

# Fitoesteroles plasmáticos: marcadores de una dieta saludable y un riesgo cardiometabólico menor en la población española del estudio EPIC

Verónica Escuriol<sup>a,b</sup>, Montserrat Cofán<sup>a,b</sup>, Concepción Moreno-Iribas<sup>c,d</sup>, Nerea Larrañaga<sup>d,e</sup>, M. José Sánchez<sup>d,f</sup>, Carmen Navarro<sup>d,g</sup>, José Ramón Quirós<sup>h</sup>, Carlos A. González<sup>i</sup>, Dolores Corella<sup>b,j</sup> y Emilio Ros<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>Unitat de Lípids. Servei d'Endocrinologia i Nutrició. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi Sunyer. Hospital Clínic. Barcelona. España.

<sup>b</sup>CIBER Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBEROBN). Instituto de Salud Carlos III. Madrid. España.

<sup>c</sup>Instituto de Salud Pública de Navarra. Pamplona. Navarra. España.

<sup>d</sup>CIBER Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP). Instituto de Salud Carlos III. Madrid. España.

<sup>e</sup>Subdirección de Salud Pública de Guipúzcoa. San Sebastián. Guipúzcoa. España.

<sup>f</sup>Escuela Andaluza de Salud Pública. Granada. España.

<sup>g</sup>Departamento de Epidemiología. Consejo Regional de Salud. Murcia. España.

<sup>h</sup>Consejería de Salud y Servicios Sanitarios. Oviedo. Asturias. España.

<sup>i</sup>Unidad de Nutrición. Medio Ambiente y Salud. Institut Català d'Oncologia. Barcelona y RTIC RD06/0020. Instituto de Salud Carlos III. Barcelona. España.

<sup>j</sup>Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública. Escuela de Medicina. Universidad de Valencia. Valencia. España.

**Introducción.** Las concentraciones elevadas de fitoesteroles plasmáticos, que reflejan una mayor absorción intestinal de colesterol se han

## Contribución de los autores

Verónica Escuriol y Emilio Ros diseñaron el estudio. Concepción Moreno-Iribas, Nerea Larrañaga, María José Sánchez, Carmen Navarro, José Ramón Quirós, y Carlos A. González participaron en la selección de participantes. Verónica Escuriol y Montserrat Cofán llevaron a cabo los análisis bioquímicos de los esteroides. Verónica Escuriol y Emilio Ros analizaron los datos y redactaron el manuscrito. Dolores Corella realizó el genotipado de la Apo E. Todos los autores interpretaron los datos, ofrecieron consejo sobre el contenido del artículo y dieron la aprobación final al manuscrito. Ninguno de los autores tiene conflictos de interés.

## Financiación

Este estudio ha sido subvencionado con becas del Ministerio de Salud FIS PI04/0104, PI04/1822, PI04/2342, PI04/1644, PI04/2188 y PI06/0365; Fundación Española de Arteriosclerosis 2006; y Fundación Privada Catalana de Nutrició i Lípids. CIBEROBN y CIBERESP son iniciativas del Instituto de Salud Carlos III (España).

Correspondencia: Dr. E. Ros.  
Unitat de Lípids. Servei d'Endocrinologia i Nutrició. Hospital Clínic.  
Villarroel, 170. 08036 Barcelona. España.  
Correo electrónico: eros@clinic.ub.es

Recibido el 12-11-2008 y aceptado el 5-2-2009.

relacionado con un aumento del riesgo cardiovascular. Sin embargo, una situación de riesgo alto, el síndrome metabólico (SM), se asocia a un aumento de la síntesis y una disminución de la absorción de colesterol y, por tanto, a una menor fitoesterolemia. En este estudio hemos investigado la relación entre los fitoesteroides del plasma y la dieta y la presencia de factores de riesgo cardiovascular, incluidos los componentes del SM.

**Métodos y resultados.** En un estudio transversal, se evaluaron la ingesta de fitoesteroides y concentraciones plasmáticas de esteroides no-colesterol ajustadas por colesterol en 592 individuos sanos de la cohorte española del estudio EPIC (European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition) fenotipados para factores de riesgo cardiovascular, incluidas las variables del SM. La ingesta de fitoesteroides, que se asoció a alimentos saludables, y el colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (HDL) aumentaron, y las medidas de adiposidad, cociente colesterol/HDL y concentraciones de glucosa, triglicéridos y latosterol, un precursor del colesterol, disminuyeron con los terciles de sitosterol plasmático ajustado por colesterol ( $p < 0,05$ ; todos). Los resultados para latosterol fueron opuestos a los de sitosterol. El genotipo de la apolipoproteína E no se relacionó con los terciles

de esteroides no-colesterol del plasma. Las *odds ratio* (OR) ajustadas de ser portador de un SM o sus componentes para el tercil superior de sitosterol plasmático comparado con el inferior oscilaron entre 0,23 y 0,42 ( $p < 0,05$ ; todas). Las OR de las mismas variables para los terciles respectivos de latosterol variaron entre 1,99 y 3,00 ( $p < 0,05$ ; todas).

**Conclusiones.** El SM se asocia a un aumento de latosterol, marcador de la síntesis de colesterol, y una disminución de sitosterol, marcador a la vez de absorción de colesterol y de una dieta saludable. Por tanto, las concentraciones elevadas de fitoesteroides se relacionan con un riesgo cardiometabólico menor.

*Palabras clave:*

Estudio transversal. Dieta. Fitoesteroides. Latosterol. Síndrome metabólico.

# PLASMA PHYTOSTEROLS: MARKERS OF A HEALTHY DIET AND A LOWER CARDIOMETABOLIC RISK IN THE SPANISH EPIC POPULATION STUDY

**Introduction.** Increased plasma phytosterols, which reflect increased cholesterol absorption, have been related to an increased cardiovascular risk. However, the metabolic syndrome (MetS), a cluster of risk factors that carries a high risk for cardiovascular diseases, has been associated with increased cholesterol synthesis and reduced cholesterol absorption, which translate into lower plasma phytosterol levels. In this study we investigated the relationships between plasma and dietary phytosterols and cardiovascular risk factors, including the components of MetS.

**Methods and results.** In a cross-sectional study, we measured phytosterol intake and cholesterol-adjusted plasma non-cholesterol sterol levels in 592 healthy subjects of the Spanish EPIC (*European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition*) cohort who were phenotyped for cardiovascular risk factors, including MetS constituents. Phytosterol intake, which reflects healthy food choices, and the HDL-cholesterol level increased and adiposity measures, cholesterol/HDL ratios, and glucose levels, triglycerides and lathosterol, a cholesterol synthesis marker, decreased across tertiles of plasma sitosterol-to-cholesterol ratios ( $P < 0.05$ ; all). Results were inverse for plasma lathosterol. The ApoE genotype was unrelated to plasma non-cholesterol sterol tertiles. The multivariable-adjusted odds ratios (OR) for the

MetS and its components across the lowest to the highest plasma sitosterol tertile ranged between 0.23 and 0.42 ( $P < 0.05$ ; all). The OR for the same variables across respective lathosterol tertiles ranged between 1.99 and 3.00 ( $P < 0.05$ ; all).

**Conclusions.** The MetS is associated with increased plasma lathosterol, a cholesterol synthesis marker, and decreased plasma sitosterol, a joint marker of cholesterol absorption and a healthy diet. Thus, elevated plasma phytosterol concentrations are related to a lower cardiometabolic risk.

*Key words:*

Cross-sectional study. Diet. Phytosterols. Lathosterol. Metabolic syndrome.

## Introducción

Los esteroides que ingerimos con los alimentos se componen de colesterol de origen animal y esteroides vegetales o fitoesteroides. Los fitoesteroides son componentes importantes de los cereales integrales, frutos secos, semillas y aceites derivados, y, por tanto, de una dieta rica en vegetales. El sitosterol y el campesterol son las principales formas moleculares<sup>1</sup>. Estos compuestos se relacionan estructuralmente con el colesterol, pero su molécula tiene un peso molecular mayor y es más hidrofóbica, lo cual les confiere una afinidad mayor por las micelas intestinales. De este modo, el colesterol sería desplazado de las micelas y se limitaría la cantidad disponible para absorberlo<sup>2</sup>. Aunque es indiscutible que los fitoesteroides reducen la absorción intestinal del colesterol, y por esto se utilizan en dosis farmacológicas (1,5-2 g) como agentes hipocolesteromiantes<sup>3</sup>, el mecanismo de este efecto no está aún completamente aclarado<sup>4</sup>. El contenido de fitoesteroides en la dieta habitual es similar al del colesterol (150-450 mg/día)<sup>5</sup>, pero su absorción intestinal es menos eficiente. Debido a su baja absorción y rápida eliminación biliar, las concentraciones fisiológicas de fitoesteroides en plasma son del orden de  $10^{-3}$  las de colesterol<sup>6</sup>.

La absorción baja de fitoesteroides, comparada con la de colesterol, se atribuye a una resecretión activa al lumen intestinal, un proceso que está mediado por los transportadores ABCG5 y ABCG8. Los defectos genéticos en estos transportadores<sup>7</sup> causan sitosterolemia, una rara enfermedad autosómica recesiva que se caracteriza por hiperabsorción intestinal de esteroides, aumento de las concentraciones de fitoesteroides plasmáticos, xantomas y aterosclerosis acelerada. Debido al supuesto papel patogénico de la concentración elevada de fitoste-

roles en la sitosterolemia, se ha propuesto que ésta podría ser también aterogénica en individuos no sitosterolémicos<sup>3,8,9</sup>.

Las concentraciones plasmáticas de campesterol o sitosterol y sus cocientes con el colesterol reflejan la eficiencia de la absorción intestinal de colesterol<sup>10</sup>, mientras que las de latosterol, un precursor del colesterol, son un buen índice de la síntesis endógena del esteroide<sup>11</sup>. Hay una relación recíproca entre síntesis y absorción de colesterol, de modo que las personas que sintetizan poco tienden a absorber mucho, y viceversa<sup>12</sup>, lo cual es coherente con el preciso control homeostático del metabolismo del colesterol. Desde hace tiempo se sabe que la obesidad se asocia con un aumento de la síntesis de colesterol<sup>13</sup>, y esto se ha confirmado en estudios recientes de Miettinen y Gylling<sup>14</sup>. Estos autores también han mostrado que el síndrome metabólico (SM) se caracteriza por una síntesis aumentada de colesterol (determinada por el incremento de las cifras plasmáticas de latosterol) junto con una absorción menor del esteroide (determinada por unas concentraciones plasmáticas disminuidas de fitoesteroides)<sup>15-17</sup>. Por tanto, hay una contradicción entre el presunto riesgo cardiovascular de las concentraciones moderadamente elevadas de fitoesteroides y el que la situación opuesta (concentraciones bajas de fitoesteroides) ocurra en el SM, una entidad de riesgo cardiovascular alto. Por otro lado, el consumo de una dieta naturalmente rica en fitoesteroides, y por tanto saludable, se asocia a incrementos modestos de las concentraciones plasmáticas de fitoesteroides<sup>11,18</sup>. Además, en 2 grandes estudios transversales recientes se ha mostrado una asociación inversa entre la ingesta de fitoesteroides con la dieta habitual y las concentraciones plasmáticas de colesterol total y de lipoproteínas de baja densidad (LDL)<sup>19,20</sup>, lo cual indica de nuevo que las concentraciones moderadamente elevadas de fitoesteroides se asocian a un riesgo cardiovascular menor y no a uno mayor. Para intentar resolver estas contradicciones, en la cohorte de población española del estudio European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)<sup>21</sup>, hemos investigado los fitoesteroides de la dieta y del plasma en relación con la presencia de factores de riesgo cardiovascular, incluido el SM.

## Pacientes y métodos

### *Diseño del estudio y participantes*

El EPIC es un estudio prospectivo y de colaboración entre 10 países europeos diseñado para investigar los determinantes dietéticos del cáncer<sup>22</sup>. La población española del estudio EPIC

incluye a 41.440 individuos<sup>21</sup>. Los participantes eran voluntarios sanos, principalmente donantes de sangre, con una edad de 30-69 años en el momento de la selección. Entre octubre de 1992 y julio de 1996 se realizó la selección en 5 regiones, 3 en el norte (Asturias, Navarra y Guipúzcoa) y 2 en el sur (Murcia y Granada). Mediante entrevistas personales, cada participante proporcionó cuestionarios con información sobre características sociodemográficas; componentes del estilo de vida, incluido el consumo de alimentos y el hábito de fumar; e historia clínica, que comprendía el diagnóstico previo de hipertensión, hiperlipemia, diabetes mellitus o enfermedad cardiovascular y uso de medicamentos. De todos los participantes se obtuvieron medidas antropométricas (altura y peso, con el cálculo del índice de masa corporal [IMC] en kg/m<sup>2</sup>, y la circunferencia de la cintura) mediante procedimientos estándar y una muestra de sangre en tubos con citrato. La muestra de sangre se obtuvo tras ayuno nocturno en cerca de un 60% de los individuos del estudio. Todos los participantes firmaron el consentimiento informado al protocolo, que aprobaron los comités éticos y de investigación clínica correspondientes.

Los participantes en el presente estudio fueron 630 individuos, que se escogieron como controles sanos apareados por sexo, edad y tiempo de selección con casos de infarto de miocardio detectados durante un seguimiento medio de 10 años, cuyos datos constituyen la base de un estudio de casos y controles anidado dentro de la cohorte EPIC de España.

### *Definición del síndrome metabólico*

Dado que en la cohorte EPIC no se determinó la presión arterial en el momento de la selección, para este estudio se consideró una definición conservadora del SM por la presencia de 3 o más de los 4 criterios siguientes: obesidad visceral (circunferencia de cintura  $\geq 88$  para mujeres y  $\geq 102$  para varones); triglicéridos en ayunas (concentración  $\geq 150$  mg/dl); glucosa en ayunas (concentración  $\geq 110$  mg/dl y/o presencia de diabetes mellitus tipo 2); colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (cHDL) (concentración  $< 50$  mg/dl en mujeres y  $< 40$  mg/dl en varones)<sup>23</sup>.

### *Evaluación dietética*

La información sobre la ingesta de comida durante el año previo a la selección se recogió mediante un cuestionario validado de historia dietética computarizado<sup>24,25</sup>. Se estructuró por comidas y se registró la frecuencia de consumo de alimentos, teniendo en cuenta la variación estacional. Aunque el cuestionario era abierto, contenía una lista de los alimentos y recetas más comunes. Aparte de la frecuencia, se registró el método de preparación y la cantidad de cada alimento consumido; el tamaño de la porción consumida se calculó a partir de medidas de fotografías, unidades naturales y medidas familiares. La cantidad final de cada alimento consumido se presenta como ingesta diaria en gramos. La ingesta de energía y nutrientes se estimó utilizando una tabla de conversión en una base de datos computarizada recopilada especialmente para el estudio EPIC de España<sup>26</sup>. La ingesta de fitoesteroides totales y sus componentes principales se estimó a partir de la base de datos de alimentos españoles desarrollada por Jiménez-Escrig et al<sup>27</sup>.

### *Análisis de laboratorio*

Las muestras de plasma y células sanguíneas (*buffy coat*) se codificaron y se remitieron a un laboratorio central para su conservación a  $-80$  °C hasta el momento del análisis. La glucosa se midió por el método de glucosa-oxidasa en las muestras



en ayunas. El colesterol y los triglicéridos se determinaron por procedimientos enzimáticos; los triglicéridos solo se midieron en las muestras en ayunas. El cHDL se cuantificó tras precipitación con ácido fofotúngstico y cloruro magnésico. La concentración de colesterol unido a LDL (cLDL) se calculó como colesterol total menos cHDL menos triglicéridos/5 cuando la concentración de triglicéridos era  $\leq 300$  mg/dl en las muestras en ayunas, y por el método homogéneo de Daiichi Pure Chemicals Company (N-geneous® LDL, Genzyme Diagnostics, Cambridge, MA [Estados Unidos]) cuando los triglicéridos eran  $> 300$  mg/dl y en las muestras que no se recogieron en ayunas. Las determinaciones se hicieron en un autoanalizador ADVIA 1800 (Siemens Healthcare Diagnostics, Madrid [España]). Se obtuvo ácido desoxirribonucleico (ADN) genómico para determinar el genotipo de la apolipoproteína E (Apo E) mediante el método de Hixson y Vernier<sup>28</sup>.

Las concentraciones de los esteroides no-colesterol se determinaron por cromatografía de gases utilizando una modificación del método de Heinemann et al<sup>29</sup>. Como estándar interno se añadió al plasma 0,1 ml de epicoprostanol (2  $\mu$ g). Tras hidrólisis alcalina, extracción y derivación a trimetilsilil ésteres, los esteroides se cuantificaron en una columna capilar no polar de 30-m (TRB-Esterol, Teknokroma, Barcelona [España]) equipada con detector de ionización de llama en un aparato de cromatografía de gases (Autosystem™, Perkin Elmer, Norwalk, CT [Estados Unidos]). En cada serie se cuantificaron el latosterol, el campesterol y el sitosterol. Los esteroides se expresan como cocientes de colesterol ( $\mu$ g/mg colesterol). Los coeficientes de variación interanálisis e intraanálisis fueron de 5,0 y 3,2% para el latosterol, 1,9 y 1,6% para el campesterol y 2,0 y 1,8% para el sitosterol, respectivamente.

### Análisis estadísticos

Las variables se expresan como número (porcentaje). Los datos para las variables continuas se expresan como media  $\pm$  desviación estándar (DE). La ingesta de fitoesteroides y las concentraciones plasmáticas de triglicéridos y esteroides no-colesterol tenían una distribución sesgada y sus valores se presentan como medianas y rangos intercuartílicos. Los participantes con más de 3 DE de la media de la ingesta de energía total diaria se excluyeron del análisis por datos dietéticos inverosímiles. La cohorte total se distribuyó en terciles de los cocientes esteroides no-colesterol/colesterol y las diferencias entre ellos se evaluaron mediante pruebas estadísticas ANOVA,  $\chi^2$  o Kruskal-Wallis según fuera apropiado. La relación entre la ingesta de fitoesteroides y componentes de la dieta se analizó mediante regresión lineal. Para estimar las *odds ratio* (OR) ajustadas del SM y sus componentes y los correspondientes intervalos de confianza del 95% se utilizó un análisis de regresión logística. El riesgo se estimó como bruto (sin ajustar), ajustado por factores de riesgo cardiovascular no incluidos en la definición de SM (sexo, edad, tabaquismo y colesterol total) y con un ajuste adicional por ingesta de energía y nutrientes (proteínas, fibra, ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, alcohol y colesterol), incluidos los fitoesteroides de la dieta. Las pruebas estadísticas se realizaron con SPSS, versión 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL [Estados Unidos]) y la significación se estableció como  $p < 0,05$ .

### Resultados

Se excluyó a 38 de los 630 participantes: 3 debido a una ingesta de energía fuera de rango y 35 porque falló la determinación de esteroides plasmáticos debido a una muestra insuficiente o en mal

estado. La muestra final fue de 592 participantes (460 varones y 132 mujeres, con una edad media de 60,4 años).

En la tabla 1 se muestra la distribución de los factores de riesgo cardiovascular, cocientes de esteroides no-colesterol plasmáticos e ingesta de fitoesteroides de la dieta en los diferentes terciles de los cocientes sitosterol/colesterol y latosterol/colesterol. Los terciles de sitosterol ajustado por colesterol se asociaron directamente con la concentración de cHDL y la ingesta de fitoesteroides e inversamente con el IMC, circunferencia de cintura, glucemia, trigliceridemia y cociente colesterol/HDL. Los terciles latosterol/colesterol se asociaron de forma recíproca que los de sitosterol/colesterol a estas mismas variables, con excepción de la ingesta de fitoesteroides, que siguió el mismo patrón. Las variantes del genotipo de la Apo E no se relacionaron con las cifras plasmáticas de esteroides no-colesterol. Los cocientes de latosterol y sitosterol con colesterol se asociaban inversamente entre ellos. Los cocientes campesterol/colesterol mostraron un comportamiento similar al del sitosterol (datos no mostrados).

En la figura 1 se observa que el sitosterol plasmático ajustado por colesterol aumenta con la ingesta de fitoesteroides de la dieta. La ingesta media de fitoesteroides en toda la cohorte ( $n = 592$ ) fue de 318 mg/día, más elevada en varones (334 mg/día, rango 82-851) que en mujeres (224 mg/día, rango 84-501) ( $p < 0,001$ ). Los valores de fitoesteroides dietéticos ajustados por sexo, edad y energía se correlacionaron directamente ( $p < 0,001$ ) con la ingesta de verduras ( $r = 0,298$ ), frutas ( $r = 0,446$ ), legumbres ( $r = 0,277$ ), cereales ( $r = 0,260$ ), fibra ( $r = 0,598$ ) y ácidos grasos poliinsaturados ( $r = 0,250$ ) e inversamente ( $p < 0,001$ ) con la ingesta de ácidos grasos saturados ( $r = -0,299$ ) y colesterol ( $r = -0,229$ ). Se observaron asociaciones similares de la ingesta de los subtipos de fitoesteroides estimados (datos no mostrados).

Se disponía de las variables circunferencia de cintura y cHDL en la cohorte total ( $n = 592$ ), mientras que la glucemia y trigliceridemia sólo estaban disponibles en las muestras de plasma obtenidas en ayunas ( $n = 361$ ). La prevalencia de estas variables (N y porcentaje) fue: obesidad visceral (349/592 = 59%), cHDL bajo (105/592 = 18%), glucosa alterada en ayunas o diabetes (36/361 = 10%) y aumento de triglicéridos (83/361 = 23%). Usando la definición conservadora del SM (sin el componente presión arterial elevada), su prevalencia fue de 38/361 = 11%. En la tabla 2 se muestran las OR brutas y ajustadas por diversos factores de confusión para los componentes

**Tabla 1. Distribución de factores de riesgo cardiovascular e ingesta de fitoesteroles en función de los terciles de sitosterol y latosterol ajustados por colesterol en la población de estudio**

Características	Cociente sitosterol/colesterol (μg/mg)			p <sup>b</sup>	Cociente latosterol/colesterol (μg/mg)			p <sup>b</sup>
	Tercil 1 ≤ 1,16	Tercil 2 1,17-1,63	Tercil 3 ≥ 1,64		Tercil 1 ≤ 1,29	Tercil 2 1,30-1,88	Tercil 3 ≥ 1,89	
Número	198	196	198		197	198	197	
Edad (años)	60,9 ± 7,1	60,6 ± 7,7	59,9 ± 7,7	0,368	60,8 ± 7,9	59,8 ± 7,6	60,8 ± 6,9	0,331
Varones, n (%)	149 (75,3)	160 (81,6)	151 (76,3)	0,263	144 (73,1)	156 (78,8)	160 (81,3)	0,139
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	30,1 ± 4,2	28,4 ± 3,1	27,5 ± 3,2	< 0,001	27,5 ± 3,3	28,6 ± 3,2	29,8 ± 4,1	< 0,001
Cintura (cm)	102,2 ± 10,1	97,7 ± 9,2	94,9 ± 9,7	< 0,001	94,4 ± 9,7	98,3 ± 9,2	102,2 ± 10,1	< 0,001
Hipertensión arterial, n (%)	47 (23,9)	54 (27,6)	43 (21,7)	0,394	45 (23,0)	50 (25,3)	49 (24,9)	0,851
Diabetes mellitus tipo 2, n (%)	17 (8,6)	10 (5,1)	14 (7,1)	0,386	13 (6,6)	6 (3,0)	22 (11,2)	0,006
Glucosa <sup>c</sup> (mg/dl)	92 ± 35	82 ± 17	82 ± 17	0,002	81 ± 17	86 ± 24	89 ± 31	0,023
Lípidos plasmáticos (mg/dl)								
cLDL	219 ± 35	216 ± 32	223 ± 36	0,087	223 ± 34	220 ± 34	215 ± 35	0,057
cHDL	141 ± 31	139 ± 28	145 ± 36	0,170	145 ± 32	143 ± 30	138 ± 33	0,077
Triglicéridos <sup>a,c</sup> (mg/dl)	50 ± 12	52 ± 12	57 ± 15	< 0,001	57 ± 15	52 ± 12	51 ± 12	< 0,001
Cociente colesterol/HDL	118 (84-187)	100 (74-129)	92 (72-122)	< 0,001	93 (61-116)	100 (79-144)	111 (85-157)	0,001
Genotipo Apo E <sup>d</sup> , n (%)	4,56 ± 1,23	4,32 ± 1,16	4,21 ± 1,41	0,019	4,19 ± 1,34	4,49 ± 1,22	4,42 ± 1,26	0,040
Apo E2	15 (8,7)	14 (8,2)	14 (7,7)		15 (8,9)	14 (7,8)	14 (7,9)	
Apo E3	130 (75,1)	122 (71,8)	141 (77,5)		119 (70,8)	144 (80,4)	130 (73,0)	
Apo E4	28 (16,2)	34 (20,0)	27 (14,8)	0,743	34 (20,2)	21 (11,7)	34 (19,1)	0,216
Ingesta de fitoesteroles <sup>a,c</sup> (mg/día)	287 (217-363)	328 (238-407)	317 (242-401)	0,023	283 (200-367)	336 (266-402)	324 (240-393)	0,069
Campesterol	28 (20-35)	34 (24-43)	31 (25-40)	0,003	29 (20-35)	33 (27-43)	32 (24-41)	0,054
Sitosterol	184 (132-225)	204 (149-252)	201 (154-255)	0,016	183 (127-231)	205 (163-253)	199 (149-242)	0,091
Sitosterol/colesterol <sup>a</sup> (μg/mg)	–	–	–	–	1,66 (1,26-2,30)	1,50 (1,18-1,86)	1,16 (0,93-1,59)	< 0,001
Latosterol/colesterol <sup>a</sup> (μg/mg)	1,90 (1,35-2,36)	1,53 [1,19-1,96]	1,34 (0,99-1,74)	< 0,001	–	–	–	–

Apo: apolipoproteína; cHDL: colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad; cLDL: colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; HDL: lipoproteínas de alta densidad; IMC: índice de masa corporal.

Los valores se expresan como media ± desviación estándar o cifras (porcentaje).

<sup>a</sup>Valores expresados como medianas (rango intercuartil).

<sup>b</sup>p calculada por t-test, test de la  $\chi^2$  o test de Mann-Whitney.

<sup>c</sup>Medido en 361 muestras en ayuno (279 varones y 82 mujeres).

<sup>d</sup>Determinado en 525 participantes (408 varones y 117 mujeres) y clasificado como Apo E2 (E2/2+E2/3), Apo E3 (E3/3) o Apo E4 (E3/4+E4/4), excluidos 10 individuos con el genotipo E2/4.

<sup>e</sup>El consumo de fitoesteroles totales comprende la suma de los principales fitoesteroles (campesterol, estigmasterol, sitosterol y esteroides no especificados).

evaluados del SM y el propio síndrome sin la presión arterial en los terciles de sitosterol y latosterol plasmático. En el modelo con ajuste multivariado completo, el tercil superior de sitosterol plasmático comparado con el tercil inferior se asociaba a una prevalencia menor de todos los componentes del SM y del propio síndrome ( $p < 0,05$ ; todas). El latosterol siguió un patrón inverso, y se asoció a una prevalencia mayor de todos los componentes y del síndrome per se ( $p < 0,05$ ; todas).

## Discusión

Los resultados de este estudio transversal en 592 participantes del estudio prospectivo EPIC de España indican que los componentes del SM, como la obesidad visceral, las concentraciones altas de glucosa y triglicéridos o bajas de cHDL, o la presencia del propio síndrome se asocian a un aumento de las concentraciones plasmáticas de latosterol (marcador de la síntesis de colesterol) y a una disminución de las de sitosterol (marcador de su absorción). El grupo de Miettinen<sup>10,14,30</sup> ha descrito anteriormente la influencia de la obesidad, la diabetes mellitus y el SM en la homeostasis del colesterol. En nuestro estudio, la ingesta de fitoesteroles con la dieta habitual se relacionó con un aumento de sus concentraciones plasmáticas, lo cual confirma y extiende los resultados de estudios previos<sup>11,18</sup>. La relación recíproca entre la síntesis de colesterol, determinada por el cociente latosterol/colesterol, y su absorción, medida por el cociente sitosterol/colesterol (tabla 1), concuerda con la regulación precisa de la homeostasis del esteroide<sup>12</sup>. La novedad de nuestro trabajo ha sido unir en una sola investigación el estudio de los fitoesteroles del plasma con los datos de consumo de fitoesteroles con la dieta habitual, adiposidad, glucemia y perfil lipídico en una cohorte poblacional relativamente grande y no contaminada por la ingesta de alimentos funcionales enriquecidos en fitoesteroles. Los resultados indican que los fitoesteroles plasmáticos son a la vez marcadores de una dieta saludable y de un riesgo cardiometabólico menor.

La media de la ingesta de fitoesteroles (301 mg/día) en la cohorte EPIC-España fue similar a las descritas en otra población española<sup>27</sup> y en el estudio EPIC-Norfolk<sup>19</sup>, pero mayor que la observada recientemente en población de Suecia<sup>19</sup>. Confirmando estudios previos<sup>19,20</sup>, el contenido dietético de fitoesteroles en nuestro estudio se correlacionó de forma positiva con el consumo de alimentos y nutrientes saludables, como frutas y semillas, proteína vegetal, fibra y ácidos grasos poliinsaturados, e inversamente con el de componentes poco salu-

dables de la dieta, como proteína animal, ácidos grasos saturados y colesterol. Es importante resaltar que el sitosterol plasmático aumentó con el incremento de la ingesta de fitoesteroles de la dieta. En ausencia de suplementación con productos enriquecidos con fitoesteroles, que no estaban comercializados en España en el momento de la selección del estudio EPIC en 1992-1996, este hecho confirma que las concentraciones de fitoesteroles plasmáticos son un marcador de la ingesta de fitoesteroles de la dieta<sup>11,18</sup>, que a su vez refleja una alimentación saludable.

Además de la dieta, hay otros factores que pueden influir las concentraciones plasmáticas de fitoesteroles<sup>9</sup>. Se determinó el genotipo de la apoE porque los fitoesteroles circulantes son marcadores de la absorción de colesterol y esta proteína representa un papel importante en el transporte lipídico, si bien los resultados de estudios previos han sido inconsistentes<sup>9</sup>. En todo caso, las variantes de la Apo E no se relacionaron con los fitoesteroles circulantes en nuestro estudio. No estudiamos la variabilidad de los genes *ABCG5/8*, un factor hereditario que influye las concentraciones de fitoesteroles<sup>31</sup>. Un factor adicional que determina las cifras de esteroides circulantes es la adiposidad excesiva y resistencia a la insulina asociada, que se acompañan de un aumento de la síntesis de colesterol (incremento del latosterol plasmático) y una reducción de su absorción intestinal (disminución de la sitosterolemia)<sup>14-17</sup>. En personas con obesidad y diabetes mellitus, estas alteraciones revierten con la pérdida de peso<sup>30</sup>. Además, hay evidencias de que en la regulación de la homeostasis del colesterol hay una sinergia por la cual los cambios en la síntesis resultan en una respuesta opuesta de la absorción<sup>12</sup>. En concordancia con estos conceptos y de acuerdo con estudios previos<sup>32</sup>, nuestros resultados muestran que el marcador plasmático de absorción de sitosterol se asocia directamente con el cHDL e inversamente con la adiposidad, glucosa, triglicéridos y el marcador de síntesis de latosterol, mientras que el latosterol plasmático muestra unas asociaciones opuestas. Estos resultados se confirman en el análisis de regresión logística, en el que se muestran unas OR ajustadas de menor prevalencia del SM y sus componentes para las concentraciones más altas de sitosterol plasmático, así como el efecto contrario del aumento del latosterol. El hecho de tener una concentración elevada de sitosterol, que refleja a la vez un consumo alto de fitoesteroles con la dieta y una tasa absorptiva elevada, disminuye entre un 58 y un 78% la probabilidad de ser portador de los componentes del SM o del pro-

**Tabla 2. Odds ratio (intervalo de confianza del 95%) de los componentes del síndrome metabólico y del propio síndrome en función de los terciles de sitosterol y latosterol plasmáticos ajustados por colesterol en la cohorte EPIC de España<sup>a</sup>**

Características	Cociente sitosterol/colesterol (µg/mg)			Cociente latosterol/colesterol (µg/mg)		
	Tercil 1 ≤ 1,16	Tercil 2 1,17-1,63	Tercil 3 ≥ 1,64	Tercil 1 ≤ 1,29	Tercil 2 1,30-1,88	Tercil 3 ≥ 1,89
Número	198	196	198	197	198	197
Obesidad visceral						
OR sin ajustar	1	0,44 (0,29-0,67)	0,26 (0,17-0,40)	1	1,55 (1,04-2,31)	2,63 (1,73-3,98)
OR ajustado-modelo <sup>b</sup>	1	0,44 (0,29-0,69)	0,26 (0,17-0,40)	1	1,76 (1,16-2,65)	2,91 (1,90-4,47)
OR ajustado-modelo <sup>c</sup>	1	0,46 (0,29-0,72)	0,24 (0,15-0,39)	1	1,96 (1,27-3,02)	3,00 (1,93-4,67)
cHDL (mg/dl)						
OR sin ajustar	1	0,53 (0,32-0,88)	0,48 (0,29-0,81)	1	1,58 (0,91-2,74)	1,92 (1,12-3,29)
OR ajustado-modelo <sup>b</sup>	1	0,55 (0,33-0,91)	0,47 (0,28-0,79)	1	1,58 (0,90-2,76)	2,02 (1,17-3,49)
OR ajustado-modelo <sup>c</sup>	1	0,50 (0,29-0,85)	0,42 (0,24-0,72)	1	1,60 (0,90-2,84)	1,99 (1,14-3,48)
	Tercil 1 ≤ 1,19	Tercil 2 1,20-1,68	Tercil 3 ≥ 1,69	Tercil 1 ≤ 1,37	Tercil 2 1,38-1,96	Tercil 3 ≥ 1,97
Número	120	121	120	121	120	120
Glucosa (mg/dl)						
OR sin ajustar	1	0,46 (0,20-1,06)	0,46 (0,20-1,07)	1	1,98 (0,76-5,15)	2,51 (0,99-6,33)
OR ajustado-modelo <sup>b</sup>	1	0,45 (0,19-1,07)	0,41 (0,17-0,99)	1	2,14 (0,80-5,72)	2,77 (1,06-7,24)
OR ajustado-modelo <sup>c</sup>	1	0,41 (0,16-1,06)	0,35 (0,14-0,91)	1	2,04 (0,73-5,69)	2,84 (1,04-7,80)
Triglicéridos (mg/dl)						
OR sin ajustar	1	0,43 (0,24-0,76)	0,25 (0,13-0,48)	1	1,99 (1,04-3,80)	2,26 (1,19-4,29)
OR ajustado-modelo <sup>b</sup>	1	0,40 (0,21-0,74)	0,17 (0,08-0,34)	1	2,03 (1,03-3,99)	2,75 (1,40-5,38)
OR ajustado-modelo <sup>c</sup>	1	0,38 (0,20-0,73)	0,15 (0,07-0,33)	1	1,99 (0,99-3,98)	2,62 (1,31-5,24)
Síndrome metabólico						
OR sin ajustar	1	0,26 (0,11-0,63)	0,30 (0,13-0,70)	1	2,15 (0,84-5,53)	2,69 (1,07-6,74)
OR ajustado-modelo <sup>b</sup>	1	0,26 (0,11-0,64)	0,27 (0,11-0,64)	1	2,26 (0,87-5,89)	3,00 (1,17-7,66)
OR ajustado-modelo <sup>c</sup>	1	0,25 (0,10-0,65)	0,23 (0,09-0,60)	1	2,29 (0,86-6,10)	2,87 (1,09-7,60)

cHDL: colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad.

<sup>a</sup>Datos de obesidad visceral y cHDL referidos a toda la población de estudio (n = 592) y datos de triglicéridos, glucemia alterada/diabetes y síndrome metabólico (sin el componente presión arterial elevada) referidos a los participantes en ayunas (n = 361).

<sup>b</sup>Ajustado por sexo, edad, tabaquismo y cifras de colesterol total.

<sup>c</sup>Ajustado además por ingesta de energía, proteínas, fibra, ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, alcohol y colesterol y fitoesteroles de la dieta.

<sup>a</sup>Datos de obesidad visceral y cHDL referidos a toda la población de estudio (n = 592) y datos de triglicéridos, glucemia alterada/diabetes y síndrome metabólico (sin el componente presión arterial elevada) referidos a los participantes en ayunas (n = 361).

<sup>b</sup>Ajustado por sexo, edad, tabaquismo y cifras de colesterol total.

<sup>c</sup>Ajustado además por ingesta de energía, proteínas, fibra, ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, alcohol y colesterol y fitoesteroles de la dieta.



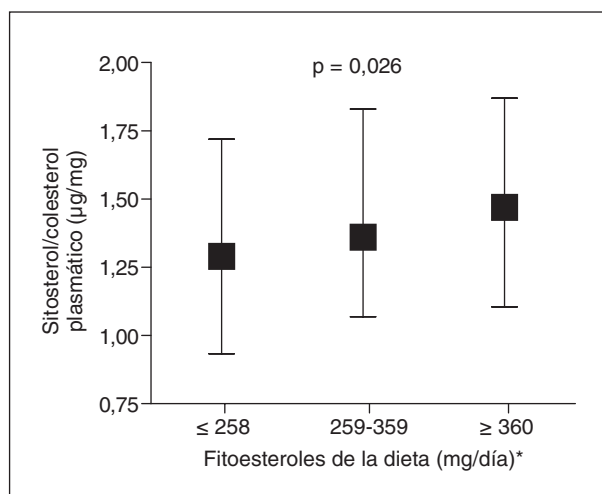


Figura 1. Concentración de sitosterol plasmático ajustada por colesterol (mediana y rango intercuartil) según los terciles de ingesta de fitoesteroles. \*El consumo de fitoesteroles totales comprende la suma de los principales fitoesteroles (campesterol, estigmasterol, sitosterol y esteroides no especificados).

pio síndrome, tal como se define en este estudio. En cambio, tener una síntesis elevada de colesterol, que se relaciona con una hipoabsorción intestinal de colesterol, obesidad visceral y resistencia a la insulina, la aumenta entre 2 y 3 veces.

Un factor adicional que influye la fitoesterolemia es el tratamiento con estatinas, debido a la disminución del colesterol circulante (el denominador del cociente) y al aumento compensatorio de la absorción intestinal de colesterol y sus marcadores (el numerador)<sup>9,30</sup>. Esto no incide en los resultados del presente estudio, dado que el uso de estatinas era infrecuente en el momento de la selección de la cohorte (1992-1996).

Nuestro estudio tiene limitaciones. La población estudiada fueron los controles apareados de casos infarto de miocardio de un estudio de casos y controles anidado dentro de la cohorte EPIC. Por esta razón, la proporción de varones es superior a la de mujeres y los resultados deben interpretarse en este contexto, si bien todas las OR se ajustaron por sexo. La presión arterial, uno de los factores del SM, no era una de las variables recogidas en el estudio EPIC. Por esto, nuestra definición de SM es parcial. Otra limitación del estudio es que una parte de las muestras de plasma se habían obtenido de sangre no recogida en ayunas, lo cual podría asociarse a pequeñas variaciones en las concentraciones de esteroides en comparación con las determinaciones en muestras obtenidas después de ayuno nocturno. Por este mismo motivo, la población en la que se pudieron evaluar los

componentes del SM glucemia y trigliceridemia (en ayunas) era sólo una parte de la cohorte total. A pesar de esto, las asociaciones entre esteroides no-colesterol del plasma y todos los componentes del síndrome fueron significativas, apuntando a su potencia como marcadores de riesgo cardiometabólico.

En conclusión, nuestros resultados indican que las concentraciones moderadamente elevadas de fitoesteroides son marcadores de una dieta saludable, a la vez que reflejan una absorción intestinal elevada y una síntesis baja de colesterol, que se relacionan inversamente con la obesidad y el SM.

## Bibliografía

- Moreau RA, Whitaker BD, Hicks KB. Phytosterols, phytostanols, and their conjugates in foods: structural diversity, quantitative analysis, and health-promoting uses. *Prog Lipid Res.* 2002;41:457-500.
- Nissinen M, Gylling H, Vuoristo M, Miettinen TA. Micellar distribution of cholesterol and phytosterols after duodenal plant sterol ester infusion. *Am J Physiol.* 2002;282:G1009-G1015.
- Katan MB, Grundy SM, Jones P, Law M, Miettinen T, Paoletti R. Efficacy and safety of plant stanols and sterols in the management of blood cholesterol levels. *Mayo Clin Proc.* 2003;78:965-78.
- Calpe-Berdiel L, Escolá-Gil JC, Blanco-Vaca F. New insights into the molecular actions of plant sterols and stanols in cholesterol metabolism. *Atherosclerosis.* 2009;203:18-31.
- Ostlund RE Jr. Phytosterols in human nutrition. *Annu Rev Nutr.* 2002;22:533-49.
- Von Bergmann K, Sudhop T, Lütjohann D. Cholesterol and plant sterol absorption: recent insights. *Am J Cardiol.* 2005;96 Suppl: 10D-14D.
- Berge KE, Tian H, Graf GA, Yu L, Grishin NV, Schultz J, et al. Accumulation of dietary cholesterol in sitosterolemia caused by mutations in adjacent ABC transporters. *Science.* 2000;290:1771-5.
- Patel MD, Thompson PD. Phytosterols and vascular disease. *Atherosclerosis.* 2006;186:12-9.
- Chan YM, Varady KA, Lin Y, Trautwein E, Mensink RP, Plat J, et al. Plasma concentrations of plant sterols: physiology and relationship with coronary heart disease. *Nutr Rev.* 2006;64:385-402.
- Gylling H, Miettinen TA. Cholesterol absorption: influence of body weight and the role of plant sterols. *Curr Atheroscler Rep.* 2005;7: 466-71.
- Miettinen TA, Tilvis RS, Kesäniemi YA. Serum plant sterols and cholesterol precursors reflect cholesterol absorption and synthesis in volunteers of a randomly selected male population. *Am J Epidemiol.* 1990;131:20-31.
- Santosa S, Varady KA, AbuMweis S, Jones PJ. Physiological and therapeutic factors affecting cholesterol metabolism: does a reciprocal relationship between cholesterol absorption and synthesis really exist? *Life Sci.* 2007;80:505-14.
- Angelini B, Backman L, Einarsson K, Eriksson L, Ewerth S. Hepatic cholesterol metabolism in obesity: Activity of microsomal 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase. *J Lipid Res.* 1981;23:770-3.
- Miettinen TA, Gylling H. Cholesterol absorption efficiency and sterol metabolism in obesity. *Atherosclerosis.* 2000;153:241-8.
- Simonen P, Gylling H, Howard AN, Miettinen TA. Introducing a new component of the metabolic syndrome: low cholesterol absorption. *Am J Clin Nutr.* 2000;72:82-8.
- Simonen PP, Gylling HK, Miettinen TA. Diabetes contributes to cholesterol metabolism regardless of obesity. *Diabetes Care.* 2002;25:1511-5.
- Pihlajamäki J, Gylling H, Miettinen TA, Laakso M. Insulin resistance is associated with increased cholesterol synthesis and decreased cholesterol absorption in normoglycemic men. *J Lipid Res.* 2004;45:507-12.



18. Sarkkinen ES, Uusitupa MI, Gylling H, Miettinen TA. Fat-modified diets influence serum concentrations of cholesterol precursors and plant sterols in hypercholesterolemic subjects. *Metabolism*. 1998;47:744-50.
19. Andersson SW, Skinner J, Ellegard L, Welch AA, Bingham S, Mulligan A, et al. Intake of dietary plant sterols is inversely related to serum cholesterol concentration in men and women in the EPIC Norfolk population: a cross-sectional study. *Eur J Clin Nutr*. 2004;58:1378-85.
20. Klingberg S, Ellegård L, Johansson I, Hallmans G, Weinehall L, Andersson H, et al. Inverse relation between dietary intake of naturally occurring plant sterols and serum cholesterol in northern Sweden. *Am J Clin Nutr*. 2008;87:993-1001.
21. González CA, Navarro C, Martínez C, Quiros JR, Dorronsoro M, Barricarte A, et al. Grupo EPIC de España. El estudio prospectivo europeo sobre dieta, cáncer y salud (EPIC) en España. *Med Clin (Barc)*. 1994;102:781-5.
22. Bingham S, Riboli E. Diet and cancer: The European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Nat Rev Cancer*. 2004;4:206-15.
23. The Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP). Expert Panel on Detection, Evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*. 2001;16:2486-97.
24. Relative validity and reproducibility of a diet history questionnaire in Spain. I. Foods. EPIC Group of Spain. *Int J Epidemiol*. 1997;26 (Suppl 1):S91-S99.
25. Relative validity and reproducibility of a diet history questionnaire in Spain. II. Nutrients. EPIC Group of Spain. *Int J Epidemiol*. 1997;26(Suppl 1):S100-S109.
26. Slimani N, Torrent M, Farriols N, Moreno I, Hémon B, González CA, et al. European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC): Food Composition Tables Spain. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 1991.
27. Jiménez-Escrig A, Santos-Hidalgo AB, Saura-Calixto F. Common sources and estimated intake of plant sterols in the Spanish diet. *J Agric Food Chem*. 2006;54:3462-71.
28. Hixson JE, Vernier DT. Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI. *J Lipid Res*. 1990;31:345-8.
29. Heinemann T, Axtmann G, Von Bergmann K. Comparison of intestinal absorption of cholesterol with different plant sterols in man. *Eur J Clin Invest*. 1993;23:827-31.
30. Simonen P, Gylling H, Miettinen TA. Acute effects of weight reduction on cholesterol metabolism in obese type 2 diabetes. *Clin Chim Acta*. 2002;316:55-61.
31. Berge KE, Von Bergmann K, Lutjohann D, Guerra R, Grundy SM, Hobbs HH, et al. Heritability of plasma noncholesterol sterols and relationship to DNA sequence polymorphism in ABCG5 and ABCG8. *J Lipid Res*. 2002;43:486-94.
32. Assmann G, Cullen P, Kannenberg F, Schulte H. Relationship between phytosterol levels and components of the metabolic syndrome in the PROCAM study. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2007;14:208-14.