

*Cholesterolclaims zuivelproducten: onderzoek en reacties*

# Serumcholesterol met zuivel omlaag?

De introductie van twee zuivelproducten met een cholesterolclaim, Danone Actimel Cholesterol Control en Mona Fysiq, heeft nogal wat stof doen opwaaien. De gevoerde claims zijn inzet geworden van een dispuut waarin zich na de Bond van Nederlandse Margarinefabrikanten, Unilever en de Consumentenbond, nu ook de Hoofdinspectie Gezondheidsbescherming heeft gemoeid. In een onderzoek zullen de formuleringen van de claims worden getoetst aan de Warenwet en wellicht komt er een klacht bij de Reclame Code Commissie. Maar ook de wetenschappelijke onderbouwing heeft vragen opgeroepen. Hieronder vindt u meer details over dit, deels nog niet gepubliceerd onderzoek, en een aantal reacties.

## Yoghurts in de storm

Het op de markt verschijnen van Mona Fysiq en Actimel Cholesterol Control laat zien dat er iets aan het veranderen is in de zuivelindustrie. Enkele jaren geleden waren de zuivelschappen van de supermarkt nog gevuld met een beperkt assortiment van traditionele producten. Maar de consument wil meer dan boter en kaas. Het voedingsonderzoek levert continu suggesties voor gezondere producten, en een niet oninteressant deel van de markt is bereid daarvoor geld neer te tellen. Campina Melkunie en Danone zijn daar nu op ingesprongen. Dat is op zich een verheugende trend, want we willen graag allemaal gezond 85 jaar oud worden. Ieder beetje helpt, en als het werkt mag het best wat kosten.

In die werkzaamheid nu zit het probleem. Firma's als Nutricia, Nestlé en Unilever, en natuurlijk ook de farmaceutische industrie, weten al lang dat het ontdekken en ontwikkelen van gezondheidsbevorderende producten een zaak is van lange adem. Het research- en ontwikkelingstraject start met een groot aantal producten, maar slechts enkele halen de eindstreep. Het lijkt erop dat de producenten van de nieuwe 'cholesterolverlagende' yoghurts mede onder druk van de moordende concurrentie geprobeerd hebben een hoekje af te snijden, en dat ze hun producten op de markt hebben gezet voordat voldoende bewijs voor de werkzaamheid geleverd was.

Het product van Danone, met de flagrante naam Actimel Cholesterol Control, heeft nog de beste papieren. Er is nog geen pu-

blicatie in een internationaal wetenschappelijk tijdschrift, maar wel een wervende beschrijving in Voeding (1) van een solide studie die een cholesterolverlaging van 5% laat zien. De TNO-onderzoekers vermelden geen 95% betrouwbaarheidsinterval, maar uit tabel 3 (zie Voeding 1996;1-2:13) laat zich berekenen dat dat voor LDL-cholesterol loopt van 2 tot 9% verlaging. Het gaat dus om een klein effect met een grote foutenmarge. Bovendien geldt in de wetenschap -net als in rechtszaken- dat één getuige geen getuige is, of het nu gaat om het bewerkstelligen van koude kernfusie of om cholesterolverlagende yoghurt. Wij achten een claim dan ook pas gerechtvaardigd als meerdere onafhankelijke onderzoekers van naam de opmerkelijke bevinding hebben bevestigd dat het eten van bacteriën het cholesterol verlaagt.

Voor Mona ligt de zaak nog problematischer. Van het onderzoek van de Amerikaanse professor Anderson dat de cholesterolverlagende werking moest aantonen, is slechts een korte samenvatting beschikbaar. Anderson heeft een kruislingse studie van twee maal vier weken uitgevoerd. Hierbij zou in de eerste vier weken een cholesterolverlagend effect van een yoghurt met *Lactobacillus acidophilus* zijn waargenomen, maar in het tweede deel niet. De uitkomsten zijn dus niet eenduidig, en zolang er niet méér gepubliceerd is, blijft het de vraag wat dit onderzoek bewijst.

De zuivelindustrie heeft een interessante weg ingeslagen, die kan leiden tot gezonde nieuwe producten waar bovendien iets aan te verdienen valt. Dat vereist echter een lange-termijnbenadering, en daar heeft het bij het op de markt brengen van de nieuwe toetjes aan ontbroken.

*M.B. Katan, M.S. Alles, M.-L.A. Heijnen, P.L. Zock\**

*\* Landbouwwuniversiteit Wageningen, Vakgroep Humane Voeding, Postbus 8129, 6700 EV Wageningen*

## Literatuur

1. Schaafsma G, Meuling WJA, van Dokkum W. Zuivel kan serum cholesterol verlagen. Voeding 1996;1-2:12-14.



Bij het Campina Melkunie-gebouw in Zaltbommel timmerde Mona aan de weg met Fysiq.

**DE CROSS-OVER STUDIE VOOR MONA**

De studie is uitgevoerd door J.W. Anderson aan de universiteit van Kentucky (VS). De resultaten zijn nog slechts in de vorm van een abstract beschikbaar. De volgende informatie is hieraan ontleend.

**Opzet**

- Dubbelblind placebo-gecontroleerde cross-over studie, behandelingsperiodes 4 weken, washout-periode 2 weken.
- 40 gezonde proefpersonen, mannen en vrouwen, met serumcholesterolwaarden boven 5,18 mmol/l (200 mg/dl).
- Testyoghurt met *Lactobacillus acidophilus* L1 (inmiddels door Mona aangeduid als *L. acidophilus* Gilliland), controle-yoghurt zonder *L. acidophilus*; consumptie 200 g per dag bij de avondmaaltijd.
- Cholesterolmetingen: 3 metingen voor de start van het experiment, tijdens het experiment een meting na 2, 3 en 4 weken.

**Resultaten**

- Behandelingsperiode 1:

	totaal cholesterol (mmol/l)	LDL-cholesterol (mmol/l)
groep met testyoghurt voor de start	6,55	4,40
na 4 weken	6,32	4,22
P-waarde	0,003	0,03
verschil tussen groep met testyoghurt en groep met controle- yoghurt, P-waarde	0,004	0,02

- Behandelingsperiode 2:

Geen significante veranderingen in de cholesterolwaarden.

- Overige vermelde resultaten:

Veranderingen in cholesterolwaarden met testyoghurt significant verschillend van veranderingen met controle-yoghurt (ANOVA,  $P=0,023$ ).

Geen significante veranderingen in HDL-cholesterolwaarden, triglyceridewaarden en lichaamsgewicht.

- Het ontbreken van een cholesterolverlagend effect in behandelingsperiode 2 wordt toegeschreven aan lage kiemgetallen van *L. acidophilus* tijdens deze periode, aan verminderde dieetrouw of aan 'andere factoren'.

**Voorlichtingsbureau voor de Voeding**

'Het onderzoek naar het cholesterolverlagende effect van de nieuwe zuivelproducten is nog zeer beperkt. Gebruik van dergelijke zuivelproducten kan misschien een klein beetje helpen. De onderzoeken die gedaan zijn met deze zuivelproducten tonen onvoldoende aan hoe werkzaam ze zijn. Wanneer het gaat om de invloed van voeding op het cholesterolgehalte in het bloed, dan is verlagening van de hoeveelheid (verzadigd) vet de belangrijkste factor.'

**Nederlandse Hartstichting**

'Het is positief dat fabrikanten meer aandacht besteden aan het ontwikkelen van minder vette producten. Het tot nu toe verrichte onderzoek naar de cholesterolverlagende werking van de yoghurts is nog erg summier. De onderzoeken waren beperkt van omvang (30 en 40 personen) en ook de geteste periode was kort. De tot nu toe bekende resultaten wijzen in de richting van een cholesterolverlagende werking, maar meer onderzoek is nodig. Ook blijkt uit de resultaten van het TNO-onderzoek dat het consumeren van een voeding die voldoet aan de Richtlijnen goede voeding een grotere verlagening van het serumcholesterolgehalte geeft dan het consumeren van de cholesterolverlagende yoghurt. Hieruit blijkt weer dat beperking van de hoeveelheid (verzadigd) vet de belangrijkste factor is ter verlagening van het cholesterolgehalte.'

**TNO-onderzoek Danone Actimel Cholesterol Control****Wetenschappelijke argumenten onvoldoende**

In de Eetbrief van 16 februari jl. reageert J.P. Deslypere (Vakgroep Inwendige ziekten, Universitair Ziekenhuis Gent) op een wetenschappelijke brochure van Danone, die is gebaseerd op het TNO-onderzoek. Hieronder drie citaten uit dit commentaar: 'De gemiddelde cholesterolwaarde vóór het onderzoek bedroeg 203,9 mg/dl. Na drie weken lang driemaal per dag 125 g yoghurt te hebben gegeten, bedroeg het gemiddelde cholesterol 201,6 mg/dl, wat bezwaarlijk als een zeer goed resultaat kan

bestempeld worden. Het feit dat het cholesterolgehalte in de controlegroep evolueerde naar 210,9 mg/dl verandert niets aan deze vaststelling'.

'Verder is de studie met Actimel Cholesterol Control enkel verricht bij mannen. Het extrapoleren van resultaten naar de vrouwelijke bevolkingsgroep is wetenschappelijk niet correct'. 'De wetenschappelijke argumenten om dit product aan te prijzen als een cholesterolverlagend middel zijn zeer mager'.

**Reactie Schaafsma:**

Het is professor Deslypere schijnbaar ontgaan dat de betreffende TNO-studie een zogenaamde cross-over opzet had, zodat niet

15 maar 30 mannelijke proefpersonen gedurende 3 weken zowel Actimel Cholesterol Control als een controle-yoghurt hebben geconsumeerd, beide producten in een dosering van 3 x 125 ml per dag. In een studie met een dergelijke (dubbelblind uitgevoerde) cross-over opzet dient men de uitkomst na consumptie van het testproduct te vergelijken met die na consumptie van het referentieproduct.

Voor andere vergelijkingen is het onderzoek niet opgezet. Voor bestudering van effecten in de tijd zou namelijk een parallelstudie zijn geïndiceerd. In het onderzoek waren de gemiddelde cholesterolgehaltenes vóór het begin van het onderzoek weliswaar lager dan na 3 weken behandeling met de controle-yoghurt, maar hieraan mag niet

de conclusie worden verbonden dat de controle-yoghurt een cholesterolverhogende werking had. Immers het cholesterolgehalte kan in de tijd veranderen onder invloed van allerlei factoren die in het onderzoek niet als variabele zijn gecontroleerd.

Het is bovendien zeer onwaarschijnlijk dat traditionele yoghurt met een vetgehalte van slechts 1% het cholesterolgehalte zou verhogen. De interpretatie van de resultaten van het TNO-onderzoek door prof. Deslypere is, gelet op de cross-over opzet, niet juist en doet derhalve geen recht aan de uitkomsten van het onderzoek.

Hij heeft overigens wel gelijk wanneer hij stelt dat de resultaten van het TNO-onderzoek niet zonder meer mogen worden geëxtrapoleerd naar de vrouwelijke bevolkingsgroep, omdat het onderzoek met uitsluitend mannen is uitgevoerd. Ook kan worden opgemerkt dat aanvullend onderzoek noodzakelijk is om meer inzicht te verkrijgen in de dosis-effect-relatie en de invloed van de duur van consumptie op het waargenomen gunstige effect.

## Toetsing voldoet niet

In de onlangs door TNO Voeding gerapporteerde cross-over studie naar een cholesterolverlagende werking van Actimel Cholesterol Control wordt geconcludeerd dat er met het testproduct ten opzichte van een controleproduct sprake is van een significante verlaging van serumcholesterolwaarden. Deze conclusie wordt gebaseerd op toetsing van een overall effect met een niet nader gespecificeerde variantieanalyse. Onder de gegeven omstandigheden is zo'n toetsing echter niet bevredigend, omdat geen rekening gehouden wordt met de volgorde waarin de proefpersonen onder invloed staan van de experimentele situatie. Om te bepalen van welke aard het waargenomen effect is, dienen behandelingseffect, periode-effect en 'treatment x period' interacties te worden opgespoord (1). Op basis van de gepubliceerde observatiegegevens zijn deze helaas niet te achterhalen. Groepswisselingen kunnen bij cross-over studies een belangrijker rol spelen dan men geneigd is aan te nemen (2). Dit is reden te meer om een effect, gemeten tussen uitgesplitste groepen, nader te onderzoeken. Het zou dus de moeite lonen om de TNO-observaties alsnog aan een nadere analyse te onderwerpen en het gesignaleerde effect nader te preciseren.

In het algemeen geldt dat de situatie in periode 1 van een cross-over studie de best mogelijke valide test verschaft. De situatie in periode 2 blijft altijd enigszins twijfelachtig, omdat de proefpersonen - ook al

zijn ze oorspronkelijk al random ondergebracht en ook al is er sprake van een ruime washout periode - een andere ervaring hebben ondergaan voordat ze aan periode 2 beginnen. Dit kan leiden tot onjuiste conclusies over het effect van een behandeling. Slechts indien bij herhaling van het experiment steeds eenzelfde resultaat naar voren komt, mag men (voorzichtig) spreken van een blijvend statistisch 'treatment' effect.

W.A.W. Moll\*

\* Voeding en Diëtetiek, Hogeschool van Amsterdam

## Literatuur

1. Armitage P, Hills M. The two-period cross-over trial. *Statistician* 1982;31:119-131.
2. Armitage P, Berry G. *Statistical methods in medical research*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1990.

## Reactie Schaafsma:

In zijn commentaar op de door TNO uitgevoerde cross-over trial naar de werking van Actimel Cholesterol Control spreekt W.A.W. Moll enige twijfel uit over de validiteit van de in voedingsonderzoek populaire en frequent gebruikte cross-over opzet. De cross-over is een krachtige proefopzet, waarin voor ongecontroleerde variabelen wordt gebalanceerd, omdat beide behandelingen (test en controle) in dezelfde perioden worden verstrekt en alle proefpersonen beide behandelingen krijgen, zodat verschillen tussen gemiddelden getoetst kunnen worden ten opzichte van de binnenpersoonsvariantie (1,2).

Inderdaad kunnen daarbij, afhankelijk van de aard van de behandelingen en de duur van de 'wash out', volgorde-effecten ('carry over' effecten) optreden en het is zaak met zulke effecten rekening te houden. Dat kan door invoering van een 'periode x treatment' interactieterm in de variantieanalyse, hetgeen zal leiden tot een scherpere test als gevolg van reductie van de residuele variantie. Vooral wanneer na uitvoering van een standaardvariantieanalyse geen significant effect wordt gevonden, is het raadzaam de variantieanalyse te herhalen met invoering van de interactieterm, om te voorkomen dat de H-nul hypothese (er is geen behandelingseffect) ten onrechte wordt aangehouden.

Het is bij een cross-over studie juist te volstaan met metingen aan het einde van de proefperioden. Daardoor wordt het mogelijk om de gemiddelden van de te onderzoeken parameters na verstrekking van beide behandelingen aan alle in het onderzoek betrokken proefpersonen met elkaar te vergelijken. In het betreffende TNO-on-

derzoek werden de dynamische parameters evenwel ook bepaald bij het begin van het onderzoek. Deze gegevens zijn dus feitelijk niet nodig voor de statistische evaluatie van de resultaten. De variantieanalyse werd niettemin op twee manieren uitgevoerd, namelijk als covariantieanalyse (met de initiële cholesterolgehalten als covariabele) en als standaard variantieanalyse. Beide analyses leidden tot dezelfde uitkomsten, namelijk een significante verlaging van totaal cholesterol, LDL-cholesterol en van de LDL/HDL-ratio.

Uiteraard hebben wij de resultaten van de twee groepen proefpersonen ook afzonderlijk onder de loep genomen (3). Het is dan opvallend dat in de eerste periode van 3 weken bij 15 proefpersonen een behandelingseffect ten gunste van het testproduct optreedt van 0,29 mmol/l LDL-cholesterol in vergelijking met de 15 overige personen die controle-yoghurt kregen. Dit behandelingseffect verdwijnt niet nadat ook de tweede periode van het onderzoek (met verwisseling van test- en controleproduct tussen de twee groepen) is uitgevoerd en alle 30 proefpersonen beide producten 3 weken lang hebben geconsumeerd. Een eventueel optredend 'carry over' behandelingseffect (aanhoudende cholesterolverlagende werking nadat de consumptie van het testproduct is gestopt) zal in de tweede periode van het onderzoek eerder de aan het einde van het onderzoek bij 30 proefpersonen waargenomen cholesterolverlagende werking hebben afgezwakt dan versterkt.

Wij zijn derhalve van mening dat de resultaten van het experiment reëel zijn en er geen sprake is van 'bias'. De effecten traden bovendien min of meer specifiek op in de LDL-cholesterolfractie, terwijl andere dynamische parameters (serumtriglyceriden en bloedglucose) niet werden beïnvloed.

Uiteraard gaat het hier om een experiment en zouden wij het gunstige resultaat nog gaarne verder bevestigd zien in aanvullend onderzoek, bij voorkeur nu met een parallel opzet. Bovendien blijven vragen bestaan, zoals over de dosis-effect-relatie en het effect op langere termijn. Wij verwachten daarop spoedig een antwoord te hebben.

## Literatuur

1. Eleiss JL. *The design and analysis of clinical experiments*. Wiley series in probability and mathematical statistics. John Wiley & Sons, New York, 1988, pp 263-305.
2. Cox DR. *Planning of experiments*. John Wiley & Sons, New York, 1959, pp 270-278.
3. Meuling WJA, van Dokkum W, Schaafsma G. The effect of a new fermented milk product on serum cholesterol in male volunteers homozygous and non-homozygous for apolipoprotein E3. TNO-report number V95.356 (1995).