

بررسی اثر مصرف نان غنی شده با آرد سویا بر سطح لیپیدهای پلاسما و ارتباط آن با ژنوتیپ ApoE در زنان دچار اضافه وزن و چاقی

الهام شریفی ذهابی (MSc)^۱ - دکتر محمدحسین انتظاری (PhD)^۱ - دکتر محمدرضا مرائی (PhD)^۲

نویسنده مسئول: مرکز تحقیقات امنیت غذایی، گروه تغذیه بالینی، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

پست الکترونیک: entezari@hlth.mui.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله: ۹۳/۱۲/۰۶ تاریخ ارسال: ۹۴/۰۳/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۴/۲۱

چکیده

مقدمه: مصرف فراورده‌های سویا می‌تواند آثار دلخواهی بر عوامل خطر بیماری‌های قلبی - عروقی داشته باشد. احتمال دارد این آثار با پلی‌مرفیسم در ژن ApoE مرتبط باشد.

هدف: بررسی اثر مصرف نان غنی شده با آرد سویا بر پروفایل لیپیدی و ارتباط آن با ژنوتیپ ApoE در زنان دچار اضافه وزن و چاقی.

مواد و روش‌ها: در این کارآزمایی بالینی متقاطع ۳۰ زن دچار اضافه وزن و چاقی پس از دریافت رژیم کاهش وزن به‌طور تصادفی به دو گروه رژیم معمولی و نان سویا به مدت ۶ هفته تقسیم شدند. بین دو دوره ۲۰ روز wash out قرار داشت. در گروه نان سویا ۱۲۰ گرم نان غنی شده با آرد سویا جایگزین همین مقدار نان معمول مصرفی شد. نتایج: اثر معنی‌داری از مصرف نان سویا بر پروفایل لیپیدی در مقایسه با رژیم معمولی دیده نشد ($P > 0.05$). اما بررسی اثر دو گروه ژنوتیپی ApoE ($\epsilon 3/\epsilon 3$ و $\epsilon 2/\epsilon 2$ or $\epsilon 3$ or $\epsilon 2/\epsilon 3$) کاهش معنی‌داری در تری‌گلیسرید سرم در گروه E2 در مقایسه با E3 پس از دریافت نان سویا را نشان داد ($P = 0.02$). نتیجه‌گیری: مصرف نان سویا آثار مطلوبی بر تری‌گلیسرید سرم در زنان دچار اضافه وزن و چاقی با آلل E2 دارد.

کلید واژه‌ها: آپولیپروتین‌ای / چاقی / سویا / لیپیدها

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دوره بیست و چهارم شماره ۹۶، صفحات: ۹۶-۸۷

مقدمه

پلاسما به عنوان پیش‌آگهی میزان خطر بیماری‌های قلبی - عروقی مورد توجه زیادی قرار گرفته‌است (۱). مطالعات نشان داده‌اند که رژیم غذایی و شیوه زندگی فرد نقش مهمی در کنترل این عوامل خطر دارد. از عوامل غذایی می‌توان به نقش سویا و فرآورده‌های آن اشاره کرد. اثر مثبت فراورده‌های سویا بر عوامل خطر بیماری‌های قلبی - عروقی در چندین مطالعه در بیماران دچار دیابت، هیپرکلسترولمی و همچنین افراد سالم نشان داده شده‌است (۶-۵). سویا از دسته مواد غذایی است که دربردارنده ترکیبات سودمندی چون پروتئین‌های گیاهی، فیبر، اسیدهای چرب غیراشباع، لستین، آمینواسیدهای غیرضروری مثل آرژنین، گلیسین، آلانین و همچنین ایزو فلاون‌های جنستین و دایلدزئین است (۷). ایزوفلاون‌های سویا گردآمدن چربی در جگر و دیگر قسمت‌های بدن را کاهش داده و از چاقی و دیگر عوارض مرتبط با آن جلوگیری می‌کنند (۸). افزون بر آن شماری از

شیوع بیماری‌های قلبی - عروقی در سراسر جهان رو به افزایش است. بیماری‌های قلبی - عروقی از علل عمده ناتوانی و مرگ‌ومیر زودرس در کشورهای توسعه‌یافته و درحال توسعه به شمار می‌روند (۱). برپایه گزارش سازمان بهداشت جهانی در سال ۲۰۰۸ حدود ۴۵ درصد مرگ‌ها در ایران به دلیل بیماری‌های قلبی - عروقی بوده‌است (۲). چاقی و اضافه وزن از مهم‌ترین عوامل خطر این بیماری‌ها محسوب می‌شوند. خطر ابتلای به بیماری عروق کرونر در مردان و زنان چاق به ترتیب ۲ و ۲/۴ برابر بیشتر است (۳). چاقی با اختلال سطح لیپیدهای پلاسما (دیس‌لیپیدمی) همراه است. دیس‌لیپیدمی که در برگیرنده افزایش میزان لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL-C) و کاهش لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL-C) است، در پیش‌بینی میزان خطر بیماری‌های قلبی - عروقی نسبت به دیگر عوامل خطر ارزش بیشتری دارد. برهمین پایه در سال‌های اخیر سطح لیپیدها و لیپوپروتئین‌های

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

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

میزان پاسخ افراد به مداخله تغذیه‌ای اثرگذار است، این مطالعه با هدف بررسی اثر مصرف نان غنی شده با آرد لوبیای سویا بر فراسنج‌های لیپیدی و ارتباط آن با ژنوتیپ‌های ApoE در زنان دچار اضافه وزن و چاقی انجام شده‌است.

مواد و روش‌ها

افراد مورد مطالعه: این مطالعه یک کارآزمایی بالینی متقاطع (Cross-over Randomized Clinical Trial) با دو دوره مداخله‌ی ۶ هفته‌ای و یک دوره آبیگری (Wash out) ۲۰ روزه بود. زنان دچار چاقی و اضافه وزن با فراخوان به مطالعه وارد شدند. معیارهای ورود به مطالعه شامل: زنان در محدوده سنی ۱۹ تا ۳۵ سالگی، نمایه توده‌بدنی بین 25 kg/m^2 تا 35 kg/m^2 ، نداشتن بیماری‌های مزمن مثل سرطان، بیماری‌های قلبی-عروقی، دیابت، بیماری‌های کلیوی و کبدی، مصرف نکردن داروهای خاص، استعمال نکردن دخانیات، پیروی نکردن از رژیم غذایی خاص و عدم بارداری و شیردهی بود.

داشتن آلرژی غذایی یا آلرژی به سویا، مصرف داروهایی با تداخل با پروتکل مطالعه، بروز هرگونه بیماری مزمن یا حاد و شروع به پیروی از یک رژیم غذایی خاص جزء معیارهای خروج از مطالعه بودند. حجم نمونه با فرمول پیشنهادی برای مطالعات متقاطع تعیین شد (۱۳).

$$n = [(Z 1-\alpha/2 + Z 1-\beta)^2 \cdot S^2] / 2(\Delta)^2$$

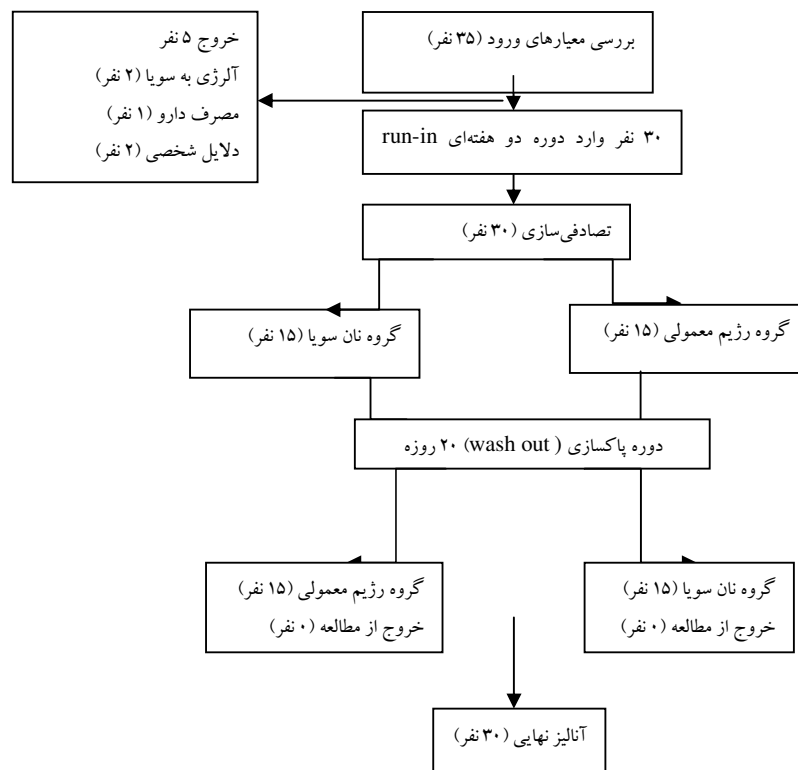
در این فرمول $Z 1-\alpha/2$ برابر ۱/۹۶ و $Z 1-\beta$ برابر ۰/۸۵ بود و با در نظر گرفتن میزان LDL-C به‌عنوان متغیر اصلی، $S=1$ (واریانس LDL-C) و $\Delta=0/4$ (اختلاف پذیرفتنی در میانگین LDL-C) در نظر گرفته شد (۱۴). بنابراین، برپایه فرمول، حجم نمونه لازم برای مطالعه ۲۴ نفر برآورد شد.

به‌طور کلی، ۳۵ نفر با فراخوان، داوطلب شرکت در پروژه شدند که پس از غربالگری براساس معیارهای ورود ۵ نفر از مطالعه به دلایل: آلرژی به سویا (۲ نفر)، مصرف دارو (۱ نفر) و دلایل شخصی (۲ نفر) از مطالعه خارج و سرانجام ۳۰ نفر وارد مطالعه شدند. همه افراد پیش از ورود به مطالعه، فرم‌های رضایت‌نامه کتبی را امضاء کردند. شکل ۱ طرح پیشنهادی مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تصویب شد.

مطالعات نشان داده‌اند که جایگزینی پروتئین حیوانی در رژیم غذایی با پروتئین سویا با کاهش سطح لیپیدهای پلازما همراه است. این آثار به ترکیبات موجود در پروتئین سویا مانند آمینو اسیدهای ویژه، ساپونین، لسیتین، فیتواستروژن و ایزوفلاون‌ها نسبت داده شده‌است (۹). اما با این حال، مطالعاتی وجود دارند که نشان می‌دهند مصرف ترکیبات سویا اثر معنی‌داری در کاهش وزن، کاهش سطح LDL و دیگر عوامل خطر سبب بیماری‌های قلبی-عروقی ندارد (۱۰). بنازگی گزارش شده نقش سویای کامل در کاهش خطر بیماری‌های قلبی-عروقی نسبت به دیگر ترکیبات آن بیشتر است. اثر سینرژیستی ترکیبات موجود در سویای کامل آن را به فرآورده‌های با توان نهفته سودمند در کنترل چاقی و بیماری‌های مرتبط با آن تبدیل کرده‌است. بیشتر مطالعات انجام شده پیرامون سویا بر زنان میانسال یا زنان یائسه بوده‌است و مطالعه بر زنان جوان دچار اضافه وزن و چاقی اندک و متناقض است. از سویی میزان پاسخ عوامل خطر بیماری‌های قلبی-عروقی به دریافت‌های غذایی می‌تواند متأثر از تفاوت ژنتیکی افراد باشد. آپولیپوپروتئین E (ApoE) نقش مهمی در متابولیسم طبیعی لیپیدها دارد. ژن آپولیپوپروتئین E به شدت پلی‌مریک است اما سه آلل معمول آن یعنی $\epsilon 2$ ، $\epsilon 3$ و $\epsilon 4$ سه ایزوفرم اصلی آپو E را می‌سازند. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که آلل‌های مختلف آپو E آثار متفاوتی بر میزان پاسخ سطوح لیپیدهای پلازما به رژیم‌های درمانی دارند (۱۱). بنابراین، بررسی سهم ژنتیک و اثر تفاوت ژنتیکی افراد بر میزان پاسخ آنها به مداخلات تغذیه‌ای از اهمیت بسزایی دارد. آرد سویا یکی از محصولات سویای کامل است که از نظر ترکیب اجزا مشابه دانه کامل سویاست. از آنجا که مصرف منظم سویا بویژه به شکل سویای کامل آثار سودمندی بر عوامل خطر بیماری‌های قلبی-عروقی دارد، غنی‌سازی غلات (مانند نان) با آرد سویا راهکاری مهم در جهت افزایش مصرف روزانه سویاست. این کار، همچنین، روشی مقرون به صرفه برای بهبود کیفیت پروتئین این محصولات است (محدودیت لیزین در پروتئین غلات) (۱۲). بنابراین، با توجه به اینکه چاقی عامل خطر قوی برای بیماری‌های قلبی-عروقی است و تفاوت ژنتیکی افراد بر

این تحقیق در سایت ثبت کارآزمایی‌های بالینی ایرانیان (www.irct.ir) با کد IRCT2013073114237N1 به ثبت رسیده است.

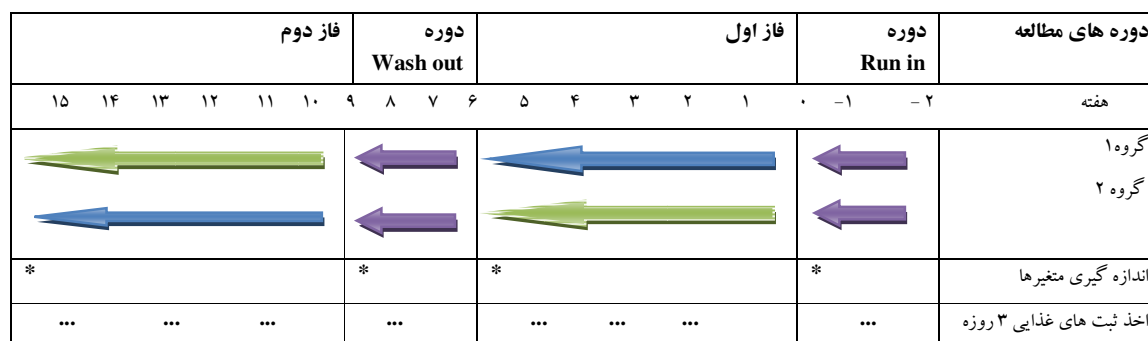
شکل ۱: فرایند ورود افراد به مطالعه



شرکت‌کنندگان فراهم شد و از آنان خواسته شد که میزان معمول فعالیت فیزیکی خود را در طول مدت مطالعه تغییر ندهند. برای اطمینان از پیروی افراد از پیشنهادهای ارائه شده هر دو هفته یکبار یک ثبت فعالیت فیزیکی ۳ روزه از افراد گرفته می‌شد. فرمول تهیه نان سویا بر پایه جایگزینی ۳۰ درصد از آرد گندم با آرد سویای تفت داده شده طراحی شد. از افراد شرکت‌کننده در گروه نان سویا خواسته شد ۱۲۰ گرم 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 نان را به صورت تازه مصرف کنند یا در صورت لزوم آن را فریز کرده و پس از دفریز مصرف کنند. افراد در گروه کنترل بر رژیم معمول خود بودند و از آنان درخواست شد که از مصرف سویا و فرآورده‌های سویا پرهیز کنند.

روش مطالعه: این مطالعه یک کارآزمایی بالینی متقاطع بود که بر ۳۰ زن جوان دچار اضافه وزن و چاقی در سطح دانشگاه علوم پزشکی اصفهان در سال ۱۳۹۱ انجام شد. پس از یک دوره run in به مدت دو هفته افراد مورد مطالعه به‌طور تصادفی (به روش بلوک‌های تصادفی) به دو گروه تقسیم شدند. گروه اول رژیم با محدودیت انرژی و حاوی نان سویا و گروه دوم فقط رژیم معمولی با محدودیت انرژی دریافت کردند. مدت دوره مداخله در هر گروه ۶ هفته بود. به دلیل اختلاف در رنگ، طعم 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 به مدت ۲۰ روز بین دو دوره مطالعه وجود داشت. در این دوره افراد به رژیم قبل از شروع مطالعه برگشتند. اندازه‌گیری وزن بدن و فراسنج‌های لیپیدی چهار مرتبه در ابتدای مطالعه، هفته‌های ۶، ۹ و ۱۵ انجام شد. شکل ۲ طراحی مطالعه را نشان می‌دهد. یک رژیم کاهش وزن برای همه

شکل ۲. طراحی مطالعه



گروه ۱: از رژیم حاوی نان سویا به رژیم کنترل

گروه ۲: از رژیم کنترل به رژیم حاوی نان سویا

جدول ۱. ترکیب مواد مغذی نان سویا

مقدار	مواد مغذی در ۱۰۰ گرم
۷/۲	چربی (gr)
۴۴/۳	کربوهیدرات (gr)
۱۴/۱	پروتئین (gr)
۲۸/۲۴	رطوبت (gr)
۲/۵	خاکستر (gr)

اندازه گیری ها: وزن بدن با ترازوی استاندارد و با دقت ۰/۱ در حالی که شرکت کنندگان با کمینه پوشش و بدون کفش بودند ثبت شد. قد با متر نواری در حالت ایستاده و در شرایط بدون کفش و شانه ها در وضعیت طبیعی اندازه گیری شد. شاخص توده بدنی (BMI) با تقسیم وزن (kg) بر مجذور قد (m²) محاسبه شد.

نمونه خون سیاهرگی پس از ۱۰-۱۲ ساعت ناشتا از هر فرد گرفته شد. نمونه سرم پس از سانتریفوژ در ۲۵۰۰×g به مدت ۱۰ دقیقه جدا شد. غلظت کلسترول تام (TC) و تری گلیسرید (TG) سرم به روش آنزیمی و با کیت بیوسیستم (BioSystem S.A. Costa Brava30, Barcelona, Spain) تعیین شد. غلظت HDL-C از روش آنزیمی مستقیم و با کیت بیوسیستم اندازه گیری شد. از آنجا که هیچ کدام از افراد مورد مطالعه سطح تری گلیسرید بیش از ۴۰۰mg/dl نداشتند اندازه گیری غلظت LDL-C با فرمول فرید والد انجام شد (۱۶).

رژیم ها: دو رژیم غذایی برای هر فرد طراحی شد. (۱) رژیم کنترل: رژیم معمولی با محدودیت ۳۰۰ تا ۵۰۰ کالری در روز بود. از افراد این گروه خواسته شد که رژیم معمول خود را ادامه داده و از مصرف سویا و فراورده های آن پرهیز کنند. (۲) 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 ۱۲۰ گرم نان سویا را جایگزین مقدار مشابه از نان معمول مصرفی خود و در مواقع ضروری دیگر مواد غذایی کربوهیدراتی مثل برنج، پاستا و... کنند و از مصرف دیگر فراورده های سویا خودداری کنند. رژیم های غذایی از نظر چربی کل، پروتئین و کربوهیدرات طبق محتوای درشت مغذی نان ها تعدیل شد. جدول ۱ ترکیب درشت مغذی های نان سویا را بر اساس آنالیز ما نشان می دهد. انرژی مورد نیاز روزانه بر اساس فرمول پیشنهادی توسط مؤسسه پزشکی، گروه غذا و تغذیه محاسبه شد (۱۵). ترکیب درشت مغذی ها در هر رژیم به صورت ۶۰-۵۰٪ کربوهیدرات، ۲۰-۱۵٪ پروتئین و کمتر از ۳۰٪ انرژی از چربی بود. فواید هر رژیم برای داوطلبان توضیح داده شد و دستور کار کتبی، منوهای غذایی و فهرست جانشینی در اختیار آنها قرار گرفت. برای ارزیابی دریافت های غذایی هر دو هفته یکبار ثبت غذایی ۳ روزه (دو روز کاری و یک روز تعطیل) از شرکت کنندگان گرفته شد. پیروی افراد بر پایه آنالیز ثبت های غذایی و همچنین حضور آنها در نشست هایی بود که هر دو هفته یکبار توسط پژوهشگر برگزار می شد.

۹۰٪ مجرد بودند. هیچ‌گونه عارضه جانبی در نتیجه مصرف نان سویا از سوی افراد مطالعه گزارش نشد. جدول ۲، دریافت غذایی را در مدت مطالعه بر پایه ثبت غذایی نشان می‌دهد. تفاوت معنی‌داری از نظر دریافت انرژی، درشت‌مغذی‌ها و فیبر بین دو گروه دیده نشد. مقایسه معادل متابولیکی در هر ساعت در روز اختلاف معنی‌داری بین دو گروه نشان نداد (ME-h/d $33/2 \pm 2/9$ و MET-h/d $33/5 \pm 2/9$ به ترتیب در رژیم معمولی و رژیم حاوی نان سویا، $P=0/39$). یعنی طبق انتظار ما سطح فعالیت فیزیکی در طول دو دوره مطالعه اختلاف معنی‌داری نداشت. آنالیزها برای اثر انتقالی (Carry over effect) و اثر دوره (Period effect) معنی‌دار نبود ($P>0/05$). در مورد ژنوتیپ آپوE توزیع ژنوتیپ‌ها به این صورت بود: ۱۷٪ برای ژنوتیپ $\epsilon 2/\epsilon 3$ (۵ نفر)، ۵۲٪ برای $\epsilon 2/\epsilon 2$ (۱۵ نفر)، ۲۴٪ برای $\epsilon 2/\epsilon 3$ (۷ نفر)، ۴٪ برای $\epsilon 2/\epsilon 4$ (۱ نفر) و ۴٪ برای $\epsilon 4/\epsilon 4$ (۱ نفر). افراد مورد مطالعه به دو گروه E2: فردی که ژنوتیپ $\epsilon 2/\epsilon 2$ داشتند و E3: حاملان دست کم یک آلل $\epsilon 3$ ($\epsilon 2/\epsilon 3$ یا $\epsilon 3/\epsilon 3$) تقسیم شدند. ۲ نفر از افراد با ژنوتیپ $\epsilon 4/\epsilon 4$ و $\epsilon 2/\epsilon 4$ از آنالیز خارج شدند. به دلیل تعداد کم افراد با ژنوتیپ $\epsilon 3/\epsilon 3$ در گروه نان سویا (۲ نفر) در فاز دوم مطالعه مقایسه تأثیر ژنوتیپ بر پاسخ به دو رژیم ممکن نبود. بنابراین، از آنالیز Mann whitney برای مقایسه اثر دو گروه ApoE (E2 در مقایسه با E3) بر پاسخ متغیرها به نان سویا بدون در نظر گرفتن گروه کنترل استفاده شد. تأثیر دو رژیم بر فراسنج‌های لیپیدی شامل HDL-c، TG، TC، LDL-c در جدول ۳ نشان داده شده‌است. در مقایسه با رژیم معمولی سطوح سرمی TG، TC، LDL-c پس از مصرف نان سویا کاهش یافت (میانگین اختلاف تغییر به ترتیب: $P=0/27$ ؛ $0/26 \pm 1/67$ ؛ $P=0/1$ ، $3/09 \pm 1/3/8$ ؛ $P=0/23$ ، $2/2 \pm 1/0/8$ ؛ اما اختلاف دو گروه از نظر آماری معنی‌دار نبود. در مورد HDL-c کاهشی خفیف پس از مصرف نان سویا در مقایسه با رژیم معمولی دیده شد (میانگین اختلاف تغییر: $P=0/99$ ؛ $0/017 \pm 2/52$ ؛ اما این کاهش نیز از نظر آماری معنی‌دار نبود. تأثیر دو گروه ApoE بر پاسخ فراسنج‌های لیپیدی در جدول ۴ نشان داده شده‌است. نتایج آزمون Mann whitney

استخراج DNA: ژنوم از ۲۰۰ میکرولیتر خون کامل با استفاده از High Pure PCR (Roche Germany) Template preparation kit استخراج شد

طراحی پرایمرهای الیگونوکلئوتیدی: توالی ApoE انسانی (NG_007084.2, NCBI reference assembly sequence) جهت طراحی پرایمر طبق روش Calerol و همکاران مورد استفاده قرار گرفت (۱۷).

تکثیر DNA: طبق روش Calero و همکاران با استفاده از Real Time PCR (Corbett research 6000 system) تکثیر شد (۱۷). سه مخلوط واکنشی از پرایمرهای ترکیبی برای تولید محصولات انبوه شده ۱۷۳ جفت بازی از جمله:

- 1) Reaction (ApoE_112C and ApoE_158C as primers) 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.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: ثبت غذایی با نرم‌افزار Nut4 (Nutritionist 4) آنالیز شد. آنالیز آماری تمام داده‌ها با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ انجام شد. برای تعیین اثر اصلی (Main effect) ابتدا تغییر هر دوره (انتهای دوره منهای ابتدای دوره) برای هر متغیر محاسبه شد و سپس با Paired t-test تغییر بین دو دوره با هم مقایسه شد. اثر ApoE نیز با ارتقا Paired t-test تعیین شد. برای بررسی اثر دوره و اثر انتقالی آزمون t بکار رفت. تمام نتایج بر حسب میانگین \pm انحراف معیار (Mean \pm SD) گزارش شده‌است. برای تمام آنالیزها مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

تبعیت افراد از رژیم‌ها (بر اساس آنالیز ثبت‌های غذایی و حضور آنها در جلسات دوره‌ای) خوب بود و همه افراد مطالعه را تا انتها ادامه دادند. تعیین ApoE در ۲۹ نفر انجام شد. میانگین سن و BMI افراد به ترتیب $3/14 \pm 22/1$ سال و $28/75 \pm 2/63$ (kg/m^2) بود. ۱۰٪ شرکت‌کنندگان متاهل و

برای مقایسه تأثیر دو گروه ApoE (E3 در مقابل E2) بر پاسخ فراسنج‌های لیپیدی به دریافت نان سویا، کاهش معنی‌دار در سطح سرمی TG در افراد گروه E2 در مقایسه با گروه E3 پس از مصرف نان سویا را نشان داد ($P=0/019$) (جدول ۵).

جدول ۲. دریافت انرژی و مواد مغذی افراد در طول مطالعه*

مواد مغذی	دوره نان سویا (۳۰ نفر)	دوره رژیم معمولی (۳۰ نفر)	میانگین اختلاف تغییرات**	مقدار P***
انرژی (کالری)	۲۰۶۳±۳۴۲	۲۰۵۰±۳۲۹	۱۶/۲±۷۵/۰۱	۰/۲۶
کربوهیدرات (گرم)	۲۹۰/۸±۴۶/۴۲	۲۸۷±۴۵/۵	۴/۳۷±۱۳/۵۶	۰/۱
پروتئین (گرم)	۹۱/۶۸±۱۵/۰۳	۸۹/۸±۱۵/۲	۲/۰۵±۶/۴	۰/۱
چربی کل (گرم)	۶۴/۲±۱۲/۶	۶۴/۵۳±۱۱/۵	-۰/۲۱±۴/۸	۰/۸
چربی اشباع (گرم)	۱۵/۱±۳/۵۳	۱۸/۴±۴/۱۱	-۳/۲۵±۳/۰۹	۰/۰۸
اسید چرب یک غیر اشباع (گرم)	۱۶/۸۵±۴/۶	۱۸/۵±۴/۷	-۱/۵±۲/۸	۰/۳۶
اسید چرب چند غیر اشباع (گرم)	۲۵/۰۵±۵/۸	۲۱/۱±۴/۶۳	۳/۸±۴/۸	۰/۴۷
فیبر (گرم)	۲۴/۱±۶/۰۲	۲۰/۱۱±۳/۲	۴/۳±۴	۰/۵۶

* همه مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده است (Mean ± SD).

** اختلافات میانگین متغیرها بین دو گروه (نان سویا منهای رژیم معمولی).

*** مقدار P برای اختلافات بین دو گروه (Paired t-test).

جدول ۳. تأثیر نان سویا بر پروفایل لیپیدی*

متغیرها	فاز ۱ (۳۰ نفر)		فاز ۲ (۳۰ نفر)		مقدار P***	میانگین اختلاف تغییرات***
	هفته ۶	هفته ۹	هفته ۱۵	مقدار P**		
کلسترول						
نان سویا	۱۶۲/۱±۳۵/۳	۱۷۹/۴±۲۷/۱	۱۷۱/۷±۲۲/۷	۰/۰۵	۳±۱۳/۸	۰/۲۳
رژیم معمولی	۱۷۷±۲۸/۵	۱۵۹/۳±۲۱/۸	۱۵۵/۸±۲۲	۰/۰۳		
تری گلیسرید						
نان سویا	۱۰۱±۴۲/۴	۱۱۲/۹±۵۴/۳	۱۰۶/۷±۵۰/۴	۰/۰۱	۵/۳±۱۶/۸	۰/۱
رژیم معمولی	۱۰۵/۳±۴۶/۸	۱۰۴/۶±۳۳/۴	۱۰۱/۶±۳۹	۰/۰۹		
LDL-c						
نان سویا	۹۹/۲±۲۸/۷	۱۱۵/۳±۲۵/۵	۱۰۸/۴±۲۲/۵	۰/۰۰۵	۲/۲±۱۱	۰/۲۷
رژیم معمولی	۱۱۳/۲±۲۴/۲	۹۸/۰۳±۱۸/۶	۹۴/۶±۱۹/۶	۰/۰۲		
HDL-c						
نان سویا	۴۱/۵±۷/۴	۴۱/۵±۹/۲	۴۲±۹/۳	۰/۱۳	۰/۰۰۲±۲/۵	۰/۹
رژیم معمولی	۴۲/۸±۸/۴	۴۰/۳±۸/۰۳	۴۱/۲±۷/۵	۰/۰۴		

* همه مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده است (Mean ± SD).

** مقدار P برای اختلافات قبل و پس

*** اختلافات میانگین متغیرها بین دو گروه (نان سویا منهای رژیم معمولی).

**** مقدار P برای اختلافات بین دو گروه (Paired t-test).

جدول ۴. اختلاف متغیرها بین نان سویا و رژیم معمولی در دو گروه E2 و E3*

اختلاف میانگین متغیرها**	E2 (E2/E2) (۱۵ نفر)	مقدار P	E3 (E3/E3, E2/E3) (۱۲ نفر)	مقدار P
کلسترول	۲/۹±۹/۶	۰/۲۵	۳/۵±۱۲	۰/۲
تری گلیسرید	۵/۷±۱۷/۷	۰/۲۳	۵/۹±۱۷	۰/۱۲
LDL-c	۲±۷/۳	۰/۳	۲/۲±۱۰	۰/۳
HDL-c	-۰/۳۴±۲/۱	۰/۵	۲/۳±۰/۴۷	۰/۸

* همه مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده است (Mean ± SD).

** اختلافات میانگین متغیرها بین دو گروه (نان سویا منهای رژیم معمولی).

جدول ۵. مقایسه تأثیر دو گروه ApoE بر پاسخ تری گلیسرید*

متغیر	گروه E3 (۱۰ نفر)	گروه E2 (۵ نفر)	P مقدار
میانگین	۳/۸ ± ۱۹/۲	۲۵ ± ۱۷	
اختلاف تری گلیسرید**	۱۲	۳۱	۰/۰۲
رنج	(-۲۵ - ۳۰)	(-۵ - ۳۵)	

*مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار (Mean ± SD) نشان داده شده است.

**میانگین سطح تری گلیسرید قبل از دریافت نان سویا منهای میانگین سطح تری گلیسرید پس از دریافت نان سویا

بحث و نتیجه گیری

دارد و می‌تواند از بیماری‌های قلبی عروقی ناشی از یائسگی پیشگیری کند. توانایی سویا در کاهش کلسترول سرم به اثر سینرژیستی اسیدهای چرب غیراشباع، ساپونین، فیتواسترول، فیبر، اینوزیتول، لسیتین و دیگر ترکیبات سویا نسبت داده شده است (۲۶). بختیاری و همکاران نیز در بررسی اثر دانه کامل سویا و پروتئین آن بر پروفایل لیپیدی و دیگر عوامل خطر بیماری‌های قلبی-عروقی در زنان سالمند دچار سندرم متابولیک نشان داده‌اند که سطوح سرمی کلسترول تام و LDL-C در اثر مصرف هر دو نوع ترکیب سویا کاهش یافته است. اما تأثیر دانه سویا در مقایسه با پروتئین آن بر کاهش این عوامل خطر بیشتر بود (۲۷).

برپایه نتایج این مطالعه تأثیر معنی‌داری از مصرف نان سویا بر پروفایل لیپیدی مشاهده نکردیم. این یافته ممکن است به سرشت افراد مورد مطالعه نسبت داده شود. در این مطالعه زنان جوان دچار اضافه وزن و چاقی که هیچ‌گونه پیشینه بیماری مزمنی نداشتند مورد مطالعه قرار گرفتند. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که آثار مفید سویا بر پروفایل لیپیدی در افراد دچار هایپرکلسترولمی چشمگیرتر است (۲۸). افزون بر آن تأثیر ژنتیک بر پاسخ عوامل خطر بیماری‌های قلبی-عروقی به مداخل تغذیه‌ای را نیز نباید نادیده گرفت. پاسخ متغیرهای مورد بررسی در این مطالعه به دریافت نان سویا نیز ممکن است تحت تأثیر پلی‌مرفیسم در ژن ApoE قرار گرفته باشد (۲۹). در این مطالعه مقایسه آثار رژیم معمولی و رژیم حاوی نان سویا بر فراسنج‌های لیپیدی در گروه‌های ApoE آثار معنی‌داری از ژنوتیپ را نشان نداد. اما هنگامی که اثر ژنوتیپ تنها در گروه نان سویا مورد بررسی قرار گرفت کاهشی معنی‌دار در سطح تری گلیسرید سرم پس از مصرف نان سویا در گروه E2 (E2/ E2) در مقایسه با گروه E3/ E3 or E2/ E3

هدف از این مطالعه بررسی اثر مصرف نان سویا بر فراسنج‌های لیپیدی در زنان دچار اضافه وزن و چاقی بود. ما، همچنین، اثر تفاوت ژنتیکی افراد (با شناسایی ژنوتیپ‌های ApoE) بر پاسخ متغیرها به دریافت نان سویا را بررسی کردیم. نتایج این مطالعه نشان داد که دو نوع رژیم حاوی نان سویا و رژیم معمولی از نظر اثر بر فراسنج‌های لیپیدی تفاوت معنی‌داری ندارند. نتایج مطالعات پیرامون سویا و عوامل خطر بیماری‌های قلبی عروقی متناقض است. Campbell و همکاران در مطالعه بر زنان دچار هایپرکلسترولمی متوسط و در سنین پس از یائسگی نشان دادند که مصرف پروتئین سویا به مدت یک سال اثر معنی‌داری بر سطوح کلسترول تام و تری گلیسرید ندارد (۱۸). Liu و همکاران نیز در مطالعه‌ای نشان دادند که دریافت متوسط پروتئین سویا به همراه ایزوفلاون به مدت ۳ و ۶ ماه موجب تغییر معنی‌دار در سطوح TC و LDL-C نمی‌شود (۱۹). داده‌های چند کارآزمایی بالینی دیگر نیز تأثیر معنی‌داری از دریافت سویا یا ایزوفلاون‌های آن بر فراسنج‌های لیپیدی را گزارش نکرده‌اند (۲۰ و ۲۱). در سال‌های اخیر بیشتر مطالعات انجام شده در مورد سویا بیشتر بر زنان یائسه یا افراد بیمار تمرکز داشته‌اند و اطلاعات در مورد تأثیر این ماده غذایی بر عوامل خطر بیماری‌های قلبی عروقی در زنان جوان اندک است (۲۰ و ۲۱). برخلاف مطالعه ما نتایج حاصل از چندین کارآزمایی بالینی بر محصولات سویا از جمله شیر سویا، پروتئین سویا با β سیتوسترول یا آجیل سویا تأثیر مفیدی از مصرف فراورده‌های سویا بر فراسنج‌های لیپیدی سرم گزارش کرده‌اند (۲۳-۲۵). Chiechi و همکاران در مطالعه‌ای بر زنان یائسه نشان دادند که مصرف رژیم غنی از سویا آثار دلخواهی بر پروفایل لیپیدی

دیگر محدودیت‌های مطالعه بود. اما برای کاهش اشتباه کارکنان آزمایشگاه و کسانی که آنالیز آماری مطالعه را انجام دادند از گروه‌های مداخله آگاهی نداشتند. همچنین، در این مطالعه پاسخ‌دهی افراد بر اساس توانایی سنتز equol ارزیابی نشد. طبق گزارش بعضی از مطالعات پاسخ‌دهی افراد به دریافت سویا برحسب توانایی آن‌ها در سنتز equol متفاوت است (۳۲). بنابراین، پژوهش بیشتری در این مورد نیاز است. طراحی مقاطع مطالعه، بررسی اثر تفاوت ژنوتیپی، تبعیت عالی افراد مورد مطالعه و انتخاب نان سویا به عنوان خوراکی فراویژه از نقاط قوت مطالعه ما بود.

رژیم حاوی نان سویا می‌تواند آثار مفیدی بر سطح تری‌گلیسرید سرم در زنان دچار اضافه وزن و چاقی با آلل $\epsilon 2$ داشته باشد. با این حال برای تأیید این نتایج مطالعات نوتریژنتیک بیشتری نیاز است.

تشکر و قدردانی: این مطالعه با کد ۲۹۲۰۴۸ از معاونت تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان پشتیبانی شده است. نویسندگان این مقاله از همه افراد شرکت‌کننده در این مطالعه سپاسگزاری می‌کنند.

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافی ندارند.

E3 مشاهده شد. مطالعات پیرامون اثر ژنوتیپ بر پاسخ پروفایل لیپیدی به دریافت‌های غذایی محدودند. برخلاف نتایج این مطالعه، Gaddi و همکاران در مطالعه خود نشان دادند که مصرف پروتئین سویا منجر به کاهش کلسترول تام در افراد با ژنوتیپ $\epsilon 3/\epsilon 3$ یا $\epsilon 3/\epsilon 4$ می‌شود (۳۰). در مطالعه‌ای دیگر توسط Sanchez-Muniz و همکاران، مصرف استرول‌های گیاهی باعث کاهش بیشتری در سطوح کلسترول تام و LDL-C در حاملان آلل $\epsilon 2/\epsilon 2$ یا $\epsilon 2/\epsilon 3$ و $\epsilon 2/\epsilon 3$ در مقایسه با گروه کنترل شد. این مطالعه همچنین نشان داد که تری‌گلیسرید سرم تنها در حاملان آلل $\epsilon 2$ کاهش یافته است (۳۱). شمار اندک مطالعات مربوط به سویا که به‌طور همزمان اثر ژنوتیپ را هم مورد بررسی قرار داده‌اند، اهمیت نیاز به مطالعات نوتریژنتیک بیشتر را در آینده روشن می‌سازد. مطالعه حاضر نقاط قوت و محدودیت‌هایی دارد. گرچه بررسی اثر ژنوتیپ ApoE بر پاسخ متغیرهای مورد مطالعه به دریافت رژیم‌های غذایی از نقاط قوت مطالعه حاضر بود اما ماهیت گذشته‌نگر ژنوتیپ افراد منجر به ورود تعداد کم افراد به گروه‌های مختلف ژنوتیپی شد که این امر خود یکی از دلایل تفسیر محتاطانه نتایج مطالعه بود. دو سوکور نبودن مطالعه به دلیل اختلاف رنگ و طعم نان از

منابع

1. Kankeu H T, Saksena P, Xu K, Evans D B. The financial burden from non communicable diseases in low- and middle-income countries: a literature review. *Health Res Policy Syst* 2013; 11:31.
2. Noncommunicable diseases country profiles 2011 WHO global report. 2011. Available from: http://www.who.int/nmh/publications/ncd_profiles2011/en/ Accessed Jul 10. 2013 .
3. Barbosa JA, Rodrigues AB, Mota CC. Cardiovascular dysfunction in obesity and new diagnostic imaging techniques: the role of noninvasive image methods. *Vasc Health Risk Manag* 2011;7:287-95.
4. Raymond JL. Medical Nutrition Therapy for Cardiovascular Disease. In: Mahan LK, Escott-Stump S, Raymond JL. Krause's food and the nutrition care process. 13th Edition. USA. Saunders; 2012: 743-744.
5. Pipe EA, Gobert CP, Capes SE, Darlington GA, Lampe JW, Duncan AM. Soy protein reduces serum LDL cholesterol and the LDL cholesterol:HDL cholesterol and apolipoprotein B:apolipoprotein A-I ratios in adults with type 2 diabete. *J Nutr* 2009 ;139(9):1700-6.
6. Maki KC, Butteiger DN, Rains TM, Lawless A, Reeves MS, Schasteen C, 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.
7. Reinwald S, Akabas SR, Weaver CM. Whole versus the piecemeal approach to evaluating soy. *J Nutr* 2010; 140(12):2335S-2343S.
8. 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; 88:1609-17.
9. Torres N, Torre-Villalvazo I, Tovar AR. Regulation of lipid metabolism by soy protein and its implication in diseases mediated by lipid disorders. *J Nutr Biochem* 2006; 17(6):365- 73.
10. Thorp AA, Howe PR, Mori TA, Coates AM, Buckley JD, Hodgson J et al. Soy food sumption does not lower LDL cholesterol in either equol or nonequol producers. *Am J Clin Nutr*. 2008; 88(2):298-304.
11. Morbois-Trabut L, Chabrolle I C, Garrigue MA, Lasfargues G, Lecomte P. Apolipoprotein E genotype

- and plasma lipid levels in Caucasian diabetic patients. *Diabetes Metab* 2006;32:270-275.
12. Ivanovski B, Seetharaman K, Duizer LM. Development of soy-based bread with acceptable sensory properties. *J Food Sci* 2012; 77(1):S71-6.
 13. Fleiss JL. *The Design and analysis of clinical experiments*. London; Wiley, 1986, 263–271.
 14. Onuegbu AJ1, Olisekodiaka JM, Onibon MO, Adesiyun AA, Igbeneghu CA. Consumption of soymilk lowers atherogenic lipid fraction in healthy individuals. *J Med Food* 2011 ;14(3):257-60.
 15. Ireton-Jones CS. Intake: Energy. In: Mahan LK, Escott-Stump S, Raymond JL. *Krause's food and the nutrition care process*. 13th Edition. USA. Saunders; 2012: 28.
 16. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18:499-502.
 17. Calero IO, Hortigüela R, Bullido IM J, Calero IM. 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.
 18. Campbell SC, Khalil DA, Payton ME, Arjmandi BH. One-year soy protein supplementation does not improve lipid profile in postmenopausal women. *Menopause* 2010; 17(3):587-93.
 19. Liu ZM, Ho SC, Chen YM, Ho YP. The effects of isoflavones combined with soy protein on lipid profiles, C-reactive protein and cardiovascular risk among postmenopausal Chinese women. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2012; 22(9):712-9.
 20. Rios DRA, Rodrigues ET, Cardoso APZ, Montes MBA, Franceschini SA, Toloí MRT. Lack of effects of isoflavones on the lipid profile of Brazilian postmenopausal women. *Nutrition* 2008; 24:1153-1158.
 21. Roughead ZK, Hunt JR, Johnson LK, Badger TM, Lykken GI. Controlled substitution of soy protein for meat protein: effects on calcium retention, bone, and cardiovascular health indices in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:181-189.
 22. Goodman-Gruen D, Kritz-Silverstein D. Usual dietary isoflavone intake is associated with cardiovascular disease risk factors in postmenopausal women. *J Nutr* 2001; 131:1202–6.
 23. Takatsuka N, Nagata C, Kurisu Y, Inaba S, Kawakami N, Shimizu H. Hypocholesterolemic effect of soymilk supplementation with usual diet in premenopausal normolipidemic Japanese women. *Prev Med* 2000; 31(4):308-14.
 24. Cicero AF, Minardi M, Mirembé S, Pedro E, Gaddi A. Effects of a new low dose soy protein/beta-sitosterol association on plasma lipid levels and oxidation. *Eur J Nutr* 2004; 43(5):319-22.
 25. Yazdekhashti N, Zaitun Y, Norhaizan ME, Najafpour Boushehri S. Effects of roasted soy-nut on lipid profile of Iranian women. *Middle- East J of Scientific Research* 2011; 8(4): 816-822.
 26. Chiechi LM, Secreto G, Vimercati A, Greco P, Venturelli E, Pansini F, et al. The effects of a soy rich diet on serum lipids: the Menfis randomized trial. *Maturitas* 2002 ;41(2):97- 104.
 27. Bakhtiary 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.
 28. Taku K, Umegaki K, Sato Y, Taki Y, Endoh K, Watanabe S. Soy isoflavones lower serum total and LDL cholesterol in humans: a metaanalysis of 11 randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr* 2007; 85:1148–56.
 29. Egert S, Boesch-Saadatmandi C, Wolfrum 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.
 30. Gaddi A, Ciarrocchi A, Matteucci A, Rimondi S, Ravaglia G, Descovich G C, et al. Dietary treatment for familial hypercholesterolemia-differential effects of dietary soy protein according to the apolipoprotein E phenotypes. *Am J Clin Nutr* 1991; (53): 1191–1196.
 31. Sanchez-Muniz F J, Maki KC, Schaefer E J, Ordovas J M. Serum Lipid and Antioxidant Responses in Hypercholesterolemic Men and Women Receiving Plant Sterol Esters Vary by Apolipoprotein E Genotype. *J Nutr* 2009;139: 13–19.
 32. Hall WL, Vafeiadou K, Hallund J, et al. Soy-isoflavone-enriched foods and markers of lipid and glucose metabolism in postmenopausal women: interactions with genotype and equol production. *Am J Clin Nutr* 2006; 83:592- 600.

Effects of Soy Flour Enriched Bread Consumption on Plasma Lipid Profile and its Association with ApoE Genotype in Overweight and Obese Women

Sharifi- Zahabi E (MSc)¹ - *Entezari M H (PhD)¹ - Maracy M R (PhD)²

*Corresponding Address: Food Security Research Center and Department of Clinical Nutrition, School of Nutrition and Food Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Email: entezari@hlth.mui.ac.ir

Received: 25/Feb/2015 Revised: 11/Jun/2015 Accepted: 12/Jul/2015

Abstract

Introduction: Soy products consumption may have favorable effects on cardiovascular diseases risk factors. These effects may be associated with the polymorphism in Apo E gene.

Objective: To examine the effects of consumption of soy flour enriched bread on plasma lipids and its association with ApoE genotype in overweight and obese women.

Materials and Methods: In this randomized cross-sectional clinical trial, 30 overweight and obese women received a mild weight loss diet and then, randomly assigned to a regular diet and a soy bread diet, each for 6 weeks and a washout period for 20-d. In the soy bread diet group, 120 gr of soy flour enriched bread was replaced by equal amount of usual bread intake.

Results: No significant effect of soy bread on lipid profile was observed when comparing the two groups ($P > 0.05$). Evaluation of the effects of the two ApoE groups; E2 ($\epsilon 2/ \epsilon 2$) and E3 ($\epsilon 3/ \epsilon 3$ or $\epsilon 2/ \epsilon 3$) showed a significant effect of soy bread on TG in E2 group, compared to E3 group ($P=0.02$).

Conclusion: Soy bread consumption has favorable effects on serum TG of overweight and obese women with $\epsilon 2$ allele.

Conflict of interest: non declared

Key words: Apolipoproteins E\ Lipids\ Obesity\ Soybeans.

Journal of Guilan University of Medical Sciences, No: 96, Pages: 87-96

Please cite this article as: Sharifi- Zahabi E, Entezari M H, Maracy M R. Mothers' Effects of Soy Flour Enriched Bread Consumption on Plasma Lipid Profile and its Association with ApoE Genotype in Overweight and Obese Women. J of Guilan University of Med Sci 2015; 24(96):87-96. [Text in Persian]

1. Food Security Research Center and Department of Clinical Nutrition, School of Nutrition and Food Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2. Department of Epidemiology & Biostatistics, School of Public Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.