

اثر مصرف نان غنی شده با آرد سویا بر شاخص های تن سنجی و فشارخون و ارتباط آن با ژنوتیپ های ApoE در زنان مبتلا به اضافه وزن و چاقی

الهام شریفی ذهابی¹؛ محمد حسن انتظاری^{1*}؛ محمد رضا مراثی²؛ مجید یاران³

چکیده

زمینه: برخی مطالعات نشان می دهد که مصرف محصولات برپایه سویا ممکن است اثرات مطلوبی بر شاخص های تن سنجی و فشارخون داشته باشد. احتمال دارد این اثرات با حضور پلی مرفیسم خاص در ژن ApoE مرتبط باشد. هدف مطالعه حاضر بررسی اثر مصرف نان غنی شده با آرد سویا بر شاخص های تن سنجی و فشارخون و ارتباط آن با ژنوتیپ های ApoE در زنان مبتلا به اضافه وزن و چاقی است.

روش ها: در این کارآزمایی بالینی متقاطع، 30 زن مبتلا به اضافه وزن و چاقی پس از دریافت یک رژیم کاهش وزن خفیف به طور تصادفی به دو گروه رژیم معمولی و نان سویا تقسیم شدند. هر دو گروه به مدت 6 هفته رژیم مورد نظر را دریافت کردند. بین دو دوره 20 روز wash-out (پاکسازی) قرار داشت. از افراد در گروه نان سویا خواسته شد که هر روز مقدار 120 گرم از نان غنی شده با آرد سویا را به جای همین مقدار نان معمول مصرفی نمایند.

یافته ها: مصرف نان سویا اثر معناداری بر شاخص های آنروپومتریک و فشارخون سیستمولیک در مقایسه با رژیم معمولی نداشت ($P>0/05$). مقایسه میانگین اختلافات متغیرها بین دو گروه، برای فشارخون دیاستول یک کاهش در آستانه معنادار بعد از مصرف نان سویا نشان داد ($P=0/06$). به علاوه نان سویا در مقایسه با رژیم معمولی موجب کاهش معنادار فشارخون دیاستول در گروه دارای آلل ApoE2 شد ($P=0/028$).

نتیجه گیری: مصرف نان سویا ممکن است اثرات مطلوبی بر فشارخون در زنان چاق و دچار اضافه وزن با آلل E2 داشته باشد.

کلیدواژه ها: لوبیای سویا، چاقی، تن سنجی، فشارخون، آپولیپوپروتئین E

پذیرش: 1393/11/21

دریافت: 1393/9/8

1. مرکز تحقیقات امنیت غذایی، گروه تغذیه بالینی، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

2. گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

3. مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

*عهده دار مکاتبات: اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، گروه تغذیه بالینی، تلفن: 03137922775

Email: entezari@hlth.mui.ac.ir

مقدمه

پروتئین گیاهی را نشان داده اند (5 و 6). یک رژیم غذایی گیاهی سرشار از آنتی اکسیدان و فیتوکمیکال ها نیز اثرات مفیدی در کنترل چاقی دارد (7-9). در سال های اخیر نگاه ها به سمت محصولات بر پایه سویا به عنوان منبعی غنی از آنتی اکسیدان و فیتونوترینت ها متمرکز شده است. چندین مطالعه انسانی و حیوانی، اثرات ضدچاقی سویا را نشان داده اند (10-12). این اثرات به ایزوفلاون های سویا از جمله جنستئین، دیادزین، و گلیستین نسبت داده شده

شیوع چاقی و اضافه وزن به دلیل تغییرات سبک زندگی و کاهش سطح فعالیت فیزیکی در سراسر جهان در حال افزایش است. چاقی با رنج وسیعی از بیماری های مزمن از جمله بیماری های قلبی عروقی، فشارخون بالا و دیابت همراه است (1-3). دریافت های غذایی فرد، نقش مهمی در کنترل چاقی و اختلالات مرتبط با آن دارد (4). تحقیقات اخیر نقش مفید رژیم غذایی سرشار از فیبر و

مطالعات قبلی نشان داده‌اند که آل‌های مختلف آپو E اثرات متفاوتی بر میزان پاسخ‌های مرتبط با چاقی به رژیم‌های درمانی دارند (23). بنابراین بررسی سهم ژنتیک و اثر تفاوت ژنتیکی افراد بر میزان پاسخ آن‌ها به مداخلات تغذیه‌ای از اهمیت به‌سزایی برخوردار است. از آن‌جا که مصرف منظم سویا به‌خصوص به شکل سویای کامل اثرات مفیدی بر عوامل خطر بیماری‌های قلبی عروقی دارد، غنی‌سازی غلات (برای مثال نان) با سویا اقدامی مناسب در جهت افزایش مصرف روزانه سویا است. این کار همچنین روشی مقرون به صرفه برای بهبود کیفیت پروتئین این محصولات است (لیزین آمینو اسید محدودکننده در پروتئین غلات است) (24). از این‌رو هدف مطالعه حاضر بررسی اثر مصرف نان غنی‌شده با آرد لوبیای سویا بر شاخص‌های آنتروپومتریک و فشارخون و ارتباط آن با ژنوتیپ‌های ApoE در زنان مبتلا به اضافه‌وزن و چاقی است.

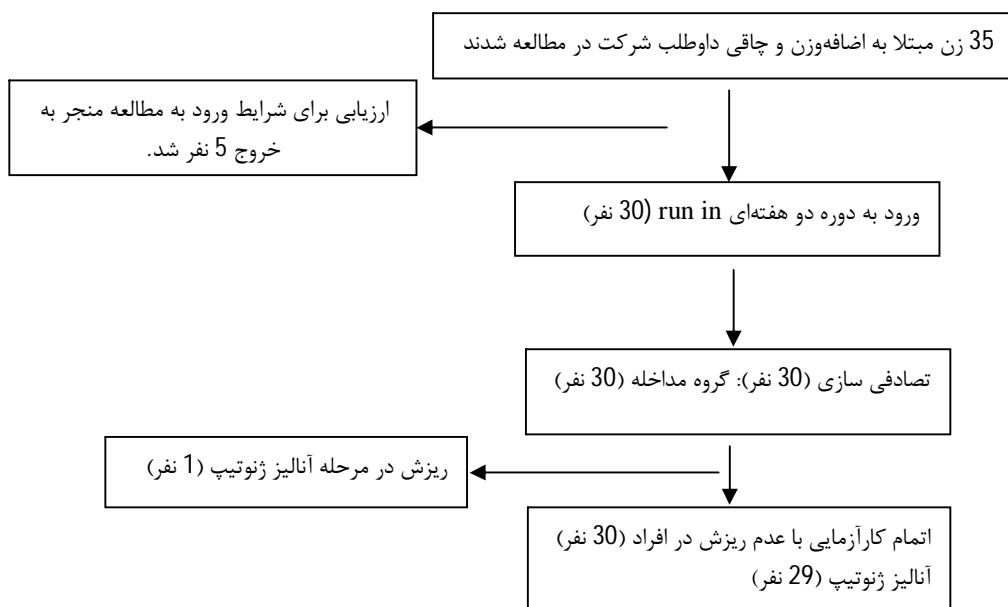
مواد و روش‌ها

این کارآزمایی بالینی در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام شد. زنان مبتلا به چاقی و اضافه‌وزن از طریق فراخوان به مطالعه وارد شدند. معیارهای ورود به مطالعه شامل رنج سنی 19-35 سال، نمایه توده بدنی بین 25-35 kg/m²، عدم ابتلا به بیماری‌های مزمن مثل سرطان، بیماری‌های قلبی عروقی، دیابت، بیماری‌های کلیوی و کبدی، عدم مصرف داروهای خاص، عدم استعمال دخانیات، عدم پیروی از رژیم غذایی خاص و عدم بارداری و شیردهی بود.

داشتن آلرژی غذایی یا آلرژی به سویا، مصرف داروهایی که با پروتکل مطالعه تداخل داشته باشند، بروز هرگونه بیماری مزمن یا حاد و شروع به پیروی از یک رژیم غذایی خاص جزء معیارهای خروج از مطالعه بودند. حجم نمونه از طریق فرمول پیشنهادی برای مطالعات متقاطع تعیین شد (25).

با اطمینان 95 درصد و توان 80 درصد و با در نظر

است (7). ایزوفلاون‌های سویا نقش مفیدی در تنظیم متابولیسم گلوکز و چربی دارند و از این طریق، تجمع چربی در کبد و دیگر بافت‌های بدن از جمله بافت چربی را کاهش می‌دهند (13-15). پروتئین سویا نیز ممکن است اثرات ضد چاقی داشته باشد. مطالعات زیادی نشان داده‌اند که مصرف پروتئین سویا با افزایش حس سیری و کاهش توده چربی بدن در حیوانات و انسان‌های چاق همراه بوده است (16). پروتئین سویا همچنین نقش مفیدی در بهبود اختلالات متابولیکی و قلبی-عروقی، به‌واسطه تأثیرات مطلوبش بر سطح فشارخون، چربی‌ها و مقاومت انسولینی دارد (17 و 18). تصور می‌شود ترکیبات زیست-فعال پروتئین سویا از جمله فسفولیپیدها، ایزوفلاون، ساپونین و چند آمینواسید ویژه مسئول ایجاد چنین اثرات مفیدی باشند. گرچه مطالعات زیادی اثرات مفید پروتئین سویا یا ایزوفلاون‌های آن را بر شاخص‌های آنتروپومتریک و اختلالات متابولیکی از جمله فشارخون نشان داده‌اند، اما همه مطالعات در این زمینه هم‌راستا نیستند و مطالعاتی وجود دارند که کاهش معنادار وزن را در نتیجه مصرف پروتئین سویا مشاهده نکرده‌اند (19). تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که مصرف سویای کامل نسبت به دیگر اجزای آن فواید بیشتری دارد. سویای کامل حاوی ترکیباتی چون اسیدهای چرب ضروری، اینوزیتول، لستین، فیبر غذایی، ایزوفلاون، فیتواستروژن و همچنین پروتئین با کیفیت است. این ترکیب منحصر به فرد سویای کامل، آن را به محصولی بالقوه مفید در کنترل چاقی و بیماری‌های مرتبط با آن تبدیل کرده است (20). برخی مطالعات اثر معنادار مصرف سویای کامل بر عوامل خطر بیماری‌های قلبی عروقی را نشان نداده‌اند. میزان پاسخ عوامل خطر بیماری‌های قلبی عروقی به دریافت‌های غذایی تحت تأثیر تنوع ژنتیکی افراد قرار می‌گیرد (21). آپولیپوپروتئین E (ApoE) نقش مهمی در متابولیسم نرمال لیپیدها دارد (22). ژن آپولیپوپروتئین E به شدت پلی‌مریک است، اما سه آل معمول آن یعنی ε2، ε3 و ε4 سه ایزوفرم اصلی آپو E را تشکیل می‌دهند.



شکل 1- فرایند ورود افراد به مطالعه

افراد مورد مطالعه به‌طور تصادفی (با استفاده از روش بلوک‌های تصادفی) به دو گروه تقسیم شدند. گروه اول، رژیم با محدودیت انرژی و حاوی نان سویا و گروه دوم، رژیم معمولی با محدودیت انرژی دریافت کردند. طول دوره مداخله در هر گروه 6 هفته بود. به دلیل اختلاف در رنگ و بافت نان سویا و نان معمولی امکان کورسازی افراد وجود نداشت. به هر داوطلب دو رژیم (رژیم حاوی نان سویا یا رژیم معمولی) ارائه شد و یک دوره wash out (پاکسازی) به مدت 20 روز بین دو دوره مطالعه قرار داشت. در این دوره افراد به رژیم قبل از شروع مطالعه برگشتند. اندازه‌گیری شاخص‌های ترکیب بدن و فشارخون چهار مرتبه انجام گرفت، در ابتدای مطالعه و هفته‌های 6، 9 و 15 بعد از مداخله (شکل 2). یک رژیم کاهش‌وزن برای همه شرکت‌کنندگان فراهم شد و از آنان خواسته شد که سطح معمول فعالیت فیزیکی خود را در طول مطالعه تغییر ندهند. برای اطمینان از تبعیت افراد از توصیه‌های ارائه‌شده هر دو هفته یک‌بار یک ثبت فعالیت فیزیکی 3 روزه از افراد گرفته می‌شد.

گرفتن سطح فشارخون دیاستول به‌عنوان متغیر اصلی، $S=7$ (واریانس فشارخون دیاستول) و $\Delta=3$ (اختلاف در میانگین فشارخون دیاستول) بود (26). بنابراین طبق فرمول، حجم نمونه لازم برای مطالعه 21 نفر تعیین شد. به‌طور کلی 35 نفر از طریق فراخوان داوطلب شرکت در پروژه شدند، که پس از غربالگری براساس معیارهای ورود، نهایتاً 30 نفر وارد مطالعه شدند. همه افراد قبل از ورود به مطالعه فرم‌های رضایت‌نامه کتبی را امضاء کردند (شکل 1). طرح پیشنهادی مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تصویب شد. این تحقیق در سایت ثبت کارآزمایی‌های بالینی ایرانیان (www.irct.ir) با کد IRCT2013073114237N1 به ثبت رسیده است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه یک کارآزمایی بالینی متقاطع بود که بر روی 30 زن جوان مبتلا به اضافه‌وزن و چاقی در سطح دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام شد. بعد از یک دوره run in (دوره قبل از اجرای مداخله) به مدت دو هفته،

شکل 2- طراحی مطالعه

| دوره های مطالعه | | دوره Run in | فاز اول | دوره Wash out | فاز دوم |
|--------------------------|--|-------------|-------------|---------------|-------------------|
| هفته | | -2 -1 0 | 1 2 3 4 5 6 | 7 8 9 | 10 11 12 13 14 15 |
| گروه 1 | | | | | |
| گروه 2 | | | | | |
| اندازه گیری متغیرها | | * | * | * | * |
| اخذ ثبت های غذایی 3 روزه | | ... | ... | ... | ... |

گروه 1: از رژیم حاوی نان سویا به رژیم کنترل

گروه 2: از رژیم کنترل به رژیم حاوی نان سویا

کل، پروتئین و کربوهیدرات طبق محتوای درشت مغذی نان‌ها تعدیل شد (جدول 1). انرژی مورد نیاز روزانه بر اساس فرمول پیشنهادی توسط مؤسسه پزشکی گروه غذا و تغذیه محاسبه شد (27). ترکیب درشت مغذی‌ها در هر رژیم به صورت 60-50 درصد کربوهیدرات، 20-15 درصد پروتئین و کم‌تر از 30 درصد انرژی از چربی بود. فواید هر رژیم برای داوطلبان توضیح داده شد و دستورالعمل کتبی، منوهای غذایی و لیست جانمایی در اختیار آن‌ها قرار گرفت. برای ارزیابی دریافت‌های غذایی هر دو هفته یکبار یک ثبت غذایی 3 روزه (دو روز کاری و یک روز تعطیل) از شرکت‌کنندگان اخذ شد. تبعیت افراد براساس آنالیز ثبت‌های غذایی و همچنین حضور آن‌ها در جلساتی بود که هر دو هفته یکبار توسط محقق برگزار می‌شد.

وزن بدن با استفاده از ترازوی استاندارد و با دقت 0/1 درحالی‌که شرکت‌کنندگان با حداقل پوشش و بدون کفش بودند ثبت شد. قد با استفاده از متر نواری در

نان سویا در شهر اصفهان در نانوائی خواجه تهیه شد. فرمول تهیه نان سویا بر اساس جایگزینی 30 درصد از آرد گندم با آرد سویای تفت داده‌شده طراحی شد. از افراد شرکت‌کننده در گروه نان سویا خواسته شد که مقدار 120 گرم از نان سویا را با همین مقدار نان معمول مصرفی خود و در مواقع ضروری با دیگر غذاهای کربوهیدراتی مثل برنج، پاستا و ... جایگزین کنند. بسته‌های نان سویای تازه به صورت هفتگی تهیه و در اختیار شرکت‌کنندگان قرار داده می‌شد. از افراد خواسته شد که نان را به صورت تازه مصرف کنند و یا در صورت لزوم آن را فریز کرده و بعد از دفریز کردن مصرف نمایند. افراد در گروه کنترل روی رژیم معمول خود بودند و از آنان درخواست شد که از مصرف سویا و فرآورده‌های سویا خودداری کنند.

دو رژیم غذایی برای هر فرد طراحی شد. 1) رژیم کنترل: که یک رژیم معمولی با محدودیت 300-500 کالری در روز بود. از افراد این گروه خواسته شد که رژیم معمول خود را ادامه داده و از مصرف سویا و فرآورده‌های آن پرهیز کنند. 2) رژیم حاوی نان سویا: این رژیم مشابه رژیم کنترل بود جز در مورد نان سویا. از افراد در این گروه خواسته شد که هر روز 120 گرم از نان سویا را جایگزین مقدار مشابه از نان معمول مصرفی خود و در مواقع ضروری دیگر مواد غذایی کربوهیدراتی مثل برنج، پاستا و ... کنند. رژیم‌های غذایی از نظر چربی

جدول 1- ترکیب مواد مغذی نان سویا

| مقدار | مواد مغذی در 100 گرم |
|-------|----------------------|
| 7/2 | چربی (gr) |
| 44/3 | کربوهیدرات (gr) |
| 14/1 | پروتئین (gr) |
| 28/24 | رطوبت (gr) |
| 2/5 | خاکستر (gr) |

آزمون Paired t-test تغییرات بین دو دوره با هم مقایسه شدند. اثر ApoE نیز با استفاده از آزمون Paired t-تعیین شد. برای بررسی اثر دوره و اثر انتقالی از آزمون t استفاده شد. تمام نتایج برحسب میانگین \pm انحراف معیار ($\bar{x} \pm SD$) گزارش شده است. برای تمام آنالیزها مقادیر P کم‌تر از 0/05 معنادار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تبعیت افراد از رژیم‌ها بر اساس آنالیز ثبت‌های غذایی و حضور آن‌ها در جلسات دوره‌ای عالی بود و همه افراد، مطالعه را تا انتها ادامه دادند. تعیین آپو E در 29 نفر انجام شد. میانگین سن افراد $22/1 \pm 3/14$ سال بود. از بین شرکت‌کنندگان 10 درصد آن‌ها متأهل و 90 درصد مجرد بودند. هیچ‌گونه عارضه جانبی در نتیجه مصرف نان سویا از سوی افراد گزارش نشد. تفاوت معناداری از نظر دریافت انرژی، درشت‌مغذی‌ها و فیبر در بین دو گروه مشاهده نشد (جدول 2). جهت محاسبه سطح فعالیت فیزیکی از معادل متابولیکی در هر ساعت در روز استفاده شد. یعنی زمان اختصاص داده شده به هر فعالیت فیزیکی توسط افراد در ضریب هر فعالیت ضرب شد. اعداد به دست آمده از هر فعالیت در طول روز با هم جمع شدند و جهت تبدیل به ساعت بر 60 تقسیم شدند. آنگاه معادل متابولیکی در طول دوره مطالعه از میانگین معادل متابولیکی روزهای ثبت شده برای هر فرد به دست آمد. براین اساس مقایسه معادل متابولیکی در هر ساعت در روز اختلاف معناداری را بین دو گروه نشان نداد (ME- $33/5 \pm 2/9$ MET-h/d و $33/2 \pm 2/9$ h/d معمولی و رژیم حاوی نان سویا، $P=0/39$). یعنی طبق انتظار ما سطح فعالیت فیزیکی در طول دو دوره مطالعه اختلاف معناداری نداشت. آنالیزها برای اثر انتقالی (Carry over effect) معنادار نبود ($P>0/05$). در مورد ژنوتیپ آپوE توزیع ژنوتیپ‌ها به این صورت بود: 17/2 درصد برای ژنوتیپ ϵ_3/ϵ_3 (5 نفر)، 52 درصد برای ϵ_2/ϵ_2 (15 نفر)، 24 درصد برای ϵ_2/ϵ_3 (7 نفر)، 3/4

حالت ایستاده و در شرایطی که افراد بدون کفش بودند و شانه‌هایشان در وضعیت طبیعی بود اندازه‌گیری شد. شاخص توده بدنی (BMI) با تقسیم وزن (kg) بر مجذور قد (m^2) محاسبه شد. دور کمر در باریک‌ترین محل بین پایین‌ترین دنده و سه تیغ ایلیاک و دور باسن در بزرگ‌ترین قسمت باسن با حداقل پوشش با استفاده از یک متر نواری غیرقابل انعطاف بدون این‌که فشاری بر سطح بدن ایجاد شود اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری‌ها با دقت 0/1 گزارش شد. درصد چربی بدن با استفاده از دستگاه آنالیز ترکیب بدن (Jawon Medical PLUS; Avis 333 تعیین گردید. فشارخون افراد در حالت نشسته و بعد از 15 دقیقه استراحت اندازه‌گیری شد. فشارخون هر فرد 3 مرتبه تعیین و میانگین این 3 فشارخون ثبت شد.

DNA ژنوم از 200 میکرولیتر خون کامل با روش High Pure PCR Template preparation kit (Roche Germany) استخراج شد. توالی ApoE انسانی (NG_007084.2, NCBI reference assembly sequence) جهت طراحی پرایمر طبق روش Calerol و همکاران مورد استفاده قرار گرفت (28). DNA طبق روش Calero و همکارانش با استفاده از Real Time PCR (Corbett research 6000 system) تکثیر شد. سه مخلوط واکنشی از پرایمرهای ترکیبی برای تولید محصولات انبوه شده 173 جفت بازی طراحی شد از جمله:

- 1) (ApoE_112C and ApoE_158C as primers)
Reaction ApoE2
- 2) Reaction ApoE3 (ApoE_112C and ApoE_158R as primers)
- 3) Reaction ApoE4 (ApoE_112R and ApoE_158R as primers)

طراحی شد. همان مخلوط‌های واکنشی بدون DNA برای انجام کنترل‌های منفی مورد استفاده قرار گرفتند.

ثبت‌های غذایی با استفاده از نرم‌افزار Nut4 (Nutritionist 4) آنالیز شد. آنالیز آماری تمام داده‌ها از طریق نرم‌افزار SPSS 18 انجام شد. برای تعیین اثر اصلی (Main effect) ابتدا تغییرات هر دوره (انتهای دوره منهای ابتدای دوره) برای هر متغیر محاسبه شد و سپس از طریق

دوره برای این متغیرها تعدیل شد. نتایج برای وزن، BMI و فشارخون سیستولیک اثر معناداری ($P < 0/05$) از مداخله با نان سویا را نشان داد. اما پس از تعدیل برای اثر دوره نتایج دیگر معنادار نبود ($P > 0/05$). در مقایسه سطح فشارخون دیاستولیک مشاهده شد که افراد در گروه نان سویا به طور میانگین $2/3$ mmHg کاهش بیشتری در سطح فشارخون دیاستولیک را نشان دادند و این اختلاف از نظر آماری در آستانه (Marginally) معناداری بود (جدول 3). مقایسه میانگین تغییرات برای دور باسن، دور

درصد برای $\varepsilon 2/\varepsilon 4$ (1 نفر) و $3/4$ درصد برای $\varepsilon 4/\varepsilon 4$ (1 نفر). توزیع آلل‌ها نیز از این قرار بود: $65/5$ درصد برای $\varepsilon 2$ ، $29/3$ درصد برای $\varepsilon 3$ و $5/2$ درصد برای $\varepsilon 4$. افراد مورد مطالعه به دو گروه E2: فردی که ژنوتیپ $\varepsilon 2/\varepsilon 2$ داشتند و E3: حاملان حداقل یک آلل $\varepsilon 3$ ($\varepsilon 2/\varepsilon 3$ یا $\varepsilon 3/\varepsilon 3$) تقسیم شدند. 2 نفر از افراد مورد مطالعه که ژنوتیپ $\varepsilon 4/\varepsilon 4$ و $\varepsilon 2/\varepsilon 4$ را دارا بودند از آنالیزها خارج شدند. اثر دوره (Period effect) برای وزن، BMI و فشارخون سیستولیک معنادار شد ($P < 0/05$). بنابراین اثر

جدول 2- توزیع انرژی و درشت مغذی‌ها در گروه‌های مورد مطالعه¹

| نوترینت‌ها | گروه درمان ² (30 نفر) | گروه کنترل ³ (30 نفر) | اختلاف ⁴ | مقادیر P ⁵ |
|--------------------|----------------------------------|----------------------------------|---------------------|-----------------------|
| انرژی (Kcal) | 342±2063 | 329±2050 | 75±16/2 | 0/26 |
| کربوهیدرات (g) | 46/4±290/8 | 45/5±287 | 13/6±4/4 | 0/1 |
| پروتئین (g) | 15/03±91/68 | 15/2±89/8 | 6/4±2/05 | 0/1 |
| چربی کل (g) | 12/6±64/2 | 11/5±64/5 | 4/8±0/2- | 0/8 |
| چربی اشباع‌شده (g) | 3/5±15/1 | 4/1±18/4 | -3/09±3/25 | 0/08 |
| چربی MUFA (g) | 4/6±16/9 | 4/7±18/5 | 2/8±1/5- | 0/36 |
| چربی PUFA (g) | 5/8±25/05 | 4/6±21/1 | 4/8±3/8 | 0/47 |
| فیبر (g) | 6/02±24/1 | 3/2±20/1 | 3/9±4/3 | 0/56 |

¹ همه مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار (Mean ± SD) گزارش شده است.

² گروه درمان: رژیم حاوی نان سویا

³ گروه کنترل: رژیم معمولی

⁴ اختلاف متغیرها بین دو گروه (رژیم حاوی نان سویا - رژیم معمولی)

⁵ مقادیر P برای اختلاف بین دو گروه (Paired t-test)

PUFA; Polyunsaturated Fatty Acids

MUFA; Monounsaturated Fatty Acids

جدول 3- تأثیر مصرف نان سویا و رژیم معمولی بر شاخص‌های آنتروپومتریک و فشار خون¹

| متغیرها | گروه کنترل ³ (30 نفر) | | گروه درمان ² (30 نفر) | | اختلاف تغییرات ⁴ | مقادیر P ⁵ |
|--------------------------|----------------------------------|--------------|----------------------------------|--------------|-----------------------------|-----------------------|
| | ابتدای مطالعه | پایان مطالعه | ابتدای مطالعه | پایان مطالعه | | |
| وزن (kg) | 9/5±74/7 | 9/9±72 | 9/3±74/3 | 9/6±72/2 | 1/04±0/6 | *0/12 |
| BMI (kg/m ²) | 2/6±28/7 | 2/8±27/7 | 2/6±28/5 | 2/7±27/7 | 0/4±0/23 | *0/13 |
| دور کمر (cm) | 9/1±92/2 | 9/1±90/3 | 9/4±91/7 | 9/5±90/5 | 1/2±0/68 | 0/6 |
| دور باسن (cm) | 4/8±100/9 | 4/8±99/7 | 4/9±100/6 | 4/9±99/1 | 0/9±0/22- | 0/19 |
| نسبت دور کمر به دور باسن | 0/1±0/9 | 0/1±0/9 | 0/1±0/9 | 0/1±0/91 | 0/01±0/009 | 0/3 |
| درصد چربی بدن | 2/9±37/1 | 3/4±35/7 | 2/7±37 | 2/9±35/8 | 1/6±0/11 | 0/7 |
| فشارخون سیستول (mmHg) | 7/7±114/1 | 6/9±107/9 | 5/7±113/2 | 6/8±110/6 | 5/9±3/6 | *0/9 |
| فشارخون دیاستول (mmHg) | 5/4±76/4 | 6/7±72/7 | 6/2±76/1 | 6/8±74/4 | 5/7±2/03 | 0/06 |

¹ همه مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار (Mean ± SD) گزارش شده است.

² گروه درمان: رژیم حاوی نان سویا

³ گروه کنترل: رژیم معمولی

⁴ اختلاف تغییرات متغیرها = میانگین اختلافات در رژیم حاوی نان سویا - میانگین اختلافات در رژیم معمولی

⁵ مقادیر P برای اختلاف تغییرات بین دو گروه (Paired t-test) * تعدیل شده برای اثر دوره

بحث

هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر مصرف نان سویا بر شاخص‌های تن‌سنجی و فشارخون در زنان مبتلا به اضافه‌وزن و چاقی بود. ما همچنین اثر تفاوت ژنتیکی افراد (از طریق شناسایی ژنوتیپ‌های آپو E) بر پاسخ متغیرها به دریافت نان سویا را مورد بررسی قرار دادیم. نتایج این مطالعه یک اثر مطلوب خفیف اما غیرمعنادار در نتیجه مصرف نان سویا بر شاخص‌های دور کمر، دور باسن، نسبت دور کمر به دور باسن و درصد چربی بدن نشان داد. گرچه در ابتدا اختلافات معناداری در زمینه وزن، BMI و فشارخون سیستمولیک بین دو گروه مشاهده شد، اما تعدیل برای اثر دوره، سطح معناداری را از بین برد و تأثیر رژیم حاوی نان سویا در مقایسه با رژیم معمولی دیگر معنادار نبود. با این حال اثر جایگزینی نان سویا در رژیم غذایی بر سطح فشارخون دیاستولیک در آستانه معناداری بود. در سال‌های اخیر بیشتر مطالعات انجام‌شده در رابطه با سویا و فرآورده‌های آن به بررسی اثرات بالقوه این ماده غذایی بر سلامت زنان بعد از سنین یائسگی و یا افراد بیمار پرداخته است و مطالعات معدودی بر روی زنان جوان و سالم تمرکز داشته‌اند (26 و 29). نتایج مطالعات در رابطه با اثرات سویا بر شاخص‌های تن‌سنجی متناقض است. بعضی از مطالعات تجربی اثرات مطلوبی را در این‌باره گزارش کرده‌اند (30-33). داده‌های حاصل از چندین کارآزمایی بالینی نیز اثرات بالقوه مفید سویا و یا ایزوفلاون‌های آن بر شاخص‌های آنتروپومتریک را نشان داده است (34). Liu و همکاران در مطالعه خود بر روی زنان یائسه نشان دادند که 6 ماه مکمل یاری با پروتئین سویا و ایزوفلاون‌های آن اثرات مطلوبی بر ترکیب بدن دارد (35). اثربخشی وعده‌های غذایی بر پایه سویا بر کاهش وزن در بزرگسالان دچار اضافه‌وزن نیز گزارش شده است. توانایی سویا در تنظیم وزن بدن می‌تواند به ایزوفلاون‌ها و سایر ترکیبات آن مانند پپتیدها و آمینواسیدهای خاص نسبت داده شود (7 و 36). ایزوفلاون‌های سویا مشابه

کمر، نسبت دور کمر به دور باسن و درصد چربی بدن نیز اختلاف معناداری را بین دو رژیم نشان نداد. تأثیر نان سویا بر فشار خون دیاستول به‌طور معناداری تحت تأثیر ژنوتیپ $\epsilon 2/\epsilon 2$ بود (جدول 4). یعنی فشارخون دیاستول به‌طور معناداری بعد از مصرف نان سویا در مقایسه با رژیم معمولی در گروه E2 کاهش یافت اما تغییرات گروه E3 معنادار نبود (جدول 4 و 5).

جدول 4 - اختلاف متغیرها بین رژیم معمولی و نان سویا در گروه E2¹

| مقادیر P | E2 (E2/E2) (15 نفر) | متغیرها (میانگین اختلاف تغییرات) ² |
|----------|------------------------|--|
| 0/097 | 0/7±0/34 | وزن (kg) |
| 0/4 | 0/9± 0/7 | دور کمر (cm) |
| 0/1 | 0/6±0/26- | دور باسن (cm) |
| 0/12 | 0/01±0/009 | نسبت دور کمر به دور باسن |
| 0/5 | 1/5± 0/2 | درصد چربی بدن |
| 0/028 | 3/5±2/2 | فشار خون دیاستول (mmHg) |
| 0/097 | 7/2±3/3 | فشار خون سیستمول (mmHg) |

¹ همه مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است. (Mean ± SD)

² میانگین اختلاف تغییرات متغیرها = میانگین اختلافات در رژیم حاوی نان سویا - میانگین اختلافات در رژیم معمولی

جدول 5 - اختلاف متغیرها بین رژیم معمولی و نان سویا در گروه دارای یک آلل E3¹

| مقادیر P | E3 (E3/E3, E2/E3) (12 نفر) | متغیرها (میانگین اختلاف تغییرات) ² |
|----------|-------------------------------|--|
| 0/28 | 0/8±0/48 | وزن (kg) |
| 0/09 | 1/2±0/46 | دور کمر (cm) |
| 0/5 | 1/0±-0/13 | دور باسن (cm) |
| 0/09 | 0/01±0/006 | نسبت دور کمر به دور باسن |
| 0/9 | 1/7±-0/02 | درصد چربی بدن |
| 0/3 | 5/5±1/08 | فشار خون دیاستول (mmHg) |
| 0/8 | 6/5±3/9 | فشار خون سیستمول (mmHg) |

¹ همه مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است. (Mean ± SD)

² میانگین اختلاف تغییرات متغیرها = میانگین اختلافات در رژیم حاوی نان سویا - میانگین اختلافات در رژیم معمولی

زیست- فعال مانند ایزوفلاون‌ها، پروتئین و یا پروفایل آمینواسیدی خاص سویا (نسبت بالای آرژنین به لیزین و متیونین) نسبت داده شده است (44 و 45). افزایش سطح نیتریک اکسید بعد از مصرف محصولات سویا با کاهش سطح فشارخون همراه است (18). سویا منبع پپتیدهای بازدارنده آنزیم تبدیل‌کننده آنژیوتانسین (ACE) است (45). این پپتیدها از طریق کاهش اثرات انقباضی آنژیوتانسین II و افزایش اثرات انبساطی برادی کینین بر دیواره عروق موجب کاهش فشارخون می‌شوند. از این رو می‌تواند به‌عنوان رویکردی جدید در درمان فشارخون در نظر گرفته شوند (46). تناقضات در مطالعات انجام‌شده روی ترکیبات سویا منجر به آن شد که تحقیقات اخیر بر مصرف سویای کامل و اثرات سودمند آن در بهبود عوامل خطر بیماری‌های قلبی عروقی نسبت به سایر ترکیبات مجزای سویا تأکید داشته باشند (20). آرد سویا نیز به‌عنوان محصولی از سویای کامل در نظر گرفته می‌شود که تمام اجزای دانه کامل سویا در آن موجود است. ویژگی منحصر به فرد سویای کامل که شامل ترکیبی از آمینواسیدهای گیاهی، چربی‌های ضروری، فیتواستروژن‌ها و ترکیبات زیست‌فعال است، این ماده غذایی را به محصولی بالقوه مفید در کنترل چاقی و بیماری‌های مرتبط با آن تبدیل کرده است. گرچه در میان این تحقیقات مطالعاتی نیز وجود دارد که اثرات معناداری در نتیجه مصرف آجیل سویا (در مقایسه با پروتئین آن) بر سطح فشارخون سیستول و دیاستول را نشان نداده‌اند (44).

پاسخ متغیرهای مورد بررسی در مطالعه حاضر به دریافت نان سویا ممکن است تحت تأثیر پلی‌مرفیسم در ژن آپو E قرار گرفته باشد (21 و 47). در این مطالعه آلل ε2 بیشترین فراوانی (65/5٪) را در مقایسه با آلل‌های ε3 و ε4 (به ترتیب 29/3 و 5/2٪) داشت. این یافته با نتایج حاصل از مطالعات دیگر که بیشترین فراوانی را برای آلل ε3 گزارش کرده‌اند در تناقض است. زرکش و همکارانش در مطالعه قند و لیپید تهران که بر روی 345 مرد و 498 زن انجام شد، فراوانی آلل‌های ε2، ε3 و ε4

استرادیول عمل می‌کنند و تمایل زیادی به اتصال به گیرنده‌های استروژن دارند. آن‌ها همچنین با تغییر در بیان ژن‌های درگیر در آدیپوژنیز و یا بتا‌اکسیداسیون اسیدهای چرب تجمع چربی در کبد و بافت‌های چربی را کاهش می‌دهند. کاهش تجمع چربی در کبد می‌تواند با کاهش مقاومت انسولینی مرتبط باشد (37). بعضی از پپتیدهای سویا مانند بتاکونگلیسین نیز بر روی دریافت غذا اثر گذاشته و از طریق افزایش سطح کوله سیستوکینین منجر به کاهش اشتها می‌شود. به‌علاوه محتوای فیبر و کربوهیدرات پیچیده سویا نیز به‌دلیل پایین بودن شاخص گلیسمی و عبور کند از دستگاه گوارش نقش مهمی در کنترل وزن دارند (16). با این حال مطالعاتی وجود دارند که اثرات معناداری از مصرف سویا و فراورده‌های آن بر شاخص‌های تن‌سنجی و یا کاهش توده چربی بدن را نشان نداده‌اند (38 و 39). بختیاری و همکارانش اثر دریافت پروتئین سویا و دانه کامل سویا را بر شاخص‌های آنتروپومتریک 75 زن مسن مبتلا به سندرم متابولیک بررسی کردند. نتایج این مطالعه تغییرات خفیف اما غیرمعناداری را در وزن، BMI و درصد چربی بدن پس از 12 هفته مداخله نشان داد (40).

یافته‌های حاصل از این مطالعه یک اثر در آستانه معناداری را بر سطح فشارخون دیاستولیک در نتیجه مصرف نان سویا نشان داد. بعضی از مطالعات اثرات مفید سویا را بر کنترل فشارخون نشان داده‌اند (29، 41 و 42). Simão و همکارانش در مطالعه‌ای اثر دریافت یک فراورده سویا به نام kinako و روغن ماهی را بر سطح فشارخون در زنان مبتلا به سندرم متابولیک بررسی کردند. آن‌ها دریافتند که سطح فشارخون دیاستول هم در گروه سویا و هم در گروه روغن ماهی کاهش یافت. مقایسه بین گروه‌های مداخله یک کاهش معنادار در سطح فشارخون دیاستول در گروه دریافت‌کننده سویا در مقایسه با گروهی که سویا و روغن ماهی را به‌طور همزمان مصرف می‌کردند پس از 90 روز نشان داد (43). اثرات مطلوب سویا بر کنترل فشارخون به ترکیبات

می‌تواند اثرات مطلوبی روی فشارخون در این جمعیت سالم داشته باشد. گرچه یک اثر در آستانه معناداری بر فشارخون دیاستولیک در نتیجه مصرف نان سویا مشاهده شد، اما نتایج برای فشارخون سیستول و شاخص‌های تن‌سنجی معنادار نبود. دلایل ناهم‌سویی مطالعه حاضر با مطالعات پیشین می‌تواند با فاکتورهای مختلف مرتبط باشد. در این مطالعه تنها بسته‌های نان سویا برای شرکت‌کنندگان فراهم می‌شد، افراد روی رژیم معمول خود بودند و غذای از قبل آماده شده به آن‌ها داده نمی‌شد. این در حالی است که کنترل شرکت‌کننده‌ها در مطالعاتی که به صورت غذایی است دقیق‌تر است. به‌علت ایجاد تغییرات نامطلوب در طعم و بافت نان، افزایش مقدار آرد سویا به بیش از 30 درصد ممکن نبود. از طرفی در این مطالعه مدت مداخله نسبت به سایر مطالعات کوتاه‌تر بود (34 و 35). هر چند مطالعاتی نیز وجود دارد که با مدت مداخله بیشتر هم اثرات معناداری را بر شاخص‌های تن‌سنجی نشان نداده‌اند. بنابراین دوره کوتاه مداخله و دریافت محدود نان سویا می‌تواند با نتایج غیرمعنادار مرتبط باشد. طراحی مطالعه نیز یک فاکتور مهم است. بعضی از مطالعات در زمینه سویا و کاهش وزن به صورت مقطعی (Cross sectional) طراحی شده‌اند (50). بنابراین احتمال وجود فاکتورهای مخدوش‌کننده در این مطالعات وجود دارد. طراحی متقاطع مطالعه، تبعیت خوب افراد از پروتکل مطالعه و عدم ریزش شرکت‌کنندگان غنی‌سازی نان با آرد سویا و انتخاب نان سویا به‌عنوان یک غذای عملکردی از نقاط قوت مطالعه حاضر است. گرچه به‌دلیل اختلاف رنگ و طعم نان امکان کورسازی افراد وجود نداشت اما جهت کاهش خطا، پرسنل آزمایشگاه و کسانی که آنالیز آماری مطالعه را انجام دادند از گروه‌های مداخله اطلاع نداشتند. به‌دلیل محدودیت مالی امکان گنجاندن شاخص‌های بیوشیمیایی مثل فاکتورهای التهابی وجود نداشت. به‌علاوه پاسخ‌دهی افراد بر اساس توانایی سنتز equol ارزیابی نشد. طبق گزارش بعضی از مطالعات پاسخ‌دهی

را به ترتیب 9/7، 73 و 14/6 درصد گزارش کردند (48). دلایل ناهم‌سویی نتایج مطالعه حاضر با مطالعات مشابه را می‌توان به نوع مطالعه و حجم نمونه مورد بررسی برای تعیین پلی‌مرفیسم ApoE نسبت داد. بیشتر مطالعات پیرامون ژنوتیپ ApoE مطالعات مقطعی هستند که حجم نمونه بیشتری دارند. درحالی‌که این مطالعه یک کارآزمایی بالینی متقاطع است که حجم نمونه خاص خود را دارد و قابل قیاس با مطالعات مقطعی نیستند. وقتی اثر ژنوتیپ ϵ_2/ϵ_2 بر پاسخ متغیرها به مداخله مورد بررسی قرار گرفت یک کاهش معنادار برای فشارخون دیاستول بعد از مصرف نان سویا در مقایسه با رژیم معمولی در گروه E2 مشاهده شد. گرچه بر اساس نتایج جستجوی ما تاکنون مطالعه‌ای به بررسی اثر تفاوت ژنتیکی بر پاسخ شاخص‌های آنتروپومتریک و فشارخون نسبت به دریافت سویا نپرداخته است، اما مطالعاتی وجود دارند که اثر ژنوتیپ آپو E را مدنظر قرار داده‌اند. برای مثال در مطالعه Egert و همکاران مکمل یاری کورستین موجب کاهش فشارخون در افراد مبتلا به اضافه‌وزن و چاقی با ژنوتیپ ϵ_3/ϵ_3 شد (47). به‌علاوه بیشتر مطالعات در زمینه آپو E و ترکیب بدن مقطعی هستند که در آن‌ها ارتباط بین ایزوفرم‌های متفاوت آپو E و شاخص‌های تن‌سنجی یا بیماری‌های قلبی عروقی مورد بررسی قرار گرفته است (49). مطالعات تجربی نوتریژنتیک نیز محدودند. در مطالعه Kuhel و همکاران یک رژیم پرچرب با کلسترول بالا منجر به افزایش چاقی در موش‌های حامل آلل ϵ_2 در مقایسه با موش‌های حامل آلل ϵ_3 شد (23). شمار اندک مطالعات مربوط به سویا که به‌طور همزمان اثر ژنوتیپ را هم بررسی کرده باشند، اهمیت نیاز به مطالعات نوتریژنتیک بیشتر در آینده را نشان می‌دهد. افراد شرکت‌کننده در این مطالعه زنان سالم جوان مبتلا به اضافه‌وزن و چاقی بودند که سابقه هیچ‌گونه بیماری مزمن را نداشتند. بیشتر مطالعات پیرامون سویا بر روی افراد بیمار یا زنان در سنین یائسگی انجام شده است. یافته‌های ما نشان داد که مصرف نان سویا

افراد به دریافت سویا برحسب توانایی آن‌ها در سنتز
 افراد به دریافت سویا برحسب توانایی آن‌ها در سنتز
 equol متفاوت است. بنابراین تحقیقات بیشتری در این
 زمینه مورد نیاز است.

تشکر و قدردانی

این مطالعه حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد است که
 در دانشکده تغذیه و علوم غذایی دانشگاه علوم پزشکی
 اصفهان با کد 391432 به تصویب رسیده است.
 نویسندگان این مقاله از همه افراد شرکت‌کننده در این
 مطالعه تشکر می‌کنند.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مصرف نان غنی‌شده
 با آرد سویا می‌تواند در کنترل فشارخون در زنان با آل
 آپو 2 مفید باشد با این حال جهت تأیید نتایج مطالعه

References

- Kelishadi R. Childhood overweight, obesity, and the metabolic syndrome in developing countries. *Epidemiol Rev.* 2007; 29: 62-76.
- Misra A, Khurana L. Obesity and the metabolic syndrome in developing countries. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008; 93(11): S9-30.
- Mirmiran P, Esmailzadeh A, Azizi F. Dairy consumption and body mass index: an inverse relationship. *Int J Obes (Lond).* 2005; 29(1):115-21.
- Tzotzas T, Evangelou P, Kiortsis DN. Obesity, weight loss and conditional cardiovascular risk factors. *Obes Rev.* 2011; 12(5):e282-9.
- Te Morenga LA, Levers MT, Williams SM, Brown RC, Mann J. Comparison of high protein and high fiber weight-loss diets in women with risk for the metabolic syndrome: a randomized trial. *Nutr J.* 2011; 10: 40.
- Mann J. Dietary carbohydrate: relationship to cardiovascular disease and disorders of carbohydrate metabolism. *Eur J Clin Nutr.* 2007;61(1):S100-11
- Crespillo A, Alonso M, Vida M, Pavón FJ, Serrano A, Rivera P, et al. Reduction of body weight, liver steatosis and expression of stearoyl-CoA desaturase 1 by the isoflavone daidzein in diet-induced obesity. *Br J Pharmacol.* 164(7):1899-915.
- Bhathena SJ, Velasquez MT. Beneficial role of dietary phytoestrogens in obesity and diabetes. *Am J Clin Nutr.* 2002; 76(6):1191-201.
- Lerman RH, Minich DM, Darland G, Lamb JJ, Schiltz B, Babish JG, et al. Enhancement of modified Mediterranean-style; low glycemic load diet with specific phytochemicals improves cardiometabolic risk factors in subjects with metabolic syndrome and hypercholesterolemia in a randomized trial. *Nutr Metab (Lond).* 2008; 5:29.
- Bosello O, Cominacini L, Zocca I, Garbin U, Compri R, Davoli A, et al. Short- and long-term effects of hypocaloric diets containing proteins of different sources on plasma lipids and apoproteins of obese subjects. *Ann Nutr Metab.* 1988; 32(4):206-14.
- Mikkelsen PB, Toubro S, Astrup A. Effect of fat-reduced diets on 24-h energy expenditure: comparisons between animal protein, vegetable protein, and carbohydrate. *Am J Clin Nutr.* 2000; 72(5):1135-41.
- Aoyama T, Fukui K, Takamatsu K, Hashimoto Y, Yamamoto T. Soy protein isolate and its hydrolysate reduce body fat of dietary obese rats and genetically obese mice (yellow KK). *Nutrition.* 2000; 16(5):349-54.
- Sites C, Cooper B, Toth M, Gastaldelli A, Arabshahi A, Barnes S. Effect of a daily supplement of soy protein on body composition and insulin secretion in postmenopausal women. *Fertil Steril.* 2008; 88(6):1609-17.
- Kim MH, Park JS, Jung JW, Byun KW, Kang KS, Lee YS. Daidzein supplementation prevents non-alcoholic fatty liver disease through alternation of hepatic gene expression profiles and adipocyte metabolism. *Int J Obes.* 2011; 35(8): 1019-30.
- Guo Y, Wu G, Su X, Yang H, Zhang J. Antiobesity action of a daidzein derivative on male obese mice induced by a high-fat diet. *Nutr Res.* 2009; 29(9):656-63.
- Velasquez MT, Bhathena SJ. Role of Dietary Soy Protein in Obesity. *Int J Med Sci.* 2007; 4(2):72-82.
- Maki KC, Butteiger DN, Rains TM, Lawless A, Reeves MS, Chuck Schasteen DO, et al. Effects of soy protein on lipoprotein lipids and fecal bile acid excretion in men and women with moderate hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol.* 2010; 4(6): 531-42.
- Simão AN, Lozovoy MA, Simão TN, Dichi JB, Matsuo T, Dichi I. Nitric oxide enhancement and blood pressure decrease in patients with metabolic syndrome using soy protein or fish oil. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2010; 54(6):540-5.

19. Azadbakht L, Nurbakhsh S. Effect of soy drink replacement in a weight reducing diet on anthropometric values and blood pressure among overweight and obese female youths. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2011; 20(3): 383-9.
20. Reinwald S, Akabas ShR, Weaver CM. Whole versus the piecemeal approach to evaluating soy. *J Nutr.* 2010; 140(12): 2335S-43S.
21. Sanchez-Muniz FJ, Maki KC, Schaefer EJ, Ordovas JM. Serum lipid and antioxidant responses in hypercholesterolemic men and women receiving plant sterol esters vary by apolipoprotein E genotype. *J Nutr.* 2009; 139(1):13-9.
22. Mendivil CO, Rimm EB, Furtado J, Sacks FM. Apolipoprotein E in VLDL and LDL with apolipoprotein C-III is associated with a lower risk of coronary heart disease. *J Am Heart Assoc.* 2013; 2(3): e000130.
23. Kuhel DG, Konanah ES, Basford JE, McVey C, Goodin CT, Chatterjee TK, et al. Apolipoprotein E2 accentuates postprandial inflammation and diet- induced obesity to promote hyperinsulinemia in Mice. *Diabetes.* 2013; 62(2): 382-91.
24. Ivanovski B, Seetharaman K, Duizer LM. Development of soy-based bread with acceptable sensory properties. *J Food Sci.* 2012; 77(1):S71-6.
25. Fleiss JL. The design and analysis of clinical experiments. New York: John Wiley & Sons. 1986; 263-71.
26. Welty FK, Lee KS, Lew NS, Zhou JR. Effect of soy nuts on blood pressure and lipid levels in hypertensive, prehypertensive, and normotensive postmenopausal women. *Arch Intern Med.* 2007; 167(10):1060-7.
27. Mahan LK, Escott-Stump S, Raymond JL. Krause's food and the nutrition care process. 13th ed. USA: Saunders company. 2012; 28.
28. Calero O, Hortigüela R, Bullido M J, Calero M. Apolipoprotein E genotyping method by Real Time PCR, a fast and cost-effective alternative to the TaqMan and FRET® assays. *J Neurosci Methods.* 2009; 183(2): 238-40.
29. Yazdkhasti N, Zaitun Y, Norhaizan ME, Njafpour Boushehri S. Effects of roasted soy-nut supplementation on lipid profile of Iranian postmenopausal women. *Mid East J Res.* 2011; 8(4): 816-22.
30. Davis J, Higginbotham A, O'Connor T, Moustaid-Moussa N, Tebbe A, Kim YC, et al. Soy protein and isoflavones influence adiposity and development of metabolic syndrome in obese male ZDF rat. *Ann Nutr Metab.* 2007; 51(1):42-52.
31. Cheik NC, Rossi EA, Guerra RL, Tenório NM, Oller do Nascimento CM, Viana FP, et al. Effects of ferment soy product on the adipocyte area reduction and dyslipidemia control in hypercholesterolemic adult male rats. *Lipids Health Dis.* 2008; 7: 50.
32. Frigolet ME, Torres N, Uribe-Figueroa L, Rangel C, Jimenez-Sanchez G, Tovar AR. White adipose tissue genome wide-expression profiling and adipocyte metabolic functions after soy protein consumption in rats. *J Nutr Biochem.* 2011; 22(2):118-29.
33. Torre-Villalvazo I, Gonzalez F, Aguilar-Salinas CA, Tovar AR, Torres N. Dietary soy protein reduces cardiac lipid accumulation and the ceramide concentration in high-fat diet fed rats and ob/ob mice. *J Nutr.* 2009; 139(12):2237-43.
34. Deibert P, Konig D, Schmidt-Trucksass A, Zaenker KS, Frey I, Landmann U, et al. Weight loss without losing muscle mass in pre-obese and obese subjects induced by a high-soy-protein diet. *Int J Obes.* 2004; 28(10): 1349-52.
35. Liu ZM, Ho SC, Chen YM, Ho YP. A mild favorable effect of soy protein with isoflavones on body composition- a 6-month double-blind randomized placebo-controlled trial among Chinese postmenopausal women. *Int J Obes.* 2010; 34(2): 309-18.
36. Liao FH, Shieh MJ, Yang SC, Lin SH, Chien YW. Effectiveness of a soy-based compared with a traditional low-calorie diet on weight loss and lipid levels in overweight adults. *Nutrition.* 2007; 23(7-8):551-6.
37. Zhang YB, Chen WH, Guo JJ, Fu ZH, Yi C, Zhang M, et al. Soy isoflavone supplementation could reduce body weight and improve glucose metabolism in non-Asian postmenopausal women-A meta-analysis. *Nutrition.* 2013; 29(1):8-14.
38. Wagner JD, Jorgensen MJ, Cline JM, Lees CJ, Franke AA, Zhang L, et al. Effects of soy vs casein protein on body weight and glycemic control in female monkeys and their offspring. *Am J Primatol.* 2009; 71(9):802-11.
39. St-Onge MP, Claps N, Wolper C, Heymsfield SB. Supplementation with soy-protein-rich foods does not enhance weight loss. *J Am Diet Assoc.* 2007; 107(3):500-5.
40. Bakhtiari A, Yassin Z, Hanachi P, Rahmat A, Ahmad Z , Sajadi P, et al. Effects of soy on body composition: A 12-week randomize controlled trial among Iranian elderly women with metabolic syndrome. *Iranian J Publ Health.* 2012; 41(4): 9-18.
41. Yang G, Shu XO, Jin F. Longitudinal study of soy food intake and blood pressure among middle-aged and elderly Chinese women. *Am J Clin Nutr.* 2005; 81(5):1012-7.

42. Simão AN, Lozovoy MA, Bahls LD, Morimoto HK, Simão TN, Matsuo T, et al. Blood pressure decrease with ingestion of a soya product (kinako) or fish oil in women with the metabolic syndrome: role of adiponectin and nitric oxide. *Brit J Nutr*. 2012; 108(8):1435-42.
43. Galleano M, Pechanova O, Fraga CG. Hypertension, nitric oxide, oxidants, and dietary plant polyphenols. *Curr Pharm Biotechnol*. 2010; 11(8):837-48.
44. Bakhtiari A, Yassin Z, Hanachi P, Rahmat A, Ahmad Z, Jalali F. Effects of soy on metabolic biomarkers of cardiovascular disease in elderly women with metabolic syndrome. *Arch Iran Med*. 2012; 15(8): 462-8.
45. De Leo F, Panarese S, Gallerani R, Ceci LR. Angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory peptides: production and implementation of functional food. *Curr Pharm Des*. 2009; 15(31): 3622-43.
46. Erdmann K, Cheung BW, Schröder H. The possible roles of food-derived bioactive peptides in reducing the risk of cardiovascular disease. *J Nutr Biochem*. 2008; 19(10):643-54.
47. Egert S, Boesch-Saadatmandi C, Wolffram S, Rimbach G, Müller M. Serum lipid and blood pressure responses to Quercetin vary in overweight patients by apolipoprotein E genotype. *J Nutr*. 2010; 140(2): 278-84.
48. Zarkesh M, Daneshpour MS, Faam B, Hedayati M, Azizi F. Is there any association of apolipoprotein E gene polymorphism with obesity status and lipid profiles? *Tehran Lipid and Glucose Study (TLGS)*. *Gene*. 2012; 509(2): 282-5.
49. Petkeviciene J, Smalinskiene A, Luksiene DI, Jureniene K, Ramzauskiene V, Klumbiene J, et al. Associations between apolipoprotein E genotype, diet, body mass index, and serum lipids in Lithuanian adult population. *PLoS One*. 2012; 7(7): e41525.
50. Maskarinec G, Aylward AG, Erber E, Takata Y, Kolonel LN. Soy intake is related to a lower body mass index in adult women. *Eur J Nutr*. 2008; 47(3): 138-44.