., Plat, J., Turley, S., Ginsberg, H. N., Ellegard, L., Jessup, W., Jones, P. J., Lutjohann, D., Maerz, W., Masana, L., Silbernagel, G., Staels, B., Boren, J., Catapano, A. L., De Backer, G., Deanfield, J., Descamps, O. S., Kovanen, P. T., Riccardi, G., Tokgozoglu, L. & Chapman, M. J. 2014. Plant sterols and plant stanols in the management of dyslipidaemia and prevention of cardiovascular disease. *Atherosclerosis*, 232, 346-60.
- NDA 2003. Opinion of the scientific panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from the Commission related to a novel food application from Forbes Medi-Tech for approval of plant sterol-containing milk-based beverages. *The EFSA Journal*, 15, 1-12. <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/15.htm>.
- NDA 2006. Statement of the scientific panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from the Commission related to a novel food application on rice drinks with added phytosterols; expressed on 15th february 2006. available online at <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/201.htm>.
- NDA 2007. Statement of the scientific panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from the Commission related to a novel food application on fruit juices and nectars with added phytosterols; expressed on 15th february 2007. Available online at <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/391.htm>.
- NDA 2008a. Scientific opinion of the panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from McNeil Nutritionals Ltd. related to the scientific substantiation of a health claim on plant stanol esters and lower/reduced blood cholesterol and reduced risk of (coronary) heart disease. *The Efsa journal*, 825, 1-13. available online at <http://www.efsa.europa.eu/fr/efsajournal/pub/825.htm>.
- NDA 2008b. Scientific opinion of the panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from Unilever PLC/NV on plant sterols and lower/reduced blood cholesterol, reduced the risk of (coronary) heart disease. *The Efsa journal*, 781, 1-12. available online at <http://www.efsa.europa.eu/fr/efsajournal/pub/781.htm>.
- NDA 2009a. Scientific opinion of the panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from Danone France related to the scientific substantiation of a health claim on phytosterols and lowering/reducing blood cholesterol and reduced risk of (coronary) heart disease. *The Efsa journal*, 1177, 1-12. available online at <http://www.efsa.europa.eu/fr/efsajournal/pub/1177.htm>.
- NDA 2009b. Scientific opinion of the panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from the European Commission and a similar request from France in relation to the authorisation procedure for health claims on plant sterols/stanols and lowering/reducing blood LCL-cholesterol pursuant to article 14 of Regulation (EC) N°1924/2006. *The Efsa journal*, 1175, 1-9. available online at <http://www.efsa.europa.eu/fr/efsajournal/pub/1175.htm>.
- SCF 2000. Opinion on a request for the safety assessment of the use of phytosterol esters in yellow fat spreads. Opinion adopted by the Scientific Committee on Food on 6 April 2000. available online at http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out56_en.pdf.
- SCF 2002a. 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 beta-carotene. Opinion adopted by the Scientific Committee on Food on 3 October 2002. available online at http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out143_en.pdf.
- SCF 2002b. Opinion of the Scientific Committee on Food on a report on post launch monitoring of « yellow fat spreads with added phytosterols esters ». Opinion adopted by the Scientific Committee on Food on 4 october 2002. available online at http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out144_en.pdf.
- SCF 2003a. Opinion of the Scientific Committee on Food on an application from ADM for approval of plant-sterol enriched foods. Opinion adopted by the Scientific Committee on Food on 15 April 2003. available online at http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out192_en.pdf.
- SCF 2003b. Opinion of the Scientific Committee on Food on an application from MultiBene for approval of plant-sterol enriched foods. Opinion adopted by the Scientific Committee on Food on 15 April 2003. available online at http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out191_en.pdf.
- SCF 2003c. Opinion of the Scientific Committee on Food on applications for approval of a variety of plant sterol-enriched fodds. Opinion adopted by the Scientific Committee on Food on 13 march 2003. available online at http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out174_en.pdf.

Législation et réglementations

Règlement (CE) n°258/97 du Parlement européen et du Conseil du 27 janvier 1997 relatif aux nouveaux aliments et aux nouveaux ingrédients alimentaires. Journal officiel de l'Union européenne L43 du 14 février 1997

Règlement (CE) n°608/2004 de la Commission du 31 mars 2004 concernant l'étiquetage des aliments et ingrédients alimentaires avec adjonction de phytostérols, esters de phytostérol, phytostanols et/ou esters de phytostanol. Journal officiel de l'Union européenne L97 du 1^{er} avril 2004

Règlement (CE) N°1924/2006 du Parlement européen et du Conseil du 20 décembre 2006 concernant les allégations nutritionnelles et de santé pour les denrées alimentaires. Journal officiel de l'Union européenne L404 du 30 décembre 2006

Règlement (CE) N°384/2010 de la Commission du 5 mai 2010 relatif à l'autorisation ou au refus d'autorisation de certaines allégations de santé portant sur les denrées alimentaires et faisant référence à la réduction du risque de maladie ainsi qu'au développement et à la santé infantile. Journal officiel de l'Union européenne L113 du 6 mai 2010.

Règlement (UE) N°1169/2011 du Parlement européen et du Conseil du 25 octobre 2011 concernant l'information des consommateurs sur les denrées alimentaires, modifiant les règlements (CE) N°1924/2006 et (CE) N°1925/2006 du Parlement européen et du Conseil et abrogeant la directive 87/250/CEE de la Commission, la directive 90/496/CEE du Conseil, la directive 1999/10/CE de la Commission, la directive 2000/13/CE du Parlement européen et du Conseil, les directives 2002/67/CE et 2008/5/CE de la Commission et le règlement (CE) N°608/2004 de la Commission. Journal officiel de l'Union européenne L304 du 22 novembre 2011

Règlement délégué (UE) N°78/2014 de la Commission du 22 novembre 2013 modifiant les annexes II et III du règlement (UE) N°1169/2011 du Parlement européen et du Conseil concernant l'information des consommateurs sur les denrées alimentaires, en ce qui concerne certaines céréales provoquant des allergies ou des intolérances et les denrées alimentaires avec adjonction de phytostérols, d'esters de phytostérol, de phytostanols ou d'esters de phytostanol. Journal officiel de l'Union européenne du 30 janvier 2014

Décision de la Commission du 24 juillet 2000 relative à l'autorisation de mise sur le marché de «matières grasses à tartiner enrichies aux esters de phytostérol» en tant que nouvel aliment ou nouvel ingrédient alimentaire, en application du règlement (CE) n° 258/97 du Parlement européen et du Conseil (2000/500/CE). Journal officiel de l'Union européenne L200 du 8 août 2000

Décision de la Commission du 12 novembre 2004 autorisant la mise sur le marché de boissons à base de lait contenant des phytostérols/phytostanols ajoutés en tant que nouveaux aliments ou ingrédients alimentaires, en application du règlement (CE) N°258/97 du Parlement européen et du Conseil (2004/845/CE). Journal officiel de l'Union européenne L366 du 11 décembre 2004.

Décision de la Commission du 31 mars 2004 relative à l'autorisation de mise sur le marché de matières grasses à tartiner, de boissons lactées aux fruits, de produits de type yaourt et de produits de type fromage enrichis en phytostérols/phytostanols en tant que nouveaux aliments ou nouveaux ingrédients alimentaires, en application du règlement (CE) N°258/97 du Parlement européen et du Conseil (2004/336/CE). Journal officiel de l'Union européenne L105 du 14 avril 2004

Décision de la Commission du 31 mars 2004 relative à l'autorisation de mise sur le marché de produits de type lait et de produits de type yaourt enrichis en esters de phytostérol en tant que nouveaux ingrédients alimentaires en vertu du règlement (CE) N°258/97 du Parlement européen et du Conseil (2004/335/CE). Journal officiel de l'Union européenne L105 du 14 avril 2004

Décision de la Commission du 31 mars 2004 autorisant la mise sur le marché de matières grasses à tartiner, de produits de type lait, de produits de type yaourt et de sauces épicées enrichis en phytostérols/phytostanols en tant que nouveaux aliments ou ingrédients alimentaires, en application du règlement (CE) N°258/97 du Parlement européen et du Conseil (2004/334/CE). Journal officiel de l'Union européenne L105 du 14 avril 2004

Décision de la Commission du 31 mars 2004 autorisant la mise sur le marché de matières grasses à tartiner, d'assaisonnements pour salades, de produits de type lait, de produits de type lait fermenté, de boissons à base de soja et de produits de type fromage enrichis en phytostérols/phytostanols en tant que nouveaux

aliments ou ingrédients alimentaires, en application du règlement (CE) N°258/97 du Parlement européen et du Conseil (2004/333/CE). Journal officiel de l'Union européenne L105 du 14 avril 2004

Décision de la Commission du 24 janvier 2006 autorisant la mise sur le marché de pain de seigle enrichi en phytostérols/phytostanols en tant que nouvel aliment ou nouvel ingrédient alimentaire en application du règlement (CE) N°258/97 du Parlement européen et du Conseil (2006/58/CE). Journal officiel de l'Union européenne L31 du 3 février 2006

Décision de la Commission du 24 janvier 2006 autorisant la mise sur le marché de pain de seigle enrichi en phytostérols/phytostanols en tant que nouvel aliment ou nouvel ingrédient alimentaire en application du règlement (CE) N°258/97 du Parlement européen et du Conseil (2006/59/CE). Journal officiel de l'Union européenne L31 du 3 février 2006

Décision de la Commission du 15 mai 2007 autorisant la mise sur le marché d'huile concentrée en phytostérols/phytostanols en tant que nouvel ingrédient alimentaire en application du règlement (CE) N°258/97 du Parlement européen et du Conseil (2007/343/CE). Journal officiel de l'Union européenne L129 du 17 mai 2007

Décision de la Commission du 10 janvier 2008 autorisant la mise sur le marché de boissons à base de riz enrichies en phytostérols/phytostanols en tant que nouvel aliment en application du règlement (CE) N°258/97 du Parlement européen et du Conseil (2008/36/CE). Journal officiel de l'Union européenne L8 du 11 janvier 2008

Evaluation du risque et du bénéfice liés à la consommation de produits alimentaires enrichis en phytostérols ou en phytostanols

Saisine n°2010-SA-0057 « Phytostérols »

RAPPORT d'expertise collective

« CES Nutrition Humaine »

Juin 2014

Mots clés

Phytostérols, phytostanols, LDL-C, cholestérolémie, sitostérolémie, phytostérolémie, risque, bénéfique, cardiovasculaire, vitamines liposolubles, apports

Présentation des intervenants

PRÉAMBULE : Les experts externes, membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, *intuitu personae*, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

RAPPORTEURS¹

M. Jacques BELEGAUD – PU honoraire – Université Picardie- Amiens, UFR Sciences Pharmaceutiques
M. Gérard CROS – PU – Université Montpellier 1, UFR de Pharmacie, unité : Institut des Biomolécules Max Mousseron, Cnrs-UMR 5247
Mme Myriam DABBAS-TYAN – PH – AP-HP Hôpital Necker enfants malades
M. Anthony FARDET – CR – Inra de Clermont-Ferrand/Theix, unité de Nutrition Humaine, UMR 1019 Inra/Université d'Auvergne
M. Frédéric FUMERON – MCU – Université Paris Diderot
M. Jacques MOUROT – DR Inra Saint-Gilles
M. Bruno VERGES – PU-PH – CHU de Dijon – Service endocrinologie, diabétologie

COMITE D'EXPERTS SPECIALISE « NUTRITION HUMAINE »

Président

M. François MARIOTTI – MC – AgroParisTech, UFR de biologie et nutrition humaines

Membres

Mme Latifa ABDENNEBI-NAJAR – DR – Institut Polytechnique la Salle de Beauvais, Equipe UP 2012.10.101 EGEAL
M. Jacques BELEGAUD – PU honoraire – Université Picardie- Amiens, UFR Sciences Pharmaceutiques
Mme Catherine BENNETAU-PELISSERO – Pr – Bordeaux Sciences Agro, U862 Inserm
Mme Marie BODINIER – CR – Inra de Nantes, UR1268 Biopolymères Interactions Assemblages (BIA), équipe allergie
M. Marc BONNEFOY – PU-PH – Université Claude-Bernard Lyon 1, UFR de Médecine Lyon Sud, Hospices Civils de Lyon, Inserm 1060
Mme Marie-Christine BOUTRON-RUAULT – DR – CESP Inserm U1018 équipe 9 « Nutrition, hormones et santé des femmes »
M. Jean-Louis BRESSON – PU-PH – AP-HP Hôpital Necker - Enfants Malades, Centre d'Investigation Clinique, CIC 0901
M. Olivier BRUYERE – Pr – Université de Liège, Département de Santé Publique, Epidémiologie et Economie de la Santé, Unité de Soutien Méthodologique en Epidémiologie et en Biostatistique
Mme Sybil CHARRIERE – MCU-PH – Université Claude Bernard Lyon I, UFR de médecine Lyon Est, Hospices Civils de Lyon

¹ L'expertise de ces rapporteurs s'est appuyée sur un travail préliminaire réalisé par un 1^{er} groupe de rapporteurs :

M. Jean-Marie BARD – PU-PH – Université de Nantes
M. Jacques BELEGAUD – PU honoraire – Université Picardie- Amiens, UFR Sciences Pharmaceutiques
M. Frédéric FUMERON – MCU – Université Paris Diderot
M. Jean-Philippe GIRARDET – PU-PH – AP-HP Armand Trousseau – Service de pédiatrie
M. Jean-Michel LECERF – Chef de service – Institut Pasteur de Lille
M. François PAILLARD – PH – CHU de Rennes – Unité de cardiologie
M. Bruno VERGES – PU-PH – CHU de Dijon – Service endocrinologie, diabétologie

M. Gérard CROS – PU – Université Montpellier 1, UFR de Pharmacie, unité : Institut des Biomolécules Max Mousseron, Cnrs-UMR 5247

M. Anthony FARDET – CR – Inra de Clermont-Ferrand/Theix, unité de Nutrition Humaine, UMR 1019 Inra/Université d'Auvergne

Mme Anne GALINIER – MCU-PH – Université Paul Sabatier, CHU de Toulouse

M. Jean-François HUNEAU – Pr – AgroParisTech, UFR de biologie et nutrition humaines

M. Alexandre MACIUK – MCU – Université Paris-Sud, UFR de Pharmacie

M. André MAZUR – DR – Inra de Clermont-Ferrand/Theix, unité de Nutrition Humaine, UMR 1019 Inra/Université d'Auvergne

M. Gilles MITHIEUX – DR – Cnrs, unité Inserm 855 "nutrition et cerveau", Lyon

Mme Béatrice MORIO-LIONDORE – DR – Inra de Lyon, Laboratoire de Recherche en Cardiovasculaire, Métabolisme, Diabétologie et Nutrition

M. Claude MOULIS – PU émérite – Université Paul-Sabatier de Toulouse, UFR de Sciences Pharmaceutiques, UMR152

Mme Annie QUIGNARD-BOULANGE – DR émérite – Inserm, UMR 914 Inra/AgroParisTech

M. Alain SERVIN – Retraité, ex-DR Inserm – Université Paris-Sud, UFR de Pharmacie, Cnrs UMR 8076

Mme Ariane SULTAN – MCU-PH – CHU Montpellier, Hôpital Lapeyronie, équipe Nutrition-Diabète

M. Stéphane WALRAND – DR – Inra de Clermont-Ferrand/Theix, unité de Nutrition Humaine, UMR 1019 Inra/Université d'Auvergne

N'a participé ni aux débats ni à la validation du rapport :

Mme Sybille Charrière

N'ont pas participé à la validation du rapport :

Mme Quignard-Boulangé et Mme Morio-Liondore

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique

Mme Anne MORISE – PhD – Coordinatrice Scientifique à l'Unité d'évaluation des risques liés à la nutrition – Anses

Sous la direction de Mme Esther KALONJI – PhD – Chef d'Unité adjointe à l'Unité d'évaluation des risques liés à la nutrition – Anses

Contribution scientifique

Mme Isabelle BORDES – MSc – Coordinatrice Scientifique à l'Unité d'évaluation des risques liés à la nutrition – Anses

Mme Esther KALONJI – PhD – Chef d'Unité adjointe à l'Unité d'évaluation des risques liés à la nutrition – Anses

Mme Irène MARGARITIS – PU – Chef de l'Unité d'évaluation des risques liés à la nutrition – Anses

Mme Anne MORISE – PhD – Coordinatrice Scientifique à l'Unité d'évaluation des risques liés à la nutrition – Anses

Secrétariat administratif

Mme Odile BENDER – Anses

Mme Muriel COIPEL – Anses

RELECTEURS

M. Milou-Daniel DRICI – Chef de Service Pharmacologie-Toxicologie – Hôpital Pasteur de Nice

Mme Anne GALINIER – MCU-PH – Université Paul Sabatier, CHU de Toulouse

M. André MAZUR – DR – Inra de Clermont-Ferrand/Theix, unité de Nutrition Humaine, UMR 1019 Inra/Université d'Auvergne

AUDITION DE PERSONNALITÉS EXTÉRIEURES

Danone

Mme Silvy AUBOIRON – Responsable des Relations Scientifiques
M. Anthony BIOTEAU – Responsable communication produits et affaires réglementaires
Mme Sabine GOURMAIN – Directrice R&D Dairy Cardiovasculaire
Mme Hana KOUTNIKOVA – Ingénieur scientifique Cardiovasculaire
Mme Catherine NICOLLE – Science & Nutrition Manager

Unilever

Mme Bobbie BRADFORD – Toxicologue
Mme Ismène GIACHETTI – Responsable règlementaire Foods
Mme Aude PAULMYER-AUBERT – Responsable nutrition
Mme Elke TRAUTWEIN – Science Leader Cardiovascular Health

Lesieur

Mme Valérie BUSSON – Responsable du Service Communication et Relations Publics
M. Alain HUERTAS – Directeur Recherche et Développement

Cognis

Mme Valérie BARROIS – Global Key Account Manager - Nutrition & Health
M. Albert BÄR
M. Horst MESSINGER

CONTRIBUTIONS EXTÉRIEURES AU COLLECTIF

Objet de la contribution : « *Composition des aliments en phytostérols et phytostanols : aliments génériques et aliments enrichis* » ; Mme Laure DU CHAFFAUT – Chargée d'études scientifiques – Domaine Méthodologie et Observatoires – Unité Observatoire de la qualité nutritionnelle des aliments (CiquaI-Oqali) – ANSES

Objet de la contribution : « *Caractérisation des produits transformés contenant des stérols végétaux et disponibilité sur le marché français 2013* » ; Mme Julie GAUVREAU-BEZIAT – Chargée d'études scientifiques – Domaine Méthodologie et Observatoires – Unité Observatoire de la qualité nutritionnelle des aliments (CiquaI-Oqali) – ANSES

Objet de la contribution : « *Apports en phytostérols et phytostanols par l'alimentation courante et les aliments enrichis dans la population française – Analyse à partir des données de l'enquête INCA 2* » ; Mme Sabrina HAVARD – Chargée d'études scientifiques – Domaine Méthodologie et Observatoires – Unité Observatoire des Consommations Alimentaires – ANSES

SOMMAIRE

Présentation des intervenants	3
Sigles et abréviations	8
Liste des tableaux	8
Liste des figures	9
1.Contexte, objet et modalité de traitement de la saisine	10
1.1 Contexte et objet de la saisine	10
1.2 Evaluations antérieures	10
1.2.1 Evaluations européennes	10
1.2.2 Evaluations françaises	11
1.3 Réglementations	12
1.4 Modalités de traitement	13
2.Nature, sources des phytostérols et des phytostanols et effets métaboliques	15
2.1 Nature et sources	15
2.2 Métabolisme des stérols	17
2.2.1 Absorption intestinale des phytostérols et des phytostanols et interaction avec le métabolisme du cholestérol	17
2.2.2 Concentrations plasmatiques de phytostérols et de phytostanols	18
2.2.3 Absorbeurs et synthétiseurs de cholestérol	18
3.Quels sont les effets des phytostérols et des phytostanols sur le risque cardiovasculaire ?	20
3.1 Quels sont les effets des phytostérols et phytostanols sur le LDL-C ?	20
3.1.1 La baisse du LDL-C se maintient-elle à long terme ?	20
3.1.2 Quelle est la variabilité interindividuelle de l'effet hypocholestérolémiant des phytostérols et des phytostanols ?	23
3.2 Quels sont les effets des phytostérols et des phytostanols sur les autres facteurs de risque cardiovasculaire ?	32
3.2.1 Données chez l'animal	32
3.2.2 Données chez l'Homme	34
3.3 Quels sont les effets des phytostérols et des phytostanols sur les vitamines liposolubles ?	41
3.3.1 Description des protocoles d'étude	41
3.3.2 Principaux résultats	42
3.3.3 Signification biologique	45
3.3.4 Conclusion	46
3.4 Quels sont les effets des phytostérols sur la phytostérolémie ? Quelles conséquences sur le risque cardiovasculaire ?	47
3.4.1 Effet sur la phytostérolémie	47
3.4.2 Conséquences sur le risque cardiovasculaire	48
3.4.3 Mise en perspective de l'ensemble des études sur l'association des phytostérols plasmatiques et le risque cardiovasculaire	57
3.5 Conclusion sur les effets des phytostérols et des phytostanols sur le risque cardiovasculaire	58
4.Quel est le risque toxicologique ?	59
4.1 Données toxicologiques	59
4.2 Données sur l'oxydation des phytostérols et des phytostanols	60

5.Y a-t-il des effets particuliers des phytostérols et des phytostanols pour les populations spécifiques ?	62
5.1 Spécificités physiologiques	62
5.1.1 Les enfants	62
5.1.2 Les femmes enceintes et allaitantes	66
5.2 Spécificités liées à des maladies	67
5.2.1 Les sujets sitostérolémiques hétérozygotes	67
5.2.2 Les sujets sous médicament hypocholestérolémiant	69
6.Quels sont les niveaux de consommation des phytostérols/stanols ?	74
6.1 Disponibilité des produits enrichis en phytostérols sur le marché français	74
6.1.1 Liste des produits contenant des phytostérols	74
6.1.2 Fréquence des produits contenant des phytostérols par famille Oqali	74
6.1.3 Quantité de phytostérols ajoutées	75
6.1.4 Présence simultanée de caroténoïdes	75
6.1.5 Innovations alimentaires contenant des phytostérols	75
6.2 Niveaux d'apport en phytostérols et en phytostanols	76
6.2.1 Niveaux d'apport en phytostérols/stanols chez les adultes (18-79 ans)	76
6.2.2 Niveaux d'apport en phytostérols/stanols chez les enfants	77
6.2.3 Caractéristiques des consommateurs d'aliments enrichis en phytostérols/stanols	79
6.2.4 Aliments vecteurs	80
6.2.5 Motivations et comportement des consommateurs d'aliments enrichis en phytostérols/stanols	81
6.3 Discussion et conclusion	82
7.Synthèse et Conclusion du CES	83
7.1 Synthèse du CES	83
7.1.1 Des effets hypocholestérolémiants limités à une fraction de la population	83
7.1.2 Une augmentation des concentrations de phytostérols aux conséquences méconnues	83
7.1.3 Quelle résultante sur le risque cardiovasculaire ?	84
7.1.4 Cas des populations particulières	84
7.2 Conclusion du CES « Nutrition Humaine »	86
8.Bibliographie	87
8.1 Publications	87
8.2 Législation et réglementation	102
ANNEXES	104
Annexe 1 : Lettre de saisine	105
Annexe 2 : Etudes d'intervention rapportant les effets d'aliments enrichis en phytostérols/stanols sur les concentrations plasmatiques en caroténoïdes précurseurs de vitamine A et en vitamines liposolubles	108
Annexe 3 : Données toxicologiques	123
Annexe 4 : Méthode d'analyse du marché français des produits enrichis en phytostérols	131
Annexe 5. Matériels et méthodes d'estimation des apports en phytostérols et en phytostanols	133
Annexe 6. Principaux vecteurs de phytostérols et de phytostanols	136

Sigles et abréviations

ABCG5/G8, ATP binding cassette protein G5/G8
 ACAT, acyl coenzyme A : cholesterol acyl transferase
 Apolipoprotéine E, ApoE
 CETP, cholesteryl ester transfer protein
 CRP, protein reactive P
 CSHPF, conseil supérieur d'hygiène publique de France
 CV, cardiovasculaire
 EAS, european atherosclerosis society
 GNPD, Global New Product Database
 HDL, high density lipoprotein
 ICAM, intercellular adhesion molecule
 IL-6, interleukine 6
 LDL-C, low density lipoprotein
 MCP-1, Monocyte chemoattractant protein-1
 NPC1L1, Niemann Pick Disease C1 like1
 SCF, scientific committee on food
 VCAM-1, vascular cell adhesion molecule 1

Liste des tableaux

Tableau 1. Teneur en phytostérols (somme du β -sitostérol, campestérol, stigmastérol, β -sitostanol et campestanol) d'une sélection d'aliments (tiré de (Ellegard <i>et al.</i> , 2007)).....	16
Tableau 2. Marqueurs d'absorption et de synthèse du cholestérol.....	19
Tableau 3. Variabilité individuelle de la réponse LDL aux phytostérols ou phytostanols alimentaires : mutation de l'Apo E.....	28
Tableau 4. Protocoles expérimentaux des études sur l'influence du polymorphisme sur la réponse aux phytostérols/stanols.	29
Tableau 5. Etudes chez l'homme sur les phytostérols et l'athérome	37
Tableau 6. Etudes d'intervention rapportant les effets d'aliments enrichis en phytostérols/stanols sur les concentrations en vitamines liposolubles et caroténoïdes précurseurs de la vitamine A.	44
Tableau 7. Concentrations en phytostérols et phytostanols selon le statut physiologique des sujets et leur niveau de consommation	48
Tableau 8. Etudes cas-témoins mettant en évidence une association positive entre taux plasmatiques de phytostérols et risque cardiovasculaire.....	50
Tableau 9. Etudes de cohorte mettant en évidence une association positive entre taux plasmatiques de phytostérols et risque cardiovasculaire.....	51
Tableau 10. Etudes anatomo-biologiques associant teneur en phytostérols plasmatiques et tissulaires	52
Tableau 11. Etudes cas-témoins ne mettant pas en évidence d'association entre taux plasmatiques de phytostérols et risque cardiovasculaire.....	54
Tableau 12. Etudes mettant en évidence une association négative entre taux plasmatiques de phytostérols et risque cardiovasculaire	56
Tableau 13. Etudes des effets des aliments enrichis en phytostérols/stanols chez les enfants.....	64
Tableau 14. Concentrations plasmatiques de sitostérol et de campestérol chez les sujets hétérozygotes et les sujets non porteurs de la mutation.....	67
Tableau 15. Estimation des concentrations plasmatiques en phytostérols et en phytostanols chez les sujets traités par statines d'après de Jong <i>et al.</i> (2008c).....	71
Tableau 16. Fréquence des produits contenant des phytostérols par secteur et famille Oqali	75
Tableau 17. Teneurs en phytostérols des produits sur le marché français (Source Oqali)	75
Tableau 18. Apports quotidiens totaux en phytostérols et en phytostanols (en mg/j/pers) par tranche d'âge, chez les adultes non-consommateurs d'aliments enrichis (n = 2554).....	76

Tableau 19. Apports quotidiens totaux en phytostérols et en phytostanols (en mg/j/pers) par tranche d'âge, chez les adultes consommateurs d'aliments enrichis (n = 70)	77
Tableau 20. Apports quotidiens totaux en phytostérols et en phytostanols (en mg/j/pers), chez les enfants non-consommateurs d'aliments enrichis (n = 1445).....	78
Tableau 21. Apports quotidiens totaux en phytostérols et en phytostanols (en mg/j/pers), chez les enfants consommateurs d'aliments enrichis (n = 10)	78
Tableau 22. Répartition par sexe des consommateurs et des non-consommateurs d'aliments enrichis en phytostérols et/ou phytostanols, chez les enfants 3-17 ans* (n = 1455).....	79
Tableau 23. Répartition par tranche d'âge et par sexe des consommateurs et des non-consommateurs d'aliments enrichis en phytostérols et/ou phytostanols, chez les adultes 18-79 ans (n = 2624).....	79
Tableau 24. Fréquence de consommation quotidienne de portions d'aliments enrichis en phytostérols et/ou phytostanols et fréquence de consommation hebdomadaire d'aliments enrichis en phytostérols et/ou phytostanols différents chez les consommateurs d'aliments enrichis (n = 80)	80
Tableau 25 : Liste des secteurs ayant déjà fait l'objet d'au moins un suivi par l'Oqali	131
Tableau 26. Composition en phytostérols/stanols des aliments enrichis en ces composés et disponibles sur le marché français lors de l'étude INCA2. Chaque ligne correspond à une marque et/ou produit différent.	135
Tableau 27. Aliments vecteurs de phytostérols totaux (en mg/j/pers), chez les enfants consommateurs et non-consommateurs d'aliments enrichis (n = 1455).....	136
Tableau 28. Aliments vecteurs de phytostérols totaux (en mg/j/pers), chez les adultes consommateurs et non-consommateurs d'aliments enrichis (n = 2624).....	137
Tableau 29. Aliments vecteurs de phytostanols totaux (en mg/j/pers), chez les enfants consommateurs et non-consommateurs d'aliments enrichis (n = 1455).....	138
Tableau 30. Aliments vecteurs de phytostanols totaux (en mg/j/pers), chez les adultes consommateurs et non-consommateurs d'aliments enrichis (n = 2624).....	138

Liste des figures

Figure 1. Mécanismes d'absorption du cholestérol. Adapté de Plat and Mensink, 2005.....	17
Figure 2. Variabilité de réponse du LDL-C après ingestion de phytostérols (n=56 sujets) adaptée de Rideout et al., 2012	24

1. Contexte, objet et modalité de traitement de la saisine

1.1 Contexte et objet de la saisine

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa²) a été saisie le vendredi 15 janvier 2010 par l'UFC – QUE CHOISIR d'une demande d'avis relatif à l'évaluation du risque et du bénéfice liés à la consommation de produits alimentaires enrichis en phytostérols ou en phytostanols.

La question du risque repose sur quelques études scientifiques montrant une augmentation de la concentration plasmatique en phytostérols suite à l'ingestion de ces produits (Fransen *et al.*, 2007) et par ailleurs sur d'autres études associant teneurs plasmatiques élevées en phytostérols et augmentation du risque cardiovasculaire (Assmann *et al.*, 2006).

L'UFC – Que choisir s'inquiète également au sujet des personnes atteintes de sitostérolémie chez qui l'augmentation de l'absorption des phytostérols et des phytostanols entraîne des concentrations anormalement élevées dans le sang et les tissus, entraînant des xanthes et un développement d'athérosclérose prématuré. Chez ces sujets, la consommation de produits enrichis en phytostérols ou phytostanols est dangereuse. L'association s'interroge de ce fait sur la nécessité d'une mention spécifique à ce sujet, qui pourrait être apposée sur l'emballage de ces produits.

En ce qui concerne la question de l'efficacité, l'association s'interroge sur l'existence d'études démontrant un lien direct entre consommation d'aliments enrichis en phytostérols ou phytostanols et risque cardiovasculaire. En effet, l'autorité européenne de sécurité alimentaire (Efsa) a autorisé des allégations associant une 1^{ère} phrase indiquant que les phytostérols ou les phytostanols diminuent le cholestérol sanguin et une 2^{ème} indiquant que réduire le cholestérol sanguin peut réduire le risque de maladies coronariennes. L'UFC – Que choisir considère que ces allégations peuvent laisser penser au consommateur que ces produits diminuent le risque cardiovasculaire et se demande si des études le démontrent explicitement. Dans le cas d'une insuffisance d'éléments de démonstration, l'association s'interroge sur la nécessité de revoir les mentions d'étiquetage des produits enrichis en phytostérols ou phytostanols.

1.2 Evaluations antérieures

L'introduction sur le marché des aliments enrichis en phytostérols et phytostanols s'est faite dans le cadre de la procédure relative aux nouveaux aliments (Règlement CE N°258/97) et a conduit à des évaluations européennes et françaises de la sécurité de ces aliments.

1.2.1 Evaluations européennes

Le comité scientifique de l'alimentation (SCF) a évalué une première fois en 2000 le risque lié à l'adjonction d'un mélange spécifique d'esters de phytostérols à des aliments dans le cadre du règlement N° 258/97 encadrant la mise sur le marché des nouveaux aliments (SCF, 2000). Cet avis a notamment porté sur les données toxicologiques fournies dans le dossier : toxicologie subchronique, génotoxicité, toxicité de reproduction, activité estrogénique potentielle et quelques études humaines. Ces données n'évoquent pas de problème majeur lié à la consommation du mélange évalué dans le dossier, lorsqu'il est apporté à une teneur maximale de 8 % de phytostérols libres dans le produit (SCF, 2000). Par la suite, le SCF a rendu un avis de portée générale concluant à une absence de toxicité des phytostanols et à un effet similaire des phytostanols et des phytostérols sur la baisse des concentrations plasmatiques de LDL-C. Le SCF a également estimé que les données ne permettent pas de définir une limite maximale d'apport de phytostérols. Cependant, considérant les niveaux d'apport efficaces des phytostérols/stanols, considérant qu'au-delà de ces niveaux, aucun bénéfice supplémentaire n'est observé et considérant que les apports élevés pourraient induire des effets indésirables, le SCF a estimé prudent d'éviter des apports en

²L'Afssa et l'Afsset (Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail) ont depuis fusionné pour former l'Anses, l'agence nationale de sécurité sanitaire.

phytostérols supérieurs à 1-3 g/j. Le SCF a également souligné la nécessité de mesures de gestion appropriées pour éviter le cumul des apports par le biais de différents aliments enrichis (SCF, 2002a). Plusieurs autres avis ont été rendus dans le cadre de la procédure relative aux nouveaux aliments pour des adjonctions de mélanges de phytostérols et/ou de phytostanols à de nombreux vecteurs entre 2000 et 2007, sous forme estérifiée ou libre (SCF, 2000, SCF, 2002a, SCF, 2002b, SCF, 2003c, SCF, 2003b, SCF, 2003a, NDA, 2003, NDA, 2006, NDA, 2007). Des éléments de risque ou réserves ont toutefois été évoqués :

- les sujets phytostérolémiques doivent être informés de la présence de phytostérols afin d'éviter de consommer les produits en contenant ;
- les patients sous hypocholestérolémiants ne devraient consommer le produit que sous surveillance médicale ;
- la consommation de phytostérols et de phytostanols interfère avec l'absorption des caroténoïdes. La diminution des caroténoïdes plasmatiques semble atteindre un plateau pour des doses de 2,2 g/j. Une baisse de 33 % a été observée après un an de consommation d'une margarine apportant 3 g/j (SCF, 2002a). Le SCF estime que ce risque doit être communiqué au consommateur (risque particulier pour les femmes enceintes, les femmes allaitantes et les enfants) et que la consommation de fruits et légumes doit être conseillée.

En 2005, l'autorité européenne de sécurité des aliments, Efsa, a été saisie par la Commission Européenne (à la demande des autorités allemandes) suite à la parution de deux articles jugés comme susceptibles de faire évoluer les conclusions des précédents avis. Le premier article (Miettinen *et al.*, 2000) concerne la prise simultanée de statines et de phytostanols, le second (Sudhop *et al.*, 2002a) développe l'hypothèse qu'une concentration plasmatique en phytostérols élevée pourrait être un facteur de risque cardiovasculaire. L'Efsa a considéré que le 1^{er} article allait dans le sens de sa conclusion sur les effets additionnels des phytostérols chez les sujets hypercholestérolémiques ; pour le 2nd, elle a considéré que les éléments évoqués sont intégrés dans la conclusion de l'avis du SCF de 2002 (SCF, 2002a). En effet le SCF avait estimé que, même si les études disponibles ne montraient pas d'effet délétère d'une petite augmentation de phytostérols plasmatiques, plus d'information était nécessaire sur les effets d'une exposition à long terme à des apports élevés de phytostérols.

Par la suite, l'Efsa a évalué le bien fondé des allégations portant sur les phytostérols et phytostanols, dans le cadre du règlement (CE) N°1924/2006, article 14 (NDA, 2009a, NDA, 2009b, NDA, 2008a, NDA, 2008b). L'Efsa a considéré que les termes suivants reflètent les preuves scientifiques disponibles :

- "Plant sterols have been shown to lower/reduce blood cholesterol. Blood cholesterol lowering may reduce the risk of coronary heart disease";
- "Plant stanol esters have been shown to lower/reduce blood cholesterol. Blood cholesterol lowering may reduce the risk of coronary heart disease";
- "Phytosterols have been shown to lower/reduce blood cholesterol. High blood cholesterol is a risk factor in the development of coronary heart disease".

Dans ces avis, l'Efsa a également indiqué qu'un apport quotidien de phytostérols ou de phytostanols de 1,5 à 2,4 g, peut induire une baisse de LDL-C de 7 à 10,5 %. L'Efsa a considéré que cette diminution revêt une signification biologique en termes de réduction du risque de maladie coronarienne. La baisse de LDL-C est habituellement observée après 2 à 3 semaines et peut être maintenue par la consommation de phytostérols ou de phytostanols. Cet effet a été observé jusqu'à 85 semaines. Enfin, l'Efsa a indiqué que l'efficacité des phytostérols ou de phytostanols est bien établie sur les aliments de type margarine, mayonnaise, assaisonnement, et produits laitiers (lait, yaourt et fromage) mais qu'elle est moins bien établie dans les autres vecteurs (NDA, 2009b). En 2012, un pétitionnaire a demandé une extension des conditions d'utilisation de l'allégation : les apports de 1,5-3,0 g/j des phytostérols ou de phytostanols induisent une baisse du LDL-C de 7-12 % après une à deux semaines de consommation. Sur la base des études disponibles, l'Efsa a conclu que la consommation de phytostérols ou de phytostanols apportés jusqu'à 3 g/j (fourchette de 2,6 à 3,4 g/j) induit une baisse similaire du LDL-C de l'ordre de 11,3 % et que la durée minimale de consommation pour atteindre l'effet maximal est de 2 à 3 semaines (NDA, 2012).

1.2.2 Evaluations françaises

En 1999, le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France (CSHPF) a rendu un 1^{er} avis sur un aliment enrichi en phytostérols (CSHPF, 1999). Dans cet avis, le CSHPF considérait que l'enrichissement d'aliments en phytostérols pouvait présenter un intérêt pour les sujets hypercholestérolémiques. Cependant, il jugeait non opportun que des sujets hypo- ou normocholestérolémiques, à risque cardiovasculaire bas, consomment ces produits. Le CSHPF demandait également que la preuve de l'innocuité à très long terme de cet enrichissement soit apportée, en établissant la réalité d'un bénéfice cardiovasculaire.

Par la suite, de nombreux avis ont été rendus sur des produits alimentaires variés enrichis en différents mélanges de phytostérols ou de phytostanols.

En 2002, l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (Afssa) a déconseillé la consommation des aliments enrichis en phytostérols aux femmes enceintes et allaitantes et aux enfants, par manque de données de sécurité à long terme dans ces populations (Afssa, 2002). Elle a mis en garde contre le risque de surconsommation liée à la multiplication des aliments enrichis et a demandé aux industriels un suivi de consommation. Il a également été indiqué que la dose efficace de phytostérols pour obtenir la baisse de la concentration plasmatique en LDL-C est d'environ 2 g/j, toutes sources confondues.

En 2003, l'Afssa recommande qu'une mention relative à l'importance de la consommation de fruits et légumes pour pallier la baisse des concentrations plasmatiques de β -carotène, apparaisse sur l'étiquetage des produits enrichis en phytostérols (Afssa, 2003).

En 2005, l'Afssa a rappelé que les effets à long terme d'un apport élevé de phytostérols, compte tenu du cumul de doses, étaient encore mal connus et a recommandé un suivi médical en cas d'utilisation prolongée (Afssa, 2005).

1.3 Réglementations

Une première décision d'autorisation de mise sur le marché d'un aliment riche en esters de phytostérols a été rendue le 24 juillet 2000, dans le cadre du règlement N°258/97 encadrant la mise sur le marché des nouveaux-aliments. Il s'agissait d'une matière grasse à tartiner (décision 2000/500/CE). S'en sont suivies 10 décisions d'autorisation de mise sur le marché³ pour d'autres aliments vecteurs : autres matières grasses à tartiner, boissons à base de lait, assaisonnement pour salade, boisson à base de soja, produits de type fromage, de type yaourt, pain de seigle, etc.

Le règlement (CE) 608/2004 de la Commission européenne prévoit des mentions d'étiquetage, notamment doivent figurer :

- une mention précisant que le produit contient des stérols végétaux/stanols végétaux ajoutés;
- la teneur en phytostérols (stanols) du produit ;
- une mention indiquant que le « produit est destiné exclusivement aux personnes souhaitant abaisser leur cholestérolémie » ;
- une mention indiquant que « les patients sous hypocholestérolémiants sont invités à ne consommer le produit que sous contrôle médical » ;
- une mise en garde pour enfants et femmes enceintes : « le produit peut ne pas convenir, du point de vue nutritionnel, aux femmes enceintes et allaitantes et aux enfants âgés de moins de cinq ans » ;
- une mention recommandant un régime équilibré et varié comprenant une consommation régulière de fruits et légumes en vue de maintenir les niveaux de caroténoïdes ;
- une mention précisant qu'il convient d'éviter de consommer plus de 3 g/j de stérols végétaux/ stanols végétaux ajoutés ;
- une définition d'une portion de l'aliment ou de l'ingrédient alimentaire concerné (de préférence en grammes ou en millilitres), avec indication de la quantité de stérols végétaux/stanols végétaux que contient chaque portion.

Le nouveau règlement (UE) N°1169/2011 concernant l'information des consommateurs sur les denrées alimentaires, reprend ces mentions d'étiquetage en apportant une modification, via le règlement délégué N°78/2014 du 22 novembre 2013, sur le 3^{ème} point : la mention concernant la population cible sera libellée comme suit : « il est signalé que le produit n'est pas destiné aux personnes qui n'ont pas besoin de contrôler leur taux de cholestérol sanguin. ».

En ce qui concerne les allégations, le règlement (UE) N°384/2010 du 5 mai 2010 entérine l'allégation proposée par l'Efsa « Il a été démontré que les stérols végétaux et les esters de stanols végétaux abaissaient/réduisaient le cholestérol sanguin. Une cholestérolémie élevée constitue un facteur de risque de développement d'une maladie cardiaque coronarienne » dans la mesure où le consommateur est informé que l'effet bénéfique est obtenu par la consommation journalière de 1,5 à 2,4 g de stérols/stanols végétaux.

³ Décisions 2008/36/CE, 2007/343/CE, 2006/58/CE, 2006/59/CE, 2007/343/CE, 2004/845/CE, 2004/336/CE, 2004/335/CE, 2004/334/CE, 2004/333/CE

1.4 Modalités de traitement

L'expertise collective a été réalisée par le comité d'experts spécialisé (CES) « nutrition humaine » sur la base d'un travail porté par un groupe de 7 rapporteurs. L'expertise de ces rapporteurs s'est appuyée sur une analyse bibliographique préliminaire. Celle-ci a fait l'objet d'un examen critique par les rapporteurs et a été enrichie et actualisée par la coordination scientifique de l'Agence. Le rapport a été discuté par le CES « Nutrition Humaine » entre le 21 février 2013 et le 7 mars 2014, tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques. Le rapport final intégrant les conclusions du CES a été adopté par le CES « Nutrition Humaine », à l'exception de 3 experts qui n'ont pas participé à la validation du rapport suite à l'analyse de leur déclaration publique d'intérêt.

L'analyse du marché français des produits enrichis en phytostérols a été réalisée par l'Unité « Observatoire de la qualité nutritionnelle des aliments (Ciqual-Oqali) », à l'aide de la base de données de l'Oqali⁴, qui constitue la "section nutritionnelle chargée des questions relatives à l'offre et aux caractéristiques des aliments" de l'Observatoire de l'Alimentation.

L'expertise relative aux données de consommation des phytostérols et phytostanols a été réalisée sur la base des données de l'enquête INCA 2, réalisée par l'Unité Observatoire des Consommations Alimentaires (UOCA) de l'Anses, et de données de composition des aliments courants (base CIQUAL) collectées par l'unité « Observatoire de la qualité nutritionnelle des aliments » Ciqual-Oqali de l'Anses.

Afin de répondre à la question posée, les points suivants ont notamment été abordés par les rapporteurs :

Aspects généraux :

- Absorption et métabolisme des phytostérols/stanols
- Niveau de consommation des phytostérols/stanols dans la population française, par l'alimentation courante et par les aliments enrichis.

Questions relatives à l'efficacité :

- La baisse du LDL-C est-elle présente sur le long terme ?
- La variabilité individuelle est-elle forte ? Peut-on quantifier la proportion d'individus pour lesquels les phytostérols ne baisseront pas le LDL-C ?
- La diminution attendue du risque cardiovasculaire par les phytostérols/stanols est une projection de ce qui a été observé avec des médicaments hypolipémiants (statines) dont le mécanisme d'action est différent. La diminution du LDL-C par les phytostérols/stanols est-elle associée à une diminution du risque cardiovasculaire? Si oui, de quelle ampleur ?
- Les phytostérols/stanols sont-ils efficaces chez les enfants ?

Questions relatives au risque :

- Quels sont les risques toxicologiques ?
- Quels sont les risques liés à une diminution de l'absorption des vitamines liposolubles (β -carotène), notamment à long terme ?
- Quels sont les risques liés à une phytostérolémie élevée ?
- Quels sont les risques d'interactions médicamenteuses ?
- Quels sont les risques pour les enfants, femmes enceintes et allaitantes ?
- Quels sont les risques pour les sujets sitostérolémiques ?

Le groupe s'est appuyé sur les études scientifiques réalisées chez l'homme ainsi que celles réalisées sur des modèles animaux et publiées avant 2013.

Par ailleurs, les rapporteurs ont auditionné les industriels commercialisant des aliments enrichis en phytostérols ou phytostanols ou fournisseurs d'ingrédients à base de phytostérols ou phytostanols.

En ce qui concerne l'analyse bibliographique, une première recherche a été réalisée fin 2010 dans Pubmed et Scopus en croisant les mots-clés relatifs aux phytostérols et phytostanols et relatifs aux effets à long terme sur le LDL-C, au risque cardiovasculaire, à la phytostérolémie, à différents polymorphismes génétiques, aux interactions médicamenteuses, à la toxicologie, au β -carotène et aux vitamines liposolubles, à la consommation ainsi qu'aux enfants et femmes enceintes et allaitantes. Environ 1200 articles sont ressortis de cette première approche, dont environ 500 ont été retenus car ils étaient en lien avec la problématique générale étudiée. Une seconde recherche sur les phytostérols et les phytostanols a été réalisée fin 2012 dans Pubmed et Scopus sur la période 2010-2012 afin de compléter la précédente

⁴ <http://www.oqali.fr/oqali/>

recherche. Environ 150 articles sont ressortis de cette recherche dont 117 étaient pertinents pour notre analyse. Ce fonds documentaire a été mis à la disposition des experts pour procéder à leur analyse bibliographique et a été enrichi par les références identifiées par les experts dans le cadre de leurs recherches bibliographiques spécifiques sur les questions attribuées.

Dans le présent rapport, le terme phytostérols/stanols est utilisé lorsque les données présentées se réfèrent de façon indifférenciée aux phytostérols et aux phytostanols. Les données sont cependant plus nombreuses pour les phytostérols.

2. Nature, sources des phytostérols et des phytostanols et effets métaboliques

Les phytostérols ou stérols végétaux sont des composés naturels présents dans les plantes, notamment les graines et les oléagineux. Ils ont une structure similaire à celle du cholestérol mais diffèrent par leur chaîne latérale en C24 et/ou la position et la configuration des doubles liaisons. Les phytostanols sont issus de l'hydrogénation des phytostérols.

Ces composés entrent en compétition avec l'absorption du cholestérol au niveau intestinal et induisent une diminution du LDL-C de 5 à 15 %.

L'effet hypocholestérolémiant des phytostérols est connu depuis 1951 et le β -sitostérol a été introduit comme substance thérapeutique hypolipémiante par la société Eli Lilly en 1957. Sa faible solubilité aqueuse et sa faible absorption en ont fait un composé oublié puis abandonné. L'estérification des phytostérols et des phytostanols a amélioré leur solubilité ce qui a conduit à un regain d'intérêt pour ces molécules utilisées dans des aliments à vocation santé.

2.1 Nature et sources

Environ 44 phytostérols sont actuellement identifiés. Les plus abondants dans l'alimentation sont le sitostérol, le campestérol, le brassicastérol, le stigmastérol, l'avenastérol. Les phytostérols peuvent se retrouver sous forme hydrogénée, naturellement ou artificiellement, au niveau de la double liaison $\Delta 5$ sur le cycle B. Ces formes constituent alors les stanols correspondants comme le sitostanol ou le campéstanol, par exemple.

Les phytostérols sont présents dans les fractions riches en fibres et en lipides des végétaux. Les sources principales sont les noix, les graines oléagineuses, le beurre de cacao, les légumineuses, les céréales, et les huiles non raffinées issues des plantes oléagineuses. On en trouve aussi en petite quantité dans les légumes et les fruits. Les graines de sésame et le germe de blé sont parmi les plus riches (Tableau 1) (Ellegard *et al.*, 2007, Ostlund *et al.*, 2002b, Phillips *et al.*, 2005, Ryan *et al.*, 2007). On trouve aussi naturellement des phytostanols dans certaines céréales (riz, maïs, blé) et dans des produits végétaux notamment le bois des conifères, le pin et l'épicéa, dont l'huile peut être obtenue lors de l'utilisation du bois pour la production du papier.

Dans la nature, les phytostérols peuvent être libres, estérifiés en position 3 avec des acides gras ou avec l'acide férulique, glycosylés ou glycosylés-estérifiés. Les 2 dernières classes ne sont pas mesurées par les méthodes analytiques qui n'incluent pas une hydrolyse acide clivant cette liaison ou par les méthodes d'analyse directe des glycosides intacts, de sorte que l'exclusion des dérivés glycosylés sous-estime le contenu total en phytostérols jusqu'à 37 % (Phillips *et al.*, 2005). De plus, l'analyse des phytostérols principaux exclut des stérols mineurs (Phillips *et al.*, 2005). On ne sait pas dans quelle mesure les phytostérols glycosylés sont actifs chez l'homme, car ils ne sont pas hydrolysés par les enzymes pancréatiques *in vitro* (Ostlund et Lin, 2006).

Tableau 1. Teneur en phytostérols (somme du β -sitostérol, campestérol, stigmastérol, β -sitostanol et campestanol) d'une sélection d'aliments (tiré de (Ellegard *et al.*, 2007)).

Aliments	Teneur en phytostérols (mg/100 g de produit consommable)
<u>Fruits et légumes</u>	
Brocolis congelés	44
petits pois, congelés	25
Orange	24
Pomme	13
Concombre	6
Tomate	5
<u>Céréales</u>	
Germe de blé	553
Son de blé	200
Pain suédois	89
Pain complet	53
Flocons d'avoine	39
Pain complet	29
<u>Graines oléagineuses</u>	
Amande	266
Maïs	968
Sésame	865
<u>Matières grasses et huiles</u>	
Huile de maïs	912
Huile de colza	668
Margarine liquide	522
Huile de tournesol	213
Beurre à tartiner	153
Huile d'olive	154

2.2 Métabolisme des stérols

2.2.1 Absorption intestinale des phytostérols et des phytostanols et interaction avec le métabolisme du cholestérol

Dans la lumière intestinale, le cholestérol libre et les phytostérols sont incorporés au sein de micelles contenant également les acides gras libres issus du bol alimentaire, grâce à l'action des sels biliaires. Ces micelles ainsi constituées transportent les lipides alimentaires vers les entérocytes de la paroi intestinale où a lieu leur absorption. Les phytostérols entrent en compétition avec le cholestérol libre lors de la formation des micelles, mais avec une affinité supérieure. Cela a pour conséquence le déplacement du cholestérol des micelles vers la lumière intestinale. Le cholestérol libre non incorporé au sein des micelles est éliminé par voie fécale. Cette diminution du cholestérol libre au sein des micelles se traduit par une réduction de l'absorption du cholestérol libre au niveau des entérocytes (Plat et Mensink, 2005) (**Figure 1**).

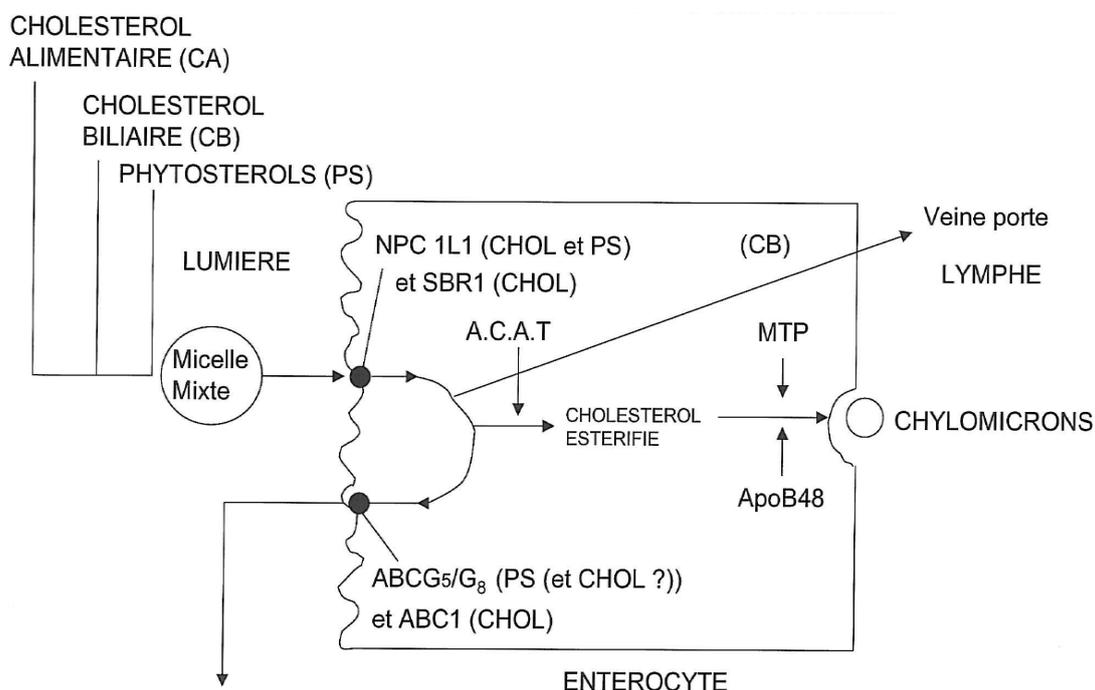


Figure 1. Mécanismes d'absorption du cholestérol. Adapté de Plat and Mensink, 2005.

L'absorption du cholestérol est réduite en moyenne de 42 % avec le sitostérol (Mattson *et al.*, 1982) ce qui mime l'effet d'un déficit en cholestérol hépatique. En conséquence on observe une augmentation de l'expression des récepteurs hépatiques aux LDL, une augmentation de leur captation hépatique et une diminution de leur concentration plasmatique *in fine*. De façon compensatoire une augmentation de la synthèse de cholestérol a lieu : la synthèse corps entier du cholestérol (mesurée par incorporation d'eau marquée au deutérium dans le cholestérol) augmente de 38 à 53 % (Jones *et al.*, 2000).

Par ailleurs, d'autres mécanismes seraient susceptibles d'expliquer la réduction d'absorption du cholestérol libre sous l'effet des phytostérols. En effet, il a été montré chez l'animal que les phytostérols réduisaient l'activité enzymatique de l'ACAT2 (Acyl coenzyme A : Cholesterol Acyl Transferase 2) (Field et Mathur, 1983), étape clé du métabolisme du cholestérol permettant son estérification entérocytaire puis son incorporation dans les chylomicrons et son exportation. En conséquence l'absorption nette du cholestérol alimentaire s'en trouve réduite.

Les phytostérols et les phytostanols sont absorbés dans l'entérocyte grâce au transporteur NPC1L1 (Niemann Pick Disease C1 like1) qui est aussi en charge de l'absorption du cholestérol libre. Cependant, les phytostérols et les phytostanols sont très rapidement redirigés vers la lumière intestinale grâce à l'action des transporteurs ABCG5 et ABCG8. Ainsi l'absorption totale des phytostérols et des phytostanols est extrêmement faible. Différentes études ont formulé l'hypothèse que les phytostérols et les phytostanols

pourraient influencer le fonctionnement de ces transporteurs mais leurs résultats ne permettent pas de conclure (pour revue voir (De Smet *et al.*, 2012)).

Le cholestérol non micellisé n'est pas absorbé. Il est catabolisé en coprostanol par le microbiote intestinal et éliminé dans les fèces avec les phytostérols non absorbés et ceux rejetés hors de l'entérocyte.

2.2.2 Concentrations plasmatiques de phytostérols et de phytostanols

L'absorption systémique nette des phytostanols est plus faible que celle des phytostérols correspondants (par ex. 0,04 % pour le sitostanol et 0,8 % pour le sitostérol ; 0,16 % pour le campestanol et 1,9 % pour le campestérol) (Ostlund *et al.*, 2002a, Ling et Jones, 1995). La demi-vie plasmatique des phytostanols est également plus courte que celle des phytostérols (sitostanol : 1,84 jours et sitostérol : 2,94 jours ; campestanol : 1,69 jours et campestérol : 4,06 jours). Ces différences d'absorption et de turn-over expliquent des concentrations de phytostanols 15 à 30 fois plus basses que celles des phytostérols (3 à 16 $\mu\text{mol/L}$ de β -sitostérol et 7 à 28 $\mu\text{mol/L}$ de campestérol), elles-mêmes 200 fois plus faibles que celles du cholestérol.

Les concentrations plasmatiques de phytostérols sont modulées par les apports alimentaires en phytostérols. Elles augmentent chez l'adulte de 52 à 99 % pour le campestérol et de 23 à 96 % pour le sitostérol avec une supplémentation de 1,8 à 2,0 g/j de phytostérols pendant 4-8 semaines (Chan *et al.*, 2006), et chez l'enfant de 75 et 44 % respectivement avec un apport double de l'apport standard (Tammi *et al.*, 2001).

L'ingestion de phytostanols (de 1,5 à 3,0 g/j pendant 4 semaines) entraîne une augmentation des concentrations plasmatiques de sitostanol (+171 %) et de campestanol (+169 %) (Fransen *et al.*, 2007) tout en réduisant la concentration plasmatique des phytostérols : de -28 à -113 % pour le campestérol et de 24 à 50 % pour le sitostérol (Chan *et al.*, 2006). Une récente méta-analyse rapporte toutefois des pourcentages d'augmentation moindre (Ras *et al.*, 2013). Pour plus de détails, voir 3.4.1.

Le syndrome métabolique, l'obésité, le diabète de type 2 avec insulino-résistance, le diabète de type 1 sont associés à une diminution de l'absorption des phytostérols : ceci serait lié à l'augmentation de l'expression du gène ABCA1 impliqué dans l'excrétion biliaire des stérols en cas d'insulinopénie ou d'insulino-résistance (Chan *et al.*, 2006). L'effet du diabète sur le métabolisme et les concentrations de phytostérols est encore discuté.

Plusieurs études animales rapportent une accumulation de phytostérols et de phytostanols dans différents tissus tels que les glandes surrénales, les ovaires, le tissu intestinal, le foie, les poumons, la rate et la moelle osseuse (Sanders *et al.*, 2000, Subbiah et Kuksis, 1973). Ils peuvent également passer la barrière hémato-encéphalique lorsqu'ils sont en quantité très élevée (comme dans le cas de la souris déficiente en ABCG5/G8 ou en apoE, ou du lapin Watanabe) et ainsi s'accumuler dans le cerveau et y exercer des effets spécifiques pour chaque type cellulaire (Jansen *et al.*, 2006, Fricke *et al.*, 2007, Weingärtner *et al.*, 2011).

2.2.3 Absorbants et synthétiseurs de cholestérol

Dans l'organisme, l'absorption et la synthèse du cholestérol sont en équilibre complexe pour maintenir l'homéostasie du cholestérol et assurer ainsi les fonctions qu'il remplit. L'absorption du cholestérol est régulée par de très nombreux systèmes et récepteurs permettant une redondance des mécanismes. De même sa synthèse, surtout sa synthèse hépatique, est finement régulée afin de maintenir constante la concentration plasmatique en cholestérol malgré des apports alimentaires variables.

La synthèse et l'absorption du cholestérol prennent des proportions différentes selon les individus et les apports alimentaires, notamment. L'absorption du cholestérol peut en effet varier de 29 à 80 % d'un individu à l'autre (Bosner *et al.*, 1999). On distingue les sujets hyperabsorbants des sujets hypersynthétiseurs de cholestérol. Les sujets hyperabsorbants de cholestérol absorbent également mieux les phytostérols que les sujets hypersynthétiseurs (pour revue, (Lecerf, 2007)).

Ainsi, la réduction du LDL-C plasmatique par les phytostérols est plus efficace chez les sujets hyperabsorbants, d'autant plus qu'ils sont de faibles synthétiseurs de cholestérol (Rideout *et al.*, 2010) (pour revue, (Lecerf, 2007)), voir également le paragraphe 3.1.2.3).

L'absorption et la synthèse du cholestérol sont le plus souvent estimées chez l'homme par des méthodes indirectes, basées sur la mesure des concentrations plasmatiques de marqueurs (Tableau 2), mais des techniques directes basées sur des traceurs existent également. Parmi les marqueurs de l'absorption du cholestérol, on trouve des phytostérols (β -sitostérol et campestérol le plus souvent) et le cholestanol. Très peu présent dans les aliments, le cholestanol est le marqueur d'absorption du cholestérol le plus fiable (Miettinen *et al.*, 1989), puisqu'il n'est pas influencé par les apports alimentaires, contrairement aux phytostérols (Ostlund *et al.*, 2002b, Nissinen *et al.*, 2008). La synthèse du cholestérol est estimée à partir

des concentrations plasmatiques en desmostérol ou en lathostérol, deux précurseurs directs du cholestérol (Kempen *et al.*, 1988).

Tableau 2. Marqueurs d'absorption et de synthèse du cholestérol

	Molécule	Nature
Marqueurs d'absorption	β -sitostérol	Phytostérol alimentaire
	campestérol	Phytostérol alimentaire
	cholestanol	Métabolite du cholestérol
Marqueurs de synthèse	desmostérol	Précurseurs direct de synthèse du cholestérol
	lathostérol	Précurseurs direct de synthèse du cholestérol

Les valeurs sériques des marqueurs sont généralement rapportées à la cholestérolémie, mesurée au cours d'une même analyse, afin de s'affranchir des variations inter- et intra-individuelles du taux de cholestérol. Cependant, aucun consensus n'existe sur l'utilisation de ces marqueurs. Les variations méthodologiques entre les laboratoires peuvent être importantes (choix du marqueur, méthode d'analyse, unité d'expression, ratio ou non, etc.).

Ainsi, la concentration plasmatique de phytostérols résulte à la fois de la quantité de phytostérols ingérés et de la capacité d'absorption des stérols, cette dernière étant très variable selon les sujets.

3. Quels sont les effets des phytostérols et des phytostanols sur le risque cardiovasculaire ?

3.1 Quels sont les effets des phytostérols et phytostanols sur le LDL-C ?

3.1.1 La baisse du LDL-C se maintient-elle à long terme ?

Dans un avis récent, l'Efsa conclut que la consommation de phytostérols ou de phytostanols apportés jusqu'à 3 g/j (fourchette de 2,6 à 3,4 g/j) induit une baisse similaire du LDL-C de l'ordre de 11,3 % (NDA, 2012). Cependant, la plupart des études à partir desquelles l'expertise a été réalisée sont de courte durée, de l'ordre de 3 à 6 semaines. Les résultats obtenus sur des durées plus longues sont rares. On peut cependant s'appuyer sur quelques études cliniques randomisées, sur les essais d'intervention nutritionnelle et sur les études d'observation pour préciser l'effet de ces composés sur la cholestérolémie sur le long terme.

3.1.1.1 Etudes cliniques randomisées

Parmi les études cliniques évaluant les effets à long terme des phytostérols et des phytostanols, une porte sur les phytostanols, deux sur les phytostérols et 4 comparent les effets des deux.

Une étude randomisée en double aveugle a été réalisée chez 153 sujets souffrant d'hypercholestérolémie modérée (Miettinen *et al.*, 1995). Après 6 semaines de consommation d'une margarine dépourvue de sitostanol (margarine témoin), 51 sujets ont continué de consommer la margarine témoin (groupe 1) et 102 sujets ont consommé une margarine apportant 2,6 g/j de sitostanol pendant 6 mois. A l'issue de ces 6 mois, 51 volontaires ont continué durant 6 mois supplémentaires avec la dose de 2,6 g/j de sitostanol (groupe 2) et 51 volontaires ont consommé 1,8 g/j de sitostanol (groupe 3) et le groupe témoin a conservé la margarine dépourvue de sitostanol. Au moment de la randomisation (à l'issue de la 1^{ère} période), le LDL-C était de $4,04 \pm 0,1$ mmol/L dans le groupe témoin, $3,89 \pm 0,1$ mmol/L dans le groupe 3 et $4,04 \pm 0,1$ mmol/L dans le groupe 2. La consommation de 2,6 g/j de sitostanol a diminué le LDL-C de 10,4 % et 14,1 % au mois 6 et au mois 12 respectivement, tandis que la concentration en LDL-C du groupe témoin augmentait de 0,9 % au mois 6 et baissait de 1,1 % au mois 12. Le LDL-C était significativement différent, globalement, entre les groupes ($P < 0,001$). La diminution de la quantité consommée, de 2,6 g/j à 1,8 g/j, entre le mois 6 et le mois 12 a conduit à une stabilisation de la valeur de LDL-C ($3,48 \pm 0,08$ mmol/L au mois 6 vs $3,51 \pm 0,08$ mmol/L au mois 12) tandis que le maintien à la dose de 2,6 g/j s'est accompagné d'une diminution supplémentaire de la concentration de LDL-C ($3,58 \pm 0,1$ mmol/L au mois 6 vs $3,40 \pm 0,08$ mmol/L au mois 12). La concentration de LDL-C du groupe témoin était de $3,99 \pm 0,1$ mmol/L au mois 12. La différence entre groupes était significative à l'issue d'un an ($P < 0,001$). A l'issue de la période de 12 mois, les volontaires ont été maintenus deux mois supplémentaires dans l'étude, en consommant la margarine témoin. Les valeurs de LDL-C avaient rejoint les valeurs initiales à l'issue de cette période de 2 mois supplémentaires.

Une deuxième étude randomisée en double aveugle contre placebo a évalué la sécurité et l'efficacité de matières grasses contenant des esters de phytostérols (1,6 g/j) pendant un an chez 185 volontaires sains dont la cholestérolémie moyenne était de $5,90 \pm 0,98$ mmol/L à l'inclusion (Hendriks *et al.*, 2003). A l'issue de la période d'un an, le LDL-C était réduit significativement de 6 % par rapport au placebo.

Une troisième étude, ouverte, réalisée chez 37 enfants âgés de 7 à 13 ans, souffrant d'hypercholestérolémie familiale hétérozygote et 22 de leurs parents âgés de 32 à 51 ans a évalué l'efficacité d'une margarine apportant en moyenne 1,2 g/j (chez les enfants) et 1,5 g/j (chez les parents) de phytostérols pendant 26 semaines (Amundsen *et al.*, 2004). Cette période a été précédée d'un essai ouvert de huit semaines chez les enfants. Le LDL-C était de $5,31 \pm 1,49$ mmol/L chez les enfants et de $4,10 \pm 1,22$ mmol/L chez les parents à l'entrée dans l'étude. Il a été réduit de 11,4 % ($P < 0,001$) chez les enfants et 11 % ($P = 0,012$) chez les parents.

Parmi les études randomisées ayant envisagé des durées de traitement supérieures à 6 semaines, quelques unes ont évalué la différence entre phytostérols et phytostanols, afin de tester l'hypothèse selon laquelle, si

les deux catégories de molécules ont des effets similaires sur le court terme, les phytostanols s'avèreraient plus efficaces sur le long terme.

Une première étude (O'Neill *et al.*, 2005), incluant des sujets sains et des sujets ayant une hypercholestérolémie familiale traitée par des statines et recevant en plus des esters de phytostérols ou des esters de phytostanols, a montré que l'effet des phytostérols sur le LDL-C s'estompe à deux mois pour atteindre des valeurs non significativement différentes de celles observées à l'inclusion, tandis que l'effet des phytostanols se maintient sur cette durée.

Une seconde étude visant à comparer les effets des phytostérols et des phytostanols dans un essai randomisé (de Jong *et al.*, 2008a) a évalué l'effet de trois margarines pendant 16 semaines, une margarine témoin ($n = 11$), une margarine apportant 2,5 g/j d'esters de phytostérols ($n = 15$) et une margarine apportant 2,5 g/j d'esters de phytostanols ($n = 15$), chez des sujets traités par statines, les concentrations de LDL-C à l'inclusion étant de $3,20 \pm 0,55$ mmol/L, $3,57 \pm 1,04$ mmol/L et $3,44 \pm 0,80$ mmol/L dans les groupes témoin, phytostérols et phytostanols respectivement. Elle a conclu à une réduction significative du LDL-C dans les deux groupes phytostérols et phytostanols combinés (-10,3 %, $P = 0,028$) sans différence significative entre l'effet des phytostérols et celui des phytostanols.

La même équipe (Berendschot *et al.*, 2009) a évalué la réduction du LDL-C dans la même population de sujets traités par statine et consommant des esters de phytostérols ou de phytostanols, pendant 18 mois, dans le cadre d'une étude portant sur la densité optique pigmentaire. Les auteurs concluent à une réduction moyenne de la cholestérolémie de 6,8 % avec les phytostérols ($P = 0,005$) et de 8,8 % avec les phytostanols ($P = 0,001$), cette réduction étant majoritairement le fait du LDL-C et la différence entre phytostérols et phytostanols n'étant pas significative.

Les mêmes auteurs (de Jong *et al.*, 2008b) ont également évalué l'effet de 85 semaines de consommation d'esters de phytostérols (2,5 g/j ; $n = 18$) et d'esters de phytostanols (2,5 g/j ; $n = 19$) sous forme de margarine enrichie, par rapport à une margarine témoin non enrichie ($n = 17$). Le LDL-C à l'entrée dans l'étude était de $3,17 \pm 0,63$ mmol/L dans le groupe témoin, $3,14 \pm 0,69$ mmol/L dans le groupe phytostérols et $3,40 \pm 0,72$ mmol/L dans le groupe phytostanols. Par rapport au groupe témoins, la réduction était de 11,6 % ($P = 0,037$) après 45 semaines et de 8,7 % ($P = 0,08$) après 85 semaines de consommation d'esters de phytostérols et de 13,1 % ($P = 0,006$) après 85 semaines de consommation d'esters de phytostanols. Un sous-groupe de cette même population, inclus dans un essai destiné à évaluer l'effet des phytostérols et des phytostanols sur les vaisseaux de la rétine, a permis de comparer le LDL-C à l'issue de 85 semaines de traitement par les trois mêmes margarines ($n = 11$ margarine non enrichie, $n = 11$ margarine enrichie en phytostérols, $n = 8$ margarine enrichie en phytostanols). Par rapport à la margarine non enrichie, la margarine enrichie en phytostérols conduit à une diminution du LDL-C de 9,7 % ($P = 0,021$) et la margarine enrichie en phytostanols à une diminution de 11,2 % ($P = 0,008$). Le LDL-C a augmenté de 2,9 % dans le groupe témoin entre le début et la fin de l'étude, tandis qu'il a diminué de 9,2 % dans le groupe phytostérols et de 9,6 % dans le groupe phytostanols, l'analyse de variance comparant globalement les trois groupes pour ces variations en valeurs absolues étant significative ($P = 0,006$) (Kelly *et al.*, 2011).

3.1.1.2 Essais d'intervention nutritionnelle multifactorielle

Deux essais d'intervention nutritionnelle méritent d'être mentionnés, bien qu'ils n'évaluent pas directement l'effet de la consommation d'une catégorie précise de phytostérols/phytostanols.

Une étude ancillaire à un essai d'intervention avec le régime méditerranéen (Escurriol *et al.*, 2009), naturellement riche en phytostérols, a permis de comparer le LDL-C de trois groupes de sujets à haut risque cardiovasculaire après 1 an d'intervention. Le premier et le second groupe ont bénéficié des recommandations nutritionnelles les amenant à consommer un régime méditerranéen associé soit à un supplément d'huile d'olive vierge (groupe 1), soit un supplément de noix et noisettes (groupe 2). Le troisième groupe a reçu des recommandations nutritionnelles l'amenant à consommer un régime pauvre en lipides. Le LDL-C à l'entrée dans l'étude était de $3,54 \pm 0,66$ mmol/L, $3,24 \pm 0,79$ mmol/L et $3,15 \pm 0,64$ mmol/L pour les groupes diète méditerranéenne plus huile d'olive vierge, diète méditerranéenne plus noix et noisettes et diète pauvre en lipides respectivement. L'augmentation moyenne de phytostérols consommés après un an était de 76, 158 et 15 mg/j pour chacun de ces trois groupes respectivement, par rapport à l'intervention initiale. Seul le groupe « noix et noisettes », recevant l'intervention associant fibres, acides gras polyinsaturés et phytostérols a présenté une réduction significative du LDL-C (-8,3 %, $P = 0,036$) en comparaison au groupe consommant une alimentation pauvre en lipides.

Un autre essai d'intervention a permis d'obtenir des informations sur les phytostérols d'une manière indirecte. Dans cet essai, il a été recommandé une consommation d'un régime riche en protéines de soja, en fibres solubles, en amandes et en phytostérols (1g/1000 Kcal) à des sujets hypercholestérolémiques (LDL-C : $4,48 \pm 0,11$ mmol/L) pendant 52 semaines. De la semaine 52 à la semaine 62, les mêmes régimes

alimentaires étaient conseillés mais l'apport additionnel de phytostérols était supprimé (Jenkins *et al.*, 2008). A l'issue de la première période, le LDL-C avait diminué de 15,4 % ($P < 0,001$), tandis qu'à l'issue de la seconde période, cette réduction n'était plus que de 9 % ($P < 0,001$). La réduction du LDL-C attribuable aux phytostérols a été estimée, par calcul, à 6,3 % ($P < 0,05$).

3.1.1.3 Etudes d'observation

Bien que ne permettant pas de conclure sur un lien de causalité, les données épidémiologiques d'observation peuvent apporter des arguments sur l'intérêt potentiel des phytostérols dans des conditions d'utilisation qui se rapprochent de celles des consommateurs habituels de ces produits.

Une étude post-marketing réalisée à partir de la Dutch Doetinchem cohort study (Fransen *et al.*, 2007) a comparé l'évolution de la cholestérolémie chez les sujets consommateurs de margarines enrichies en phytostérols ($n = 67$) ou en phytostanols ($n = 13$) et les non utilisateurs ($n = 81$) entre la première période d'évaluation (1994-1998) précédant la mise sur le marché des produits enrichis en phytostérols et la seconde période d'évaluation (1999-2003) postérieure à la mise sur le marché de ces produits. La cholestérolémie initiale était de 6,23 mmol/L chez les consommateurs de produits enrichis et de 5,70 mmol/L chez les non consommateurs et ne différait pas significativement entre les deux groupes. La consommation de phytostérols était de $1,1 \pm 0,6$ g/j ($n = 67$) et celle des phytostanols était de $0,6 \pm 0,4$ g/j ($n = 13$). La consommation de phytostérols s'est accompagnée d'une réduction de la cholestérolémie de 4 % tandis qu'elle augmentait de 2 % chez les non consommateurs (différence significative entre groupes, $P = 0,05$). La réduction de cholestérolémie associée à la consommation de phytostanols était de 7,6 % mais la différence avec le groupe des non consommateurs n'était pas significative, probablement du fait du manque de puissance.

Cette étude a été poursuivie et complétée (Eussen *et al.*, 2011b). Elle a porté sur une cohorte de 3651 sujets non utilisateurs de statines et de phytostérols/stanols lors d'un 1^{er} examen réalisé entre 1998 et 2002. Lors d'un 2^{ème} examen réalisé 5 ans après, 169 sujets sont devenus utilisateurs de phytostérols/stanols, 203 de statines et 24 de statine et de phytostérols/stanols. La cholestérolémie initiale moyenne était de 5,62 mmol/L pour les non utilisateurs, de 6,15 mmol/L pour les utilisateurs de phytostérols et de 6,75 mmol/L pour les utilisateurs de statines. Seuls 9 % des utilisateurs de phytostérols consommaient 2 g/j, et 20 % 1,5 g/j (soit 20 g de margarine). Les effets des phytostérols/stanols sont les mêmes chez les utilisateurs de statines et les non utilisateurs. L'effet augmente avec la dose de margarine enrichie : non consommateurs = 0, petits consommateurs = $-0,017$ mmol/L (95 % IC $-0,16 - 0,13$), moyens = $-0,089$ mmol/L ($-0,22 - 0,038$), gros consommateurs = $-0,32$ mmol/L ($-0,50 - -0,14$). L'effet estimé sur le LDL-C dans cette étude pour 2 g/j de phytostérols/stanols consommés est de 0,25 mmol/L (5 %), ce qui est nettement plus bas que les effets obtenus dans les essais cliniques randomisés. Dans cette cohorte néerlandaise, 98% des utilisateurs consommaient de la margarine enrichie en phytostérols.

Une étude a évalué l'effet des aliments enrichis en phytostérols/stanols dans le cadre d'un programme d'intervention communautaire (Hartslag Limburg) visant à encourager la population à augmenter leur activité physique, à réduire leur consommation de lipides et à réduire l'usage du tabac (de Jong *et al.*, 2007b, Wolfs *et al.*, 2006). Bien que ce ne soit pas l'objet de l'étude, l'introduction sur le marché néerlandais des produits enrichis en phytostérols/stanols, en 1999, a permis indirectement d'obtenir des informations en comparant les résultats obtenus dans cette population entre 1998 et 2003. Sur la base du questionnaire de 2003, les sujets ont été classés en « utilisateurs de margarines enrichies en phytostérols/stanols » (cholestérolémie basale 6,25 mmol/L), « utilisateurs de médicaments hypocholestérolémiants » (cholestérolémie basale 6,51 mmol/L), « utilisateurs de médicaments hypocholestérolémiants et de margarines enrichies en phytostérols/stanols » (cholestérolémie basale 6,07 mmol/L) et « non utilisateurs » (cholestérolémie basale 5,44 mmol/L). Les consommateurs de margarines enrichies en phytostérols ($n = 99$) et phytostanols ($n = 16$) consommaient en moyenne 15 et 9 g/j de ces margarines respectivement. Entre 1998 et 2003, la réduction de la cholestérolémie était de 17 % chez les consommateurs de médicaments hypocholestérolémiants, de 4 % chez les consommateurs de margarines enrichies en phytostérols/stanols et de 29 % chez les consommateurs de médicaments et de margarines enrichies, tandis que chez les non utilisateurs, la cholestérolémie avait augmenté de 2 %. Les auteurs concluent que la consommation de phytostérols/stanols n'atteint pas la dose recommandée et que l'effet est modeste sur la cholestérolémie mais que ces produits peuvent avoir un effet additif avec les médicaments (de Jong *et al.*, 2007b, Wolfs *et al.*, 2006). Cependant, dans la mesure où il s'agit d'une étude d'intervention multiple (augmentation de l'activité physique, réduction de la consommation de lipides), il n'est pas possible d'isoler l'effet propre des phytostérols/stanols sur la cholestérolémie.

3.1.1.4 Conclusion

L'ensemble de ces résultats suggère un maintien à long terme (de l'ordre de 1-2 ans) de l'effet des phytostérols et des phytostanols alimentaires sur le LDL-C, soit une baisse de l'ordre de 10 %. Les études d'observation rapportent une baisse du LDL-C suite à la consommation de phytostérols ou de phytostanols bien moindre (de l'ordre de 5 %) que les études cliniques contrôlées, probablement du fait d'une moins grande consommation d'aliments enrichis en phytostérols ou phytostanols. A dose quotidienne équivalente, les essais randomisés ne mettent pas en évidence de différence d'effet des phytostanols par rapport aux phytostérols.

3.1.2 Quelle est la variabilité interindividuelle de l'effet hypocholestérolémiant des phytostérols et des phytostanols ?

3.1.2.1 Variabilité générale

De nombreux facteurs peuvent influencer la réponse liée aux phytostérols et aux phytostanols : la dose consommée, le nombre de prises par jour (à chaque repas ou une prise quotidienne), leur forme d'apport (estérifié ou sous forme libre), le vecteur alimentaire, la fréquence de consommation (tous les jours ou de façon moins régulière). Mais au-delà de ces facteurs liés aux conditions expérimentales, les principales sources de variation de la réponse sont liées au sujet lui-même.

Peu d'études rapportent la variabilité individuelle de la réponse aux phytostérols et aucune, à notre connaissance, ne rapporte celle liée aux phytostanols. Une première étude croisée réalisée avec 74 sujets sains de cholestérolémie moyenne 5 mmol/L, rapporte les variations individuelles de concentration en LDL-C. Suite à la consommation de 0,8 g/j de phytostérols, le LDL-C varie, selon les individus, de -30 % à +40 % par rapport au LDL-C mesuré après consommation du régime contrôle. Une absence de diminution du LDL-C est observée chez environ 35 % des sujets après trois semaines de régime (Sierksma *et al.*, 1999). Les auteurs estiment que l'absence d'effet ou l'augmentation de LDL-C sont dues à la variabilité intra-individuelle du LDL-C (de l'ordre de 10 %) qui est supérieure à l'effet moyen des phytostérols dans cette étude (environ 6 %).

Une 2^{ème} étude croisée testant l'effet de 2 g/j de phytostérols sous forme de margarine enrichie chez 39 sujets légèrement hypercholestérolémiques (cholestérolémie moyenne 6,8 mmol/L), a retrouvé des résultats comparables, avec une absence de baisse du LDL-C chez 13 sujets sur 39 (soit 33 % des sujets) après 4 semaines de consommation (Jakulj *et al.*, 2005).

Une 3^{ème} étude croisée a comparé l'effet de la consommation d'un lait apportant 0, 1,3 et 1,6 g/j de phytostérols pendant 4 semaines chez 71 sujets légèrement hypercholestérolémiques (cholestérolémie moyenne 7 mmol/L). Elle rapporte une absence de diminution chez 20 % des sujets dont le LDL-C augmente en moyenne de 12 et 14 % (par rapport au contrôle) après la consommation de 1,3 et 1,6 g/j de phytostérols, respectivement (Thomsen *et al.*, 2004).

Une 4^{ème} étude testant les effets de 1,95 g/j de phytostérols chez des sujets sains de cholestérolémie moyenne 5,4 mmol/L, rapporte des variations individuelles de LDL-C allant de -33 % à +37 %. Une absence de diminution du LDL-C est observée chez 9 sujets sur 32 (soit 28 %) (Rideout *et al.*, 2009).

Enfin, dans une étude croisée sur 82 hommes légèrement hypercholestérolémiques (cholestérolémie moyenne 5,5-6 mmol/L) testant une margarine apportant 2 g/j de phytostérols, 31 sujets, soit 38 %, étaient non-répondeurs. Étaient considérés comme répondeurs les sujets présentant une réduction de la cholestérolémie et du LDL-C (ajusté sur le placebo). La cholestérolémie des non-répondeurs a augmenté de $4,4 \pm 1,2$ % et leur LDL-C de $9,4 \pm 5,9$ %, alors que la cholestérolémie des répondeurs a baissé de $12,7 \pm 1,2$ % et leur LDL-C de $18,3 \pm 2,0$ % (Zhao *et al.*, 2008).

Une méta-analyse de 3 essais (études croisées de 4 semaines chez des sujets hypercholestérolémiques) testant l'effet de 1,6 à 2 g/j de phytostérols, a montré une baisse moyenne du LDL-C de $-7,3 \pm 1,2$ %, mais en réalité, 47 sujets (soit 42 %) étaient non répondeurs (LDL-C : $+3,7 \pm 1,0$ %, $P = 0,01$ par rapport à la phase contrôle), et 66 étaient répondeurs (LDL-C : $-15,2 \pm 1,0$ %, $P = 0,01$ par rapport à la phase contrôle), les auteurs ayant considéré comme répondeurs les sujets ayant une baisse de plus de 5 % de LDL-C (Rideout *et al.*, 2010). La Figure 2 adaptée d'une revue de synthèse des mêmes auteurs, illustre cette variabilité de réponse (Rideout *et al.*, 2012).

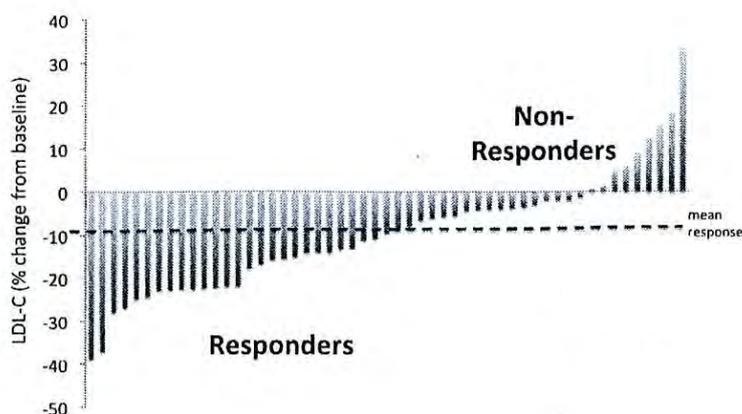


Figure 2. Variabilité de réponse du LDL-C après ingestion de phytostérols (n=56 sujets) adaptée de Rideout et al., 2012

Ainsi, ces études montrent que la variabilité de réponse aux phytostérols est grande. On peut estimer que chez 30 % des sujets, la concentration plasmatique de LDL-C ne diminue pas. Il n'est pas impossible que chez certains de ces sujets, elle augmente, sans que l'on puisse savoir s'il s'agit d'un effet spécifique des phytostérols ou de la résultante de la variabilité intra-individuelle et de l'erreur expérimentale. Par comparaison, la réponse aux médicaments hypocholestérolémiants est certes variable selon les sujets, mais le pourcentage de non répondeurs semble moindre. Ainsi, dans une étude rapportant les effets individuels de la simvastatine, la cholestérolémie a baissé chez 80 % des patients, de 30 à 60 % et seuls 2 % des patients ont eu une baisse de cholestérolémie inférieure à 10 % (Simon *et al.*, 2006). Des résultats similaires sont rapportés avec l'atorvastatine (Pedro-Botet *et al.*, 2001).

A notre connaissance, il n'existe à l'heure actuelle aucune donnée de variabilité de réponse aux phytostanols.

3.1.2.2 Influence de la cholestérolémie basale

La première source de variation liée au sujet est représentée par la concentration initiale de cholestérol plasmatique.

Dans une méta-analyse de quatre essais randomisés menés dans un même centre d'investigation avec des esters de phytostanols et de phytostérols, une interaction statistiquement significative ($P < 0,001$) est rapportée entre la dose de phytostanols utilisée et la concentration basale de LDL-C sur la concentration obtenue en fin d'étude (Naumann *et al.*, 2008). Les auteurs estiment que la diminution obtenue avec 2 g/j de phytostanols varie :

- de -0,24 mmol/L à -0,17 mmol/L, soit -8,0 % à -5,7 % pour une valeur initiale de LDL-C de 3 mmol/L ;
- de -0,32 mmol/L à -0,22 mmol/L, soit -8,0 % à -5,5 % pour une valeur initiale de LDL-C de 4 mmol/L ;
- et de -0,41 mmol/L à -0,27 mmol/L, soit -8,2 % à -5,4 % pour une valeur initiale de LDL-C de 5 mmol/L (intervalle de confiance à 95 %).

Ainsi, la variation en pourcentage semble constante pour des concentrations initiales de LDL-C comprises entre 3 et 5 mmol/L, ce qui explique des variations croissantes en valeurs absolues, selon la valeur de base. Les auteurs calculent ainsi, pour une valeur initiale de LDL-C de 3,55 mmol/L, une variation estimée de -5,8 %, -7,5 % et -10,2 % pour des apports de phytostanols de 1,7 g/j, 2,2 g/j et 3 g/j.

3.1.2.3 Influence du taux de synthèse endogène de cholestérol

Les autres caractéristiques individuelles susceptibles de modifier la réponse du LDL-C aux phytostérols ou aux phytostanols sont les mêmes que celles qui modifient l'absorption du cholestérol et la synthèse endogène. Ainsi, dans l'étude de Rideout *et al.* (2010) décrite ci-dessus, le taux fractionnel de synthèse (FSR) de cholestérol (mesure d'incorporation d'un isotope stable [deutérium]) est de 23 % plus élevé chez les non répondeurs aux phytostérols que chez les répondeurs ($P = 0,003$). De plus, le FSR était corrélé ($r = 0,22$, $P = 0,02$) au pourcentage de variation du LDL-C suite à l'ingestion des phytostérols. Chez les sujets forts synthétiseurs (1^{er} quartile), la baisse de LDL-C n'est que de -3,2 % alors qu'elle est de -12,3 % chez les faibles synthétiseurs (4^e quartile).

Dans l'étude de Zhao chez des hommes hypercholestérolémiques décrite ci-dessus (Zhao *et al.*, 2008), le taux de synthèse de cholestérol est également plus élevé chez les non répondeurs que chez les répondeurs. Cependant, aucune différence d'indice d'absorption (mesuré par marquage du sitostérol, du campestérol, et du cholestérol) n'est observée entre les répondeurs et les non répondeurs. Les auteurs ont également mesuré la phytostérolémie basale (avant consommation de phytostérols), qui peut également être utilisée comme marqueur d'absorption des stérols. Ainsi, dans cette étude, les sujets avec une phytostérolémie basale basse ont une absorption (environ 7 %) plus basse et un FSR (environ 25 %) plus élevé que les sujets à phytostérolémie basale élevée. Le pourcentage de sujets répondeurs parmi les sujets de phytostérolémie basale élevée tend à être plus élevé ($P = 0,09$), alors que parmi les sujets de phytostérolémie basale basse, les non répondeurs tendent à être plus nombreux. Parmi les répondeurs, on compte moins d'individus catégorisés dans le groupe de concentration basale basse en phytostérols (43 % des 51 individus répondeurs). Inversement, dans le groupe des non-répondeurs, il y a plus d'individus catégorisés dans le groupe de concentration basale basse en phytostérols (61 % des 31 individus non-répondeurs). La concentration plasmatique de phytostérols après consommation de phytostérols est très corrélée aux indices d'absorption du campestérol ($r = 0,56$ dans le groupe placebo, $r = 0,65$ dans le groupe phytostérols) et du cholestérol ($r = 0,37$ dans le groupe placebo, $r = 0,35$ dans le groupe phytostérols), et négativement avec le FSR de cholestérol ($r = -0,36$ dans les 2 groupes). Par ailleurs, l'augmentation relative des concentrations plasmatiques en campestérol et sitostérol suite à la supplémentation en phytostérols n'est pas différente chez les répondeurs (+25 % et +34 % pour le campestérol et le sitostérol, respectivement) et les non-répondeurs (+27 % et +20 %, respectivement).

Ces deux études suggèrent que les sujets non répondeurs sont ceux qui possèdent une capacité de synthèse du cholestérol plus élevée. Bien que les forts synthétiseurs soient aussi des faibles absorbeurs, l'étude de Zhao ne parvient pas à montrer que les sujets non répondeurs ont des capacités d'absorption plus faibles. Elle montre toutefois que, parmi les non répondeurs, il y a plus d'individus ayant des concentrations basales basses en phytostérols (marqueur indirect de l'absorption des stérols). Cette étude illustre également la difficulté d'interprétation des données provenant de plusieurs marqueurs d'absorption. Ces études suggèrent toutefois que les polymorphismes des gènes régulant l'absorption et la synthèse du cholestérol pourraient expliquer une partie de la variabilité de réponse aux phytostérols.

Le syndrome métabolique est généralement associé à une augmentation de la synthèse du cholestérol et à une diminution de son absorption. Dans une étude en parallèle comparant des sujets avec syndrome métabolique ($n = 24$) à des sujets indemnes de syndrome métabolique ($n = 24$) (Hernández-Mijares *et al.*, 2011), les 2 groupes étant modérément hypercholestérolémiques, l'adjonction de phytostérols à hauteur de 2 g/j à un régime « sain » pendant 3 mois diminue le LDL-C de 10,5 % chez les sujets sans syndrome métabolique mais n'avait pas d'effet chez les sujets atteints. Les auteurs attribuent cette différence à la faible capacité d'absorption liée au syndrome métabolique, évaluée ici par les concentrations plasmatiques de campestérol et sitostérol, basales et après supplémentation en phytostérols, inférieures à celles des sujets non syndrome métabolique. En particulier, la consommation de phytostérols augmentait moins leur concentration plasmatique (20-30 %) chez les sujets souffrant de syndrome métabolique, que chez les autres sujets (50-60 %). Cependant, les effectifs des deux groupes sont limités (10 sujets témoins et 14 sujets recevant les phytostérols).

A l'inverse, une autre étude (Sialvera *et al.*, 2012) a montré un effet hypocholestérolémiant (baisse du cholestérol total de -16 %, des LDL-C de -20 %, de l'apo B, des LDL petites et denses) des phytostérols chez des sujets atteints de syndrome métabolique. Cette étude se distingue cependant de la précédente par son protocole : les phytostérols sont apportés à hauteur de 4 g/j dans un yaourt à boire et associés à un régime spontané de type occidental. L'étude a duré 2 mois et porté sur 108 sujets atteints de syndrome métabolique ($n = 53$ [phytostérols], $n = 55$ [placebo]).

Concernant le diabète, les esters de phytostanols semblent efficaces sur le LDL-C chez les diabétiques de type 1 et 2, mais les esters de phytostérols ont une capacité réduite à court terme chez les diabétiques de type 2 (pour revue (Doggrell, 2011)).

3.1.2.4 Influence des facteurs génétiques

3.1.2.4.1 *Mutations responsables de maladies à l'état homozygote*

La sitostérolémie génétique ou phytostérolémie est une maladie récessive rare caractérisée par des concentrations de phytostérols excessivement élevées (multipliées par 30 ou 100 par rapport à la population

générale). Elle est due à une mutation des transporteurs ABCG5/G8 dont les défauts entraînent une augmentation anormale de l'absorption des phytostérols. Les sujets hétérozygotes pour ces mutations ne sont pas malades mais ont des concentrations plasmatiques en phytostérols plus élevées que dans la population générale (+30-50 %), sans modification du LDL-C (Kwiterovich Jr *et al.*, 2003) (voir aussi partie 5.2.1).

L'hypothèse que les sujets hétérozygotes pour ces mutations répondent différemment aux phytostérols alimentaires que les sujets non porteurs de mutation a été testée dans quatre études. Du fait de la rareté des sujets présentant cette mutation, leur nombre dans ces études est très faible.

Dans la première étude, seuls deux sujets hétérozygotes, de plus obèses et hypercholestérolémiques, ont été inclus. Chez ces sujets, la baisse du LDL-C suite à la consommation de 3,3 g/j de phytostérols pendant 4 semaines est de 11 % (Stalenhoef *et al.*, 2001).

Des sujets hétérozygotes (n = 12, 2 familles donc 2 mutations différentes) ont suivi un régime pauvre en graisses totales, saturées et en cholestérol, supplémenté ensuite en esters de phytostérols à hauteur de 2,2 g/j pendant 6 semaines (Kwiterovich Jr *et al.*, 2003). La supplémentation en phytostérols a entraîné une baisse de 5,9 % du LDL-C qui semble similaire à celle observée chez les sujets non porteurs de la mutation.

Une étude croisée a également été réalisée avec 7 sujets hétérozygotes pour la mutation des transporteurs ABCG5/G8 (cholestérolémie initiale 5,81 mmol/L) et 10 sujets témoins (cholestérolémie initiale 5,07 mmol/L). Les sujets ont reçu dans un ordre aléatoire une margarine apportant 2 g/j de phytostérols, 2 g/j de phytostanols ou une margarine contrôle. La réponse des LDL-C aux phytostérols et aux phytostanols était identique chez les sujets hétérozygotes et les sujets témoins (Kratz *et al.*, 2007).

Une étude plus récente portant sur 10 sujets hétérozygotes pour une mutation du gène ABCG8 (S107X) et 15 sujets contrôles confirme ces résultats. Les sujets contrôles et hétérozygotes ont vu leur cholestérolémie totale et leur LDL-C diminuer de la même façon après consommation de 1,6 g/j de phytostérols pendant 4 semaines (comparativement à la consommation d'un placebo) (Myrie *et al.*, 2012).

En ce qui concerne l'hypercholestérolémie familiale, une méta-analyse de 4 études portant sur les sujets hétérozygotes pour une mutation du récepteur aux LDL, responsable de cette pathologie, a été réalisée (Moruisi *et al.*, 2006). Trois (Amundsen *et al.*, 2002, de Jongh *et al.*, 2003, Gylling *et al.*, 1995) des 4 études (Neil *et al.*, 2001) portent sur des enfants. La méta-analyse montre que la consommation de $2,3 \pm 0,5$ g/j de phytostérols/stanols, induit une baisse du cholestérol total et LDL, analogue à celle des sujets dont l'hypercholestérolémie n'est pas spécifiquement une hypercholestérolémie familiale.

Dans une étude sur des enfants, les effets de 1,6 à 2 g/j (en fonction du poids) de phytostérols pendant 12 semaines (apportés dans un yaourt) ont été comparés chez des sujets hypercholestérolémiques, ou hétérozygotes pour l'hypercholestérolémie familiale (n = 32), ou atteints d'hyperlipidémie familiale combinée (n = 13), ou atteints d'hypercholestérolémie pour cause indéterminée (Guardamagna *et al.*, 2011). La baisse du LDL-C observée était légèrement plus faible chez les hétérozygotes (-10,7 %) que chez les autres (hyperlipidémie combinée : -14,2 %, indéterminée : -16,0 %). Il n'est pas précisé si cette différence est significative, mais au regard de l'écart type rapporté, cela semble peu probable.

Ainsi, ces quelques études ne montrent pas de différence de réponse du LDL-C aux phytostérols chez les sujets hétérozygotes pour une mutation des gènes ABCG5/G8 et les sujets non porteurs de la mutation.

3.1.2.4.2 Polymorphismes de l'apolipoprotéine E

Parmi les caractéristiques individuelles modifiant l'absorption du cholestérol, la première d'entre elles est le génotype de l'apolipoprotéine E (Apo E). Il existe 3 allèles $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ et $\epsilon 4$, gouvernant la synthèse de 3 isoformes différentes de la protéine : E2, E3 et E4. L'allèle $\epsilon 4$ est associé dans la population générale à une concentration plus élevée de cholestérol total et LDL dans le plasma, et à une absorption plus forte de cholestérol. L'hypothèse d'un effet plus marqué des phytostérols/stanols chez les sujets porteurs de l'allèle $\epsilon 4$ a ainsi été testée dans quelques études (Tableau 3).

Une première étude (Vanhanen *et al.*, 1993) réalisée chez 67 sujets hypercholestérolémiques modérés montre des résultats dans le sens attendu. Dans le groupe intervention, on observe une baisse moyenne de la concentration plasmatique de cholestérol total de 7,5 %, et de LDL-C de 10 %. Les sujets de phénotypes E4/E4 ou E3/E4 sont de meilleurs répondeurs aux phytostanols (LDL-C :-11,8 %) comparés aux sujets de phénotype E3/E3 (LDL-C :-6 %). On observe également, chez les sujets de phénotypes E4/E4 ou E3/E4,

une baisse des concentrations plasmatiques en sitostérol et en campestérol plus faibles, suite à l'ingestion de phytostanols, que chez les sujets de phénotype E3/E3, indiquant une plus grande diminution de l'absorption du cholestérol.

Le même groupe (Miettinen et Vanhanen, 1994) a testé les effets d'une faible dose (700 mg) de phytostérols ou de phytostanols chez 31 sujets hypercholestérolémiques modérés. Quatre régimes ont été testés : colza, colza + sitostérol, colza + sitostanol, colza + esters de sitostanol. La baisse de la concentration plasmatique de cholestérol total et de LDL-C est faible et tend à être plus marquée suite à l'ingestion d'esters de sitostanol (-7 %). La baisse est significative quand les 3 groupes supplémentés sont rassemblés (-5 %). Elle est plus marquée chez les sujets porteurs du phénotype E4 (n = 8) chez qui le LDL-C baisse de 0,28 mmol/L, (P < 0,05) contre 0,06 mmol/L chez les sujets du phénotype E3/E3 (n = 15) (différence non significative). Cette baisse est corrélée à une diminution de l'absorption et à une augmentation de la synthèse endogène, plus importantes chez les sujets porteurs du phénotype E4.

Quatre études cependant ne mettent pas en évidence d'effet plus marqué des phytostérols/stanols chez les sujets porteurs de l'allèle $\epsilon 4$.

C'est le cas d'une étude de 4 semaines chez 105 sujets adultes sains recevant quotidiennement soit un placebo, soit 2 g stanols, soit 3 g stanols. Aucune différence de réponse de la cholestérolémie et du LDL-C entre les sujets porteurs du phénotype E3 et ceux porteurs du phénotype E4 n'est observée (Ishiwata *et al.*, 2002).

C'est également le cas d'une étude croisée réalisée chez des enfants normocholestérolémiques, sélectionnés dans la cohorte de l'étude STRIP (Special Turku Coronary Risk Factor Intervention Project) (Tammi *et al.*, 2002). Dans le groupe porteur de l'allèle $\epsilon 4$, la réduction du LDL-C après consommation des phytostanols était de 8,4 % tandis qu'elle était de 7,6 % dans le groupe ne portant pas cet allèle, par rapport à la période de consommation de la même margarine ne contenant pas de phytostanols. Cependant, on observe une augmentation des marqueurs de la synthèse de cholestérol (mesure des précurseurs) chez les sujets porteurs du génotype $\epsilon 4$ seulement pour une diminution identique de l'absorption.

Une troisième étude croisée réalisée chez des sujets adultes sains recevant une margarine apportant 3,2 g/j de phytostérols ou non pendant trois semaines (Geelen *et al.*, 2002) ne montre pas non plus d'effet du phénotype E4. La réduction du LDL-C était de 12,2 % dans le groupe ne portant pas le génotype $\epsilon 4$ et de 9,8 % dans le groupe porteur du génotype $\epsilon 4$ (P = 0,68).

Une quatrième étude croisée a été réalisée chez 60 sujets hypercholestérolémiques modérés (moyenne 7 mmol/L) avec 2 périodes de 4 semaines (Lottenberg *et al.*, 2003). Les sujets ont reçu alternativement soit 20 g de margarine apportant 2,8 g/j en esters de phytostérols soit 20 g de margarine placebo. Il n'y a pas eu de différence de réponse entre sujets E3E3 et E3E4, mais la réponse n'était significative que chez les E3E3 (plus nombreux).

Une étude, portant sur 217 sujets adultes hypercholestérolémiques (Sanchez-Muniz *et al.*, 2009) recevant pendant cinq semaines, soit une margarine témoin, soit une margarine apportant 1,1 g/j ou 2,2 g/j de phytostérols, a montré un effet du génotype de l'Apo E sur l'efficacité des phytostérols, mais ces derniers étaient moins efficaces chez les porteurs de l'allèle $\epsilon 4$. Cependant, cette absence d'effet chez les porteurs de l'allèle $\epsilon 4$ pourrait être due à un manque de puissance statistique lié au faible effectif de ce groupe (n = 51).

Chez 75 adultes hypercholestérolémiques modérés divisés en 2 groupes, l'un sous régime standard NCEP-ATIII, l'autre sous le même régime additionné de 2 g/j de phytostérols apporté par du lait demi-écrémé, pendant 3 mois, il n'y a pas eu de différence de réponse en fonction du polymorphisme apoE. La baisse de LDL-C était de 8,1%. Les effectifs étaient encore une fois très réduits (13 sujets E4, 24 sujets E33) (Banuls *et al.*, 2011).

Pour conclure, la littérature ne confirme pas l'hypothèse d'une meilleure réponse des sujets porteurs de l'allèle $\epsilon 4$ (qui ont pourtant un LDL-C basal élevé et une absorption du cholestérol élevée).

Tableau 3. Variabilité individuelle de la réponse LDL aux phytostérols ou phytostanols alimentaires : mutation de l'Apo E

Référence	Protocole expérimental	Sujets	Réponse	Remarques
Vanhanen <i>et al</i> , 1993	6 semaines 3,4 g sitostanol (n = 34) vs contrôle (n = 33)	67 Hypercholestérolémiques modérés Contrôles : E3/3=22 E3/4=10 E4/4=1 ; 26H/7F, 43 ans, IMC=25,8 Sitostanol : E22=1 E32=16 E43=12 E44=5, 21H/13F, 48 ans, IMC=25	Baisse moyenne TC -0,44 mmol/L (7,5 %), LDL -0,37 (10 %) E4 meilleurs répondeurs (11,8 %) que E33 (6 %) E4 baisse absorption (sitostérolémie et campésterolémie) et augmentation de la synthèse (lathostérol, desmostérol) > à E3/3	Baisse LDL-C corrélée à la baisse des phytostérols plasmatiques Homozygotes E4/4 relativement nombreux Baisse chez E4/4 significative, E3/3 NS mais ≠ce entre E4 et E3/3 NS !
Miettinen & Vanhanen 1994	6 semaines colza, 700 mg sitostérol, 700 mg sitostanol, 800 mg d'esters de sitostanol	31 sujets hypercholestérolémiques modérés (>6mmol/l), 22h/9F âge = 45 ± 3 ans, IMC = 25,2 ± 1,2,	Petits effets, tendance+ avec sitostanol ester - 7 %, phytostérols/stanols en combiné :-5 % (P < 0,05) E4 (n = 8) :LDL -8 % (-0,28mmol/l), (P < 0,05) E33 (n = 15) : -0,06 mmol/l (NS)	De pair avec une plus grande diminution d'absorption et une + grande synthèse endogène compensatoire chez E4... PS mêmes auteurs que précédent
Ishiwata <i>et al</i> , 2002	4 semaines placebo (n = 35) 2 g/j stanols (n = 34) 3 g/j stanols (n = 36)	Sujets sains Contrôle: 19 E3, 11 E4 Groupe 2g: 21 E3, 10 E4 Groupe 3g: 25 E3, 6E4	pas de différence de réponse du LDL-C et du cholestérol total entre E3 et E4	Régime de base pauvre en lipides et en cholestérol
Tammi <i>et al</i> , 2002	STRIP study Etude croisée, en double aveugle, 2 x 3 mois, margarine riche en esters de stanols (→1,6 g/j) ou margarine contrôle	81 enfants sains, 6 ans (45 garçons) 24 porteurs de l'allèle ε4 (E4/4 ou E3/4) versus 54 non porteurs (E2/3 ou E3/3)	Pas de différence de réponse LDL-C et TC : Chez porteur ε4 : réduction du LDL-C de -0,24 mmol/L (IC : 0,07 à 0,41 mmol/L) (-8,4 %) Chez non porteurs, réduction de -0,20 mmol/L (IC : 0,07 à 0,32 mmol/L) (-7,6 %) Diminution absorption dans les 2 groupes mais augmentation de la synthèse de cholestérol chez les porteurs de ε4 seulement	Concentration de départ corrélée à la réponse Phytostérols plasmatiques diminuent de façon similaire chez garçons et filles, mais augmentation plus significative des précurseurs de cholestérol (synthèse) chez les filles
Geelen <i>et al</i> , 2002	Etude croisée, aveugle, 3 semaines, margarine contrôle vs riche en phytostérols (3,2 g/j)	31 sujets sains E3/4 ou E4/4, 57 E3/3 25 ± 11 ans	Baisse moyenne : TC 0,36mmol/l (7,4 %) (E3) vs 0,31 (5,7 %) (E4), NS, LDLC : - 0,34mmol/L (12,2 %) E3/3 vs 0,32 (9,8 %) (E4) NS, pas d'influence de l'apoE	
Lottenberg <i>et al</i> , 2003	Etude croisée, double aveugle, recevant ou non 1,68 g/j de phytostérols pdt 4 sem	60 hommes et femmes de 20 à 60 ans avec hypercholestérolémie primaire modérée (moy 7 mmol/L). 35 E3/E3, 16 E3/E4	pas de différence d'effet des phytostérols sur le cholestérol total et LDL entre les sujets E3E3 et E3E4, mais la réponse aux phytostérols n'était significative que chez les E3E3	Sujets E3/E3 plus nombreux
Sanchez-Muniz <i>et al</i> , 2009	Essai double aveugle, 5 sem : pâte à tartiner contrôle (n = 87), 1,1 g phytostérols ou 2,2 g phytostérols (n = 120)	217 sujets hypercholestérolémiques hommes/femmes (21-75 ans) 26 E2E3/E2E2, 51 E3E4/E4E4, 130 E3E3 ; 10 E2E4 exclus	Baisse du LDL-C de 12,7 % (P < 0,01) dans le groupe ε2, de 5,5 % (P < 0,001) dans le groupe ε3 et de 5,6 % (NS) dans le groupe ε4, TG diminuent chez les E2 Réductions des caroténoïdes sériques chez E4	E4 et E3 : LDL-C basal plus élevé que E2. La baisse équivalente chez les porteurs de ε3 et de ε4 mais moins de sujets E4 → problème de puissance statistique ?
Banuls <i>et al.</i> , 2011	Etude parallèle, régime NCEP-ATIII + lait demi écrémé avec (n = 41) ou sans (n = 34) 2g phytostérols pdt 3 mois	75 sujets (22H/53F) de 18 à 76 ans (m = 49,9), IMC = 28, hypercholestérolémie modérée. n = 24 E3, 13 E4, 4 E2 dans le groupe PS.	Effet PS : -8,1% LDLC, pas de différence selon apoE.	La réponse n'est pas influencée par la taille des particules LDL au départ, et le régime ne modifie pas celle-ci. Puissance statistique faible...

3.1.2.4.3 Polymorphisme des transporteurs ABCG5/G8 et NPC1L1

Les transporteurs ABC (ATP-Binding-Cassette), en particulier ABCG5/G8, jouent un rôle majeur dans l'absorption intestinale des stérols. Des mutations dans les gènes codant pour ces deux protéines expliquent l'augmentation de la concentration plasmatique des phytostérols et du cholestérol au cours de la sitostérolémie (Berge *et al.*, 2000, Lee *et al.*, 2001, Hubacek *et al.*, 2001).

Une étude a évalué l'influence de plusieurs de ces polymorphismes, 859T/C (C287R) et 1810C/G (Q604E) pour ABCG5, 1285A/G (M429V), 161G/A (C54Y), 1199C/A (T400K) et 1895C/T (A632V) pour ABCG8, sur la concentration plasmatique du sitostérol et du précurseur du cholestérol, le lathostérol, chez 100 sujets japonais hypercholestérolémiques (Miwa *et al.*, 2005). Cette étude rapporte qu'un de ces polymorphismes (1285A/G (M429V)) est associé à une plus forte concentration plasmatique de sitostérol et à un ratio sitostérol/cholestérol plus élevé ($P < 0,01$). Parallèlement, la concentration de lathostérol tend à être plus faible en présence de ce polymorphisme ($P = 0,08$). Cependant, une méta-analyse des études portant sur les effets de ces polymorphismes codants sur les concentrations plasmatiques en LDL-C montre peu d'effet (Jakulj *et al.*, 2010). Il est donc logique de s'interroger sur le rôle potentiel du polymorphisme de ces transporteurs sur l'efficacité des phytostérols et des phytostanols (Tableau 4).

Dans une étude d'intervention testant l'effet des phytostanols sur 3 de ces polymorphismes (Plat *et al.*, 2005), il est observé, après une période de stabilisation de 4 semaines et avant consommation des phytostanols, que les sujets présentant le génotype QQ pour le polymorphisme Q640E de ABCG5 ont une concentration en LDL-C plus élevée que les sujets hétérozygotes ou homozygotes pour le génotype E ($3,04 \pm 0,75$ vs $2,70 \pm 0,81$ mmol/L, $P = 0,039$). Cependant, après consommation de phytostanols, la diminution du LDL-C est observée dans tous les groupes et aucune influence du polymorphisme des transporteurs ABCG5/G8 n'est retrouvée.

Une autre étude (Gylling *et al.*, 2009a) montre, par rapport au groupe témoin, une variation moyenne de la cholestérolémie de $-4,2\%$ (SE 1,5) dans le groupe phytostanols ($P < 0,01$) et de $-4,4\%$ (SE 1,5) dans le groupe phytostérols ($P < 0,01$). Aucune influence des polymorphismes étudiés n'est observée.

Enfin, une 3^{ème} étude (Zhao *et al.*, 2008) a examiné l'interaction entre certains polymorphismes des transporteurs ABCG5/G8 et le niveau d'absorption des phytostérols. Les sujets hypercholestérolémiques ont été classés selon leur niveau d'absorption de phytostérols par une méthode utilisant des isotopes stables. Le polymorphisme T400K de l'ABCG8 a montré une interaction avec la réponse aux phytostérols, selon le niveau de base des phytostérols plasmatiques. Les porteurs de l'allèle A (400TK et 400KK) ont subi une réduction du LDL-C 3,9 fois plus importante dans le groupe caractérisé par une concentration plasmatique basale de phytostérols élevée que dans le groupe caractérisé par une concentration plasmatique basale de phytostérols faible ($-16,6 \pm 6,3\%$ vs $-3,4 \pm 5,7\%$, $P < 0,05$). Les autres polymorphismes étudiés (D19H et Q604E) n'ont pas montré ce type d'interaction. Cette étude a également évalué le polymorphisme d'un autre récepteur important pour l'absorption des stérols, le NPC1L1. Un haplotype construit sur la base du polymorphisme 872 C/G (L272L) et du polymorphisme 3929 G/A (Y1291Y) est associé à une réduction du LDL-C 2,4 fois plus importante chez les porteurs des allèles mutés que chez les individus porteurs des allèles sauvages ($-13,4 \pm 3,0$ vs $-3,9 \pm 2,9$, $P < 0,05$).

Tableau 4. Protocoles expérimentaux des études sur l'influence du polymorphisme sur la réponse aux phytostérols/stanols.

Référence	Régimes	Sujets	Polymorphismes
Plat <i>et al.</i> 2005	3 groupes : témoins, $3,8 \pm 0,6$ g/j de stanols issus d'huile végétale, ou $4,0 \pm 1,8$ g/j de stanols issus du bois, pendant 8 sem	112 normocholest érolémiques	1810C/G (Q604E) pour ABCG5, 1895C/T (A632V) et 1199C/A (T400K) pour ABCG8
Gylling <i>et al.</i> , 2009	double aveugle randomisée en trois groupes : témoins, phytostanols (2,13 g/j), phytostérols (2,15 g/j), pendant 1 an	282 sujets légèrement hypercholest érolémiques	Q604E pour ABCG5, A632V, T400K, Y54K et D19H pour ABCG8
Zhao <i>et al.</i> , 2008	Etude croisée, 2*4 semaines séparées par 4 sem de wash out 2 groupes : témoins et phytostérols (2 g/j)	82 sujets hypercholest érolémiques	T400K, D19H pour ABCG8 Q604E pour ABCG5 872C/G (L272L) et 3929 G/A (Y1291Y) pour NCP1L1

3.1.2.4.4 Autres polymorphismes

D'autres facteurs peuvent potentiellement influencer la réponse aux phytostérols/stanols. Il s'agit en particulier du récepteur SR-B1, impliqué dans l'absorption du cholestérol par l'entérocyte, et de l'apolipoprotéine AIV, impliquée dans la formation des chylomicrons permettant l'export vers la lymphe des stérols présents dans l'entérocyte. L'influence de certains polymorphismes de ces protéines (Gln³⁶⁰ → His et Thr³⁴⁷ → Ser pour l'apo AIV, SR-B1 *Hae III*), associés à ceux de protéines impliquées dans le remodelage intravasculaire des lipoprotéines (CETP Taq1B), de protéines impliquées dans la synthèse intracellulaire du cholestérol (HMGCoA Reductase VNTR) ou de l'apolipoprotéine E (E2, E3, E4), a été évaluée (Plat et Mensink, 2002). Un essai en trois groupes parallèles, margarine témoin (N = 42), margarine enrichie en huile végétale (N = 34) ou margarine enrichie en huile de bois (N = 36) apportant respectivement 3,8 et 4 g/j de phytostanols a été réalisé pendant huit semaines chez des sujets normocholestérolémiques. Bien qu'avant l'intervention le HDL-C plasmatique et la synthèse du cholestérol (évaluée à partir du ratio lathostérol/cholestérol) soient plus faibles en présence de l'allèle 2 de SR-B1 et que le LDL-C soit plus faible en présence de l'allèle ε2 de l'apo E, aucun effet des polymorphismes étudiés sur la réponse du LDL-C à la consommation de phytostanols n'a été mis en évidence.

Dans une autre étude (Lottenberg *et al.*, 2003), 2 polymorphismes de la CETP, Taq1B et I405V ont été étudiés. Cette étude croisée a été réalisée chez 60 sujets hypercholestérolémiques modérés (moyenne 7 mmol/L) sur 2 périodes de 4 semaines. Les sujets ont reçu alternativement soit 20 g de margarine apportant 2,8 g/j d'esters de phytostérols soit 20 g de margarine placebo. Il n'y a pas eu de différence de réponse pour le polymorphisme Taq1B de la CETP. En revanche, en relation avec le polymorphisme I405V de la CEPT, la réduction du cholestérol plasmatique total était de 7,2 % chez les II (n = 15), 4,2 % chez les IV (n = 27) et 0,4 % chez les VV (n = 9). La réduction du LDL-C était de, -9,5 % II (n = 14), -6,3 % IV (n = 26), +4,8 % VV (n = 9). Dans cette expérience, on a donc 18 % de non réponders en fonction du génotype CETP I405V (homozygotes VV).

Un variant du promoteur du gène CYP7A1 (cholestérol 7α-hydroxylase) impliqué dans la synthèse des acides biliaires a été étudié : -204 A>C (rs3808607). Deux essais d'une durée de 4-8 semaines ont été rassemblés incluant 67 sujets (hommes et femmes d'âge moyen 42 ans), l'un testant l'effet de 3,2 g/j de phytostérols (apportés par des muffins), l'autre de 2 g/j (apportés par du lait ½ écrémé). Chez les sujets AA (n = 31), la baisse est de 0,14 mmol/L vs 0,43 mmol/L chez les porteurs de C. Le rapport lathostérol/cholestérol (marqueur de synthèse du cholestérol) augmente plus chez les porteurs de C (0,10 vs 0,75) (De Castro-Orós *et al.*, 2011). L'allèle C augmente l'activité du promoteur et diminue la liaison à des inhibiteurs de transcription du gène CYP7A1. Le faible nombre de sujets nécessite une réplication pour pouvoir conclure.

Ainsi, les essais évaluant l'influence du polymorphisme génétique de l'apolipoprotéine E sur les effets des phytostérols/stanols sur la cholestérolémie ne sont pas tous concordants. Les plus anciens montrent une plus grande efficacité chez les sujets porteurs de l'allèle ε4, d'autres plus récents concluent à l'absence d'influence et un essai suggère une plus grande efficacité chez les sujets porteurs de l'allèle ε2 et une quasi absence d'efficacité chez les sujets porteurs de l'allèle ε4. Le polymorphisme des transporteurs ABCG5/G8 ne semble pas avoir d'influence majeure. Seule une étude a montré une diminution plus importante du LDL-C chez les sujets porteurs de l'allèle A de l'ABCG8 T400K et une forte absorption des phytostérols. Les autres polymorphismes ont été peu étudiés. Cependant une influence du polymorphisme du transporteur NPC1L1 a été mise en évidence dans une seule étude ainsi qu'une influence des polymorphismes de la CETP I405V et de CYP7A1. Ces résultats restent toutefois à confirmer.

3.1.2.5 Conclusion sur les effets des phytosérols/stanols sur la cholestérolémie

Il existe des arguments permettant d'affirmer que la variabilité de la réponse individuelle à la consommation de phytostérols est grande. On peut estimer que chez environ 30 % des sujets (de 20 à 42 % selon les études), le LDL-C ne diminue pas. Il semble que la réponse aux phytostérols pourrait varier selon les capacités de synthèse de cholestérol : les sujets dont le LDL-C ne diminue pas en réponse aux phytostérols ou aux phytostanols auraient une capacité de synthèse du cholestérol plus élevée. L'ampleur de la baisse du LDL-C est également fonction de la concentration initiale de LDL-C. En effet, la diminution semblant constante en pourcentage dans les essais ayant évalué ce point précis, elle est plus élevée en valeur absolue chez les sujets présentant une concentration initiale de LDL-C plus élevée.

Concernant l'influence génétique, les études disponibles ne permettent pas d'estimer le poids de l'ensemble des polymorphismes dans la variabilité totale, ni de préciser quels polymorphismes particuliers sont impliqués.

3.2 Quels sont les effets des phytostérols et des phytostanols sur les autres facteurs de risque cardiovasculaire ?

3.2.1 Données chez l'animal

3.2.1.1 Effet des phytostérols/stanols sur la plaque athéromateuse

Les effets des phytostérols/stanols sur la progression et la régression de la plaque d'athérosclérose ont été étudiés dans de nombreux modèles animaux d'athérosclérose induite par hypercholestérolémie : souris déficiente en apolipoprotéine E (Nashed *et al.*, 2005, Moghadasian *et al.*, 1997, Volger *et al.*, 2001, Moghadasian *et al.*, 1999a, Weingartner *et al.*, 2008, Weingärtner *et al.*, 2008), souris déficiente en récepteur aux LDL (Plat *et al.*, 2006), lapin Watanabe (Schroder *et al.*, 2009), lapin soumis à un régime hypercholestérolémique (Ntanios *et al.*, 1998, Meguro *et al.*, 2003), hamster soumis à un régime hypercholestérolémique (Ntanios *et al.*, 2003). Dans ces études, les phytostérols/stanols étaient généralement apportés à hauteur de 2 % en poids dans le régime (soit environ 3 g/kg poids corporel/j).

Dans la grande majorité des études, l'adjonction de phytostérols/stanols au régime a induit une diminution de la progression de la plaque d'athérome au niveau de différents segments aortiques, le plus souvent associée à une baisse marquée (-30 à 50 %) des concentrations en cholestérol total, LDL et VLDL. Cet effet se caractérise par une surface et une sévérité des lésions plus faibles chez le lapin Watanabe, (Schroder *et al.*, 2009) comme chez la souris déficiente en apolipoprotéine E (Volger *et al.*, 2001) ou déficiente en récepteurs aux LDL (Plat *et al.*, 2006).

Chez le hamster, l'adjonction de phytostérols à un régime athérogène diminue la formation de cellules spumeuses au niveau de l'aorte, et ce de manière dose dépendante (Ntanios *et al.*, 2003).

Chez la souris déficiente en apolipoprotéine E, une étude comparant l'ézétimibe, un médicament inhibant l'absorption du cholestérol, et les phytostérols a montré, pour une même baisse de cholestérolémie, un effet moindre des phytostérols sur la formation de la lésion athérosclérotique (Weingärtner *et al.*, 2008).

Enfin, si les phytostérols limitent la formation des lésions athérosclérotiques dans les modèles animaux, ils ne permettent pas la régression des plaques déjà installées (Moghadasian *et al.*, 1999a).

3.2.1.2 Effet des phytostérols/stanols sur la fonction endothéliale

Le dysfonctionnement endothélial est une des premières étapes détectables de l'athérosclérose et prédit des événements cardiovasculaires.

Très peu d'études sur modèles animaux ont étudié ce paramètre. Il a été montré chez la souris sauvage qu'un régime enrichi en phytostérols à hauteur de 2 % (soit environ 3 g/kg poids corporel/j), ne réduisait pas la cholestérolémie mais augmentait modérément les taux plasmatiques de sitostérol et campestérol et avait un effet délétère sur la vasorelaxation endothélium-dépendante qui, lorsqu'elle est induite par le carbachol est de moindre ampleur chez les souris consommant les phytostérols (Weingärtner *et al.*, 2008). Ces souris présentaient également un risque plus élevé de congestion cérébrale ischémique après occlusion transitoire des artères cérébrales. La même équipe a évalué l'effet des phytostérols et des phytostanols sur la fonction endothéliale chez des souris déficientes en apolipoprotéine E dont le régime de type occidental était supplémenté ou non en phytostérols ou en phytostanols (Weingärtner *et al.*, 2011). Dans cette étude, la vasorelaxation endothélium dépendante induite par le carbachol était plus faible chez les souris ayant consommé des phytostanols et des phytostérols par rapport aux souris du groupe témoins. La vasorelaxation endothélium indépendante induite par la nitroglycérine était similaire dans les trois groupes.

3.2.1.3 Effet des phytostérols/stanols sur l'inflammation

Au cours du processus d'athérosclérose interviennent également des phénomènes inflammatoires et immunitaires. L'effet des phytostérols sur ces processus ont pour l'heure fait l'objet de quelques études sur modèles animaux.

Chez la souris déficiente en apolipoprotéine E, il a été montré que l'adjonction de phytostérols à l'alimentation pendant 14 semaines diminue la sécrétion stimulée par un agent inflammatoire de cytokines proinflammatoires (IL-6, TNF- α) par les cellules de la rate et une augmentation de cytokine anti-inflammatoire (IL-10). Dans cette même étude, la réponse immunitaire spécifique ne semblait cependant pas être diminuée par les phytostérols (Nashed *et al.*, 2005).

Une autre étude chez la souris déficiente en apolipoprotéine E a rapporté des effets différentiels des phytostérols et des phytostanols sur les cytokines inflammatoires (Weingärtner *et al.*, 2011). L'adjonction au

régime de phytostanols mais pas de phytostérols a entraîné une baisse de la concentration plasmatique en TNF- α et de l'expression d'IL-6 de l'aorte et des monocytes circulants.

Dans une autre étude chez la souris déficiente en apolipoprotéine E, les phytostérols alimentaires induisaient une augmentation de la sécrétion lymphocytaire d'IL-2 et d'interféron γ sans modification de celle d'IL-4 et IL-10 (Calpe-Berdiel *et al.*, 2007). Dans le même article, les auteurs observent également une augmentation de la sécrétion lymphocytaire d'IL-2 chez la souris sauvage consommant des phytostérols alimentaires, alors que le LDL-C n'était pas diminué, suggérant un effet, au moins pour partie, indépendant de l'effet hypocholestérolémiant des phytostérols.

L'effet des phytostérols sur les phénomènes inflammatoires et immunitaires ont pour l'heure fait l'objet de trop peu d'études sur modèles animaux dont les protocoles de mesure de la sécrétion des cytokines diffèrent trop pour conclure.

3.2.1.4 Effet des phytostérols/stanols sur le système antioxydant

A notre connaissance, une seule étude a évalué les effets des phytostérols/stanols sur le statut antioxydant sur des modèles animaux. Cette étude, réalisée sur des souris déficientes en apolipoprotéine E, ne montre pas d'effet du régime riche en phytostérols sur le statut antioxydant, à savoir, les activités de la glutathion peroxydase, de la glutathion réductase, de la superoxyde dismutase et de la catalase, et ce, malgré un moindre développement de la plaque d'athérome (Moghadasian *et al.*, 1999b).

3.2.1.5 Effet des phytostérols/stanols sur les globules rouges

La déformabilité des globules rouges est nécessaire pour leur permettre de passer au travers des petites artéoles et capillaires et apporter aux organes et tissus l'oxygène dont ils ont besoin. De plus, les globules rouges doivent être résistants à la pression osmotique pour prévenir l'hémolyse. En s'intégrant aux membranes cellulaires des globules rouges, les phytostérols/stanols pourraient, comme le cholestérol, augmenter leur rigidité et ainsi diminuer leur déformabilité.

Dans la plupart des études sur les rongeurs comme le hamster (Demonty *et al.*, 2005, Ebine *et al.*, 2005) et la souris déficiente en apolipoprotéine E (Moghadasian *et al.*, 1999c), les phytostérols et les phytostanols n'ont pas d'effet sur la rigidité des membranes des globules rouges. Seul le modèle de rat hypertendu montre une sensibilité des membranes des globules rouges aux phytostérols et aux phytostanols. Dans ce modèle, la consommation d'un régime riche en phytostérols, entraîne une augmentation de la rigidité membranaire des érythrocytes, susceptible de conduire à des accidents vasculaires cérébraux hémorragiques (Ratnayake *et al.*, 2000). L'effet des phytostérols sur la déformabilité des globules rouges dans ce modèle animal est moins marqué que celui des phytostanols (Ratnayake *et al.*, 2003).

3.2.1.6 Conclusion

Les études basées sur des modèles animaux d'athérosclérose induite par hypercholestérolémie montrent ainsi une limitation de la progression de la plaque d'athérome, due pour partie à la baisse du LDL-C. Il convient toutefois de souligner d'une part que le métabolisme des lipoprotéines est très différent entre l'homme et les différents modèles de rongeurs, d'autre part, que les apports en phytostérols utilisés pour ces études sont de l'ordre de 1 à 3 % de la consommation alimentaire, ce qui correspond à des doses très supérieures à celles utilisées dans les études cliniques. Toutes ces limites rendent difficiles une extrapolation directe à l'homme des effets des phytostérols/stanols sur le développement de la plaque d'athérome.

Les autres facteurs de risque cardiovasculaires ont encore été très peu étudiés dans les modèles animaux et il est de ce fait difficile de conclure sur les effets des phytostérols et des phytostanols sur la fonction endothéliale, l'inflammation, le système antioxydant et la déformabilité des globules rouges.

3.2.2 Données chez l'Homme

3.2.2.1 Phytostérols/stanols et épaisseur intima-media (Tableau 5)

Peu d'études ont évalué chez l'homme les effets des phytostérols/stanols sur l'épaisseur intima-media. L'étude de Gylling *et al.* a comparé les effets de la consommation de margarines enrichies soit en phytostérols soit en phytostanols pendant 1 an. Ces margarines n'ont pas eu d'effet sur l'épaisseur intima-media comparé au placebo (Gylling *et al.*, 2009a). De même, l'étude cas-témoins de Raitakari *et al.* n'a pas montré d'effet d'une consommation quotidienne pendant au moins 2 ans d'une margarine enrichie en phytostanols sur ce paramètre (Raitakari *et al.*, 2008a). Dans ces deux études, le cholestérol ou le LDL-C plasmatique avait diminué avec les margarines testées par comparaison aux margarines témoins.

3.2.2.2 Phytostérols/stanols et fonction endothéliale (Tableau 5)

La dysfonction endothéliale est le reflet d'une phase précoce et réversible du développement de l'athérosclérose. Des études ont montré qu'une dysfonction endothéliale était prédictive de futurs événements cardiovasculaires. Quelques études ont analysé les effets des margarines enrichies en phytostérols ou phytostanols sur cette fonction.

Dans une étude réalisée chez des sujets hypercholestérolémiques non traités, aucune modification de la vasodilatation endothélium dépendante n'a été observée après consommation de margarines enrichies en phytostanols ou en phytostérols, malgré une baisse significative du LDL-C (Hallikainen *et al.*, 2006).

Une autre étude d'une durée plus longue (12 mois) et portant sur des sujets légèrement hypercholestérolémiques non traités, ne rapporte pas non plus d'effet de la consommation de margarines enrichies soit en phytostérols soit en phytostanols (Gylling *et al.*, 2009a).

Une étude réalisée chez des patients diabétiques de type 1, avec l'administration d'une margarine enrichie en phytostanols pendant 12 semaines, n'a pas non plus mis en évidence d'amélioration de la vasodilatation endothélium dépendante, malgré une baisse moyenne de 16 % du LDL-C (vs groupe placebo) (Hallikainen *et al.*, 2008). Il faut cependant noter le faible effectif de patients inclus dans cette étude (11 dans le groupe phytostanols et 8 dans le groupe placebo) (Hallikainen *et al.*, 2008).

Dans une étude cas-témoins, les cas étant les sujets consommant des margarines enrichies en phytostérols depuis au moins 2 ans (Raitakari *et al.*, 2008a), les auteurs rapportent une association positive, entre la durée de consommation de margarine enrichie en phytostanols et la compliance carotidienne ($P = 0,029$ après ajustement sur l'âge et le sexe, $P = 0,008$ après ajustement sur l'âge et le sexe et l'historique familial de risque de MCV). Ces résultats sont confirmés par ceux d'une étude d'intervention des mêmes auteurs réalisée chez 200 sujets hypercholestérolémiques non traités. La consommation d'une margarine enrichie en phytostanols, pendant 3 mois n'a pas entraîné d'amélioration de la vasodilatation endothélium dépendante, malgré une baisse moyenne de 9 % du LDL-C. Les auteurs observent toutefois une amélioration de l'élasticité artérielle (calculée selon la formule suivante : $(Ds-Dd)/Dd/(Ps-Pd)$, D étant le diamètre, P, la pression, s, systolique et d, diastolique) et de la vasodilatation endothélium dépendante avec la consommation de phytostanols chez les sujets ayant initialement une élasticité artérielle inférieure à la médiane (Raitakari *et al.*, 2008b).

Dans l'ensemble, ces études ne montrent pas d'effet de la consommation de phytostérols sur la vasodilatation endothélium-dépendante, malgré une baisse significative du LDL-C et des durées d'études équivalentes à celles des études sur les statines qui améliorent la fonction endothéliale. On peut faire l'hypothèse que cette incongruité pourrait s'expliquer en partie par le fait que l'ampleur de la baisse du LDL-C est bien inférieure avec les phytostérols/stanols (-10 % environ) qu'avec les statines (-30 % environ) (de Jongh *et al.*, 2003).

3.2.2.3 Phytostérols/stanols et marqueurs plasmatiques de dysfonction endothéliale et inflammation (Tableau 5)

Les marqueurs des processus d'inflammation chronique systémiques et vasculaires sont également des prédicteurs valides du risque de maladies cardiovasculaires.

La consommation de margarines enrichies en phytostérols ou en phytostanols, pendant 16 semaines par 45 patients recevant des statines, n'a pas modifié les taux de molécules d'adhésion (ICAM, VCAM-1, E-sélectine) et des marqueurs de l'inflammation CRP et MCP-1 (de Jongh *et al.*, 2008a). Plusieurs autres études montrent de la même façon une absence d'effet des phytostérols et des phytostanols (apports de 0,8 à 2,4 g/j) sur les taux circulants de molécules d'adhésion et de cytokines inflammatoires (Acuff *et al.*, 2007, Plat *et al.*, 2009, Gagliardi *et al.*, 2010, Hansel *et al.*, 2007, Bañuls *et al.*, 2010, Hallikainen *et al.*, 2006, Madsen *et al.*, 2007).

Quelques études rapportent toutefois une diminution de la concentration plasmatique de CRP. C'est le cas d'une étude testant la consommation de 2 g/j de phytostérols chez 72 sujets hyperlipidémiques (Devaraj *et al.*, 2006) et d'une étude chez des hommes souffrant de maladie coronarienne traités sous statines, chez qui la consommation d'esters de phytostanols à hauteur de 3 g/j pendant 2 mois a diminué la concentration de CRP (Cater *et al.*, 2005). Enfin, une étude chez des sujets hypercholestérolémiques non traités montre une baisse non significative de la CRP ($P = 0,07$) avec des apports de 3 g/j de phytostérols mais pas avec des apports de 1,6 g/j (Clifton *et al.*, 2008).

3.2.2.4 Phytostérols/stanols et système antioxydant (Tableau 5)

L'effet des phytostérols/stanols sur le taux de LDL-oxydées a fait l'objet de quelques études. Une étude réalisée sur 105 sujets sains recevant pendant 4 semaines une margarine apportant 2 g/j de phytostanols, ou 3 g/j de phytostanols ou une margarine témoins montre une baisse de 20 % de LDL-oxydées (Homma *et al.*, 2003). Une autre étude rapporte également une baisse de la concentration en LDL-oxydées suite à la consommation de 0,8 g/j de phytostérols, mais cet effet n'est plus significatif si on standardise ce taux par le LDL-C, suggérant que la diminution de la concentration de LDL-oxydées est due à celle des LDL (Hansel *et al.*, 2007). D'autres études n'observent toutefois pas d'effet des phytostérols et des phytostanols sur l'oxydation des LDL (de Jong *et al.*, 2008a, Bañuls *et al.*, 2010, Korpela *et al.*, 2006, Raitakari *et al.*, 2008a).

Dans une de ces dernières études, les phytostérols et les phytostanols n'ont pas modifié les taux d'enzymes antioxydantes (catalase, super oxyde dismutase, glutathion peroxydase), ni le taux de marqueurs de l'oxydation de l'ADN ou des lipides (de Jong *et al.*, 2008a).

3.2.2.5 Effet des phytostérols sur la composition et la taille des LDL

Quelques études se sont intéressées à l'effet des phytostérols/stanols sur la composition et la taille des LDL. D'après ces études réalisées sur de courtes périodes (de 3 à 8 semaines) avec des effectifs limités (de 15 à 84 sujets normo- ou légèrement hypercholestérolémiques), les phytostérols et le β -sitostanol diminueraient le nombre des particules de LDL mais ne modifieraient pas leur composition, ni leur taille (Charest *et al.*, 2005, Varady *et al.*, 2005, Blomqvist *et al.*, 1993, Carr *et al.*, 2009, Matvienko *et al.*, 2002).

Une étude chez 108 patients souffrant de syndrome métabolique rapporte cependant une réduction de 8,7 % des LDL petites et denses ($P < 0,05$) suite à la consommation de 4 g/j de phytostérols (répartis sur le déjeuner et le dîner) pendant 2 mois (Sialvera *et al.*, 2012).

Des études supplémentaires sont de ce fait nécessaires afin de pouvoir conclure sur ce point.

3.2.2.6 Effet des phytostérols sur les HDL et les triglycérides

Les concentrations plasmatiques en triglycérides et en HDL-C sont des facteurs de risque indépendant des maladies cardiovasculaires (Morrison et Hokanson, 2009, Chirovsky *et al.*, 2009).

Dans une méta-analyse réalisée à partir de 5 études d'intervention contrôlées, les auteurs émettent l'hypothèse que les phytostanols exercent un effet hypotriglycéridémiant (de 5 à 10 % selon les apports en phytostanols) uniquement chez les sujets ayant une triglycéridémie à jeun élevée (Naumann *et al.*, 2008). Une étude d'intervention a peu après testé cette hypothèse (Theuwissen *et al.*, 2009) sur 28 sujets hypertriglycéridémiques ($>1,7$ mmol/L) ayant consommé, pendant 3 semaines soit une margarine apportant 2,5 g/j d'esters de phytostanols soit une margarine contrôle sans phytostanols. Les auteurs ont observé une interaction entre la triglycéridémie basale et la consommation de phytostanols ($P=0,009$) : la consommation de phytostanols baissait la triglycéridémie de 11 % chez les sujets ayant une triglycéridémie basale élevée (supérieure à 2,3 mmol/L) mais n'avait pas d'effet chez les sujets ayant une triglycéridémie basale plus faible.

Une méta-analyse portant sur 12 études produites par le centre de recherche d'un opérateur du marché des phytostérols, a été publiée sur le sujet (Demonty *et al.*, 2012). Dans la plupart des études, les sujets étaient hypercholestérolémiques et les phytostérols étaient apportés à hauteur de 1,6-2,5 g/j. Les auteurs rapportent une baisse moyenne de triglycéridémie de 6 %. De plus, lorsque les auteurs exprimaient la baisse de la triglycéridémie en valeur absolue, une interaction ($P < 0,001$) entre la consommation de phytostérols et la triglycéridémie basale était observée. Ces résultats sont confortés par une étude récente réalisée chez 108 sujets présentant 3 des 5 critères du syndrome métabolique dont une triglycéridémie supérieure à 1,5 mmol/L. Ces sujets ont consommé pendant 2 mois soit des yaourts à boire apportant 4 g/j de phytostérols soit un yaourt à boire ne contenant pas de phytostérols. Les sujets ayant consommé les phytostérols ont eu une baisse de 19 % de leur triglycéridémie (Sialvera *et al.*, 2012).

En ce qui concerne les effets sur le HDL-C, la méta-analyse de Demonty ainsi que l'étude de Sialvera *et al.*, décrites ci-dessus ne rapportent pas d'effet des phytostérols (Demonty *et al.*, 2012, Sialvera *et al.*, 2012).

Pour conclure, quelques méta-analyses récentes semblent montrer un effet hypotriglycéridémiant des phytostanols et des phytostérols chez les sujets hypertriglycéridémiques uniquement. A contrario, le HDL-C ne semble pas affecté.

Tableau 5. Etudes chez l'homme sur les phytostérols et l'athérome

Etude	Type d'étude	Résultats
Fonction endothéliale et épaisseur Intima-Média (Raitakari <i>et al</i> , 2008a)	- 50 sujets consommateurs quotidiens de margarine enrichie en phytostanols depuis au moins 2 ans vs. 50 sujets non consommateurs	- Pas de différence entre les 2 groupes pour : <ul style="list-style-type: none"> o la vasodilatation endothélium dépendante o l'épaisseur intima-média
Fonction endothéliale et épaisseur Intima-Média (Gylling <i>et al</i> , 2009)	- étude randomisée en double aveugle avec 129 sujets légèrement à modérément hypercholestérolémiques - un groupe contrôle et 2 groupes d'intervention : margarine enrichie en phytostérols (2,15 g/j) ou en phytostanols (2,13 g/j), pendant 12 mois	- Pas de différence entre les groupes sur : <ul style="list-style-type: none"> o l'épaisseur intima/media o la vasodilatation endothélium dépendante o l'élasticité de l'artère carotidienne
Fonction endothéliale (Raitakari <i>et al</i> , 2008b)	- Etude chez 200 sujets hypercholestérolémiques non traités - Margarine enrichie en phytostanols vs margarine conventionnelle, pendant 3 mois	Absence d'amélioration de la vasodilatation endothélium dépendante, malgré une baisse moyenne de 9% du LDL-cholestérol.
Fonction endothéliale (Hallikainen <i>et al.</i> , 2006)	- 39 patients hypercholestérolémiques non traités par hypolipémiants consommant pendant 10 semaines une margarine enrichie en phytostérols puis en phytostanols vs. margarine standard pendant 10 semaines - -37 patients contrôles consommant pendant 20 semaines une margarine non enrichie	- Absence d'amélioration de la vasodilatation endothélium dépendante, avec les phytostanols et les phytostérols malgré une baisse significative du LDL-cholestérol. - Diminution significative du diamètre basal de l'artère brachiale avec les phytostérols par rapport aux phytostanols ou au groupe contrôle.
Fonction endothéliale chez enfants hypercholestérolémiques (De Jongh <i>et al</i> , 2003)	- Etude chez 41 enfants hypercholestérolémiques non traités - Margarine enrichie en phytostérols vs placebo, en cross-over, pendant 4 semaines	- Absence d'amélioration de la vasodilatation endothélium dépendante, malgré une baisse moyenne de 14% du LDL-cholestérol. (vs groupe placebo)
Fonction endothéliale chez enfants hypercholestérolémiques (Jakulj <i>et al</i> , 2006)	- Etude chez 42 enfants hypercholestérolémiques non traités - Margarine enrichie en phytostanols vs placebo, en cross-over, pendant 6 semaines	- Absence d'amélioration de la vasodilatation endothélium dépendante, malgré une baisse moyenne de 9% du LDL-cholestérol. (vs groupe placebo)
Fonction endothéliale chez patients diabétiques de type 1 (Hallikainen <i>et al</i> , 2008)	- Etude réalisée chez des patients diabétiques de type 1, comparant 11 sujets recevant une margarine enrichie en phytostanols vs 8 sujets recevant une margarine conventionnelle - Durée étude : 12 semaines	- Absence d'amélioration de la vasodilatation endothélium dépendante, malgré une baisse moyenne de 16% du LDL-cholestérol. (vs groupe placebo)

Etude	Type d'étude	Résultats
Etude sur marqueurs du stress oxydant et des fonctions endothéliales et inflammatoires (de Jong <i>et al</i> , 2008a)	- 41 sujets hypercholestérolémiques stables sous statines, consommant une margarine conventionnelle (n = 11), ou une margarine enrichie en phytostérol (2,5 g/j) (n = 15), ou en phytostanols (2,5 g/j) (n = 15) pendant 16 semaines	- Aucune modification des taux d'enzymes antioxydantes, des LDL-oxydées, des TBARS, marqueur de peroxydation lipidique, marqueur de l'oxydation de l'ADN - Aucune modification des molécules d'adhésion ICAM, VCAM-1, E-selectine, et des marqueurs de l'inflammation MCP-1, CRP
Marqueurs plasmatiques des fonctions endothéliale et inflammatoire (Gagliardi <i>et al</i> , 2010)	- 53 sujets souffrant du syndrome métabolique (critère NCEP ATP III), répartis en 3 groupes recevant soit du beurre, soit une margarine apportant 2,4g/j de phytostérols pendant 35 jours	- Pas de modification des concentrations plasmatiques en CRP, E-selectine, IL-6 et CD-40L
Marqueurs plasmatiques des fonctions endothéliale et inflammatoire (Plat <i>et al</i> , 2009)	- 36 sujets souffrant du syndrome métabolique (critère NCEP ATP III), répartis en 4 groupes - Après période de stabilisation de 3sem, les sujets reçoivent pendant 8 sem un des 4 traitements, contrôle, yaourt enrichi en phytostanols (2 g/j), simvastatine ou yaourt enrichi en phytostanols + simvastatine	- Aucune modification des molécules d'adhésion ICAM, VCAM-1, E-selectine, CD-40L et des marqueurs de l'inflammation MCP-1, IL6, CRP avec les traitements
Marqueur d'inflammation (Acuff <i>et al</i> , 2007)	- 16 sujets hyperlipidémiques ont consommé pendant 28 jours des capsules contenant des esters de phytostérols (1,3 g/j)	- Pas d'effet sur la concentration plasmatique de CRP
Marqueur d'inflammation (Devaraj <i>et al</i> , 2006)	- 72 sujets hyperlipidémiques ont consommé pendant 8 semaines du jus d'orange enrichi (2 g/j) ou non en phytostérols	- Réduction de la concentration plasmatique de CRP (-12 %). Réduction non corrélée à celle du LDL-C
Marqueur d'inflammation (Clifton <i>et al</i> , 2008)	- 151 sujets hypercholestérolémiques non traités - Consommation de 1,6 g/j puis de 3 g/j de phytostérols pendant 3 semaines pour chacune des doses	- concentration plasmatique de CRP tend à diminuer (P =0,07) après consommation de 3 g/j de phytostérols mais pas de 1,6 g/j
Marqueur d'inflammation et oxydation des LDL (Hansel <i>et al</i> , 2007)	- 194 sujets hypercholestérolémiques recevant pendant 6 semaines soit un lait allégé contenant 0,8 g/j de phytostérol, soit un lait témoins	- Pas d'effet sur la CRP - Diminution du taux de LDL-oxydée avec les phytostérols mais pas après standardisation sur le LDL-C
oxydation des LDL (Homma <i>et al</i> , 2003)	- 105 sujets sains recevant pendant 4 semaines : une margarine apportant 2 g/j de phytostanols, ou 3 g/j de phytostanols ou une margarine témoins	- Baisse de 20 % du taux de LDL-oxydée dans les 2 groupes phytostanols
Marqueurs de l'oxydation (Banuls <i>et al</i> , 2010)	- 40 sujets sains recevant pendant 3 mois : un lait apportant 2 g/j de phytostérols ou un lait non enrichi	- Pas d'effet sur la concentration plasmatique de CRP - Pas de modification des marqueurs de l'oxydation lipidique (MDA), ni du statut total en antioxydants - Diminution de la sensibilité à l'oxydation des LDL dans le groupe témoins et pas dans le groupe phytostérol

Etude	Type d'étude	Résultats
Oxydation des LDL (Korpela <i>et al</i> , 2006)	- 164 sujets modérément hypercholestérolémiques répartis en 2 groupes consommant soit des produits laitiers enrichis en phytostérols (2 g/j) soit un contrôle	- Pas d'effet sur la sensibilité des LDL à l'oxydation
Fragilité des érythrocytes (de Jong <i>et al</i> , 2006)	- 41 sujets hypercholestérolémiques stables sous statines, consommant une margarine conventionnelle (n = 11), ou une margarine enrichie en phytostérol (2,5 g/j) (n = 15), ou en phytostanols (2,5 g/j) (n = 15) - pendant 16 semaines	- Pas d'effet des phytostérols et des phytostanols sur la fragilité osmotique des érythrocytes.
Fragilité des érythrocytes (Hendriks <i>et al</i> , 2003)	- 185 sujets sains consommant une margarine conventionnelle ou une margarine enrichie en phytostérol (1,6 g/j) pendant 1 an	- Pas d'effet sur la déformabilité des érythrocytes
Fragilité des érythrocytes (Jones <i>et al</i> , 2005)	- 13 sujets hyperlipidémiques consommant un régime riche en fibres, protéine de soja, amandes et apportant environ 2 g/j de phytostérols pendant 4 semaines	- Pas de différence avant et après traitement sur la fragilité des érythrocytes - Pas de corrélation entre teneur plasmatique en phytostérols et fragilité des érythrocytes
Fragilité des érythrocytes (Jenkins <i>et al</i> , 2007)	- 55 sujets hyperlipidémiques ont reçu pendant 12 mois un régime portfolio riche en phytostérols (1 g/1000 kcal), protéines de soja, fibres et amandes	- Augmentation non significative (P = 0,107) de la fragilité osmotique des érythrocytes

3.2.2.7 Phytostérols/stanols et globules rouges

Contrairement aux données chez les rats hypertendus prédisposés aux accidents vasculaires cérébraux, celles observées chez l'Homme ne montrent pas d'effet des produits alimentaires riches en phytostérols/stanols sur la fragilité des globules rouges (de Jong *et al.*, 2006, Hendriks *et al.*, 2003, Jenkins *et al.*, 2007, Jones *et al.*, 2005), même si les phytostérols peuvent également remplacer le cholestérol dans les structures des membranes des érythrocytes (Hac-Wydro *et al.*, 2013).

3.2.2.8 Phytostérols/stanols et diamètre des veinules rétinienne

Plusieurs études ont montré une association positive entre le diamètre des veinules rétinienne et des marqueurs de l'athérosclérose (Ikram *et al.*, 2004, Tedeschi-Reiner *et al.*, 2005, Wong *et al.*, 2003, Wong *et al.*, 2002, Wang *et al.*, 2007). Par exemple, il a été montré que les sujets avec un diamètre des veinules plus élevé avaient un score de plaque carotidienne plus élevé et plus de calcification aortique que les sujets ayant un diamètre des veinules plus faible (Ikram *et al.*, 2004).

Une étude récente a évalué l'effet sur le diamètre des vaisseaux rétiniens de la consommation pendant 85 semaines d'esters de phytostérols (2,5 g/j) ou de phytostanols (2,5 g/j) (versus un contrôle) chez 30 sujets dont l'hypercholestérolémie est stabilisée par l'emploi de statines (Kelly *et al.*, 2011). Cette étude rapporte une augmentation non significative du diamètre des veinules chez les sujets ayant consommé des phytostérols mais pas des phytostanols, ainsi qu'une association positive entre la concentration plasmatique de campestérol (standardisée sur le cholestérol) et le diamètre des veinules rétinienne ($R = 0,39$, $P = 0,033$). Aucune association entre la concentration plasmatique de phytostanols et le diamètre des veinules rétinienne n'a été mise en évidence. La différence de diamètre observée suite à la consommation de phytostérols (2,3 μm) est, d'après les auteurs, à considérer comme non négligeable au regard des études d'observation citées ci-dessus. Ces changements de diamètre des veinules étaient indépendants des concentrations plasmatiques en cholestérol, LDL, HDL ou triglycérides.

3.2.2.9 Conclusion

L'effet des phytostérols et des phytostanols sur la plaque d'athérome observé sur les modèles animaux n'est pas corroboré chez l'homme au niveau de l'épaisseur intima-media par les deux études disponibles. De même, les phytostérols/stanols ne semblent pas influencer la fonction endothéliale. La majorité des études portant sur les marqueurs de l'inflammation ou de dysfonction endothéliale ne montrent pas d'effet, même si quelques études rapportent une baisse de la CRP. La concentration plasmatique de LDL-oxydées pourrait diminuer du fait de la baisse de LDL-C. Les phytostérols/stanols pourraient exercer un effet hypotriglycéridémiant chez les sujets présentant une hypertriglycéridémie. Cependant, ils n'ont pas d'effet sur la fragilité des globules rouges. Enfin, un effet potentiellement délétère des phytostérols sur le diamètre des veinules rétinienne est évoqué dans une étude d'intervention et mérite d'être confirmé par d'autres.

3.3 Quels sont les effets des phytostérols et des phytostanols sur les vitamines liposolubles ?

L'absorption des vitamines liposolubles est très liée à celle des lipides dont elle suit les différentes étapes. Leur absorption est diminuée en cas de malabsorption des lipides et est sensible aux modifications des lipides ingérés. Du fait de l'action des phytostérols sur l'absorption des lipides, leur effet sur l'absorption des vitamines liposolubles a été étudié à plusieurs reprises.

3.3.1 Description des protocoles d'étude

Quarante-six études d'intervention, menées chez l'homme entre 1998 et 2012, ont évalué l'effet d'une supplémentation en phytostérols et/ou en phytostanols sur les teneurs plasmatiques ou sériques des vitamines liposolubles et/ou de leurs précurseurs. Ces études sont présentées dans l'**Annexe 2**. Parmi ces études, trois sont des études de biodisponibilité (Relas *et al.*, 2001, Richelle *et al.*, 2004b, Granado-Lorencio *et al.*, 2011).

Les doses de phytostérols/stanols utilisées sont le plus souvent celles reconnues pour avoir un effet sur le LDL-C (2 à 3 g/j), parfois moins (de 1,1 à 1,8 g/j) (Sanchez-Muniz *et al.*, 2009, Amundsen *et al.*, 2004, Hansel *et al.*, 2007, Hendriks *et al.*, 2003, Tuomilehto *et al.*, 2009). Dans quelques cas, la dose administrée a été très élevée (> 5 g/j jusqu'à 9 g/j) (Tuomilehto *et al.*, 2009, Clifton *et al.*, 2004, Gylling *et al.*, 2010, Mensink *et al.*, 2010). Concernant les vecteurs alimentaires, la margarine est de loin le vecteur le plus utilisé, suivie très loin derrière par les produits laitiers (type lait et yaourts) et les produits céréaliers (type viennoiseries, céréales du petit-déjeuner, boisson à base d'avoine et pain). Le plus souvent, il s'agit de groupes parallèles en double aveugle, parfois de cross-over. Le nombre de sujets varie de 15 à 207. Les durées de prise de phytostérols/stanols sont variables, allant de 3 à 8 semaines, rarement plus longues : seules 3 études ont une durée de plus de 5 mois (Amundsen *et al.*, 2004, Hendriks *et al.*, 2003, Gylling *et al.*, 2010).

Les margarines sont parfois enrichies en vitamines liposolubles (Amundsen *et al.*, 2004) mais le plus souvent ceci n'est pas précisé. Le régime associé est le plus souvent l'alimentation habituelle, parfois hypolipidique (Hallikainen *et al.*, 1999, Homma *et al.*, 2003) ou modérément hypolipidique (Judd *et al.*, 2002, Sanchez-Muniz *et al.*, 2009, Mensink *et al.*, 2002, Hernandez-Mijares *et al.*, 2010). Dans trois études, l'effet de l'adjonction d'un apport élevé en fruits et légumes est analysé (Clifton *et al.*, 2004, Noakes *et al.*, 2002b, Amundsen *et al.*, 2002). La comparaison d'une alimentation contrôlée hypolipidique et d'une alimentation libre a également été étudiée (Hernandez-Mijares *et al.*, 2010).

Dans la majorité des études, les résultats portant sur les concentrations plasmatiques ou sériques en vitamines liposolubles et de leurs précurseurs sont exprimés après standardisation ou ajustement sur le LDL-C, voire sur le cholestérol total, mais il n'existe pas d'uniformité dans la façon d'exprimer les résultats. Selon Mensink *et al.*, puisque les antioxydants plasmatiques solubles dans les lipides sont transportés par les lipoprotéines, une diminution en lipides plasmatiques peut être la cause de la diminution des concentrations en antioxydants liposolubles (Mensink *et al.*, 2002). Par ailleurs, cette standardisation limite la variabilité interindividuelle en raison des différences importantes de concentration en cholestérol selon les individus au sein d'une même étude. Le mode d'expression a également pour conséquence, dans le cas des phytostérols/stanols, de limiter la baisse des caroténoïdes plasmatiques, étant donné la baisse de LDL-C induite par les phytostérols/stanols.

Le rapport des concentrations en vitamines liposolubles sur le LDL-C, peut être un bon indicateur pour estimer la sensibilité à l'oxydation des LDL ou pour coprendre la cause d'une variation des vitamines liposolubles, mais n'apparaît pas être un indicateur pertinent dans le cas présent. Les études de biodisponibilité restent les plus appropriées pour évaluer l'effet des phytostérols/stanols sur l'absorption des vitamines liposolubles.

L'analyse a le plus souvent porté sur les caroténoïdes, parfois la vitamine E et rarement sur la vitamine D (Raeini-Sarjaz *et al.*, 2002, Gylling *et al.*, 1999, Gylling *et al.*, 2010, Korpela *et al.*, 2006, Clifton *et al.*, 2004), la vitamine A (Gylling *et al.*, 2010, Korpela *et al.*, 2006, Clifton *et al.*, 2004, Raeini-Sarjaz *et al.*, 2002, Plat et Mensink, 2001, Amundsen *et al.*, 2004, Homma *et al.*, 2003, Judd *et al.*, 2002) et la vitamine K (Raeini-Sarjaz *et al.*, 2002, Korpela *et al.*, 2006, Heggen *et al.*, 2010). La mesure du statut vitaminique a toujours été réalisée sur les concentrations plasmatiques, jamais sur d'autres tissus ou liquides biologiques.

3.3.2 Principaux résultats

Le **Tableau 6** synthétise les résultats issus des études évaluant l'effet des phytostérols et des phytostanols sur les concentrations en vitamines liposolubles en excluant les études où les vecteurs alimentaires sont enrichis en vitamines liposolubles et/ou leurs précurseurs, et celles où le régime est enrichi en fruits et légumes.

Sur 28 études, aucune diminution significative des concentrations en vitamine A (rétinol) n'a été rapportée. En ce qui concerne les vitamines D, E et K, le γ - et le δ -tocophérol, la grande majorité des études ne montrent pas d'effet significatif (**Tableau 6** et **Annexe 2** pour le détail des études). Une majorité d'études rapportent une diminution du β -carotène (25 contre 10 études non significatives) et dans une moindre mesure de l' α -tocophérol (18 contre 14 études non significatives), tandis que les résultats sont très hétérogènes pour l' α -carotène (14 études montrent une diminution des concentrations et 11 aucun effet) et la β -cryptoxanthine (7 études montrent une diminution des concentrations et 12 aucun effet). Les baisses observées sont de l'ordre de 20 % pour le β -carotène et de 10 % pour l' α -tocophérol (voir **Annexe 2**).

Après l'arrêt de la supplémentation en phytostérols/stanols la concentration plasmatique en caroténoïdes augmente à nouveau (Gylling *et al.*, 1999).

Par ailleurs, l'effet des phytostérols/stanols sur les concentrations en vitamines liposolubles pourrait être dépendant de plusieurs paramètres tels que la dose de phytostérols/stanols, la répartition des prises dans la journée ou la durée de suivi.

En ce qui concerne la dose de phytostérols consommés, quelques études ont abordé cet effet. Une étude comparant les effets de 0,85, 1,62 ou 3,26 g/j de phytostérols pendant 3,5 semaines, rapporte une baisse de α + β -carotène plus marquée avec la dose la plus forte (Hendriks *et al.*, 1999). De la même façon, une autre étude rapporte une baisse de l' α -tocophérol avec 3 g/j de phytostanols mais pas avec 2 g/j (Homma *et al.*, 2003). Davidson *et al.* rapportent également un effet dose sur la baisse de l' α - et du β -carotène à 9 g/j mais pas à 6 ou 3 g/j. A contrario, deux études ne rapportent pas de différence pour 1,5 et 3 g/j de phytostérols (Christiansen *et al.*, 2001) et pour 3, 6 ou 9 g/j de phytostanols (Mensink *et al.*, 2010).

A notre connaissance une seule étude a traité de la question du nombre de prise, en comparant les effets de 2,5 g/j de phytostanols apportés en une ou 3 prises. La baisse des caroténoïdes hydrocarbonés était plus marquée avec une prise unique qu'avec 3 prises (Plat *et al.*, 2000a).

En ce qui concerne la durée de consommation des phytostérols, Hendricks *et al.* ont observé un effet sur le rapport α -carotène/LDL-C et le rapport β -cryptoxanthine/LDL-C à 52 semaines mais pas à 26 semaines, les autres paramètres n'étant pas différents entre les deux dates (Hendriks *et al.*, 2003). La plupart des études a cependant été réalisée avec des durées plus courtes. Si on compare les études de durée supérieure à 3 mois et celles inférieures à 3 mois (**Annexe 2**), 2 rapportent une baisse du β -carotène suite à la consommation de phytostérols (Hernandez-Mijares *et al.*, 2010, Gylling *et al.*, 1999) et 2 ne rapportent pas d'effet (Bañuls *et al.*, 2010, Christiansen *et al.*, 2001). Il est donc difficile de conclure sur l'effet de la durée de consommation sur la base de ces études, d'autres paramètres étant variables par ailleurs.

Un autre paramètre important à considérer est le régime alimentaire suivi par les sujets pendant l'étude. Selon les études, les sujets suivent leur régime habituel, qui est plus ou moins caractérisé, ou suivent un régime « sain » ou enrichi en fruits et légumes. Une étude rapporte une baisse du β -carotène suite à la consommation de phytostérols lorsque les sujets consomment leur régime habituel, mais pas lorsque les sujets consomment un régime « sain » (Hernandez-Mijares *et al.*, 2010). Cet effet est confirmé par le fait qu'un apport supplémentaire en fruits et légumes corrige la diminution des concentrations plasmatiques en β -carotène (Noakes *et al.*, 2002b) ou l'augmente (Amundsen *et al.*, 2002, Clifton *et al.*, 2004). Une autre étude ne rapporte toutefois pas cet effet protecteur d'un régime riche en fruits et légumes, mais la consommation de phytostérols était très élevée (6,6 g/j). Les auteurs émettent l'hypothèse que les sujets n'ont pas atteints les niveaux de consommation de fruits en légumes recommandés (Clifton *et al.*, 2004).

Compte-tenu de l'utilisation prépondérante de la margarine comme vecteur alimentaire, il est difficile d'évaluer l'effet de la matrice alimentaire sur les teneurs en vitamines liposolubles et dérivés.

Seules trois études évaluant l'effet des phytostérols ou des phytostanols sur la biodisponibilité des vitamines liposolubles ont été réalisées chez l'homme. Dans la première étude, la prise unique de 1 g d'esters de phytostanols, incorporé dans un repas test riche en rétinol, α -tocophérol, et en graisses ne modifie pas l'aire sous la courbe en post prandial (24 heures) des vitamines A et E et du β -carotène (Amundsen *et al.*, 2004). Dans une seconde étude utilisant des traceurs radiomarqués, la prise de 2,2 g/j de phytostérols pendant 1 semaine dans du lait écrémé entraîne une réduction de 50 % du β -carotène et de 20 % de l' α -tocophérol incorporés dans les chylomicrons (sur 9 heures), surtout avec les phytostérols estérifiés comparativement aux phytostérols libres (Richelle *et al.*, 2004b). Plus récemment, après consommation par 36 volontaires d'une boisson aux fruits à base de lait enrichi en β -cryptoxanthine associé ou non aux phytostérols (2 g/j)

durant 4 semaines, il a été clairement montré que l'ajout de phytostérols n'avait aucun effet sur la biodisponibilité de la β -cryptoxanthine et aussi sur sa bioaccessibilité *in vitro* (mesurée avec un digesteur modélisant la digestion gastro-intestinale) (Granado-Lorencio *et al.*, 2011).

Ainsi, de nombreux paramètres expérimentaux peuvent influencer l'effet des phytostérols/stanols sur les concentrations en vitamines liposolubles. Toutefois, la majorité des études rapportent une baisse de la concentration de β -carotène, de l'ordre de 20 % en moyenne. Ces résultats sont confortés par la seule étude de biodisponibilité du β -carotène utilisant des traceurs radiomarqués qui montre une baisse de son absorption suite à la consommation quotidienne de phytostérols, mais d'autres études s'avèrent nécessaires pour conclure.

La consommation de phytostérols/stanols ne semble pas avoir d'influence sur les autres vitamines liposolubles, probablement du fait de différences entre les mécanismes d'absorption et de transport des vitamines liposolubles et des caroténoïdes (Borel, 2009).

Tableau 6. Etudes d'intervention rapportant les effets d'aliments enrichis en phytostérols/stanols sur les concentrations en vitamines liposolubles et caroténoïdes précurseurs de la vitamine A.

	Nombre de sujets	Durée (sem)	Dose (g/j)	Vitamine A (rétinol)	Vitamine D	Vitamine E (tocophérols totaux)	Vitamine K (phylloquinone)	α-tocophérol	γ-tocophérol	δ-tocophérol	β + γ-tocophérols	α-carotène	β-carotène	α + β-carotène	(β-) Cryptoxanthine
Nombre de résultats				25NS	14NS 2A 2D	3 NS	11NS 3D	18D 14NS	11NS 2D	4NS 1D	3NS	14D 12NS	25D 10NS 1A	5D	13NS 7D
Variation des données	15-207	3,5-61	0,85-9	NS	+18 % -17 %	NS	NS -14 %	NS -16 %	NS -12 %	NS -10 %	NS -13 %	NS -42 %	+17 % -47 %	-8 % -43 %	NS -32 %

¹ Les études incluant des aliments enrichis en vitamines liposolubles ou leurs précurseurs et les études incluant des régimes enrichies en fruits et légumes ont été exclues des calculs pour ce tableau. Pour les études rapportant l'effet de doses multiples ou de plusieurs durées de traitement, chaque mesure est rapportée dans le tableau. Pour le détail des études, voir **annexe 2**
A, augmentation, D diminution, NS, Non Significatif.

3.3.3 Signification biologique

Dans la mesure où dans les études répertoriées ci-dessus, les concentrations plasmatiques de caroténoïdes sont les plus souvent réduites par la consommation de phytostérols/stanols, seule la pertinence en termes de santé publique de la réduction du β -carotène est évaluée ici. En effet, les caroténoïdes peuvent notamment réduire la progression des maladies cardiovasculaires et leur niveau plasmatique/sérique a souvent été observé comme étant inversement associé avec le risque cardiovasculaire (Voutilainen *et al.*, 2006, Kritchevsky, 1999, Palace *et al.*, 1999, Kohlmeier et Hastings, 1995). De même, la consommation de légumes et fruits riches en caroténoïdes a été associée à un risque moindre de maladies cardiovasculaires (Gaziano *et al.*, 1995). Dans ce cadre, les études d'observation sont adaptées à ce type d'analyse, étant entendu qu'il ne s'agit pas de montrer l'intérêt d'une supplémentation (études d'intervention) en caroténoïdes.

L'étude LRC CPPT (Morris *et al.*, 1994) a montré, après 13 ans de suivi, que les hommes appartenant au plus haut quartile de concentration plasmatique en caroténoïdes avaient une réduction du risque de coronaropathie de 38 % (ceux n'ayant jamais fumé avaient une diminution de 72 %) comparativement à ceux du plus bas quartile : la différence des concentrations plasmatiques des 2 quartiles extrêmes était de 26 %.

En 1998, Kritchevsky *et al.* montraient chez 12 773 participants de la Atherosclerosis Risk in Communities Study que ceux qui étaient dans les plus hauts quintiles de consommation de caroténoïdes avec une activité provitaminique A avaient une prévalence plus basse de plaques athéromateuses (-25 % chez les femmes et -36 % chez les hommes) (Kritchevsky *et al.*, 1998).

Dans la Rotterdam Study (Klipstein-Grobusch *et al.*, 2000) un sous-groupe de la population a fait l'objet d'une analyse cas-témoins : une concentration plasmatique élevée de lycopène (quartile haut) était associée à une réduction non significative du risque d'athérosclérose (OR = 0,55, P = 0,13). La différence de concentration plasmatique entre les quartiles extrêmes était de 65 %. L'effectif des 2 groupes était faible (109 et 108).

Dans la Women's Health Study (Sesso *et al.*, 2004), 28 345 femmes ont eu un dosage plasmatique de caroténoïdes et ont été suivies 4,8 ans. Après ajustements multiples, les sujets du plus haut quartile de concentration plasmatique en caroténoïdes ont une réduction significative de 33 % du risque de maladie cardiovasculaire (P = 0,05) comparativement à ceux du plus bas quartile. La différence de concentration plasmatique en caroténoïdes des deux quartiles extrêmes était de 44 %. Les sujets du plus haut quartile par rapport à ceux de la moitié la plus basse ont eu aussi un risque réduit de 34 % (RR = 0,66) : l'écart entre les concentrations plasmatiques n'était que de 22 %.

Dans l'étude SENECA (Buijsse *et al.*, 2005) qui a suivi 1168 sujets âgés pendant 10 ans, la concentration plasmatique de β -carotène est associée à une moindre mortalité (-29 %) pour un accroissement de 0,39 $\mu\text{mol/L}$, ce qui correspond au tiers de la concentration plasmatique de β -carotène du tertile le plus élevé.

Dans une étude sur des sujets japonais (hommes et femmes), il a aussi été montré que des niveaux sériques élevés de caroténoïdes et d'activité pro-vitaminique A pouvaient significativement réduire le risque de mortalité par maladies cardiovasculaires, notamment par arrêt cardiaque, alors que des niveaux sériques élevés de certains xanthophylles, de rétinols et de tocophérols ne le permettaient pas (Ito *et al.*, 2006b, Ito *et al.*, 2006a). Des résultats tout à fait similaires ont été observés chez 672 adultes âgés provenant des MacArthur Studies of Successful Aging (Hu *et al.*, 2006).

Par ailleurs, une étude cas-témoins de petite taille comparant 50 témoins, 39 sujets présentant un syndrome coronarien aigu et 50 patients avec une maladie coronarienne stable rapporte des concentrations plasmatiques plus basses de β -cryptoxanthine (-41 %) chez les sujets cas comparativement aux témoins (Lidebjer *et al.*, 2007).

Plus récemment, dans l'étude CARDIAC, il a été montré chez 300 hommes et femmes écossaises à haut risque de maladies coronariennes que les niveaux de caroténoïdes sanguins totaux étaient très bas ($0,18 \pm 0,13 \mu\text{g/mL}$ en moyenne) et significativement associés avec le risque coronarien, confirmant ainsi la recommandation de consommer davantage d'aliments riches en caroténoïdes comme les légumes (Miyashita *et al.*, 2011).

Ainsi, la baisse des caroténoïdes plasmatiques (de l'ordre de 20 %) observée suite à l'ingestion de phytostérols/stanols pourrait avoir une signification biologique en termes de risque cardiovasculaire. Toutefois cela ne préjuge pas du lien de cause à effet entre cette baisse et les pathologies considérées.

3.3.4 Conclusion

Ainsi, il est avéré (i) qu'une consommation régulière, et, surtout, prolongée, d'aliments enrichis en phytostérols/stanols (telle que préconisée par l'étiquetage), entraîne une réduction substantielle du bêta-carotène plasmatique (ii) que cette baisse pourrait être atténuée voire annulée par une augmentation de la consommation de fruits et légumes.

De plus, une augmentation du risque cardiovasculaire a été observée pour des différences de concentration plasmatique en β -carotène de même ampleur que la diminution observée chez les sujets consommant des phytostérols/stanols.

3.4 Quels sont les effets des phytostérols sur la phytostérolémie ? Quelles conséquences sur le risque cardiovasculaire ?

3.4.1 Effet sur la phytostérolémie

La sitostérolémie (ou phytostérolémie) est une maladie rare caractérisée par une absorption accrue des phytostérols due à une mutation des transporteurs ABCG5/ABCG8. Elle est caractérisée par des taux plasmatiques élevés de phytostérols (en particulier sitostérol et campestérol). Cette pathologie est associée à un risque cardiovasculaire très augmenté, lié au développement rapide, sur les parois artérielles, de plaques lipidiques riches en phytostérols (Salen *et al.*, 1992). Cette situation particulière pose la question d'un éventuel risque cardiovasculaire associé à toute augmentation du taux plasmatique de phytostérols. Cette question est pertinente dans la mesure où il est observé, après consommation de produits enrichis en phytostérols (apport moyen de 1,1 g/j), une augmentation significative des taux plasmatiques de sitostérol (+22 %) et campestérol (+103 %) et, après prise de produits enrichis en phytostanols (apport moyen de 0,6 g/j), une élévation des concentrations plasmatiques de sitostanol (+197 %) et campestanol (+196 %) (Fransen *et al.*, 2007). On peut suspecter des modifications plus marquées après des consommations de 2-3 g/j (Voir Tableau 7). Une méta-analyse récente a estimé l'augmentation des phytostérols plasmatiques suite à l'ingestion d'aliments enrichis en phytostérols (Ras *et al.*, 2013). Basée sur les résultats de 41 études, cette méta-analyse estime l'augmentation moyenne des phytostérols à 31 % (2,24 µmol/L) pour le sitostérol et à 37 % (5,00 µmol/L) pour le campestérol, pour des consommations moyennes de 1,6 g/j de phytostérols. Avec des apports plus élevés de phytostérols (2-3,2 g/j), l'augmentation de la concentration plasmatique sitostérol peut atteindre 42 % et celle de campestérol 48 %. La réponse aux phytostérols alimentaires semble également dépendre de la concentration basale en phytostérols. Dans les études où les sujets avaient des concentrations basales plus élevées, l'augmentation en valeur absolue des concentrations de sitostérol et de campestérol était plus grande. Les auteurs émettent l'hypothèse que les sujets ayant une concentration basale élevée ont une capacité d'absorption de phytostérols plus élevée.

Une quintuple augmentation de la teneur en phytostérols a également été observée dans les valves cardiaques de sujets consommant des esters de phytostérols (Weingärtner *et al.*, 2008). Des phytostérols ont été retrouvés dans la paroi carotidienne, avec des teneurs proportionnelles aux teneurs plasmatiques (Miettinen *et al.*, 2005). Enfin, les études animales montrent une incorporation des phytostérols dans le foie et le cerveau (Vanmierlo *et al.*, 2012, Weingärtner *et al.*, 2011). Ainsi, on ne peut pas totalement exclure que cette augmentation des concentrations plasmatiques de phytostérols et phytostanols n'ait pas, à long terme, des conséquences défavorables.

Par ailleurs, il a été rapporté le cas d'une femme âgée de 59 ans, présentant une hypercholestérolémie avec intolérance aux différents hypolipémiants pour laquelle l'option d'une consommation régulière de margarine enrichie en phytostérols avait été prise (Vergès *et al.*, 2009). Dix huit mois après l'instauration de ce régime riche en phytostérols, l'apparition de xanthelasma était notée chez la patiente, alors que la concentration plasmatique de LDL-C avait été réduite de 2,33 g/L à 1,74 g/L. Cette patiente présentait également une augmentation importante de la concentration plasmatique de campestérol à 66 µg/mL pour des normes inférieures à 10 µg/mL. Trois mois après l'arrêt de la consommation de margarines enrichies en phytostérols, le taux de campestérol s'était normalisé. En outre, cette patiente ne présente pas de mutations des transporteurs ABCG5/ABCG8 témoignant que la patiente ne souffrait pas de phytostérolémie (Vergès *et al.*, 2009). Cette observation de dépôts lipidiques induits par la consommation de margarine enrichie en phytostérols peut faire craindre, à moyen et long termes, un effet délétère sur le système cardiovasculaire, de l'augmentation des taux plasmatiques de phytostérols ou phytostanols induite par ces produits alimentaires.

Tableau 7. Concentrations en phytostérols et phytostanols selon le statut physiologique des sujets et leur niveau de consommation

		Concentration plasmatique de sitostérol (µmol/L)	Concentration plasmatique de campestérol (µmol/L)	Concentration plasmatique de sitostanol (µmol/L)	Concentration plasmatique de campestanol (µmol/L)
Sujet hyperphytostérolémique (Salen <i>et al.</i>, 1992)		360-1350	200-600	70-140	37-100
Sujet sain (Fransen <i>et al.</i>, 2007)	consommateurs de phytostérols à baseline	8,45	10,8	0,16	0,14
	Après consommation de phytostérols (1,1 g/j en moyenne)	9,8	20,5	0,13	0,08
	Consommateurs de phytostanols à baseline (Fransen <i>et al.</i>, 2007)	7,09	9,58	0,14	0,13
	Après consommation de phytostanols (0,6 g/j en moyenne) (Fransen <i>et al.</i>, 2007)	5,42	8,06	0,38	0,35
Sujet sain (Clifton <i>et al.</i>, 2008)	Consommation basale	5,5	9,0	-	-
	Après consommation de 1,6 g/j de phytostérols	11	18	-	-
	Après consommation de 3 g/j de phytostérols	13	21	-	-

3.4.2 Conséquences sur le risque cardiovasculaire

Plusieurs études ont recherché une éventuelle association entre les taux plasmatiques de phytostérols et le risque cardiovasculaire. Parmi ces études, 11 études (7 études cas-témoins, 2 études de cohorte, 3 études anatomo-biologiques) ont mis en évidence une association positive significative entre les taux plasmatiques de phytostérols et le risque cardiovasculaire, 4 études (de type cas-témoins) n'ont pas objectivé d'association entre les phytostérols plasmatiques et l'atteinte cardiovasculaire, enfin 3 études (2 études cas-témoins, 1 étude de cohorte) ont rapporté une association négative entre les taux plasmatiques de phytostérols/stanols et le risque cardiovasculaire.

Il faut souligner que ces études ont été réalisées dans des populations ne consommant pas nécessairement des produits enrichis en phytostérols/stanols et donc ayant des concentrations plasmatiques inférieures à celles observées chez les consommateurs (voir **Tableaux 7, 8, 9, 10**).

3.4.2.1 Etudes mettant en évidence une association positive entre taux plasmatiques de phytostérols et risque cardiovasculaire

3.4.2.1.1 *Etudes cas-témoins (Tableau 8)*

Dans l'étude Dallas Heart Study, réalisée chez 3252 sujets, il a été observé, chez les 595 sujets ayant une hypercholestérolémie, une augmentation significative du risque cardiovasculaire, chez les personnes présentant des taux élevés de stigmastérol et de campestérol, indépendamment du taux de cholestérol plasmatique (Glueck *et al.*, 1991).

Dans une autre étude cas-témoins réalisée chez des femmes ménopausées, il a été constaté une augmentation des ratios campestérol/cholestérol et sitostérol/cholestérol chez les femmes coronariennes. Dans cette étude, les ratios campestérol/cholestérol et sitostérol/cholestérol étaient des facteurs prédictifs

d'évènements cardiovasculaires indépendamment des autres facteurs de risque (Rajaratnam *et al.*, 2000, Gylling *et al.*, 2009b).

Dans une étude cas-témoins allemande, les concentrations de sitostérol et de campestérol, le rapport sitostérol/cholestérol et le rapport campestérol/cholestérol étaient plus élevés chez les sujets avec antécédents familiaux de cardiopathie ischémique que chez les personnes sans antécédents familiaux de cardiopathie ischémique (Sudhop *et al.*, 2002a).

Dans l'étude allemande PROCAM, il a été retrouvé, dans un sous-groupe comprenant 159 hommes coronariens et 318 hommes témoins, une association entre la concentration plasmatique en sitostérol et le risque d'évènements coronariens (Assmann *et al.*, 2006). Dans cette étude, les sujets du quartile supérieur de sitostérolémie avaient un Odds Ratio d'accidents cardiovasculaires de 1,8 ($P = 0,014$) comparé aux sujets des trois autres quartiles. Chez les sujets avec un risque cardiovasculaire supérieur à 20 % à 10 ans, les taux élevés de sitostérol étaient associés à un sur-risque prononcé (Odds Ratio = 3, $P = 0,032$). Il faut noter cependant, que dans cette étude, l'ajustement a été limité à l'âge et au tabac (Assmann *et al.*, 2006).

Dans l'étude Framingham Offspring Study, réalisée chez 569 sujets dont 155 avec maladie coronaire, non traités par hypolipémiants, les concentrations plasmatiques de sitostérol et campestérol étaient significativement plus élevées chez les patients coronariens (Matthan *et al.*, 2009). Cette association persistait, en analyse multivariée, après ajustement sur les autres facteurs de risque cardiovasculaire : campestérol (OR = 2,47 [1,71-3,56]) et sitostérol (OR = 1,86 [1,38-2,50]) (Matthan *et al.*, 2009).

Enfin, une large étude génomique a été réalisée sur les polymorphismes non codants d'ABCG5/G8 (les variations génétiques avec peu ou pas d'effet génotypique). Elle montre, à partir d'une population de 13764 patients atteints de maladies des coronaires et de 13630 sujets témoins, que les allèles des polymorphismes associés à une augmentation des concentrations plasmatiques de phytostérols sont également associés à une augmentation du risque de maladie coronarienne (Teupser *et al.*, 2010). Dans cette étude, les variants qui augmentent les phytostérols augmentent également modérément le cholestérol, ce qui ne permet pas de conclure sur les causalités de la relation phytostérol/risque coronarien. Cependant, les variants génétiques expliquent environ 8 % de la variance des phytostérols pour seulement 0,05% de cholestérol. Une méta-analyse récente (Silbernagel *et al.*, 2013) montre cependant que ces polymorphismes sont associés à une augmentation du rapport cholestérol/cholestérol, indice d'absorption du cholestérol indépendant des phytostérols, et que cet indice est significativement augmenté chez les patients atteints de maladie cardiovasculaire. Les auteurs concluent qu'une forte capacité d'absorption constitue un risque, plutôt qu'une forte phytostérolémie.

Tableau 8. Etudes cas-témoins mettant en évidence une association positive entre taux plasmatiques de phytostérols et risque cardiovasculaire

Etude	Population étudiée	Résultats	Valeurs de phytostérols	Commentaires
Etude DALLAS (Glueck <i>et al.</i> , 1991)	Sous-groupe de 585 sujets hypercholestérolémiques âge: 58,2 ± 14,1	Chez sujets ayant phytostérolémie élevée: ↗ du risque CV de 42 % ainsi que chez leurs apparentés (P = 0,013)	Population totale (n=595)* • Campestérol: 5,2 ± 3,9 µmol/L • Stigmastérol: 4,1 ± 4,0 µmol/L • Sitostérol: 7,2 ± 3,9 µmol/L Patients avec risque CV ↗ (n=21)* • Campestérol: 14,8 µmol/L • Stigmastérol: 9,1 µmol/L • Sitostérol: 15,1 µmol/L	
Etude chez femmes ménopausées (Rajaratnam <i>et al.</i> , 2000)	48 Femmes CAD + (BMI= 26,0 ± 0,6) 61 Femmes CAD- (BMI= 26,7 ± 0,6) âge: 53,1 ± 0,5 (CAD+); 53,6 ± 0,4 (CAD-)	En analyse multivariée, les ratios sitostérol/cholestérol (OR = 1,01 ; 1,00-1,03) et campestérol/cholestérol (OR = 1,01 ; 1,00-1,01) sont associés à la maladie coronaire	Patients sans maladie coronaire* • Campestérol: 12,3 ± 0,6 µmol/L • Sitostérol: 6,5 ± 0,3 µmol/L Patients avec maladie coronaire* • Campestérol: 15,2 ± 1,1 µmol/L (P<0,05) • Sitostérol: 8,0 ± 0,5 µmol/L (P<0,05) La différence est aussi significative quand les concentrations de phytostérols sont rapportées à celle du cholestérol	ajustement sur l'âge, l'IMC, les antécédents familiaux, le tabagisme, l'hypertension, le LDL-C, le HDL-C, les triglycérides et l'hémoglobine glyquée
Etude cas-témoins allemande (Sudhop <i>et al.</i> , 2002a)	26 sujets avec vs 27 sujets sans antécédents familiaux de CHD âge: cas 60,9 ± 7,5; témoins 64,0 ± 7,6 sujets sans traitement hypolipémiant	Les taux de sitostérol (P = 0,004), de campestérol (P = 0,011), les ratios sitostérol/chol (P = 0,004) campestérol/chol (P = 0,006) sont plus élevés chez sujets avec antécédents familiaux de CHD	Patients sans ATCD fam de CHD* • Campestérol: 9,5 ± 4,0 µmol/L • Sitostérol: 7,5 ± 2,7 µmol/L Patients avec ATCD fam de CHD* • Campestérol: 12,5 ± 4,2 µmol/L • Sitostérol: 9,6 ± 2,6 µmol/L	L'analyse de covariance n'a pas montré d'influence du genre, de l'âge, des triglycérides, du cholestérol total, LDL-C, et HDL-C sur les résultats
Etude PROCAM (Assmann <i>et al.</i> , 2006)	Etude chez 477 hommes dont 159 coronariens (sujets coronariens: IMC= 26,9 ± 2,8; sujets non coronariens: IMC= 26,6 ± 3,1) âge: 52,7 ± 7,0	- sitostérolémie plus élevée chez patients CAD+ vs CAD- (P = 0,023) - Quartile sup de sitostérolémie (vs 3 autres quartiles: OR d'événement CV = 1,8 (P = 0,014) Chez patients à haut risque CV (> 20 % à 10 ans), OR = 3 (P = 0,03) Association similaire entre ratio sitostérol/cholestérol et risque CV (P = 0,03)	Patients sans maladie coronaire: • Sitostérol: 4,27 ± 2,38 µmol/L Patients avec maladie coronaire: • Sitostérol: 4,94 ± 3,44 µmol/L	Ajustement sur âge et tabac
Etude génétique (Teupser <i>et al.</i> , 2010)	Population de 13764 patients CAD+ et 13630 patients CAD-	Mise en évidence de variants génétiques (ABCG5/ABCG8) associées à une ↗ des taux de phytostérols plasmatiques et à une ↗ concordante du risque d'accidents CV		Etude puissante Ajustement sur âge, sexe et IMC

Etude	Population étudiée	Résultats	Valeurs de phytostérols	Commentaires
Framingham Offspring Study (Matthan <i>et al.</i> , 2009)	569 sujets dont 155 avec maladie coronaire, non traités par hypolipémiants (sujets coronariens: IMC = 28,9 ± 0,4; sujets non coronariens: IMC = 29,0 ± 0,2) âge: 67,5 ± 0,7 (CAD+); 66,4 ± 0,4 (CAD-)	Après ajustement sur autres facteurs de risque CV: - sitostérol: OR = 1,86 (1,38-2,50) - campestérol: OR = 2,47 (1,71-3,56) pour atteinte CV	Patients <u>sans</u> maladie coronaire • Campestérol/chol, Ratio (mmol/mol): 1,95 ± 0,04 • Sitostérol/chol, Ratio (mmol/mol): 1,49 ± 0,03 Patients <u>avec</u> maladie coronaire • Campestérol/chol, Ratio (mmol/mol): 2,29 ± 0,07 • Sitostérol/chol, Ratio (mmol/mol): 1,68 ± 0,06	Ajustement sur : la pression sanguine, le LDL-C, HDL-C, les triglycérides, les médicaments contre le diabète ou l'hypertension
Etude chez femmes ménopausées (Gylling <i>et al.</i> , 2009b)	Femmes ménopausées; 47 avec maladie coronaire, 62 sans maladie coronaire	- sitostérolémie et campestérolémie plus élevées chez patients CAD+ vs CAD- (P = 0,017 et 0,051 respectivement) Ratio campestérol/cholestérol (+26%) Ratio sitostérol/cholestérol (+26%) significativement plus élevés chez femmes CAD+ versus femmes CAD-	Patients <u>sans</u> maladie coronaire* • Campestérol 12,3 ± 0,6 µmol/L • Sitostérol 6,5 ± 0,3 µmol/L Patients <u>avec</u> maladie coronaire* • Campestérol 16,0 ± 1,3 µmol/L • Sitostérol 8,4 ± 0,6 µmol/L	

ATCD fam, antécédent familiaux, CAD, maladie des coronaires, CHD, coronary heart disease (coronaropathies), CV, cardiovasculaire, IMC, indice de masse corporelle, OR, odds ratio, RR, risque relatif

*concentrations rapportées dans l'article converties à partir des masses molaires de sitostérol (414,7 g/mol), campestérol (400,7 g/mol) et stigmastérol (412,7 g/mol).

Tableau 9. Etudes de cohorte mettant en évidence une association positive entre taux plasmatiques de phytostérols et risque cardiovasculaire

Etude	Population étudiée	Résultats	Valeurs de phytostérols	Commentaires
Etude MONICA/KORA (Thiery <i>et al.</i> , 2006)	1186 hommes (35-64 ans) suivis pendant 10 ans	RR d'accident CV: - pour 3 ^{ème} quartile de campestérol vs 1 ^{er} = 2,38 (0,64-6,01) pour 4 ^{ème} quartile de campestérol vs 1 ^{er} = 3,00 (1,16-7,78), P < 0,001	Campestérol*: • 1 ^{er} quartile : < 11,0 µmol/L • 3 ^{ème} quartile: 14,2-18,1 µmol/L • 4 ^{ème} quartile: ≥ 18,1 µmol/L	Ajustement sur les autres facteurs de risque cardiovasculaires
Etude LURIC (Silbernagel <i>et al.</i> , 2010)	1257 sujets non traités par statines, suivis pendant 7,3 années (en moyenne) (IMC = 27,1 ± 4,0) âge: 62,7 ± 10,9	Le tertile supérieur du ratio campestérol/chol, est associé, après ajustement, à une ↗ mortalité globale (RR = 1,37, P = 0,03) et CV (RR= 1,43, P = 0,05). Cette augmentation est plus marquée après exclusion des patients diabétiques: mortalité globale (RR = 1,76, P = 0,005) et CV (RR = 2,06, P = 0,007),	Campestérol/chol, Ratio (mmol/mol) - tertile supérieur: 1,55 (1,17- 2,21) - tertile moyen: 1,21 (0,88- 1,71) - tertile inférieur: 1,02 (0,75- 1,37)	Ajustement sur les autres facteurs de risque cardiovasculaires

CV, cardiovasculaire, IMC, indice de masse corporelle

*concentrations rapportées dans l'article converties à partir des masses molaires de campestérol (400,7 g/mol)

3.4.2.1.2 Etudes de cohorte (**Tableau 9**)

Dans l'étude MONICA/KORA, qui a suivi 1186 hommes (35-64 ans) pendant 10 ans, les sujets du quartile supérieur de concentration plasmatique de campestérol présentent un risque de survenue d'accidents cardiovasculaires 3 fois plus élevé (HR = 3,00 [1,16-7,78]) comparé à celui des sujets du quartile inférieur (Thiery *et al.*, 2006), après ajustement sur les facteurs de risque cardiovasculaire.

Dans l'étude LURIC (Ludwigshafen Risk and Cardiovascular health) où 1257 sujets non traités par statines ont été suivis pendant 7,3 années, le tertile supérieur du ratio campestérol/cholestérol est associé, après ajustement sur les autres facteurs de risque cardiovasculaire, à une augmentation de la mortalité globale (RR = 1,37 [1,03-1,81], P = 0,03) et cardiovasculaire (RR= 1,43 [1,00-2,04], P = 0,05) (Silbernagel *et al.*, 2009).

3.4.2.1.3 Etudes anatomo-biologiques

Chez l'animal

Dans un modèle de souris invalidée pour l'apo E, une étude a porté sur les effets comparés des phytostérols et de l'ézetimibe. Parmi les trois groupes d'animaux de cholestérolémies similaires (ayant consommé des croquettes standard, un régime hypercholestérolémique associé aux phytostérols ou un régime hypercholestérolémique associé à l'ézetimibe), les concentrations plasmatiques en sitostérol et campestérol sont toutes deux corrélées à la taille des lésions athéromateuses (Weingärtner *et al.*, 2008).

Chez l'homme

Chez l'homme, plusieurs études ont mis en évidence des corrélations entre teneurs plasmatiques et tissulaires en phytostérols (**Tableau 10**).

Dans une étude réalisée chez 82 patients opérés de rétrécissement aortique on observe, chez les sujets consommateurs réguliers de margarines enrichies en phytostérols, non seulement une augmentation du campestérol plasmatique, mais aussi du campestérol au niveau de leur valve cardiaque (Weingärtner *et al.*, 2008). Une autre étude, réalisée chez 25 patients ayant bénéficié d'une endartériectomie carotidienne, a mis en évidence une corrélation positive forte entre le rapport campestérol/cholestérol plasmatique et le rapport campestérol/cholestérol dans la paroi carotidienne (r = 0,68) (Miettinen *et al.*, 2005).

Par ailleurs, dans l'étude LURIC, il a été mis en évidence chez 2440 patients ayant bénéficié d'une angioplastie, une corrélation positive entre le ratio campestérol/cholestérol et la sévérité de l'atteinte coronaire (Silbernagel *et al.*, 2009, Silbernagel *et al.*, 2010).

Tableau 10. Etudes anatomo-biologiques associant teneur en phytostérols plasmatiques et tissulaires

référence	Population étudiée	Résultats	Valeurs de phytostérols
Weingärtner <i>et al.</i> (2008)	étude chez 82 patients opérés de rétrécissement aortique (âge: 71 ± 8)	- chez les sujets consommateurs réguliers de phytostérols: <ul style="list-style-type: none"> ○ ↗ campestérol plasmatique ○ ↗ campestérol au niveau de leur valve cardiaque 	sujets consommateurs réguliers de phytostérols* <ul style="list-style-type: none"> • Campestérol: 20,7 ± 3,5 µmol/L sujets non consommateurs de phytostérols* <ul style="list-style-type: none"> • Campestérol: 7,5 ± 0,5 µmol/L
Miettinen <i>et al.</i> (2005)	Etude chez 25 patients ayant bénéficié d'une endartériectomie carotidienne (âge moyen: 67 ans [52-84])	- Corrélation positive forte entre le ratio campestérol/cholestérol plasmatique et le ratio campestérol/cholestérol dans la paroi carotidienne (r = 0,68)	
Etude LURIC , (Silbernagel <i>et al.</i> , 2009)	Etude transversale chez 2440 patients avec angiographie (IMC = 27,5 ± 4,1); âge: 62,7 ± 10,2	Le ratio campestérol/cholestérol est corrélé à la sévérité de l'atteinte coronaire (P = 0,026)	Concentrations plasmatiques moyennes <ul style="list-style-type: none"> • Campestérol: 7,57 ± 4,5 µmol/L • Sitostérol: 3,87 ± 2,33 µmol/L

*concentrations rapportées dans l'article converties à partir des masses molaires de sitostérol (414,7 g/mol) et campestérol (400,7 g/mol).

3.4.2.2 Etudes ne mettant pas en évidence d'association entre les taux plasmatiques de phytostérols et le risque cardiovasculaire

L'ensemble de ces études est rapporté dans le Tableau 11.

Une étude réalisée chez 2542 sujets de la Dallas Heart study n'a pas retrouvé d'association entre les taux plasmatiques de sitostérol ou de campestérol, d'une part, et le score calcique coronaire, d'autre part (Wilund *et al.*, 2004). Il faut noter qu'aucune prise en compte des autres facteurs de risque cardiovasculaire n'a été faite dans l'analyse, ce qui représente une faiblesse de cette étude.

L'étude cas-témoins EPIC Norfolk a comparé les concentrations de phytostérols chez 373 patients coronariens et 758 sujets non coronariens (Pinedo *et al.*, 2007). Dans cette étude, aucune différence des taux plasmatiques de campestérol et de sitostérol entre les 2 groupes n'a été mise en évidence, après ajustement sur les autres facteurs de risque cardiovasculaire (Pinedo *et al.*, 2007).

Dans une étude réalisée chez des patients diabétiques de type 1 (82 patients avec maladie coronaires, 213 sans maladie coronaires) aucune différence significative des taux plasmatiques de campestérol n'a été mise en évidence entre les patients coronariens et non coronariens (Shay *et al.*, 2009). Il faut cependant noter que, dans cette étude, aucun ajustement sur de potentiels facteurs confondants (comme les facteurs de risque cardiovasculaire associés, l'équilibre et l'ancienneté du diabète) n'a été réalisé.

L'étude cas-témoins CORA, réalisée chez 186 patients coronariens et 231 sujets sans maladie coronaire, n'a pas retrouvé d'association entre sitostérol ou campestérol, d'une part, et atteinte cardiovasculaire, d'autre part, après ajustement sur les autres facteurs de risque cardiovasculaire (Windler *et al.*, 2009).

Tableau 11. Etudes cas-témoins ne mettant pas en évidence d'association entre taux plasmatiques de phytostérols et risque cardiovasculaire

Etude	Population étudiée	Résultats	concentrations plasmatiques de phytostérols	Commentaires
Etude humaine (Wilund <i>et al.</i> , 2004)	- 2542 sujets de la Dallas Heart study (Hommes: IMC = 28,6 ± 5,8; âge: 43,3 ± 9,8, Femmes: IMC = 31,1 ± 8,0; âge 43,4 ± 10,0)	- Pas d'association entre taux de sitostérol ou campestérol avec score calcique coronaire		- pas d'ajustement sur autres facteurs de risque CV
Patients diabétiques de type 1 de la Pittsburg Study (Shay <i>et al.</i> , 2009)	82 patients DT1 CAD+ (IMC = 28,0 ± 5,0) vs, 213 DT1 CAD- (IMC = 26,8 ± 4,5) âge: 49,8 ± 7,1 (CAD+); 43,2 ± 6,8 (CAD-)	Pas de différence des taux de campestérol entre les 2 groupes	Patients <u>sans</u> maladie coronaire <ul style="list-style-type: none"> • Campestérol/chol, Ratio: 2,29 ± 1,12 10³ µg/mg cholestérol • Sitostérol/chol, Ratio: 1,45 ± 0,76 10³ µg/mg cholestérol Patients <u>avec</u> maladie coronaire <ul style="list-style-type: none"> • Campestérol/chol, Ratio: 2,13 ± 1,15 10³ µg/mg cholestérol • Sitostérol/chol, Ratio (mmol/mol): 1,35 ± 0,67 10³ µg/mg cholestérol 	- Taux de campestérol 2 fois plus faibles que chez les consommateurs de margarines aux phytostérols - Pas d'ajustement sur autres facteurs de risque CV
Etude cas-témoins EPIC Norfolk (Pinedo <i>et al.</i> , 2007)	373 patients CAD+ (IMC = 27,4 ± 3,9) vs 758 CAD- (IMC = 26,2 ± 3,5) âge: 64,7 ± 8,2 (CAD+); 64,8 ± 8,1 (CAD-)	Pas de différence des taux de campestérol et sitostérols entre les 2 groupes, après ajustement sur autres FR CV	Patients <u>sans</u> maladie coronaire* <ul style="list-style-type: none"> • Campestérol: 7,9 µmol/L (5,7-11,0) • Sitostérol: 5,1 µmol/L (4,1-7,0) Patients <u>avec</u> maladie coronaire* <ul style="list-style-type: none"> • Campestérol: 8,0 µmol/L (5,7-11,0) • Sitostérol: 5,1 µmol/L (3,6-6,7) 	- valeurs de campestérol et sitostérol dans la zone normale de concentration - ajustement sur les autres facteurs de risque
Etude cas-témoins CORA (Windler <i>et al.</i> , 2009)	186 patients CAD+ vs 231 CAD- âge: 64,1 ± 10,1 (CAD+); 64,6 ± 10,0 (CAD-)	En analyse multivariée (après ajustement sur autres facteurs de risque CV), pas d'association entre sitostérol ou campestérol et atteinte cardiovasculaire	Patients <u>sans</u> maladie coronaire* <ul style="list-style-type: none"> • Campestérol: 6,7 ± 3,7 µmol/L • Sitostérol: 4,1 ± 2,2 µmol/L Patients <u>avec</u> maladie coronaire* <ul style="list-style-type: none"> • Campestérol: 6,0 ± 5,5 µmol/L • Sitostérol: 3,59 ± 3,11 µmol/L 	- ajustement sur les autres facteurs de risque

CAD, maladie des coronaires, chol, cholestérol, CV, cardiovasculaire, IMC, indice de masse corporelle

*concentrations rapportées dans l'article converties à partir des masses molaires de sitostérol (414,7 g/mol) et campestérol (400,7 g/mol).

3.4.2.3 Etudes mettant en évidence une association négative entre les taux plasmatiques de phytostérols et le risque cardiovasculaire

3.4.2.3.1 *Etudes cas-témoins (Tableau 12)*

Dans la branche espagnole de l'étude EPIC, 299 patients coronariens et 584 sujets non coronariens ont été étudiés (Escuriol *et al.*, 2010). Aucune différence de niveau de consommation ou de concentration plasmatique de campestérol et de sitostérol entre les 2 groupes n'a été mise en évidence. Dans cette étude, il était toutefois observé une association négative entre le rapport sitostérol/cholestérol et le risque cardiovasculaire puisqu'en analyse multivariée, les sujets ayant une valeur de sitostérol/cholestérol dans le tertile supérieur présentaient un risque réduit de maladies cardiovasculaires (OR = 0,59 [0,36-0,97], P = 0,032) (Escuriol *et al.*, 2010).

Dans l'étude LASA, réalisée chez 1242 sujets âgés de plus de 65 ans dont 125 présentaient une atteinte coronaire, les taux plasmatiques de campestérol et de sitostérol étaient significativement plus bas chez les patients coronariens (Fassbender *et al.*, 2008). En analyse multivariée, la concentration plasmatique de sitostérol était associée à une réduction significative du risque de maladie coronaire (OR = 0,78 [0,62-0,98]) (Fassbender *et al.*, 2008).

3.4.2.3.2 *Etude de cohorte (Tableau 12)*

Dans une étude finlandaise ayant suivi 232 hommes à haut risque cardiovasculaire pendant 22 années, la concentration plasmatique initiale de sitostérol était significativement plus élevée chez les survivants. En analyse multivariée, après ajustement sur les autres facteurs de risque cardiovasculaire, le rapport sitostérol/cholestérol était associé à une réduction de la mortalité globale (OR = 0,57 [0,34-0,95]) (Strandberg *et al.*, 2010). Il faut cependant noter que le nombre de patients est ici faible pour une étude de cohorte.

Les concentrations plasmatiques de phytostérols étant notamment le reflet des niveaux consommés, on ne peut rejeter l'hypothèse que ces études traduisent, au moins pour partie, l'effet protecteur d'une forte consommation d'huile végétale, de fruits et légumes (voir (Escuriol *et al.*, 2010)). Il semblerait également que, dans les études montrant une association négative entre les taux plasmatiques de phytostérols et le risque cardiovasculaire, les concentrations moyennes en campestérol et en sitostérol soient plus faibles que dans les études montrant une association positive (Voir **Tableaux 8, 9 et 12**).

Tableau 12. Etudes mettant en évidence une association négative entre taux plasmatiques de phytostérols et risque cardiovasculaire

Etude	Population étudiée	Résultats	concentrations plasmatiques de phytostérols	Commentaires
Etude cas-témoins EPIC Spanish cohort (Escurreiol <i>et al.</i> , 2010)	299 patients CAD+ vs 584 CAD- IMC de l'ensemble des patients = 28,7 ± 3,5 âge: 54,3 ± 7,3 (CAD+); 54,1 ± 7,2 (CAD-)	Pas de différence de niveaux d'apport ou de concentrations plasmatiques de campestérol et sitostérol entre les cas et les témoins. Mais les patients avec un ratio sitostérol/cholestérol plasmatiques dans le tertile supérieur ont, en analyse multivariée, un risque réduit d'accidents CV (OR = 0,59 [0,36-0,97], P = 0,032)	Patients <u>sans</u> maladie coronaire <ul style="list-style-type: none"> Campestérol/chol, Ratio (mmol/mol): 1,53 (1,19-1,97) Sitostérol/chol, Ratio (mmol/mol): 1,36 (1,03-1,77) Patients <u>avec</u> maladie coronaire <ul style="list-style-type: none"> Campestérol/chol, Ratio (mmol/mol): 1,47 (1,18-1,94) Sitostérol/chol, Ratio (mmol/mol): 1,29 (0,98-1,68) 	- valeurs de campestérol et sitostérol dans la zone normale de concentration Ajustement multivarié: tabagisme, IMC, diabète, hypertension, cholestérol, HDL-C, genotype APOE, apports énergétiques, protéines, fibres, acides gras saturés, mono- et polyinsaturés
Etude cas-témoins LASA (Fassbender <i>et al.</i> , 2008)	Etude chez 1242 sujets âgés de plus de 65 ans (âge moyen: 78 ans)	Teneurs plasmatiques de campestérol et de sitostérol (en valeur absolu et rapporté à la cholestérolémie) sont significativement plus basses chez patients coronariens (n = 125), P < 0,005 Teneur plasmatique de Sitostérol associé à un risque réduit de maladie coronaire en analyse multivariée (OR = 0,78 [0,62-0,98], P < 0,005))	Patients <u>sans</u> maladie coronaire* <ul style="list-style-type: none"> Campestérol: 9,06 ± 4,84 µmol/L Sitostérol: 8,08 ± 4,02 µmol/L Patients <u>avec</u> maladie coronaire* <ul style="list-style-type: none"> Campestérol: 7,91 ± 5,37 µmol/L Sitostérol: 7,14 ± 4,24 µmol/L 	Ajustement multivarié: âge, genre, cholestérol, diabète, tabagisme et hypertension
Etude longitudinale finlandaise de Strandberg (Strandberg <i>et al.</i> , 2010)	Etude de suivi, pendant 22 années, chez 232 hommes à risque CV augmenté (IMC vivants = 26,3 ± 2,9; IMC décédés = 27,0 ± 2,9) âge moyen au début de l'étude: 61 ans	Taux plasmatique de sitostérol (en valeur absolu et rapporté à la cholestérolémie) plus élevé chez survivants (P < 0,05) Rapport sitostérol/cholestérol associé à réduction de la mortalité globale (OR = 0,57 [0,34-0,95]) après ajustement sur les autres facteurs de risque CV.	Patients vivants* <ul style="list-style-type: none"> Campestérol: 11,7 ± 5,2 µmol/L Sitostérol: 7,7 ± 3,1 µmol/L Patients décédés* <ul style="list-style-type: none"> Campestérol: 10,5 ± 6,2 µmol/L Sitostérol: 7,0 ± 3,4 µmol/L 	Ajustement multivarié: âge, IMC, tabagisme, tension artérielle, diabète, cholestérol, HDL-C Nombre faible de sujets pour une étude de suivi de cohorte

CAD, maladie des coronaires, chol, cholestérol, CV, cardiovasculaire, IMC, indice de masse corporelle

*concentrations rapportées dans l'article converties à partir des masses molaires de sitostérol (414,7 g/mol) et campestérol (400,7 g/mol).

3.4.3 Mise en perspective de l'ensemble des études sur l'association des phytostérols plasmatiques et le risque cardiovasculaire

Ainsi, les données sur la relation entre les taux plasmatiques de phytostérols et le risque cardiovasculaire ne sont pas claires, avec des résultats divergents des différentes études cas-témoins et de cohorte. Cependant, les études les plus puissantes par leur nombre de sujets sont en faveur d'un risque cardiovasculaire accru associé à des valeurs augmentées de phytostérols plasmatiques.

Plus précisément, les études cas-témoins chez l'homme sont divergentes. Certaines rapportent une association positive entre les taux plasmatiques de phytostérols et le risque cardiovasculaire, d'autres une absence d'association ou une association négative. Parmi les 5 études de cohorte réalisées, 4 rapportent une association positive significative entre les concentrations plasmatiques de phytostérols et le risque d'évènements cardiovasculaires, une comportant un nombre limité de sujets, observe un effet opposé. Une récente méta-analyse (portant sur des études publiées avant avril 2010) a recherché si, au regard de l'ensemble de ces études, une association entre la concentration plasmatique en phytostérols (campestérol et sitostérol) et le risque cardiovasculaire pouvait être établie (Genser *et al.*, 2012). Des méta-analyses séparées ont été réalisées pour le campestérol et le sitostérol, ainsi que leur mode d'expression (valeur absolue ou rapporté à la cholestérolémie). De même, les études comparant les moyennes entre patients atteints et sujets non atteints, et celles rapportant des risques relatifs (ou indices apparentés) ont été analysées séparément. Les analyses ne révèlent pas d'association entre les concentrations plasmatiques et le risque cardiovasculaire, mais la très forte hétérogénéité entre les études ($I^2 = 84\%$, $P = 0,002$), par ailleurs peu nombreuses, pourrait être la cause de cette absence d'association.

A cette hétérogénéité de résultats, s'ajoute la difficulté d'interprétation des concentrations plasmatiques en phytostérols. En effet, les concentrations plasmatiques de phytostérols varient en fonction de leurs apports alimentaires mais aussi en fonction de la capacité d'absorption des stérols (cholestérol et phytostérols) des individus. Autrement dit, les phytostérols circulants sont des marqueurs de l'absorption du cholestérol (Miettinen *et al.*, 1990, Zhao *et al.*, 2011) et également le reflet de l'alimentation (Escuriol *et al.*, 2010). De ce fait, les associations positives entre les phytostérols circulants et le risque cardiovasculaire pourraient indiquer soit qu'une forte absorption de stérols, et donc de cholestérol, est délétère, soit que la consommation de phytostérols est délétère. La 1^{ère} hypothèse est soutenue par Silbernagel *et al.* dans une étude récente qui a observé une association entre le ratio cholestanol/cholestérol (un marqueur de l'absorption du cholestérol) et le risque cardiovasculaire (Silbernagel *et al.*, 2013). Cette étude conforte une étude plus ancienne chez les sujets âgés (Strandberg *et al.*, 2006) et une étude réalisée en chirurgie cardiaque (Weingartner *et al.*, 2009). D'après les auteurs, les forts absorbeurs de cholestérol régulent négativement la synthèse endogène de cholestérol, mais ce mécanisme de protection contre l'hypercholestérolémie ne serait pas suffisant. Une forte absorption de cholestérol pourrait conduire à une augmentation de la durée de circulation du cholestérol dans le sang et par conséquent une augmentation de la formation de la plaque d'athérosclérose.

Une difficulté d'interprétation supplémentaire réside dans le fait que ces études ont été réalisées chez des sujets ne consommant pas d'aliments enrichis en phytostérols, et dont les concentrations plasmatiques en phytostérols sont de ce fait *a priori* inférieures à celles des consommateurs réguliers d'aliments enrichis apportant 1,6-1,7 g/j de phytostérols.

Pour conclure, l'ensemble des données à notre disposition ne montre pas un risque cardiovasculaire lié à la teneur plasmatique en phytostérols, mais ne permet pas de l'exclure.

Il est important de souligner qu'aucune étude associant les phytostanols plasmatiques et le risque cardiovasculaire n'a été réalisée, bien qu'une étude rapporte une augmentation de 170 % des concentrations plasmatiques suite à leur consommation à hauteur de 0,6 g/j.

3.5 Conclusion sur les effets des phytostérols et des phytostanols sur le risque cardiovasculaire

L'athérogenèse à l'origine de nombreuses maladies cardiovasculaires est un processus complexe, impliquant un dépôt de cholestérol dans les artères, des phénomènes d'oxydation, d'inflammation, de prolifération et de migration cellulaire et une réorganisation de la média. Il s'agit d'une physiopathologie multifactorielle pour laquelle la haute autorité de santé (HAS) reconnaît les facteurs de risque suivants : l'âge, le tabagisme, la présence d'antécédents familiaux d'accident cardiovasculaire précoce, l'hypertension artérielle permanente, le diabète de type 2, la microalbuminurie et la dyslipidémie (LDL-C élevé, HDL-C bas).

Les études montrent que les phytostérols et les phytostanols consommés à hauteur de 1,5-2,4 g/j font baisser la cholestérolémie et la concentration de LDL-C d'environ 10 % à court et moyen termes (1-2 ans). Cependant, la variabilité de réponse aux phytostérols est grande : on peut estimer que chez 30 % des sujets la concentration plasmatique de LDL-C ne diminue pas.

Certaines études rapportent une baisse de la triglycéridémie chez les sujets hypertriglycéridémiques, néanmoins, la plupart des facteurs ou marqueurs de risque cardiovasculaire autres que le LDL-C et la triglycéridémie, ne semblent pas être améliorés par les phytostérols/stanols (HDL-C, fonction endothéliale, marqueurs de l'inflammation).

Par ailleurs, la consommation d'aliments enrichis en phytostérols/stanols entraîne une réduction du β -carotène plasmatique. Or, une augmentation du risque cardiovasculaire a été observée pour des différences de concentration plasmatique en β -carotène de la même ampleur que la diminution observée chez les sujets consommant des phytostérols/stanols. Une consommation accrue de fruits et légumes est susceptible d'atténuer la baisse des caroténoïdes plasmatiques.

En outre, la consommation d'aliments enrichis en phytostérols augmente leur concentration plasmatique de 30 % en moyenne. Un certain nombre d'études a porté sur le lien entre les concentrations plasmatiques en phytostérols et le risque cardiovasculaire sans qu'on puisse établir de conclusion claire, certaines études montrant des associations positives, d'autres négatives, d'autres encore une absence d'association. Une méta-analyse de la majorité d'entre elles ne montre pas d'association mais rapporte une grande hétérogénéité de résultats, ce qui rend son interprétation délicate. Par ailleurs, les phytostérols plasmatiques ne sont pas uniquement le reflet de l'alimentation mais aussi celui de la capacité d'absorption des stérols (cholestérol et phytostérol) des individus. Or, quelques études montrent une association positive entre la capacité d'absorption des stérols et le risque cardiovasculaire. Par conséquent, il apparaît que l'augmentation du risque cardiovasculaire rapportée dans certaines études peut être liée soit à des apports élevés en phytostérols, soit à des capacités d'absorption en stérols (phytostérols et cholestérol) élevées.

Ainsi, les études portant sur les effets des **phytostérols** sur différents paramètres impliqués dans l'athérosclérose ne permettent pas de conclure quant à leurs effets sur la morbidité et la mortalité cardiovasculaire. Or les études épidémiologiques portant sur le risque sont quasi inexistantes puisqu'une seule étude d'observation a porté sur l'effet des phytostérols sur le risque d'infarctus du myocarde (Klingberg *et al.*, 2013). Cependant, dans cette étude, les sujets n'ont pas consommé d'aliments enrichis en phytostérols. De ce fait, leurs niveaux d'apports sont bien inférieurs à ceux des consommateurs d'aliments enrichis. Ainsi cette unique étude n'apporte pas d'élément suffisant pour répondre à la question de l'effet des produits enrichis en phytostérols sur le risque cardiovasculaire.

Seules des données issues d'études d'intervention sur des critères d'évaluation durs pourraient permettre de statuer sur cet effet. En leur absence et étant donné la variabilité de réponse individuelle du LDL-C et la disparité des résultats des études d'association entre les concentrations en phytostérols plasmatiques et le risque cardiovasculaire, il n'est pas possible de conclure à un effet bénéfique ou délétère des aliments enrichis en phytostérols sur le risque cardiovasculaire.

Les données sur les **phytostanols** sont moins nombreuses. En effet, à notre connaissance aucune étude n'existe sur :

- la variabilité interindividuelle de l'effet hypocholestérolémiant des phytostanols ;
- l'association entre la concentration plasmatique en phytostanols et le risque cardiovasculaire, étant donné que la consommation de phytostanols entraîne une augmentation de leur concentrations plasmatiques.

4. Quel est le risque toxicologique ?

4.1 Données toxicologiques

L'Efsa a évalué la toxicité des produits enrichis en différents mélanges de phytostérols ou de phytostanols, apportés sous forme libre ou estérifiée (SCF, 2000, SCF, 2002a, SCF, 2003c).

En ce qui concerne les mélanges de phytostérols issus des huiles végétales (correspondant au profil de phytostérol suivant : 30-65 % de β -sitostérol, 10-40 % de campestérol, 6-30 % de stigmastérol, et 5 % d'autres phytostérols) apportés sous forme estérifiée, les données toxicologiques évaluées par le SCF regroupent des données de toxicité subchronique, de génotoxicité, de toxicité de la reproduction, l'activité estrogénique potentielle et des études humaines. Une étude de toxicité subchronique de 13 semaines chez le rat ne met pas en évidence d'effet toxique significatif jusqu'à la plus forte dose testée de 6,6 g d'esters de phytostérols/kg/j. En ce qui concerne la génotoxicité, les études rapportées dans l'avis ne présentent pas d'activité mutagénique, ni clastogénique testées *in vitro*, ni de génotoxicité *in vivo* chez le rat. S'agissant de la reproduction, des études avaient rapporté des effets sur le système reproducteur comme la diminution du poids testiculaire chez le rat ou une action antiandrogénique chez le lapin avec le β -sitostérol et des extraits riches en phytostérols. Cependant d'après le SCF, ces observations ont été faites après administration sous cutanée et/ou avec des préparations de phytostérols dont la pureté n'était pas spécifiée. De plus, dans une étude de reproduction sur deux générations chez le rat, les phytostérols estérifiés n'avaient pas d'effet sur la reproduction des générations F0 et F1, ni sur le développement des jeunes des générations F1 et F2, ni sur la maturation sexuelle des F1 ou sur les cycles œstraux. Une concentration d'esters de phytostérols de 8,1 % (correspondant à 2,5-9,1 g/kg/j) est considérée comme une NOAEL. En ce qui concerne l'activité estrogénique potentielle, une étude chez les rates immatures consommant des phytostérols à des doses de 5, 50 et 500 mg/kg/j n'a pas montré d'effet sur le poids de l'utérus après 3 jours. Les phytostérols n'ont pas non plus montré d'activité oestrogénique *in vitro*, ni de liaison au récepteur aux oestrogènes cytosolique de l'utérus. Enfin, quelques études chez l'homme ne rapportent pas d'effet sur les concentrations plasmatiques en hormones sexuelles chez la femme, ni sur des paramètres cliniques ou hématologiques. Sur la base de l'ensemble de ces données, le SCF a considéré que la sécurité d'utilisation des phytostérols a été démontrée pour les mélanges tels que décrits ci-dessus apportés à hauteur de 8 % dans les produits (SCF, 2000).

Par la suite, le SCF a rendu un avis de portée générale évaluant notamment la sécurité des phytostanols (SCF, 2002a). Dans une étude de toxicité de 13 semaines chez le rat, aucune toxicité n'était observée après ingestion d'esters de phytostanols consommés à hauteur de 0,2 jusqu'à 1 % (0,5 g de phytostanols/kg/j). A des apports alimentaires de 5 %, l'ingestion subchronique de ces substances induit une diminution de la concentration plasmatique de vitamine E, K et dans une moindre mesure, de vitamine D. Les niveaux hépatiques sont atteints de la même façon, sauf que la vitamine K n'est pas mesurée. Les esters de phytostanols n'apparaissent pas génotoxiques à des doses allant jusqu'à la limite de solubilité. Les résultats des tests de mutation génique sur bactéries et cellules de mammifères sont négatifs, de même que les tests d'aberration chromosomique. Dans une étude de toxicité du développement chez le rat, aucun effet délétère n'a été observé sur le développement maternel ou fœtal après l'ingestion d'un régime contenant jusqu'à 8,8 % de phytostanols estérifiés (correspondant à des apports de 2,4-3,5 g/phytostanols libres/kg/j). Une étude de toxicité de la reproduction sur 2 générations portant sur des esters de phytostanols, ne montre pas d'effet sur la reproduction, la mortalité des jeunes le poids corporel des jeunes jusqu'à des concentrations de 4,38 % d'esters de phytostanols. Les phytostanols ne semblent pas non plus avoir d'activité oestrogénique testée *in vitro*, ni d'activité utéro-trophique *in vivo* chez la rate immature à des doses allant jusqu'à 8,3 % du régime pendant 4 jours.

Le SCF a également estimé que les données ne permettent pas de définir une limite maximale d'apport de phytostérols. Cependant, considérant les niveaux d'apport efficaces des phytostérols/stanols, considérant qu'au-delà de ces niveaux, aucun bénéfice supplémentaire n'est observé et considérant que les apports élevés pourraient induire des effets indésirables, le SCF estime prudent d'éviter des apports en phytostérols supérieurs à 1-3 g/j. Le SCF souligne également la nécessité de mesures de gestion appropriées pour éviter le cumul des apports par le biais des différents aliments enrichis (SCF, 2002a).

Enfin, dans son avis de 2003, le SCF a analysé quelques données de toxicologie sur les phytostérols sous forme libre. Bien que les données soient moins fournies que pour les esters de phytostérols ou de

phytostanols, le SCF estime que les esters sont hydrolysés par les cholestérol estérases pancréatiques et ont la même capacité à limiter l'absorption du cholestérol, ce qui suggère que la forme libre des phytostérols est la forme active des esters. Chez le rat, il a été montré que dans l'intestin, le β -sitostérol passe naturellement de la forme libre à la forme estérifiée et vice versa. De ce fait, le SCF considère que les données toxicologiques obtenues sur les esters de phytostérols sont également pertinentes pour les phytostérols libres (SCF, 2003c).

Une analyse des données disponibles à ce jour (dont des études postérieures à celles du SCF) a été réalisée dans le cadre de cette évaluation (**Annexe 3**). Elle rapporte les données issues d'études de toxicité aiguë, de toxicité subchronique, chronique, de génotoxicité, de cancérogénicité, de toxicité sur la fonction de reproduction, de cytotoxicité, d'œstrogénicité des phytostérols et des phytostanols.

De cette analyse, il ressort que les esters de phytostérols n'exercent pas d'effets toxiques majeurs chez le rat. Des cas de cardiomyopathie ont été observés chez des rats recevant par gavage des phytostérols mais jamais lorsqu'ils les recevaient dans leur alimentation. Aucune manifestation génotoxique tant *in vivo* qu'*in vitro* n'a été rapportée. Une activité antitumorale a été montrée *in vivo* et *in vitro* sur des tumeurs du côlon et des glandes mammaires induites, mais aucune donnée n'est disponible sur le potentiel tumorigène chez le rongeur dans le cadre d'études à très long terme. Des études multi-génération menées chez la souris et le rat n'ont montré aucun effet particulier à l'exception de petites variations du poids corporel de certaines portées et du poids de quelques organes reproducteurs, sans montrer d'interférences sur les processus de reproduction. Aucune donnée d'embryotoxicité n'est disponible. Aucune activité œstrogénique n'a été mise en évidence, tant *in vitro* qu'*in vivo*.

En ce qui concerne les phytostanols, l'analyse ne montre pas d'effet toxique particulier. Une baisse du poids des reins et du foie sans conséquence histologique a été observée. Aucune activité génotoxique n'a été mise en évidence. Une étude multigénération chez le rat n'a pas montré de signes de toxicité. L'absence d'embryotoxicité chez le rat est montrée mais aucune donnée n'est disponible chez le lapin, ce qui ne permet pas d'extrapoler ces résultats à l'Homme. Aucune activité œstrogénique n'a été mise en évidence.

Ainsi, notre analyse ne remet pas en cause les conclusions émises dans les différents avis du SCF et de l'Efsa au sujet de la sécurité de consommation des phytostérols et des phytostanols apportés à des doses allant jusqu'à 1-3 g/j.

4.2 Données sur l'oxydation des phytostérols et des phytostanols

Le risque lié à l'oxydation des phytostérols est parfois évoqué pour justifier les études associant la phytostérolémie et le risque cardiovasculaire (Baumgartner *et al.*, 2011). En effet, les phytostérols, comme le cholestérol peuvent être oxydés. Les phytostanols, du fait de l'absence de double liaison dans leur structure, sont considérés comme moins sujets à l'oxydation. Cependant, certains auteurs estiment que la présence de carbones tertiaires les rend susceptibles à l'oxydation et la formation de dérivés oxydés est possible (Rudzinska *et al.*, 2014). Or il a été montré que les produits d'oxydation du cholestérol sont athérogènes chez l'animal.

Une augmentation très significative des oxyphytostérols (7α -OH-sitostérol) est retrouvée chez les patients atteints de phytostérolémie ainsi que dans des émulsions lipidiques enrichies en phytostérols (Plat *et al.*, 2001). La revue de Garcia-Llatas s'est penchée sur la présence de dérivés oxydés de phytostérols dans les margarines enrichies en phytostérols. Elle rapporte des teneurs en ces dérivés bien supérieures dans les margarines enrichies en phytostérols que dans les margarines non enrichies (6,07 vs 0,33 g/100 g), ces dérivés provenant des huiles riches en phytostérols ajoutées plutôt que d'une dégradation au sein de la margarine (Garcia-Llatas et Rodriguez-Estrada, 2011). Cependant, une dégradation au sein même de margarines enrichies en phytostérols ou phytostanols a également été rapportée (Rudzinska *et al.*, 2014).

Il a été montré chez le hamster que les dérivés oxydés des phytostérols étaient absorbés et retrouvés dans le sang (Grandgirard *et al.*, 2004a). Ils sont également détectés dans le plasma humain (Grandgirard *et al.*, 2004b). Certains auteurs supposent qu'ils peuvent provenir de l'alimentation ou d'oxydation *in vivo* (pour revue (Garcia-Llatas et Rodriguez-Estrada, 2011)). Cependant, la consommation de margarine enrichie en phytostérols ne semble pas augmenter les concentrations plasmatiques d'oxyphytostérols (Baumgartner *et al.*, 2013).

Il a, par ailleurs, été rapporté, sur une lignée de cellules en culture dérivée des macrophages, que les oxyphytostérols présentaient un effet cytotoxique similaire à celui des oxydes de cholestérol (Adcox *et al.*,

2001). La toxicité de ces dérivés reste cependant méconnue, les études étant contradictoires (pour revue (Garcia-Llatas et Rodriguez-Estrada, 2011)). Des études complémentaires s'avèrent de ce fait nécessaires.

5. Y a-t-il des effets particuliers des phytostérols et des phytostanols pour les populations spécifiques ?

5.1 Spécificités physiologiques

5.1.1 Les enfants

Plusieurs études pédiatriques ont permis d'évaluer au cours des 20 dernières années l'efficacité et la tolérance des phytostérols chez l'enfant. La plupart de ces études ont été effectuées chez des enfants atteints d'hypercholestérolémie familiale hétérozygotes, âgés de 5 à 14 ans (Amundsen *et al.*, 2004, Amundsen *et al.*, 2002, Becker *et al.*, 1993, de Jongh *et al.*, 2003, Guardamagna *et al.*, 2010, Gylling *et al.*, 1995, Jakulj *et al.*, 2006, Hedman *et al.*, 2006). Une étude a porté sur des enfants dont le mécanisme de l'hypercholestérolémie n'est pas précisé (Ketomaki *et al.*, 2003). Une autre a été effectuée sur une cohorte d'enfants âgés de 6 ans ayant une cholestérolémie normale dans le cadre d'une étude longitudinale (Tammi *et al.*, 2000, Tammi *et al.*, 2002). Par ailleurs la majorité des études sont des études croisées, en double aveugle contre placebo (ou, pour 2 d'entre elles, comparant phytostérols et phytostanols) sur des périodes de 4 semaines à 7 mois.

Les phytostanols ont été consommés à la dose de 1,5 à 3 g/j sous forme de margarines ou de yaourts enrichis (Becker *et al.*, 1993, Gylling *et al.*, 1995, Jakulj *et al.*, 2006, Ketomaki *et al.*, 2003, Tammi *et al.*, 2000, Tammi *et al.*, 2002), sauf dans une étude où ils étaient présentés sous forme de comprimés (Becker *et al.*, 1993). Les phytostérols ont été consommés à la dose de 1,2 à 2,3 g/j sous forme également de margarine ou de yaourts enrichis (Amundsen *et al.*, 2004, Amundsen *et al.*, 2002, de Jongh *et al.*, 2003, Guardamagna *et al.*, 2010, Ketomaki *et al.*, 2003), sauf dans un cas où ils ont été donnés à la dose de 6 g/j sous forme de comprimés (Becker *et al.*, 1993).

5.1.1.1 Efficacité

La consommation de phytostérols comme de phytostanols, entraîne chez les enfants hypercholestérolémiques une baisse du LDL-C de 10 à 15 % (**Tableau 13**). Dans la cohorte d'enfants normocholestérolémiques, l'adjonction d'une margarine enrichie en phytostanols en plus d'une alimentation contrôlée en acides gras saturés a permis une baisse supplémentaire du 7,5 % du LDL-C (Tammi *et al.*, 2000, Tammi *et al.*, 2002).

Deux études ont évalué la fonction endothéliale chez une quarantaine d'enfants ayant une hypercholestérolémie familiale après 4 semaines de consommation de margarine enrichie en phytostérols pour l'une (de Jongh *et al.*, 2003) et de yaourts enrichis en phytostanols pour l'autre (Jakulj *et al.*, 2006). Ces régimes ont entraîné une diminution de la concentration plasmatique en LDL-C de 14 et 9,2 % respectivement. Dans aucune de ces deux études, la fonction endothéliale n'a été améliorée.

Tout comme chez l'adulte, aucune étude d'intervention n'a évalué l'effet des phytostérols ou des phytostanols sur la morbi- mortalité cardiovasculaire.

5.1.1.2 Tolérance

Aucune étude ne signale de manifestation clinique d'intolérance.

Les phytostérols plasmatiques (sitostérol et campestérol) ont été dosés dans 7 études (Amundsen *et al.*, 2004, Becker *et al.*, 1993, Gylling *et al.*, 1995, Tammi *et al.*, 2000, Hedman *et al.*, 2006). Suite à la consommation de phytostanols, les phytostérols plasmatiques (ajustés pour le cholestérol total) sont restés inchangés ou ont diminué de 30 à 40 % (Becker *et al.*, 1993, Gylling *et al.*, 1995, Ketomaki *et al.*, 2003, Tammi *et al.*, 2000, Hedman *et al.*, 2006), alors que suite à la consommation de phytostérols, ils ont augmenté de façon variable entre 10 et 96 % par rapport au taux de base (Amundsen *et al.*, 2004, Becker *et al.*, 1993, Guardamagna *et al.*, 2010, Ketomaki *et al.*, 2003). A titre d'exemple, la sitostérolémie observée à la fin de l'étude d'Amundsen et coll. était de $18,7 \pm 7,4$ $\mu\text{mol/L}$ pour une valeur de base de $11,9 \pm 4,2$ $\mu\text{mol/L}$ (Amundsen *et al.*, 2004).

Dans les 3 études où il a été dosé, le β -carotène plasmatique a diminué de 11 à 19 %, contrastant avec des concentrations plasmatiques inchangées, voire augmentées de vitamines A et E (Amundsen *et al.*, 2004, Amundsen *et al.*, 2002, Tammi *et al.*, 2000, Tammi *et al.*, 2002). Dans l'étude de cohorte, la vitamine D plasmatique n'était pas non plus modifiée par la consommation de margarine enrichie en phytostanols, cependant la margarine utilisée était également enrichie en vitamines A et D (Tammi *et al.*, 2000, Tammi *et al.*, 2002).

5.1.1.3 Conclusion

Ainsi, la consommation d'aliments enrichis en phytostérols/stanols semble avoir les mêmes conséquences à court et moyen termes chez l'enfant de plus de 4 ans que chez l'adulte en termes de baisse de la concentration plasmatique de β -carotène et de LDL-C et d'augmentation de celle des phytostérols dans le cas d'un enrichissement en phytostérols. Tout comme pour l'adulte, les études d'intervention destinées à évaluer directement le risque cardiovasculaire manquent pour pouvoir conclure.

Tableau 13. Etudes des effets des aliments enrichis en phytostérols/stanols chez les enfants

Références	Type d'étude	Taille cohorte	Doses phytostérols/stanols	Efficacité sur le LDL-C	Efficacité sur la fonction artérielle	Effet sur la phytostérolémie	Effet sur le β -carotène et Vitamines liposolubles	Précurseurs du cholestérol	commentaire
Becker <i>et al</i> , 1993	Étude croisée Périodes 3 et 7 mois stérol vs stanol	9 enfants 9,5-14 ans HF	Phytostérols 2 g x3 Phytostanols 0,5 g x3 (comprimés)	-20 % -33 %	NE	Baisse de 50 % sito- et campesterol sous stanol (inchangés sous stérols)	NE	NE	
Gylling <i>et al</i> , 1995	Étude croisée contre placebo Double aveugle Périodes 6 sem.	15 enfants 9,1+/-1,1 ans HF (dont 1 homozyg.)	phytostanols 3 g/j (margarine)	-15 % (CT -11 %)	NE	Baisse sito- et campesterol -42 et -29 %	NE	Augmentation de 18 à 36 %	
Tammi <i>et al</i> , 2002 et 2000	Étude croisée contre placebo Double aveugle Périodes 3 mois	81 enfants 6 ans CT nl (étude STRIP)	Phytostanols 1,5 g/j (margarine)	-7,5 % (CT -5,4 %)	NE	Baisse sito- et campesterol (-28 et -36 %)	Baisse β carotène -19 % Vit A, E, D inchangées	Augmentation de 8 à 21 %	
Amundsen <i>et al</i> , 2002	Étude croisée contre placebo Double aveugle Périodes 8 sem.	38 enfants 7-12 ans HF	Phytostérols 1,6 g/j (margarine)	-10,2 % (CT -7,4 %)	NE	NE	Baisse du β -carotène et lycopène vit A et E inchangées (ou augmentées)	NE	Mesure des concentrations en caroténoïdes non pertinentes du fait d'une supplémentation vitaminique de la moitié des enfants
Amundsen <i>et al</i> , 2004	Etude de cohorte ouverte 26 semaines	37 enfants 7-13 ans 20 parents HF	Phytostérols 1,2 g/j et 1,5 g/j (parents)	-11,4 % (y compris les parents sous statine)	NE	Elévation sito- et campesterol + 48 et 96 %	Baisse β carotène -11 % (enfants) Vit A et E augmentées +8 et +5 %	NE	
Ketomaki <i>et al</i> , 2003	Étude croisée double aveugle Stérols vs stanol Périodes 5 sem.	23 enfants 5-17 ans HC>5mm/l	Phytostérols 2g/j phytostanols 2g/j (margarine)	-9 % -12 %	NE	*Sous stanols : Sitosterol : -32 % Campésterol: -36 % * Sous stérols : Sitosterol : + 43 % Campésterol : +52 %	NE	+ 36 % suite à la consommation de phytostérols et de phytostanols	

de Jongh <i>et al</i> , 2003	Étude croisée contre placebo Double aveugle Périodes 4 sem.	41 enfants 5-12 ans HF	Phytostérols 2,3 g/j (margarine)	-14 % (CT -11 %)	Sans effet sur fonction endothéliale	NE	NE	NE	Fonction endothéliale mesurée par vasodilatation endothelium- dépendante
Jakulj <i>et al</i> , 2006	Étude croisée contre placebo double aveugle périodes 4 sem.	42 enfants 7-12 ans HF	phytostanols 2 g/j (Yaourt)	-9,2 % (CT -7,5 %)	Sans effet sur fonction endothéliale	NE	NE	NE	
Hedman <i>et al</i> , 2006	Étude de cohorte Sujets sous statine + stanol Pdt 1 an	16 enfants 4-13 ans HF 9 non répondeurs statines	phytostanols 2 g/j (margarine)	-15 % (CT -13 %)	NE	Baisse du campésterol et du sitostérol plus importante chez les répondeurs	NE	Augmentation de + 25 à 30 % (identique chez répondeurs et non répondeurs)	
Guardamagna <i>et al</i> , 2010	Intervention ouverte 12 sem	58 enfants 5-14 ans 32 HF, 13 DLC, 13 polygen.	Phytostérols Si <40 kg, 1,6 g/j Si >40 kg, 2 g/j (Yaourt)	-10,7 % (HF) -14,2 % (DLC) -16 % polygen	NE	Augmentation du sitostérol +10 à 15 % campésterol peu modifié	NE	Lathosterol inchangé	30% des patients ont eu une faible réponse avec une baisse du LDL-C<5%

CT, cholestérol total, DLC, dyslipidémie combinée, HF, hypercholestérolémie familiale, NE, non étudié

5.1.2 Les femmes enceintes et allaitantes

5.1.2.1 Phytostérols/stanols et grossesse

Dans une étude d'intervention randomisée, Laitinen et coll. ont étudié les effets d'une margarine enrichie en phytostanols chez 21 femmes enceintes normocholestérolémiques à la base, ayant à l'inclusion moins de 17 semaines de gestation (Laitinen *et al.*, 2009). Le groupe intervention (n = 11) a reçu des conseils diététiques pour consommer une margarine enrichie en phytostanols dans le cadre d'une alimentation équilibrée. Ces recommandations ont été poursuivies après l'accouchement pendant la durée de l'allaitement. Le groupe contrôle n'a reçu aucun conseil diététique. Les femmes ont été suivies chaque trimestre pendant leur grossesse, puis avec leurs enfants à 1, 6 et 12 mois après leur accouchement. La consommation moyenne de phytostanols dans le groupe intervention était de 1,1 g/j au cours du 3^{ème} trimestre de la grossesse et de 1,4 g/j à 1 mois postpartum.

Il n'a pas été mis en évidence de différence entre les deux groupes concernant le déroulement de la grossesse, sa durée et le développement fœtal. Biologiquement, la cholestérolémie maternelle est restée identique entre les deux groupes. En revanche, dans le groupe intervention une augmentation de la concentration plasmatique de sitostanol était observée (entre +20 et +25 % du rapport sitostanol/cholestérol) ainsi que des marqueurs de la synthèse du cholestérol (lathostérol) alors que les marqueurs de l'absorption du cholestérol (campestérol) étaient abaissés.

5.1.2.2 Phytostérols/stanols et allaitement

L'étude décrite ci-dessus s'est poursuivie au cours de l'allaitement et a ainsi évalué les effets des phytostanols sur la composition du lait maternel et sur le développement des enfants (Laitinen *et al.*, 2009). Il n'existait pas de différence entre le groupe intervention et le groupe contrôle concernant la croissance des enfants à 1, 6 et 12 mois.

Dans le lait maternel, la concentration en cholestérol était identique dans les deux groupes, mais la concentration en desmostérol, marqueur de la synthèse du cholestérol, était plus basse dans le groupe intervention et le rapport campestérol/cholestérol tendait également à être plus bas. Pour l'ensemble de la population (n = 21), les concentrations plasmatiques maternelles en desmostérol, campestérol, sitostérol étaient associées à celles du lait mais pas à celles du plasma des nourrissons.

Dans le groupe intervention, la concentration plasmatique en β -carotène des enfants n'était pas modifiée en valeur absolue, mais, lorsqu'elle était ajustée pour le cholestérol, elle était plus basse à 1 mois que celle du groupe contrôle et redevenait identique à 6 mois.

Les relations entre les apports alimentaires maternels en cholestérol et phytostérols et les concentrations en cholestérol et phytostérols dans le plasma maternel, le lait maternel et le plasma des nourrissons ont fait l'objet d'une étude croisée chez 14 femmes allaitant et leurs enfants (Mellies *et al.*, 1978). Après 1 mois de régime habituel, ces femmes ont été randomisées en 2 groupes, l'un recevant une alimentation pauvre en cholestérol et riche en phytostérols (1,2 g/j), l'autre riche en cholestérol et pauvre en phytostérols (0,05 g/j) pour une durée de 4 semaines avant de recevoir pendant 4 autres semaines le régime qu'elles n'ont pas reçu pendant la 1^{ère} période. La concentration en cholestérol du lait est restée inchangée pendant les 3 périodes alimentaires en dépit d'une réduction significative du cholestérol plasmatique maternel de 2,20 g/L (régime habituel) à 1,66 g/L (régime pauvre en cholestérol) et à 1,86 g/L (régime riche en cholestérol). En revanche, les apports maternels en phytostérols étaient positivement corrélés à la concentration plasmatique maternelle en phytostérols ($r = 0,62$, $P = 0,0001$). De même la concentration plasmatique maternelle en phytostérols était positivement corrélée à celle du lait en phytostérols ($r = 0,39$, $P = 0,02$). La concentration en phytostérols du lait maternel et la concentration plasmatique en phytostérols des nourrissons étaient également étroitement corrélées ($r = 0,43$, $P = 0,008$). Pendant le régime maternel riche en phytostérols, la concentration plasmatique en phytostérols des nourrissons a augmenté de 46 % sans modification significative de leur cholestérolémie.

Une étude de cohorte portant sur 33 femmes allaitantes ayant un régime libre a été effectuée par la même équipe (Mellies *et al.*, 1979). Chez ces femmes dont les apports quotidiens en phytostérols ne sont pas connus, mais probablement plus faibles que dans l'étude précédente où les femmes consommaient un régime riche en phytostérols, la concentration en phytostérols du lait maternel était positivement corrélée à la concentration en phytostérols du plasma maternel, mais pas avec celle du plasma des nourrissons.

5.1.2.3 Conclusion

Ainsi, la seule étude à avoir évalué l'effet des phytostanols chez la femme enceinte ne met pas en évidence d'effets indésirables cliniques tant pour la mère que pour le fœtus. Même si elle n'a pas d'effet sur la cholestérolémie maternelle, physiologiquement augmentée pendant la grossesse, la consommation d'une margarine enrichie en phytostanols modifie le métabolisme du cholestérol en augmentant sa synthèse et en diminuant son absorption sans que l'on puisse préjuger si ces modifications ont un effet sur le métabolisme fœtal et des répercussions à plus long terme.

Chez la femme allaitante, 3 études montrent que les apports en phytostérols ont un effet sur la concentration en phytostérols de leur lait. Par ailleurs, des apports maternels élevés sont susceptibles d'augmenter indirectement la concentration plasmatique en phytostérols des nourrissons allaités et d'abaisser leur concentration en β -carotène. Ces études ne permettent pas de conclure sur un éventuel effet d'une consommation maternelle élevée en phytostérols sur le métabolisme du cholestérol (synthèse vs absorption) chez les nourrissons.

5.2 Spécificités liées à des maladies

5.2.1 Les sujets sitostérolémiques hétérozygotes

La sitostérolémie d'origine génétique, ou phytostérolémie, est une maladie récessive rare caractérisée par des concentrations de phytostérols extrêmement élevées (multipliées par 30 ou 100 par rapport à la population générale), souvent associée à une hypercholestérolémie. Cliniquement, elle se caractérise par des xanthomes, une athérosclérose accélérée, de l'arthrite, une hémolyse et de la thrombocytopénie (pour revue (Othman *et al.*, 2013)). La présentation de ces signes cliniques varie selon l'ampleur de la rétention des phytostérols dans les tissus. La prévalence exacte de la sitostérolémie est inconnue : seuls 100 cas ont été identifiés dans le monde. Orphanet l'estime à 1/1 000 000 mais certains auteurs l'estiment plus élevée sur la base de l'identification récente de 5 nouveaux cas en un même lieu (Othman *et al.*, 2013). Le traitement de la sitostérolémie inclut un régime pauvre en stérols (phyto- et cholestérol), des traitements médicamenteux, voire de la chirurgie (bypass iléal). Le régime doit restreindre les apports en noix, graines, olives, avocats, matières grasses (dont margarines et huiles végétales), fruits de mer et chocolat.

Les sujets hétérozygotes pour les mutations responsables de la sitostérolémie ne sont pas malades mais ont des concentrations plasmatiques en phytostérols basales plus élevées que dans la population générale, sans modification du LDL-C (Kwiterovich Jr *et al.*, 2003, Myrie *et al.*, 2012), mais bien inférieures aux sujets homozygotes. Leur prévalence est, à ce jour, inconnue. On peut toutefois faire l'hypothèse qu'elle est faible au regard de la prévalence des sujets homozygotes. Certaines études rapportent des concentrations en sitostérol et campestérol des sujets hétérozygotes environ 50 % plus élevées que celles des sujets non porteurs de la mutation (Myrie *et al.*, 2012, Kratz *et al.*, 2007) (**Tableau 14**). D'autres auteurs (Kwiterovich Jr *et al.*, 2003) rapportent toutefois des valeurs moins élevées, qui se rapprochent des valeurs observées chez les sujets non porteurs de mutation qui sont elles aussi très variables selon les études.

Tableau 14. Concentrations plasmatiques de sitostérol et de campestérol chez les sujets hétérozygotes et les sujets non porteurs de la mutation

		Concentration en sitostérol ($\mu\text{mol/L}$)	Concentration en campestérol ($\mu\text{mol/L}$)
Myrie <i>et al.</i> , 2012	Sujets hétérozygotes	12,4 \pm 1,4	18,7 \pm 2,3
	Sujets sans mutation	7,9 \pm 0,9	12,3 \pm 1,1
Kratz <i>et al.</i> , 2007	Sujets hétérozygotes	14,6 \pm 5,3	37,0 \pm 14,7
	Sujets sans mutation	6,9 \pm 3,5	13,7 \pm 8,0
Kwiterovich <i>et al.</i> , 2003	Sujets hétérozygotes	8,4 \pm 1,4	14,1 \pm 1,6
	Sujets sans mutation	Non qualifié	Non qualifié

Quelques études ont porté sur l'effet d'une supplémentation en phytostérols chez ces sujets hétérozygotes. Dans une étude, où le nombre de sujets est très faible ($n = 2$) du fait de la rareté des sujets porteurs de cette mutation et également obèses et hypercholestérolémiques, la concentration plasmatique de campestérol et de sitostérol est doublée suite à la consommation de 3 g/j de phytostérols (Stalenhoef *et al.*, 2001).

Une autre étude a été réalisée chez des sujets hétérozygotes (n = 12, 2 familles présentant 2 mutations différentes) suivant un régime pauvre en graisses totales, saturées et en cholestérol (Kwiterovich Jr *et al.*, 2003). Dans cette étude, la supplémentation en esters de phytostérols à hauteur de 2,2 g/j pendant 6 semaines a entraîné une augmentation des concentrations plasmatiques en campestérol et en sitostérol de 119 % et de 54 %, respectivement, ce qui correspond à des concentrations de 29 µmol/L pour le campestérol et de 14 µmol/L pour le sitostérol.

Deux études ont comparé les réponses des sujets hétérozygotes à celle des sujets témoins.

Dans celle de Kratz *et al.*, 7 sujets hétérozygotes et 10 sujets contrôles ont reçu quotidiennement de la margarine apportant 2 g/j de phytostérols, de phytostanols ou une margarine témoins, pendant 6 semaines dans un ordre aléatoire. Dans cette étude, l'augmentation relative (par rapport à l'état initial) des phytostérols plasmatiques sous l'effet des phytostérols est comparable chez les sujets hétérozygotes et les sujets témoins, mais beaucoup plus importante en valeur absolue chez les sujets hétérozygotes (sitostérol : $20,3 \pm 12,4$ µmol/L chez les hétérozygotes versus $8,1 \pm 3,1$ µmol/L chez les contrôles – campestérol : $37,0 \pm 14,7$ vs $13,7 \pm 8,0$ µmol/L chez les hétérozygotes et les contrôles respectivement). Par ailleurs, la baisse des phytostérols plasmatiques suite à la consommation de phytostanols est également comparable chez les sujets hétérozygotes et les sujets témoins en pourcentage de la valeur initiale et plus importante en valeur absolue chez les sujets hétérozygotes (Kratz *et al.*, 2007).

L'étude de Myrie *et al.*, portant sur 10 sujets hétérozygotes pour une mutation du gène ABCG8 (S107X) et 15 sujets contrôles n'a pas montré d'augmentation significativement plus importante chez les sujets hétérozygotes par rapport aux sujets contrôles après consommation de 1,6 g/j de phytostérols pendant 4 semaines (Myrie *et al.*, 2012).

Ces quelques études ont également montré que le LDL-C diminuait dans les mêmes proportions suite à la consommation de phytostérols, chez les sujets hétérozygotes et les sujets contrôles (voir **partie 3.1.2.4.1**).

Ainsi, les deux études disponibles sur les sujets hétérozygotes montrent qu'ils présenteraient une concentration de phytostérols plus élevée que les sujets contrôles, sans que l'on puisse précisément estimer de manière globale la différence, tant les concentrations sont variables. Dans tous les cas, leur plage de variation reste comparable. Seules deux études ont comparé les réponses aux phytostérols alimentaires des sujets hétérozygotes pour une mutation des gènes ABCG5/G8 et des sujets non porteurs de la mutation. Il ne semble pas y avoir de réponse spécifique des sujets hétérozygotes chez qui le pourcentage d'augmentation des concentrations en sitostérol et campestérol serait similaire à celui des sujets non porteurs de la mutation. Dans ces études, les concentrations atteintes après supplémentation en phytostérols sont deux fois plus élevées chez les sujets hétérozygotes que chez les sujets sans mutation mais restent très inférieures aux concentrations observées chez les sujets atteints de sitostérolémie dont les concentrations sont de l'ordre de 360 à 1350 µmol/L pour le sitostérol et de 200 à 600 µmol/L pour le campestérol).

L'interprétation des concentrations sanguines en phytostérols est délicate (voir **partie 3.4.2**). D'une part, les études d'observation ayant étudié l'association entre les concentrations en phytostérols et le risque cardiovasculaire ne sont pas concordantes. D'autre part, les concentrations sanguines en phytostérols sont le reflet à la fois de l'alimentation et des capacités d'absorption des stérols (cholestérol et phytostérols). Or quelques études rapportent une association positive entre la capacité d'absorption des stérols et le risque cardiovasculaire. Ainsi, si les données disponibles ne permettent pas de démontrer formellement un risque cardiovasculaire lié à la teneur plasmatique en phytostérols, elles ne permettent en aucun cas de l'exclure.

De ce fait, l'interprétation en termes de risque cardiovasculaire des niveaux plasmatiques en phytostérols observés chez les sujets hétérozygotes après consommation d'aliments enrichis en phytostérols n'est pas possible.

5.2.2 Les sujets sous médicament hypocholestérolémiant

Certains sujets hypercholestérolémiques traités par des médicaments hypocholestérolémiants sont susceptibles de consommer des produits enrichis en phytostérols ou en phytostanols. Il est de ce fait important de vérifier que ces interactions ne sont pas délétères.

Plusieurs questions peuvent être soulevées à propos des associations de phytostérols/stanols et de médicaments hypocholestérolémiants :

- Ont-elles un effet synergique sur le LDL-C ?
- Comment modulent-elles la phytostérolémie ?
- Influencent-elles les autres facteurs ou marqueurs de risque cardiovasculaire ?
- Ont-elles un effet sur le risque cardiovasculaire ?
- Modifient-elles le suivi du traitement médicamenteux ?

Ces points peuvent concerner toutes les classes d'hypolipémiants. En pratique seules les associations avec les statines et l'ézétimibe ont fait l'objet d'études, l'association avec la cholestyramine a été étudiée une fois, celle avec les fibrates n'a pas fait l'objet d'études.

5.2.2.1 Effet de l'association des phytostérols/stanols et des médicaments hypocholestérolémiants sur le LDL-C

5.2.2.1.1 *Statines*

Les statines inhibent la synthèse endogène (hépatique) de cholestérol à partir de l'acétate en inhibant l'HMG-CoA réductase. Ceci entraîne une augmentation compensatrice de la synthèse des récepteurs hépatiques aux LDL ce qui induit une captation accrue du cholestérol au niveau du foie et donc une baisse du LDL-C plasmatique. Il survient également une augmentation compensatrice de l'absorption intestinale des stérols (cholestérol et phytostérols).

Quelques études cliniques et une étude de cohorte ont étudié l'effet des phytostérols ou des phytostanols en association avec des statines.

Dans une étude suivant des familles dont certains membres souffrent d'une hypercholestérolémie familiale, les auteurs ont testé l'effet de la consommation de 2,24 g/j de phytostanols. La consommation de phytostanols entraîne une baisse du LDL-C de 18 % chez les 24 enfants souffrant d'hypercholestérolémie, de 11 % chez les 4 parents souffrant d'hypercholestérolémie et de 20 % chez les 12 parents souffrant d'hypercholestérolémie et traités par statine. Les effectifs étaient trop limités pour comparer les groupes avec et sans statines (Vuorio *et al.*, 2000).

L'étude de Neil (Neil *et al.*, 2001) a consisté en la consommation ou non (groupe contrôle) de 2,5 g/j de phytostérols sous forme de margarine chez 30 patients ayant une hypercholestérolémie familiale II a hétérozygote traitée par statine et 32 patients ayant une hypercholestérolémie primaire ne recevant pas de statines. Les phytostérols diminuent le LDL-C de 11,4 % ($P < 0,0001$) chez les sujets traités par statines et de 9,1 % ($P = 0,02$) chez les sujets non traités.

Une autre étude chez des sujets traités par statines aux doses maximales sans atteindre le niveau de cholestérolémie fixé, a testé l'effet de 3 g/j de phytostanols (11 sujets) contre placebo (9 sujets). Dans les deux groupes phytostanols et placebo, le LDL-C a baissé de 16 et 8 % respectivement, mais la différence entre les deux groupes n'était pas significative, probablement par manque d'effectif d'après les auteurs (Castro Cabezas *et al.*, 2006).

Une étude plus récente (de Jong *et al.*, 2008b) a inclus pendant 85 semaines 54 sujets traités par des statines, divisés en 3 groupes recevant 2,5 g/j de phytostérols, 2,5 g/j de phytostanols ou un placebo. Après 45 semaines, le LDL-C a baissé significativement de 8,7 % dans le groupe phytostérols, la baisse étant non significative dans le groupe phytostanols 5,7 %. A l'inverse, après 85 semaines, seule la baisse de LDL-C obtenue avec les phytostanols était significative (9,9 % vs 5,9 %).

Une étude chez 29 patients diabétiques de type 1 stables sous statines (Hallikainen *et al.*, 2011), a testé l'effet de la consommation de margarine apportant 3 g/j d'esters de phytostanols ou une margarine témoins pendant 4 semaines. Les auteurs ont observé une baisse du LDL-C de 17 % dans le groupe phytostanols uniquement.

Une étude rétrospective basée sur une cohorte de 3800 hommes et femmes, a cherché à évaluer l'efficacité de margarines enrichies en phytostérols/stanols chez les sujets traités ou non avec statine (Eussen *et al.*, 2011b). Les auteurs ont recruté 3651 non utilisateurs de phytostérols/stanols qu'ils ont réexaminé 5 ans après. Pendant cette période, 169 sont devenus des consommateurs de margarines enrichies, 203 sujets

ont été mis sous statines et 24 sujets ont associé statines et phytostérols. Seuls 9% des sujets ont consommé 2 g/j de phytostérols. La consommation médiane de phytostérols parmi les consommateurs de margarine enrichie était de 1 g/j environ. Au deuxième examen, la concentration de non HDL-C a baissé chez les consommateurs de margarines enrichies et ou de statines par rapport au non utilisateurs. La baisse ajustée selon les facteurs de risque cardiovasculaire a été plus marquée chez les sujets associant statines et phytostérols (-1,74 mmol/L, -32%) puis chez les sujets uniquement sous statine (-1,45 mmol/L, -27 %) et dans une moindre mesure chez les sujets consommant uniquement des phytostérols (-0,18 mmol/L, -4 %), les différences entre les groupes étant significatives ($P < 0,05$). Aucune interaction entre la consommation de margarines enrichies et l'utilisation de statines n'est observée.

Ainsi, l'ensemble de ces études montrent que la consommation de phytostérols et de phytostanols induit une baisse du LDL-C chez les sujets sous statines. Cette baisse semble être de même ampleur que chez les sujets non traités par les statines, suggérant un effet additif des statines et des phytostérols/stanols.

La société européenne d'athérosclérose (EAS) estime que les produits enrichis en phytostérols/stanols ont un intérêt, en conjonction avec d'autres modifications de l'hygiène de vie, chez les sujets recevant des traitements médicamenteux hypolipémiants comme les statines, et dont la concentration plasmatique en LDL-C n'atteint pas la cible fixée. L'EAS admet toutefois qu'en l'absence de données sur la morbi-mortalité cardiovasculaire issues d'études cliniques randomisées, la démonstration de l'intérêt de l'utilisation des phytostérols/stanols est incomplète. Cette absence doit être prise en compte par les professionnels de santé lorsqu'ils choisissent de conseiller la consommation de produits enrichis en phytostérols/stanols (Gylling *et al.*, 2014).

5.2.2.1.2 Ezétimibe

L'ézétimibe diminue l'absorption intestinale du cholestérol alimentaire et biliaire en bloquant le transporteur des stérols Niemann-Pick C1-like1 (NPC1L1) localisé au niveau de la bordure en brosse de l'intestin grêle. Ceci entraîne une augmentation compensatrice de la synthèse endogène de cholestérol (hépatique) (Burnett et Huff, 2006).

A notre connaissance, seules trois études ont évalué l'association de l'ézétimibe aux phytostérols.

Dans une étude en cross-over, 40 sujets légèrement hypercholestérolémiques ont suivi de manière randomisée pendant 4 semaines les traitements suivants :

- ezétimibe 10 mg + margarine témoin ;
- ezétimibe 10 mg + margarine enrichie en phytostérols (2 g/j) ;
- margarine enrichie en phytostérols (2 g/j) ;
- placebo.

L'association de l'ézétimibe aux phytostérols a réduit le LDL-C de 25,2 % alors que les phytostérols seuls ont réduit le LDL-C de 4,7 % et l'ézétimibe seul, de 22,2 %, sans différence entre les 2 groupes ézétimibe + phytostérols et ézétimibe seul (Jakulj *et al.*, 2005).

Une autre étude (Gomes *et al.*, 2007) a étudié cette association chez des sujets sous statines n'ayant pas atteint le niveau de LDL-C fixé, (LDL-C moyen de 2,5 mmol/L). Cette étude montre un effet plus marqué sur le LDL-C de l'association ézétimibe/ phytostérols (2 g) (-27,3 %) comparativement à l'ézétimibe seule (-19,1 %) ou aux phytostérols seuls (-16,6 %).

Une dernière étude (Lin *et al.*, 2011) randomisée, en double aveugle a été réalisée chez des patients modérément hypercholestérolémiques (entre 2,6 et 4,9 mmol/L) recevant successivement pendant 3 semaines :

- ezétimibe (10 mg/j) seul ;
- ezétimibe (10 mg/j) et phytostérols (2,5 g/j) ;
- placebo.

La baisse du LDL-C observée était de 16 % pour l'ézétimibe seul et de 22 % pour l'association, sans que la différence entre les deux groupes soit significative. Cette étude montre également :

- une plus forte baisse de l'absorption du cholestérol avec l'association qu'avec l'ézétimibe seul ;
- une plus forte augmentation de l'excrétion digestive du cholestérol avec l'association qu'avec l'ézétimibe seul ;
- une plus forte augmentation de l'excrétion fécale des acides biliaires avec l'association qu'avec l'ézétimibe seul.

Bien qu'il n'existe que 3 publications, celles-ci montrent que de la même façon que pour les statines, les phytostérols semblent induire une baisse du LDL-C chez les sujets sous ézétimibe. Il est toutefois difficile de conclure sur l'additivité stricte de l'effet des phytostérols et de l'ézétimibe.

5.2.2.1.3 Cholestyramine

La cholestyramine capte les acides biliaires ce qui entraîne un accroissement de leur élimination fécale et une diminution de leur réabsorption iléale (cycle entérohépatique) et par conséquent une déplétion du pool d'acides biliaires et donc une augmentation de leur synthèse hépatique à partir du pool intracellulaire de cholestérol. Ceci induit une réduction de ce pool et une augmentation de l'expression des récepteurs aux LDL, et donc enfin une diminution du LDL-C plasmatique (Burnett et Huff, 2006).

Seule une étude a évalué l'association de la cholestyramine (8 g/j) et du sitostérol (2 g/j), mais la comparaison des résultats sur le LDL-C n'est pas directe, elle est comparée à l'atorvastatine. Cette association entraîne une plus faible réduction (8 %) que l'atorvastatine seule (10 mg) (25 %) (Puato *et al.*, 2010), ce qui est beaucoup plus faible qu'attendu.

5.2.2.2 Interactions entre les médicaments et les phytostérols/stanols sur la phytostérolémie

5.2.2.2.1 Statines

A notre connaissance, aucune étude n'a évalué l'effet des statines sur l'absorption des phytostérols/stanols apportés par les aliments enrichis. Il est donc difficile de déterminer l'effet de l'association statines/phytostérols ou phytostanols sur l'absorption des phytostérols/stanols et leur concentration plasmatique. Quelques éléments indirects peuvent cependant être évoqués.

Dans une étude comparant 2,5 g de phytostanols ou de phytostérols ou un contrôle, chez 54 sujets recevant un traitement par statines pendant 85 semaines, les phytostérols augmentent les concentrations plasmatiques de sitostérol et de campestérol, alors que les phytostanols ont l'effet inverse tout en augmentant le sitostanol et le campestanol (de Jong *et al.*, 2008b). Mais dans la mesure où les 3 groupes sont traités par des statines, il n'est pas possible d'établir l'effet propre des statines dans cette étude. Malheureusement l'étude présente les teneurs plasmatiques en phytostérols/stanols rapportés à la cholestérolémie. Nous pouvons toutefois estimer les concentrations plasmatiques en valeur absolue à partir de la cholestérolémie moyenne. Ces estimations rapportées dans le Tableau 15 permettent de conclure que les teneurs en phytostérols et phytostanols atteintes par l'association d'une statine et de phytostérols ou de phytostanols sont bien inférieures à celles observées dans les cas de phytostérolémie (Tableau 7).

Tableau 15. Estimation des concentrations plasmatiques en phytostérols et en phytostanols chez les sujets traités par statines d'après de Jong *et al.* (2008c).

	Groupe control	Groupe phytostérols	Groupe phytostanols
Sitostérol (µmol/L)	9,50	15,2	6,84
Campestérol (µmol/L)	12,9	35,1	9,25
Sitostanol (µmol/L)	0,16	0,15	1,18
Campestanol (µmol/L)	0,43	0,10	0,46

L'effet des statines peut être appréhendé par des études portant sur une population non consommatrice d'aliments enrichis en phytostérols/stanols qui montrent que leur prise entraîne une augmentation des concentrations plasmatiques de sitostérol et campestérol de 16 à 25%, qui se maintient après un an de traitement ou plus (Miettinen *et al.*, 2000, Miettinen et Gylling, 2003, van Himbergen *et al.*, 2009).

L'augmentation des phytostérols plasmatiques sous l'effet des statines est plus marquée, du moins en valeur absolue, chez les sujets forts absorbeurs de stérols (identifiés par un rapport cholestanol/cholestérol basal élevé) chez qui la concentration de campestérol augmente de 17 à 23 µmol/L chez les forts absorbeurs contre une augmentation de 6,2 à 38,1 µmol/L chez les faibles absorbeurs (Miettinen *et al.*, 2000). L'effet semble de plus variable selon les statines (Miettinen *et al.*, 2003).

Certains auteurs estiment que l'association des statines aux phytostanols est meilleure que l'association des statines aux phytostérols, dans la mesure où les phytostanols font baisser la phytostérolémie (et dans

l'hypothèse où une augmentation de la phytostérolémie est délétère) (Miettinen et Gylling, 2003, Patel et Thompson, 2006, O'Neill *et al.*, 2005). Cependant, la consommation de phytostanols augmente la concentration plasmatique en phytostanols, faiblement en valeur absolue, plus fortement en valeurs relative (**Tableau 7** et **Tableau 15**). Toutefois, la teneur en phytostanols dans la paroi carotidienne ne semble pas augmentée après 4 semaines de consommation de 2 g/j de phytostanols (Miettinen *et al.*, 2011).

5.2.2.2 Ezétimibe

L'ézétimibe inhibe l'absorption du cholestérol (Sudhop *et al.*, 2002b) et des phytostérols, diminue les concentrations plasmatiques de phytostérols (sitostérol) et entraîne une augmentation compensatrice de la synthèse de cholestérol et donc une augmentation du lathostérol (Jakulj *et al.*, 2005, Assmann *et al.*, 2008).

Une étude a comparé l'effet de 2 g/j de phytostérols, de l'ézétimibe et de l'association des deux dans une étude croisée dont chaque période de traitement durait 4 semaines (Jakulj *et al.*, 2005). A la fin de l'étude, les concentrations plasmatiques de sitostérol étaient de 9,2, 11,1, 4,8 et 5,7 $\mu\text{mol/L}$ dans les groupes placebo, phytostérols, ézétimibe et ézétimibe + phytostérols, respectivement. Seules les concentrations des groupes ézétimibe et ézétimibe + phytostérols n'étaient pas différentes significativement. Les concentrations plasmatiques de campestérol variaient de la même façon dans les 4 groupes. Ainsi l'association ézétimibe-phytostérols aboutit à des concentrations en phytostérols plus faibles que dans le groupe placebo.

L'association statine-ézétimibe diminue très nettement les phytostérols plasmatiques (campestérol, sitostérol) au même niveau que l'ézétimibe seul, ainsi que la concentration en lathostérol (marqueur de la synthèse de cholestérol) au même niveau que la statine seule (Assmann *et al.*, 2008). Mais il n'y a pas d'étude sur l'interaction des phytostérols alimentaires avec l'association ézétimibe/statine.

5.2.2.3 Interactions entre les médicaments et les phytostérols/stanols sur d'autres marqueurs de risque cardiovasculaire

Chez des sujets recevant une statine, l'adjonction de phytostérols augmente les niveaux de campestérol dans les globules rouges, mais pas l'adjonction de phytostanols. Mais la fragilité osmotique érythrocytaire est identique dans les 2 groupes (de Jong *et al.*, 2006).

La même équipe a montré que l'adjonction de phytostérols ou de phytostanols à un traitement par statine n'améliorait pas les marqueurs de la fonction endothéliale et de l'inflammation, malgré une réduction supplémentaire de LDL-C (Plat *et al.*, 2004).

5.2.2.4 Effet de la consommation de phytostérols/stanols sur le suivi du traitement médicamenteux

Quelques auteurs évoquent le risque d'un moins bon suivi du traitement hypocholestérolémiant médicamenteux lorsque les sujets consomment des produits enrichis en phytostérols/stanols (de Jong *et al.*, 2007a). Dans une étude de suivi de la consommation de ces produits enrichis aux Pays-Bas, 33 % des consommateurs de ces produits pensent que la consommation d'aliments fonctionnels diminue leur besoin de recourir aux médicaments (contre 12 % des non-consommateurs) et seuls 2 % des consommateurs (4 % de non consommateurs) considèrent que leur consommation non restreinte peut être dangereuse (de Jong *et al.*, 2007b). Toutefois, une étude réalisée dans le même pays sur des sujets nouvellement traités par statines, indique que le suivi du traitement hypocholestérolémiant était le même chez les consommateurs de produits enrichis en phytostérols/stanols que chez les non consommateurs. Les auteurs soulignent toutefois la nécessité pour les prescripteurs de questionner le patient au sujet de sa consommation de phytostérols/stanols et de lui signifier de ne pas les consommer en remplacement de leur traitement médicamenteux (Eussen *et al.*, 2011a).

5.2.2.5 Conclusion

En ce qui concerne la baisse de la concentration plasmatique de LDL-C, l'association des statines avec les phytostérols ou les phytostanols est additive. De la même façon, les phytostérols semblent induire une baisse du LDL-C chez les sujets traités par de l'ézétimibe. Il est toutefois difficile de conclure sur l'additivité stricte de l'effet des phytostérols et de l'ézétimibe, du fait du faible nombre de publications.

En termes de teneur en phytostérols, l'association statines/phytostérols entraîne une augmentation des concentrations en phytostérols dans le plasma et la paroi carotidienne, alors que l'association statines/phytostanols diminue la concentration plasmatique en phytostérols, augmente celle en phytostanols mais, selon une étude, n'augmenterait pas leur teneur dans la paroi carotidienne. L'association ézétimibe/phytostérols diminue fortement la concentration plasmatique de phytostérols.

En termes de facteurs de risque cardiovasculaire autres que le LDL-C, les études portant sur l'association statine/phytostérols sont peu nombreuses.

Ainsi, il n'est pas possible, en l'état actuel des données, d'apprécier le rapport bénéfice/risque du fait d'associer la consommation de produits enrichis en phytostérols à un traitement par statine.

6. Quels sont les niveaux de consommation des phytostérols/stanols ?

6.1 Disponibilité des produits enrichis en phytostérols sur le marché français

L'Unité « Observatoire de la qualité nutritionnelle des aliments (Ciqua-Oqali) » a réalisé une analyse du marché français des produits enrichis en phytostérols, à l'aide la base de données de l'Oqali⁵. Ce projet, mené conjointement par l'Anses et l'INRA, a pour objectif de suivre, au cours du temps, la qualité nutritionnelle de l'offre alimentaire de produits transformés disponibles sur le marché français. Ce suivi est réalisé au niveau des références produit (produit de marque). La quasi-totalité des produits transformés a déjà fait l'objet d'un suivi sectoriel. Cette base de données, intégrant notamment les listes des ingrédients des produits, permet donc de réaliser un état des lieux des produits transformés contenant des phytostérols sur le marché français. Les données des secteurs des margarines, produits laitiers frais et assimilés et sauces condimentaires dans lesquels les produits enrichis en phytostérols sont retrouvés, ont été récoltées en 2011. La méthode utilisée est décrite en **Annexe 4**.

6.1.1 Liste des produits contenant des phytostérols

L'analyse du marché des produits enrichis en phytostérols ou en phytostanols indique que les produits enrichis en phytostanols ne sont pas présents sur le marché français. Treize produits enrichis en phytostérols ont été répertoriés, ils se concentrent dans 3 secteurs :

- les margarines (4 produits, à teneur variée en matière grasse, salés ou non) ;
- les produits laitiers frais et assimilés (8 produits, de type yaourt ou yaourt à boire, de différente saveur, allégés ou non en matière grasse);
- les sauces condimentaires (1 produit, vinaigrette).

A noter également qu'au moins un produit a été retiré du marché depuis l'étude par l'Oqali.

6.1.2 Fréquence des produits contenant des phytostérols par famille Oqali

Le **Tableau 16** reprend les fréquences de produit contenant des phytostérols dans leur liste d'ingrédients pour les familles de produits contenant au moins un produit avec des phytostérols.

Les fréquences observées sont faibles à l'exception de celle de la famille des matières grasses tartinables à teneur en lipides ≤ 41 % (21 %), cependant, cette famille présentant un effectif faible ($n = 14$), ce résultat est à relativiser.

⁵ Observatoire de l'alimentation, section nutritionnelle Oqali en charge des questions relatives à l'offre et aux caractéristiques des aliments <http://www.oqali.fr/oqali/>

Tableau 16. Fréquence des produits contenant des phytostérols par secteur et famille Oqali

	Nombre de produits contenant des phytostérols	Nombre total de produits de la famille ou du secteur	Pourcentage de produits contenant des phytostérols
Secteur des margarines	4	95	4 %
Matières grasses tartinables à teneur en lipides ≤ à 41%	3	14	21 %
Matières grasses tartinables à teneur en lipides > 41% et ≤ à 62%	1	67	1 %
Secteur des produits laitiers frais et assimilés	8	2430	0,3 %
Yaourts et laits fermentés édulcorés	7	126	6 %
Yaourts et laits fermentés nature non sucres classiques	1	132	1 %
Secteur des sauces condimentaires	1	571	0,2 %
Sauces crudités et salades	1	51	2 %

6.1.3 Quantité de phytostérols ajoutées

Les quantités de phytostérols ajoutées dans les aliments présents sur le marché français sont très variables lorsqu'elles sont exprimées en pourcentage de l'aliment total (**Tableau 17**). Cependant, après calcul de la quantité de phytostérols apportés par portion, ces variations apparaissent nettement moindres. De plus, en ce qui concerne les yaourts, les différences de teneurs entre les yaourts en pot et les yaourts à boire peuvent s'expliquer par les recommandations de consommation indiquées sur l'étiquetage qui sont de deux par jour pour les premiers et de un par jour pour les seconds. Les quantités journalières recommandées sur les produits sont donc identiques.

Tableau 17. Teneurs en phytostérols des produits sur le marché français (Source Oqali)

Famille de produits	Portion indiquée (g ou mL)	Quantité d'esters de phytostérols (%)	Quantité de phytostérols inclus dans les esters (%)	Quantité de phytostérols (g/portion)
Matières grasses tartinables	10	12,5	7,5	0,75
Yaourts à boire	100	2,7	1,6	1,6
Yaourts en pot	125	1,1	0,6	0,75
Sauces crudités et salades	20	14,5	8,7	1,74

6.1.4 Présence simultanée de caroténoïdes

Les 4 margarines comportant des phytostérols mentionnent également des caroténoïdes dans leur liste d'ingrédients. Plus précisément, les 4 comportent du β -carotène et 2 d'entre elles comportent également de la vitamine A. Aucun des 9 autres produits sur les secteurs des produits laitiers frais et des sauces condimentaires n'en mentionne.

6.1.5 Innovations alimentaires contenant des phytostérols

A l'aide de la base de données GNPD (Global New Product Database) qui recense notamment les innovations alimentaires en France, la liste des innovations alimentaires mises en vente sur le marché français et contenant des esters de phytostérols a été réalisée.

Les premières innovations recensées datent de 2003. Pour les années 2012 et 2013, 5 produits sont listés. Aucun nouveau secteur par rapport aux 3 précédemment identifiés n'est concerné. En effet, il s'agit de 2 margarines et de 3 produits laitiers frais et assimilés. On peut également noter l'apparition d'une margarine

de marque de distributeur et l'apparition au sein du secteur des produits laitiers frais, de fromages blancs alors que jusqu'à présent seuls des yaourts classiques ou à boire étaient présents sur le marché. Les autres produits recensés comme innovation correspondent quant à eux à des changements d'emballage ou de recette pour des produits qui étaient déjà disponibles sur le marché.

6.2 Niveaux d'apport en phytostérols et en phytostanols

L'Anses a estimé les niveaux d'apports en phytostérols et en phytostanols provenant de l'alimentation courante et des aliments enrichis dans la population française (matériel et méthodes décrits en **Annexe 5**). Les données de consommation proviennent de l'enquête INCA2, effectuée en 2006-2007 auprès de 4079 individus âgés de 3 à 79 ans. Ces données ont été croisées avec la table de composition des aliments INCA2 et à la table de composition des aliments enrichis fournies par le CIQUAL (pour plus de précisions, voir l'**Annexe 5**). Il est à noter que la composition des aliments en ces molécules a été réalisée le plus souvent dans les années antérieures à l'apparition de méthodes analytiques permettant de distinguer les molécules différant entre elles par de faibles variations. En particulier, certains phytostanols ne sont pas toujours distingués des phytostérols voisins sur le plan structural.

6.2.1 Niveaux d'apport en phytostérols/stanols chez les adultes (18-79 ans)

A partir de l'analyse des données de l'enquête INCA 2, 70 consommateurs d'aliments enrichis en phytostérols adultes (18-79 ans), soit moins de 3 %, ont été identifiés.

6.2.1.1 Adultes non consommateurs d'aliments enrichis en phytostérols/stanols

Tableau 18. Apports quotidiens totaux en phytostérols et en phytostanols (en mg/j/pers) par tranche d'âge, chez les adultes non-consommateurs d'aliments enrichis (n = 2554)

	Non-consommateurs d'aliments enrichis									
	Adultes 18-79 ans									
	18-45 ans (n = 1316)					46-79 ans (n = 1238)				
	Moy	ET	Med	P95	Max	Moy	ET	Med	P95	Max
Phytostérols	177,7	67,0	168,8	298,1	432,1	195,7	77,9	190,3	334,9	710,0
Phytostanols	11,0	7,2	9,4	24,7	54,2	13,2	8,5	11,7	28,2	86,6
Phytostérols Phytostanols +	188,7	71,4	180,1	316,7	457,1	208,9	83,6	202,1	356,0	775,2

Source : Etude INCA2, 2006-2007, Traitement Anses

Chez les adultes non consommateurs d'aliments enrichis en phytostérols/stanols, le niveau d'apport moyen, toute tranche d'âge confondue, est de 186 mg/j de phytostérols et de 12 mg/j de phytostanols. Les apports des personnes de plus de 45 ans sont proches de ceux des adultes de moins de 45 ans.

Les niveaux d'apports français sont ainsi proches des niveaux d'apport au Royaume-Uni estimés à 163 mg/j mais sans prise en compte du stigmastanol, (Morton *et al.*, 1995). Ils sont légèrement inférieurs à ceux des populations espagnole, estimés à 276 mg/j (Jimenez-Escrig *et al.*, 2006), finlandaise, estimés pour les hommes à 305 mg/j (Valsta *et al.*, 2004), néerlandaise, estimés pour les hommes à 307 mg/j (Normen *et al.*, 2001) et belge, estimés pour les hommes à 300 mg/j (Sioen *et al.*, 2011b).

Cette consommation européenne est bien inférieure à celle des Indiens Tarahumaras qui se nourrissent majoritairement (90 %) de maïs et de haricots et consomment en moyenne 472 mg/j de phytostérols et de phytostanols (Cerqueira *et al.*, 1979). Elle est également très inférieure à la dose efficace reconnue pour avoir un effet sur le LDL-C de 1,5-2,4 g/j, établie par l'Efsa.

6.2.1.2 Adultes consommateurs d'aliments enrichis en phytostérols/stanols**Tableau 19. Apports quotidiens totaux en phytostérols et en phytostanols (en mg/j/pers) par tranche d'âge, chez les adultes consommateurs d'aliments enrichis (n = 70)**

Consommateurs d'aliments enrichis										
Adultes 18-79 ans										
	18-45 ans (n = 13)					46-79 ans (n = 57)				
	Moy	ET	Med	P75*	Max	Moy	ET	Med	P90**	Max
Par les aliments enrichis										
Phytostérols	451,1	483,1	107,1	750,0	1607,1	696,0	799,3	535,7	1285,7	4446,4
Phytostanols	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	46,0	182,0	0,0	0,0	1100,0
Phytostérols + Phytostanols	451,1	483,1	107,1	750,0	1607,1	742,0	786,2	642,9	1285,7	4446,4
Par l'alimentation courante										
Phytostérols	205,5	68,7	216,2	247,5	312,1	212,3	58,1	218,4	270,0	399,2
Phytostanols	19,3	15,9	10,4	27,0	49,5	13,9	8,3	11,9	22,9	50,8
Phytostérols + Phytostanols	224,9	83,1	221,6	274,5	361,5	226,2	63,0	229,3	283,4	412,9
Par l'alimentation totale										
Phytostérols	656,6	505,7	354,6	1062,1	1777,8	908,3	805,5	765,2	1532,9	4680,4
Phytostanols	19,3	15,9	10,4	27,0	49,5	59,9	181,3	13,2	26,9	1109,7
Phytostérols + Phytostanols	675,9	512,2	381,6	1111,5	1794,9	968,1	793,4	884,5	1554,5	4701,0

Source : Etude INCA2, 2006-2007, Traitement Anses

*En raison du très faible effectif de cette population, le 75^{ème} percentile a été retenu pour estimer les apports quotidiens en phytostérols et phytostanols totaux des plus forts consommateurs d'aliments enrichis.

**En raison du faible effectif de cette population, le 90^{ème} percentile a été retenu pour estimer les apports quotidiens en phytostérols et phytostanols totaux des plus forts consommateurs d'aliments enrichis.

Chez les consommateurs d'aliments enrichis en phytostérols/stanols, l'alimentation enrichie apporte, en moyenne, 3 fois plus de phytostérols que l'alimentation non enrichie. Les apports totaux moyens, toutes tranches d'âge confondues, sont de 869 mg/j, mais ils sont plus élevés chez les personnes de plus de 45 ans. Cependant, même dans cette tranche d'âge, le niveau d'apport total (alimentation enrichie et non-enrichie) moyen n'atteint pas la dose efficace de 1,5-2,4 g/j. Seuls les consommateurs du 90^{ème} percentile s'en approchent.

Par ailleurs, les niveaux d'apport n'atteignent pas la dose de 3 g/j considérée comme ne devant pas être dépassée, même chez les consommateurs du 90^{ème} percentile. Le niveau maximal d'apport est cependant de plus de 4,6 g/j chez un individu.

En ce qui concerne la consommation de produits enrichis en phytostanols, elle est très marginale dans la population INCA2.

6.2.2 Niveaux d'apport en phytostérols/stanols chez les enfants

Dans l'enquête INCA2, 10 enfants sur 1.445 ont consommé des aliments enrichis en phytostérols/stanols, malgré l'étiquetage apposé sur les produits enrichis en phytostérols déconseillant leur consommation par cette tranche de la population.

Ces données de consommation françaises sont relativement faibles au regard des données issues d'une enquête belge portant sur les enfants de 2,5 à 7 ans. Sur 139 enfants, 29 d'entre eux (soit 21 %) ont déclaré consommer des aliments enrichis en phytostérols. Dans cette enquête, le pourcentage d'adultes consommateurs d'aliments enrichis était également plus élevé que dans l'enquête Inca 2 (29 %) (Sioen *et al.*, 2011a).

6.2.2.1 Enfants non consommateurs d'aliments enrichis en phytostérols/stanols

Tableau 20. Apports quotidiens totaux en phytostérols et en phytostanols (en mg/j/pers), chez les enfants non-consommateurs d'aliments enrichis (n = 1445)

	Non-consommateurs d'aliments enrichis								
	Enfants 3-17 ans								
	Moy	ET	Min	P5	P25	Med	P75	P95	Max
Par l'alimentation courante									
Phytostérols	156,8	58,7	19,2	76,2	114,4	149,3	189,3	264,3	468,4
Phytostanols	8,8	5,7	0,0	2,2	4,8	7,7	11,3	20,0	52,2
Phytostérols + Phytostanols	165,6	62,3	20,4	81,3	121,4	159,2	198,7	279,7	489,2

Source : Etude INCA2, 2006-2007, Traitement Anses

La consommation de phytostérols et de phytostanols des enfants est légèrement inférieure à celle des adultes non consommateurs d'aliments enrichis en phytostérols/stanols. Elle est également légèrement inférieure à celle des enfants belges estimée à 180 mg/j environ (Sioen *et al.*, 2011a).

6.2.2.2 Enfants consommateurs d'aliments enrichis en phytostérols/stanols

Tableau 21. Apports quotidiens totaux en phytostérols et en phytostanols (en mg/j/pers), chez les enfants consommateurs d'aliments enrichis (n = 10)

	Consommateurs d'aliments enrichis						
	Enfants 3-17 ans						
	Moy	ET	Min	P25*	Med	P75*	Max
Par les aliments enrichis							
Phytostérols	278,5	278,6	0,0	53,6	107,1	535,7	857,1
Phytostanols	34,2	81,2	0,0	0,0	0,0	0,0	242,3
Phytostérols + Phytostanols	312,7	258,0	25,7	107,1	242,3	535,7	857,1
Par l'alimentation courante							
Phytostérols	194,1	52,2	105,7	155,1	168,9	263,3	282,8
Phytostanols	10,9	5,5	4,6	7,0	9,0	10,6	26,6
Phytostérols + Phytostanols	204,9	55,4	114,7	162,1	176,8	274,0	287,5
Par l'alimentation totale							
Phytostérols	472,5	294,2	212,9	263,8	276,1	690,8	1120,4
Phytostanols	45,1	81,1	4,6	7,0	9,0	18,9	252,5
Phytostérols + Phytostanols	517,6	286,4	221,8	283,9	411,2	697,8	1139,4

Source : Etude INCA2, 2006-2007, Traitement Anses

*En raison du très faible effectif de cette population, le 25^{ème} et le 75^{ème} percentile ont été retenus pour estimer les apports quotidiens en phytostérols et phytostanols totaux des plus faibles et des plus forts consommateurs d'aliments enrichis, respectivement.

Chez les 10 enfants consommateurs d'aliments enrichis en phytostérols, l'alimentation enrichie représente en moyenne, une bonne moitié des apports en phytostérols totaux. Les niveaux d'apport par l'alimentation totale n'atteignent pas la dose efficace de 1,5-2,4 g/j.

Dans l'étude belge citée ci-dessus, les niveaux de consommation de phytostérols et phytostanols sont supérieurs à ceux observés dans l'enquête Inca 2. En effet, le niveau d'apport moyen en phytostérols + phytostanols des enfants consommateurs d'aliments enrichis s'élève à 0,7 g/j et l'apport maximal à 2,10 g/j (Sioen *et al.*, 2011a).

De la même façon que pour les adultes, la consommation de produits enrichis en phytostanols est très marginale chez les enfants de la population INCA2, puisqu'un seul individu en a consommé.

6.2.3 Caractéristiques des consommateurs d'aliments enrichis en phytostérols/stanols

6.2.3.1 Répartition par âge et par sexe

Chez les consommateurs d'aliments enrichis, l'âge moyen était de 11,9 ans (ET = 3,1) pour les enfants (3-17 ans) et de 57,2 ans (ET = 11,1) pour les adultes (18-79 ans). Parallèlement, chez les non-consommateurs d'aliments enrichis l'âge moyen était respectivement de 10,3 ans (ET = 4,1) et de 45,1 ans (ET = 16,5) pour les 1445 enfants (3-17 ans) et les 2554 adultes (18-79 ans) respectivement.

La répartition des consommateurs et des non-consommateurs d'aliments enrichis en phytostérols et/ou phytostanols par tranche d'âge est présentée dans le **Tableau 22** chez les enfants de 3-17 ans et dans le **Tableau 23** chez les adultes de 18-79 ans. Les consommateurs d'aliments enrichis apparaissent significativement plus âgés que les non-consommateurs avec respectivement 84,2 % et 47,5 % d'individus âgés entre 46 et 79 ans.

Quel que soit l'échantillon considéré (enfants 3-17 ans ou adultes 18-79 ans) aucune différence significative dans la répartition par sexe entre les consommateurs et les non-consommateurs n'a été observée. Les femmes représentaient 50,6 % des consommateurs et 51,4 % des non consommateurs d'aliments enrichis en phytostérols/stanols.

Tableau 22. Répartition par sexe des consommateurs et des non-consommateurs d'aliments enrichis en phytostérols et/ou phytostanols, chez les enfants 3-17 ans* (n = 1455)

	Consommateurs (n = 10)*	Non-consommateurs (n = 1445)*
	% (IC 95 %)	% (IC 95 %)
Sexe		
Homme	64,7 (49,6-79,8)	51,4 (50,1-52,7)
Femme	35,3 (20,2-50,4)	48,6 (47,3-49,9)

Source : Etude INCA2, 2006-2007, Traitement Anses

*En raison des échantillons définis dans l'étude INCA 2 (échantillons enfants 3-17 ans et adultes 18-79 ans), la répartition par tranche d'âge chez les enfants consommateurs et non-consommateurs d'aliments enrichis n'est pas figurée dans ce tableau ; 100 % des individus se répartissant dans la tranche d'âge 3-17 ans.

Tableau 23. Répartition par tranche d'âge et par sexe des consommateurs et des non-consommateurs d'aliments enrichis en phytostérols et/ou phytostanols, chez les adultes 18-79 ans (n = 2624)

	Consommateurs (n = 70)	Non-consommateurs (n = 2554)
	% (IC 95%)	% (IC 95%)
Sexe		
Homme	49,4 (43,4-55,4)	48,6 (47,6-49,6)
Femme	50,6 (44,6-56,6)	51,4 (50,4-52,4)
Tranches d'âge		
18-45 ans	15,8 (11,4-20,2)	52,5 (51,5-53,5)
46-79 ans	84,2 (79,8-88,6)	47,5 (46,5-48,5)

Source : Etude INCA2, 2006-2007, Traitement Anses

6.2.3.2 Mode de consommation des aliments enrichis en phytostérols/stanols

La majorité des consommateurs d'aliments enrichis en phytostérols/stanols (enfants ou adultes) en consomme moins d'une portion par jour (**Tableau 24**). Chez les adultes, 26 % en consomment plus d'une portion. Dans la très grande majorité des cas, les consommateurs ne consomment qu'un seul type d'aliment enrichi en phytostérols/stanols (**Tableau 24**).

Tableau 24. Fréquence de consommation quotidienne de portions d'aliments enrichis en phytostérols et/ou phytostanols et fréquence de consommation hebdomadaire d'aliments enrichis en phytostérols et/ou phytostanols différents chez les consommateurs d'aliments enrichis (n = 80)

	Consommateurs d'aliments enrichis	
	Enfants 3-17 ans (n = 10)	Adultes 18-79 ans (n = 70)
	Répartition (%)	Répartition (%)
Nb. de portions consommées par jour		
Moins de 1 portion par jour	83,9	59,0
1 portion par jour	7,7	14,8
Plus de 1 portion par jour	8,4	26,2
Nb. d'aliments différents consommés par semaine		
1 seul type aliment consommé par semaine	100	92,5
Plus de 1 type d'aliment consommé par semaine	0	7,5

Source : Etude INCA2, 2006-2007, Traitement Anses

6.2.4 Aliments vecteurs

L'**Annexe 6** présente les principaux vecteurs de phytostérols (**Tableaux 27 et 28**) et de phytostanols (**Tableaux 29 et 30**) chez les adultes et les enfants respectivement, consommateurs ou non d'aliments enrichis en phytostérols/stanols.

6.2.4.1 Aliments vecteurs de phytostérols

Chez les consommateurs d'aliments enrichis, ceux-ci constituent bien le principal vecteur de phytostérols (près de 60 % de l'apport total chez les enfants de 3 à 17 ans et plus de 75 % chez les adultes de 18 à 79 ans). Chez les enfants, les principaux autres contributeurs sont les groupes « Pain et panification sèche » (7,7 %), « Pâtisseries et gâteaux » (3,9 %), « Biscuits sucrés ou salés et barres » (3,5 %), « Pommes de terre et apparentés (3,4 %), « Huile » (3,3 %), « Légumes (hors pomme de terre) » (2,5 %), « Chocolat » (2,2 %), « Pâtes » (2,0 %), « Fruits » (1,7 %) et « Riz et blé dur ou concassé » (1,6 %). Chez les adultes la hiérarchie est sensiblement similaire avec les groupes « Pain et panification sèche » (5,9 %), « Huile » (3,4 %), « Fruits » (2,7 %), « Légumes (hors pomme de terre) » (2,4 %) et « Pâtisseries et gâteaux » (1,6 %) comme principaux autres vecteurs de phytostérols totaux dans l'alimentation des consommateurs d'aliments enrichis. Chez les non-consommateurs d'aliments enrichis, les mêmes principaux aliments non-enrichis vecteurs de phytostérols totaux sont retrouvés avec cependant une contribution importante pour des groupes d'aliments non identifiés précédemment tels que « Plats composés », « Sandwiches, casse-croûte », « Margarine », « Condiments et sauces » et « Céréales pour petit déjeuner » (seulement chez les enfants).

6.2.4.2 Aliments vecteurs de phytostanols

Comme pour les aliments vecteurs de phytostérols, le groupe des aliments enrichis constitue le principal contributeur à l'apport total en phytostanols totaux chez les consommateurs d'aliments enrichis (75,8 % chez les enfants de 3 à 17 ans et 72,3 % chez les adultes de 18 à 79 ans). Les autres vecteurs de phytostanols sont, chez les enfants comme chez les adultes, les groupes « Pain et panification sèche », « Pâtes », « Légumes (hors pomme de terre) », et « Céréales pour petit déjeuner ». Hormis le groupe des aliments enrichis, la même hiérarchie est globalement retrouvée pour les non-consommateurs d'aliments enrichis avec une contribution très importante des groupes « Pain et panification sèche » (45,5 % chez les enfants et 62,5 % chez les adultes) et « Pâtes » (42,0 % chez les enfants et 26,7 % chez les adultes) dans l'apport total en phytostanols.

6.2.5 Motivations et comportement des consommateurs d'aliments enrichis en phytostérols/stanols

Une étude réalisée en Finlande (Simojoki *et al.*, 2005) sur la typologie des consommateurs de margarines enrichies en phytostérols et phytostanols montre que 4,5 % des sujets interrogés consomment ce type de produit. La raison principale de cette consommation est l'existence d'une histoire personnelle de maladie cardiovasculaire puisque 46 % des utilisateurs répondent à ce critère (contre 25 % des non utilisateurs). Néanmoins, 3 % de sujets sans historique de maladie cardiovasculaire consomment ces margarines.

Une étude française réalisée chez des sujets recevant des médicaments hypolipémiants (Laforest *et al.*, 2007) a montré que les consommateurs de margarines enrichies aux phytostérols n'avaient pas plus de facteurs de risque cardiovasculaire, excepté plus d'événements cardiovasculaires chez leurs parents, et n'avaient pas plus d'antécédents cardiovasculaires que les non consommateurs de phytostérols. Les auteurs concluent que, contrairement à la Finlande, l'utilisation de produits enrichis en phytostérols n'est pas liée au niveau de risque cardiovasculaire.

Une autre étude réalisée en Finlande (Simojoki *et al.*, 2004) a évalué l'observance, sur le long terme, de la recommandation d'utilisation des margarines enrichies en phytostérols et en phytostanols. Cette étude a comptabilisé le nombre d'utilisateurs lors d'une enquête réalisée en 2000 dans un échantillon d'utilisateurs sélectionnés au cours d'enquêtes réalisées en 1996 et 1999. Seuls 33 % des sujets utilisateurs en 1996-1999 l'étaient encore en 2000. Parmi ceux qui avaient abandonné l'utilisation de ces produits alors qu'ils l'avaient commencée en 1996, 37 % l'avait abandonnée après un an, 30 % après deux ans et 21 % après 3 ans. Le maintien sur le long terme de la consommation de margarine enrichie en phytostérols/stanols semble donc relativement difficile.

Plus récemment, une étude de surveillance postérieure à la mise sur le marché d'aliments enrichis en phytostérols a été conduite dans 5 pays européens (Allemagne, Grande Bretagne, France, Belgique, Pays-Bas) (Willems *et al.*, 2013). Les données proviennent de deux panels qui regroupent 11612 ménages ayant acheté au moins un aliment enrichi en phytostérols dans l'année. Cette étude rapporte que seuls 2 à 6 % des ménages comprenaient un enfant de moins de 5 ans, pour lesquels la consommation de phytostérols est déconseillée. Les auteurs ont estimé des apports quotidiens moyens en phytostérols sur la base de la composition du ménage. Ils varient de 0,35 g/j en France à 0,86 g/j en Grande-Bretagne. Les apports les plus élevés en phytostérols (au 95^e percentile) varient de 1 g/j en France à 3,7 g/j aux Pays-Bas. Les auteurs concluent que la surconsommation semble peu probable dans ces populations. Les apports estimés dans l'enquête INCA 2 par le biais de l'alimentation enrichie en phytostérols sont de 1,3 g/j au 90^{ème} percentile chez les sujets âgés de 46 à 79 ans, et de 0,75 g/j chez les adultes de 18 à 45 ans, ce qui est globalement cohérent avec ces estimations.

6.3 Discussion et conclusion

Le marché français des aliments enrichis en phytostérols/stanols se concentre sur les 3 secteurs des matières grasses végétales, des produits laitiers frais et de la vinaigrette, malgré des autorisations accordées pour d'autres vecteurs. Les développements attendus pour 2015 concernent essentiellement des extensions de gamme de produits existant dans les mêmes secteurs.

D'après l'étude INCA 2, les consommateurs de ces produits représentaient, en 2006-2007, moins de 3 % des adultes (70 sujets adultes sur 2554) et 0,7 % des enfants (10 sur 1145) malgré l'étiquetage apposé sur les produits enrichis en phytostérols déconseillant leur consommation par cette tranche d'âge. Parmi les adultes, la tranche d'âge des 46-79 ans, qu'on peut considérer comme plus à risque d'hypercholestérolémie, est plus représentée.

Les niveaux d'apports moyens en phytostérols, malgré la consommation d'aliment enrichis, restent inférieurs à la dose efficace reconnue par l'Efsa (1,5-2,4 g/j). Chez les sujets âgés de 46 à 79 ans, cette dose est atteinte à partir du 90^{ème} percentile. Il est rassurant de constater qu'il n'y a pas de dépassement notable de la dose de 3 g/j qu'il est déconseillé de dépasser chez l'adulte. Cependant, une baisse de la concentration en β -carotène est observée suite à la consommation de produits enrichis en apportant 1,1 g/j de phytostérols. Ainsi, dans les conditions réelles de consommation, ce risque doit être mieux caractérisé. De même, une augmentation de la phytostérolémie est observée pour ces mêmes niveaux d'apport et les conséquences physiologiques de cette augmentation sont encore méconnues.

Le niveau d'apport maximal chez les enfants enquêtés est de 1,1 g/j mais aucune comparaison n'est possible en l'absence de niveau maximal d'apport défini. La présence de 10 enfants parmi les 80 sujets consommant des produits enrichis en phytostérols/stanols, malgré la mention d'étiquetage, soulève des inquiétudes de la part du CES Nutrition Humaine.

Les données de consommation utilisées datent de 2006-2007 et il est possible que le marché des produits enrichis et leur consommation aient évolué depuis.

7. Synthèse et Conclusion du CES

7.1 Synthèse du CES

7.1.1 Des effets hypocholestérolémiants limités à une fraction de la population

Le CES « Nutrition Humaine » confirme les évaluations précédentes de l'Afssa et de l'Efsa, à savoir que les phytostérols et les phytostanols, consommés à hauteur de 1,5-2,4 g/j, font baisser la cholestérolémie totale et la concentration en LDL-C d'environ 10 % sur des périodes de quelques semaines à 1 ou 2 ans. Cependant, il est important de souligner que la variabilité individuelle de réponse aux **phytostérols** est grande : on peut estimer que chez 30 % des sujets, sujets non répondeurs, la concentration de LDL-C ne diminue pas. La réponse aux **phytostérols** varie selon les capacités de synthèse de cholestérol : les sujets non répondeurs aux phytostérols/stanols ayant une capacité de synthèse du cholestérol plus élevée. A notre connaissance, aucune donnée sur la variabilité de réponse aux phytostanols n'existe.

L'ampleur de la baisse du LDL-C est également fonction de la concentration initiale de LDL-C. En effet, la diminution semblant constante en pourcentage dans les essais ayant évalué ce point précis, elle est plus élevée en valeur absolue chez les sujets présentant une concentration initiale de LDL-C plus élevée.

Concernant l'influence génétique, les quelques études portant sur les sujets hétérozygotes pour une mutation des gènes ABCG5/G8 à l'origine de la sitostérolémie à l'état homozygote, montrent une baisse similaire du LDL-C suite à la consommation d'aliments enrichis en phytostérols ou en phytostanols chez les sujets hétérozygotes et chez les sujets non porteurs de la mutation.

Les essais évaluant l'influence du polymorphisme génétique sur la variabilité de réponse aux phytostérols ou aux phytostanols sont peu concluants : dans le cas du polymorphisme de l'apolipoprotéine E, les études ne sont pas concordantes, dans le cas du transporteur ABCG5/G8, il n'y aurait pas d'influence majeure et dans les cas du transporteur NPC1L1, de la protéine de transfert CETP et de l'enzyme CYP7A1, une influence du polymorphisme reste à confirmer.

7.1.2 Une augmentation des concentrations de phytostérols aux conséquences méconnues

La consommation d'aliments enrichis en **phytostérols** à la dose de 1,6 g/j augmente d'environ 30 % les concentrations plasmatiques de phytostérols, alors que la consommation de **phytostanols** à la dose de 0,6 g/j, diminue les concentrations plasmatiques en phytostérols tout en augmentant de 170 % celles de phytostanols. Un certain nombre d'études d'observation a porté sur les conséquences des concentrations plasmatiques élevées en **phytostérols** sur le risque cardiovasculaire. Aucune n'a porté sur une éventuelle association entre les concentrations en **phytostanols** et le risque cardiovasculaire.

Les données sur la relation entre les concentrations plasmatiques de **phytostérols** et le risque cardiovasculaire ne sont pas convergentes. Plus précisément, les études cas-témoins, chez l'homme, sont divergentes, certaines suggérant une association positive entre les taux plasmatiques de phytostérols, d'autres une absence d'association voire une association négative. Parmi les 5 études de cohorte réalisées, 4 rapportent une association positive significative entre les concentrations plasmatiques de phytostérols et le risque d'évènements cardiovasculaires, et une, comportant un nombre limité de sujets, retrouve un effet opposé. Une récente méta-analyse de l'ensemble de ces études conclut à une absence d'association entre les concentrations plasmatiques de phytostérols et le risque cardiovasculaire, mais l'hétérogénéité très forte entre les études (80 % environ), par ailleurs peu nombreuses, pourrait être la cause de cette absence d'association.

A cette hétérogénéité de résultats, s'ajoute une difficulté supplémentaire liée à l'interprétation des concentrations plasmatiques en **phytostérols**. En effet, les concentrations plasmatiques de phytostérols varient en fonction de leurs apports alimentaires mais aussi en fonction de la capacité individuelle d'absorption des stérols (cholestérol et phytostérols). Or, quelques études montrent une association positive entre la capacité d'absorption des stérols et le risque cardiovasculaire. Par conséquent, il apparaît que l'augmentation du risque cardiovasculaire rapportée dans certaines études peut être liée soit à des apports élevés en phytostérols, soit à des capacités d'absorption de stérols élevées. Un troisième élément à prendre en compte dans l'interprétation des résultats réside dans le fait que ces études ont été réalisées chez des sujets ne consommant pas d'aliments enrichis en phytostérols, et leurs concentrations plasmatiques en phytostérols sont de ce fait *a priori* inférieures à celles des consommateurs réguliers d'aliments enrichis apportant 1,6-1,7 g/j de phytostérols.

Pour conclure, l'ensemble des données à notre disposition ne montre pas un risque cardiovasculaire lié à la teneur plasmatique en **phytostérols**, mais ne permet pas de l'exclure.

En ce qui concerne les **phytostanols**, aucune étude portant sur le lien entre leur concentration plasmatique et le risque cardiovasculaire n'existe à notre connaissance.

7.1.3 Quelle résultante sur le risque cardiovasculaire ?

L'athérogenèse à l'origine de nombreuses maladies cardiovasculaires est un processus complexe, impliquant un dépôt de cholestérol dans les artères, des phénomènes d'oxydation, d'inflammation, de prolifération et de migration cellulaire et une réorganisation de la paroi vasculaire. Il s'agit d'une physiopathologie multifactorielle pour laquelle la HAS reconnaît les facteurs de risque suivants : l'âge, le tabagisme, la présence d'antécédents familiaux d'accident cardiovasculaire précoce, hypertension artérielle permanente, diabète de type 2, microalbuminurie et dyslipidémie (LDL-C élevé, HDL-C bas).

Les études portant sur les effets des phytostérols et des phytostanols sur certains paramètres associés au risque cardiovasculaire (lipides circulants, processus d'oxydation, élasticité artérielle) ne permettent pas de conclure quant aux effets des phytostérols et des phytostanols alimentaires sur la réduction de la morbidité et la mortalité cardiovasculaire. En outre, la seule étude épidémiologique portant sur les événements cardiovasculaires n'apporte pas d'élément suffisant pour conclure à un bénéfice.

Par ailleurs, les données manquent pour se prononcer sur les conséquences cardiovasculaires d'une augmentation de la phytostérolémie induite par la consommation d'aliments enrichis en **phytostérols**. Bien qu'il existe une association inverse entre taux plasmatique de caroténoïdes et risque cardiovasculaire, on ne peut pas non plus conclure quant aux conséquences cardiovasculaires d'une baisse des caroténoïdes plasmatiques induite par la consommation d'aliments enrichis en phytostérols.

En ce qui concerne les **phytostanols**, les données disponibles suggèrent un effet similaire à celui des phytostérols sur les lipides et les caroténoïdes plasmatiques, mais à notre connaissance aucune étude n'existe sur la variabilité interindividuelle de leur effet hypocholestérolémiant ni sur l'association potentielle entre la concentration plasmatique de phytostanols et le risque cardiovasculaire.

En l'absence de données issues d'études d'intervention, il n'est pas possible de se prononcer sur l'effet des phytostérols et des phytostanols sur la morbidité et la mortalité cardiovasculaires, en accord avec les conclusions de la société européenne d'athérosclérose (EAS) (Gylling *et al.*, 2014).

7.1.4 Cas des populations particulières

7.1.4.1 Enfants

La plupart des études relatives aux phytostérols chez l'enfant a été réalisée chez des enfants atteints d'hypercholestérolémie familiale hétérozygote. La consommation d'aliments enrichis en phytostérols/stanols est cliniquement bien tolérée chez l'enfant. Chez les enfants hypercholestérolémiques, elle permet une diminution significative du LDL-C à court et moyen termes, mais n'a pas d'effet démontré sur la fonction artérielle.

La consommation de **phytostérols** chez l'enfant entraîne, comme chez l'adulte, une élévation de la concentration plasmatique de sitostérol et de campestérol. Une baisse de la concentration plasmatique en β -carotène est également observée suite à la consommation de **phytostérols** et de **phytostanols**. Les études pédiatriques ne permettent pas de conclure sur les conséquences éventuelles de leur consommation sur l'absorption des autres vitamines liposolubles.

Ainsi, la consommation d'aliments enrichis en phytostérols/stanols semble avoir les mêmes conséquences à court et moyen termes chez l'enfant de plus de 4 ans que chez l'adulte en termes de baisse de la concentration plasmatique de β -carotène et de LDL-C et d'augmentation de celle des phytostérols

plasmatiques dans le cas d'un enrichissement en phytostérols. Tout comme pour l'adulte, les études d'intervention sur la morbidité et la mortalité cardiovasculaire manquent pour pouvoir conclure.

A ce jour, la réglementation impose de mentionner sur les produits enrichis en phytostérols/stanols que « le produit peut ne pas convenir, du point de vue nutritionnel, aux femmes enceintes et allaitantes et aux enfants âgés de moins de cinq ans » (règlement (CE) 608/2004).

Sur la base de cette nouvelle évaluation, le CES « Nutrition Humaine » estime que les produits enrichis en phytostérols/stanols ne doivent pas être consommés par les enfants, quel que soit leur âge, sauf avis médical spécifique.

7.1.4.2 Femmes enceintes ou allaitantes

Seules trois études sont disponibles chez la femme enceinte ou allaitante. D'après ces données, le CES « Nutrition Humaine » conclut que les apports en **phytostérols** chez les femmes allaitantes ont un effet sur la concentration en phytostérols de leur lait. Par ailleurs, des apports maternels élevés sont susceptibles d'augmenter indirectement la phytostérolémie des nourrissons allaités et d'abaisser leur concentration plasmatique en β -carotène. Ces études ne permettent cependant pas de conclure sur un éventuel effet d'une consommation maternelle élevée en phytostérols sur le métabolisme du cholestérol (synthèse vs absorption) chez les nourrissons.

A ce jour, la réglementation impose de mentionner sur les produits enrichis en phytostérols/stanols que « le produit peut ne pas convenir, du point de vue nutritionnel, aux femmes enceintes et allaitantes et aux enfants âgés de moins de cinq ans » (règlement (CE) 608/2004).

Etant donné que les phytostérols sont retrouvés dans le lait maternel et dans le sang des nourrissons et qu'ils induisent une baisse de leur concentration en β -carotène, le CES « nutrition humaine » estime que les produits enrichis en phytostérols/stanols ne doivent pas être consommés par les femmes enceintes ou allaitantes sauf avis médical spécifique.

7.1.4.3 Sujets sitostérolémiques hétérozygotes

Les sujets souffrant de sitostérolémie, une maladie génétique rare caractérisée par des concentrations de phytostérols excessivement élevées (multipliées par 30 ou 100 par rapport à la population générale) doivent suivre un régime pauvre en phytostérols, phytostanols et cholestérol. Il leur est de ce fait exclu de consommer des aliments enrichis en phytostérols/stanols et une information claire de la présence de phytostérols/stanols dans les produits leur est nécessaire.

En revanche, les sujets hétérozygotes pour les mutations des gènes ABCG5/G8 ne sont pas identifiables en pratique. De plus, en cas de consommation de produits enrichis en phytostérols, leur cholestérolémie baisse et leur phytostérolémie, qui au niveau basal est légèrement plus élevée, augmente dans les mêmes proportions que chez les sujets non porteurs de la mutation. Ainsi, le CES « Nutrition Humaine » estime qu'une information spécifique dédiée à leur intention n'apparaît pas pertinente.

7.2 Conclusion du CES « Nutrition Humaine »

La présente évaluation confirme que la consommation d'aliments enrichis en phytostérols/stanols à hauteur de 1,5-2,4 g/j induit en moyenne une baisse des concentrations plasmatiques en LDL-C d'environ 10 %. Cependant, elle soulève un certain nombre d'incertitudes sur les bénéfices et les risques liés à la consommation des aliments enrichis en phytostérols/stanols :

- la consommation d'aliments enrichis en **phytostérols** n'induit pas de baisse de LDL-C chez environ 30 % des sujets ;
- la consommation de ces aliments entraîne une augmentation des concentrations plasmatiques en **phytostérols** dont on ne connaît pas les conséquences sur le risque cardiovasculaire ;
- en l'absence de données issues d'études d'intervention, il n'est pas possible de se prononcer sur l'effet des **phytostérols** et des **phytostanols** sur la morbidité et la mortalité cardiovasculaires ;
- les conditions de commercialisation des produits enrichis en phytostérols/stanols rendent accessibles ces produits aux enfants, comme cela a été observé dans l'enquête INCA2, malgré les avertissements sur l'étiquetage.

Ainsi, le CES « Nutrition Humaine » considère que :

- sur le plan de la santé publique, les données disponibles ne permettent pas de considérer les aliments enrichis en phytostérols/stanols comme un moyen approprié de prévention des maladies cardiovasculaires ;
- sur le plan individuel, la consommation d'aliments enrichis en phytostérols/stanols devrait faire l'objet d'une évaluation du rapport bénéfice/risque au cas par cas par un professionnel de santé.

Il est souhaitable que la consommation de produits enrichis en phytostérols/stanols soit associée à une augmentation de la consommation de fruits et légumes afin de compenser la baisse des caroténoïdes plasmatiques.

Le CES « Nutrition Humaine » rappelle que la maladie athéromateuse est multifactorielle et qu'il convient de prendre en compte chacun des facteurs impliqués par des mesures hygiéno-diététiques appropriées, telles que l'arrêt du tabagisme, l'augmentation de l'activité physique, la réduction de la sédentarité et l'amélioration de l'équilibre alimentaire en veillant à une forte consommation de fruits et légumes, un apport équilibré en acides gras et à une consommation modérée de sucres et de sel.

Enfin, d'une manière générale, cette expertise rappelle que dans le cadre d'une maladie multifactorielle, la démonstration de la réduction d'un seul facteur de risque n'est pas suffisante pour conclure à un bénéfice sur le risque d'occurrence de la maladie.

8. Bibliographie

8.1 Publications

- Abramsson-Zetterberg, L., Svensson, M. & Johnsson, L. 2007. No evidence of genotoxic effect in vivo of the phytosterol oxidation products triols and epoxides. *Toxicology Letters*, 173, 132-139.
- Acuff, R. V., Cai, D. J., Dong, Z. P. & Bell, D. 2007. The lipid lowering effect of plant sterol ester capsules in hypercholesterolemic subjects. *Lipids Health Dis*, 6, 11.
- Adcox, C., Boyd, L., Oehrl, L., Allen, J. & Fenner, G. 2001. Comparative effects of phytosterol oxides and cholesterol oxides in cultured macrophage-derived cell lines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 2090-2095.
- Afssa 2002. Avis du 1er aout 2002 relatif à l'évaluation du rapport initial établi par les autorités finlandaises concernant l'adjonction de phytostérols dans les produits alimentaires (yaourt, fromage frais, boisson lactée aux fruits). Saisine 2001-SA-0180.
- Afssa 2003. Avis du 3 février 2003 relatif à l'évaluation du rapport initial établi par les autorités britanniques concernant une gamme de produits (lait écrémé, lait demi-écrémé, produits laitiers à base d'huile végétale, yaourts nature et yaourts aromatisés aux fruits) enrichis en stérols végétaux, au titre du règlement CE n°258/97, et à l'évaluation des justificatifs de l'allégation envisagée relative au cholestérol pour la gamme de produits considérée. Saisine 2002-SA-0244.
- Afssa 2005. Avis du 24 juin 2005 relatif à l'évaluation du rapport initial établi par les autorités britanniques concernant l'emploi de jus et de nectars de fruits enrichis en phytostérols. Saisine 2005-SA-0136.
- Amundsen, A. L., Ntanos, F., Put, N. & Ose, L. 2004. Long-term compliance and changes in plasma lipids, plant sterols and carotenoids in children and parents with FH consuming plant sterol ester-enriched spread. *Eur J Clin Nutr*, 58, 1612-20.
- Amundsen, A. L., Ose, L., Nenseter, M. S. & Ntanos, F. Y. 2002. Plant sterol ester-enriched spread lowers plasma total and LDL cholesterol in children with familial hypercholesterolemia. *Am J Clin Nutr*, 76, 338-44.
- Assmann, G., Cullen, P., Erbey, J., Ramey, D. R., Kannenberg, F. & Schulte, H. 2006. Plasma sitosterol elevations are associated with an increased incidence of coronary events in men: results of a nested case-control analysis of the Prospective Cardiovascular Munster (PROCAM) study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 16, 13-21.
- Assmann, G., Kannenberg, F., Ramey, D. R., Musliner, T. A., Gutkin, S. W. & Veltri, E. P. 2008. Effects of ezetimibe, simvastatin, atorvastatin, and ezetimibe-statin therapies on non-cholesterol sterols in patients with primary hypercholesterolemia. *Current Medical Research and Opinion*, 24, 249-259.
- Awad, A. B., Downie, A., Fink, C. S. & Kim, U. 2000. Dietary phytosterol inhibits the growth and metastasis of MDA-MB-231 human breast cancer cells grown in SCID mice. *Anticancer Research*, 20, 821-824.
- Baker, V. A., Hepburn, P. A., Kennedy, S. J., Jones, P. A., Lea, L. J., Sumpter, J. P. & Ashby, J. 1999. Safety evaluation of phytosterol esters. Part 1. Assessment of oestrogenicity using a combination of in vivo and in vitro assays. *Food Chem Toxicol*, 37, 13-22.
- Bañuls, C., Martínez-Triguero, M. L., López-Ruiz, A., Morillas, C., Jarabo, M. M., Bellod, L., Víctor, V. M., Rocha, M. & Hernández-Mijares, A. 2011. Serum lipid responses to phytosterol-enriched milk in a moderate hypercholesterolemic population is not affected by apolipoprotein E polymorphism or diameter of low-density lipoprotein particles. *Eur J Clin Nutr*, 65, 255-61.
- Bañuls, C., Martínez-Triguero, M. L., López-Ruiz, A., Morillas, C., Lacombe, R., Víctor, V. M., Rocha, M. & Hernández-Mijares, A. 2010. Evaluation of cardiovascular risk and oxidative stress parameters in hypercholesterolemic subjects on a standard healthy diet including low-fat milk enriched with plant sterols. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 21, 881-886.
- Baskar, A. A., Ignacimuthu, S., Paulraj, G. M. & Al Numair, K. S. 2010. Chemopreventive potential of beta-Sitosterol in experimental colon cancer model--an in vitro and In vivo study. *BMC Complement Altern Med*, 10, 24.
- Baumgartner, S., Mensink, R. P., Husche, C., Lutjohann, D. & Plat, J. 2013. Effects of plant sterol- or stanol-enriched margarine on fasting plasma oxysterol concentrations in healthy subjects. *Atherosclerosis*, 227, 414-9.

- Baumgartner, S., Mensink, R. P. & Plat, J. 2011. Plant sterols and stanols in the treatment of dyslipidemia: New insights into targets and mechanisms related to cardiovascular risk. *Current Pharmaceutical Design*, 17, 922-932.
- Becker, M., Staab, D. & Von Bergmann, K. 1993. Treatment of severe familial hypercholesterolemia in childhood with sitosterol and sitostanol. *Journal of Pediatrics*, 122, 292-296.
- Berendschot, T. T., Plat, J., de Jong, A. & Mensink, R. P. 2009. Long-term plant stanol and sterol ester-enriched functional food consumption, serum lutein/zeaxanthin concentration and macular pigment optical density. *Br J Nutr*, 101, 1607-10.
- Berge, K. E., Tian, H., Graf, G. A., Yu, L., Grishin, N. V., Schultz, J., Kwiterovich, P., Shan, B., Barnes, R. & Hobbs, H. H. 2000. Accumulation of dietary cholesterol in sitosterolemia caused by mutations in adjacent ABC transporters. *Science*, 290, 1771-5.
- Blomqvist, S., Jauhiainen, M., van Tol, A., Hyvönen, M., Torstila, I., Vanhanen, H., Miettinen, T. & Ehnholm, C. 1993. Effect of sitostanol ester on composition and size distribution of low- and high-density lipoprotein. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 3, 158-164.
- Borel, P. 2009. Gènes et absorption intestinale des micronutriments lipidiques (vitamines liposolubles, caroténoïdes et phytostérols). *Cah Nutr Diet* 44, 124-131.
- Bosner, M. S., Lange, L. G., Stenson, W. F. & Ostlund, R. E., Jr. 1999. Percent cholesterol absorption in normal women and men quantified with dual stable isotopic tracers and negative ion mass spectrometry. *J Lipid Res*, 40, 302-8.
- Brufau, G., Quílez, J., Angel Canela, M., Salas-Salvadó, J., Bulló, M. & Rafecas, M. 2004. Evaluation of lipid oxidation after ingestion of bakery products enriched with phytosterols, β -carotene and α -tocopherol. *Clinical Nutrition*, 23, 1390-1397.
- Buijsse, B., Feskens, E. J., Schlettwein-Gsell, D., Ferry, M., Kok, F. J., Kromhout, D. & de Groot, L. C. 2005. Plasma carotene and alpha-tocopherol in relation to 10-y all-cause and cause-specific mortality in European elderly: the Survey in Europe on Nutrition and the Elderly, a Concerted Action (SENECA). *Am J Clin Nutr*, 82, 879-86.
- Burnett, J. R. & Huff, M. W. 2006. Cholesterol absorption inhibitors as a therapeutic option for hypercholesterolaemia. *Expert Opin Investig Drugs*, 15, 1337-51.
- Calpe-Berdiel, L., Escola-Gil, J. C., Benitez, S., Bancells, C., Gonzalez-Sastre, F., Palomer, X. & Blanco-Vaca, F. 2007. Dietary phytosterols modulate T-helper immune response but do not induce apparent anti-inflammatory effects in a mouse model of acute, aseptic inflammation. *Life Sci*, 80, 1951-6.
- Carr, T. P., Krogstrand, K. L., Schlegel, V. L. & Fernandez, M. L. 2009. Stearate-enriched plant sterol esters lower serum LDL cholesterol concentration in normo- and hypercholesterolemic adults. *J Nutr*, 139, 1445-50.
- Castro Cabezas, M., de Vries, J. H., Van Oostrom, A. J., Iestra, J. & van Staveren, W. A. 2006. Effects of a stanol-enriched diet on plasma cholesterol and triglycerides in patients treated with statins. *J Am Diet Assoc*, 106, 1564-9.
- Cater, N. B., Garcia-Garcia, A. B., Vega, G. L. & Grundy, S. M. 2005. Responsiveness of plasma lipids and lipoproteins to plant stanol esters. *Am J Cardiol*, 96, 23D-28D.
- Cerqueira, M. T., Fry, M. M. & Connor, W. E. 1979. The food and nutrient intakes of the Tarahumara Indians of Mexico. *Am J Clin Nutr*, 32, 905-15.
- Chan, Y. M., Varady, K. A., Lin, Y., Trautwein, E., Mensink, R. P., Plat, J. & Jones, P. J. H. 2006. Plasma concentrations of plant sterols: Physiology and relationship with coronary heart disease. *Nutrition Reviews*, 64, 385-402.
- Charest, A., Vanstone, C., St-Onge, M. P., Parson, W., Jones, P. J. & Lamarche, B. 2005. Phytosterols in nonfat and low-fat beverages have no impact on the LDL size phenotype. *Eur J Clin Nutr*, 59, 801-4.
- Chen, S., Judd, J., Kramer, M., Meijer, G., Clevidence, B. & Baer, D. 2009. Phytosterol Intake and Dietary Fat Reduction are Independent and Additive in their Ability to Reduce Plasma LDL Cholesterol. *Lipids*, 44, 273-281.
- Chirovsky, D. R., Fedirko, V., Cui, Y., Sazonov, V. & Barter, P. 2009. Prospective studies on the relationship between high-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular risk: a systematic review. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*, 16, 404-23.
- Christiansen, L. I., Lahteenmaki, P. L., Mannelin, M. R., Seppanen-Laakso, T. E., Hiltunen, R. V. & Yliruusi, J. K. 2001. Cholesterol-lowering effect of spreads enriched with microcrystalline plant sterols in hypercholesterolemic subjects. *Eur J Nutr*, 40, 66-73.
- Clifton, P. M., Mano, M., Duchateau, G. S., van der Knaap, H. C. & Trautwein, E. A. 2008. Dose-response effects of different plant sterol sources in fat spreads on serum lipids and C-reactive protein and on the kinetic behavior of serum plant sterols. *Eur J Clin Nutr*, 62, 968-77.

- Clifton, P. M., Noakes, M., Ross, D., Fassoulakis, A., Cehun, M. & Nestel, P. 2004. High dietary intake of phytosterol esters decreases carotenoids and increases plasma plant sterol levels with no additional cholesterol lowering. *J Lipid Res*, 45, 1493-9.
- Colgan, H. A., Floyd, S., Noone, E. J., Gibney, M. J. & Roche, H. M. 2004. Increased intake of fruit and vegetables and a low-fat diet, with and without low-fat plant sterol-enriched spread consumption: effects on plasma lipoprotein and carotenoid metabolism. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 17, 561-569.
- CSHPF 1999. Avis du 14 septembre 1999 rendu au titre du CSHPF relatif à une demande d'emploi de matières grasses tartinables additionnées d'esters de phytostérols. .
- Daly, T. J., Aherne, S. A., O'Connor, T. P. & O'Brien, N. M. 2009. Lack of genoprotective effect of phytosterols and conjugated linoleic acids on Caco-2 cells. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 1791-1796.
- Davidson, M. H., Maki, K. C., Umporowicz, D. M., Ingram, K. A., Dicklin, M. R., Schaefer, E., Lane, R. W., McNamara, J. R., Ribaya-Mercado, J. D., Perrone, G., Robins, S. J. & Franke, W. C. 2001. Safety and Tolerability of Esterified Phytosterols Administered in Reduced-Fat Spread and Salad Dressing to Healthy Adult Men and Women. *Journal of the American College of Nutrition*, 20, 307-319.
- De Castro-Orós, I., Pampín, S., Cofán, M., Mozas, P., Pintó, X., Salas-Salvadó, J., Rodríguez-Rey, J. C., Ros, E., Civeira, F. & Pocoví Miguel, M. 2011. Promoter variant -204A > C of the cholesterol 7 α -hydroxylase gene: Association with response to plant sterols in humans and increased transcriptional activity in transfected HepG2 cells. *Clinical Nutrition*, 30, 239-246.
- de Jong, A., Plat, J., Bast, A., Godschalk, R. W., Basu, S. & Mensink, R. P. 2008a. Effects of plant sterol and stanol ester consumption on lipid metabolism, antioxidant status and markers of oxidative stress, endothelial function and low-grade inflammation in patients on current statin treatment. *Eur J Clin Nutr*, 62, 263-73.
- de Jong, A., Plat, J., Lutjohann, D. & Mensink, R. P. 2008b. Effects of long-term plant sterol or stanol ester consumption on lipid and lipoprotein metabolism in subjects on statin treatment. *Br J Nutr*, 100, 937-41.
- de Jong, A., Plat, J. & Mensink, R. P. 2006. Plant sterol or stanol consumption does not affect erythrocyte osmotic fragility in patients on statin treatment. *European Journal of Clinical Nutrition*, 60, 985-990.
- de Jong, N., Klungel, O. H., Verhagen, H., Wolfs, M. C., Ocke, M. C. & Leufkens, H. G. 2007a. Functional foods: the case for closer evaluation. *BMJ*, 334, 1037-9.
- de Jong, N., Zuur, A., Wolfs, M. C., Wendel-Vos, G. C., van Raaij, J. M. & Schuit, A. J. 2007b. Exposure and effectiveness of phytosterol/stanol-enriched margarines. *Eur J Clin Nutr*, 61, 1407-15.
- de Jongh, S., Vissers, M. N., Rol, P., Bakker, H. D., Kastelein, J. J. & Stroes, E. S. 2003. Plant sterols lower LDL cholesterol without improving endothelial function in prepubertal children with familial hypercholesterolaemia. *J Inherit Metab Dis*, 26, 343-51.
- De Smet, E., Mensink, R. P. & Plat, J. 2012. Effects of plant sterols and stanols on intestinal cholesterol metabolism: suggested mechanisms from past to present. *Mol Nutr Food Res*, 56, 1058-72.
- Demonty, I., Ebine, N., Jia, X. & Jones, P. J. H. 2005. Fish oil fatty acid esters of phytosterols alter plasma lipids but not red blood cell fragility in hamsters. *Lipids*, 40, 695-702.
- Demonty, I., Ras, R. T., van der Knaap, H. C. M., Meijer, L., Zock, P. L., Geleijnse, J. M. & Trautwein, E. A. 2012. The effect of plant sterols on serum triglyceride concentrations is dependent on baseline concentrations: a pooled analysis of 12 randomised controlled trials. *European Journal of Nutrition*, 1-8.
- Deschner, E. E., Cohen, B. I. & Raicht, R. F. 1982. The kinetics of the protective effect of beta-sitosterol against MNU-induced colonic neoplasia. *J Cancer Res Clin Oncol*, 103, 49-54.
- Devaraj, S., Autret, B. C. & Jialal, I. 2006. Reduced-calorie orange juice beverage with plant sterols lowers C-reactive protein concentrations and improves the lipid profile in human volunteers. *Am J Clin Nutr*, 84, 756-61.
- Doggrell, S. A. 2011. Lowering LDL cholesterol with margarine containing plant stanol/sterol esters: Is it still relevant in 2011? *Complementary Therapies in Medicine*, 19, 37-46.
- Ebine, N., Jia, X., Demonty, I., Wang, Y. & Jones, P. J. H. 2005. Effects of a water-soluble phytostanol ester on plasma cholesterol levels and red blood cell fragility in hamsters. *Lipids*, 40, 175-180.
- Ellegard, L. H., Andersson, S. W., Normen, A. L. & Andersson, H. A. 2007. Dietary plant sterols and cholesterol metabolism. *Nutr Rev*, 65, 39-45.
- Escurriol, V., Cofan, M., Moreno-Iribas, C., Larranaga, N., Martinez, C., Navarro, C., Rodriguez, L., Gonzalez, C. A., Corella, D. & Ros, E. 2010. Phytosterol plasma concentrations and coronary heart disease in the prospective Spanish EPIC cohort. *J Lipid Res*, 51, 618-24.

- Escurriol, V., Cofan, M., Serra, M., Bullo, M., Basora, J., Salas-Salvado, J., Corella, D., Zazpe, I., Martinez-Gonzalez, M. A., Ruiz-Gutierrez, V., Estruch, R. & Ros, E. 2009. Serum sterol responses to increasing plant sterol intake from natural foods in the Mediterranean diet. *Eur J Nutr*, 48, 373-82.
- Eussen, S. R., Bouvy, M. L., Rempelberg, C. J., Elst, M. E., Garssen, J., Oosterveld, M. H., Boer, A., Gier, J. J., Kranen, H. J. & Klungel, O. H. 2011a. Influence of the use of functional foods enriched with phytosterols/-stanols on adherence to statin therapy. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*.
- Eussen, S. R., de Jong, N., Rempelberg, C. J., Garssen, J., Verschuren, W. M. & Klungel, O. H. 2011b. Dose-dependent cholesterol-lowering effects of phytosterol/phytostanol-enriched margarine in statin users and statin non-users under free-living conditions. *Public Health Nutr*, 14, 1823-32.
- Fahy, D. M., O'Callaghan, Y. C. & O'Brien, N. M. 2004. Phytosterols: Lack of cytotoxicity but interference with β -carotene uptake in Caco-2 cells in culture. *Food Additives and Contaminants*, 21, 42-51.
- Fassbender, K., Lutjohann, D., Dik, M. G., Bremmer, M., Konig, J., Walter, S., Liu, Y., Letiembre, M., von Bergmann, K. & Jonker, C. 2008. Moderately elevated plant sterol levels are associated with reduced cardiovascular risk--the LASA study. *Atherosclerosis*, 196, 283-8.
- Field, F. J. & Mathur, S. N. 1983. beta-sitosterol: esterification by intestinal acylcoenzyme A: cholesterol acyltransferase (ACAT) and its effect on cholesterol esterification. *J Lipid Res*, 24, 409-17.
- Fransen, H. P., De Jong, N., Wolfs, M., Verhagen, H., Verschuren, W. M. M., Lütjohann, D., Von Bergmann, K., Plat, J. & Mensink, R. P. 2007. Customary use of plant sterol and plant stanol enriched margarine is associated with changes in serum plant sterol and stanol concentrations in humans. *Journal of Nutrition*, 137, 1301-1306.
- Fricke, C. B., Schroder, M., Poulsen, M., von Bergmann, K., Wester, I., Knudsen, I., Mortensen, A. & Lutjohann, D. 2007. Increased plant sterol and stanol levels in brain of Watanabe rabbits fed rapeseed oil derived plant sterol or stanol esters. *Br J Nutr*, 98, 890-9.
- Gagliardi, A. C., Maranhao, R. C., de Sousa, H. P., Schaefer, E. J. & Santos, R. D. 2010. Effects of margarines and butter consumption on lipid profiles, inflammation markers and lipid transfer to HDL particles in free-living subjects with the metabolic syndrome. *Eur J Clin Nutr*, 64, 1141-9.
- Garcia-Llatas, G. & Rodriguez-Estrada, M. T. 2011. Current and new insights on phytosterol oxides in plant sterol-enriched food. *Chem Phys Lipids*, 164, 607-24.
- Gaziano, J. M., Manson, J. E., Branch, L. G., Colditz, G. A., Willett, W. C. & Buring, J. E. 1995. A prospective study of consumption of carotenoids in fruits and vegetables and decreased cardiovascular mortality in the elderly. *Annals of Epidemiology*, 5, 255-60.
- Geelen, A., Zock, P. L., de Vries, J. H. & Katan, M. B. 2002. Apolipoprotein E polymorphism and serum lipid response to plant sterols in humans. *Eur J Clin Invest*, 32, 738-42.
- Genser, B., Silbernagel, G., De Backer, G., Bruckert, E., Carmena, R., Chapman, M. J., Deanfield, J., Descamps, O. S., Rietzschel, E. R., Dias, K. C. & Marz, W. 2012. Plant sterols and cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis. *Eur Heart J*, 33, 444-51.
- Glueck, C. J., Speirs, J., Tracy, T., Streicher, P., Illig, E. & Vandegrift, J. 1991. Relationships of serum plant sterols (phytosterols) and cholesterol in 595 hypercholesterolemic subjects, and familial aggregation of phytosterols, cholesterol, and premature coronary heart disease in hyperphytosterolemic probands and their first-degree relatives. *Metabolism*, 40, 842-8.
- Gomes, G. B., Zazula, A. D., Shigueoka, L. S., Fedato, R. A. & Neto, J. R. F. 2007. L 042 Plant sterols have additional effects to ezetimibe on reducing LDL cholesterol of coronary patients already taking statins but not reaching lipid goals *Atherosclerosis Supplements*, 8, 27-28.
- Granado-Lorencio, F., Donoso-Navarro, E., Sanchez-Siles, L. M., Blanco-Navarro, I. & Perez-Sacristan, B. 2011. Bioavailability of beta-cryptoxanthin in the presence of phytosterols: in vitro and in vivo studies. *J Agric Food Chem*, 59, 11819-24.
- Grandgirard, A., Demaison-Meloche, J., Cordelet, C. & Demaison, L. 2004a. Incorporation of oxyphytosterols in tissues of hamster. *Reprod Nutr Dev*, 44, 599-608.
- Grandgirard, A., Martine, L., Demaison, L., Cordelet, C., Joffre, C., Berdeaux, O. & Semon, E. 2004b. Oxyphytosterols are present in plasma of healthy human subjects. *Br J Nutr*, 91, 101-6.
- Guardamagna, O., Abello, F., Baracco, V., Federici, G., Bertucci, P., Mozzi, A., Mannucci, L., Gnasso, A. & Cortese, C. 2010. Primary hyperlipidemias in children: effect of plant sterol supplementation on plasma lipids and markers of cholesterol synthesis and absorption. *Acta Diabetol*.
- Guardamagna, O., Abello, F., Baracco, V., Federici, G., Bertucci, P., Mozzi, A., Mannucci, L., Gnasso, A. & Cortese, C. 2011. Primary hyperlipidemias in children: Effect of plant sterol supplementation on plasma lipids and markers of cholesterol synthesis and absorption. *Acta Diabetologica*, 48, 127-133.
- Gylling, H., Hallikainen, M., Nissinen, M. J. & Miettinen, T. A. 2010. The effect of a very high daily plant stanol ester intake on serum lipids, carotenoids, and fat-soluble vitamins. *Clinical Nutrition*, 29, 112-118.

- Gylling, H., Hallikainen, M., Raitakari, O. T., Laakso, M., Vartiainen, E., Salo, P., Korpelainen, V., Sundvall, J. & Miettinen, T. A. 2009a. Long-term consumption of plant stanol and sterol esters, vascular function and genetic regulation. *Br J Nutr*, 101, 1688-95.
- Gylling, H., Hallikainen, M., Rajaratnam, R. A., Simonen, P., Pihlajamäki, J., Laakso, M. & Miettinen, T. A. 2009b. The metabolism of plant sterols is disturbed in postmenopausal women with coronary artery disease. *Metabolism*, 58, 401-407.
- Gylling, H., Plat, J., Turley, S., Ginsberg, H. N., Ellegard, L., Jessup, W., Jones, P. J., Lutjohann, D., Maerz, W., Masana, L., Silbernagel, G., Staels, B., Boren, J., Catapano, A. L., De Backer, G., Deanfield, J., Descamps, O. S., Kovanen, P. T., Riccardi, G., Tokgozoglu, L. & Chapman, M. J. 2014. Plant sterols and plant stanols in the management of dyslipidaemia and prevention of cardiovascular disease. *Atherosclerosis*, 232, 346-60.
- Gylling, H., Puska, P., Vartiainen, E. & Miettinen, T. A. 1999. Retinol, vitamin D, carotenes and α -tocopherol in serum of a moderately hypercholesterolemic population consuming sitostanol ester margarine. *Atherosclerosis*, 145, 279-285.
- Gylling, H., Siimes, M. A. & Miettinen, T. A. 1995. Sitostanol ester margarine in dietary treatment of children with familial hypercholesterolemia. *J Lipid Res*, 36, 1807-12.
- Hac-Wydro, K., Lenartowicz, R. & Dynarowicz-Latka, P. 2013. The influence of plant stanol (beta-sitostanol) on inner leaflet of human erythrocytes membrane modeled with the Langmuir monolayer technique. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 102, 178-88.
- Hallikainen, M., Kurl, S., Laakso, M., Miettinen, T. A. & Gylling, H. 2011. Plant stanol esters lower LDL cholesterol level in statin-treated subjects with type 1 diabetes by interfering the absorption and synthesis of cholesterol. *Atherosclerosis*, 217, 473-478.
- Hallikainen, M., Lyyra-Laitinen, T., Laitinen, T., Ågren, J. J., Pihlajamäki, J., Rauramaa, R., Miettinen, T. A. & Gylling, H. 2006. Endothelial function in hypercholesterolemic subjects: Effects of plant stanol and sterol esters. *Atherosclerosis*, 188, 425-432.
- Hallikainen, M., Lyyra-Laitinen, T., Laitinen, T., Moilanen, L., Miettinen, T. A. & Gylling, H. 2008. Effects of plant stanol esters on serum cholesterol concentrations, relative markers of cholesterol metabolism and endothelial function in type 1 diabetes. *Atherosclerosis*, 199, 432-439.
- Hallikainen, M. A., Sarkkinen, E. S., Gylling, H., Erkkilä, A. T. & Uusitupa, M. I. J. 2000. Comparison of the effects of plant sterol ester and plant stanol ester-enriched margarines in lowering serum cholesterol concentrations in hypercholesterolaemic subjects on a low-fat diet. *European Journal of Clinical Nutrition*, 54, 715-725.
- Hallikainen, M. A., Sarkkinen, E. S. & Uusitupa, M. I. J. 1999. Effects of low-fat stanol ester enriched margarines on concentrations of serum carotenoids in subjects with elevated serum cholesterol concentrations. *European Journal of Clinical Nutrition*, 53, 966-969.
- Hallikainen, M. A. & Uusitupa, M. I. 1999. Effects of 2 low-fat stanol ester-containing margarines on serum cholesterol concentrations as part of a low-fat diet in hypercholesterolemic subjects. *American Journal of Clinical Nutrition*, 69, 403-410.
- Hansel, B., Nicolle, C., Lalanne, F., Tondou, F., Lassel, T., Donazzolo, Y., Ferrières, J., Krempf, M., Schlienger, J. L., Verges, B., Chapman, M. J. & Bruckert, E. 2007. Effect of low-fat, fermented milk enriched with plant sterols on serum lipid profile and oxidative stress in moderate hypercholesterolemia. *American Journal of Clinical Nutrition*, 86, 790-796.
- Hedman, M., Miettinen, T. A., Gylling, H., Ketomäki, A. & Antikainen, M. 2006. Serum noncholesterol sterols in children with heterozygous familial hypercholesterolemia undergoing pravastatin therapy. *J Pediatr*, 148, 241-6.
- Heggen, E., Granlund, L., Pedersen, J. I., Holme, I., Ceglarek, U., Thiery, J., Kirkhus, B. & Tonstad, S. 2010. Plant sterols from rapeseed and tall oils: effects on lipids, fat-soluble vitamins and plant sterol concentrations. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 20, 258-65.
- Hendriks, H. F., Weststrate, J. A., van Vliet, T. & Meijer, G. W. 1999. Spreads enriched with three different levels of vegetable oil sterols and the degree of cholesterol lowering in normocholesterolaemic and mildly hypercholesterolaemic subjects. *Eur J Clin Nutr*, 53, 319-27.
- Hendriks, H. F. J., Brink, E. J., Meijer, G. W., Princen, H. M. G. & Ntanios, F. Y. 2003. Safety of long-term consumption of plant sterol esters-enriched spread. *European Journal of Clinical Nutrition*, 57, 681-692.
- Hepburn, P. A., Horner, S. A. & Smith, M. 1999. Safety evaluation of phytosterol esters. Part 2. Subchronic 90-day oral toxicity study on phytosterol esters--a novel functional food. *Food Chem Toxicol*, 37, 521-32.
- Hernández-Mijares, A., Bañuls, C., Jover, A., Solá, E., Bellod, L., Martínez-Triguero, M. L., Lagarda, M. J., Víctor, V. M. & Rocha, M. 2011. Low intestinal cholesterol absorption is associated with a reduced

- efficacy of phytosterol esters as hypolipemic agents in patients with metabolic syndrome. *Clinical Nutrition*, 30, 604-609.
- Hernandez-Mijares, A., Banuls, C., Rocha, M., Morillas, C., Martinez-Triguero, M. L., Victor, V. M., Lacomba, R., Alegria, A., Barbera, R., Farre, R. & Lagarda, M. J. 2010. Effects of phytosterol ester-enriched low-fat milk on serum lipoprotein profile in mildly hypercholesterolaemic patients are not related to dietary cholesterol or saturated fat intake. *Br J Nutr*, 104, 1018-25.
- Homma, Y., Ikeda, I., Ishikawa, T., Tateno, M., Sugano, M. & Nakamura, H. 2003. Decrease in plasma low-density lipoprotein cholesterol, apolipoprotein B, cholesteryl ester transfer protein, and oxidized low-density lipoprotein by plant stanol ester-containing spread: A randomized, placebo-controlled trial. *Nutrition*, 19, 369-374.
- Hovenkamp, E., Demonty, I., Plat, J., Lütjohann, D., Mensink, R. P. & Trautwein, E. A. 2008. Biological effects of oxidized phytosterols: A review of the current knowledge. *Progress in Lipid Research*, 47, 37-49.
- Hu, P., Reuben, D., Karlamangla, A., Crimmins, E. & Seeman, T. 2006. The relations of serum levels of carotenoids and C-reactive protein with all-cause and cardiovascular disease mortality: Macarthur studies of successful aging. *Journal of the American Geriatrics Society*, 54, S14-S15.
- Hubacek, J. A., Berge, K. E., Cohen, J. C. & Hobbs, H. H. 2001. Mutations in ATP-cassette binding proteins G5 (ABCG5) and G8 (ABCG8) causing sitosterolemia. *Hum Mutat*, 18, 359-60.
- Ikram, M. K., de Jong, F. J., Vingerling, J. R., Witteman, J. C., Hofman, A., Breteler, M. M. & de Jong, P. T. 2004. Are retinal arteriolar or venular diameters associated with markers for cardiovascular disorders? The Rotterdam Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 45, 2129-34.
- Ishiwata, K., Homma, Y., Ishikawa, T., Nakamura, H. & Handa, S. 2002. Influence of apolipoprotein E phenotype on metabolism of lipids and apolipoproteins after plant stanol ester ingestion in Japanese subjects. *Nutrition*, 18, 561-5.
- Ito, Y., Kurata, M., Suzuki, K., Hamajima, N., Hishida, H. & Aoki, K. 2006a. Cardiovascular disease mortality and serum carotenoid levels: a Japanese population-based follow-up study. *Journal of Epidemiology*, 16, 154-160.
- Ito, Y., Suzuki, K., Ishii, J., Hishida, H., Tamakoshi, A., Hamajima, N. & Aoki, K. 2006b. A population-based follow-up study on mortality from cancer or cardiovascular disease and serum carotenoids, retinol and tocopherols in Japanese inhabitants. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 7, 533-546.
- Jakulj, L., Trip, M. D., Sudhop, T., Von Bergmann, K., Kastelein, J. J. P. & Vissers, M. N. 2005. Inhibition of cholesterol absorption by the combination of dietary plant sterols and ezetimibe: Effects on plasma lipid levels. *Journal of Lipid Research*, 46, 2692-2698.
- Jakulj, L., Vissers, M. N., Groen, A. K., Hutten, B. A., Lutjohann, D., Veltri, E. P. & Kastelein, J. J. P. 2010. Baseline cholesterol absorption and the response to ezetimibe/simvastatin therapy: A post-hoc analysis of the ENHANCE trial. *Journal of Lipid Research*, 51, 755-762.
- Jakulj, L., Vissers, M. N., Rodenburg, J., Wiegman, A., Trip, M. D. & Kastelein, J. J. P. 2006. Plant stanols do not restore endothelial function in pre-pubertal children with familial hypercholesterolemia despite reduction of low-density lipoprotein cholesterol levels. *The Journal of Pediatrics*, 148, 495-500.
- Jansen, P. J., Lutjohann, D., Abildayeva, K., Vanmierlo, T., Plosch, T., Plat, J., von Bergmann, K., Groen, A. K., Ramaekers, F. C., Kuipers, F. & Mulder, M. 2006. Dietary plant sterols accumulate in the brain. *Biochim Biophys Acta*, 1761, 445-53.
- Jenkins, D. J., Kendall, C. W., Faulkner, D. A., Kemp, T., Marchie, A., Nguyen, T. H., Wong, J. M., de Souza, R., Emam, A., Vidgen, E., Trautwein, E. A., Lapsley, K. G., Josse, R. G., Leiter, L. A. & Singer, W. 2008. Long-term effects of a plant-based dietary portfolio of cholesterol-lowering foods on blood pressure. *Eur J Clin Nutr*, 62, 781-8.
- Jenkins, D. J. A., Kendall, C. W. C., Nguyen, T. H., Teitel, J., Marchie, A., Chiu, M., Taha, A. Y., Faulkner, D. A., Kemp, T., Wong, J. M. W., de Souza, R., Emam, A., Trautwein, E. A., Lapsley, K. G., Holmes, C., Josse, R. G., Leiter, L. A. & Singer, W. 2007. Effect on hematologic risk factors for coronary heart disease of a cholesterol reducing diet. *European Journal of Clinical Nutrition*, 61, 483-492.
- Jimenez-Escrig, A., Santos-Hidalgo, A. B. & Saura-Calixto, F. 2006. Common sources and estimated intake of plant sterols in the Spanish diet. *J Agric Food Chem*, 54, 3462-71.
- Jones, P. J., Raeini-Sairjaz, M., Jenkins, D. J. A., Kendall, C. W. C., Vidgen, E., Trautwein, E. A., Lapsley, K. G., Marchie, A., Cunnane, S. C. & Connelly, P. W. 2005. Effects of a diet high in plant sterols, vegetable proteins, and viscous fibers (Dietary Portfolio) on circulating sterol levels and red cell fragility in hypercholesterolemic subjects. *Lipids*, 40, 169-174.
- Jones, P. J., Raeini-Sarjaz, M., Ntanos, F. Y., Vanstone, C. A., Feng, J. Y. & Parsons, W. E. 2000. Modulation of plasma lipid levels and cholesterol kinetics by phytosterol versus phytostanol esters. *J Lipid Res*, 41, 697-705.

- Judd, J. T., Baer, D. J., Chen, S. C., Clevidence, B. A., Muesing, R. A., Kramer, M. & Meijer, G. W. 2002. Plant sterol esters lower plasma lipids and most carotenoids in mildly hypercholesterolemic adults. *Lipids*, 37, 33-42.
- Kelly, E., Plat, J., Mensink, R. & Berendschot, T. 2011. Effects of long term plant sterol and -stanol consumption on the retinal vasculature: a randomized controlled trial in statin users. *Atherosclerosis*, 214, 225-30.
- Kempen, H. J., Glatz, J. F., Gevers Leuven, J. A., van der Voort, H. A. & Katan, M. B. 1988. Serum lathosterol concentration is an indicator of whole-body cholesterol synthesis in humans. *J Lipid Res*, 29, 1149-55.
- Ketomaki, A. M., Gylling, H., Antikainen, M., Siimes, M. A. & Miettinen, T. A. 2003. Red cell and plasma plant sterols are related during consumption of plant stanol and sterol ester spreads in children with hypercholesterolemia. *J Pediatr*, 142, 524-31.
- Kim, J. C., Kang, B. H., Shin, C. C., Kim, Y. B., Lee, H. S., Kim, C. Y., Han, J., Kim, K. S., Chung, D. W. & Chung, M. K. 2002. Subchronic toxicity of plant sterol esters administered by gavage to Sprague-Dawley rats. *Food Chem Toxicol*, 40, 1569-80.
- Klingberg, S., Ellegard, L., Johansson, I., Jansson, J. H., Hallmans, G. & Winkvist, A. 2013. Dietary intake of naturally occurring plant sterols is related to a lower risk of a first myocardial infarction in men but not in women in northern Sweden. *J Nutr*, 143, 1630-5.
- Klipstein-Grobusch, K., Launer, L. J., Geleijnse, J. M., Boeing, H., Hofman, A. & Witteman, J. C. 2000. Serum carotenoids and atherosclerosis. The Rotterdam Study. *Atherosclerosis*, 148, 49-56.
- Kohlmeier, L. & Hastings, S. B. 1995. Epidemiologic evidence of a role of carotenoids in cardiovascular disease prevention. *American Journal of Clinical Nutrition*, 62, 1370S-1376S.
- Korpela, R., Tuomilehto, J., Högstrom, P., Seppo, L., Piironen, V., Salo-Vaananen, P., Toivo, J., Lamberg-Allardt, C., Karkkainen, M., Outila, T., Sundvall, J., Vilkkila, S. & Tikkanen, M. J. 2006. Safety aspects and cholesterol-lowering efficacy of low fat dairy products containing plant sterols. *Eur J Clin Nutr*, 60, 633-42.
- Kratz, M., Kannenberg, F., Gramenz, E., Berning, B., Trautwein, E., Assmann, G. & Rust, S. 2007. Similar serum plant sterol responses of human subjects heterozygous for a mutation causing sitosterolemia and controls to diets enriched in plant sterols or stanols. *Eur J Clin Nutr*, 61, 896-905.
- Kritchevsky, S. B. 1999. beta-carotene, carotenoids and the prevention of coronary heart disease. *Journal of Nutrition*, 129, 5-8.
- Kritchevsky, S. B., Tell, G. S., Shimakawa, T., Dennis, B., Li, R., Kohlmeier, L., Steere, E. & Heiss, G. 1998. Provitamin A carotenoid intake and carotid artery plaques: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 68, 726-33.
- Kwiterovich Jr, P. O., Chen, S. C., Virgil, D. G., Schweitzer, A., Arnold, D. R. & Kratz, L. E. 2003. Response of obligate heterozygotes for phytosterolemia to a low-fat diet and to a plant sterol ester dietary challenge. *Journal of Lipid Research*, 44, 1143-1155.
- Laforest, L., Moulin, P., Schwalm, M. S., Le Jeune, P., Chretien, S., Kitio, B., Massol, J. & Van Ganse, E. 2007. Use of margarine enriched in phytosterols by patients at high cardiovascular risk and treated by hypolipidemic drugs. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 17, 657-65.
- Laitinen, K., Isolauri, E., Kaipiainen, L., Gylling, H. & Miettinen, T. A. 2009. Plant stanol ester spreads as components of a balanced diet for pregnant and breast-feeding women: Evaluation of clinical safety. *British Journal of Nutrition*, 101, 1797-1804.
- Lea, L. J., Hepburn, P. A., Wolfreys, A. M. & Baldrick, P. 2004. Safety evaluation of phytosterol esters. Part 8. Lack of genotoxicity and subchronic toxicity with phytosterol oxides. *Food Chem Toxicol*, 42, 771-83.
- Lecerf, J.-M. 2007. Phytostérols et risque cardiovasculaire. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 21, 17-27.
- Lee, M. H., Lu, K., Hazard, S., Yu, H., Shulenin, S., Hidaka, H., Kojima, H., Allikmets, R., Sakuma, N., Pegoraro, R., Srivastava, A. K., Salen, G., Dean, M. & Patel, S. B. 2001. Identification of a gene, ABCG5, important in the regulation of dietary cholesterol absorption. *Nat Genet*, 27, 79-83.
- Lidebjer, C., Leanderson, P., Ernerudh, J. & Jonasson, L. 2007. Low plasma levels of oxygenated carotenoids in patients with coronary artery disease. *Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 17, 448-456.
- Lin, X., Racette, S. B., Lefevre, M., Lina, M., Spearie, C. A., Steger-May, K. & Ostlund, R. E. 2011. Combined effects of ezetimibe and phytosterols on cholesterol metabolism a randomized, controlled feeding study in humans. *Circulation*, 124, 596-601.
- Ling, W. H. & Jones, P. J. 1995. Dietary phytosterols: a review of metabolism, benefits and side effects. *Life Sci*, 57, 195-206.

- Lottenberg, A. M., Nunes, V. S., Nakandakare, E. R., Neves, M., Bernik, M., Lagrost, L., dos Santos, J. E. & Quintao, E. 2003. The human cholesteryl ester transfer protein I405V polymorphism is associated with plasma cholesterol concentration and its reduction by dietary phytosterol esters. *J Nutr*, 133, 1800-5.
- Madsen, M. B., Jensen, A.-M. & Schmidt, E. B. 2007. The effect of a combination of plant sterol-enriched foods in mildly hypercholesterolemic subjects. *Clinical Nutrition*, 26, 792-798.
- Maguire, L., Konoplyannikov, M., Ford, A., Maguire, A. R. & O'Brien, N. M. 2003. Comparison of the cytotoxic effects of β -sitosterol oxides and a cholesterol oxide, 7β -hydroxycholesterol, in cultured mammalian cells. *British Journal of Nutrition*, 90, 767-775.
- Maki, K. C., Davidson, M. H., Umporowicz, D. M., Schaefer, E. J., Dicklin, M. R., Ingram, K. A., Chen, S., McNamara, J. R., Gebhart, B. W., Ribaya-Mercado, J. D., Perrone, G., Robins, S. J. & Franke, W. C. 2001. Lipid responses to plant-sterol-enriched reduced-fat spreads incorporated into a National Cholesterol Education Program Step I diet. *American Journal of Clinical Nutrition*, 74, 33-43.
- Matthan, N. R., Pencina, M., LaRocque, J. M., Jacques, P. F., D'Agostino, R. B., Schaefer, E. J. & Lichtenstein, A. H. 2009. Alterations in cholesterol absorption/synthesis markers characterize Framingham offspring study participants with CHD. *J Lipid Res*, 50, 1927-35.
- Mattson, F. H., Grundy, S. M. & Crouse, J. R. 1982. Optimizing the effect of plant sterols on cholesterol absorption in man. *Am J Clin Nutr*, 35, 697-700.
- Matvienko, O. A., Lewis, D. S., Swanson, M., Arndt, B., Rainwater, D. L., Stewart, J. & Alekel, D. L. 2002. A single daily dose of soybean phytosterols in ground beef decreases serum total cholesterol and LDL cholesterol in young, mildly hypercholesterolemic men. *Am J Clin Nutr*, 76, 57-64.
- Meguro, S., Hase, T., Otsuka, A., Tokimitsu, I. & Itakura, H. 2003. Effect of phytosterols in dietary diacylglycerol on atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Nutrition*, 19, 670-5.
- Mellies, M. J., Burton, K., Larsen, R., Fixler, D. & Glueck, C. J. 1979. Cholesterol, phytosterols, and polyunsaturated/saturated fatty acid ratios during the first 12 months of lactation. *Am J Clin Nutr*, 32, 2383-9.
- Mellies, M. J., Ishikawa, T. T., Gartside, P., Burton, K., MacGee, J., Allen, K., Steiner, P. M., Brady, D. & Glueck, C. J. 1978. Effects of varying maternal dietary cholesterol and phytosterol in lactating women and their infants. *Am J Clin Nutr*, 31, 1347-54.
- Mensink, R. P., de Jong, A., Lutjohann, D., Haenen, G. R. & Plat, J. 2010. Plant stanols dose-dependently decrease LDL-cholesterol concentrations, but not cholesterol-standardized fat-soluble antioxidant concentrations, at intakes up to 9 g/d. *Am J Clin Nutr*, 92, 24-33.
- Mensink, R. P., Ebbing, S., Lindhout, M., Plat, J. & van Heugten, M. M. 2002. Effects of plant stanol esters supplied in low-fat yoghurt on serum lipids and lipoproteins, non-cholesterol sterols and fat soluble antioxidant concentrations. *Atherosclerosis*, 160, 205-13.
- Miettinen, T. A. & Gylling, H. 2003. Synthesis and absorption markers of cholesterol in serum and lipoproteins during a large dose of statin treatment. *Eur J Clin Invest*, 33, 976-82.
- Miettinen, T. A., Gylling, H., Lindbohm, N., Miettinen, T. E., Rajaratnam, R. A. & Relas, H. 2003. Serum noncholesterol sterols during inhibition of cholesterol synthesis by statins. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 141, 131-137.
- Miettinen, T. A., Nissinen, M., Lepantalo, M., Alback, A., Railo, M., Vikatmaa, P., Kaste, M., Mustanoja, S. & Gylling, H. 2011. Non-cholesterol sterols in serum and endarterectomized carotid arteries after a short-term plant stanol and sterol ester challenge. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 21, 182-8.
- Miettinen, T. A., Puska, P., Gylling, H., Vanhanen, H. & Vartiainen, E. 1995. Reduction of serum cholesterol with sitostanol-ester margarine in a mildly hypercholesterolemic population. *N Engl J Med*, 333, 1308-12.
- Miettinen, T. A., Railo, M., Lepantalo, M. & Gylling, H. 2005. Plant sterols in serum and in atherosclerotic plaques of patients undergoing carotid endarterectomy. *J Am Coll Cardiol*, 45, 1794-801.
- Miettinen, T. A., Strandberg, T. E. & Gylling, H. 2000. Noncholesterol sterols and cholesterol lowering by long-term simvastatin treatment in coronary patients: Relation to basal serum cholestanol. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 20, 1340-1346.
- Miettinen, T. A., Tilvis, R. S. & Kesaniemi, Y. A. 1989. Serum cholestanol and plant sterol levels in relation to cholesterol metabolism in middle-aged men. *Metabolism*, 38, 136-40.
- Miettinen, T. A., Tilvis, R. S. & Kesaniemi, Y. A. 1990. Serum plant sterols and cholesterol precursors reflect cholesterol absorption and synthesis in volunteers of a randomly selected male population. *Am J Epidemiol*, 131, 20-31.
- Miettinen, T. A. & Vanhanen, H. 1994. Dietary sitostanol related to absorption, synthesis and serum level of cholesterol in different apolipoprotein E phenotypes. *Atherosclerosis*, 105, 217-26.
- Miwa, K., Inazu, A., Kobayashi, J., Higashikata, T., Nohara, A., Kawashiri, M., Katsuda, S., Takata, M., Koizumi, J. & Mabuchi, H. 2005. ATP-binding cassette transporter G8 M429V polymorphism as a

- novel genetic marker of higher cholesterol absorption in hypercholesterolaemic Japanese subjects. *Clin Sci (Lond)*, 109, 183-8.
- Miyashita, T., Mori, M., Tagushi, T., Sagara, M., Birt, C., Inakuma, T. & Yamori, Y. 2011. Associations of Carotenoids with Coronary Heart Disease Risks in Scottish Middle-aged Males and Females. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 58, 168-169.
- Moghadasian, M. H., Godin, D. V., McManus, B. M. & Frohlich, J. J. 1999a. Lack of regression of atherosclerotic lesions in phytosterol treated Apo E-deficient mice. *Life Sciences*, 64, 1029-1036.
- Moghadasian, M. H., McManus, B. M., Godin, D. V., Rodrigues, B. & Frohlich, J. J. 1999b. Proatherogenic and antiatherogenic effects of probucol and phytosterols in apolipoprotein E-deficient mice: possible mechanisms of action. *Circulation*, 99, 1733-9.
- Moghadasian, M. H., McManus, B. M., Pritchard, P. H. & Frohlich, J. J. 1997. "Tall oil"-derived phytosterols reduce atherosclerosis in ApoE-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 17, 119-26.
- Moghadasian, M. H., Nguyen, L. B., Shefer, S., McManus, B. M. & Frohlich, J. J. 1999c. Histologic, hematologic, and biochemical characteristics of apo E- deficient mice: Effects of dietary cholesterol and phytosterols. *Laboratory Investigation*, 79, 355-364.
- Morris, D. L., Kritchevsky, S. B. & Davis, C. E. 1994. Serum carotenoids and coronary heart disease. The Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial and Follow-up Study. *JAMA*, 272, 1439-41.
- Morrison, A. & Hokanson, J. E. 2009. The independent relationship between triglycerides and coronary heart disease. *Vasc Health Risk Manag*, 5, 89-95.
- Morton, G. M., Lee, S. M., Buss, D. H. & Lawrance, P. 1995. Intakes and major dietary sources of cholesterol and phytosterols in the British diet. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 8, 429-440.
- Moruisi, K. G., Oosthuizen, W. & Opperman, A. M. 2006. Phytosterols/stanols lower cholesterol concentrations in familial hypercholesterolemic subjects: a systematic review with meta-analysis. *J Am Coll Nutr*, 25, 41-8.
- Myrie, S. B., Mymin, D., Triggs-Raine, B. & Jones, P. J. H. 2012. Serum lipids, plant sterols, and cholesterol kinetic responses to plant sterol supplementation in phytosterolemia heterozygotes and control individuals. *American Journal of Clinical Nutrition*, 95, 837-844.
- Nashed, B., Yeganeh, B., HayGlass, K. T. & Moghadasian, M. H. 2005. Antiatherogenic effects of dietary plant sterols are associated with inhibition of proinflammatory cytokine production in apo E-KO mice. *Journal of Nutrition*, 135, 2438-2444.
- Naumann, E., Plat, J., Kester, A. D. & Mensink, R. P. 2008. The baseline serum lipoprotein profile is related to plant stanol induced changes in serum lipoprotein cholesterol and triacylglycerol concentrations. *J Am Coll Nutr*, 27, 117-26.
- NDA 2003. Opinion of the scientific panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from the Commission related to a novel food application from Forbes Medi-Tech for approval of plant sterol-containing milk-based beverages. *The EFSA Journal*, 15, 1-12. <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/15.htm>.
- NDA 2006. Statement of the scientific panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from the Commission related to a novel food application on rice drinks with added phytosterols; expressed on 15th february 2006. available online at <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/201.htm>.
- NDA 2007. Statement of the scientific panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from the Commission related to a novel food application on fruit juices and nectars with added phytosterols; expressed on 15th february 2007. Available online at <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/391.htm>.
- NDA 2008a. Scientific opinion of the panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from McNeil Nutritionals Ltd. related to the scientific substantiation of a health claim on plant stanol esters and lower/reduced blood cholesterol and reduced risk of (coronary) heart disease. *The Efsa journal*, 825, 1-13. available online at <http://www.efsa.europa.eu/fr/efsajournal/pub/825.htm>.
- NDA 2008b. Scientific opinion of the panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from Unilever PLC/NV on plant sterols and lower/reduced blood cholesterol, reduced the risk of (coronary) heart disease. *The Efsa journal*, 781, 1-12. available online at <http://www.efsa.europa.eu/fr/efsajournal/pub/781.htm>.
- NDA 2009a. Scientific opinion of the panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from Danone France related to the scientific substantiation of a health claim on phytosterols and lowering/reducing blood cholesterol and reduced risk of (coronary) heart disease. *The Efsa journal*, 1177, 1-12. available online at <http://www.efsa.europa.eu/fr/efsajournal/pub/1177.htm>.
- NDA 2009b. Scientific opinion of the panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from the European Commission and a similar request from France in relation to the authorisation procedure for health claims on plant sterols/stanols and lowering/reducing blood LCL-cholesterol pursuant to article

- 14 of Regulation (EC) N°1924/2006. *The Efsa journal*, 1175, 1-9. available online at <http://www.efsa.europa.eu/fr/efsajournal/pub/1175.htm>.
- NDA 2012. Scientific opinion of the panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from Unilever PLC and Unilever NV, related to the scientific substantiation of a health claim related to 3 g/day plant sterols/stanols and lowering blood LDL-cholesterol and reduced risk of (coronary) heart disease pursuant to Article 19 of regulation (EC) N° 1924/2006. *The Efsa Journal*, 10, 2693. Available online: www.efsa.europa.eu/efsajournal.
- Neil, H. A., Meijer, G. W. & Roe, L. S. 2001. Randomised controlled trial of use by hypercholesterolaemic patients of a vegetable oil sterol-enriched fat spread. *Atherosclerosis*, 156, 329-37.
- Nestel, P., Cehun, M., Pomeroy, S., Abbey, M. & Weldon, G. 2001. Cholesterol-lowering effects of plant sterol esters and non-esterified stanols in margarine, butter and low-fat foods. *European Journal of Clinical Nutrition*, 55, 1084-1090.
- Nissinen, M. J., Gylling, H. & Miettinen, T. A. 2008. Responses of surrogate markers of cholesterol absorption and synthesis to changes in cholesterol metabolism during various amounts of fat and cholesterol feeding among healthy men. *Br J Nutr*, 99, 370-8.
- Noakes, M., Clifton, P., Ntanos, F., Shrapnel, W., Record, I. & McInerney, J. 2002a. An increase in dietary carotenoids when consuming plant sterols or stanols is effective in maintaining plasma carotenoid concentrations. *American Journal of Clinical Nutrition*, 75, 79-86.
- Noakes, M., Clifton, P., Ntanos, F., Shrapnel, W., Record, I. & McInerney, J. 2002b. An increase in dietary carotenoids when consuming plant sterols or stanols is effective in maintaining plasma carotenoid concentrations. *Am J Clin Nutr*, 75, 79-86.
- Normen, A. L., Brants, H. A., Voorrips, L. E., Andersson, H. A., van den Brandt, P. A. & Goldbohm, R. A. 2001. Plant sterol intakes and colorectal cancer risk in the Netherlands Cohort Study on Diet and Cancer. *Am J Clin Nutr*, 74, 141-8.
- Ntanos, F. Y., Homma, Y. & Ushiro, S. 2002. A Spread Enriched with Plant Sterol-Esters Lowers Blood Cholesterol and Lipoproteins without Affecting Vitamins A and E in Normal and Hypercholesterolemic Japanese Men and Women. *Journal of Nutrition*, 132, 3650-3655.
- Ntanos, F. Y., Jones, P. J. H. & Frohlich, J. J. 1998. Dietary sitostanol reduces plaque formation but not lecithin cholesterol acyl transferase activity in rabbits. *Atherosclerosis*, 138, 101-110.
- Ntanos, F. Y., van de Kooij, A. J., de Deckere, E. A., Duchateau, G. S. & Trautwein, E. A. 2003. Effects of various amounts of dietary plant sterol esters on plasma and hepatic sterol concentration and aortic foam cell formation of cholesterol-fed hamsters. *Atherosclerosis*, 169, 41-50.
- O'Neill, F. H., Sanders, T. A. & Thompson, G. R. 2005. Comparison of efficacy of plant stanol ester and sterol ester: short-term and longer-term studies. *Am J Cardiol*, 96, 29D-36D.
- Ostlund, R. E., Jr. & Lin, X. 2006. Regulation of cholesterol absorption by phytosterols. *Curr Atheroscler Rep*, 8, 487-91.
- Ostlund, R. E., Jr., McGill, J. B., Zeng, C. M., Covey, D. F., Stearns, J., Stenson, W. F. & Spilburg, C. A. 2002a. Gastrointestinal absorption and plasma kinetics of soy Delta(5)-phytosterols and phytostanols in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 282, E911-6.
- Ostlund, R. E., Jr., Racette, S. B. & Stenson, W. F. 2002b. Effects of trace components of dietary fat on cholesterol metabolism: phytosterols, oxysterols, and squalene. *Nutr Rev*, 60, 349-59.
- Othman, R. A., Myrie, S. B. & Jones, P. J. 2013. Non-cholesterol sterols and cholesterol metabolism in sitosterolemia. *Atherosclerosis*, 231, 291-9.
- Palace, V. P., Khaper, N., Qin, Q. I. & Singal, P. K. 1999. Antioxidant potentials of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 746-761.
- Patel, M. D. & Thompson, P. D. 2006. Phytosterols and vascular disease. *Atherosclerosis*, 186, 12-19.
- Pedro-Botet, J., Schaefer, E. J., Bakker-Arkema, R. G., Black, D. M., Stein, E. M., Corella, D. & Ordovas, J. M. 2001. Apolipoprotein E genotype affects plasma lipid response to atorvastatin in a gender specific manner. *Atherosclerosis*, 158, 183-93.
- Phillips, K. M., Ruggio, D. M. & Ashraf-Khorassani, M. 2005. Phytosterol composition of nuts and seeds commonly consumed in the United States. *J Agric Food Chem*, 53, 9436-45.
- Pinedo, S., Vissers, M. N., von Bergmann, K., Elharchaoui, K., Lutjohann, D., Luben, R., Wareham, N. J., Kastelein, J. J., Khaw, K. T. & Boekholdt, S. M. 2007. Plasma levels of plant sterols and the risk of coronary artery disease: the prospective EPIC-Norfolk Population Study. *J Lipid Res*, 48, 139-44.
- Plat, J., Beugels, I., Gijbels, M. J., de Winther, M. P. & Mensink, R. P. 2006. Plant sterol or stanol esters retard lesion formation in LDL receptor-deficient mice independent of changes in serum plant sterols. *J Lipid Res*, 47, 2762-71.
- Plat, J., Bragt, M. C. E. & Mensink, R. P. 2005. Common sequence variations in ABCG8 are related to plant sterol metabolism in healthy volunteers. *Journal of Lipid Research*, 46, 68-75.

- Plat, J., Brufau, G., Dallinga-Thie, G. M., Dasselaaar, M. & Mensink, R. P. 2009. A plant stanol yogurt drink alone or combined with a low-dose statin lowers serum triacylglycerol and non-HDL cholesterol in metabolic syndrome patients. *J Nutr*, 139, 1143-9.
- Plat, J., Brzezinka, H., Lutjohann, D., Mensink, R. P. & von Bergmann, K. 2001. Oxidized plant sterols in human serum and lipid infusions as measured by combined gas-liquid chromatography-mass spectrometry. *J Lipid Res*, 42, 2030-8.
- Plat, J., de Jong, A., Bragt, M. & Mensink, R. 2004. W04.147 Plant sterol and stanol esters do not influence markers for endothelial function and inflammation in subjects on statin treatment despite a significant reduction in LDL cholesterol. *Atherosclerosis Supplements*, 5, 34-34.
- Plat, J., Kerckhoffs, D. A. & Mensink, R. P. 2000a. Therapeutic potential of plant sterols and stanols. *Curr Opin Lipidol*, 11, 571-6.
- Plat, J. & Mensink, R. P. 2000. Vegetable oil based versus wood based stanol ester mixtures: effects on serum lipids and hemostatic factors in non-hypercholesterolemic subjects. *Atherosclerosis*, 148, 101-112.
- Plat, J. & Mensink, R. P. 2001. Effects of diets enriched with two different plant stanol ester mixtures on plasma ubiquinol-10 and fat-soluble antioxidant concentrations. *Metabolism*, 50, 520-9.
- Plat, J. & Mensink, R. P. 2002. 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. *European Journal of Clinical Investigation*, 32, 242-250.
- Plat, J. & Mensink, R. P. 2005. Plant Stanol and Sterol Esters in the Control of Blood Cholesterol Levels: Mechanism and Safety Aspects. *The American Journal of Cardiology*, 96, 15-22.
- Plat, J., van Onselen, E. N. M., van Heugten, M. M. A. & Mensink, R. P. 2000b. Effects on serum lipids, lipoproteins and fat soluble antioxidant concentrations of consumption frequency of margarines and shortenings enriched with plant stanol esters. *European Journal of Clinical Nutrition*, 54, 671-677.
- Polagruto, J. A., Wang-Polagruto, J. F., Braun, M. M., Lee, L., Kwik-Urbe, C. & Keen, C. L. 2006. Cocoa Flavanol-Enriched Snack Bars Containing Phytosterols Effectively Lower Total and Low-Density Lipoprotein Cholesterol Levels. *Journal of the American Dietetic Association*, 106, 1804-1813.
- Puato, M., Faggini, E., Rattazzi, M., Zambon, A., Cipollone, F., Grego, F., Ganassin, L., Plebani, M., Mezzetti, A. & Pauletto, P. 2010. Atorvastatin reduces macrophage accumulation in atherosclerotic plaques: a comparison of a nonstatin-based regimen in patients undergoing carotid endarterectomy. *Stroke*, 41, 1163-8.
- Quílez, J., Rafecas, M., Brufau, G., García-Lorda, P., Megías, I., Bulló, M., Ruiz, J. A. & Salas-Salvadó, J. 2003. Bakery Products Enriched with Phytosterol Esters, α -Tocopherol and β -Carotene Decrease Plasma LDL-Cholesterol and Maintain Plasma β -Carotene Concentrations in Normocholesterolemic Men and Women. *Journal of Nutrition*, 133, 3103-3109.
- Raeini-Sarjaz, M., Ntanios, F. Y., Vanstone, C. A. & Jones, P. J. 2002. No changes in serum fat-soluble vitamin and carotenoid concentrations with the intake of plant sterol/stanol esters in the context of a controlled diet. *Metabolism*, 51, 652-6.
- Raicht, R. F., Cohen, B. I., Fazzini, E. P., Sarwal, A. N. & Takahashi, M. 1980. Protective effect of plant sterols against chemically induced colon tumors in rats. *Cancer Res*, 40, 403-5.
- Raitakari, O. T., Salo, P. & Ahotupa, M. 2008a. Carotid artery compliance in users of plant stanol ester margarine. *Eur J Clin Nutr*, 62, 218-24.
- Raitakari, O. T., Salo, P., Gylling, H. & Miettinen, T. A. 2008b. Plant stanol ester consumption and arterial elasticity and endothelial function. *British Journal of Nutrition*, 100, 603-608.
- Rajaratnam, R. A., Gylling, H. & Miettinen, T. A. 2000. Independent association of serum squalene and noncholesterol sterols with coronary artery disease in postmenopausal women. *J Am Coll Cardiol*, 35, 1185-91.
- Ras, R. T., Hiemstra, H., Lin, Y., Vermeer, M. A., Duchateau, G. S. & Trautwein, E. A. 2013. Consumption of plant sterol-enriched foods and effects on plasma plant sterol concentrations--a meta-analysis of randomized controlled studies. *Atherosclerosis*, 230, 336-46.
- Ratnayake, W. M., L'Abbe, M. R., Mueller, R., Hayward, S., Plouffe, L., Hollywood, R. & Trick, K. 2000. Vegetable oils high in phytosterols make erythrocytes less deformable and shorten the life span of stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *J Nutr*, 130, 1166-78.
- Ratnayake, W. M., Plouffe, L., L'Abbe, M. R., Trick, K., Mueller, R. & Hayward, S. 2003. Comparative health effects of margarines fortified with plant sterols and stanols on a rat model for hemorrhagic stroke. *Lipids*, 38, 1237-47.
- Relas, H., Gylling, H. & Miettinen, T. A. 2001. Acute effect of dietary stanyl ester dose on post-absorptive α -tocopherol, β -carotene, retinol and retinyl palmitate concentrations. *British Journal of Nutrition*, 85, 141-147.

- Richelle, M., Enslin, M., Hager, C., Groux, M., Tavazzi, I., Godin, J.-P., Berger, A., Métairon, S., Quaile, S., Piguët-Welsch, C., Sagalowicz, L., Green, H. & Fay, L. B. 2004a. Both free and esterified plant sterols reduce cholesterol absorption and the bioavailability of β -carotene and α -tocopherol in normocholesterolemic humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, 80, 171-177.
- Richelle, M., Enslin, M., Hager, C., Groux, M., Tavazzi, I., Godin, J. P., Berger, A., Métairon, S., Quaile, S., Piguët-Welsch, C., Sagalowicz, L., Green, H. & Fay, L. B. 2004b. Both free and esterified plant sterols reduce cholesterol absorption and the bioavailability of beta-carotene and alpha-tocopherol in normocholesterolemic humans. *Am J Clin Nutr*, 80, 171-7.
- Rideout, T. C., Chan, Y. M., Harding, S. V. & Jones, P. J. 2009. Low and moderate-fat plant sterol fortified soymilk in modulation of plasma lipids and cholesterol kinetics in subjects with normal to high cholesterol concentrations: report on two randomized crossover studies. *Lipids Health Dis*, 8, 45.
- Rideout, T. C., Harding, S. V., Mackay, D., Abumweis, S. S. & Jones, P. J. 2010. High basal fractional cholesterol synthesis is associated with nonresponse of plasma LDL cholesterol to plant sterol therapy. *Am J Clin Nutr*, 92, 41-6.
- Rideout, T. C., Harding, S. V. & Mackay, D. S. 2012. Metabolic and genetic factors modulating subject specific LDL-C responses to plant sterol therapy. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 90, 509-514.
- Rudzinska, M., Przybylski, R. & Wasowicz, E. 2014. Degradation of phytosterols during storage of enriched margarines. *Food Chem*, 142, 294-8.
- Ryan, E., Galvin, K., O'Connor, T. P., Maguire, A. R. & O'Brien, N. M. 2007. Phytosterol, squalene, tocopherol content and fatty acid profile of selected seeds, grains, and legumes. *Plant Foods Hum Nutr*, 62, 85-91.
- Ryokkynen, A., Kayhko, U. R., Mustonen, A. M., Kukkonen, J. V. & Nieminen, P. 2005. Multigenerational exposure to phytosterols in the mouse. *Reprod Toxicol*, 19, 535-40.
- Salen, G., Shefer, S., Nguyen, L., Ness, G. C., Tint, G. S. & Shore, V. 1992. Sitosterolemia. *J Lipid Res*, 33, 945-55.
- Sanchez-Muniz, F. J., Maki, K. C., Schaefer, E. J. & Ordovas, J. M. 2009. Serum lipid and antioxidant responses in hypercholesterolemic men and women receiving plant sterol esters vary by apolipoprotein E genotype. *J Nutr*, 139, 13-9.
- Sanders, D. J., Minter, H. J., Howes, D. & Hepburn, P. A. 2000. The safety evaluation of phytosterol esters. Part 6. The comparative absorption and tissue distribution of phytosterols in the rat. *Food Chem Toxicol*, 38, 485-91.
- SCF 2000. Opinion on a request for the safety assessment of the use of phytosterol esters in yellow fat spreads. Opinion adopted by the Scientific Committee on Food on 6 April 2000. *available online at http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out56_en.pdf*.
- SCF 2002a. 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 beta-carotene. Opinion adopted by the Scientific Committee on Food on 3 October 2002. *available online at http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out143_en.pdf*.
- SCF 2002b. Opinion of the Scientific Committee on Food on a report on post launch monitoring of « yellow fat spreads with added phytosterols esters ». Opinion adopted by the Scientific Committee on Food on 4 october 2002. *available online at http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out144_en.pdf*.
- SCF 2003a. Opinion of the Scientific Committee on Food on an application from ADM for approval of plant-sterol enriched foods. Opinion adopted by the Scientific Committee on Food on 15 April 2003. *available online at http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out192_en.pdf*.
- SCF 2003b. Opinion of the Scientific Committee on Food on an application from MultiBene for approval of plant-sterol enriched foods. Opinion adopted by the Scientific Committee on Food on 15 April 2003. *available online at http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out191_en.pdf*.
- SCF 2003c. Opinion of the Scientific Committee on Food on applications for approval of a variety of plant sterol-enriched foods. Opinion adopted by the Scientific Committee on Food on 13 march 2003. *available online at http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out174_en.pdf*.
- Schroder, M., Fricke, C., Pilegaard, K., Poulsen, M., Wester, I., Lütjohann, D. & Mortensen, A. 2009. Effect of rapeseed oil-derived plant sterol and stanol esters on atherosclerosis parameters in cholesterol-challenged heterozygous Watanabe Heritable Hyperlipidaemic rabbits. *British Journal of Nutrition*, 102, 1740-1751.
- Sesso, H. D., Buring, J. E., Norkus, E. P. & Gaziano, J. M. 2004. Plasma lycopene, other carotenoids, and retinol and the risk of cardiovascular disease in women. *Am J Clin Nutr*, 79, 47-53.
- Shay, C. M., Evans, R. W. & Orchard, T. J. 2009. Do plant sterol concentrations correlate with coronary artery disease in type 1 diabetes? A report from the Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study. *J Diabetes*, 1, 112-7.

- Sialvera, T. E., Pounis, G. D., Koutelidakis, A. E., Richter, D. J., Yfanti, G., Kapsokefalou, M., Goumas, G., Chiotinis, N., Diamantopoulos, E. & Zampelas, A. 2012. Phytosterols supplementation decreases plasma small and dense LDL levels in metabolic syndrome patients on a westernized type diet. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 22, 843-848.
- Sierksma, A., Weststrate, J. A. & Meijer, G. W. 1999. Spreads enriched with plant sterols, either esterified 4,4-dimethylsterols or free 4-desmethylsterols, and plasma total- and LDL-cholesterol concentrations. *Br J Nutr*, 82, 273-82.
- Silbernagel, G., Chapman, M. J., Genser, B., Kleber, M. E., Fauler, G., Scharnagl, H., Grammer, T. B., Boehm, B. O., Makela, K. M., Kahonen, M., Carmena, R., Rietzschel, E. R., Bruckert, E., Deanfield, J. E., Miettinen, T. A., Raitakari, O. T., Lehtimaki, T. & März, W. 2013. High intestinal cholesterol absorption is associated with cardiovascular disease and risk alleles in ABCG8 and ABO: evidence from the LURIC and YFS cohorts and from a meta-analysis. *J Am Coll Cardiol*, 62, 291-9.
- Silbernagel, G., Fauler, G., Hoffmann, M. M., Lütjohann, D., Winkelmann, B. R., Boehm, B. O. & März, W. 2010. The associations of cholesterol metabolism and plasma plant sterols with all-cause and cardiovascular mortality. *Journal of Lipid Research*, 51, 2384-2393.
- Silbernagel, G., Fauler, G., Renner, W., Landl, E. M., Hoffmann, M. M., Winkelmann, B. R., Boehm, B. O. & März, W. 2009. The relationships of cholesterol metabolism and plasma plant sterols with the severity of coronary artery disease. *Journal of Lipid Research*, 50, 334-341.
- Simojoki, M., Luoto, R., Uutela, A., Boice Jr, J. D., McLaughlin, J. K. & Puska, P. 2004. Consistency of use of plant stanol ester margarine in Finland. *Public Health Nutrition*, 7, 63-68.
- Simojoki, M., Luoto, R., Uutela, A., Rita, H., Boice, J. D., Jr., McLaughlin, J. K. & Puska, P. 2005. Use of plant stanol ester margarine among persons with and without cardiovascular disease: early phases of the adoption of a functional food in Finland. *Nutr J*, 4, 20.
- Simon, J. A., Lin, F., Hulley, S. B., Blanche, P. J., Waters, D., Shiboski, S., Rotter, J. I., Nickerson, D. A., Yang, H., Saad, M. & Krauss, R. M. 2006. Phenotypic predictors of response to simvastatin therapy among African-Americans and Caucasians: the Cholesterol and Pharmacogenetics (CAP) Study. *Am J Cardiol*, 97, 843-50.
- Sioen, I., Matthys, C., Huybrechts, I., Van Camp, J. & De Henauw, S. 2011a. Consumption of plant sterols in Belgium: Consumption patterns of plant sterol-enriched foods in Flanders, Belgium. *British Journal of Nutrition*, 105, 911-918.
- Sioen, I., Matthys, C., Huybrechts, I., Van Camp, J. & De Henauw, S. 2011b. Consumption of plant sterols in Belgium: Estimated intakes and sources of naturally occurring plant sterols and β -carotene. *British Journal of Nutrition*, 105, 960-966.
- Slesinski, R. S., Turnbull, D., Frankos, V. H., Wolterbeek, A. P. & Waalkens-Berendsen, D. H. 1999. Developmental toxicity study of vegetable oil-derived stanol fatty acid esters. *Regul Toxicol Pharmacol*, 29, 227-33.
- Soderholm, P. P., Alftan, G., Koskela, A. H., Adlercreutz, H. & Tikkanen, M. J. 2012. The effect of high-fiber rye bread enriched with nonesterified plant sterols on major serum lipids and apolipoproteins in normocholesterolemic individuals. *Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 22, 575-582.
- Stalenhoef, A. F., Hectors, M. & Demacker, P. N. 2001. Effect of plant sterol-enriched margarine on plasma lipids and sterols in subjects heterozygous for phytosterolaemia. *J Intern Med*, 249, 163-6.
- Strandberg, T. E., Gylling, H., Tilvis, R. S. & Miettinen, T. A. 2010. Serum plant and other noncholesterol sterols, cholesterol metabolism and 22-year mortality among middle-aged men. *Atherosclerosis*, 210, 282-287.
- Strandberg, T. E., Tilvis, R. S., Pitkala, K. H. & Miettinen, T. A. 2006. Cholesterol and glucose metabolism and recurrent cardiovascular events among the elderly: a prospective study. *J Am Coll Cardiol*, 48, 708-14.
- Subbiah, M. T. R. & Kuksis, A. 1973. Differences in metabolism of cholesterol and sitosterol following intravenous injection in rats. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)/Lipids and Lipid Metabolism*, 306, 95-105.
- Sudhop, T., Gottwald, B. M. & von Bergmann, K. 2002a. Serum plant sterols as a potential risk factor for coronary heart disease. *Metabolism*, 51, 1519-21.
- Sudhop, T., Lutjohann, D., Kodal, A., Igel, M., Tribble, D. L., Shah, S., Perevozskaya, I. & von Bergmann, K. 2002b. Inhibition of intestinal cholesterol absorption by ezetimibe in humans. *Circulation*, 106, 1943-8.
- Tammi, A., Ronnema, T., Gylling, H., Rask-Nissila, L., Viikari, J., Tuominen, J., Pulkki, K. & Simell, O. 2000. Plant stanol ester margarine lowers serum total and low-density lipoprotein cholesterol concentrations of healthy children: the STRIP project. Special Turku Coronary Risk Factors Intervention Project. *J Pediatr*, 136, 503-10.
- Tammi, A., Ronnema, T., Miettinen, T. A., Gylling, H., Rask-Nissila, L., Viikari, J., Tuominen, J., Marniemi, J. & Simell, O. 2002. Effects of gender, apolipoprotein E phenotype and cholesterol-lowering by plant

- stanol esters in children: the STRIP study. Special Turku Coronary Risk Factor Intervention Project. *Acta Paediatr*, 91, 1155-62.
- Tammi, A., Ronnema, T., Valsta, L., Seppanen, R., Rask-Nissila, L., Miettinen, T. A., Gylling, H., Viikari, J., Anttolainen, M. & Simell, O. 2001. Dietary plant sterols alter the serum plant sterol concentration but not the cholesterol precursor sterol concentrations in young children (the STRIP Study). Special Turku Coronary Risk Factor Intervention Project. *J Nutr*, 131, 1942-5.
- Tedeschi-Reiner, E., Strozzi, M., Skoric, B. & Reiner, Z. 2005. Relation of atherosclerotic changes in retinal arteries to the extent of coronary artery disease. *Am J Cardiol*, 96, 1107-9.
- Teupser, D., Baber, R., Ceglarek, U., Scholz, M., Illig, T., Gieger, C., Holdt, L. M., Leichtle, A., Greiser, K. H., Huster, D., Linsel-Nitschke, P., Schafer, A., Braund, P. S., Tired, L., Stark, K., Raaz-Schrauder, D., Fiedler, G. M., Wilfert, W., Beutner, F., Gielen, S., Grosshennig, A., König, I. R., Lichtner, P., Heid, I. M., Kluttig, A., El Mokhtari, N. E., Rubin, D., Ekici, A. B., Reis, A., Garlachs, C. D., Hall, A. S., Matthes, G., Wittekind, C., Hengstenberg, C., Cambien, F., Schreiber, S., Werdan, K., Meitinger, T., Loeffler, M., Samani, N. J., Erdmann, J., Wichmann, H. E., Schunkert, H. & Thiery, J. 2010. Genetic regulation of serum phytosterol levels and risk of coronary artery disease. *Circ Cardiovasc Genet*, 3, 331-9.
- Theuvsen, E., Plat, J., Van Der Kallen, C. J., Van Greevenbroek, M. M. & Mensink, R. P. 2009. Plant stanol supplementation decreases serum triacylglycerols in subjects with overt hypertriglyceridemia. *Lipids*, 44, 1131-1140.
- Thiery, J., Ceglarek, U., Fiedler, G., Leichtle, A., Baumann, S., Teupser, D., Lang, O., Baumert, J., Meisinger, M., Loewel, H. & Doering, A. 2006. Abstract 4099: elevated campesterol serum levels—a significant predictor of incident myocardial infarction: results of the population-based MONICA/KORA follow-up study 1994–2005. *Circulation* 114, II-884.
- Thomsen, A. B., Hansen, H. B., Christiansen, C., Green, H. & Berger, A. 2004. Effect of free plant sterols in low-fat milk on serum lipid profile in hypercholesterolemic subjects. *Eur J Clin Nutr*, 58, 860-70.
- Tuomilehto, J., Tikkanen, M. J., Höglström, P., Keinänen-Kiukaanniemi, S., Piironen, V., Toivo, J., Salonen, J. T., Nyyssönen, K., Stenman, U. H., Alifthan, H. & Karppanen, H. 2009. Safety assessment of common foods enriched with natural nonesterified plant sterols. *European Journal of Clinical Nutrition*, 63, 684-691.
- Turnbull, D., Frankos, V. H., Leeman, W. R. & Jonker, D. 1999a. Short-term tests of estrogenic potential of plant stanols and plant stanol esters. *Regul Toxicol Pharmacol*, 29, 211-5.
- Turnbull, D., Frankos, V. H., van Delft, J. H. & DeVogel, N. 1999b. Genotoxicity evaluation of wood-derived and vegetable oil-derived stanol esters. *Regul Toxicol Pharmacol*, 29, 205-10.
- Turnbull, D., Whittaker, M. H., Frankos, V. H. & Jonker, D. 1999c. 13-week oral toxicity study with stanol esters in rats. *Regul Toxicol Pharmacol*, 29, 216-26.
- Valsta, L. M., Lemström, A., Ovaskainen, M. L., Lampi, A. M., Toivo, J., Korhonen, T. & Piironen, V. 2004. Estimation of plant sterol and cholesterol intake in Finland: Quality of new values and their effect on intake. *British Journal of Nutrition*, 92, 671-678.
- van Himbergen, T. M., Matthan, N. R., Resteghini, N. A., Otokozawa, S., Ai, M., Stein, E. A., Jones, P. H. & Schaefer, E. J. 2009. Comparison of the effects of maximal dose atorvastatin and rosuvastatin therapy on cholesterol synthesis and absorption markers. *J Lipid Res*, 50, 730-9.
- Vanhanen, H. T., Blomqvist, S., Ehnholm, C., Hyvonen, M., Jauhiainen, M., Torstila, I. & Miettinen, T. A. 1993. Serum cholesterol, cholesterol precursors, and plant sterols in hypercholesterolemic subjects with different apoE phenotypes during dietary sitostanol ester treatment. *J Lipid Res*, 34, 1535-44.
- Vanmierlo, T., Weingärtner, O., Van Der Pol, S., Husche, C., Kerksiek, A., Friedrichs, S., Sijbrands, E., Steinbusch, H., Grimm, M., Hartmann, T., Laufs, U., Böhm, M., De Vries, H. E., Mulder, M. & Lütjohann, D. 2012. Dietary intake of plant sterols stably increases plant sterol levels in the murine brain. *Journal of Lipid Research*, 53, 726-735.
- Varady, K. A., St-Pierre, A. C., Lamarche, B. & Jones, P. J. 2005. Effect of plant sterols and endurance training on LDL particle size and distribution in previously sedentary hypercholesterolemic adults. *Eur J Clin Nutr*, 59, 518-25.
- Vergès, B., Athias, A., Petit, J.-M. & Brindisi, M.-C. 2009. Extravascular lipid deposit (xanthelasma) induced by a plant sterol-enriched margarine. *BMJ Case Reports*, 2009.
- Volger, O. L., Mensink, R. P., Plat, J., Hornstra, G., Havekes, L. M. & Princen, H. M. G. 2001. Dietary vegetable oil and wood derived plant stanol esters reduce atherosclerotic lesion size and severity in apoE*3-Leiden transgenic mice. *Atherosclerosis*, 157, 375-381.
- Volpe, R., Niittynen, L., Korpela, R., Sirtori, C., Bucci, A., Fraone, N. & Pazzucconi, F. 2001. Effects of yoghurt enriched with plant sterols on serum lipids in patients with moderate hypercholesterolaemia. *British Journal of Nutrition*, 86, 233-239.
- Voutilainen, S., Nurmi, T., Mursu, J. & Rissanen, T. H. 2006. Carotenoids and cardiovascular health. *American Journal of Clinical Nutrition*, 83, 1265-1271.

- Vuorio, A. F., Gylling, H., Turtola, H., Kontula, K., Ketonen, P. & Miettinen, T. A. 2000. Stanol ester margarine alone and with simvastatin lowers serum cholesterol in families with familial hypercholesterolemia caused by the FH-North Karelia mutation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 20, 500-6.
- Waalkens-Berendsen, D. H., Wolterbeek, A. P., Wijnands, M. V., Richold, M. & Hepburn, P. A. 1999. Safety evaluation of phytosterol esters. Part 3. Two-generation reproduction study in rats with phytosterol esters--a novel functional food. *Food Chem Toxicol*, 37, 683-96.
- Wang, J. J., Liew, G., Klein, R., Rochtchina, E., Knudtson, M. D., Klein, B. E., Wong, T. Y., Burlutsky, G. & Mitchell, P. 2007. Retinal vessel diameter and cardiovascular mortality: pooled data analysis from two older populations. *Eur Heart J*, 28, 1984-92.
- Wargovich, M. J., Chen, C. D., Jimenez, A., Steele, V. E., Velasco, M., Stephens, L. C., Price, R., Gray, K. & Kelloff, G. J. 1996. Aberrant crypts as a biomarker for colon cancer: evaluation of potential chemopreventive agents in the rat. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 5, 355-60.
- Weingartner, O., Lutjohann, D., Ji, S., Weisshoff, N., List, F., Sudhop, T., von Bergmann, K., Gertz, K., König, J., Schafers, H. J., Endres, M., Böhm, M. & Laufs, U. 2008. Vascular effects of diet supplementation with plant sterols. *J Am Coll Cardiol*, 51, 1553-61.
- Weingärtner, O., Lütjohann, D., Ji, S., Weisshoff, N., List, F., Sudhop, T., von Bergmann, K., Gertz, K., König, J., Schäfers, H. J., Endres, M., Böhm, M. & Laufs, U. 2008. Vascular Effects of Diet Supplementation With Plant Sterols. *Journal of the American College of Cardiology*, 51, 1553-1561.
- Weingärtner, O., Ulrich, C., Lütjohann, D., Ismail, K., Schirmer, S. H., Vanmierlo, T., Böhm, M. & Laufs, U. 2011. Differential effects on inhibition of cholesterol absorption by plant stanol and plant sterol esters in apoE^{-/-} mice. *Cardiovascular Research*, 90, 484-492.
- Weingartner, O., Weingartner, N., Scheller, B., Lutjohann, D., Graber, S., Schafers, H. J., Böhm, M. & Laufs, U. 2009. Alterations in cholesterol homeostasis are associated with coronary heart disease in patients with aortic stenosis. *Coron Artery Dis*, 20, 376-82.
- Weststrate, J. A., van het Hof, K. H., van den Berg, H., Velthuis-Te-Wierik, E. J. M., de Graaf, C., Zimmermanns, N. J. H., Westerterp, K. R., Westerterp-Plantenga, M. S. & Verboeket-van de Venne, W. P. H. 1998. A comparison of the effect of free access to reduced fat products or their full fat equivalents on food intake, body weight, blood lipids and fat-soluble antioxidants levels and haemostasis variables. *European Journal of Clinical Nutrition*, 52, 389-395.
- Whittaker, M. H., Frankos, V. H., Wolterbeek, A. P. & Waalkens-Berendsen, D. H. 1999. Two-generation reproductive toxicity study of plant stanol esters in rats. *Regul Toxicol Pharmacol*, 29, 196-204.
- Willems, J. I., Blommaert, M. A. & Trautwein, E. A. 2013. Results from a post-launch monitoring survey on consumer purchases of foods with added phytosterols in five European countries. *Food Chem Toxicol*, 62C, 48-53.
- Wilund, K. R., Yu, L., Xu, F., Vega, G. L., Grundy, S. M., Cohen, J. C. & Hobbs, H. H. 2004. No association between plasma levels of plant sterols and atherosclerosis in mice and men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 24, 2326-32.
- Windler, E., Zyriax, B. C., Kuipers, F., Linseisen, J. & Boeing, H. 2009. 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*, 203, 284-90.
- Wolfreys, A. M. & Hepburn, P. A. 2002. Safety evaluation of phytosterol esters. Part 7. Assessment of mutagenic activity of phytosterols, phytosterol esters and the cholesterol derivative, 4-cholesten-3-one. *Food Chem Toxicol*, 40, 461-70.
- Wolfs, M., de Jong, N., Ocke, M. C., Verhagen, H. & Monique Verschuren, W. M. 2006. Effectiveness of customary use of phytosterol/-stanol enriched margarines on blood cholesterol lowering. *Food Chem Toxicol*, 44, 1682-8.
- Wong, T. Y., Klein, R., Nieto, F. J., Klein, B. E., Sharrett, A. R., Meuer, S. M., Hubbard, L. D. & Tielsch, J. M. 2003. Retinal microvascular abnormalities and 10-year cardiovascular mortality: a population-based case-control study. *Ophthalmology*, 110, 933-40.
- Wong, T. Y., Klein, R., Sharrett, A. R., Duncan, B. B., Couper, D. J., Tielsch, J. M., Klein, B. E. & Hubbard, L. D. 2002. Retinal arteriolar narrowing and risk of coronary heart disease in men and women. The Atherosclerosis Risk in Communities Study. *JAMA*, 287, 1153-9.
- Zhao, H. L., Houweling, A. H., Vanstone, C. A., Jew, S., Trautwein, E. A., Duchateau, G. S. & Jones, P. J. 2008. Genetic variation in ABC G5/G8 and NPC1L1 impact cholesterol response to plant sterols in hypercholesterolemic men. *Lipids*, 43, 1155-64.
- Zhao, H. L., Houweling, A. H., Vanstone, C. A., Jew, S., Trautwein, E. A., Duchateau, G. S. J. E. & Jones, P. J. 2011. Action of plant sterol intervention on sterol kinetics in hypercholesterolemic men with high versus low basal circulatory plant sterol concentrations. *Journal of the American College of Nutrition*, 30, 155-165.

8.2 Législation et réglementation

Règlement (CE) n°258/97 du Parlement européen et du Conseil du 27 janvier 1997 relatif aux nouveaux aliments et aux nouveaux ingrédients alimentaires. Journal officiel de l'Union européenne L43 du 14 février 1997

Règlement (CE) n°608/2004 de la Commission du 31 mars 2004 concernant l'étiquetage des aliments et ingrédients alimentaires avec adjonction de phytostérols, esters de phytostérol, phytostanols et/ou esters de phytostanol. Journal officiel de l'Union européenne L97 du 1^{er} avril 2004

Règlement (CE) N°1924/2006 du Parlement européen et du Conseil du 20 décembre 2006 concernant les allégations nutritionnelles et de santé pour les denrées alimentaires. Journal officiel de l'Union européenne L404 du 30 décembre 2006

Règlement (CE) N°384/2010 de la Commission du 5 mai 2010 relatif à l'autorisation ou au refus d'autorisation de certaines allégations de santé portant sur les denrées alimentaires et faisant référence à la réduction du risque de maladie ainsi qu'au développement et à la santé infantile. Journal officiel de l'Union européenne L113 du 6 mai 2010.

Règlement (UE) N°1169/2011 du Parlement européen et du Conseil du 25 octobre 2011 concernant l'information des consommateurs sur les denrées alimentaires, modifiant les règlements (CE) N°1924/2006 et (CE) N°1925/2006 du Parlement européen et du Conseil et abrogeant la directive 87/250/CEE de la Commission, la directive 90/496/CEE du Conseil, la directive 1999/10/CE de la Commission, la directive 2000/13/CE du Parlement européen et du Conseil, les directives 2002/67/CE et 2008/5/CE de la Commission et le règlement (CE) N°608/2004 de la Commission. Journal officiel de l'Union européenne L304 du 22 novembre 2011

Règlement délégué (UE) N°78/2014 de la Commission du 22 novembre 2013 modifiant les annexes II et III du règlement (UE) N°1169/2011 du Parlement européen et du Conseil concernant l'information des consommateurs sur les denrées alimentaires, en ce qui concerne certaines céréales provoquant des allergies ou des intolérances et les denrées alimentaires avec adjonction de phytostérols, d'esters de phytostérol, de phytostanols ou d'esters de phytostanol. Journal officiel de l'Union européenne du 30 janvier 2014

Décision de la Commission du 24 juillet 2000 relative à l'autorisation de mise sur le marché de «matières grasses à tartiner enrichies aux esters de phytostérol» en tant que nouvel aliment ou nouvel ingrédient alimentaire, en application du règlement (CE) n° 258/97 du Parlement européen et du Conseil (2000/500/CE). Journal officiel de l'Union européenne L200 du 8 août 2000

Décision de la Commission du 12 novembre 2004 autorisant la mise sur le marché de boissons à base de lait contenant des phytostérols/phytostanols ajoutés en tant que nouveaux aliments ou ingrédients alimentaires, en application du règlement (CE) N°258/97 du Parlement européen et du Conseil (2004/845/CE). Journal officiel de l'Union européenne L366 du 11 décembre 2004.

Décision de la Commission du 31 mars 2004 relative à l'autorisation de mise sur le marché de matières grasses à tartiner, de boissons lactées aux fruits, de produits de type yaourt et de produits de type fromage enrichis en phytostérols/phytostanols en tant que nouveaux aliments ou nouveaux ingrédients alimentaires, en application du règlement (CE) N°258/97 du Parlement européen et du Conseil (2004/336/CE). Journal officiel de l'Union européenne L105 du 14 avril 2004

Décision de la Commission du 31 mars 2004 relative à l'autorisation de mise sur le marché de produits de type lait et de produits de type yaourt enrichis en esters de phytostérol en tant que nouveaux ingrédients alimentaires en vertu du règlement (CE) N°258/97 du Parlement européen et du Conseil (2004/335/CE). Journal officiel de l'Union européenne L105 du 14 avril 2004

Décision de la Commission du 31 mars 2004 autorisant la mise sur le marché de matières grasses à tartiner, de produits de type lait, de produits de type yaourt et de sauces épicées enrichis en phytostérols/phytostanols en tant que nouveaux aliments ou ingrédients alimentaires, en application du règlement (CE) N°258/97 du Parlement européen et du Conseil (2004/334/CE). Journal officiel de l'Union européenne L105 du 14 avril 2004

Décision de la Commission du 31 mars 2004 autorisant la mise sur le marché de matières grasses à tartiner, d'assaisonnements pour salades, de produits de type lait, de produits de type lait fermenté, de boissons à base de soja et de produits de type fromage enrichis en phytostérols/phytostanols en tant que nouveaux

aliments ou ingrédients alimentaires, en application du règlement (CE) N°258/97 du Parlement européen et du Conseil (2004/333/CE). Journal officiel de l'Union européenne L105 du 14 avril 2004

Décision de la Commission du 24 janvier 2006 autorisant la mise sur le marché de pain de seigle enrichi en phytostérols/phytostanols en tant que nouvel aliment ou nouvel ingrédient alimentaire en application du règlement (CE) N°258/97 du Parlement européen et du Conseil (2006/58/CE). Journal officiel de l'Union européenne L31 du 3 février 2006

Décision de la Commission du 24 janvier 2006 autorisant la mise sur le marché de pain de seigle enrichi en phytostérols/phytostanols en tant que nouvel aliment ou nouvel ingrédient alimentaire en application du règlement (CE) N°258/97 du Parlement européen et du Conseil (2006/59/CE). Journal officiel de l'Union européenne L31 du 3 février 2006

Décision de la Commission du 15 mai 2007 autorisant la mise sur le marché d'huile concentrée en phytostérols/phytostanols en tant que nouvel ingrédient alimentaire en application du règlement (CE) N°258/97 du Parlement européen et du Conseil (2007/343/CE). Journal officiel de l'Union européenne L129 du 17 mai 2007

Décision de la Commission du 10 janvier 2008 autorisant la mise sur le marché de boissons à base de riz enrichies en phytostérols/phytostanols en tant que nouvel aliment en application du règlement (CE) N°258/97 du Parlement européen et du Conseil (2008/36/CE). Journal officiel de l'Union européenne L8 du 11 janvier 2008

ANNEXES

Annexe 1 : Lettre de saisine



COURRIER ARRIVE

17 FEV. 2010

DIRECTION GENERALE

N°169



Monsieur Marc MORTUREUX 2010-SA-0057
Directeur Général
Agence Française de Sécurité
Sanitaire des Aliments
27-31 avenue du Général Leclerc
94701 MAISONS-ALFORT Cedex

Paris, le 15 janvier 2010

Dossier suivi par O. ANDRAULT
Tél : 01.44.93.19.56

Monsieur le Directeur Général,

J'ai l'honneur de vous transmettre la présente saisine portant sur des produits alimentaires de consommation courante, tels que des margarines, sauces salade ou encore différents produits laitiers, enrichis en phytostérols ou en phytostanols.

Les questions que nous vous adressons dans le cadre de cette saisine portent tout d'abord sur la vérification de l'innocuité et l'absence de risques de ces produits contenant des substances à ce jour non couvertes par les annexes du Règlement n°1925/2006 du Parlement européen et du Conseil du 20 décembre 2006, concernant l'adjonction de vitamines, de minéraux et de certaines autres substances aux denrées alimentaires.

Nos questions portent également sur les bénéfices démontrés que l'on peut attendre de ces produits et enfin sur l'information des consommateurs aussi bien en relation avec les risques éventuels, qu'avec les bénéfices démontrés.

1 – En ce qui concerne la population générale**a – Risques éventuels de la consommation de ces produits**

Concernant les risques éventuels, des études réalisées sur des rongeurs montrent une augmentation des marqueurs de risque cardiovasculaire associée à la consommation de phytostérols (1). Par ailleurs, on constate chez les utilisateurs de produits enrichis en phytostérols une augmentation des taux sanguins de ces composés. (2) Ce phénomène serait influencé par la prise de statines. Or, un taux sanguin élevé de phytostérols est associé à un sur-risque cardiovasculaire non seulement chez les patients atteints de stostérolémie, mais chez les personnes qui ne souffrent pas de cette pathologie (3)

Ce faisceau d'indices laisse craindre une augmentation du risque cardiovasculaire avec la consommation de produits enrichis en phytostérols. En l'état actuel des connaissances, peut-on formellement écarter ce sur-risque ? Si oui, à quelles conditions (personnes concernées, doses d'emploi, traitement concomitant) ? Dans le cas contraire, le niveau de risque possible pourrait-il amener à suspendre la commercialisation de ces produits ?

Par ailleurs, peut-on écarter tout sur-risque pour les consommateurs de produits enrichis en phytostanols ? Si oui, à quelles conditions ?

b – Efficacité de la consommation des produits sur le risque cardiovasculaire et information des consommateurs

Nous souhaiterions savoir si, à travers des essais cliniques sur l'homme ou bien à travers des suivis épidémiologiques, il a été démontré des diminutions de la prévalence des accidents cardiovasculaires ou des décès, pouvant être associées à la consommation de produits enrichis en phytostérols ou en phytostanols.

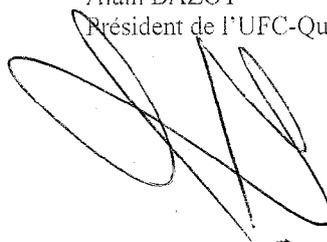
La consommation de ces produits alimentaires est généralement perçue par les consommateurs comme pouvant contribuer à la prévention d'accidents cardiovasculaires. C'est pourquoi, dans le cas où la diminution du risque cardiovasculaire n'aurait pas été démontrée sur l'homme suite à la consommation des produits concernés, il serait indispensable de compléter les allégations figurant actuellement sur les emballages par une mention correctrice informant de l'absence d'impact démontré de ces produits sur le risque cardiovasculaire. Dans ce cas de figure, nous souhaiterions savoir quelle formulation pourrait prendre une telle mention correctrice.

2 – En ce qui concerne les personnes souffrant de sitostérolémie

Concernant le cas particulier des patients atteints de sitostérolémie, il est important que ces personnes soient informées des risques apportés par la consommation de ces produits. Or les produits alimentaires concernés ne contiennent à ce jour aucune mise en garde spécifique pour ces personnes. Une alerte spécifique à l'attention de ces personnes et portée sur les emballages de ces produits ne serait-elle pas utile ? Si oui, quelle formulation pourrait prendre cette mention d'alerte ?

Je vous souhaite bonne réception de cette saisine. Restant à votre disposition pour tout élément complémentaire, je vous prie, Monsieur le Directeur Général, de bien vouloir agréer l'expression de mes sentiments les meilleurs.

Alain BAZOT
Président de l'UFC-Que Choisir



Références :

(1) Journal of the american college of cardiology Volume 51, Issue 16, Pages 1553-1561 (22 April 2008)
Vascular Effects of Diet Supplementation With Plant Sterols
Oliver Weingärtner et al.

(2) J Nutr. 2007 May;137(5):1301-6.
Customary use of plant sterol and plant stanol enriched margarine is associated with changes in serum plant sterol and stanol concentrations in humans.
Fransen HP et al.

(3) Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2006 Jan;16(1):13-21. Epub 2005 Jul 28.
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 Münster (PROCAM) study.
Assmann G et al.

Circulation. 2006;114:II_884
Elevated Campesterol Serum Levels - a Significant Predictor of Incident Myocardial Infarction: Results of the Population-based MONICA/KORA Follow-up Study 1994 to 2005
Joachim Thiery et al.

J Am Coll Cardiol. 2000 Apr;35(5):1185-91.
Independent association of serum squalene and noncholesterol sterols with coronary artery disease in postmenopausal women.
Rajaratnam RA, Gylling H, Miettinen TA.

Annexe 2 : Etudes d'intervention rapportant les effets d'aliments enrichis en phytostérols/stanols sur les concentrations plasmatiques en caroténoïdes précurseurs de vitamine A et en vitamines liposolubles

Référence	Population étudiée	Age (années)	Nombre de sujets	Type d'étude	Durée	Vecteur et dose journalière	Régime	Résultats sur les concentrations standardisées	Résultats sur les concentrations plasmatiques/sériques non standardisées et autres remarques
(Weststrate <i>et al.</i> , 1998)	Normochol. ou hyperchol. modérée	45 ±12,8	95	Double aveugle (carré latin)	3,5 semaines	Margarines (« Benecol », « soybean oil », « rice bran oil » ou « sheanut oil », de 1,5 à 3,3 g)	Régime néerlandais habituel ?	↘ α+β-carotène (19, 19, 9 et 43 %, respectivement)	↘ α+β-carotène (22, 23, 8 et 43%, respectivement)
(Gylling <i>et al.</i> , 1999)	Hyperchol. modérée	25 - 64	- 102 cas - 49 contrôles	Double aveugle	1 an + 2 mois	Margarine (3 g)	Alimentation habituelle	Pas de changement significatif pour α-tocophérol et α-carotène ↘ β-carotène (-25 %)	Pas de changement significatif pour le rétinol ↘ α-tocophérol (10%) ↘ α-carotène ↘ β-carotène ↗ Vitamine D (14%) Les changements de concentrations en rétinol, α-tochophérol et β-carotène sont corrélés avec les changements de concentration en cholestérol A l'arrêt des apports de phytostanols, les concentrations de - et β-carotène remonte

Référence	Population étudiée	Age (années)	Nombre de sujets	Type d'étude	Durée	Vecteur et dose journalière	Régime	Résultats sur les concentrations standardisées	Résultats sur les concentrations plasmatiques/sériques non standardisées et autres remarques
(Hallikainen et Uusitupa, 1999)	Hyperchol.	20 - 60	- 18 (stanols esterifiés issus de bois) - 20 (stanols esterifiés issus d'huile végétale) - 17 contrôles	Double aveugle	4 semaines de run-in (high-fat) + 8 semaines	Margarine allégée (Wood stanols : 2,34 g ou Vegetable oil stanols : 2,20 g)	Régime allégé en matières grasses et cholestérol	Pas de changement significatif pour le β -carotène \nearrow α -tocophérol (8 et 9%, respectivement)	Pas de changement significatif pour le rétinol \searrow β -carotène (27 et 27%, respectivement) \searrow α -tocophérol (12 et 8%, respectivement)
(Hallikainen et al., 1999)	Hyperchol.	32 - 54	- 18 (stanols esterifiés issus de bois) - 20 (stanols esterifiés issus d'huile végétale) - 17 contrôles	Double aveugle	4 semaines de run-in (high-fat) + 8 semaines	Margarine (Wood stanols : 2,34 g ou Vegetable oil stanols : 2,20 g)	Régime allégé en matières grasses et cholestérol	Pas de changement significatif pour α - et β -carotènes	Pas de changement significatif pour l' α -carotène \searrow β -carotène (27 et 74%, respectivement)
(Hendriks et al., 1999)	Normochol. ou hyperchol. modérée	19 - 58 (37 \pm 10)	100	Double aveugle (carré latin)	3,5 semaines	Margarines (0,85, 1,62 ou 3,26 g phytostérols)	Régime néerlandais habituel ?	Pas de changement significatif pour l' α + β -carotène (à 1,62 g) et l' α -tocophérol \searrow α + β -carotène (10 et 30% à 0,85 et 3,26 g, respectivement)	Pas de changement significatif pour l' α -tocophérol (à 0,85 g), la vitamine K1 et la 25-OH-vitamine D \searrow α + β -carotène (12, 9 et 30%, respectivement) \searrow α -tocophérol (8 et 9% à 1,62 et 3,26 g, respectivement)

Référence	Population étudiée	Age (années)	Nombre de sujets	Type d'étude	Durée	Vecteur et dose journalière	Régime	Résultats sur les concentrations standardisées	Résultats sur les concentrations plasmatiques/sériques non standardisées et autres remarques
(Hallikainen <i>et al.</i> , 2000)	Hyperchol. modérée	30 - 65	42	Double aveugle (carré latin)	4 semaines	2 margarines enrichies en vitamines A & D : stérols végétaux/bois (STAEST) et huile végétale (STEEST) (2,02 g)	Régime allégé en matières grasses	Pas de changement significatif pour l' α -carotène, le β -carotène, l' α - et le γ -tocophérols	Pas de changement significatif pour le rétinol, l' α -carotène, le γ -tocophérol et la 25-OH-vitamine D <ul style="list-style-type: none"> ↘ β-carotène (12 et 17%, respectivement) ↘ α-tocophérol (8 et 7%, respectivement)
(Plat et Mensink, 2000)	Sujets sains	33 \pm 15	112	En parallèle	8 semaines	Margarine (3,8 g phytostanols de'huile végétale ou de bois de pin)	Alimentation habituelle	-	Pas de changement significatif pour l'activité vitamine K dépendante du Facteur VII anticoagulant
(Plat <i>et al.</i> , 2000b)	Normochol. ou hyperchol. modérée	31 \pm 14	39	Cross-over en double aveugle sans wash-out	1 semaine sans stanols + 4 x 2 semaines	Margarine ou shortenings (2,5 g en 1 ou 3 prises)	Alimentation habituelle	Pas de changement significatif pour α -, δ - et β + γ -tocophérols, β -cryptoxanthine et α - et β -carotènes Somme des caroténoïdes hydrocarbonés : - NS pour 3 prises - ↘ pour 1 prise	1 prise : - pas de changement pour le rétinol, le δ - et γ + β -tocophérols, la β -cryptoxanthine et l' α -carotène - ↘ l' α -tocophérol (4%) - ↘ β -carotène (19%) 3 prises : - pas de changement pour le rétinol, le δ -tocophérols et l' α -carotène - ↘ l' α -tocophérol (7%), le β + γ -tocophérol (13%) - ↘ β -carotène (22%)

Référence	Population étudiée	Age (années)	Nombre de sujets	Type d'étude	Durée	Vecteur et dose journalière	Régime	Résultats sur les concentrations standardisées	Résultats sur les concentrations plasmatiques/sériques non standardisées et autres remarques
(Tammi <i>et al.</i> , 2000)	Enfants sains ou avec hyperchol. modérée	6	72	Cross-over en double aveugle	~13 semaines (3 mois)	Margarine enrichie en vitamines A et D (1,6 g phytostanols)	Alimentation habituelle ?	Pas de changement significatif pour l' α -tocophérol \searrow β -carotène (13%)	Pas de changement significatif pour les vitamines A et 25-OH-vit D \searrow l' α -tocophérol (6%) \searrow β -carotène (27%)
(Volpe <i>et al.</i> , 2001)	Hyperchol. modérée	33 - 69	30	Cross-over en simple aveugle	8 semaines	Boisson à base de yaourt (2 g)	Régime allégé en matières grasses (\leq 30% de l'énergie)	-	Pas de changement significatif pour les vitamines A et E \nearrow vitamine D (18%)
(Nestel <i>et al.</i> , 2001)	Hyperchol.	34 - 70	22	Cross-over en simple aveugle	4 semaines	Margarine (avec tocophérols ajoutés), céréales du petit-déjeuner et pain (2,4 g)	Alimentation habituelle ?	-	Pas de changement significatif pour l' α - et le β -carotènes et la β -cryptoxanthine \nearrow α - (14%) et γ - (59%) tocophérols
(Christians <i>et al.</i> , 2001)	Hyperchol.	25 - 64	155	Double aveugle	6 mois	Margarine (1,5 ou 3,0 g phytostérols)	Alimentation habituelle	-	Pas de changement significatif pour le rétinol, l' α -tocophérol, l' α - et le β -carotène
(Maki <i>et al.</i> , 2001)	Hyperchol. Modérée ?	21 - 75	119	Parallèle en double aveugle	5 semaines	Margarine (1,1 ou 2,2 g de phytostérols estérifiés)	Régime NCEP-I (régime qualifié de « prudent », inspiré du National Cholesterol Educational Program) : instruit par un diététicien	Pas de changement significatif pour l' α -carotène et la cryptoxanthine \searrow trans- β -carotène (17 et 24%, respectivement)	Pas de changement significatif pour le rétinol, l' α - et le γ -tocophérol, la 25-OH-vitamine D, la phylloquinone (vitamine K1), l' α -carotène à 1,1 g et la cryptoxanthine \searrow trans- β -carotène (22 et 26%, respectivement) \searrow α -carotène (22% à 2,2 g)

Référence	Population étudiée	Age (années)	Nombre de sujets	Type d'étude	Durée	Vecteur et dose journalière	Régime	Résultats sur les concentrations standardisées	Résultats sur les concentrations plasmatiques/sériques non standardisées et autres remarques
(Davidson <i>et al.</i> , 2001)	Sujets sains	18 - 65	84	Double aveugle	8 semaines	Margarine et assaisonnement pour salade allégés (3, 6 ou 9 g phytostérols)	Alimentation habituelle	Pas de changement significatif pour l' α - et le γ -tocophérols, le trans- β -carotène (à 3 et 6 g), l' α -carotène et la cryptoxanthine \searrow trans- β -carotène (17% à 9 g)	Pas de changement significatif pour le rétinol, la 25-OH-vitamine D, l' α - et le γ -tocophérols, la vitamine K1 (phylloquinone), le trans- β -carotène (à 3 et 6 g), l' α -carotène (à 3 et 6 g) et la cryptoxanthine \searrow trans- β -carotène (26% à 9 g) \searrow α -carotène (25% à 9 g)
(Plat et Mensink, 2001)	Normochol.	33 \pm 16	- 34 (stanols esterifiés issus de bois) - 36 (stanols esterifiés issus d'huile végétale) - 42 contrôles	Double aveugle	4 semaines de run-in (margarine contrôle) + 8 semaines	Margarine (Wood stanol: 4 g ou Vegetable oil stanol: 3,8 g)	Alimentation habituelle	Pas de changement significatif pour les caroténoïdes totaux et hydrocarbonés, les tocophérols totaux, l' α - et le β -carotène, la β -cryptoxanthine et les α -, δ - et β + γ -tocophérols \searrow rétinol (16 et 12%, respectivement)	Pas de changement significatif pour le rétinol, le β -carotène (wood stanols only), l' α -carotène, la β -cryptoxanthine, le β + γ -tocophérol et le δ -tocophérol (wood stanols only) \searrow α -tocophérol (~8 et ~6%, respectivement), le β -carotène (~25%, vegetable oil stanols seulement) et le δ -tocophérol (~10%, vegetable oil stanols seulement) Les changements de concentrations en caroténoïdes hydrocarbonés sont significativement corrélés à la réduction de l'absorption du cholestérol. Les changements pour les caroténoïdes et tocophérols pris isolément ne sont pas significativement corrélés.

Référence	Population étudiée	Age (années)	Nombre de sujets	Type d'étude	Durée	Vecteur et dose journalière	Régime	Résultats sur les concentrations standardisées	Résultats sur les concentrations plasmatiques/sériques non standardisées et autres remarques
(Relas <i>et al.</i> , 2001)	Sujets sains	52 ±5	10	Post-prandial	24 heures	Repas test riche en matières grasses ±1 g de phytostanols estérifiés et supplémenté en rétinol (0,9-3,7 mg), α -tocophérol (70-581 mg) et β -carotène (25-150 mg)	Test de tolérance aux graisses (hyperlipidémie provoquée)	-	Les pourcentages de changements d'aire sous la courbe (AUC) pour le β -carotène, le rétinyl palmitate et l' α -tocophérol ne sont pas significatifs
(Amundsen <i>et al.</i> , 2002)	Enfants avec histoire familiale d'hypercholestérolémie	7 - 12	38	Cross-over en double aveugle	8 semaines	Margarine (1,6 g de phytostérols)	Réduction des matières grasses saturées et du cholestérol Augmentation des matières grasses insaturées et des fruits et légumes	Pas de changement significatif pour l' α - et le β -carotène ↗ rétinol (10%) ↗ α -tocophérol (3%)	Pas de changement significatif pour l' α -tocophérol et l' α -carotène ↗ rétinol (9%) ↘ β -carotène (19%)

Référence	Population étudiée	Age (années)	Nombre de sujets	Type d'étude	Durée	Vecteur et dose journalière	Régime	Résultats sur les concentrations standardisées	Résultats sur les concentrations plasmatiques/sériques non standardisées et autres remarques
(Raeini-Sarjaz <i>et al.</i> , 2002)	Hyperchol.	37 - 61	15	Cross-over en double aveugle (carré latin)	3 semaines suivi d'un wash-out de 5 semaines	Margarine (1,92 g de phytostérols ou 1,76 g de phytostanols estérifiés)	Équilibré	Pas de changement significatif pour le γ - et l' α -tocophérols, l' α - et le β -carotènes	<p>Pas de changement significatif pour le rétinol, le δ- et l'α-tocophérols, les vitamines D et K, l'α-cryptoxanthine et le β-carotène</p> <p>↗ β-cryptoxanthine et α-carotène</p> <p>Faible durée de l'étude</p> <p>Le régime équilibré a entraîné une augmentation des caroténoïdes sans standardisation</p>
(Judd <i>et al.</i> , 2002)	Hyperchol. modérée	25 - 65	26 H 27 F	Cross-over \pm phytostérols	3 semaines suivies d'1 semaine de prélèvements sanguins	Assaisonnements pour salade (3,6 g)	Régime équilibré isocalorique (32% de l'énergie en lipides)	-	<p>Pas de changement significatif pour le rétinol, le γ- et l'α-tocophérols, l'α-cryptoxanthine et le β- cryptoxanthine chez les mâles</p> <p>↘ caroténoïdes totaux (10 %)</p> <p>↘ α- (13 %) et β-carotène (13 %)</p> <p>↘ β cryptoxanthine (14 %) chez les femmes seulement</p> <p>Les diminutions significatives en β-carotène, α-carotène et β-cryptoxanthine (femmes seulement) ne sont pas associées avec les changements en lipides plasmatiques</p>

Référence	Population étudiée	Age (années)	Nombre de sujets	Type d'étude	Durée	Vecteur et dose journalière	Régime	Résultats sur les concentrations standardisées	Résultats sur les concentrations plasmatiques/sériques non standardisées et autres remarques
(Mensink <i>et al.</i> , 2002)	Normochol.	18 – 65 (36 ±14)	60	Double aveugle	4 semaines	Yaourt allégé en lipides (3 g)	29 % de lipides	Standardisation avec le LDL-C : Pas de changement significatif pour la β - cryptoxanthine, l' α -carotène et les caroténoïdes hydrocarbonés \nearrow total (9%), α - (8%), δ - (25%) et β + γ - (25%) tocophérols \searrow du β -carotène (14%) Standardisation avec le cholestérol total \pm triglycérides : même résultats qu'avec le LDL-C excepté : \searrow de la β - cryptoxanthine, de l' α -carotène et des caroténoïdes hydrocarbonés	Pas de changement significatif pour le rétinol et les α -, δ - et β + γ -tocophérols \searrow de la β - cryptoxanthine et de l' α - et du β -carotènes La diminution du β -carotène n'est pas limitée à la fraction LDL Le β -carotène a été dosé dans toutes les lipoprotéines et a baissé dans chacune d'elle
(Noakes <i>et al.</i> , 2002a)	Hyperchol.	20 - 75 (58 ±8)	46	Cross-over en double aveugle	3 semaines	Margarine (2,3 g phytostérols ou 2,5 g phytostanols)	Riche en caroténoïdes (\geq 5 portions de fruits et légumes)	Pas de changement significatif pour le rétinol, l' α -tocophérol et les α - et β -carotènes	-
(Ntanios <i>et al.</i> , 2002)	Sujets sains	24 - 67	53	Cross-over en double aveugle	3 semaines	Margarine (1,8 g phytostanols)	Alimentation habituelle	\searrow β -carotène	Pas de changement significatif pour les vitamines A et E \searrow β -carotène (21%)

Référence	Population étudiée	Age (années)	Nombre de sujets	Type d'étude	Durée	Vecteur et dose journalière	Régime	Résultats sur les concentrations standardisées	Résultats sur les concentrations plasmatiques/sériques non standardisées et autres remarques
(Quílez <i>et al.</i> , 2003)	Normochol.	?	57 (29 + 28)	Double aveugle	8 semaines	Croissants et muffins espagnols (<i>magdalenas</i>) enrichis en α -tocophérol et β -carotène (3,3 g)	Alimentation habituelle	Pas de changement significatif pour le γ -tocophérols, l' α - et le β -carotènes \nearrow α -tocophérol (9%)	Pas de changement significatif pour le γ -tocophérols, l' α - et le β -carotènes \nearrow α -tocophérol (8%)
(Homma <i>et al.</i> , 2003)	Sujets sains	≥ 20 ans	105	Intervention sur 3 groupes dont témoin (sans autres précisions)	4 semaines suivies de 4 semaines sans phytostanols	Margarine (2 ou 3 g phytostanols)	Pauvre en lipides et cholestérol	-	Pas de changement significatif pour le rétinol et le β carotène \searrow α -tocopherol (6% avec 3 g)
(Hendriks <i>et al.</i> , 2003)	Sujets sains	35 - 64	185	Double aveugle	1 an	Margarine (1,6 g phytosterols)	Habituel (pas de contraintes particulières)	A 26 semaines, par rapport au groupe témoin, pas de changement significatif pour l' α -carotène, la β -cryptoxanthine et l' α -tocophérol A 52 semaines, par rapport au groupe témoin, pas de changement significatif pour l' α -tocophérol \searrow β -carotène (26 (14%) et 52 (24%) semaines) \searrow α -carotène (52 semaines (15%)) \searrow β -cryptoxanthine (52 semaines (9%))	A 26 et 52 semaines, par rapport au groupe témoin, pas de changement significatif pour le rétinol \searrow β -carotène (26 (22%) et 52 (24%) semaines) \searrow α -carotène (26 (11%) et 52 (14%) semaines) \searrow β -cryptoxanthine (26 (3%) et 52 (10%) semaines) \searrow α -tocophérol (26 (3%) et 52 (2%) semaines) \searrow 25-OH-vitamine D (26 (17%) et 52 (4%) semaines) \searrow vitamine K1 (26 semaines (14%))

Référence	Population étudiée	Age (années)	Nombre de sujets	Type d'étude	Durée	Vecteur et dose journalière	Régime	Résultats sur les concentrations standardisées	Résultats sur les concentrations plasmatiques/sériques non standardisées et autres remarques
(Colgan <i>et al.</i> , 2004)	Hyperchol.	44,1 (H) 48,5 (F)	48	Cross-over en double aveugle	3 semaines	Margarine allégée (1,6 g phytostérols)	Régime NCEP-I (régime qualifié de « prudent », inspiré du National Cholesterol Educational Program) : instruit par un diététicien	Pas de changement significatif pour le β -carotène	Pas de changement significatif pour le rétinol, le l' α - et le γ -tocopherol, l' α -carotènes et la β -cryptoxanthine \searrow β -carotène (13%)
(Thomsen <i>et al.</i> , 2004)	Hyperchol.	45 - 65	71	Cross-over en double aveugle	4 semaines	Lait (1,2 ou 1,6 g stérols non estérifiés et non hydrogénés)	Régime Danois habituel	Pas de changement significatif pour l' α -tocopherol, les α - et β -carotènes et la β -cryptoxanthine	Pas de changement significatif pour la β -cryptoxanthine \searrow α -tocopherol (5 et 7%, respectivement) \searrow β -carotène (21% à 1,6 g) \searrow α -carotène (13 et 13%, respectivement) \nearrow β -carotène (17% à 1,2 g)
(Brufau <i>et al.</i> , 2004)	Normochol.	?	57 (29 + 28)	Double aveugle	8 semaines	Croissants et muffins espagnols (<i>magdalenas</i>) enrichis en α -tocophérol et β -carotène (3,3 g)	Alimentation habituelle	-	Pas de changement significatif pour le - carotène \nearrow l' α -tocophérol (8%)

Référence	Population étudiée	Age (années)	Nombre de sujets	Type d'étude	Durée	Vecteur et dose journalière	Régime	Résultats sur les concentrations standardisées	Résultats sur les concentrations plasmatiques/sériques non standardisées et autres remarques
(Richelle <i>et al.</i> , 2004a)	Normo cholest. (H)	29 ±1	26	Cross-over en double aveugle (experiment al : étude d'absorption)	1 semaine	Lait écrémé (2,2 g phytosterols estérifiés ou libres)	Régime standard	-	<p>↘ biodisponibilité β-carotène (48% avec stérols libres et 57% avec stérols estérifiés)</p> <p>↘ biodisponibilité α-tocophérol (pas de réduction avec stérols libres et 27% avec stérols estérifiés)</p> <p>↘ biodisponibilité rétinyl palmitate (32% avec stérols libres et 48% avec stérols estérifiés)</p> <p>La réduction avec les stérols estérifiés est plus élevée qu'avec les stérols libres</p> <p>La réduction de la biodisponibilité du β-carotène est significativement moindre avec les stérols libres qu'avec les stérols estérifiés</p>
(Clifton <i>et al.</i> , 2004)	Hyperchol. modérée	20 - 75 (55,3)	35	Non randomisée en simple aveugle	6 semaines avec phytostérols + 6 semaines avec phytostérols et fruits et légumes (+ 2 semaines de wash-out)	Pain ou céréales de petit déjeuner ou margarine (6,6 g phytostérols)	Alimentation habituelle ±enrichie en fruits et légumes	<p>Pas de changement significatif pour le rétinol (à 6 semaines) et l'α-carotènes (à 12 semaines)</p> <p>↘ Rétinol (6% à 12 semaines)</p> <p>↘ α-carotène (20% à 6 semaines)</p> <p>↘ β-carotène (26 à 6 semaines et 21%, NS, à 12 semaines)</p>	<p>Pas de changement significatif pour le rétinol, l'α-tocophérol (à 6 semaines), la vitamine D, l'α-carotène et le β-carotène (à 12 semaines)</p> <p>↘ α-tocophérol (14% à 12 semaines)</p> <p>↘ β-carotène (29% à 6 semaines)</p> <p>Forte dose de phytostérols</p>
(Amundsen <i>et al.</i> , 2004)	Hyperchol. (sous statines pour les parents)	7 - 13 (enfants) 32 - 51 (parents)	37 20	En ouvert	26 semaines	Margarine (1,76 g phytostérols) enrichie en α-tocophérols et rétinol	Alimentation habituelle	<p>Pas de changement significatif pour l'α-tocophérol (enfants), l'α-carotène et le β-carotène (enfants et parents)</p> <p>↗ rétinol (12% enfants et 13% parents)</p> <p>↗ α-tocophérol (8% parents)</p>	<p>Pas de changement significatif pour le rétinol, l'α-tocophérol, l'α-carotène et le β-carotène (enfants et parents)</p>

Référence	Population étudiée	Age (années)	Nombre de sujets	Type d'étude	Durée	Vecteur et dose journalière	Régime	Résultats sur les concentrations standardisées	Résultats sur les concentrations plasmatiques/sériques non standardisées et autres remarques
(Polagruto <i>et al.</i> , 2006)	Hyperchol.	49 ±2 (contrôle) 56 ±2	67	Double aveugle en parallèle	6 semaines	Barre chocolatée enrichie en flavanols (1,5 g phytostérols)	Alimentation habituelle	Pas de changement significatif pour le rétinol, l'α-tocophérol, l'α-carotène et la β-cryptoxanthine ↘ β-carotène (17%)	Pas de changement significatif pour le rétinol, l'α-tocophérol, l'α-carotène et la β-cryptoxanthine ↘ β-carotène (16%)
(Devaraj <i>et al.</i> , 2006)	Sujets sains	19 - 74	72	En aveugle	8 semaines	Jus d'orange à teneur réduite en calories (2 g phytosterols)	Alimentation habituelle	-	Pas de changement significatif pour l'α-tocophérol, l'α-carotène et le β-carotène
(Korpela <i>et al.</i> , 2006)	Hyperchol. modérée	57 ±9	164 (82 + 82)	Double aveugle	6 semaines	Yaourt ou fromages maigres (2 g phytosterols)	Régime sans restriction	Pas de changement significatif pour le β-carotène, les α- et γ-tocophérols	Pas de changement significatif pour le γ-tocophérols, le rétinol, la vitamine K1 et la 25-OH-vitamine D ↘ α-tocophérol (8%, significatif/groupe témoin) ↘ β-carotène (3%, significatif/groupe témoin)
(Hansel <i>et al.</i> , 2007)	Hyperchol. (sous statines ou non)	18 - 75 (49,5 ±13)	191 (96 + 95)	Double aveugle et multicentrique	6 semaines	Lait fermenté écrémé (1,6 g phytostérols)	Recommandations alimentaires générales pour hypercholestérolémie modérée	Pas de changement significatif pour le β-carotène	↘ β-carotène (9%)
(de Jong <i>et al.</i> , 2008a)	Hyperchol. sous statines	18 - 65	45 (15 + 15 + 15)	Intervention double aveugle	16 semaines	Margarine (2,5 g phytostérols ou phytostanols)	35-36 % énergie venant des lipides	Pas de changement significatif pour les caroténoïdes hydrocarbonés, les tocophérols totaux, la cryptoxanthine et les α- et β-carotènes	Pas de modification du statut antioxydant et des marqueurs du stress oxydatif

Référence	Population étudiée	Age (années)	Nombre de sujets	Type d'étude	Durée	Vecteur et dose journalière	Régime	Résultats sur les concentrations standardisées	Résultats sur les concentrations plasmatiques/sériques non standardisées et autres remarques
(Sanchez-Muniz <i>et al.</i> , 2009)	Hyperchol. avec des génotypes en ApoE différents	21 - 75	207 (87 + 120)	Double aveugle	5 semaines	Margarine (1,1 g phytostérols ou 2,2 g phytostanols)	Régime NCEP-I (régime qualifié de « prudent », inspiré du National Cholesterol Educational Program) : instruit par un diététicien	-	Pas de changement significatif pour la vitamine K, les tocophérols et le cholécalférol (vitamine D) ↘ α carotène (13% / contrôle) ↘ cryptoxanthine (32% / contrôle) ↘ trans- β -carotène (16% / contrôle)
(Tuomilehto <i>et al.</i> , 2009)	Hyperchol. modérée	27 - 74	71	Double aveugle	15 semaines (3 x 5 semaines)	Divers aliments enrichis en wood phytostérols (1,25 g/5sem, 2,5 g/5sem, 5 g/5 sem)	Alimentation habituelle	Pas de changement significatif pour l' α -tocophérol	Pas de changement significatif pour le rétinol et le β -carotène ↘ α -tocophérol (10%)
(Chen <i>et al.</i> , 2009)	Hyperchol. modérée	51,7 \pm 2,4	22	Cross-over en double aveugle	4 semaines	Margarine (3,3 g)	Régime américain typique	Pas de changement significatif pour les δ -, γ - et α -tocophérols ↗ rétinol (7%) ↘ α - (6%) et β - (8%) cryptoxanthines ↘ α - (14%) et β - (21%) carotènes	Pas de changement significatif pour le rétinol et le δ -tocophérol ↘ γ - (8%) et α - (12%) tocophérols ↘ α - (16%) et β - (16%) cryptoxanthines ↘ α - (20%) et β - (28%) carotènes
(Bañuls <i>et al.</i> , 2010)	Hyperchol. modérée	24 - 69	40	En parallèle	3 mois	Lait écrémé (« low-fat ») (2 g phytostérols)	Régime standard « healthy »	-	Pas de changement significatif pour le β -carotène ↘ cryptoxanthine (29%)

Référence	Population étudiée	Age (années)	Nombre de sujets	Type d'étude	Durée	Vecteur et dose journalière	Régime	Résultats sur les concentrations standardisées	Résultats sur les concentrations plasmatiques/sériques non standardisées et autres remarques
(Mensink <i>et al.</i> , 2010)	Hyperchol. très modérée	56 ±10	93 (22 + 24 + 22 +25)	Double aveugle	4 semaines	Margarines et yaourts au soja (3, 6 ou 9 g phytostanols)	Alimentation habituelle	Pas de changement significatif pour l' α -tocophérol et le β -carotène	<p>↘ α-tocophérol (5,5, 6,9 et 3,8%, respectivement)</p> <p>↘ β-carotène (13,3, 4,0 et 7,3%, respectivement)</p>
(Gylling <i>et al.</i> , 2010)	Hyperchol. modérée	61 ±1,5	49 (25 + 24)	Double aveugle	10 semaines	Margarine et boisson à base d'avoine (8,8 g phytostanols)	Alimentation habituelle	<p>Pas de changement significatif pour l'α- et le γ-tocophérol</p> <p>↘ α-carotène (33%)</p> <p>↘ β-carotène (37%)</p>	<p>Pas de changement significatif pour la vitamine A, le γ-tocophérol et la 25-OH-vitamine D</p> <p>↘ α-carotène (42%)</p> <p>↘ β-carotène (47%)</p> <p>↘ α-tocophérol (16%)</p>
(Hernandez-Mijares <i>et al.</i> , 2010)	Hyperchol. modérée	35 - 71 (50)	84 (24 + 31 + 29)	Double aveugle Groupe healthy diet sans ou avec PS Groupe free diet avec PS	3 mois	Lait (« low-fat ») (2 g phytostérols)	Alimentation saine (« healthy ») ou alimentation habituelle (« free »)	<p>↘ β-carotène (« free » diet)</p> <p>↗ β-carotène (« healthy » diet)</p>	<p>Pas de changement significatif pour la cryptoxanthine (« free » et « healthy » diets) et le β-carotène (« healthy » diets)</p> <p>↘ β-carotène (21%, « free » diet)</p>
(Heggen <i>et al.</i> , 2010)	Hyperchol.	52 ±12	59 (44 H + 15 F)	Cross-over en double aveugle	4 semaines (1 semaine de wash-out)	Margarine (2 g phytostérols issus d'huiles de colza ou colophane)	Alimentation habituelle	<p>Pas de changement significatif pour les β-, δ- et γ-tocophérols et la vitamine K1 (phyloquinone)</p> <p>↘ α- (15%) et β- (11%) carotènes</p> <p>↘ α-tocophérol (4%)</p>	<p>Pas de changement significatif pour le - tocophérol</p> <p>↘ α- (17%) et β- (18%) carotènes</p> <p>↘ α- (11%), β- (9%) et γ- (12%) tocophérols</p> <p>↘ vitamine K1 (phyloquinone)</p>

Référence	Population étudiée	Age (années)	Nombre de sujets	Type d'étude	Durée	Vecteur et dose journalière	Régime	Résultats sur les concentrations standardisées	Résultats sur les concentrations plasmatiques/sériques non standardisées et autres remarques
(Granado-Lorencio <i>et al.</i> , 2011)	Sujets sains ?	55	36	Cross-over sur chaque sujet	4 semaines	Boisson aux fruits à base de lait enrichie en cryptoxanthine	Fruits, légumes, jus et boissons riches dans les composés mesurés ont été évités	-	Pas de changement significatif pour α - et la β cryptoxanthine
(Soderholm <i>et al.</i> , 2012)	Normocholest.	34,6 \pm 11,7 (groupe test) 37,1 \pm 12,4 (contrôle)	63	Double aveugle	4 semaines	Pain de seigle (2 g puis 4 g phytostérols)	Alimentation habituelle	Pas de changement significatif pour l' α - et le γ -tocophérols et l' α - et le β -carotènes	Pas de changement significatif pour l' α - et le γ -tocophérols et l' α - et le β -carotènes

Normochol: normocholestérolémique; Hyperchol: hypercholestérolémique ; H : Homme ; F : Femme ; NS : Non Significatif

↑ Augmentation significative

↘ Diminution significative

Annexe 3 : Données toxicologiques

L'analyse s'est restreinte aux études comportant des administrations par voie orale ainsi que des études in vitro pour la génotoxicité et la cytotoxicité.

Les produits administrés étaient, dans la plupart des cas, constitués de mélanges de phytostérols en proportions variables, le degré de pureté chimique n'étant pas toujours précisé.

1. Toxicité des phytostérols et de leurs dérivés oxydés

Toxicité aiguë

Compte tenu de leur très faible toxicité aiguë et de la difficulté à administrer par voie orale des quantités de substance très élevées, aucune donnée n'est à notre connaissance disponible.

Toxicité à doses répétées

α. Phytostérols

Une première étude (Hepburn *et al.*, 1999) a été menée chez des rats Wistar adultes (n = 20/sexe/dose) qui ont reçu pendant 90 jours un aliment enrichi par 0, 0,16 %, 1,6 %, 3,2 % et 8,1 % d'un mélange de phytostérols estérifiés (β sitostérol 48,7 %, campestérol 25,8 % et stigmastérol 21,6 %) correspondant à 0, 0,1, 1, 2 et 5 % de phytostérols. Cette étude a été réalisée selon les bonnes pratiques de laboratoire. Aucune mortalité imputable au traitement n'est observée ni aucun signe clinique. Le poids corporel ne présente pas de différences significatives par rapport aux témoins. Une légère augmentation de la consommation alimentaire est observée chez les mâles à partir de la dose de 1,6 % probablement liée à la teneur énergétique réduite de l'aliment enrichi. Au niveau hématologique, une très faible réduction significative du nombre des plaquettes, non dose-dépendante est observée chez l'ensemble des femelles traitées accompagnée d'une réduction du temps de prothrombine. Au plan biochimique, une élévation des enzymes plasmatiques (alanine amine transferase, ALAT, chez les mâles et femelles, créatine kinase (CK) et la lactate déshydrogénase (LDH) chez les femelles) est rapportée à la forte dose de 8,1 % mais de 3,2 % pour les phosphatases alcalines (femelles). Il est à noter que la cholestérolémie n'est pas modifiée. Les examens histologiques portant sur plus de 40 organes ou tissus n'ont montré aucune différence significative par rapport aux témoins. Une microlithiase est rapportée sur les femelles exposées à la forte dose. Les auteurs établissent de manière un peu optimiste la NOAEL (no observed adverse effect level, dose pour laquelle aucun effet délétère n'est observé) à 8,1 % correspondant à une dose de 6,6 g/kg de poids corporel/j d'esters de phytostérols ou 4,1 g/kg pc/j de phytostérol se basant sur l'absence d'effets liés à la dose et à l'absence de traduction histologique des variations observées. Considérant l'élévation des phosphatases alcalines, de la CK et de la LDH, il serait plus juste de retenir la dose 3,2 %.

Une autre étude (Kim *et al.*, 2002) respectant également les bonnes pratiques de laboratoire a été réalisée chez des rats Sprague Dawley adultes (n = 10/sexe/dose pour les 2 plus faibles doses et n = 16/sexe/dose pour les témoins et la forte dose). Les animaux ont reçu pendant 13 semaines par gavage des doses de 0, 1, 3 ou 9 g/kg pc/j d'un mélange de phytostérols (sitostérol (49,4 %), campestérol (27,9 %), stigmastérol (18,5 %) avec un degré de pureté > 95,4 %). Les observations en fin de la période de traitement ont porté sur 10 animaux par groupe. Une période sans traitement de 4 semaines a été respectée en fin d'étude pour les 6 animaux restant des groupes témoins et forte dose (n = 6/sexe/dose). Quelques signes cliniques à caractère très isolé (larmes colorées, alopecie, nez « sale ») sont rapportés chez quelques animaux (témoins et traités) sans le moindre lien avec la dose. Une baisse de gain de poids significative non réversible est notée à la forte dose en rapport avec une moindre consommation alimentaire. Au plan hématologique, une élévation réversible du nombre d'érythrocytes, des MCH (mean corpuscular hemoglobin), des MCHC (mean corpuscular hemoglobin concentration) est observée à partir de 3 g/kg pc/j (mâles) et de 9 g/kg pc/j (femelles). Une élévation faible mais significative des ALAT sériques est rapportée à 9 g/kg pc/j (mâles) non observée en fin de période de réversibilité. Au plan macroscopique, des observations à caractère très isolé ne concernant souvent qu'un seul animal sont rapportées sans le moindre lien avec la dose. Les examens histologiques mettent en évidence des cardiomyopathies avec infiltration des mononucléaires (mâles) dès la première dose (2 animaux) et jusqu'à 9 g/kg pc/j (8 animaux) non réversibles. Les auteurs considèrent la dose de 3 g/kg pc/j comme étant la NOAEL.

Les différences de résultats de ces 2 études réalisées selon un mode expérimental tout à fait acceptable peuvent être attribuées aux choix expérimentaux différents : souche animale ou mode d'administration, l'administration par gavage induisant un pic plasmatique dans les heures suivant l'administration alors que la prise alimentaire est plus régulière. Les cardiomyopathies représentant l'observation la plus sévère en raison de leur non réversibilité à 4 semaines, sont visibles à la dose de 9 g/kg pc /j, valeur beaucoup plus élevée que celle de la NOAEL discutable de 6,6 g/kg pc/j de l'étude d'Hepburn *et al.*

β. Oxyphytostérols

Un mélange d'esters de phytostérols (β sitostérol 47 %, campestérol 25 %, stigmastérol 19 %) a été soumis à oxydation par chauffage afin de produire des dérivés oxydés représentant approximativement 30 % du mélange (Lea *et al.*, 2004). Il a été administré à des rats Wistar adultes (n = 20/sexe/dose) par un aliment enrichi de 0, 0,2, 0,6 et 1,6 % du mélange pendant 90 jours comparativement à un groupe recevant le même mélange d'esters de phytostérols non oxydés (5,67 %). Une légère réduction de gain de poids (13 %) est rapportée par rapport aux témoins et au groupe esters. Aucun effet neurotoxique ne s'est manifesté. Des variations pas toujours dose-dépendantes mais spécifiques des dérivés oxydés sont rapportées à la forte dose: élévation de certains paramètres thrombocytaires, baisse des triglycérides et élévation de la gamma-GT. D'autres variations proches de celles observées avec les esters de phytostérols sont également notées : élévation des phosphatases alcalines, élévation du cholestérol. Au plan pathologique, une élévation du poids du foie (femelle) est visible sans réelle traduction histologique. Les auteurs définissent une NOAEL de 128 mg/kg pc/j (mâle) et 144 mg/kg pc/j (femelle) exprimés en dérivés oxydés (30 % du mélange) correspondant à la concentration de 0,6 % dans l'aliment enrichi.

Les dérivés oxydés ne présentent pas de différences très significatives par rapport aux esters de phytostérols chez le rat.

Génotoxicité

α. Phytostérols

Une série de tests *in vitro* et *in vivo* a été réalisée sur des phytostérols, leurs esters et des esters du cholestérol (Wolfreys et Hepburn, 2002).

L'évaluation du potentiel mutagène de certains phytostérols et de leurs esters (sitostérol 51 %, campestérol 26 %, stigmastérol 17 %) a été réalisée par le test d'AMES sur les souches TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537 (pour les phytostérols) et de plus sur la souche WP2 *uvrA* (pour les esters) avec et sans action métabolique et en présence de témoins positifs selon les lignes directrices OCDE. La dose maximale de 5000 µg/boîte a été retenue pour l'ensemble des souches. Aucune élévation significative du nombre des révertants n'est observée par rapport aux témoins. Parallèlement, deux esters de cholestérol (4-cholesten-3-one et 5β-cholestan-3-one) ont également été testés sur les mêmes souches (TA 102 remplaçant la souche WP2 *uvrA*) à la dose maximale de 5000 µg/boîte pour le premier et 2500 µg/boîte pour le second en raison d'une solubilité limitée. Les mêmes résultats négatifs sont observés.

Un test sur lymphome de souris a été réalisé uniquement sur les esters de phytostérols à une concentration maximale de 80 µg/mL, limitée par l'apparition d'un précipité. Aucune élévation de la fréquence des mutants liée à la concentration n'a pu être mise en évidence.

Des tests *in vitro* ont permis d'évaluer leur potentiel clastogène. Un test d'aberration chromosomique sur lymphocytes humains a été pratiqué à des concentrations maximales induisant une réduction de 50 % de l'index mitotique avec et sans activation métabolique soit en traitement continu pendant 48h soit séquentiel pendant 3h. Aucune élévation significative du pourcentage de cellules présentant des aberrations n'a été observée.

Un test *in vivo* du micronoyau a été réalisé chez le rat Han Wistar mâle (n = 8) à la dose de 0,5, 1 et 2 g/kg pc par gavage avec les esters de phytostérols en examinant 2000 PCEs (érythrocytes polychromatiques) par animal. Aucune cytotoxicité de la moelle osseuse ne s'est manifestée (PCE/NCE inchangé). La fréquence moyenne des micronoyaux (PCE) n'est pas significativement différente de celle des animaux témoins.

Un test *vitro/vivo* de réparation d'ADN chez des rats traités par deux doses de 0,8 et 2 g/kg pc d'esters de phytostérols n'a montré aucune élévation de la granulation cytoplasmique après 12-14h de traitement.

β. Oxyphytostérols

Sur un test d'AMES, réalisé sur les souches TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537 et TA 102 à des doses limitées à 2000 µg/boîte en raison de précipitation, le mélange tel que défini dans l'étude 90 jours chez le rat (Lea *et al.*, 2004) a été étudié avec et sans activation métabolique. Aucune élévation significative du nombre de révertants n'a été observée montrant l'absence de potentialités mutagènes. Le test d'aberrations

chromosomiques sur lymphocytes humains a été réalisé à des concentrations maximales correspondant à une réduction de l'index mitotique d'environ 50 % avec un examen portant sur 1000 cellules. Aucune élévation d'aberrations chromosomiques n'est observée montrant l'absence d'effets clastogènes. Cependant la présence d'une polyploïdie est notée dans le 1^{er} test avec et sans activation métabolique à la concentration la plus élevée. L'effet n'est pas nettement retrouvé dans le cadre de la répétition du test. Un test du micronoyau *in vitro* a été réalisé sur lymphocytes humains à des concentrations limitées par la survenue de précipités avec et sans activation métabolique. Aucune élévation significative de la fréquence des micronoyaux n'a été observée aux concentrations retenues permettant d'exclure la survenue d'une aneuploïdie.

Un test du micronoyau chez la souris (Abramsson-Zetterberg *et al.*, 2007) a été réalisé sur des dérivés oxydés de phytostérols (sitostérol et campestérol) traités de manière à former des époxydes et des triols. La composition des époxydes et des triols formés est constituée de dérivés du cholestane. Deux groupes de souris CBA mâles (n = 3) ont reçu par voie i.p des doses uniques maximales de 67 mg/kg (époxydes) et de 9,4 mg/kg (triols). Aucune incidence accrue de la fréquence de micronoyaux polychromatiques dans les érythrocytes (PCE) n'est observée aussi bien avec les époxydes qu'avec les triols. Une détermination des concentrations hépatiques a montré la présence d'époxydes au niveau du foie, des reins et du cœur mais seulement au niveau hépatique pour les triols.

Potentiel cancérigène

Un possible effet protecteur des phytostérols sur des cellules cancéreuses induites chimiquement ainsi que sur des animaux traités par des substances cancérigènes a été étudié.

√ *in vitro* sur culture de cellules Caco-2 d'adénocarcinome de côlon humain (Daly *et al.*, 2009) mises en incubation (48 h) avec du β sitostérol et campestérol (>98 % pureté) la viabilité cellulaire, l'intégrité des membranes cellulaires (mesure de LDH) et de l'ADN (test des comètes), la production de COX-2 (méthode Elisa) et l'apoptose (microscopie par fluorescence) ont été étudiées. A la concentration de 400 μ M de campestérol et de 200 μ M de β -sitostérol une baisse de la prolifération cellulaire est observée. Sur les autres paramètres, aucun effet significatif n'est observé montrant que les phytostérols testés n'exercent pas d'activité anti-cancérigène sur le modèle expérimental retenu. Une deuxième étude (Baskar *et al.*, 2010) a étudié les effets du β -sitostérol sur des cultures de cellules humaines de cancer du côlon (COLO 320 DM) et de cellules normales de singe (VERO). Les activités antioxydantes (test DPPH) et antiprolifératives (méthode MTT), les niveaux des dérivés réactifs de l'oxygène (ROS) la fragmentation de l'ADN (microscopie de fluorescence) et l'expression de l'antigène nucléaire de prolifération cellulaire (PCNA) et de la β caténine ont été explorées. Des effets antiprolifératifs sur cellules COLO 320 (IC50 : 266 μ M) et sur cellules VERO (IC50 : >1 mM) sont notés de manière dose-dépendante. Il est également constaté la survenue d'apoptose par effet antiradicalaire.

√ un modèle animal a également été utilisé dans cette étude. Des rats Wistar mâles adultes dont le nombre n'est pas précisé, ont reçu du β -sitostérol (20 mg/kg pc/j) par l'aliment pendant 16 semaines. Un autre groupe a été traité par une molécule cancérigène (20 mg/kg DMH) 1 fois/semaine pendant 4 semaines (témoin positif) ainsi que 3 autres groupes soumis au même traitement mais recevant en plus des doses croissantes de β -sitostérol respectivement 5, 10, 20 mg/kg pc/j. Sur la base de l'examen des cryptes induites au niveau du côlon, un effet réducteur de leur nombre est observé de manière dose-dépendante chez les animaux ayant reçu le β -sitostérol.

Chez 2 groupes de souris SCID (n = 8) implantées avec des cellules tumorales MDA-MB-231 (cancer du sein humain) un aliment enrichi à 2 % d'un mélange de β -sitostérol (56 %) de campestérol (28 %) de stigmastérol (6 %) a été administré par l'aliment supplémenté de 0,2 % d'acide cholique, en comparaison avec un aliment à base de 2 % de cholestérol pendant 8 semaines (Awad *et al.*, 2000). Une réduction de la taille des tumeurs et de la fréquence des métastases (respectivement 33 et 57 %) est observée dans le groupe phytostérol en comparaison avec le groupe cholestérol.

D'autres études similaires réalisées chez le rat présentant des tumeurs du côlon induites par voie chimique (MNU) et recevant pendant 28 semaines par l'aliment des doses de β -sitostérol (0,2 % dans l'aliment) montrent un ralentissement significatif du nombre de tumeurs induites (Deschner *et al.*, 1982, Raicht *et al.*, 1980). Par contre dans le cadre d'une autre étude testant chez le rat présentant des tumeurs du côlon induites par l'azoxyméthane, une série de molécules administrées par l'aliment dont le β -sitostérol (3,2 et 6,4 g/kg pc/j) aucun effet protecteur n'a pu être mis en évidence (Wargovich *et al.*, 1996).

Un effet protecteur sur les tumeurs du côlon a été mis en évidence dans le cadre d'études *in vitro* et *in vivo* avec des méthodologies très spécifiques d'auteurs. L'étude de Baskar *et al.* est assez complexe avec peu de précision sur les résultats pour les valider. Pour les études *in vivo*, l'insuffisance de précisions méthodologiques notamment sur la quantité de phytostérols réellement ingéré par l'animal d'une étude à l'autre, sur le nombre d'animaux mis en jeu ne permet pas d'établir des comparaisons valables et de définir la dose seuil à partir de laquelle un effet protecteur sur les tumeurs du côlon pourrait être observé. Par ailleurs il manque des études de cancérogenèse long terme chez le rongeur permettant de voir le comportement d'autres organes ou tissus vis-à-vis des phytostérols.

Toxicité sur les fonctions de reproduction

Elle repose sur les résultats de 2 études multi-générationnelles chez la souris et le rat.

Chez la souris NIH/S (n = 20/sexe/dose), une étude a été réalisée avec un mélange de phytostérols/stanols (β -sitostérol 75 %, campestérol 9 %, β -sitostanol 13 %) administré par l'aliment à la dose de 5 mg/kg pc/j (Ryokkynen *et al.*, 2005). Dix animaux par sexe et par dose ont été retenus pour les générations suivantes F2, F3, F4. Malgré une consommation alimentaire inchangée, des élévations de poids corporel sont observées sur les générations F1, F3 mais réduite en F4. Concernant les organes reproducteurs, le poids de l'utérus est diminué en F1, F2, F4, celui de l'ovaire en F1 mais augmenté en F2. Celui des testicules est plus élevé en F1 et F3 mais diminué en F2 alors que celui de la prostate et des vésicules séminales est augmenté en F2. Les teneurs plasmatiques en testostérone sont augmentées de manière assez significative en F2 /F4 et celles de l'oestradiol en F3. Ces changements observés sont dans l'ensemble transitoires sans vraiment interférer sur les processus de reproduction de la souris.

Une autre étude sur 2 générations a été réalisée chez le rat Wistar adulte (Waalkens-Berendsen *et al.*, 1999). Les animaux (n = 28/sexe/dose) ont reçu avant la période d'accouplement un aliment enrichi de phytostérols estérifiés (β -sitostérol 51 %, campestérol 26,7 %, stigmastérol 17,7 %) à des concentrations de 0, 1,6 %, 3,2 % et 8,1 % du mélange correspondant à 0, 1, 2 et 5 % de phytostérols non estérifiés. Le traitement a été poursuivi pendant la période de gestation jusqu'au sevrage. Les animaux de la génération F1 ont également été traités pendant la période de croissance, d'accouplement et jusqu'au sevrage de la génération F2. Aucune modification significative du poids corporel n'est rapportée sur les femelles de F0 et F1 à l'exception de la période de lactation des femelles F1 exposées à la plus forte dose. Aucun effet toxique n'est observé sur les performances de reproduction des femelles F0 et F1 ni sur la maturation sexuelle ni sur la longueur du cycle œstral ou sur l'histologie des organes de reproduction. Pour les 2 générations, l'index de viabilité est abaissé à J4 et J21 à partir de 3,2 % mais par contre reste inchangé en interprétant l'index par portée. La dose de 8,1 % qui peut être considérée comme une NOAEL correspond à une prise journalière comprise entre 1,5 et 5,6 g/kg de pc de phytostérols selon la période considérée.

Les études sur la toxicité des fonctions de reproduction ne reposent que sur des études multi-générationnelles. Celle réalisée chez la souris ne satisfait pas entièrement aux exigences réglementaires (1 seule dose, manque de précisions sur les périodes de traitement, cannibalisme important ...) rendant les résultats un peu fluctuants. Ces études n'apportent que quelques indications sur la toxicité du développement qui ne présente pas d'anomalies majeures sans permettre de conclure sur l'absence d'embryotoxicité.

Cytotoxicité

α . Phytostérols

Dans une étude *in vitro* sur cellules Caco-2 d'adénocarcinome humain (Fahy *et al.*, 2004) plusieurs phytostérols (pureté >95 %) ont été testés (β -sitostérol, campestérol, stigmastérol). Après incubation des cellules avec les différents phytostérols pour des concentrations allant de 0 à 12,5 μ M, le potentiel cytotoxique a été évalué sur 3 tests : « neutral red uptake assay » (NRUA), libération de la lactate déshydrogénase (LDH) et le test au diacétate de fluorescéine et bromure d'éthidium (FDA/EtBr). Les phytostérols sont sans effet sur la viabilité cellulaire sur la base des réponses LDH et FDA/EtBr. Par contre des concentrations élevées (12,5 μ M) la réduisent sur la base du test NRUA. Tous les phytostérols sont retenus dans les cellules en culture. Une réduction de la recapture du β -carotène en présence de 20 μ M de β -sitostérol est observée mais sans effet sur l' α -tocophérol. Il peut en être déduit que les phytostérols n'exercent pas de toxicité sur la cellule Caco-2 même à doses élevées. Il est observé une baisse significative de la viabilité cellulaire à la forte concentration de β sitostérol et de campestérol sur le test NRUA. Aucun effet n'est rapporté sur les tests LDH et FDA/EtBr. Le contenu cellulaire en α -tocophérol augmente de manière dose-dépendante.

β. Oxyphytostérols

Une étude (Maguire *et al.*, 2003) a comparé les effets cytotoxiques de dérivés oxydés du β-sitostérol, du cholestérol et du 7β-hydroxycholestérol sur culture de cellules de mammifères U937. A partir de concentrations de 60 μM de β-sitostérol oxydé une baisse (concentration et durée dépendante) de la viabilité cellulaire se manifeste, observée également avec les dérivés oxydés du cholestérol pour des concentrations moindres. Par contre aucun effet ne se dégage avec le dérivé époxydé du β-sitostérol. Il est montré que la baisse de viabilité se fait par apoptose avec une baisse de la teneur cellulaire en glutathion. Par contre aux concentrations retenues, l'activité de la catalase n'est pas modifiée.

Oestrogénicité

Des tests *in vitro/in vivo* (Baker *et al.*, 1999) ont été réalisés avec un mélange d'esters de phytostérols (β-sitostérol 47,9 %, campestérol 28,8 % et stigmastérol 23,3 %). Sur récepteur isolé à partir de l'utérus de rat, les phytostérols n'entrent pas en compétition avec le ³H-E₂ pour des concentrations allant jusqu'à 10⁻⁴ M. *In vivo* sur le test utéro-trophique du rat immature (n = 10) âgé de 22 jours, le poids de l'utérus n'est pas affecté avec des doses de 0, 5, 50 et 500 mg/kg des phytostérols et de leurs esters ingérés par voie orale pendant 3 jours.

Ainsi, l'activité oestrogénique des phytostérols parfois évoquée ne semble pas être évidente sur la base de ces études tant *in vitro* qu'*in vivo*.

2. Toxicité des phytostanols

Toxicité aiguë

Compte tenu de la très faible toxicité de ces dérivés en administration unique, aucune donnée précise n'est disponible, du fait de la difficulté d'administrer des volumes très importants.

Toxicité à doses répétées

Une étude (Turnbull *et al.*, 1999c) a été réalisée chez le rat Wistar. Les animaux adultes (n = 20/sexe/dose) ont reçu un aliment enrichi par des concentrations de 0, 0,2, 1 et 5 % d'esters de phytostanols, l'un dérivé d'une huile végétale, l'autre dérivé du bois (pureté >99 %) pendant 13 semaines. Aucun signe clinique lié au traitement n'est rapporté. Le poids corporel reste inchangé par rapport à celui des témoins. Une légère augmentation de la consommation alimentaire est observée à la forte dose (femelle). Une élévation du nombre des thrombocytes se manifeste chez les femelles de la forte dose (dérivés du bois). Une élévation significative des lymphocytes et des neutrophiles est rapportée chez les femelles recevant la forte dose (dérivés huile végétale). Au plan biochimique, concernant les dérivés du bois, une baisse du cholestérol et des phospholipides est notée chez les mâles recevant les 2 premières doses alors que pour les dérivés d'huile végétale, il est observé une élévation des phosphates alcalines (femelles 5 %) une baisse du cholestérol (mâles 5 %) et des phospholipides (mâles traités). Les concentrations plasmatiques en phytostérols (sitostérol, campestérol et stigmastérol) sont fortement diminuées chez les animaux traités des 2 sexes recevant les phytostanols alors que les celles en phytostanols sont augmentées de manière dose-dépendante chez tous les traités. Pour les dérivés d'huile végétale, les concentrations plasmatiques en vitamines liposolubles sont très fortement diminuées pour la concentration à 5 % dans l'aliment (vitamines K& et E de l'ordre de 50 % et plus modérément pour la vitamine D) sans incidence sur le temps de prothrombine. L'élimination fécale des phytostérols et phytostanols se fait sous forme libre. Il est noté une élévation du cholestérol, du sitostérol, du campestérol mais de manière très importante du sitostérol et moindre du campestanol montrant ainsi la faible absorption digestive de ces derniers. Le poids des reins est légèrement diminué chez les mâles recevant la forte dose sans traduction histologique. Un test de concentration rénale sur animal privé d'eau ne montre aucune modification liée au traitement. Le poids du foie est également réduit de manière dose-dépendante chez tous les animaux traités avec une perte du glycogène plus marquée chez les mâles recevant les dérivés du bois. Une dilatation de l'utérus est rapportée sans conséquence histologique, aucune variation n'étant constatée sur la durée du cycle œstral. Le taux d'enrichissement de l'aliment de 1 % correspondant à une prise journalière d'environ 900 mg/kg/j (dérivés du bois) et 1000 mg/kg/j (dérivés d'huile végétale) peut être considéré comme une NOAEL.

Cette étude relativement complète permet d'apporter certaines précisions sur la toxicité des phytostanols. L'absence de précisions sur la composition exacte en phytostanols doit être soulignée.

Génotoxicité

Des esters de phytostanols dérivés du bois ou d'huile végétale ont fait l'objet d'une évaluation sur leur potentiel génotoxique, chaque ester étant testé isolément (Turnbull *et al.*, 1999b). Trois tests *in vitro* ont été pratiqués. Sur le test d'AMES utilisant les souches TA 98, TA 100, TA 1535 et TA 1537 avec et sans activation métabolique jusqu'à la dose de 5000 µg/boîte, aucune élévation significative de nombre de révertants n'est observée par rapport aux témoins. Le test du lymphome de souris a été utilisé à des concentrations relativement élevées jusqu'à 500 µg/mL (sans S9) et 3000 µg/mL (avec S9) représentant les doses de limite de solubilité. Aucune élévation significative de la fréquence de mutants n'est observée. Un test de clastogénèse sur cellules CHO pratiqué jusqu'à la concentration de 500 µg/mL (sans S9) et 2000 µg/mL (avec S9) ne montre aucune élévation significative du pourcentage de cellules présentant des aberrations chromosomiques.

L'évaluation du potentiel génotoxique des esters de phytostanols a été évaluée de manière satisfaisante in vitro même si la souche TA 102 ou E.coli n'a pas été testée. Aucune donnée in vivo n'est disponible et aucune précision n'est communiquée sur la nature des phytostanols testés.

Potentiel cancérigène

Aucune donnée disponible.

Toxicité des fonctions de reproduction

Une étude sur 2 générations a été menée chez le rat Wistar selon les BPL (Whittaker *et al.*, 1999). Les animaux (n = 28/sexe/dose) ont reçu les esters de phytostanols par un aliment enrichi de 0, 1, 2,5 et 5 %. Les animaux de la génération F1 ont reçu les mêmes doses que celles des parents depuis le jour de sevrage jusqu'au sacrifice. Dans la génération F0 aucun effet n'est observé sur la courbe pondérale. Les performances de reproduction ne montrent pas de différences significatives à l'exception d'une élévation insolite des pertes post-implantations à la dose intermédiaire. Sur les portées, aucun effet significatif n'est observé à l'exception d'une mortalité accrue non expliquée des nouveau-nés visible uniquement à la faible dose. Concernant la génération F1, les performances de reproduction demeurent inchangées selon les doses. L'examen des portées montre une diminution du nombre de nouveau-nés à la mise bas. Le poids des nouveau-nés (F0 et F1) est nettement diminué à la forte dose au moment du sevrage (J21) probablement en raison de leur sensibilité particulière à des réductions caloriques. Aucune anomalie morphologique n'est rapportée sur les générations F0 et F1.

Une autre étude a évalué les effets de phytostanols (dérivés d'huile végétale) sur l'embryotoxicité du rat selon les BPL (Slesinski *et al.*, 1999). Des rattes gestantes Wistar (n = 28/dose) ont reçu un aliment enrichi de 0, 1, 2,5 et 5 % d'esters de phytostanols pendant toute la durée de leur gestation. Une baisse de gain de poids corporel s'observe à la forte dose compensée par une élévation de la consommation alimentaire. Les performances de reproduction ne montrent pas de variations particulières à l'exception d'une différence insolite du nombre des fœtus uniquement à la faible dose soit diminué (mâle) ou augmenté (femelle). L'examen des anomalies viscérales sur la moitié des fœtus ne met en évidence qu'une diminution inexpliquée d'anomalies de la vessie dilatée à partir de 2,5 %, les mêmes anomalies chez les témoins étant particulièrement élevées. L'examen des variations squelettiques sur l'autre moitié des fœtus ne montre pas de différences significatives par rapport aux témoins en comparant sur la base des portées. La dose de 5 % de phytostanols correspondant à 2,4 à 3,5 g/kg/j.pc peut être considérée comme la dose sans effet embryotoxique chez le rat.

Les résultats sur la toxicité des fonctions de reproduction ne montrent pas d'effets toxiques des esters de phytostanols sur les paramètres de reproduction du rat sur 2 générations. Aucun effet embryotoxique n'a été observé à l'exception de quelques variations à caractère isolé peut-être liées à une maternotoxicité. En l'absence de données chez le lapin, l'absence de potentiel tératogène des phytostanols ne peut être extrapolée à l'homme.

Autres études

Dans le cadre d'une étude réalisée avec les phytostérols déjà analysée précédemment (Daly 2009) le β -sitostanol avait été également testé *in vitro* sur cellules Caco-2. Le β -sitostanol inhibe la prolifération cellulaire à partir de 200 μ M. Il est par contre sans effet sur l'intégrité de la membrane cellulaire et de l'ADN ni sur les altérations de l'ADN induites par H₂O₂, ni sur la production de COX-2.

Une autre étude a testé sur modèle *vitro* et *vivo* le potentiel oestrogénique des phytostanols et leurs esters (Turnbull *et al.*, 1999a). Sur culture de cellules d'adénocarcinome mammaire humain MCF-7 (E-Screen test) dépourvue d'oestrogènes, l'induction de prolifération cellulaire d'un mélange de 4 phytostanols dérivés d'huile végétale (sitostanol et campestanol 89 %) a été étudiée en comparaison avec le 17 β -œstradiol. L'absence de prolifération cellulaire et d'effet oestrogénique a été démontrée pour des concentrations allant de 0 à 100 μ M. *In vivo* sur le test utéro-trophique utilisant 2 préparations d'esters de phytostanols, l'une dérivée du bois l'autre d'huile végétale administrées par l'aliment enrichi à 8,3 % pendant 4 jours chez la ratte Wistar immature (n = 10/groupe), aucun effet n'a pu être observé sur le poids de l'utérus en comparaison avec le DES. Ces résultats démontrent l'absence d'activité oestrogénique et utéro-trophique des phytostanols et leurs esters (Hovenkamp *et al.*, 2008).

Ces résultats confirment une activité comparable des phytostanols à celles des phytostérols sur la viabilité cellulaire ainsi que sur l'activité oestrogénique.

3. Conclusion

Les phytostérols et phytostanols ont une faible biodisponibilité orale, les dérivés du campesterol présentant une meilleure absorption que ceux du sitostérol. Ils sont transformés par oxydation au niveau hépatique en acides biliaires dont des acides en C21 tout en présentant une grande variabilité d'une espèce à l'autre.

Les esters de phytostérols n'exercent pas d'effets toxiques majeurs chez le rat. Des cas de cardiomyopathie ont été observés chez des rats recevant par gavage les phytostérols mais jamais en cas d'administration par l'aliment. Aucune manifestation génotoxique tant *in vivo* qu'*in vitro* n'a été rapportée. Une activité antitumorale a été montrée *in vivo* et *in vitro* sur des tumeurs du côlon et des glandes mammaires induites, mais aucune donnée n'est disponible sur le potentiel tumorigène chez le rongeur dans le cadre d'études à très long terme. Des études multi-génération menées chez la souris et le rat n'ont montré aucun effet particulier à l'exception de petites variations du poids corporel de certaines portées et du poids de quelques organes reproducteurs sans montrer d'interférences sur les processus de reproduction. Aucune donnée d'embryotoxicité n'est disponible. Aucune activité oestrogénique n'a été mise en évidence tant *in vitro* qu'*in vivo*.

Les phytostanols ne montrent pas d'effets toxiques particuliers. Une baisse du poids des reins et du foie sans conséquence histologique a été observée. Aucune activité génotoxique n'a été mise en évidence. Une étude multigénération chez le rat n'a pas montré de signes de toxicité. L'absence d'embryotoxicité chez le rat est montrée mais aucune donnée n'est disponible chez le lapin ce qui ne permet pas d'extrapoler ces résultats à l'Homme. Aucune activité oestrogénique n'a été mise en évidence.

Annexe 4 : Méthode d'analyse du marché français des produits enrichis en phytostérols

1. Source des données utilisées

Les données utilisées par la suite proviennent principalement de la base de données de l'Oqali⁶. Ce projet, mené conjointement par l'Anses et l'INRA, a pour objectif de suivre, au cours du temps, la qualité nutritionnelle de l'offre alimentaire de produits transformés disponibles sur le marché français. Ce suivi est réalisé au niveau des références produit (produit de marque). La quasi-totalité des produits transformés a déjà fait l'objet d'un suivi sectoriel (Tableau 25). Cette base de données, intégrant notamment les listes des ingrédients des produits, permet donc de réaliser un état des lieux des produits transformés contenant des stérols végétaux sur le marché français.

Tableau 25 : Liste des secteurs ayant déjà fait l'objet d'au moins un suivi par l'Oqali

Nom du secteur	Nombre de produits pris en compte	Années de récolte des données	Couverture* estimative en % (Données Kantar Worldpanel)
Aperitifs a croquer	600	2009	49%
Barres cerealieres	174	2010	79%
Biscuits et gateaux industriels	1792	2008_2009	72%
Boissons Rafraichissantes Sans Alcool	763	2009_2010	78%
Bouillons et potages	761	2011	77%
Cereales pour le petit dejeuner	449	2011	75%
Charcuterie	1166	2010	66%
Chocolat et produits chocolates	820	2009	67%
Compotes	636	2010	78%
Confitures	466	2010	70%
Conserves de fruits	217	2010	66%
Glaces et sorbets	1476	2010_2011	67%
Jus et nectars	894	2009_2010	55%
Margarines	95	2011	82%
Panification croustillante et moelleuse	620	2009	57%
Pizzas surgelées	213	2010	62%
Plats cuisines appertises	765	2010	71%
Preparations pour desserts	155	2009	67%
Produits laitiers frais et assimilés	2430	2011	80%
Produits traiteurs frais	2009	2009_2010	66%
Produits transformés à base de pommes de terre	629	2011	76%
Sauces chaudes	294	2010	77%
Sauces condimentaires	571	2011	76%
Sirops et boissons concentrées à diluer	304	2009_2010	69%

* Ratio des volumes des produits identifiés par l'Oqali versus le volume total du marché retracé par Kantar Worldpanel.

⁶ Observatoire de l'alimentation, section nutritionnelle Oqali en charge des questions relatives à l'offre et aux caractéristiques des aliments <http://www.oqali.fr/oqali/>

La base GNPD (Global New Product Database), qui recense notamment les innovations alimentaires en France a également été employée afin d'estimer le dynamisme du marché des produits contenant des stérols végétaux.

Dans les 2 cas, les données proviennent uniquement des emballages des produits vendus en France.

2. Méthodologie

Base Oqali

A partir des données d'étiquetage disponibles dans la base de données de l'Oqali, l'ensemble des produits contenant des phytostérols ou des esters de phytostérols dans leur liste d'ingrédients ont été recherchés.

Il est important de noter que la base de données de l'Oqali ne comprend qu'un seul conditionnement par recette/type de produit. Ainsi par exemple, si une recette de spécialité laitière à boire aromatisée à la fraise et avec édulcorants existe sous format 4*100g et 8*100g, la base de données Oqali ne comprendra qu'un seul enregistrement, pour l'un d'entre eux.

De plus, seuls les produits considérés dans les derniers suivis sectoriels sont présentés par la suite. Par exemple, si une spécialité laitière contenant des phytostérols a été retirée du marché en décembre 2010, elle ne sera pas prise en compte car les produits laitiers frais et assimilés ont été suivis en 2011.

Enfin, l'étude des caroténoïdes a été réalisée en considérant la présence de β -carotène et/ou de vitamine A dans la liste des ingrédients des produits contenant des phytostérols.

Base GNPD

A partir des données d'étiquetage disponibles dans la base de données GNPD, l'ensemble des produits contenant des phytostérols dans leur liste d'ingrédients et disponibles sur le marché français ont été recherchés. Les compléments alimentaires ont été exclus de la recherche.

Annexe 5. Matériels et méthodes d'estimation des apports en phytostérols et en phytostanols

1. Données de consommation

Les données de consommation utilisées proviennent de l'étude INCA 2 effectuée en 2006-07 en 3 vagues auprès de 4079 individus âgés de 3 à 79 ans (1455 enfants de 3-17 ans et 2624 adultes de 18-79 ans). La sélection des participants a été effectuée selon un plan de sondage à 3 degrés, stratifié sur la taille d'agglomération et la région, dans le recensement de la population de 1999 et les bases de logements neufs construits entre 1999 et 2004. Le recueil des consommations des individus de l'échantillon a été réalisé à l'aide d'un carnet alimentaire de 7 jours sur lequel étaient notées la nature des aliments et les quantités consommées, estimées à l'aide d'un cahier photo. Chaque ligne du carnet correspondait à un aliment (ou boisson) consommé. Dans le cas des produits industriels, le nom commercial et la marque de l'aliment consommé devaient être renseignés. L'ensemble des lignes d'aliments recueillis a été codifié à l'aide d'une nomenclature spécialement développée pour l'étude INCA 2 et comprenant 1280 items.

Une pondération a été affectée à chaque individu des deux échantillons (enfants 3-17 ans et adultes 18-79 ans) afin d'assurer leur représentativité au niveau national (métropole hors Corse).

2. Données de composition en phytostérols et phytostanols

Le CIQUAL a fourni une table de composition des teneurs en phytostérols et phytostanols totaux pour les aliments de l'enquête INCA 2 suivant les modalités décrites ci-dessous.

Table de composition des aliments INCA 2

Données sources

Les données disponibles au Ciqual portent sur 17 phytostérols individuels et 5 sommes de ces constituants (stérols libres, stérols totaux, phytostérols totaux, phytostanols totaux, stérols + stanols).

La majeure partie de ces données est issue d'un programme de recherche (2004-2006), financé par l'Actia. Ce projet avait précisément pour objet de constituer une table de composition en stérols des aliments les plus contributeurs à l'apport en phytostérols dans l'alimentation des Français. Une étape préliminaire du projet Actia Phytostérols consistait à identifier les principaux aliments vecteurs de phytostérols afin de les échantillonner et de les analyser, l'estimation des apports via ces aliments étant obtenue en croisant les données INCA1 et des données de composition issues de la littérature ou de banques de données étrangères ou spécifiques de ces composés.

Les sources de données mises en œuvre dans le processus de compilation et d'élaboration de la table de composition sont les suivantes :

- Werner D (2006). Rapport de laboratoire, programme Actia Phytostérols. Aérial.
- Redon J (2006). Rapport de laboratoire, programme Actia Phytostérols. ISHA.
- Lechat H, Coustille JL (2006). Rapport de laboratoire, programme Actia Phytostérols. Itegr.
- Kaloustian J (2006). Rapport de laboratoire, programme Actia Phytostérols. Faculté de pharmacie de Marseille.
- Farrington D, Walker M (2003). Nutrient analysis catch up project. Food standard Agency project N10020. Analytical report May 2003.
- Karakoltsidis P, Zotos A, Constantinides S (1995). Composition of the commercially important Mediterranean finfish, crustaceans and molluscs. J Food Comp Anal, 8, 258-273.
- Normen L, Bryngelsson, Johnsson M, Evheden P, Ellegard L, Brants H, Andersson H, Dutta P (2002) The Phytosterol Content of Some Cereal Foods Commonly Consumed in Sweden and in the Netherlands. J Food Comp Anal, 15, 693-704.
- Piclet G (1999). Composition et valeur nutritionnelle de l'huître creuse en Bretagne Nord, Ifremer R.Int.Del/CC/RST.
- Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (1998). Fatty Acids. Seventh supplement to 5th edition of McCance and Widdowson's The Composition of Foods. The Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- USDA (2010). Nutrient Database for Standard Reference, Release 23. <http://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl>.

Des données industrielles françaises, confidentielles, collectées par le Ciqual, ont également été exploitées.

Méthode d'agrégation des données sources

Les données source ont été agrégées afin de fournir des teneurs moyennes en phytostérols et phytostanols totaux pour les aliments de la table INCA2.

Ces teneurs ont été calculées :

- soit par moyenne arithmétique des teneurs existant dans les données sources ;
- soit par somme des stérols/stanols individuels au moyen des formules suivantes :

Phytostérols totaux = brassicastérol + campestérol + Δ 5-avénastérol + Δ 7-avénastérol + Δ 7-campestanol + Δ 7-stigmastérol + β -sitostérol

Phytostanols totaux = campestanol + sitostanol

Traitement des valeurs manquantes

Les valeurs manquantes en phytostérols totaux les plus susceptibles de conduire à une sous-estimation des apports ont été comblées. Le travail a porté de manière ciblée sur les aliments et ingrédients répondant aux deux critères suivants :

- une teneur en lipides supérieure à 1 g/100 g
- une origine⁷ de l'aliment ou de l'ingrédient végétale, mixte à dominante végétale, mixte ou inconnue.

Lorsqu'une recette existait⁸, la teneur en phytostérols totaux a été calculée à partir de celle des ingrédients en se fondant sur la liste et proportion des ingrédients de cette recette. Au total, 373 valeurs manquantes ont été comblées par calcul de recette.

Concernant les aliments non composés ou sans recette disponible (N = 56), les valeurs ont été estimées à partir d'un aliment similaire ou sont issues d'une recherche bibliographique ciblée. La quasi totalité de ces valeurs manquantes persistantes a été traitée par emprunt des valeurs des tables de composition américaine (USDA SR23) et finlandaise (table Fineli⁹).

Table de composition des aliments enrichis

Le Ciqual a fourni une table de composition des aliments enrichis en phytostérols et/ou phytostanols disponibles sur le marché français sur la base d'une consultation de la *Global New Products Database* ainsi que des principaux sites internet alimentaires marchands en France a permis d'identifier les aliments enrichis disponibles sur le marché français. Une table de composition en phytostérols et phytostanols des aliments enrichis disponibles sur le marché français a été réalisée sur la base des données d'étiquetage **Tableau 26**.

Tous les aliments enrichis consommés dans l'étude INCA 2 ont été identifiés dans la base de données à partir du libellé de la marque croisé au libellé de l'aliment consommé (par ex. « lait fermenté à boire aux stérols végétaux ») et au code du groupe d'aliments de la nomenclature INCA 2 (par ex. « Ultra-frais laitier »).

La teneur en phytostérols et/ou phytostanols a ensuite été attribuée à chacun de ces aliments à partir des données transmises par le Ciqual. Il a été tenu compte de la marque lorsque celle-ci a été précisée par la personne enquêtée. Les différents aliments enrichis identifiés dans l'étude INCA 2 ainsi que leur composition respective en phytostérols et phytostanols totaux sont décrits dans le **Tableau 26**. Il est important de noter que tous les aliments enrichis disponibles sur le marché français n'ont pas été consommés dans l'étude INCA 2, des nouveaux produits étant vraisemblablement apparus après la fin de l'enquête.

⁷ Cf. champ EPICORIGIN de la table CIQUAL_FOOD de la BDD Ciqual

⁸ Cf. table T2011_RECETTES_INGELAB de la BDD Ciqual

⁹ <http://www.fineli.fi/index.php?lang=en>

Tableau 26. Composition en phytostérols/stanols des aliments enrichis en ces composés et disponibles sur le marché français lors de l'étude INCA2. Chaque ligne correspond à une marque et/ou produit différent.

Produit	Enrichi en ...	Teneur en stérols/stanols totaux en g/100 g	Teneur en stérols/stanols totaux en g par portion
Yaourt aux fruits, en pot	Ester de stérol	0,6	0,8 g par pot
Yaourt nature ou aromatisé, à boire	Ester de stérol	1,6	1,6 g par petite bouteille
Sauce salade	Ester de stérol	8,7	3,3 g par dosette de 20 ml
Margarine à 54 % MG	Ester de stanol	5,3	1,6 g par portion de 30 g
Margarine à 31 % MG	Ester de stanol	7	
Yaourt aromatisé	Ester de stanol	0,6	0,8 g par pot
Margarine à tartiner 35 % MG	Ester de stérol	7,5	0,75 g par portion de 10 g
Margarine à tartiner et cuisiner 62 % MG	Ester de stérol	7,5	0,75 g par portion de 10 g
Yaourt aux fruits, en pot	Ester de stérol	0,6	0,75 g par pot
Yaourt aromatisé, en pot	Ester de stérol	0,6	0,75 g par pot
Yaourt nature, en pot	Ester de stérol	0,6	0,75 g par pot
Yaourt aux fruits, à boire	Ester de stérol	2	2 g par petite bouteille
Lait demi-écrémé	Ester de stérol	0,3	
Yaourt aux fruits, en pot	Stérol	0,5	0,63 g par pot
Spécialité laitière à boire	Stérol	1,8	1,8 g par petite bouteille
Yaourt aux fruits, en pot	Stérol	0,5	0,63 g par pot
Substitut de cheddar	Stérol	1,5	0,42 g par portion de 28 g

3. Analyses

En raison des contraintes liées à l'échantillonnage, les analyses ont été conduites séparément chez les 1455 enfants (3-17 ans) et les 2629 adultes (18-79 ans).

Le nombre de portions d'aliments enrichis consommées par jour par les consommateurs d'aliments enrichis a été estimé à partir d'une taille de portion prédéfinie selon le type d'aliment enrichi consommé. Ainsi, une portion de margarine était équivalente à 10 g, une portion de yaourt en pot à 125 g et une portion de yaourt à boire à 100 g. En raison d'un nombre moyen de portions d'aliments enrichis consommées par jour très faible ($0,4 \pm 0,3$ chez les enfants 3-17 ans et $0,9 \pm 1,0$ chez les adultes 18-79 ans) les résultats sont présentés comme la fréquence de consommation quotidienne de portions d'aliments enrichis chez les consommateurs d'aliments enrichis.

Le nombre d'aliments enrichis différents consommés par jour par les consommateurs d'aliments enrichis a été estimé en considérant tous les aliments enrichis indiqués dans le **Tableau 26** comme des aliments différents. Cependant, en raison d'un nombre moyen d'aliments différents consommés par jour très faible ($0,1 \pm 0,0$ chez les enfants 3-17 ans et $0,2 \pm 0,0$ chez les adultes 18-79 ans) le nombre d'aliments différents consommés a été rapporté sur une semaine et les résultats sont présentés comme la fréquence de consommation hebdomadaire d'aliments enrichis différents chez les consommateurs d'aliments enrichis.

Dans chaque population (consommateurs d'aliments enrichis, non-consommateurs et population totale), les niveaux d'apports quotidiens (en mg/j/pers) en phytostérols et phytostanols totaux sont rapportés par percentiles et par tranche d'âge. Lorsque les effectifs de population étaient trop faibles pour estimer correctement les apports des faibles et forts consommateurs, les estimations ont été rapportées pour le 10^{ème} et le 90^{ème} percentile (voire le 25^{ème} et le 75^{ème} percentile) auxquels sont associées les valeurs minimales et maximales observées. Dans le cas contraire, le 5^{ème} et le 95^{ème} percentile ont été utilisés.

Annexe 6. Principaux vecteurs de phytostérols et de phytostanols

1. Aliments vecteurs de phytostérols

Tableau 27. Aliments vecteurs de phytostérols totaux (en mg/j/pers), chez les enfants consommateurs et non-consommateurs d'aliments enrichis (n = 1455)

Groupe d'aliments	Enfants 3-17 ans					
	Consommateurs (n = 10)			Non-consommateurs (n = 1445)		
	Quantité d'aliment	Phytostérols totaux		Quantité d'aliment	Phytostérols totaux	
	g/j/pers	mg/j/pers	%	g/j/pers	mg/j/pers	%
Aliments enrichis en phytostérols/stanols	9,2	278,5	58,9	0,0	0,0	0,0
Pain et panification sèche	86,8	36,4	7,7	55,3	22,5	14,3
Pâtisseries et gâteaux	48,8	18,3	3,9	37,2	13,7	8,7
Biscuits sucrés ou salés et barres	27,8	16,5	3,5	16,2	7,1	4,5
Pommes de terre et apparentés	50,7	16,2	3,4	52,0	15,8	10,1
Huile	7,6	15,7	3,3	6,8	15,0	9,6
Légumes (hors pomme de terre)	117,2	11,8	2,5	77,6	8,6	5,5
Chocolat	19,9	10,5	2,2	11,7	5,9	3,8
Pâtes	39,5	9,5	2,0	41,9	10,1	6,4
Entremets, crèmes desserts et laits gélifiés	42,7	8,4	1,8	29,5	1,7	1,1
Fruits	82,3	8,2	1,7	68,3	7,0	4,5
Riz et blé dur ou concassé	31,4	7,5	1,6	22,9	5,3	3,4
Plats composés	43,4	4,7	1,0	58,4	7,8	5
Sandwiches, casse-croûte	16,7	4,5	1,0	14,0	3,9	2,5
Condiments et sauces	10,2	3,9	0,8	12,7	4,2	2,7
Margarine	4,7	2,5	0,5	2,4	6,2	3,9
Glaces et desserts glacés	15,3	2,4	0,5	10,6	1,6	1,0
Céréales pour petit déjeuner	8,1	2,3	0,5	14,2	3,5	2,2
Soupes et bouillons	49,0	2,1	0,5	40,9	1,3	0,8
Légumes secs	10,0	2,0	0,4	8,0	1,7	1,1
Pizzas, quiches et pâtisseries salées	24,1	1,9	0,4	20,1	2,2	1,4
Fruits secs et graines oléagineuses	1,4	1,9	0,4	1,1	1,2	0,8
Autres boissons chaudes	13,0	1,5	0,3	23,6	1,9	1,2
Compotes et fruits cuits	14,4	1,3	0,3	16,9	1,3	0,8
Sucres et dérivés	13,9	0,9	0,2	9,4	0,7	0,4
Viennoiserie	24,6	0,7	0,2	17,7	1,0	0,6
Poissons	21,8	0,7	0,2	18,2	2,8	1,8
Viande	55,6	0,6	0,1	37,9	0,7	0,4
Œufs et dérivés	10,4	0,5	0,1	10,4	0,6	0,4
Lait	187,1	0,3	0,1	176,5	0,4	0,3
Ultra-frais laitier	73,4	0,2	0,0	75,8	0,1	0,1
Beurre	4,6	0,1	0,0	7,7	0,3	0,2
Autres céréales	0,0	0,0	0,0	0,3	0,4	0,3
Boissons fraîches sans alcool	192,9	0,0	0,0	194,2	0,2	0,1
Autres graisses	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1
TOTAL	2050,1*	472,5	100,0	1753,0*	156,8	100,0

Source : Etude INCA2, 2006-2007, Traitement Anses

*Le total mentionné correspond bien à la ration globale quotidienne des enfants mais il ne correspond pas à la somme des lignes du dessus. Pour une lecture plus aisée, seuls les groupes d'aliments présentant un apport en phytostérols non nul sont figurés dans ce tableau.

Tableau 28. Aliments vecteurs de phytostérols totaux (en mg/j/pers), chez les adultes consommateurs et non-consommateurs d'aliments enrichis (n = 2624)

Groupe d'aliments	Adultes 18-79 ans					
	Consommateurs (n = 70)			Non-consommateurs (n = 2554)		
	Quantité d'aliment	Phytostérols totaux		Quantité d'aliment	Phytostérols totaux	
	g/j/pers	mg/j/pers	%	g/j/pers	mg/j/pers	%
Aliments enrichis en phytostérols/stanols	24,1	657,2	75,7	0,0	0,0	0,0
Pain et panification sèche	122,9	51,1	5,9	100,9	42,0	22,6
Huile	11,1	29,5	3,4	9,4	21,1	11,3
Fruits	212,9	23,7	2,7	126,9	13,1	7,0
Légumes (hors pomme de terre)	176,4	21,2	2,4	128,5	14,0	7,5
Pâtisseries et gâteaux	44,7	13,7	1,6	32,2	10,6	5,7
Pommes de terre et apparentés	58,2	8,5	1,0	54,3	13,6	7,3
Plats composés	71,0	6,8	0,8	67,9	6,9	3,7
Condiments et sauces	17,1	6,8	0,8	17,6	6,9	3,7
Pâtes	22,7	5,5	0,6	37,1	9,0	4,8
Margarine	4,0	5,3	0,6	3,8	9,4	5,0
Fruits secs et graines oléagineuses	5,2	5,0	0,6	2,2	2,6	1,4
Pizzas, quiches et pâtisseries salées	23,4	4,5	0,5	23,6	2,7	1,5
Riz et blé dur ou concassé	16,8	3,9	0,5	24,3	5,7	3,1
Biscuits sucrés ou salés et barres	8,0	3,9	0,5	8,0	4,1	2,2
Chocolat	3,5	3,1	0,4	5,1	3,0	1,6
Soupes et bouillons	111,4	3,0	0,3	76,9	2,3	1,2
Sandwiches, casse-croûte	6,3	2,1	0,2	17,2	4,7	2,5
Poissons	31,8	1,8	0,2	24,5	1,7	0,9
Viande	47,8	1,8	0,2	48,1	1,4	0,8
Compotes et fruits cuits	21,5	1,7	0,2	11,8	0,8	0,4
Céréales pour petit déjeuner	3,7	1,4	0,2	4,5	1,4	0,8
Sucres et dérivés	20,5	1,3	0,2	17,9	1,0	0,5
Légumes secs	6,4	1,2	0,1	9,1	2,0	1,1
Entremets, crèmes desserts et laits gélifiés	28,5	1,0	0,1	22,9	1,2	0,6
Œufs et dérivés	13,0	0,9	0,1	14,2	0,9	0,5
Glaces et desserts glacés	6,6	0,8	0,1	7,9	1,1	0,6
Viennoiserie	8,3	0,7	0,1	11,5	0,8	0,4
Beurre	7,3	0,2	0,0	10,1	0,4	0,2
Crustacés et mollusques	6,1	0,2	0,0	4,1	0,0	0,1
Boissons fraîches sans alcool	71,5	0,2	0,0	137,4	0,3	0,2
Autres boissons chaudes	222,4	0,1	0,0	114,1	0,8	0,4
Autres céréales	1,0	0,1	0,0	0,4	0,4	0,2
Lait	45,1	0,1	0,0	80,5	0,2	0,1
Ultra-frais laitier	99,3	0,1	0,0	76,9	0,0	0,0
Volaille et gibier	30,4	0,1	0,0	29,7	0,0	0,0
Aliments destinés à une alimentation particulière	0,8	0,0	0,0	2,3	0,1	0,1
TOTAL	2983,5*	868,5	100,0	2580,3*	186,2	100,0

Source : Etude INCA2, 2006-2007, Traitement Anses

*Le total mentionné correspond bien à la ration globale quotidienne des adultes mais il ne correspond pas à la somme des lignes du dessus. Pour une lecture plus aisée, seuls les groupes d'aliments présentant un apport en phytostérols non nul sont figurés dans ce tableau.

2. Aliments vecteurs de phytostanols

Tableau 29. Aliments vecteurs de phytostanols totaux (en mg/j/pers), chez les enfants consommateurs et non-consommateurs d'aliments enrichis (n = 1455)

Groupe d'aliments	Enfants 3-17 ans					
	Consommateurs (n = 10)			Non-consommateurs (n = 1445)		
	Quantité d'aliment	Phytostanols totaux		Quantité d'aliment	Phytostanols totaux	
	g/j/pers	mg/j/pers	%	g/j/pers	mg/j/pers	%
Aliments enrichis en phytostérols/stanols	9,2	34,2	75,8	0,0	0,0	0,0
Pain et panification sèche	86,8	5,8	12,9	55,3	4,0	45,5
Pâtes	39,5	3,4	7,5	41,9	3,7	42,0
Céréales pour petit déjeuner	8,1	0,7	1,6	14,2	0,3	3,4
Légumes (hors pomme de terre)	117,2	0,4	0,9	77,6	0,2	2,3
Légumes secs	10,0	0,2	0,4	8,0	0,1	1,1
Riz et blé dur ou concassé	31,4	0,2	0,4	22,9	0,3	3,4
Huile	7,6	0,1	0,2	6,8	0,1	1,1
Fruits	82,3	0,1	0,2	68,3	0,1	1,1
Margarine	4,7	0,0	0,1	2,4	0,0	0,1
TOTAL*	2050,1*	45,1	100,0	1753,0*	8,8	100,0

Source : Etude INCA2, 2006-2007, Traitement Anses

*Le total mentionné correspond bien à la ration globale quotidienne des enfants mais il ne correspond pas à la somme des lignes du dessus. Pour une lecture plus aisée, seuls les groupes d'aliments présentant un apport en phytostanols non nul sont figurés dans ce tableau.

Tableau 30. Aliments vecteurs de phytostanols totaux (en mg/j/pers), chez les adultes consommateurs et non-consommateurs d'aliments enrichis (n = 2624)

Groupe d'aliments	Adultes 18-79 ans					
	Consommateurs (n = 70)			Non-consommateurs (n = 2554)		
	Quantité d'aliment	Phytostanols totaux		Quantité d'aliment	Phytostanols totaux	
	g/j/pers	mg/j/pers	%	g/j/pers	mg/j/pers	%
Aliments enrichis en phytostérols/stanols	24,1	38,7	72,3	0,0	0,0	0,0
Pain et panification sèche	122,9	10,8	20,2	100,9	7,5	62,5
Pâtes	22,7	2,0	3,7	37,1	3,2	26,7
Légumes (hors pomme de terre)	176,4	0,6	1,1	128,5	0,4	3,3
Céréales pour petit déjeuner	3,7	0,5	0,9	4,5	0,2	1,7
Riz et blé dur ou concassé	16,8	0,3	0,6	24,3	0,2	1,7
Fruits	212,9	0,2	0,4	126,9	0,2	1,7
Huile	11,1	0,2	0,4	9,4	0,1	0,8
Légumes secs	6,4	0,1	0,2	9,1	0,1	0,8
Fruits secs et graines oléagineuses	5,2	0,1	0,2	2,2	0,0	0,0
Margarine	4,0	0,0	0,0	3,8	0,1	0,8
TOTAL*	2983,5*	53,5	100,0	2580,3*	12,0	100,0

Source : Etude INCA2, 2006-2007, Traitement Anses

*Le total mentionné correspond bien à la ration globale quotidienne des adultes mais il ne correspond pas à la somme des lignes du dessus. Pour une lecture plus aisée, seuls les groupes d'aliments présentant un apport en phytostanols non nul sont figurés dans ce tableau.