

بررسی اثرات ایزوفلاونهای سویا بر پروفایل لیپیدی و قندخون خرگوش‌های هیپرکلسترولمیک

دکتر رضا امانی^۱، دکتر جلیل بغدادچی^۲، دکتر احمد زندمقدم^۳

چکیده:

هدف از این پژوهش بررسی تاثیر ایزوفلاون‌های^۱ سویا بر لیپیدها و لیپوپروتئین‌های سرم و قندخون در خرگوش‌های هیپرکلسترولمیک بوده و طی آن ۲۴ سر خرگوش نر بالغ از نژاد نیوزلندی پس از دو هفته رژیم سازگاری، مرحله هیپرکلسترولمیک شدن را به کمک ۱٪ کلسترول در مدت سه هفته طی نمودند. سپس خرگوش‌ها به گروه‌های چهارگانه دریافت‌کننده پروتئین سویای حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم درصد ایزوفلاون، پروتئین سویای فاقد ایزوفلاون، پروتئین سویای حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم ایزوفلاون (۰.۵٪) و ادامه رژیم هیپرکلسترولمیک تقسیم شدند. محتوای رژیم‌های سویا به جز میزان ایزوفلاون کاملاً مشابه یکدیگر بود و طول دریافت رژیم‌ها ۶ هفته در نظر گرفته شد.

نتایج نشان دادند که طی دوره هیپرکلسترولمیک شدن خرگوش‌ها، سطح کلسترول تام و LDL^۲-کلسترول حدود ۱۰ برابر افزایش پیدا کرد. رژیم سویای حاوی ایزوفلاون علیرغم دریافت ثابت کلسترول در رژیم غذایی، سطح کلسترول تام و LDL-کلسترول را در مقایسه با دو رژیم دیگر سویا در حد اولیه نگاهداشت ($P < 0.001$). سطح HDL^۳-کلسترول با دریافت رژیم هیپرکلسترولمیک به طور معنی‌داری بالا رفت و بدنبال دریافت رژیم‌های سویا همچنان بالا باقی ماند (حدود سه برابر مقدار اولیه). سطوح تری‌گلیسرید و VLDL^۴ در هر دو رژیم فاقد و دارای ۵۰٪ ایزوفلاون نسبت به سطوح نرمال به ترتیب حدود ۲ و ۳ برابر افزایش نشان دادند ($P = 0.05$). حال آنکه تغییرات در گروه سویای حاوی ایزوفلاون معنی‌دار نبود. سطح قندخون تغییر بارزی را طی دوران دریافت رژیم‌های سه‌گانه سویا نشان نداد. چنین بنظر می‌رسد که کاهش دریافت کلسترول به همراه دریافت روزانه ایزوفلاون‌های سویا می‌تواند در بهبود پروفایل لیپیدی و در نتیجه کاهش بیماری‌های قلبی-عروقی نقش موثری داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: ایزوفلاون‌های سویا، لیپیدها، قند خون، خرگوش.

* عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی اهواز - دانشکده پیراپزشکی

** دانشیار دانشگاه علوم پزشکی تبریز - دانشکده بهداشت و تغذیه

*** استاد دانشگاه علوم پزشکی اهواز - دانشکده پیراپزشکی

- 1- Isoflavones (ISO)
- 2- Low Density Lipoprotein
- 3- High Density Lipoprotein
- 4- Very Low Density Lipoprotein
- 5- Phytochemicals

مقدمه :

رشد تومورهای پستان (۹ و ۸) و پروستات (۱۰)، کاهش عوارض یائسگی نظیر گرگرفتگی^۱ (۱۱) و استئوپوروز (۱۲)، بهبود پروفایل لیپیدی و کاهش سطح پلاکهای آتروسکلروتیک در حیوانات آزمایشگاهی (۱۴ و ۱۳) و نیز در زنان پس از یائسگی (۱۵) و مردان هیپرکلسترولمیک (۱۶) گزارش و حتی در مواردی کاهش سطح لیپوپروتئین LpA- به عنوان یک عامل آتروژن قوی و مستقل از رژیم غذایی- با مصرف ایزوفلاونهای سویا مشاهده شده است (۱۷)، نقش پروتئین سویا از دیرباز در کاهش کلسترول سرم ذکر شده بود اما اخیراً بیش از ۶۰ درصد این ویژگی را به ایزوفلاونهای سویا نسبت داده‌اند (۱۸).

از سوی دیگر، مشخص شده است که افزایش سطح کلسترول نام و LDL- کلسترول در بروز بیماریهای قلبی بویژه آتروسکلروز نقش تعیین کننده‌ای دارد (۱۹) و این بیماریها در حال حاضر به عنوان اولین عامل مرگ و میر در میان سایر بیماریها مطرح هستند. باتوجه به نقش ایزوفلاونهای سویا در بهبود پروفایل لیپیدی و کاهش پیشرفت آتروسکلروز از یک سو و امکان تهیه و کشت محصول سویا و وجود کارخانه‌های فرآوری آن در کشور از سوی دیگر و همچنین نظر به ارزش تغذیه‌ای این گیاه، تحقیق حاضر برای نخستین بار جهت تعیین اثرات ایزوفلاونهای سویا بر پروفایل لیپیدی و قندخون خرگوش‌های هیپرکلسترولمیک طراحی و انجام شده است.

روش کار :

۲۴ سر خرگوش نر بالغ از نژاد نیوزلندی با میانگین وزنی 100 ± 1650 گرم (حدوداً ۳ ماهه) از مرکز

تاکنون بالغ بر دوازده هزار ماده شیمیایی در گیاهان شناسایی شده که تحت عنوان فیتوکمیکالها^۲ مطرح هستند و از جمله این مواد مسی‌توان به رنگ‌دانه‌ها و کاروتنوئیدها، ویتامین‌های آنتی‌اکسیدان نظیر اسیداسکوربیک و آلفاتوکوفرول و نیز فلاونوئیدها اشاره کرد. این ترکیبات از آن جهت مورد توجه قرار گرفته‌اند که با کاهش مرگ و میر همراه بوده‌اند (۴-۱) و حتی به طور کلی مرگ و میر گیاهخواران در حد کمتری نسبت به گوشتخواران گزارش شده است (۵). در کشورهای آسیایی بویژه ملل خاور دور لوبیای سویا بیش از هزار سال مصرف می‌شده و نقش محافظت کننده مواد گیاهی در برابر بیماری‌های تمدن و یا آنچه که امروزه به نام سندروم X (مقاومت نسبت به انسولین، هیپرلیپیدمی، فشارخون و چاقی) موسوم شده است، در این جوامع مطرح بوده (۶، ۴، ۳) و کشورهای غربی نیز در سالهای اخیر به مصرف منابع غذایی گیاهی نظیر جمله سویا روی آورده‌اند (۷).

در لوبیای سویا گروهی از استروژنهای گیاهی^۱ بنام ایزوفلاونها^۲ وجود دارند که اثرات استروژنیک/ آنتی‌استروژنیک (براساس نوع بافت، غلظت، وجود استروژن آندوژن و نوع رسپتور) از خود نشان می‌دهند. همچنین این اثرات براساس جنس و وضعیت فیزیولوژیک فرد متفاوت خواهد بود (۴-۲). ایزوفلاونهای سویا به شکل مزدوج (گلیکوزیده) در گیاه وجود دارند و توسط آنزیم‌های میکروفلور روده پستانداران به فرم آگلیکون^۳ درمی‌آیند (۲ و ۱). اثر ایزوفلاونهای سویا بویژه ماده جنیستین^۴ در کاهش

- 1- Phytoestrogens
- 2- Isoflavones
- 3- Aglycone
- 4- Genistein

5- Hot flush

پارس آزمون و MAN ساخت ایران تهیه شد. وزن خرگوش‌ها در ابتدا و انتهای دوره ثبت و دمای آزمایشگاه به کمک ترموستات کولر در فروردین و اردیبهشت ماه کنترل شد. آب به میزان کافی در اختیار خرگوش‌ها قرار گرفت.

داده‌ها توسط آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و به کمک نرم‌افزار SPSS ویرایش نهم تجزیه و تحلیل و نمودارها توسط برنامه Excel تهیه گردید.

یافته‌ها :

یافته‌های تحقیق نشان می‌دهند که سطح کلسترول تام، LDL، HDL- کلسترول پس از دریافت کلسترول در خرگوش‌ها به صورت معنی‌داری بالا رفته است ($P < 0/001$). با دریافت رژیم سویای حاوی ایزوفلاون، سطح کلسترول تام، LDL، HDL- کلسترول نسبت به دوره هیپرکلسترولمیک خرگوش‌ها تغییر محسوسی پیدا نکرد. اما در گروه سویای بدون ایزوفلاون و سویای ۵۰٪ ایزوفلاون قریب به دو برابر سطوح کلسترول تام و LDL- کلسترول فزونی یافت ($P < 0/001$). از سوی دیگر سطوح تری گلیسرید و VLDL در هر دو رژیم فاقد و ۵۰٪ ایزوفلاون نسبت به رژیم‌های پایه و هیپرکلسترولمیک افزایش بارزی یافتند ($P < 0/001$) اما نسبت به گروه حاوی ایزوفلاون، این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبوده است. جدول ۱ تغییرات پروفایل لیپیدی را در مراحل مختلف بررسی نشان می‌دهد. لازم به ذکر است که همه خرگوش‌هایی که رژیم هیپرکلسترولمیک را ادامه دادند پیش از اتمام دوره تلف شدند و با تکرار آن نیز نتایج مشابه به دست آمد که می‌تواند ناشی از آتروسکلروز گسترده باشد. در نمودار ۱ مقادیر قندخون ناشتا مربوط به رژیم‌های سه‌گانه سویا نمایش داده شده‌اند. مشاهده می‌شود که رژیم‌های

تحقیقات رازی تهیه شد. پس از آن خرگوش‌ها به مدت دو هفته رژیم پایه را جهت سازگاری دریافت نمودند. سپس رژیم هیپرکلسترولمیک (رژیم پایه به همراه ۱٪ وزنی کلسترول) را به مدت سه هفته مصرف کردند که طی این مدت سطح کلسترول تام و LDL- کلسترول حدود ۱۰ برابر میزان پایه بالا رفت. بعد از آن خرگوش‌ها به ۴ گروه ۶ تایی تقسیم شدند.

رژیم‌های غذایی ۴ گانه خرگوش به شرح زیر بوده‌است:

۱- رژیم پروتئین سویای حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم

ایزوفلاون درصد و ۱٪ کلسترول

۲- رژیم پروتئین سویای بدون ایزوفلاون و ۱٪

کلسترول

۳- رژیم پروتئین سویای حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم

ایزوفلاون (۵۰٪) و ۱٪ کلسترول

۴- ادامه رژیم هیپرکلسترولمیک پایه و ۱٪ کلسترول

رژیم‌های مذکور به مدت ۶ هفته و به میزان حدود یکصد گرم در روز به خرگوش‌ها داده شد. ایزوفلاون‌های سویا در گروه‌های ۲ و ۳ توسط اتانول خالص و با رقت ۷۰٪ استخراج و میزان و نوع ایزوفلاون‌ها توسط دستگاه HPLC^۱ سنجیده شد. محصول پروتئین سویا از کارخانه کارون سویا تهیه گردید. ضمناً جهت تهیه رژیم استاندارد به رژیم‌های سه‌گانه سویا در حد توصیه شده ویتامین و املاح (کپسول‌های شرکت ایران دارو) افزوده شد.

کنیه لیپیدهای سرم شامل کلسترول تام و تری گلیسرید و لیپوپروتئین‌ها شامل LDL، HDL و VLDL- کلسترول اندازه‌گیری شدند. خون‌گیری در سه مرحله اولیه (پایه)، هیپرکلسترولمیک و اتمام دوره انجام شد. همچنین سطح قندخون ناشتا^۲ نیز اندازه‌گیری گردید. کیت‌های آزمایشگاهی از شرکت

1- High Performance Liquid Chromatography

2- Fasting Blood Sugar

گلوکز در روده خرگوش توسط ایزوفلاونها گزارش شده که کاربرد این مواد را در کنترل بیماری دیابت مطرح می‌سازد (۲۴). قسمت عمده این اثرات را به ماده جنیستین نسبت می‌دهند که عامل مهارکننده آنزیم تیروزین کیناز است (۲۵). در این تحقیق، ایزوفلاونهای سویا تأثیری بر سطح قندخون خرگوش نداشته‌اند.

در تحقیق حاضر موشهای بالغ نر نیوزلندی پس از طی دوره سازگاری و مرحله هیپرکلسترولمیک شدن سه نوع رژیم سویای حاوی، فاقد و ۵۰٪ ایزوفلاون را به مدت ۶ هفته دریافت نمودند پس از اتمام دوره بررسی یافته‌ها حاکی از آن بوده که علیرغم دریافت مقادیر زیاد کلسترول به طور مداوم (۱٪ وزنی رژیم یا حدوداً یک گرم در روز) سطح کلسترول تام، کلسترول LDL، تری‌گلیسرید و کلسترول VLDL در گروه رژیم سویای حاوی ایزوفلاون نسبت به مرحله قبل (یعنی دوره هیپرکلسترولمیا) تفاوت معنی‌داری پیدا نکرده حال آنکه در دو گروه دیگر (رژیم سویای فاقد ایزوفلاون و رژیم ۵۰٪ ایزوفلاون) این متغیرها افزایش بارزی یافته‌اند. از سوی دیگر سطح HDL-کلسترول در گروه سویای حاوی ایزوفلاون نسبت به مرحله پایه افزایش نشان داده و لسی با گروه سویای بدون ایزوفلاون تفاوت فاحشی نداشته است. بهر حال دریافت چربی حیوانی نظیر کلسترول می‌توانسته سطح HDL-کلسترول را در دوره هیپرکلسترولمیک شدن خرگوش‌ها بالا ببرد. نتایج دیگر تحقیقات در مورد اثر ایزوفلاونهای سویا روی کلسترول تام و LDL-کلسترول با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد (۱۷ و ۱۳) اما در مورد تری‌گلیسرید، VLDL و HDL-کلسترول یافته‌های همگونی در دست نیست. مکانیسم‌های مطرح در زمینه تأثیر سویا بر ریسک بیماریهای قلبی-عروقی را به صورت زیر برشمرده‌اند (۲۶):

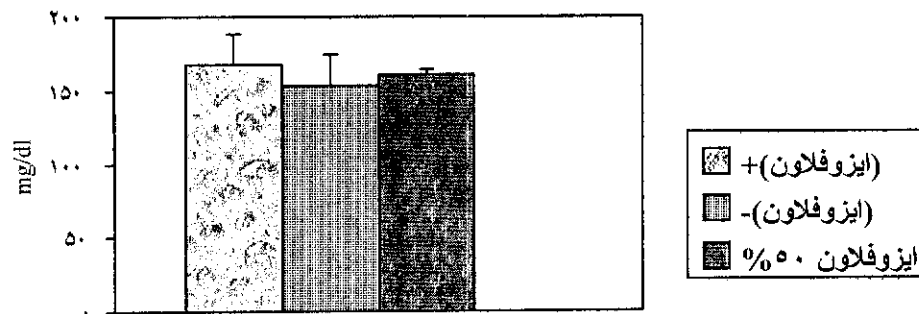
سویا تغییر بارزی را در این متغیر پدید نیاورده‌اند. البته این شاخص در مراحل رژیم پایه و هیپرکلسترولمیک شدن خرگوش‌ها سنجیده نشد.

نمودار ۲ حاکی از آن است که در طی دوره تجویز رژیم‌های سویا هیچگونه تغییر وزن محسوسی در خرگوش‌ها پدید نیامده که بیانگر مشابه بودن رژیم‌های مذکور است.

بحث :

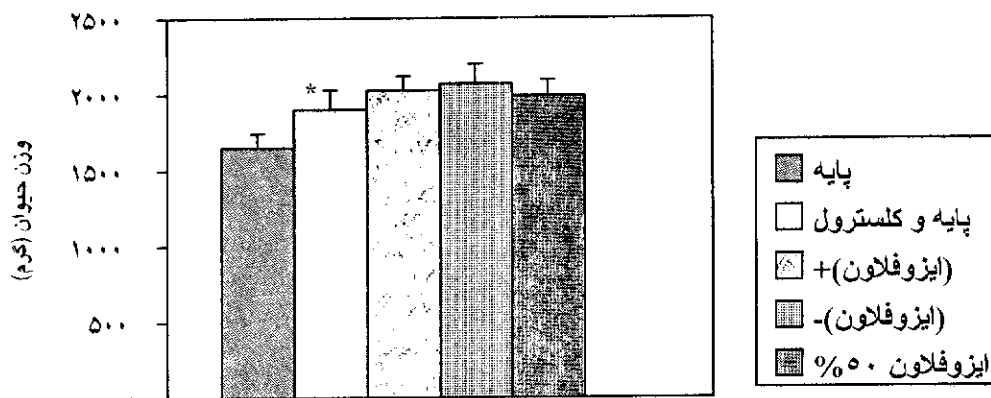
در سالهای اخیر بیماریهای ناشی از تمدن و یا به عبارت جدیدتر سندروم X در کشورهای پیشرفته این فرضیه را پدید آورده که رژیم‌های غذایی آسیایی و مدیترانه‌ای می‌تواند نقش محافظی در برابر این بیماریها (مقاومت نسبت به انسولین، پرفشاری خون، اختلالات لیپیدهای سرم و چاقی) داشته باشد (۱۹) و به همین دلیل تمایل به مصرف مواد غذایی با منشاء گیاهی بویژه سویا فزونی یافته است (۲۰).

لویبای سویا حاوی ترکیباتی از خانواده استروژنهای گیاهی به نام ایزوفلاون‌هاست که این مواد دارای ساختمانی شبیه به استروژن اندوژن یعنی ۱۷-بتااسترادیول بوده، در بدن می‌تواند اثرات استروژنیک/آنتی‌استروژنیک را براساس نوع رسپتور، نوع بافت، وجود یا عدم وجود استروژن اندوژن و نیز نوع ایزوفلاون از خود نشان دهند (۴-۱). ایزوفلاونهای سویا علاوه بر آنکه ویژگی آنتی‌اکسیدانی دارند (۲۱)، در مهار تکثیر سلولهای تومور سینه (۹ و ۸) و پروستات (۱۰)، کاهش عوارض یائسگی در خانم‌ها (۱۵ و ۱۲ و ۱۱) و بهبود پروفایل لیپیدی سرم بویژه کاهش سطح کلسترول تام، LDL-کلسترول و تری‌گلیسرید سرم (۱۴ و ۱۳)، افزایش سطح HDL-کلسترول (۲۲) و مهار اکسیداسیون LDL-کلسترول (۲۳ و ۲۱) نیز نقش داشته‌اند. اخیراً نیز کاهش جذب



نمودار ۱ - مقادیر قندخون خرگوشها در رژیمهای تحت بررسی

توضیح: در ابتدا آزمایش قندخون جزء متغیرهای تحت بررسی نبود و تنها در مورد رژیمهای سه گانه سویا انجام شده است. تفاوتها معنی دار نیستند.



نمودار ۲ - مقادیر وزن خرگوشها در رژیمهای تحت بررسی

* - $P < 0.001$ نسبت به رژیم پایه (پس از سه هفته). بین گروههای رژیم سویا تفاوتها معنی دار نیست.

در مورد تحقیقات انسانی می‌توان به تحقیق Bakhit و همکاران اشاره کرد که با دادن ۲۵ گرم سویا طی مدت ۴ هفته به صورت یک به مردان هیپرکلسترولمیک توانستند سطح کلسترول تام را کاهش و HDL- کلسترول را افزایش دهند (۳۰).
 با توجه به نتایج تحقیقات انجام شده روی میمونها توسط Anthony و شباهت این مدل با مدل انسانی (۱۷ و ۱۳) و نیز جمع بندی اثرات سویا بر پروفایل لیپیدی (۱۸) و با دقت به مکانیسم‌های مطرح در زمینه عملکرد ایزوفلاونها (۲۶) چنین بنظر می‌رسد که مقادیر بسیار کمتری نسبت به آنچه در این تحقیق به خرگوش‌ها داده شده (یعنی ۲۰۰ میلی‌گرم ایزوفلاون در روز) می‌تواند سبب بهبود پروفایل لیپیدی در انسان گردد. بویژه آنکه در این بررسی علاوه بر کاهش سطح کلسترول تام و LDL- کلسترول، سطح تری‌گلیسرید و VLDL نیز توسط رژیم سویای حاوی ایزوفلاون پایین آمده است. یافته‌های پژوهش حاضر علاوه بر آنکه اثر ایزوفلاونهای سویا را بر لیپیدهای سرم خرگوش‌های هیپرکلسترولمیک به عنوان یک پژوهش پایه مورد سنجش قرار داده، کاربرد بالینی مواد مذکور را در پیشگیری و کاهش یکی از مسایل شایع جوامع امروزی یعنی بیماری‌های قلبی- عروقی مطرح می‌سازد. همچنین اگر هم زمان با کاهش دریافت کلسترول رژیم غذایی، مصرف لوبیای سویا نیز در مقادیر توصیه شده (حدود ۲۵ گرم در روز) در برنامه غذایی روزانه قرار گیرد، اثرات مطلوب‌تری خواهد داشت. پژوهشگران امیدوارند که نتایج این بررسی بتواند در کاهش میزان بیماری‌های قلبی در کشور سودمند واقع شود.

(۱) کاهش کلسترول پلازما توسط: افزایش ترشح اسیدهای صفراوی، افزایش فعالیت گیرنده‌های LDL، افزایش سطح هورمونهای تیروکسین و محرکه تیروئید و کاهش جذب کلسترول؛ (۲) کاهش حساسیت LDL- کلسترول نسبت به اکسیداسیون؛ (۳) افزایش انعطاف‌پذیری شریانها؛ (۴) اثرات استروژنیک ایزوفلاونهای موجود در سویا. البته در جمع‌بندی اثرات سویا بر پروفایل لیپیدی بیش از ۶۰٪ از این ویژگی را به ایزوفلاونهای آن ارتباط می‌دهند (۱۸).
 به‌رحال افزایش لیپیدهای سرم بویژه سطح LDL- کلسترول با ازدیاد ریسک آتروسکلروز به عنوان مهم‌ترین عارضه بیماری‌های قلبی- عروقی همراه بوده است (۲۸ و ۲۷) و ایزوفلاونهای سویا علاوه بر اثرات استروژنیک دارای ویژگی آنتی‌اکسیدانی نیز هستند که هر دو خصوصیت قابلیت کاربرد این ترکیبات را در پیشگیری از بیماری‌های قلبی- عروقی نشان می‌دهد.
 در تحقیق حاضر مشاهده می‌شود که گروه‌های سه‌گانه سویا تنها در محتوای ایزوفلاون با یکدیگر تفاوت داشته‌اند و با توجه به اینکه معمولاً مقدار مورد استفاده در حیوانات آزمایشگاهی بدلیل گردش سریعتر جریان خون و سطح متابولیسم بالاتر، در حد بیشتری نسبت به انسان است، بنظر می‌رسد که مقادیر به مراتب کمتری از ایزوفلاونها می‌توانند در مورد انسان کاربرد داشته باشند و علاوه بر آن نتایج حاصله را می‌توان با اطمینان بیشتری به ایزوفلاونها نسبت داد. میزان توصیه شده دریافت ایزوفلاونها در انسان به منظور ایجاد اثرات فیزیولوژیک بین ۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم در روز می‌باشد (۱) و در کشورهای آسیایی نظیر ژاپن میزان دریافت گاه به ۲۰۰ میلی‌گرم در روز می‌رسد (۲۹).

جدول ۱ - مقادیر لیپیدهای سرم خروگوش‌ها در رژیم‌های تحت بررسی

ایزوفلاون ۰/۵۰ (۵)	(ایزوفلاون) - (۴)	(ایزوفلاون) + (۳)	پایه و کلسترول (۲)	پایه (۱)	رژیم‌ها لیپیدها
۱۲۴۳/۵ ± ۱۲۲/۴	۱۰۵۰/۴ ± ۲۰۲/۸b	۵۱۷/۲ ± ۱۶۲/۱	۴۱۵/۳ ± ۱۲۲/۶a	۴۳/۱ ± ۱۲/۶	کلسترول توتال
۱۱۳/۵ ± ۲۷/۵c	۸۴ ± ۳۹/۲	۵۱/۶ ± ۲۳/۳	۳۹/۳ ± ۲۱/۱	۴۲/۲ ± ۱۷/۴	تری‌گلیسرید
۱۱۸۷/۸ ± ۱۲۱/۹	۹۶۳/۸ ± ۱۹۶/۹b	۴۵۰/۲ ± ۱۶۸/۴	۳۶۷/۴ ± ۱۲۵/۹a	۱۵/۱ ± ۸/۹	LDL - C
۳۳ ± ۵/۹d	۵۸/۸ ± ۱۶/۱	۵۶/۶ ± ۱۲/۶	۴۰/۱ ± ۹/۹a	۱۸/۲ ± ۴/۳	HDL - C
۲۲/۶ ± ۵/۳c	۱۷ ± ۷/۶	۱۰/۴ ± ۴/۷	۷/۸ ± ۴/۲	۸ ± ۲/۷	VLDL - C

* مقادیر به شکل Mean ± SD هستند. مقیاس همه متغیرها mg/dl است.

-a P < 0.001 نسبت به گروه پایه

-b P < 0.001 نسبت به گروه (ایزوفلاون) +

-c P < 0.03 نسبت به گروه (ایزوفلاون) + و گروه پایه و کلسترول

-d P < 0.01 نسبت به گروه (ایزوفلاون) -

توضیح: تمامی خروگوش‌ها دارای رژیم پایه و کلسترول پیش از پایان دوره بررسی تلف شدند که می‌تواند بدلیل آتروسکلروز گسترده باشد.

- 7- Adlercreutz H, Mazur W. Phytoestrogens and Western diseases. *Ann Med.* 1997; 29: 95-120.
- 8- Lamartiniere CA, Moore JB, Brown NM, et al. Genistein suppresses mammary cancer in rats. *Carcinogenesis* 1995; 16: 2833-40.
- 9- Pagliacci MC, Samacchina M, Migliorati G. Growth inhibitory effects of the natural phytoestrogen genistein in MCF- 7 human breast cancer cells. *Eur J Cancer* 1994; 30: 1675-82.
- 10- Peterson G, Barnes S. Genistein and biochanin A inhibit the growth of human prostate cancer cells but not epidermal growth factor receptor tyrosine kinase autophosphorylation. *Prostate* 1993; 22: 335-45.
- 11- Wilcox G, Wahlqvist MI, Burger HG. Oestrogenic effects of plant foods in postmenopause women. *Br Med. J* 1990; 301: 905-6.
- 12- WHO Study Group Report. Assessment of fraction risk and its application to screening for postmenopausal. *WHO Tech Rep Ser* 1994; 843: 11-3.

References:

- 1- Setchell KDR. Phytoestrogens: the biochemistry physiology, and implications for human health of soy isoflavones. *Am J Clin Nutr.* 1998; 68 (Suppl): 1333S-46S.
- 2- Bingham SA, Athkinson C, Liggins J, Bluch L, Coward A. Phyto-oestrogens: where are we now? *Br Nutr* 1998; 79: 393-406.
- 3- Murkies AL, Wilcox G, Davis SR. Phytoestrogen. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 293-303.
- 4- Tham DM, Gardner CD, Haskell WL. Potential health benefits of dietary phytoestrogens: a review of the clinical, epidemiological and mechanistic evidence. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 2223-35.
- 5- Thorogood M, Mann J, Appleby P, McPherson K. Risk of death from cancer and heart disease in meat and non-meat eaters. *Br Med. J* 1994; 308: 1667-71.
- 6- Adlercreutz H. Western diet and Western disease: some hormonal and biochemical mechanisms and associations. *Scand J Clin Lab Invest* 1990; 201: 3-21.

- 22- Anthony MS, Clarkson TB, Williams JK. Effects of soy-isoflavones on atherosclerosis: potential mechanisms. *Am J Clin Nutr* 1998;68 (suppl): 1390S-93S.
- 23- Wei H, Bowen R, Cai Q, Barnes S, Wang Y. Antioxidant and antipromotional effects of the soybean isoflavone genistein. *Proc Soc Exp Biol Med* 1995; 208: 124-30.
- 24- Vedavanam K, Sriyayanta S, O'Reilly J, Raman A, Wiseman H. Antioxidant action and potential antidiabetic properties of an isoflavonoid-containing soybean phytochemical extract (SPE). *Phytother Res* 1999; 13(7): 601-8.
- 25- Akiyama T, Ishida J, Nakagawa S. Genistein: a specific inhibitor of tyrosine specific protein kinase. *J Biol Chem* 1987; 262: 5592-5.
- 26- Lichtenstein AH. Soy protein, isoflavones and cardiovascular disease risk. *J Nutr* 1998; 128: 1589-92.
- 27- Meydani M. Vitamin E and prevention of heart disease in high-risk patients. *Nutr Rev* 2000; 58(9): 278-81.
- 28- Duthie GG, Duthie SJ, Kyle JAM. Plant Polyphenols in cancer and heart disease: implications as nutritional antioxidants. *Nutr Res Rev.* 2000; 13: 79-106.
- 29- Coward L, Barnes NC, Setchell KDR, Barnes S. The isoflavones genistein and daidzein in soybean foods from American and Asian diets. *J Agric Food Chem* 1993; 44: 1961-7.
- 30- Bakhit RM, Klein BP, Essex-Sorlie D. Intake of 25g of soybean protein with or without soybean fiber alter plasma lipids in men with elevated cholesterol concentrations. *J Nutr* 1994; 125: 213-22.
- 13- Anthony MS, Clarkson TB, Weddle DI, Wolfe MS. Effects of soyprotein phytoestrogens on cardiovascular risk factors in rhesus monkeys. *J Nutr* 1995; 125: 803S-4S.
- 14- Honore EK, Williams Jk, Anthony MS, Clarkson TB. Soy isoflavones enhance coronary vascular reactivity in atherosclerotic female macaques. *Fertil Steril* 1997; 67: 148-54.
- 15- Eden JA, Knight DC, Howes JB. A controlled trial of isoflavones for menopausal symptoms. Abstract from the Eight International Congress on the Menopause. November 3-7, 1996; Sydney, Australia.
- 16- Crouse JR. Soy protein containing isoflavones reduces plasma concentrations of lipids and lipoproteins. *Circulation* 1998; 97: 816.
- 17- Anthony MS, Clarkson TB, Hughes CL, Moregan TM, Bruke GL. Soybean isoflavones improve cardiovascular risk factors without affecting the reproductive system of peripubertal rhesus monkeys. *J Nutr* 1996; 126: 43-50.
- 18- Anderson JW, Johnstone BM, Cook-Newell ME. Meta-analysis of the effects of soyprotein intake on serum lipids. *N Engl J Med* 1995; 333: 276-82.
- 19- Robertz K, Dunn K, Jean SK, Lardinois CK. Syndrome X: Medical nutrition therapy. *Nutr Rev* 2000; 58: 154-160.
- 20- Golbitz P. Traditional soyfoods: processing and products. *J Nutr* 1995; 125: 570S-72S.
- 21- Jhr HC, Von Recklighausen G, Zilliken F. Inhibition of in vitro microsomal lipid peroxidation by isoflavonoids. *Biochem Pharmacol* 1985; 34: 1367-9.