

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

CLARICE CARDOZO DA COSTA PREDIGER

**EFEITOS DO CONSUMO DE PROTEÍNA DE SOJA ISOLADA SOBRE OS NÍVEIS
DE LIPÍDIOS SÉRICOS EM MULHERES**

Porto Alegre

2009

CLARICE CARDOZO DA COSTA PREDIGER

**EFEITOS DO CONSUMO DE PROTEÍNA DE SOJA ISOLADA SOBRE OS NÍVEIS
DE LIPÍDIOS SÉRICOS EM MULHERES**

Tese de Doutorado

Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas/UFRGS

Orientador(a): Profa. Dra. Maria Teresa Anselmo Olinto

Porto Alegre

2009

Dedicatória

A meus pais, Marta e Ronaldo da Costa

A vida é um sistema instável no qual se perde e se reconquista o equilíbrio a cada instante.

A inércia é que é sinônimo de morte.

A lei da vida é mudar.

(La Vieillesse, Simone de Beauvoir)

AGRADECIMENTOS

Agradeço.

A minha Orientadora Professora Maria Teresa Anselmo Olinto, por sua dedicação, sua competência e seu comprometimento, por entender as mudanças...

Ao Professor Marcos P. Patussi, pelo empenho dedicado a este estudo.

A Universidade do Vale dos Sinos (UNISINOS, São Leopoldo/RS) e Faculdade Nossa Senhora de Fátima (Caxias do Sul/RS), pelo apoio na execução deste projeto.

A Empresa Solae, pelo apoio financeiro.

Às bolsistas, Patrícia e Lisiane, pelo comprometimento e pela seriedade na execução das tarefas.

Às alunas de Caxias do Sul, que contribuíram na coleta de dados com muito empenho.

Aos amigos, pela presença.

Aos meus pais, Ronaldo e Marta, pelo exemplo de dedicação profissional.

Aos meus irmãos, Cristine e César Augusto, pelo carinho.

Ao meu marido, Douglas, pelo companheirismo, pelo exemplo, por entender minhas escolhas, pela paciência, pela alegria de viver, pelo abraço na hora certa, por todo amor...

RESUMO

EFEITOS DO CONSUMO DE PROTEÍNA DE SOJA ISOLADA SOBRE OS NÍVEIS DE LIPÍDIOS SÉRICOS EM MULHERES: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO

As Doenças Cardiovasculares representam importante problema de saúde pública, principalmente em países em desenvolvimento. Os resultados de pesquisas recentes sugerem que o consumo de proteína de soja pode reduzir níveis séricos de colesterol-total e LDL-colesterol em sujeitos hipercolesterolêmicos, atuando nos fatores de risco da Doença Cardiovascular. A clássica metanálise de Anderson e colaboradores (1995) mostraram que a ingestão de 47g/dia de proteína de soja está associada à redução dos níveis de colesterol total, LDL-colesterol e triglicerídios, respectivamente de 9,3%, 12,9% e 10,5%. O objetivo deste estudo é investigar os efeitos do consumo de proteína isolada de soja contendo isoflavonas sobre fatores de risco cardiovascular em mulheres, a saber, níveis séricos de colesterol total, LDL-colesterol, triglicerídios, HDL-colesterol, LDL-peroxidada, Lipoproteína(a) e níveis de pressão arterial. Para isto, conduzimos um ensaio clínico randomizado, placebo controlado, triplo-cego, paralelo, com duração de 8 semanas. Neste, 96 mulheres adultas com idade entre 36 e 68 anos, com níveis de colesterol total ≥ 200 mg/dL, foram randomizadas em dois grupos: intervenção (25g/d de proteína de soja isolada) ou controle (25g/d de proteína total do leite). Dados antropométricos, pressão arterial e exames bioquímicos foram coletados em três momentos: início do estudo, 4 semanas e 8 semanas, em duplicata. A redução observada nos níveis séricos de colesterol total ($-25,7$ mg/dL $\pm 35,5$, $P=0,038$) do grupo intervenção apresentaram significância estatística quando comparadas com as reduções ocorridas no grupo controle ($-9,8$ mg/dL $\pm 48,3$), nas primeiras quatro semanas de intervenção. Após oito semanas este valor não apresentou alterações significativas. Para outras variáveis, como LDL-colesterol, HDL-colesterol, triglicerídios, LDL-peroxidada e Lipoproteína(a) não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos. Concluimos que o consumo de proteína de soja isolada é mais efetivo do que a proteína total do leite, após quatro semanas, melhorando os níveis de colesterol total em mulheres adultas.

ABSTRACT

“THE EFFECTS OF SOY PROTEIN ON WOMEN’S CARDIOVASCULAR DISEASE RISK FACTORS: RANDOMIZED CONTROLLED CLINICAL TRIAL”

Cardiovascular heart disease is one of the major health problems in most developed countries. The results from recent researches suggest that the consumption of soy protein plays a role in the reduction of total- cholesterol and LDL-cholesterol levels in some hyperlipidemic individuals and has a protective effect on cardiovascular disease. The classic Anderson et al (1995) meta-analysis showed that an average intake of 47g per day of soy protein was associated with 9.3% reduction in serum concentrations of total cholesterol, 12.9% in LDL-cholesterol, and 10.5 % in tryglicerides. The main objective of this was to investigate the effect of soy protein containing isoflavones (ISP) on women’s cardiovascular disease risk factors, such as, the serum concentrations of total cholesterol, LDL-cholesterol, tryglicerides, HDL-cholesterol, LDL-peroxide, Lipoprotein(a) and blood pressure. We carried out a randomized, placebo controlled, triple-blind, parallel, 8-wk study, 96 adult women aged 36-68y, with total cholesterol \geq 200 mg/dL, were randomly assigned to intervention diet (25g/d of isolated soy protein) or control diet (25g/d of total milk protein).

Anthropometric data, blood pressure and biochemical analyses were collected during the baseline, 4-wk and 8-wk visits in duplicate. “Lipids profiles improved with significant decreases in cholesterol total (-25.7 mg/dl \pm 35.5 (SD) vs -9.8 mg/dl \pm 48.3, $P= 0.038$) in the soy protein group compared to placebo at 4wk. After 8wk, this levels did not show significant differences. No significant differences were detected for LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, tryglicerides, LDL-peroxide and Lipoprotein (a). Consumption of Isolated soy protein during 4 wk is more effective than total milk protein for improving the serum total cholesterol in adult women.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	08
2 REVISÃO DA LITERATURA	11
2.1 DOENÇAS CARDIOVASCULARES.....	11
2.1.1 Fatores de risco para Doença Cardiovascular	15
2.1.2 Epidemiologia dos fatores de risco para Doença Cardiovascular	15
2.1.3 Lipídios e Lipoproteínas	19
2.2 SOJA E SEUS PRODUTOS	24
2.3 ISOFLAVONAS	26
2.3.1 Estrutura química das isoflavonas	29
2.4 MECANISMOS DE AÇÃO	31
2.4.1 Equol	34
2.5 SOJA E SAÚDE	35
2.6 SOJA E LIPÍDIOS SÉRICOS	40
3 JUSTIFICATIVA	56
4 OBJETIVO	57
4.1 GERAL	57
4.2 ESPECÍFICOS	57
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS	58
REFERÊNCIAS	59
ARTIGOS	92
THE EFFECTS OF SOY PROTEIN ON WOMEN'S CARDIOVASCULAR DISEASE RISK FACTORS.....	93
EFEITOS DO CONSUMO DE PROTEÍNA DE SOJA SOBRE FATORES DE RISCO PARA DOENÇA CARDIOVASCULAR EM MULHERES	112

1 INTRODUÇÃO

As Doenças Crônicas não Transmissíveis (DCNT) são atualmente um dos maiores problemas de saúde pública. Estimativas da Organização Mundial de Saúde (OMS) mostram que elas foram responsáveis por 61% de todas as mortes ocorridas no mundo, ou seja, cerca de 35 milhões de mortes em 2005 (WHO 2005). No Brasil as DCNTs seguem padrão semelhante, sendo em 2006 a principal causa de óbito no Brasil, destacando-se as doenças do aparelho circulatório (29,4%) e as neoplasias (15,1%) (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

Na modificação dos perfis de saúde no Brasil, evidencia-se a importância da abordagem preventiva relativa às doenças cardiovasculares. Em 1950, 40% dos óbitos no país eram de doenças infecto-contagiosas e apenas 12% de doenças cardiovasculares, porém em 1990 os índices de mortalidade tornaram-se menores do que 10% para as doenças infecto-contagiosas e 34,5% para as doenças cardiovasculares (SILVESTRE et al, 1996).

Além disso, conforme dados do DATASUS (2009), as doenças do aparelho circulatório constituem a maior causa de mortalidade no Rio Grande do Sul, superando as neoplasias, as doenças do aparelho respiratório e as causas externas. Sendo assim, é evidente a necessidade de ações para a detecção e prevenção relacionadas a afecções do aparelho circulatório.

O perfil sérico de lipídios tem sido associado com as doenças cardiovasculares. Sabe-se que elevados níveis plasmáticos de LDL-colesterol (lipoproteína de baixa densidade) e triglicerídios são considerados fatores de risco para o aparecimento destas doenças. Por outro lado, altos níveis de HDL-colesterol (lipoproteína de alta densidade) são considerados benéficos à saúde (FRIEDMAN; BRANDON, 2001).

Visando a diminuição dos riscos de aparecimento de doenças cardiovasculares, sem o uso de medicamentos, a ciência da nutrição tem buscado exaustivamente respostas no aumento do consumo de alimentos funcionais.

Nas últimas décadas, tem havido um grande interesse nos fitoestrógenos e em particular nos potenciais benefícios que uma dieta enriquecida nestes compostos pode acrescentar no controle de muitas doenças (ESTEVES; MONTEIRO, 2001). As isoflavonas representam a forma mais comum de fitoestrógenos, sendo que as

concentrações destes compostos são relativamente maiores nas leguminosas e, em particular, na soja e seus produtos (KURZER; XU, 1997; DORIS et al, 1998).

Atualmente, o consumo de soja, rica em isoflavonas tem sido associado à redução de doenças cardiovasculares. Evidências epidemiológicas sugerem que populações que consomem dietas ricas em soja apresentam menor taxa de mortalidade por doenças coronarianas (LICHTENSTEIN, 1998).

Dados epidemiológicos e clínicos sugerem a existência de plausibilidade biológica na relação inversa entre fitoestrógenos e doenças cardiovasculares. Além disso, as baixas prevalências de doenças cardiovasculares e alta ingestão de fitoestrógenos, provenientes principalmente da soja e seus produtos, na população asiática são coerentes com o efeito protetor atribuído aos fitoestrógenos (THAM et al, 1998; CORNWELL et al, 2004).

Diversos estudos realizados em animais e em humanos apontam para os benefícios do consumo de alimentos ricos em isoflavonas, principalmente, produtos à base de soja, ou da isoflavona isolada. Dentre estes benefícios podemos citar: diminuição do risco de cânceres hormônio-dependentes (como câncer de mama) (GANRY, 2002), diminuição dos sintomas da menopausa (ALBERTAZZI et al, 1998; HAN et al, 2002; KANG et al, 2002; BURKE et al, 2003; MESSINA; HUGUHES, 2003), melhora da memória (LEPAHART et al, 2002), manutenção da densidade óssea (KIM et al, 2002) e redução do risco de doenças cardiovasculares (ZHANG et al, 2003; FRIEDMAN; BRANDON, 2001; GOODMAN-GRUEN; KRITZ-SILVERSTEIN, 2001; THAM et al, 1998).

Em 1999, o FDA (Food and Drug Administration) aprovou “A Health Claim” a qual descreve sobre os benefícios ao “coração” do consumo de alimentos a base de soja. Este benefício foi verificado, após serem analisados 27 estudos, os quais mostraram que o consumo de proteína de soja reduz os níveis de colesterol–total e o LDL-colesterol (lipoproteína de baixa densidade – conhecida como mau colesterol). A agência ainda descreve que o consumo de 25g de proteína de soja, diariamente incorporada na dieta de diferentes formas, é considerado benéfico (FDA, 1999).

A partir da publicação citada acima ensaios clínicos e metanálises têm sido realizados para verificar os verdadeiros efeitos das isoflavonas e da proteína de soja sobre os níveis de lipídios séricos em seres humanos, mas os resultados ainda são controversos (SACKS et al, 2006).

Anderson et al (ANDERSON et al, 1995) realizaram uma metanálise sobre os efeitos do consumo da proteína de em relação aos níveis de lipídios séricos em seres humanos. A ingestão de dietas que continham proteína de soja, quando comparadas com o grupo controle, mostraram redução significativa nas concentrações séricas de Colesterol-total, LDL-colesterol e Triglicerídios de 9,3%, 12,9 % e 10,5%, respectivamente. Ao avaliarem as alterações nos níveis de HDL-colesterol, não foram encontradas diferenças significativas. O estudo também verificou que o ideal é consumir 47g de proteína de soja por dia.

A revisão bibliográfica deste estudo abordará as Doenças Cardiovasculares, com enfoque no consumo de proteína de soja e os possíveis efeitos sobre os níveis de lipídios séricos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 DOENÇAS CARDIOVASCULARES

As Doenças Cardiovasculares (DCV) permanecem a principal causa de morbimortalidade no mundo. A previsão é de que entre 2006 e 2015, haja um aumento previsto de 17% das mortes por doenças não transmissíveis (metade da qual será devido a doença cardiovascular), enquanto que as mortes por doenças infecciosas, reduzirão em torno de 3% (WHO, 2005).

Em nosso País, as DCV também ocupam o primeiro lugar dentre as causas de mortalidade desde a década de 60, tanto para homens quanto para mulheres (FERNANDES et al, 2008).

Nos países ocidentais houve declínio das taxas de mortalidade por DCV (cardíaca e cerebrovascular) nas últimas décadas. Porém, este declínio foi mais pronunciado na população masculina do que feminina (FERNANDES et al, 2008).

As Doenças Cardiovasculares nos dias atuais são a principal causa de morbidade e mortalidade em todo o mundo, principalmente nos países em desenvolvimento. Isso se deve ao aumento da expectativa de vida, estilo de vida e mudanças sócio-econômicas associadas à urbanização, que propicia um aumento dos fatores de risco para as doenças cardiovasculares. Em 2005, das 58 milhões de mortes no mundo, por todas as causas, as Doenças Cardiovasculares (DCV) foram responsáveis por 30% destas (WHO, 2005). Somente no Brasil essas doenças são responsáveis por cerca de 250.000 mortes ao ano, que correspondem a aproximadamente 25% do total de óbitos (AVEZUM et al, 2005; AVEZUM et al, 1999; VACANTI et al, 2005).

A incidência das DCV aumenta dramaticamente com o envelhecimento populacional. De acordo com dados do Ministério da Saúde, o infarto e o AVC (Acidente Vascular Cerebral) são as principais causas de morte em mulheres com mais de 50 anos no Brasil. Apesar do risco de câncer de mama ser a principal preocupação das mulheres, sabemos que a maior letalidade nas mulheres refere-se às doenças cardiovasculares, um índice de 53% quando comparado aos 4% do câncer de mama (FERNANDES et al, 2008).

No Brasil, um fato que agrava esse quadro é que, aproximadamente, um terço dos óbitos por Doenças Cardiovasculares ocorrem precocemente em adultos na faixa etária de 35 a 64 anos (DATASUS). Nesta faixa etária, as principais causas de óbito por doenças do aparelho circulatório são as doenças isquêmicas do coração, as doenças cerebrovasculares e as doenças hipertensivas. Ressalte-se que essas causas são em grande parte evitáveis, diante da probabilidade de diminuição da ocorrência dessas mortes, se houver assistência ou prevenção oportunas (NOLTE; MCKEE, 2004).

Segundo dados da Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios realizada em 2003 (PNAD, 2003), 3,61% de brasileiros declararam ter “doença do coração”, totalizando cerca de 7 milhões de indivíduos. A prevalência de doença do coração não foi homogênea ao longo da distribuição etária da população, sendo a maior prevalência na população acima de 64 anos. As mulheres representaram aproximadamente a maioria dos casos declarados (BARROS et al, 2006). Tais estimativas foram baseadas na proporção de pessoas que declararam “ter doença do coração”, conforme questionário da PNAD 2003, assumindo que existiam 187 milhões de indivíduos no Brasil, em 2008 (IBGE).

As Doenças Cardiovasculares representam importante problema de saúde pública no Rio Grande do Sul, visto que constituem a principal causa de morbimortalidade e representam os mais altos custos em assistência médica. Embora, haja uma similaridade na proporção de mortes devido às doenças do aparelho circulatório entre os dados do RS comparado com o Brasil como um todo, observa-se que no RS as mulheres morrem mais do que os homens (DATASUS).

As complicações da doença cardiovascular (DCV) ocorrem geralmente em pessoas de meia-idade ou idosos e as mulheres. Dentre estas complicações destacamos a Aterosclerose. Esta é uma doença multifatorial, lenta e progressiva, que começa no início da vida e evolui gradualmente ao longo da adolescência e início da idade adulta. É assintomática por um longo período e resulta de respostas celulares específicas, que culminam no depósito de lipídios e elementos celulares na camada íntima das artérias, causando estreitamento da luz do vaso, restringindo o fluxo sanguíneo. A origem da aterosclerose é provavelmente devido a uma resposta inflamatória a diferentes formas de lesão da parede vascular. O processo inflamatório crônico leva à formação de placas de ateroma que ocorre gradualmente. A taxa de progressão da aterosclerose é influenciada por fatores de risco

cardiovascular: uso do tabaco, dieta não saudável e a inatividade física (que juntos resultam em obesidade), hipertensão, dislipidemia e diabetes (WHO, 2007; GOTTLIEB et al, 2005; MUCO; RAMIRES, 2006; LIMA et al, 2006).

A Doença Arterial Coronariana é uma doença multifatorial e a prevenção desta passa pela identificação e controle do conjunto de fatores de risco. Os fatores de risco estão divididos em modificáveis e não modificáveis. Os não modificáveis incluem a idade, sexo e a história familiar positiva para Doença Arterial Coronariana. Entre os modificáveis encontram-se a dislipidemia, o diabetes, o tabagismo, o sedentarismo, a dieta, a hipertensão arterial e a obesidade. A prevenção baseia-se nos fatores de risco modificáveis (LIMA et al, 2006b; CANTOS et al, 2004).

Vários fatores estão relacionados a este elevado risco cardiovascular, e quanto maior o número de fatores de risco presentes, maior a chance de apresentar um evento cardiovascular. Da mesma forma, quanto melhor o controle dos hábitos de vida com redução do número de fatores modificáveis associados, maior é a redução deste risco. O Nurses' Health Study, acompanhou mulheres americanas, por um período de 20 anos, demonstrou que modificações nos hábitos de vida podem prevenir mais de 80% dos eventos coronarianos (OH et al, 2005).

Rio Grande do Sul	Gênero n(%)		Total n(%)
	Masc	Fem	
Algumas doenças infecciosas e parasitárias	1741	1157	2898 (4,0)
Neoplasias (tumores)	8567	6752	15319 (21,3)
Doenças sangue órgãos hemat e transt imunitár	116	142	258 (0,4)
Doenças endócrinas nutricionais e metabólicas	1704	2259	3963 (5,5)
Transtornos mentais e comportamentais	579	197	776 (1,1)
Doenças do sistema nervoso	769	1047	1816 (2,5)
Doenças do ouvido e da apófise mastóide	1	3	4 (0,005)
Doenças do aparelho circulatório	11118 (48,4)	11840 (51,6)	22958 (32,0)
Doenças do aparelho respiratório	4954	3856	8810 (12,3)
Doenças do aparelho digestivo	2155	1376	3531 (4,9)
Doenças da pele e do tecido subcutâneo	40	84	124 (0,2)
Doenças sist osteomuscular e tec conjuntivo	76	204	280 (0,4)
Doenças do aparelho geniturinário	560	620	1180 (1,6)
Gravidez parto e puerpério	0	65	65 (0,1)
Algumas afec originadas no período perinatal	4	5	9 (0,01)
Malf cong deformid e anomalias cromossômicas	40	50	90 (0,1)
Sint sinais e achad anorm ex clín e laborat	1964	1614	3579 (5,0)
Causas externas de morbidade e mortalidade	4983	1116	6099 (8,5)
Total	39371	32387	71759
Brasil	Gênero (n/%)		Total (n/%)
	Masc	Fem	
Algumas doenças infecciosas e parasitárias	24209	16701	40916 (4,2)
Neoplasias (tumores)	85257	73040	158309 (16,5)
Doenças sangue órgãos hemat e transt imunitár	2479	2421	4900 (0,5)
Doenças endócrinas nutricionais e metabólicas	26480	33827	60311 (6,3)
Transtornos mentais e comportamentais	8122	2678	10801 (1,1)
Doenças do sistema nervoso	8483	9112	17598 (1,8)
Doenças do ouvido e da apófise mastóide	44	46	90 (0,01)
Doenças do aparelho circulatório	160558 (52,4%)	145559 (47,6%)	306146 (31,8)
Doenças do aparelho respiratório	53188	46068	99267 (10,3)
Doenças do aparelho digestivo	33727	18861	52594 (5,5)
Doenças da pele e do tecido subcutâneo	987	1389	2377 (0,2)
Doenças sist osteomuscular e tec conjuntivo	1180	2383	3564 (0,4)
Doenças do aparelho geniturinário	9250	8602	17856 (1,8)
Gravidez parto e puerpério	0	1379	1379 (0,1)
Algumas afec originadas no período perinatal	28	23	51 (0,005)
Malf cong deformid e anomalias cromossômicas	562	564	1126 (0,1)
Sint sinais e achad anorm ex clín e laborat	42869	32918	75800 (7,9)
Causas externas de morbidade e mortalidade	91171	17419	108606 (11,3)
Total	548608	412996	961711

Quadro 1. Mortalidade segundo causa e gênero, ≥20 anos, CID-10, Rio Grande do Sul e Brasil, 2007 (em números absolutos)

Fonte: DATASUS, acesso em 06/10/2009

2.1.1 Fatores de risco para Doença Cardiovascular

O clássico *Framingham Heart Study* classificou como elevado (acima de 20%), intermediário (entre 10 a 20%) ou baixo (inferior a 10%) o risco de “morte ou de apresentar um evento coronariano nos próximos 10 anos” baseado na presença de alguns fatores de risco como idade, nível de colesterol total e fração de baixa densidade do colesterol (LDL-colesterol), nível de pressão arterial e hábito ou não de fumar (HUBERT et al, 1983).

Alguns principais fatores de risco para doença arterial coronariana são conhecidos e comprovados, como hipertensão arterial sistêmica (PA $\geq 140/90$ mmHg), tabagismo ou fumo, obesidade, sedentarismo, diabetes mellitus, antecedentes familiares, idade (≥ 45 anos para homens e ≥ 55 anos para mulheres), além de dieta rica em gorduras saturadas, com consequente aumento dos níveis de colesterol sanguíneo -dislipidemias (ALDRIGHI et al, 2005; LENFANT, 2001).

Os antecedentes familiares constituem fator de risco não modificável e independente e devem ser ainda muito estudados (SHIMODA et al, 1996). Pacientes com parentes em primeiro grau precocemente com cardiopatia coronariana têm maiores riscos de desenvolver doença arterial coronariana que a população em geral. Na história familiar precoce de aterosclerose, parentesco de primeiro grau < 55 anos para homens e < 65 anos para mulheres é considerado um importante fator de risco.

A doença arterial coronariana ocorre mais comumente em diabéticos do que na população em geral, afetando mais de 55% dos pacientes. O *diabetes mellitus* é fator de risco independente para a doença cardiovascular, mesmo quando ajustado para idade, hipertensão arterial sistêmica e tabagismo (FEIN; SCHEUER, 1990).

A hipertensão arterial sistêmica é um fator de risco bem estabelecido para a doença cardiovascular. A importância desta associação foi bem definida nos achados do estudo Framingham (GORDON et al, 1977).

2.1.2 Epidemiologia dos fatores de risco para Doença Cardiovascular

O conhecimento de como os fatores de risco para doenças cardiovasculares se distribuem na população possibilita que ações e programas de prevenção sejam

planejados e implementados, e que resultados efetivos na redução da morbimortalidade de doenças cardiovasculares sejam alcançados.

No Sul do País, estudo observacional, transversal, realizado por Gus e colaboradores (2002) teve como objetivo avaliar a prevalência dos principais fatores de risco para a doença arterial coronariana no Rio Grande do Sul e identificar sua relação com as faixas etárias. Foram avaliados 1.066 adultos com idade >20 anos sendo que 51,8% eram mulheres. As prevalências foram de 71,3% para sedentarismo, 57,3% para antecedentes familiares, 54,7% para sobrepeso/obesidade (índice de massa corporal >25Kg/m²), 33,9% para tabagismo, 31,6% para hipertensão arterial sistêmica >140/90mmHg e 14,4% pelo critério >160/95mmHg, 7% para glicemia elevada e 5,6% para colesterol elevado: >240mg/dl.

Estudo transversal de base populacional realizado por Gus e colaboradores (2004) mostrou que a prevalência de hipertensão arterial sistêmica foi de 33,7%, sendo que 49,2% desconheciam ser hipertensos; 10,4% tinham conhecimento de ser hipertensos, mas não seguiam o tratamento; 30,1% seguiam o tratamento, mas não apresentavam controle adequado e 10,4% seguiam tratamento anti-hipertensivo com bom controle. Outro estudo transversal de base populacional realizado por Hartmann et al (2007) objetivou avaliar a prevalência de hipertensão em mulheres adultas residentes em São Leopoldo, RS. Entre as 1.020 mulheres avaliadas, 23,2% apresentou hipertensão (ponto de corte \geq 140/90mmHg). Mas, para a população adulta brasileira a estimativa de hipertensão arterial na população adulta brasileira foi de 15% (IV DIRETRIZ, 2007), segundo o Ministério da Saúde (1991) e IBGE (Censo Populacional de 1991).

De acordo com dados do IBGE (1991) a prevalência de tabagismo em pessoas acima de 5 anos de idade foi de 24%, com maior concentração na faixa etária entre 30 e 49 anos (IV DIRETRIZ, 2007). No conjunto da população adulta das 27 cidades estudadas pelo VIGITEL (2008), a frequência de fumantes foi de 15,2%, sendo maior no sexo masculino (19,1%) do que no sexo feminino (11,9%). Entre mulheres, a frequência de fumantes aumentou com a idade ao longo das faixas etárias entre 18 e 54 anos (de 10% para 17%), declinando, respectivamente, para 13,2% e 6,7% nas faixas etárias subsequentes.

Estudo prospectivo de coorte dos nascidos em 1982 na cidade de Pelotas, RS, entrevistados em 1997, 2000-1 e 2005 teve como objetivo avaliar a prevalência

de tabagismo em adolescentes e adultos jovens. O desfecho tabagismo foi definido como consumo de pelo menos um cigarro na última semana nos acompanhamentos de 1997 e 2000-1. No acompanhamento de 2005, a variável dependente foi tabagismo atual. As prevalências de tabagismo entre homens foram de 5,9%, 20,2% e 27,6% nos acompanhamentos de 1997, 2000-1 e 2005, respectivamente. Os respectivos valores para as mulheres foram 9,3%, 27,5% e 23,6% (MENEZES et al, 2008).

Com base no Censo Nacional de Diabete de 1980, a prevalência de *diabetes mellitus* ajustada por idade (30-69 anos) foi de 7,6%, com variação de 5 a 10% de acordo com a capital brasileira avaliada (IV DIRETRIZ, 2007). Estimar a prevalência de *diabetes mellitus* e tolerância à glicose diminuída na população urbana de 30 a 79 anos da cidade de São Carlos (SP) foi o objetivo do estudo transversal de base populacional realizado por Bosi et al (2009).

Neste estudo indivíduos foram, inicialmente, submetidos a teste de dosagem de glicemia capilar em jejum. Indivíduos não diabéticos foram submetidos a teste oral de tolerância à glicose. A classificação dos indivíduos em diabéticos e com tolerância à glicose diminuída ou não diabéticos baseou-se em critério da Organização Mundial de Saúde. Dos 1116 voluntários que participaram da pesquisa, 65% mulheres e 35% homens apresentaram prevalências de *diabetes mellitus* e tolerância à glicose diminuída de 16,6% e 6,2%, respectivamente. O estudo conclui que houve aumento na prevalência de *Diabetes Mellitus* quando comparada a estudos anteriores no Brasil e na região, confirmando as expectativas nacionais e mundiais.

No Rio Grande do Sul, estudo transversal de base populacional, com adultos de 20 a 69 anos, residentes na zona urbana da cidade de Pelotas, em 2000, comparou a prevalência de *diabetes mellitus* autorreferência com os valores de exame de glicemia de jejum. Adotou-se como ponto de corte da glicemia de jejum para reconhecimento de diabetes 126 mg/dl e 140 mg/dl. Dos 1.116 voluntários (5,6%; IC 95%: 4,6-6,6) referiram a presença de *diabetes mellitus* com diagnóstico confirmado pelo médico. Para a subamostra (n=367) submetida aos exames laboratoriais, a prevalência de diabetes autorreferida e confirmada por médico foi de 7,1% (IC 95%: 4,5-9,7) (DIAS DA COSTA et al, 2006).

No Brasil, a prevalência de obesidade (IMC > 30kg/m²), segundo dados do inquérito nacional de 1997, está em torno de 12,4% para mulheres e 7,0% para

homens. Quando se inclui também os casos de sobrepeso ($IMC > 25\text{kg/m}^2$), estes valores elevam-se para 38,5% dos homens e 39% das mulheres (REPETTO et al, 2003).

Segundo dados do VIGITEL (2008), a prevalência de excesso de peso ($IMC > 25\text{kg/m}^2$), foi de 43,3%, sendo maior entre homens (47,3%) do que entre mulheres (39,5%). Em ambos os sexos, a frequência dessa condição tende a aumentar com a idade, declinando apenas a partir dos 65 anos. O aumento é particularmente notável entre as faixas etárias 18-24 e 35-44 anos, quando a frequência do excesso de peso aumenta duas vezes entre as mulheres e duas e meia vezes entre os homens. Com relação a frequência de adultos obesos ($IMC > 30\text{kg/m}^2$) foi de 13%, sendo ligeiramente menor entre homens (12,4%) do que entre mulheres (13,6%). Entre mulheres, a frequência da obesidade aumenta mais de seis vezes entre 18-24 e 55-64 anos e declina apenas a partir dos 65 anos.

Em Porto Alegre, o percentual de adultos obesos é de 15,9% (VIGITEL, 2008), sendo 15,6% em homens e 16% em mulheres. Outro dado do sul do país, estudo transversal de base populacional realizado em São Leopoldo (TEICHMANN et al, 2006) identificou a prevalência e os fatores de risco para sobrepeso e obesidade em mulheres adultas da região. A prevalência de sobrepeso foi de 31,7% (IC95% 28,9 – 34,7) e 18% (IC95% 15,8 – 20,6) das mulheres estavam obesas. O risco de sobrepeso aumentou com a idade (mulheres de 50 a 60 anos) e o número de filhos (≥ 5 filhos).

Exercícios, mesmo que em graus moderados, têm efeito protetor contra a doença arterial coronariana e sobre todas as causas de mortalidade e uma série de outros benefícios: elevação do HDL-colesterol, redução de cifras na hipertensão arterial sistêmica e auxílio na baixa do peso corporal (POWELL et al, 1987; LEON et al, 1987; PAFFEENBERGER et al, 1993).

Quanto à inatividade física, outro fator de risco para as doenças cardiovasculares apresentou-se elevada no conjunto da população adulta das 27 cidades estudadas pelo VIGITEL em 2008. A frequência da inatividade física completa¹ foi de 26,3%, sendo pouco mais comum em homens (29,5%) do que em

¹ O VIGITEL atribui a condição de (completa) inatividade física aos indivíduos que informam que: 1) não praticaram qualquer atividade física no lazer nos últimos três meses; 2) não realizavam esforços físicos intensos no trabalho (não andavam muito, não carregavam peso e não faziam outras atividades equivalentes em termos de esforço físico); 3) não se deslocavam para o trabalho a pé ou de bicicleta; e 4) não eram responsáveis pela limpeza pesada de suas casas

mulheres (23,5%). Em ambos os sexos, a frequência da condição de inatividade física foi máxima na faixa etária de 65 ou mais anos de idade: 51,7% para homens e 53,2% para mulheres. Especificamente, num estudo transversal de base populacional com mulheres adultas residentes em São Leopoldo, realizado por Masson et al (2005), verificou-se que entre as 1.026 mulheres entrevistadas, 380 (37%) eram inativas.

Para o colesterol, em uma metanálise de 38 grandes ensaios clínicos na prevenção primária e secundária, encontrou-se que, para cada 10% de redução no colesterol, a mortalidade reduziu 13% e o risco de mortalidade total 11% (GOULD et al, 1998).

Os níveis séricos de colesterol total (CT) foram avaliados nas principais capitais do Brasil e em cidades de grande porte do estado de São Paulo em cerca de 82.000 indivíduos sendo 39.768 mulheres no ano de 2002 por Martinez et al (2003) A idade média dessas mulheres era de $45,9 \pm 16,4$ anos e a média do colesterol foi de 201 ± 35 mg/dL. A proporção de mulheres com colesterol total respectivamente acima de 200 e 240 mg/dL foi de 42% e 15%. Para todos os níveis de risco, o colesterol foi maior nas mulheres do que nos homens.

2.1.3 Lipídios e Lipoproteínas

Lipídios são moléculas orgânicas insolúveis em água, como triglicerídios, colesterol e seus ésteres e fosfolipídios. Por serem moléculas hidrofóbicas não podem circular livremente na corrente sanguínea, por isso são transportadas por partículas chamadas lipoproteínas (BURNETT; HOOPER, 2008)

As lipoproteínas, compostas por lipídios e proteínas, denominadas apoproteínas (apo), são divididas em classes, que se diferenciam pelo tamanho, pela densidade e pela composição química de lipídios e de apoproteínas: Qm (quilomícrons), lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), lipoproteínas de

densidade intermediária (IDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL-colesterol), e lipoproteínas de alta densidade (HDL-colesterol) (FORTI; DIAMENT, 2006).

Os Qm e seus remanescentes transportam os lipídios provenientes da dieta aos tecidos periféricos e fígado; a lipoproteína de densidade baixa (LDL-colesterol) transporta lipídios de síntese endógena, do fígado aos tecidos periféricos, e a lipoproteína de densidade alta (HDL-colesterol) é responsável pelo transporte reverso de colesterol, dos tecidos periféricos ao fígado (DOUGLAS, 2002; PASQUALUCCI et al, 1999).

A lipoproteína de baixa densidade (LDL-colesterol) é o maior carreador de colesterol para as células (FARRET, 2005) e está associada ao início e à aceleração do processo aterosclerótico (ISOSAKI; CARDOSO, 2004). Já as lipoproteínas de alta densidade (HDL-colesterol) são de extrema importância, pois participam do transporte reverso do colesterol, sendo consideradas antiaterogênicas (FARRET, 2005).

Dislipidemias

Dentre os diversos fatores de risco para doença cardiovascular, é importante dar destaque às dislipidemias. Elas podem ser definidas como distúrbios do metabolismo lipídico, com repercussões sobre os níveis de lipoproteínas na circulação sanguínea, bem como sobre as concentrações de seus diferentes componentes (PRADO; DANTAS, 2002). Desencadeiam alterações nas concentrações das lipoproteínas plasmáticas, favorecendo o desenvolvimento de doenças crônicas, como diabetes e doenças cardiovasculares (CAMBRI et al, 2006). Elas se caracterizam por níveis anormais de lipídios ou lipoproteínas no sangue, que podem estar associadas a manifestações clínicas diversas, tais como: infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral e doença vascular periférica (ALMEIDA et al, 2008).

Sabe-se que as dislipidemias podem ser determinadas por distúrbios genéticos e/ou adquiridos. Podem ser classificadas (classificação etiológica) como primárias, de origem genética e incluem alterações neuroendócrinas e distúrbios metabólicos, ou secundárias causadas por doenças como hipotireoidismo, *diabetes mellitus*, síndrome nefrótica, insuficiência renal crônica, obesidade, alcoolismo ou pelo uso indiscriminado de medicamentos como: diuréticos, betabloqueadores,

corticosteróides e anabolizantes ou por desequilíbrio entre a ingestão alimentar e o gasto calórico e lipídico (DÂMASO, 2001; III DIRETRIZES, 2001).

Dentre as causas ambientais que podem influenciar o perfil lipídico incluem-se tabagismo, sedentarismo e dieta. A ingestão calórica excessiva com alto teor de gordura e colesterol é capaz de modular os níveis plasmáticos de colesterol total, bem como a fração de colesterol de LDL-colesterol (COELHO et al, 2005; COSTA et al, 2006).

De acordo com a classificação ambulatorial, as dislipidemias podem ser classificadas em Hipercolesterolemia isolada (aumento do colesterol total e ou LDL-colesterol), Hipertrigliceridemia isolada (aumento dos triglicerídios), Hiperlipidemia mista (aumento do colesterol total e dos triglicerídios) e diminuição isolada do HDL-colesterol ou associada a aumento dos triglicerídios ou LDL-colesterol (III DIRETRIZES, 2001).

As alterações lipídicas mais frequentes são: hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, redução das concentrações da lipoproteína de alta densidade (HDL-colesterol) e aumento das concentrações da lipoproteína de baixa densidade (LDL-colesterol), as quais podem ocorrer de forma isolada ou combinadas (III DIRETRIZES, 2001).

Há décadas sabe-se que os níveis de colesterol-total e LDL-colesterol séricos estão associados ao risco de se ter Doença Cardiovascular (STAMLER et al, 1986; CASTELLI et al, 1992, ZHANG et al, 2003).

Embora o Colesterol-total seja o primeiro lipídio sanguíneo medido para avaliar o risco de doença coronariana aterosclerótica, devido à facilidade de sua aferição, utilizam-se também as medidas de LDL-colesterol e de triglicerídios, que atuam como fator de risco; de HDL-colesterol, que atua como fator de proteção (MOURA et al, 2000).

Estudos demonstram que as concentrações séricas aumentadas de colesterol-total, particularmente a fração de colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDL-colesterol), e diminuída da fração de colesterol de alta densidade (HDL-colesterol), estão associadas a uma maior incidência de eventos cardiovasculares, dentre eles a Doença Arterial Coronariana (OLIVEIRA et al, 2005; COELHO et al, 2005). Segundo a III Diretriz Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia (2001), níveis séricos de HDL-colesterol <40mg/dL são

considerados fatores de risco, enquanto que níveis séricos de HDL-colesterol >60mg/dL são considerados um fator protetor.

Quanto maior a concentração de LDL, maior sua facilidade de penetrar no endotélio vascular. A LDL é capaz de passar pela parede endotelial, penetrar na parede da artéria e sofrer oxidação na camada íntima desta. A consequência disto é a formação de placas de ateroma e o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DÂMASO, 2001). Em geral, 1% de diminuição nos níveis de LDL-colesterol está associada a uma redução de 2-3% no risco de desenvolvimento de doenças cardíacas (LEON; SANCHEZ, 2001).

A detecção precoce de níveis séricos elevados de colesterol torna possível identificar um importante fator de risco modificável para Doença Arterial Coronariana (MOREIRA et al, 2006; FRANCA, 2006; COELHO et al, 2005). Os valores de referência encontram-se no quadro 2.

Lipídios	Valores mg/dL	Categorias
Colesterol-total	<200	Ótimo
	200-239	Limítrofe
	≥240	Alto
LDL-colesterol	<100	Ótimo
	100-129	Desejável
	130-159	Limítrofe
	160-189	Alto
	≥190	Muito Alto
HDL-colesterol	< 40	Baixo
	>60	Alto
Triglicerídios	< 150	Ótimo
	150-200	Limítrofe
	201-499	Alto
	≥ 500	Muito Baixo

Quadro 2. Valores de referência de lipídios séricos para indivíduos com idade >20 anos.
Fonte: III DIRETRIZ, 2001

Fatores de Risco “Lipídicos” Emergentes

Mesmo sendo reduzido o número de pacientes que apresentam algum evento cardiovascular sem possuir uma história prévia de fatores de risco clássicos, estes pacientes constituem um grupo interessante para estudo. Um metanálise reuniu 14 estudos e concluiu que 15,4% das mulheres e 19,4 % dos homens com alguma enfermidade cardiovascular não apresentaram fatores de risco clássicos (KHOT et al, 2003, GREELAN et al, 2003)

Nos últimos anos vários fatores de risco “emergentes” têm sido estudados como marcadores de aterosclerose, a saber: proteína reativa, lipoproteína (a), fibrinogênio, homocisteína (HACK MAN; ANARD, 2003; ROSENGREN et al, 1990; BRAUNWALDI, 1997).

Recentemente, a lipoproteína de baixa densidade oxidada (LDLox), a qual está envolvida diretamente com a formação da placa de ateroma, tem sido associada ao processo de instabilidade e extensão da aterosclerose coronariana (MEISINGER et al, 2005; TSIMIKAS et al, 2005, TSIMIKAS et al, 2004; WITZTUM, 1994).

Determinar a prevalência de pacientes que sofreram Infarto agudo do Miocardio (IAM) sem fatores de risco clássicos foi o objetivo do FORTIAM (Factores Ocultos de Riesgo Tras un Infarto Agudo de Miocardio). Este estudo multicêntrico de coorte de 1371 pacientes que sofreram infarto avaliou os fatores de risco para Doenças Cardiovasculares clássicos, como os níveis de lipoproteína(a) [Lp(a)], lipoproteína de baixa densidade oxidada (LDLox), proteína C reativa ultrasensível, fibrinogênio e homocisteína.

A prevalência de pacientes com IAM sem fatores de risco clássicos foi de 8%. Lipoproteína (a) e LDL-oxidada (LDLox) foram os únicos fatores de risco emergentes que de forma independente estiveram associados ao pior prognóstico.

Lipoproteína a

Lipoproteína(a) foi descrita por Berg em 1963 como uma variação genética do LDL-colesterol (BERG, 1963). A Lp(a) apresenta composição lipídica similar a do LDL-colesterol, mas com o conteúdo de proteínas diferente (KOSCHINSKY, 2004; HAJJAR; NACHMAN, 1996; LAUBER et al, 1992; PATI; PATI, 2000). Os níveis de lipoproteína(a) e a massa molecular da apo(a) variam muito entre as pessoas e são geneticamente determinadas (LIMA et al, 2006b)

Lp(a) pode ser um fator de risco para a aterogênese (HANCOCK et al, 2003; PEÑA-DÍAZ et al, 2000; FROHLICH et al, 2004). Altos níveis de LP(a) são considerados fatores de risco para Doenças Cardiovasculares. Alguns autores consideram a Lp(a) um fator de risco independente para a aterosclerose coronária em Caucasianos, Chineses, Africanos e Indianos (GENEST et al, 1991; FROLICH et

al, 2004; FUJINO et al, 2000; PATI; PATI, 2000; LUC et al, 2002). Frohlich e colaboradores (2004) sugerem que a determinação da Lp(a) é importante para avaliar pacientes com Doenças Cardiovasculares, e é especialmente utilizada na predição de risco em mulheres.

LDL-oxidada e peroxidada

Ao processo oxidativo que ocorre nos lipídeos dá-se o nome de peroxidação lipídica. A peroxidação lipídica afeta estruturas ricas em ácidos graxos poliinsaturados, alterando a permeabilidade da membrana celular e favorecendo a descompartmentalização celular de líquido (edema) e apoptose (morte celular) (GUTIÉRRWZ, 2002).

Um enfoque importante da peroxidação lipídica está na oxidação das lipoproteínas. Investigações recentes sobre os fatores de risco relacionados com a iniciação da aterosclerose têm atribuído às lipoproteínas de baixa densidade oxidadas (LDLox) um papel relevante na fisiopatologia da aterosclerose (DAMASCENO et al, 2001; DAMASCENO et al, 2000).

Estudos clínicos e experimentais têm demonstrado que as modificações oxidativas da LDL são essenciais para o desenvolvimento da aterosclerose (NAPOLI, 1997). A elevada oxidabilidade da LDL demonstra que processos oxidativos que modificam as lipoproteínas podem ser considerados, potencialmente, como um fator de risco adicional para o desenvolvimento da aterosclerose (CHONG; BACHENHEIMER, 2000).

A avaliação do efeito da peroxidação lipídica e do perfil antioxidante na aterosclerose indica que baixas concentrações de antioxidantes e a elevada peroxidação lipídica estão associadas às fases iniciais dos processos ateroscleróticos (LEBORGNE, 2005).

2.2 SOJA E SEUS PRODUTOS

As principais formas de comercialização da soja encontradas atualmente no mercado são grãos de soja, proteína texturizada de soja e extrato de soja. A

proteína isolada de soja tem sido utilizada para fabricação de produtos pela indústria de alimentos.

Grão de Soja

O grão de soja pode ser consumido como substituto de leguminosas (feijão, grão de bico, lentilha), juntamente a folhas, legumes e verduras complementando a salada, ou em preparações como sopas ou purê. Na indústria, é utilizado na produção de farinha, proteína texturizada, óleo, extrato e fórmulas infantis.

Uma versão mais recente da utilização da soja é o grão torrado, que é consumido em forma de petiscos ou acompanhamentos de saladas ou sopas. Para o preparo do grão de soja, utiliza-se a torra como processamento térmico. Esse processo assemelha-se a torra do amendoim, demonstrando como ponto final a separação entre a casca e o grão ao esfregá-lo entre os dedos (EMBRAPA).

Proteína texturizada de soja

A proteína texturizada é produzida a partir da farinha desengordurada de soja por um processo chamado de extrusão termoplástica (EMBRAPA). O processo de produção de proteína texturizada de soja ocorre em alta temperatura a partir da extração do óleo dos grãos de soja, resultando na obtenção da farinha desengordurada (FISPAL)

Trata-se de um ingrediente fundamental na indústria alimentícia, usada em diversos tipos de produtos como salsichas, linguiças e hambúrgueres. São produzidas também proteínas de soja granuladas, em flocos e moídas, para o consumo substituto da carne. Desta forma, é usada no processamento de embutidos, almôndegas, quibe, hambúrguer e de outros produtos que simulam a carne (FISPAL).

Extrato de soja

O extrato de soja, popularmente conhecido como “leite de soja” é obtido a partir de grãos selecionados, submetidos a tratamento térmico, descascamento (a

retirada da casca facilita a sua solubilidade), pré-moagem e micronização (CASE et al, 2005).

Para muitas pessoas com intolerância à lactose, o extrato de soja pode substituir o leite de vaca, porém o baixo conteúdo de cálcio presente na soja inviabiliza a substituição total dos derivados de leite.

Proteína Isolada de soja

A proteína isolada de soja é a forma mais elaborada entre os derivados protéicos do grão de soja. Produzida a partir da farinha desengordurada de soja, esta fração protéica é separada dos demais componentes do grão por processos de precipitação, lavagem, neutralização e secagem. Após esse processamento, transforma-se em um produto de alto teor protéico (mais de 90% em base seca) e apresenta alta funcionalidade (poder de emulsificação e gelificação).

Atualmente, a proteína isolada de soja vem sendo amplamente pesquisada pela literatura científica e as evidências mostram diversos benefícios à saúde.

2.3 ISOFLAVONAS

As plantas contêm um grande grupo de componentes biologicamente ativos, heterogêneos, os quais incluem um subgrupo de fitoquímicos conhecidos como compostos fenólicos (Fig 1. Fitoquímicos) (ERDMAN et al, 2007).

Os compostos fenólicos estão presentes em boa quantidade em alimentos de origem vegetal, como frutas, verduras e grãos. Muitos compostos fenólicos já foram isolados de diferentes produtos, incluindo os flavonóides (isoflavonas, flavonóis, flavonas entre outros) (Tabela 1) (ERDMAN et al, 2007)

Especificamente quando falamos das isoflavonas, o consumo na população Ocidental não passa de 1-3mg/d enquanto que a média de ingestão entre adultos Japoneses fica entre 25 a 50mg (MESSINA et al, 2006). A dificuldade de estimar o consumo de flavonóides na dieta se dá pela diversidade dos flavonóides presentes nos vegetais, diferentes proporções presentes nos alimentos, e variação num mesmo alimento (SCALBERT; WILLIANSO, 2000).

Tabela 1. Subclasses de flavonóides e respectivas fontes alimentares.

Subclasses	Substância	Fontes alimentares
Flavonóis	Quercitina, campferol	Alho, brócolis, tomate, vinho tinto, chá
Flavonas	Apigenin, luteolina	Vegetais verdes folhosos
Flavanonas	Eriodictol, hesperetina, naringenina	Frutas cítricas
Isoflavonas	Daidzeína, genisteína e gliciteína	Soja
Antocianidinas	Cianidina, malvidina, peonida, petunidina	Morangos, uvas

Fonte: Adaptada, Erdman et al, 2007

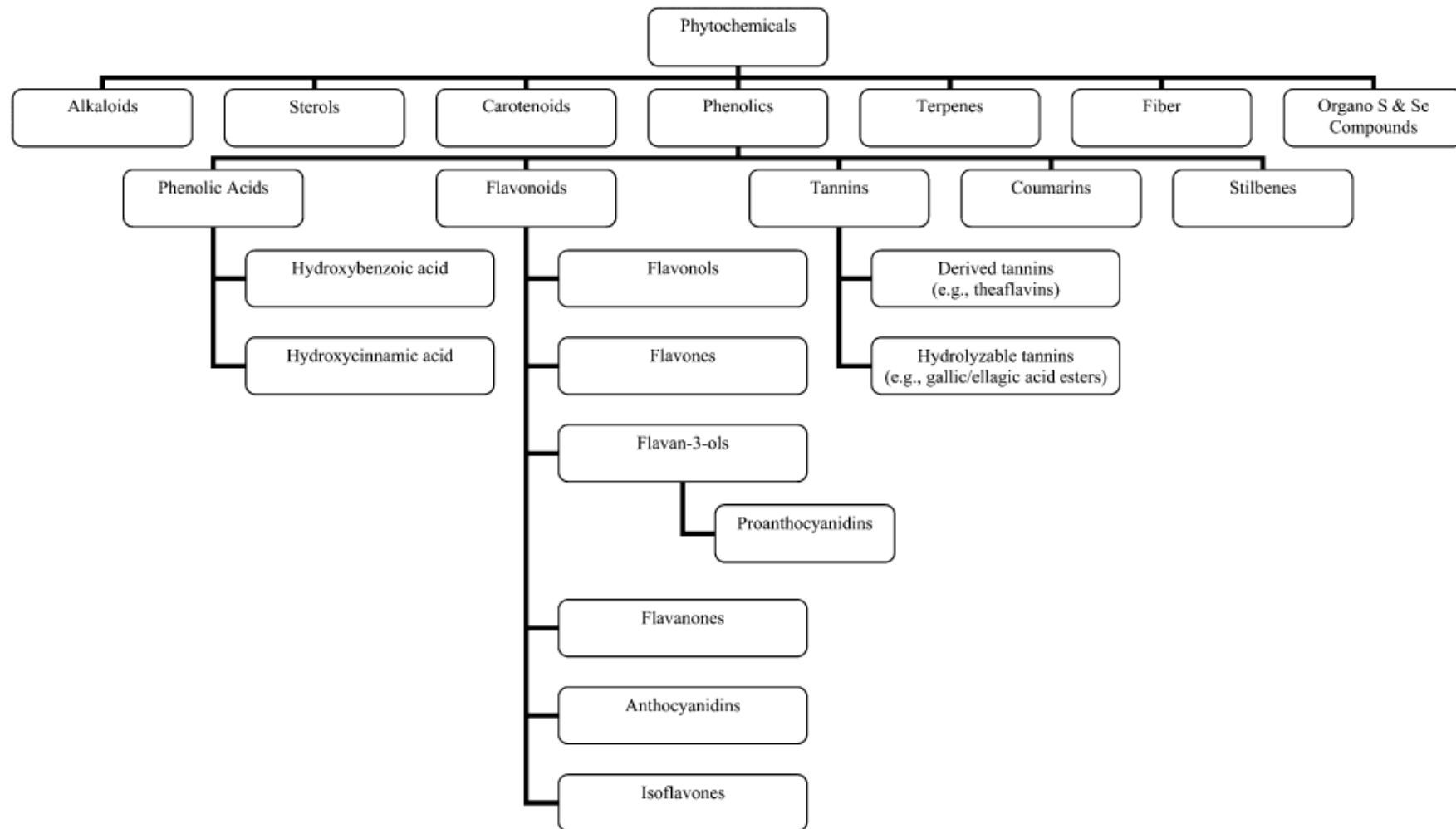


Figura 1. Fitoquímicos
 Fonte: Erdman et al, 2007

Os fitoestrógenos são compostos vegetais, não-esteróides, capazes de exercer efeitos estrogênicos. Nas plantas, esses compostos atuam como fungicidas, detêm a herbivoria, regulam os hormônios vegetais e protegem as plantas contra os raios ultravioletas, além de funcionarem como antioxidantes (BARRET, 1996).

Há cerca de 20 tipos de fitoestrógenos, identificados a partir de 300 plantas de 16 famílias diferentes, que podem ser agrupados em três classes: as isoflavonas, os coumestanos (dos quais o principal é o coumestrol) e os lignanos, representados principalmente pelo enterodiol e pela enterolactona (ADLERCREUTZ, 2002). De acordo com Adlercreutz (2002), existe a quarta classe de fitoestrógenos que se refere aos micoestrógenos (lactonas do ácido resorcílico), representados pela zearalenona e zearalenol.

As isoflavonas, conhecidas como fitoestrógenos por possuírem propriedades similares aos estrógenos, são as formas mais comuns de fitoestrógenos, sendo predominantemente encontradas em leguminosas, principalmente na soja (THAM et al, 1998; PHIPPS et al, 2002).

2.3.1 Estrutura química das isoflavonas

A quantidade de isoflavonas em preparações da proteína de soja varia muito e depende das técnicas de processamento usadas durante a produção (ANDERSON et al, 1995; ERDMAN et al, 2004). Na soja, as isoflavonas estão presentes na proteína deste alimento. Estas permanecem na proteína da soja quando esta não é extraída com álcool. Porém, quando a lavagem é realizada com álcool, uma quantidade substancial de isoflavonas é removida. A concentração natural de isoflavona fica em torno de 2mg/g de proteína na proteína de soja texturizada, farinha de soja e soja em grãos e de 0,6 a 1,0 mg/g de proteína na proteína de soja isolada (SACKS et al, 2006).

As principais isoflavonas encontradas na soja são genesteína (4',5-trihydroxyisoflavone), daidzeína (4',7-dihydroxyisoflavone) e gliciteína (4',7-dihydroxy-6-methoxyisoflavone) e seus respectivos β -glicosídeos, genisteína e daidzeína. Estes compostos podem ser encontrados na forma não-conjugada (aglicona), conjugada (glicosilada), acetilglicosilada e malonilglicosilada. A

genesteína parece ser mais abundante do que a daidzeína em produtos que contêm isoflavonas (MESSINA, 2002; CLAPUCH et al, 2002; ESTEVES; MONTEIRO, 2001).

A estrutura básica das isoflavonas consiste em dois anéis benzênicos, com hidroxilas (-OH) em cada um deles. Nas plantas, estas estruturas, isoflavonas são inativas, mas quando o resíduo de açúcar é removido, estes compostos tornam-se ativos (THAM et al, 1998).

17 β -Estradiol é um dos mais potentes estrógenos endógenos humano. A estrutura das isoflavonas são similares a estrutura do 17 β -Estradiol pois ambos possuem anéis aromáticos com hidroxilas e a distância entre as duas hidroxilas é muito parecida (SETCHELL; CASSIDY, 1999).

A partir da semelhança química entre as isoflavonas e o estrógeno (Figura 1), estas podem ligar-se ao mesmo receptor de estrógeno (RE), predominantemente a RE β . Porém a isoflavona exerce um fraco efeito estrogênico e possuem afinidade de ligar-se ao RE do que o estradiol (ROUTLEDGE et al, 2000).

Os compostos que compõe as isoflavonas possuem ambas as atividades estrogênica e antiestrogênica (MIKSICEK, 1995; CASSIDY et al, 1995), além de efeitos que não são relacionados à atividade dos estrógenos (BARNES, 2004).

As isoflavonas da soja têm fortes propriedades biológicas nos animais, causando a vasodilatação arterial, a redução do colesterol sanguíneo (ANTHONY et al, 1998) e a inibição da aterosclerose em macacos (CLARKSON et al, 2001). Isto conduziu à idéia intrigante de que a presença e a quantidade de isoflavonas explicam os resultados divergentes em muitos estudos em animais e humanos; somente aqueles usando preparações com elevados teores de isoflavonas produziram resultados favoráveis (ANTHONY et al, 1998; CROUSE et al, 1999; SACKS et al, 2006). Até a década de 90, as isoflavonas ainda não haviam sido estudadas, porém após isto, muitas pesquisas testaram os efeitos da proteína de soja e das isoflavonas separadamente.

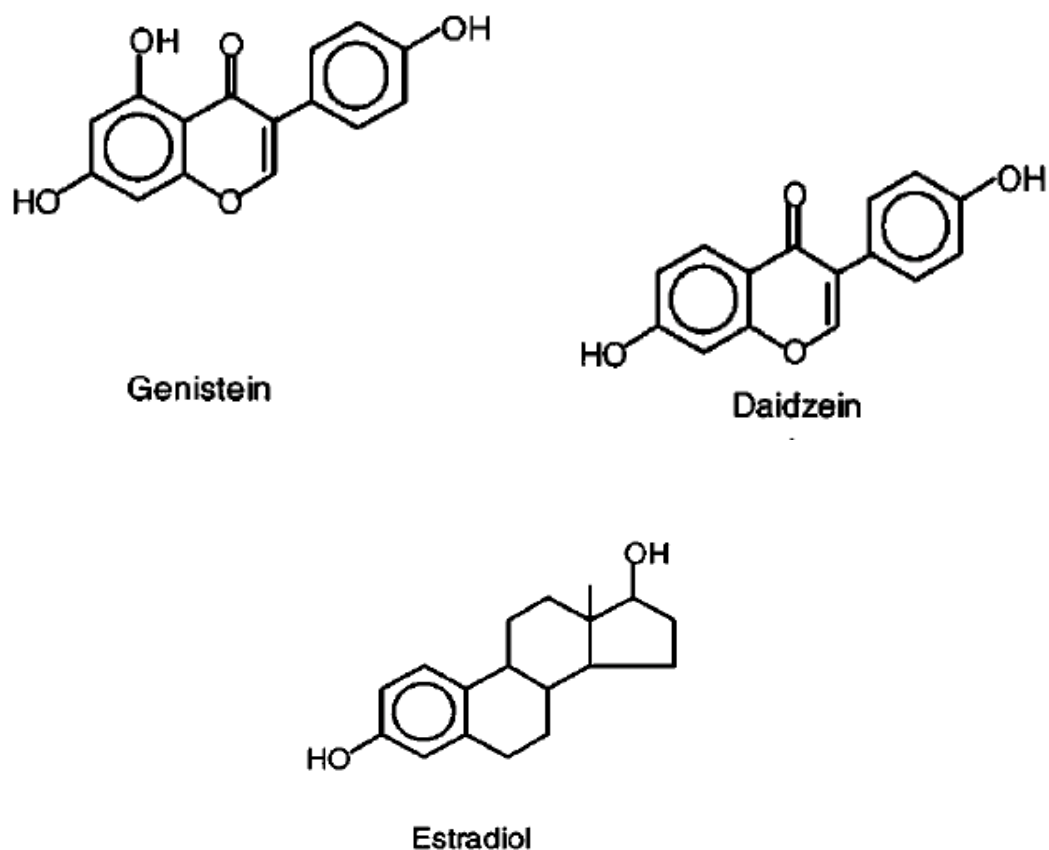


Figura 2. Comparação da estrutura dos fitoestrógenos genisteína e daidzeína (isoflavona) com o estradiol (estrogênio natural). Figura adaptada
Fonte: KURZER & XU, 1997

2.4 MECANISMOS DE AÇÃO

Estudos em animais (LIN et al, 2004; MORYAMA et al, 2004) e em humanos (ANDERSON et al, 1995; ANTONY et al, 1998) mostram que o consumo de proteína de soja rica em isoflavonas pode conferir efeitos benéficos sobre os fatores de risco das doenças cardiovasculares (ANDERSON et al, 1995; ANDERSON et al, 1999; KUSHI et al, 1995; LUKACZER et al, 2006), incluindo a redução dos níveis de colesterol-total, LDL-colesterol e aumento do HDL-colesterol.

Sabe-se que dietas ricas em proteína de soja podem melhorar o perfil lipídico. Entretanto, os mecanismos pelos quais a proteína de soja altera as concentrações

de colesterol e lipídios séricos ainda não estão completamente elucidados (KERN et al, 2002).

Uma hipótese é que a composição de aminoácidos presentes na soja altera o metabolismo do colesterol, possivelmente pela alteração do estado endócrino, como alterações na razão insulina: glucagon e concentrações de hormônios tireoideanos, bem como o aumento da tiroxina plasmática, a qual está relacionada à redução do colesterol plasmático (FORSYTHE, 1995).

Outras hipóteses são levantadas por estudos que investigam as alterações metabólicas induzidas pela proteína de soja, dentre as quais: aumento da excreção de ácidos biliares (aumento da síntese e atividade de colesterol 7- β -hidroxilase), efeito direto no metabolismo hepático do colesterol (aumento da síntese e atividade de 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A redutase), efeitos endócrinos (alteração da concentração de hormônios, como a tiroxina), atividade aumentada do receptor de apolipoproteína B/E e diminuição da secreção de lipoproteínas e colesterol hepático, os quais estão associados com o aumento do “clearance” do colesterol do sangue (KURZER; XU, 1997; POTTER, 1995).

Entretanto, enquanto alguns desses mecanismos vêm sendo demonstrados em animais, em humanos eles ainda não são consistentes. Tal fato poderia ocorrer em virtude de inúmeros fatores. As variações entre os produtos de soja, causadas pelo processamento e pelo melhoramento genético, poderiam ser, em parte, responsáveis, já que existe um grande número de componentes biologicamente ativos presentes em diferentes produtos de soja, como isoflavonas, saponinas, fibras, ácido fítico, minerais, inibidores de proteases, entre outros, os quais também podem estar envolvidos nos mecanismos hipocolesterolemiantes da proteína de soja (POTTER et al, 1995; SACKS et al, 2006).

Recentes estudos epidemiológicos sobre fibras dietéticas de cereais e legumes indicam uma relação inversa entre a quantidade de fibra ingerida e o risco de DCV. O maior efeito das fibras solúveis presentes na soja sobre as lipoproteínas séricas é que estas se ligam aos ácidos biliares impedindo sua reabsorção e consequente formação de colesterol (ANDERSON; MAJOR, 2002). Além disso, a fermentação das fibras solúveis no cólon produz ácidos graxos de cadeia curta, os quais contribuem para a redução da síntese de colesterol hepático (ANDERSON; HANNA, 2002). Além disso, a redução da síntese pode ser devido à redução de

insulina no sangue, pois esta tem a responsabilidade de ativar enzimas que participam da síntese do colesterol (MALKKI, 2001).

Nas últimas décadas, tem havido um grande interesse nas isoflavonas e, em particular, nos potenciais benefícios que uma dieta rica nestes compostos pode conferir no controle de muitas doenças crônicas. O maior interesse dos pesquisadores é na farmacologia e fisiologia das isoflavonas, pois apresentam estrutura não-esteroidal, mas se comportam como estrógenos na maioria dos sistemas biológicos, além de serem os mais abundantes dentre os fitoestrógenos. (SETCHELL, 1998).

Existe também a hipótese de que a ingestão das isoflavonas presentes na soja pode inibir o desenvolvimento da aterosclerose, pois essas possuem propriedades antioxidantes contra a oxidação do LDL-colesterol, os quais geram uma cascata de eventos produzindo as placas ateroscleróticas. Além disso, as isoflavonas possuem efeitos hipocolesterolemiantes que ainda estão sendo investigados. Isto pode acontecer devido à interação das isoflavonas com os receptores de estrogênio presentes em nosso organismo, pois existe uma similaridade estrutural entre estes compostos e seus metabólitos com os estrógenos.

As isoflavonas, por serem semelhantes ao estradiol, podem ligar-se a receptores e modular a transcrição gênica e cascatas de sinalização celular, podendo, também, ativar-se independentemente do receptor de estrógeno (HALL et al, 2005). O Colesterol-sérico pode diminuir através de um mecanismo semelhante (ANDERSON et al, 1999) comparando a estrutura do metabólito das isoflavonas (equol) com o estradiol. Estudos indicam que para conseguir um efeito de redução do colesterol (FARRIOL et al, 2006), é importante consumir proteína de soja com isoflavonas (LICHTENSTEIN, 1998). A hidrólise das fibras usada como suplemento pode alterar seus efeitos fisiológicos.

Alimentos ricos em fibra sejam considerados protetores das doenças cardiovasculares e possuam efeitos hipocolesterolêmicos, a separação dos componentes naturais, a proteína da soja das isoflavonas, pode reduzir os efeitos cardioprotetores (RUBIO, 2002; MESSINA, 1994; FARRIOL et al, 2006; NILAUSEN; MEINERTZ, 1999; POTTER, 1995; FORSYTHE, 1995; MALKKI, 2001; ANDERSON; HANNA, 2002).

Outro efeito benéfico das isoflavonas seria o potencial efeito redutor dos sintomas da menopausa, embora o mecanismo de ação ainda não esteja bem

esclarecido e algumas hipóteses tenham sido levantadas. Uma explicação parte do conhecimento que o estrógeno e as isoflavonas ligam-se aos receptores de estrógenos (RE). Quando as isoflavonas alcançam os tecidos alvos, elas atravessam a membrana celular por difusão passiva, ligando-se a REs no citosol e formando o complexo isoflavona-RE. Este complexo então se desloca dentro do núcleo para a ativação do “oestrogen response element (ERE)” , o qual está envolvido na regulação da síntese de DNA-directed mRNA e na produção de proteínas (CHEN; ANDERSON, 2002). Entretanto, por este mecanismo as isoflavonas podem ligar-se a RE e então diretamente afetar a transcrição da produção de genes regulados por estrógenos (KOTECA; LOCKWOOD, 2005).

Outra explicação é que as isoflavonas agem através de efeitos antioxidantes. As propriedades das isoflavonas estão associadas com a presença do grupo hidroxila na posição 4' e 5" no anel aromático (BARNDES, 2003). Além disso, parece haver sinergia positiva entre fitoestrógenos e outros antioxidantes (HWANG et al, 2000). Isto pode ser importante em processos que desencadeiam doenças envolvidas com o estresse oxidativo, isto é, na redução da oxidação do LDL-colesterol na aterosclerose.

Com relação à proteção das lipoproteínas, os fitoestrógenos podem também prevenir a oxidação de enzimas, através da proteção do grupo cisteína. Esta propriedade não é, entretanto, comandada por sua estrutura parecida com o estrógeno, mas por sua propriedade antioxidante, sugerindo que os efeitos das isoflavonas podem ser estrogênicos e antiestrogênicos (CHEN; ANDERSON, 2002)..

Estudos têm mostrado um aumento na quantidade de 17β -estradiol na presença de isoflavonas e têm sugerido que a suplementação com isoflavonas aumenta os níveis de estrógenos endógenos. Estes podem ter um efeito indireto devido à ação das isoflavonas sobre hormônios sexuais ligantes de globulina (KURZER; XU, 1997).

2.4.1 Equol

Até recentemente, daidzeína e genisteína eram consideradas as isoflavonas mais importantes e mais estudadas. Entretanto, atualmente a atenção tem-se voltado aos metabólitos das isoflavonas.

Equol representa o principal produto ativo do metabolismo (metabólito) da daidzeína, não é encontrado na soja e sim produzido via microflora intestinal (SETCHELL et al, 2002). Tem vida mais longa e maior atividade biológica, incluindo atividade antioxidante. Este composto também possui atividade estrogênica, tendo afinidade com ambos os receptores de estrógenos RE β e RE α . Entretanto o equol é pouco produzido em adultos os quais possuem baixa quantidade de bactérias intestinas (estas têm a função de metabolizar daidzeína) (SETCHELL et al, 2002).

Além disso, enquanto a maioria dos animais produz equol após consumir soja, de 30 a 50% dos humanos adultos não produzem. Esta incapacidade de produzir equol por quase metade da população é capaz de explicar muitas vezes a falha da soja revelar seus potenciais benefícios à saúde em ensaios clínicos (JACKMAN et al, 2007). Fatores que influenciam a capacidade de produzir equol não são bem estabelecidos; entretanto, a fisiologia intestinal, a genética e a dieta dos indivíduos podem contribuir para a diferença entre indivíduos na conversão da daidzeína em equol (LAMPE, 2009).

A habilidade de produzir equol tem sido proposta como uma hipótese para os efeitos da soja e seus produtos (SETCHELL et al, 2002). Distinguir quais sujeitos são “equol-produtores” e “não produtores” em ensaios clínicos poderia abrir uma possibilidade de explicar a variação de benefícios associados ao consumo de soja relatados (KOTECA; LOCKWOOD, 2005).

Com relação às Doenças Cardiovasculares o equol pode apresentar relativa capacidade vasodilatadora, efeitos sobre a síntese de óxido nítrico, atividade antioxidante e potencial prevenção da hipertensão (JACKMAN et al, 2007).

2.5 SOJA E SAÚDE

O consumo de proteína de soja no dia a dia é bem conhecido em países Asiáticos, porém a produção e consumo em países ocidentais aumentou somente nas últimas décadas, principalmente após a aprovação do “Food-Labeling Health Claim” o qual relaciona o consumo de proteína de soja à prevenção de Doenças Cardiovasculares (FDA, 1999). Desde então, muitos estudos têm avaliado os potenciais benefícios do consumo de soja à saúde.

Apesar da publicação do FDA (1999) afirmar os efeitos positivos estudos ainda são inconclusivos com relação ao consumo de soja e DCV. São inconclusivos, também, estudos que avaliam outros potenciais benefícios, tais como prevenção de perda óssea, câncer, diabetes e sintomas da menopausa (SACKS et al, 2006).

Saúde Óssea

Um efeito estrogênico das isoflavonas pode ser a redução da perda óssea depois da menopausa. Ensaio clínico realizado sobre este assunto possui duração pequena e resultados variados (KREIJKAMP-KASPERS et al, 2004; SETCHELL; LYDEKING-OLSEN, 2003).

Efeitos positivos com a redução da perda óssea em mulheres após o consumo, entre 6 e 24 meses podem ser observados em estudos como os de Potter e colaboradores (1998), Alekel e colaboradores (2000), Chen e colaboradores (2003), Morabito e colaboradores (2002).

Cassidy e colaboradores destacam que entre três estudos (GALLAGHER et al, 2004; KREIJKAMP-KASPERS et al, 2004; POTTER et al, 1998) publicados até o ano de 2005, os quais utilizaram proteína de soja rica em isoflavonas como intervenção, somente um apresentou efeitos positivos com relação à densidade óssea (POTTER et al, 1998).

Metanálise publicada em 2007 (MA et al, 2007) de ensaios clínicos randomizados sugere que o consumo de isoflavonas diminuiu significativamente a perda óssea espinhal e reduziu a desoxipiridolin urinária, um marcador de reabsorção óssea, aumentando a fosfatase alcalina osso-específica do soro, um marcador da formação do osso, em mulheres menopáusicas (MA et al, 2008). Outros estudos em mulheres pós-menopausal mostraram resultados similares (MORABITO et al, 2002; MARINI et al, 2007; LYDEKING et al, 2004).

Entretanto, efeitos não significativos do consumo de isoflavonas sobre a densidade óssea e marcadores do metabolismo ósseo foram apresentados em estudos os quais utilizaram a proteína de soja rica em isoflavonas, como intervenção, comparadas a proteína de soja pobre em isoflavonas, como controle (GALLAGHER et al, 2004; DALAIS et al, 2003; CHEONG et al, 2007).

Estes dados indicam que a proteína de soja pode interferir no efeito das isoflavonas “mascarando ou antagonizando” seu efeito. Embora dados crescentes

tendam a suportar um papel positivo da entrada da soja na prevenção da perda do osso, especialmente com relação ao metabolismo ósseo, em mulheres postmenopausal, mais estudos são necessários para confirmar tal ação.

Câncer

A fraca ação estrogênica das isoflavonas sugere a possibilidade destas diminuírem os efeitos maléficos no câncer de mama. Esta hipótese surgiu após seguidas observações de baixos índices destes cânceres em populações de países asiáticos, os quais consomem grande quantidade de produtos a base de soja (PEETERS et al, 2003; SARKAR; LI, 2003; MAGEE; ROWLAND, 2004).

Shu e colaboradores (2001) publicaram estudo caso-controle o qual mostrou que a alta ingestão de soja durante a adolescência está associada ao baixo risco de câncer de mama em adultos. Entretanto, estudo recente afirma que o consumo de produtos a base de soja não tem efeitos protetores quando se refere a este tipo de câncer (NISHIO et al, 2007).

Cassidy e colaboradores (2006) destacam oito estudos caso-controles os quais avaliaram a associação entre o consumo de proteína de soja e o risco de ter câncer de mama em mulheres Asiáticas e Americanas (LEE et al. 1991; HIROSE et al. 1995; YAMAMOTO et al. 2003; YUAN et al. 1995; SHU et al. 2001; DAI et al. 2002; Wu et al. 1996, 2002). Todos estes sugerem a inversa associação entre ambas as mulheres pré ou pos-menopausa e o risco de câncer de mama.

Ensaio clínico duplo-cegos conduzidos em mulheres em diferentes estágios da menopausa apresentaram possíveis associações entre o consumo de soja e a densidade mamária, apesar de não apresentar resultados significativos com relação à redução de risco (MASKARINEC et al, 2003; ATKINSON et al, 2004).

Estudos epidemiológicos ainda divergem com relação aos resultados do consumo de proteína de soja e câncer de mama (PEETERS et al, 2003; YAMAMOTO et al, 2003; KEINAN-BOKER L et al, 2004; LINSEISEN et al, 2004). Estudos recentes de revisão concluíram que a maioria dos estudos ainda são insuficientes para determinar se os fitoestrógenos são protetores ou prejudiciais ao câncer de mama e qual a dose certa e em que período da vida da mulher este são ativos (ZIEGLER, 2004; CASSILETH; VICKERS, 2003; MAGEE; ROWLAND, 2004).

Pressão arterial

Muitos estudos testaram os efeitos do consumo de proteína de soja contendo isoflavonas, comparados à caseína ou proteína total do leite, sobre a pressão arterial (VIGAN et al, 2000; TEEDE et al, 2001; HERMANSEN et al, 2001; CUEVAS et al, 2003; JENKINS et al, 2000; JENKINS et al, 2002a). A pressão arterial reduziu significativamente em somente um (1) destes estudos (TEEDE et al, 2001). A alteração média foi de -1mm Hg para a pressão arterial sistólica. Outros estudos avaliaram os efeitos das isoflavonas sobre a pressão arterial, mas não encontraram efeitos significativos (JENKINS et al, 2002a; SQUADRITO et al, 2002; SIMONS et al, 2000; NESTEL et al, 1997; HODGSON et AL, 1999).

Com o objetivo de avaliar o efeito do consumo de soja sobre a pressão arterial (sistólica e diastólica), 60 mulheres pós-menopausa foram randomizadas em um ensaio clínico crossover. Estas receberam soja, contendo 25g de proteína de soja e 101mg de isoflavonas, ou 25g de produto controle, a ser consumido dividido em três ou quatro porções por dia. Após oito semanas de intervenção a redução foi de 9,9% e 6,8% respectivamente para pressão sistólica e diastólica para mulheres hipertensas e redução de 5,2% e 2,9% para mulheres normotensas (WELTY et al, 2005).

Ao avaliar dados sobre o efeito do consumo de produtos a base de soja e pressão arterial (sistólica e diastólica) em 22 estudos, Balk e colaboradores (2005) não relacionam tal consumo a efeitos positivos.

Sintomas da Menopausa

O alto consumo de produtos a base de soja tem sido proposto como uma das razões para a baixa prevalência dos sintomas da menopausa no Japão, China e Coréia (LOCK et al, 1988; ADLERCREUTZ et al, 1992). O consumo de soja tem-se tornado mais popular em países do Ocidente pelo possível efeito no tratamento dos “calorões da menopausa”, apesar dos resultados não serem evidentes.

Assim como o efeito sobre os lipídios séricos, também se têm estudado os efeitos do consumo de soja sobre os sintomas da menopausa. Estudos epidemiológicos, experimentais e clínicos têm indicado a ação potencial das

isoflavonas na redução dos sintomas indesejáveis da menopausa, especialmente das ondas de calor (FRIAS, 2003), porém as evidências ainda são limitadas (MURKIES et al, 1995; HUNTLEY; HERNEST, 2004; KREBS et al, 2004).

Cassidy e colaboradores destacam que as isoflavonas, presentes na soja, podem reduzir os calorões, porém o efeito é em torno da metade observada quando utilizada a terapia hormonal e muito similar a outras terapias não hormonais. Além disso, estudos apresentam resultados controversos (ALBERTAZZI et al, 1998; KOTSOPOULOS et al, 200; KNIGHT et al, 2001; ST GERMAIN et al, 2001; SCAMBIA et al, 2000; UPMALIS et al, 2000; FAURE et al, 2002; HAN et al, 2002; NIKANDER et al, 2003; PENOTTI et al, 2003; PETRI NAHAS et al, 2004).

Em uma metanálise experimentos randomizados foram avaliados (KRONENBERG et al, 2002). Somente três estudos com no mínimo 6 semanas de intervenção obtiveram resultados significantes na redução dos calorões (HAN et al, 2002; ALBERTAZZI et al, 1998; DALAIS et al, 1998). Efeitos não significativos foram encontrados nos demais (VAN PATTEN et al, 2002; ST GERMAIN et al, 2001; SCAMBIA et al, 2000; QUELLA et al, 2000; UPMALIS et al, 2000; WASCHBURN et al, 1999; BRZEZINSKI et al, 1997; MURKIES et al, 1995; BAIRD et al, 1995).

Wasburn e colaboradores (1999) estudaram 51 mulheres na perimenopausa com sintomas climatéricos em ensaio randomizado, duplo-cego, no qual utilizaram suplementos contendo carboidratos ou proteínas de soja em duas formulações. Os autores verificaram que os sintomas vasomotores melhoraram significativamente em mulheres que utilizaram 29 g de proteína de soja com 34 mg de fitoestrógenos, duas vezes ao dia, em comparação ao grupo que utilizava carboidratos de soja.

Estudo de Albertazzi e colaboradores (1998) verificou que a soja foi significativamente superior ao placebo (caseína) para reduzir a média do número de ondas de calor por 24 horas depois de 4, 8 e 12 semanas de tratamento. As mulheres que consumiram soja apresentaram redução de 45% nas ondas de calor diárias em comparação com a redução de 30% obtida pelo placebo no final de 12 semanas.

Metanálise publicada por Krebs e colaboradores (25 estudos publicados entre 1966 e 2004) (KREBS et al, 2004) mostrou que os fitoestrógenos da soja não reduzem os “calorões”, nem mesmo outros sintomas da menopausa/climatério.

Dois revisões sistemáticas sobre o efeito do consumo de isoflavonas sobre os sintomas da menopausa chamam a atenção, dentre as quais uma sugere algum

efeito de preparações alimentares a base de soja (HUNTELEY; ERNEST, 2004), outra conclui que as isoflavonas não possuem efeitos positivos (KREBS et al, 2004).

Cassidy e colaboradores (2006) salientam que as evidências ainda são limitadas quando se fala em consumo de proteína de soja isolada, alimentos à base de soja ou extrato de soja e sintomas da menopausa. Destacam ainda que o extrato de isoflavonas pode reduzir os calorões, porém o efeito é em torno da metade do observado quando utilizada a terapia hormonal e muito similar a outras terapias não hormonais. Estes autores sumarizam alguns resultados importantes ao realizarem uma revisão crítica sobre “soja e sintomas da menopausa” (artigos até 2005) descritos a seguir.

Ao reunir estudos os quais utilizaram proteína de soja isolada como intervenção apenas um estudo (ALBERTAZZI et al, 1998) dos quatro localizados (KOTSOPOULOS et al, 200; KNIGHT et al, 2001; ST GERMAIN et al, 2001) apresentou efeitos significativos com relação à redução dos calorões. Dentre os estudos destacados pelos autores, os quais utilizaram isoflavonas (SCAMBIA et al, 2000; UPMALIS et al, 2000; FAURE et al, 2002; HAN et al, 2002; NIKANDER et al, 2003; PENOTTI et al, 2003; NAHAS et al, 2004) ou geisteína (CRISAFULLI et al, 2004), seis apresentaram reduções significativas dos sintomas da menopausa (SCAMBIA et al, 2000; UPMALIS et al, 2000; FAURE et al, 2002; HAN et al, 2002; NIKANDER et al, 2003; PENOTTI et al, 2003; NAHAS et al, 2004). O consumo de proteína de soja contendo isoflavonas, na maioria dos estudos, apresenta resultados divergentes com relação aos efeitos sobre os sintomas vasomotores em mulheres no climatério.

2.6 SOJA E LIPÍDIOS SÉRICOS

Os níveis de lipídios séricos têm sido correlacionados com as Doenças Cardiovasculares (DCV). Sabe-se que elevados níveis plasmáticos de LDL-colesterol (lipoproteína de baixa densidade) e triglicerídios são considerados fatores de risco para o aparecimento destas doenças. Por outro lado, altos níveis de HDL-colesterol (lipoproteína de alta densidade) são considerados fatores de proteção (FRIEDMAN; BRANDON, 2001).

O risco de alterações no perfil lipídico e aparecimento de doenças cardiovasculares aumentam quando falamos em mulheres que estão na menopausa, peri e pós-menopausa. Nesta fase, o aparecimento aumentado de doenças coronarianas está associado com a deficiência na produção de esteróides gonadais. Em geral, mulheres pós-menopausa apresentam diminuição da concentração plasmática de HDL-colesterol e aumento de LDL-colesterol como resultado da diminuição da produção de estrogênio (BIERMAN; GLOMSET, 1992).

Com as mudanças no perfil epidemiológico e o aumento das doenças crônicas não transmissíveis cresceram as investigações sobre o papel do estilo de vida – consumo alimentar, tabagismo e ingestão de álcool – na etiologia dessas doenças (WHO, 2003). Grandes estudos epidemiológicos longitudinais têm contribuído para esse conhecimento (GORDON et al, 1977; PEREIRA et al, 2004). Especificamente, na área da epidemiologia nutricional (HU; WILLET, 2002; WILLET, 1998) diversos estudos têm evidenciado o efeito específico de nutrientes ou de alimentos sobre a saúde, tal como a proteção oferecida por uma dieta rica em frutas e hortaliças.

Para os riscos de aparecimento de doenças cardiovasculares, a ciência da nutrição tem buscado exaustivamente respostas no aumento do consumo de alimentos funcionais, dentre eles a soja.

entre os produtos derivados da soja, a proteína de soja e a proteína isolada de soja têm recebido considerável atenção pelo potencial efeito de melhorar os fatores de risco de DCV (SACKS et al, 2006).

Dentre as substâncias com potencial antioxidante e/ou ação moduladora da colesterolemia, destaque vem sendo dado às isoflavonas. Esta pode ter efeito na redução das concentrações séricas de colesterol total, LDL colesterol e triglicerídeos (ANDERSON et al 1995), inibição da susceptibilidade oxidativa de lipoproteínas e resposta protetora em relação à progressão da aterosclerose (DAMASCENO et al, 2001).

Dados de estudos experimentais, realizados em animais (LIN et al, 2004; MORYAMA et al, 2004) e em humanos (LIN et al, 2004; MORYAMA et al, 2004),

sugerem o efeito da proteína de soja contendo isoflavonas sobre a hipercolesterolemia. Entretanto, a maioria dos resultados obtidos desde 1999, em humanos, apresenta inconsistências com relação à função redutora de colesterol sérico, principalmente com relação à magnitude dos efeitos (XIAO, 2008)

Estudos em animais demonstram que as isoflavonas presentes na soja parecem ser essenciais no efeito de redução do colesterol sanguíneo. Antony et al (1996) verificaram que isolados protéicos de soja que tiveram as isoflavonas removidas mostram-se normo ou hipercolesterolêmicos. As concentrações plasmáticas de LDL-colesterol foram significativamente menores em macacos *Rhesus* tratados com isoflavonas de soja quando comparados com macacos tratados com formulados de soja sem isoflavonas. Além disso, demonstraram que as isoflavonas não só desempenham papel importante na regulação de lipoproteínas, reduzindo LDL-colesterol e aumentando HDL-colesterol, mas também protegem contra o desenvolvimento de placas de ateroma (ANTONY et al, 1996; KERN et al, 2002).

Nos últimos anos, ensaios clínicos e metanálises têm sido realizados para verificar os verdadeiros efeitos das isoflavonas e da proteína de soja sobre os níveis de lipídios séricos em humanos. Os resultados dos estudos ainda são controversos, uma vez que há uma ampla variação no tipo de amostra e de intervenções realizadas, principalmente quanto ao gênero (homens, mulheres, ambos) e número de indivíduos, quantidade e tipo de produto utilizado, quantidade de isoflavonas, tempo de intervenção, intervenções associadas a outros tipos de dieta ou não. A seguir descrevemos alguns estudos.

O primeiro estudo em humanos sobre o efeito do consumo de proteína de soja foi publicado por Hodges e colaboradores em 1967, demonstrando que o consumo de 100g/d de produtos a base de proteína de soja reduziram os níveis de colesterol em homens hipercolesterolêmicos (HODGES et al, 1967; SACKS et al, 2006).

A hipótese de que o consumo de proteína de soja reduz a dislipidemia vem sendo estudada desde meados da década de 70. Na época, esta hipótese da proteína de soja foi reforçada em consequência dos estudos por Sirtori e colaboradores (1979) e Descovich e colaboradores (1980), os quais definiram que as dietas ricas em proteína de soja, substituindo quase toda a proteína animal,

reduziram substancialmente o LDL-colesterol do sangue de 20% a 30% em pacientes hipercolesterolêmicos.

Os resultados apresentaram fatores de confusão, destacando que as dietas ricas em proteína de soja tiveram concentrações reduzidas de gordura saturada e colesterol e concentrações aumentadas em gordura poliinsaturada. Além disso, os pacientes perderam peso corporal. Os autores relataram que a proteína de soja texturizada (farinha de soja de 50%, concentrado de proteína da soja de 50%) era eficaz e não a proteína isolada (proteína de soja de 90%).

Na década de 90, a clássica metanálise de Anderson (1995) tentou conciliar divergentes resultados entre estudos sobre os efeitos da proteína de soja sobre o nível de lipídios séricos. Esta metanálise reuniu 38 ensaios clínicos controlados, que foram analisados independentemente. Os estudos selecionados utilizavam a proteína de soja isolada ou a texturizada (proteína de soja isolada (n=20); proteína de soja texturizada (n=15); combinação das duas formas (n=3)), eram ensaios clínicos com “*crossover*” ou paralelos.

Para a metanálise, foram excluídos os estudos que não apresentavam o grupo placebo, que utilizavam muitas fontes de proteínas vegetais, ou que os valores não foram avaliados no início do estudo. Após a exclusão, foram analisados 29 artigos. Esta metanálise apresentou uma tendência de que a proteína de soja reduz seletivamente o colesterol do sangue em proporção direta com o grau de hipercolesterolemia. Por exemplo, naqueles indivíduos com níveis de colesterol severamente elevado do sangue (335 mg/dL), a proteína de soja reduziu o colesterol total em 20%.

Diferentemente, ocorreu em pacientes com níveis de entre 259 e 333 mg/dL, onde a redução foi de 7% e em pacientes com colesterol inicial do sangue de 255 mg/dL, não houve nenhum efeito significativo. Assim, a resposta à proteína de soja foi determinada mais pelo nível de colesterol inicial do sangue e não pela quantidade de proteína de soja consumida, a qual variou extensamente entre 18 a 124 g/d.

As mudanças nas concentrações de lipídios séricos foram avaliadas em relação à concentração inicial de colesterol, ao tipo de proteína de soja usada, a quantidade de proteína de soja ingerida (em gramas por dia), ao tipo de dieta (dieta usual ou dieta pobre em lipídios e pobre em colesterol), a idade dos sujeitos (adultos ou crianças) e a similaridade da dieta do grupo controle e do grupo intervenção (ingestão de energia, gordura total, gordura saturada e colesterol).

A ingestão de dietas que continham proteína de soja, quando comparadas com o grupo controle, mostrou redução significativa nas concentrações séricas de Colesterol-total, LDL-colesterol e Triglicéridios de 9,3%, 12,9 % e 10,5% respectivamente. As alterações nas concentrações de Colesterol-total e LDL-colesterol foram associadas à concentração inicial destes lipídios séricos. Ao avaliarem as alterações nos níveis de HDL-colesterol, não foram encontradas diferenças significativas.

Em relação à quantidade de proteína de soja ingerida que apresentou efeitos positivos significativos sobre as concentrações de colesterol séricos, foi avaliado isoladamente, sem os efeitos da dieta controle. Após esta avaliação verificou-se que o ideal é consumir 47g de proteína de soja por dia. As reduções significativas de alguns lipídios séricos foram atribuídas à presença de fitoestrógenos na proteína de soja.

É importante destacar que em nenhum momento da metanálise encontramos descritas as quantidades de isoflavonas presentes nos produtos utilizados pelos estudos, nem mesmo nas 47g de proteína de soja recomendadas como benéficas. Além disso, foi limitada pela qualidade dos estudos; os estudos eram menos controlados em pacientes com hipercolesterolemia do que naqueles com níveis de colesterol médios.

É difícil determinar quanto efeito este teve nos resultados totais da metanálise. Sendo assim, este estudo fornece alguma sustentação, embora com limitações, para o conceito de que a proteína de soja é um tratamento eficaz para a hipercolesterolemia severa, e produz um benefício leve em pacientes com moderadas elevações nos níveis de colesterol sanguíneo e nenhum efeito naqueles com níveis de colesterol levemente elevados ou limítrofes.

Após a metanálise de Anderson e colaboradores (1995) muitos estudos controlados exploraram a hipótese da proteína de soja com maior especificidade. Além disso, o reconhecimento de que os produtos da proteína de soja contêm moléculas bioativas chamados de fitoestrógenos ou isoflavonas adicionou um aspecto novo fascinante à hipótese da proteína de soja (ADLERCREUTZ et al, 1997; GARDNER et al, 2001; KRIS-ETHERTON et al, 2002; ANTONY et al 1998).

Potter et al (1998) e Baum et al (1998) realizaram um ensaio clínico, duplo-cego, paralelo, com o objetivo de avaliar os efeitos da ingestão de proteína de soja, com diferentes concentrações de isoflavonas, sobre os níveis de lipídios séricos. Os

autores acompanharam 66 mulheres hipercolesterolêmicas na pós-menopausa durante seis meses. Durante todo este período, todas realizaram a Dieta Estágio I (DEI)² e receberam 40g de proteína isolada de soja (ISP) com diferentes quantidades de isoflavonas ou o placebo (Controle: caseína; ISP56: 56 mg/d; ISP90: 90mg/d). Ao final do estudo, verificaram que os grupos ISP56 e ISP90 tiveram efeitos significativos com relação à redução da fração sérica de colesterol não-HDL (LDL³+VLDL⁴), redução da razão Colesterol-total/HDL-colesterol (ISP56=10% e ISP90=8%) e o aumento da concentração de HDL-colesterol (ISP56=5,2% e ISP90=3,6%). Não foram verificadas alterações significativas com relação ao Colesterol-total, Triglicerídios, Apo A1 (apolipoproteína A1) e Apo B (apolipoproteína B).

O interesse na relação soja e saúde aumentou após o FDA (U.S. Food and Drug Administration) aprovar, em outubro de 1999, “a health claim” para alimentos contendo proteína de soja como protetor de doenças cardiovasculares. Esta decisão baseou-se em ensaios clínicos e mostrou que o consumo de 25g/d de proteína de soja consumidos pode reduzir a concentração sanguínea de LDL-colesterol (FDA, 1999). Entretanto, este documento definiu efeito somente após o consumo específico de proteína de soja, destacando que os estudos que utilizam somente as isoflavonas da soja ainda são controversos (HENKEL, 2000)

O componente protéico pode influenciar no efeito protetor da soja contra as doenças cardiovasculares. Nenhum efeito foi observado em animais quando as isoflavonas foram extraídas da proteína de soja e adicionadas em proteína animal (caseína) (GREAVES et al, 1999). No entanto, quando a proteína de soja e isoflavonas estavam presentes “juntos no alimento” houve diminuição no perfil lipoprotéico, sendo a redução proporcional à concentração de isoflavonas (CROUSE et al, 1998). Esta última conclusão foi descrita em estudo paralelo, duplo-cego, realizado com homens e mulheres os quais consumiram proteína de soja isolada e caseína. O consumo de proteína de soja isolada com 58mg de isoflavonas reduziu significativamente os níveis de colesterol total e LDL-colesterol respectivamente em 4% e 6% (CROUSE et al, 1998), após nove semanas de intervenção.

² Dieta Estágio I: Dieta com quantidade inferior a 30% do valor calórico derivado de lipídios, sendo que os ácidos graxos saturados devem corresponder de 8 a 10% e a ingestão de colesterol limitada a no máximo 300mg/dia.

³ Lipoproteína de baixa densidade

⁴ Lipoproteína de muito baixa densidade

Lipoproteína(a), que também é um independente preditor de doença cardiovascular (MARCOVINA et al, 2003) apresentou aumento em dois estudos sobre os efeitos da proteína de soja (TEEDE et al, 2001; NILAUSEN et al, 1999) e não apresentou alteração em outros 9 estudos (CROUSE et al, 1999; TEIXEIRA et al, 2000; VIGNA et al, 2000; PUSKA et al, 2002; HERMANSEN et al, 2001; KREIJKAMP-KASPERS et al, 2004; WEST et al, 2005; TONSTAD et al, 2002; JENKINS et al, 2002).

Nutrientes capazes de alterar a suscetibilidades das lipoproteínas à oxidação também são importantes na prevenção de aterosclerose. Damasceno et al (2001 e 2002) avaliaram a influência do consumo de caseína e proteína de soja isolada sobre a oxidação das lipoproteínas em coelhos. Durante dois meses, 20 coelhos consumiram dietas contendo 1% de colesterol e 27% de caseína ou 27% de proteína de soja isolada. Ao final do estudo pode-se observar que o grupo que consumiu caseína apresentou aumento nos níveis de colesterol e triglicéridios, bem como, oxidação das lipoproteínas. Entretanto, a proteína de soja isolada reduziu as concentrações de colesterol e LDL-oxidada.

Em 2000, Teixeira e colaboradores publicaram estudo realizado somente com homens, moderadamente hipercolesterolêmicos, com idade entre 23 a 74 anos (n=81). Tinham como objetivo avaliar a quantidade de proteína de soja necessária para reduzir os lipídios séricos nesta população. Após três semanas realizando a Dieta Estágio I, os participantes foram divididos em cinco grupos: 1) 50g proteína isolada de soja; 2) 40g proteína isolada de soja + 10g de caseína; 3) 30g proteína isolada de soja + 20g caseína; 4) 20g proteína isolada de soja + 30g de caseína; 5) 50g caseína.

A quantidade de isoflavonas informada foi de 1,9 mg/g de proteína isolada de soja. A intervenção ocorreu, então, por mais seis semanas, tendo alimentos à base de soja como os fornecedores de proteína de soja. Ao final dessas seis semanas, os autores verificaram diminuição significativa dos níveis séricos de colesterol não-HDL (30g-3%; 40g-1,5%; 50g-4,5%) e de Apo B em todos os grupos que consumiram proteína isolada de soja, exceto os níveis de colesterol que só não reduziram significativamente no grupo que recebeu 40g.

Não foram verificadas alterações significativas com relação às concentrações de HDL-colesterol, Triglicerídios, Apo AI, Lipoproteína (a), Colesterol-total/HDL. Os autores concluíram que o consumo de 20g de proteína de soja durante 6 semanas já é considerado efetivo na redução dos níveis de colesterol não-HDL e ApoB. No ano de 2000, Merz-Demlow et al realizaram ensaio clínico duplo-cego, randomizado “crossover”, com 13 mulheres normocolesterolêmicas, com idade entre 18 e 35 anos. Tinham como objetivo avaliar os efeitos do consumo de isoflavonas da soja sobre os níveis de Colesterol-total, HDL-colesterol, LDL-colesterol, Triglicerídios, partículas de LDL-colesterol, Apo AI, Apo B e Lipoproteína (a). Neste estudo cada mulher foi seu próprio controle e essas foram divididas em três grupos diferentes, os quais passaram a receber proteína de soja isolada associada à dieta habitual, com diferentes quantidades de isoflavonas (IS) (Controle: 10mg/d; Baixa IS: 64,7 mg/d; Alta IS: 128mg/d) durante três ciclos menstruais.

Após o período de intervenção, ao comparar com o grupo controle, os autores verificaram que o grupo “Alta IS” teve redução significativa de LDL-colesterol em 7,6% e 10% no sétimo dia do ciclo e na fase peri-ovulatória, respectivamente. Houve também a diminuição significativa, no mesmo grupo, das razões Colesterol-total/HDL-colesterol (10,2%) e LDL-colesterol/HDL-colesterol (13,8%) na fase peri-ovulatória. Quanto às outras variáveis, não houve alterações significativas.

Em estudo muito semelhante, Wangen e colaboradores (2001) acompanharam a intervenção, que durou 93 dias, em mulheres pós-menopausa normocolesterolêmicas e moderadamente hipercolesterolêmicas, com idade entre 45 e 70 anos (n=18). Como no estudo anterior, a proteína isolada de soja foi introduzida à dieta habitual com diferentes quantidades de isoflavonas (IS) (Controle: 7,1mg/d; Baixa IS: 65mg/d; Alta IS: 132mg/d).

Comparado com os valores do grupo controle houve a diminuição significativa do LDL-colesterol (6,5%), no grupo “Alta IS”, e na razão LDL-colesterol/HDL-

colesterol de 8,5% e 7,7% no grupo “Alta IS” e “Baixa IS”, respectivamente. Não foram verificadas alterações significativas nos níveis de HDL-colesterol, Triglicerídios, partículas de LDL-colesterol, Apo AI, Apo B ou Lipoproteína (a).

Gardner e colaboradores (2001) realizaram ensaio clínico randomizado, duplo-cego, com o objetivo de determinar o efeito da proteína de soja, rica em isoflavonas, sobre os níveis plasmáticos de lipídios em mulheres moderadamente hipercolesterolêmicas na pós-menopausa (n=115; idade <80 anos, um ano após o início da menopausa). Após quatro semanas consumindo suplemento de proteína do leite (*“run-in”*), as mulheres foram randomizadas em 3 grupos que receberam: suplementação com 42g/dia de: 1) proteína do leite (Leite), 2) proteína de soja isolada sem isoflavonas ou apenas traços (Soja⁻) e 3) proteína de soja isolada contendo 80mg de isoflavonas (Soja⁺), durante 12 semanas.

Uma diferença significativa foi encontrada nos níveis de Colesterol-total e LDL-colesterol após 12 semanas de intervenção, entre os grupos Soja⁻ e Soja⁺. No grupo Soja⁺ houve maior redução. Porém, comparando com o grupo Leite, nesse mesmo período, os grupos Soja⁻ e Soja⁺ não apresentaram diferenças significativas com relação a alterações do LDL-colesterol. Ao final das quatro semanas de *“run-in”*, observou-se uma redução na concentração do LDL-colesterol nos três grupos da randomização.

Outro ensaio clínico randomizado, controlado, *“crossover”* foi realizado por Jenkins e colaboradores (2002). Este estudo não foi realizado somente com mulheres, como os estudos anteriores, e sim com a participação de ambos os sexos: 18 mulheres pós-menopausa e 23 homens hipercolesterolêmicos, totalizando n=41. A intervenção ocorreu durante quatro semanas, nas quais todos os participantes seguiram a Dieta Estágio II (DEII)⁵ e estavam divididos em três grupos: Controle-dieta pobre em gordura; Alta IS- 50g proteína de soja com 73 mg de isoflavonas por dia; Baixa IS- 50g proteína de soja com 10 mg de isoflavonas por dia (fonte principal de isoflavonas – alimentos à base de soja).

Ao final deste período, verificou-se que não houve diferenças significativas entre as fases “Alta IS” e “Baixa IS”, mas ambos, quando comparados ao controle, apresentaram valores menores dos níveis de Colesterol-total, Colesterol-total/HDL-

⁵ Dieta Estágio II: Dieta com quantidade inferior a 30% do valor calórico derivado de lipídios, sendo que os ácidos graxos saturados devem corresponder de a no máximo 7% e a ingestão de colesterol a menos de 200mg/dia.

colesterol, LDL-colesterol/HDL-colesterol, apo B/AI, LDL-colesterol, apo B, homocisteína, e LDL-oxidada. Os níveis de LDL-colesterol e apo-B foram menores durante a fase “Alta IS”. Com relação a diferenças entre os sexos, estas não foram significativas, exceto com relação à pressão arterial, que teve maior diminuição nos homens “Alta IS” quando comparado com o controle.

Tonstad e colaboradores (2002) também realizaram ensaio clínico randomizado com mulheres na pós-menopausa (n=22) e homens (n=108) hipercolesterolêmicos. Durante as primeiras semanas todos os participantes foram aconselhados a realizarem a Dieta Estágio I. Após esta fase, iniciou-se a fase de intervenção propriamente dita, na qual associada à Dieta Estágio I, os participantes divididos em quatro grupos, consumiram diferentes produtos e quantidades. Grupos: 1) 30g proteína isolada de soja (3,7mg de isoflavonas/g) + 10g de fibra; 2) 50g proteína isolada de soja (3,7mg de isoflavonas/g) + 16,6g de fibra; 3) 30g de caseína + 10g de fibra; 4) 50g de caseína + 16,6g de fibra.

Ao final da intervenção, quando os 2 grupos que consumiram proteína isolada de soja foram comparados com aqueles que consumiram caseína, verificaram-se diminuições significativas nas concentrações de LDL-colesterol e homocisteína. Por outro lado, não foram percebidas alterações significativas nos níveis séricos de HDL-colesterol, Triglicerídios, apo B e Lipoproteína (a). Não foi possível avaliar os efeitos do gênero, pois o número de mulheres foi muito menor que o número de homens.

Sanders e colaboradores (2002), utilizando indivíduos normocolesterolêmicos, investigaram os efeitos de dieta a base de proteína de soja contendo alta concentração de isoflavonas (56 mg/dia) e outra com baixa concentração (2 mg/dia) durante 17 dias. Os autores demonstraram que a primeira dieta permitiu o aumento do HDL-colesterol e apolipoproteína A-I, mas não influenciou as concentrações do LDL-colesterol, TGF-1 e as atividades do fator VII de coagulação e do PAI-1 (plasminogen activator inhibitor type 1).

Em metanálise realizada por Yeung e Yu (2003), com o objetivo de determinar os efeitos das isoflavonas sobre as concentrações de lipídios séricos, foram incluídos tanto ensaios clínicos cegos como duplo-cegos randomizados controlados. As intervenções foram realizadas com isoflavona isolada na forma de tabletes, proteína de soja ou mesmo dietas ricas em soja. Foram excluídos estudos não randomizados, que não tinham o grupo controle e que possuíam dados e valores do início do estudo insuficientes.

No total foram analisados 17 estudos em que a população estudada era composta por adultos com idade entre 18 e 73 anos, e os quais incluíam sujeitos hiperlipidêmicos (3 estudos) e normolipidêmicos (8 estudos). A metanálise considerou a média de 73mg isoflavonas ingeridas por dia e o tempo de tratamento em torno de 10 semanas. Quanto às alterações nas concentrações de lipídios séricos, o estudo mostrou que o consumo de isoflavonas em tabletes não trouxe melhora significativa nos níveis séricos de Triglicerídios, LDL-colesterol e colesterol total.

Cuevas, Dalais e Blum e seus respectivos colaboradores (2003) conduziram ensaio clínico duplo-cego com mulheres hipercolesterolêmicas. Apenas o estudo de Dalais e colaboradores (2003) apresentou redução significativa em um dos itens analisados (redução de 6% nos níveis de LDL-colesterol), sendo tal efeito associado a alta concentração de isoflavonas presente na proteína de soja isolada (CUEVAS et al, 2003; DALAIS et al, 2003; BLUM et al, 2003).

Com o objetivo de avaliar o efeito do consumo de proteína de soja sobre o perfil lipídico de mulheres na pós-menopausa, Kreijkamp-Kaspers e colaboradores al (2004) conduziram durante 12 meses, ensaio clínico randomizado, placebo controlado, duplo-cego. Neste, 88 mulheres saudáveis, com idade entre 60 e 75 anos foram randomizadas em dois grupos: 1) proteína de soja isolada (25,6g + 99mg de isoflavonas) e 2) proteína total do leite. Não houve redução dos níveis de colesterol total e LDL-colesterol. Para HDL-colesterol houve o aumento desses níveis, porém estes não foram significativos. Tais resultados foram relacionados ao longo tempo de intervenção e a baixa adesão a intervenção. Esta última associada ao suplemento não atrativo (KREIJKAMP-KASPERS et al, 2004).

Outra metanálise conclui que o consumo de proteína de soja contendo isoflavonas reduz significativamente colesterol total (3,77%), LDL-colesterol (5,25%) e triglicerídios (7,27%) e aumenta significativamente o HDL-colesterol (3%). As alterações na concentração lipídica estão fortemente relacionadas com o gênero (maior efeito em homens), valores basais dos níveis séricos de lipídios (maior efeito em hipercolesterolêmicos), concentração de isoflavonas (quanto maior a concentração, maior o efeito) (ZHAN; HO, 2005). Os autores destacam ainda que grandes períodos de intervenção conferem resultados menos consistentes com relação aos níveis de colesterol total, LDL-colesterol e triglicerídios. Semelhante à metanálise de Yeung e Yu (2003) os autores definiram que o consumo de

isoflavonas consumida isoladamente parece ser ineficaz na modificação do perfil lipídico (ZHAN; HO, 2005).

Em 2005, a AHRQ (*Agency for Health Research and Quality*) apresentou documento resumindo evidências sobre os efeitos da soja e isoflavonas sobre vários fatores envolvendo saúde doença, incluindo, efeitos sobre as doenças cardiovasculares (BALK et al, 2005).

A maioria dos 68 estudos randomizados avaliados, através de metanálise, apresentou pequena à moderada alteração significativa sobre os níveis de colesterol-total (CT), LDL-colesterol (LDL) e triglicerídios (TG). A média de alteração foi de -2,5% para CT, -3% para LDL,, - 6% para TG. Para HDL-colesterol a alteração não foi significativa (+0,6%).

O estudo sugere que quanto maior a quantidade de proteína de soja consumida, maior a redução dos níveis séricos de LDL-colesterol. Reforçando dados da metanálise de Zan e Ho (2005) os autores definiram que a dose de isoflavonas não está associada ao efeito encontrado. Semelhante a Anderson et al (1995) elevados níveis “baseline” de LDL-colesterol estão associados a um maior efeito.

Com o objetivo de avaliar o efeito do consumo de soja sobre os níveis de lipídios séricos, 60 mulheres pós-menopausa foram randomizadas em um ensaio clínico crossover. Estas receberam soja, contendo 25g de proteína de soja e 101mg de isoflavonas, ou 25g de produto controle, a ser consumido dividido em três ou quatro porções por dia. Após oito semanas de intervenção a redução foi de 11% para LDL-colesterol em mulheres hipertensas. Para mulheres normotensas, não se observou efeitos (WELTY et al, 2005).

Hall e colaboradores (2006) conduziram ensaio clínico randomizado, duplo-cego, placebo controlado, crossover. Durante oito semanas mulheres consumiram barras de cereal, um grupo proteína de soja rica em isoflavonas, outro sem isoflavonas. A diferença entre os níveis de Colesterol total, LDL-colesterol e HDL-colesterol, triglicerídios e lipoproteína(a) não foram significativos. Os resultados foram associados ao baixo nível sérico “baseline” destes lipídios (HALL et al, 2006).

A Metanálise de Reynolds e colaboradores (2006) reuniu 41 ensaios clínicos randomizados os quais utilizaram proteína de soja isolada como intervenção. A suplementação de proteína de soja reduziu significativamente as concentrações de colesterol total, LDL-colesterol e triglicerídios, respectivamente em -5.26 mg/dl, -4.25 mg/dl, -6.26 mg/dl e aumentou significativamente o HDL-colesterol em 0.77 mg/dl.

Recente estudo de Allen e colaboradores (2007) avaliaram os efeitos da proteína de soja isolada contendo isoflavonas sobre os níveis séricos de lipoproteínas em mulheres “African American and White” e concluiu que a proteína de soja, quando substitui a proteína animal, pode melhorar os níveis de lipídios séricos.

O Ensaio clínico randomizado, duplo-cego, controlado incluiu 202 mulheres na pós-menopausa as quais consumiram durante 12 semanas proteína de soja contendo isoflavonas ou caseína. Os níveis de colesterol-total e LDL-colesterol reduziram significativamente no grupo intervenção quando comparado ao controle após seis semanas de intervenção. Após 12 semanas a diferença foi atenuada não apresentando significância (ALLEN et al, 2007).

Na mais recente metanálise (TAKU et al, 2007) o consumo isoflavonas reduziu e aumentou significativamente, respectivamente, os níveis de LDL-colesterol em 4,98% e de HDL-colesterol em 3%. A redução de LDL-colesterol foi maior em sujeitos hipercolesterolêmicos do que em normocolesterolêmicos.

Na metanálise de Anderson e colaboradores, 1995 foi encontrada uma forte relação entre a redução do LDL-colesterol com o nível inicial de Colesterol-total. Lichtenstein et al (2002) e Crouse et al (1999) encontraram redução ligeiramente maior em pessoas com LDL-colesterol >160 a 164 mg/dL do que naquelas com níveis mais baixos, embora Dent et al (2001) não encontraram diferenças entre mulheres com hipercolesterolemia quando comparadas com mulheres com moderados níveis de colesterol. Da mesma forma, um grande percentual de redução do LDL-colesterol em pessoas hipercolesterolêmicas não foi evidente em inúmeros estudos (BAUM et al, 1998; WONG et al, 1998; CROUSE et al, 1999; TEIXEIRA et al, 2000; JENKINS et al, 2000; VIGNA et al, 2000; HERMANSEN et al, 2001; TEEDE et al, 2001, VAN HORN et al 2001; DENT et al, 2001; PUSKA et al, 2002; SIRTORI et al, 2002; LICHTENSTEIN et al, 2002; MEINERTZ et al, 2002; TONSTAD et al, 2002; JENKINS et al, 2002; DALAIS et al, 2003; BLUM et al, 2003; Cuevas et al, 2003; STEINBERG et al, 2003; KREIJKAMP-KASPERS et al, 2004; WEST et al, 2005; SACKS et al, 2006).

Sacks e colaboradores (2006) destacam em 22 estudos randomizados os efeitos do consumo de proteína de soja isolada contendo isoflavonas comparados com o grupo controle caseína ou proteínas do leite, proteína do trigo ou uma mistura de proteínas animais. Nestes estudos a quantidade de proteína de soja variou entre

25 a 135 g/dia enquanto a quantidade de isoflavonas ficou entre 40 a 318mg. As concentrações de LDL-colesterol ou não HDL-colesterol diminuíram na maioria dos estudos, estatisticamente significantes em oito, com um efeito de mais ou menos 3%.

Recente metanálise incluindo 10 estudos encontrou percentual de redução do LDL-colesterol similar ao estudo anterior (WEGGMANS et al, 2003). Nesta metanálise foram encontrados efeitos significativos sobre o HDL-colesterol ou Triglicerídios na maioria dos estudos; a alteração foi de +1,5% para HDL-colesterol e -5% para triglicerídios.

Entre alguns estudos em que extraíram as isoflavonas com álcool e compararam com o grupo controles caseína ou proteína total do leite (CROUSE et al, 1999; DENT et al, 2001; MEINERTS et al, 2002; STEINBERG et al, 2003; GARDNER et al, 2001) ou outras proteínas animais (LICHTENSTEIN et al, 2002; JENKINS et al, 2002) dois mostraram pequena redução significativa na concentração do LDL-colesterol (LICHTENSTEIN et al, 2002; JENKINS et al, 2002).

Alguns estudos compararam grupos que consumiram proteína de soja contendo ou não isoflavonas (CROUSE et al, 1999; BAUM et al, 1998; DENT et al, 2001; MEINERTZ et al, 2002; STEINBERG et al, 2003; JENKINS et al, 2002; GARDNER et al, 2001; MACKEY et al, 2000; SANDERS et al, 2002; WANGEN et al, 2001; MERZ_DEMLOW et al, 2000; GALLAGHER et al, 2004) e outros testaram isoflavonas em cápsulas comparando com placebos (SQUADRITO et al, 2002; DEWELL et al, 2002; SIMONS et al, 2000; HODGSON et al, 1998; NESTEL et al, 1997; NIKANDER et al, 2004).

Entre 19 estudos (CROUSE et al, 1999; BAUM et al, 1998; DENT et al, 2001; MEINERTZ et al, 2002; STEINBERG et al, 2003; LICHTENSTEIN et al, 2002; JENKINS et al, 2002; GARDNER et al, 2001; MACKEY et al, 2000; SANDERS et al, 2002; WANGEN et al, 2001; MEERZ-DEMLOW et al, 2000; GALLAGHER et al, 2004; SQUADRITO et al, 2002; DEWELL et al, 2002; SIMONS et al, 2000; HODGSON et al, 1998; NESTEL et al, 1997; NIKANDER et al, 2004) somente 3 mostraram significantes reduções nas concentrações de LDL-colesterol (GARDNER et al, 2001; WANGEN et al, 2001; MERZ-DEMLOW et al, 2000) sendo que nenhum deles com isoflavonas em cápsulas. Mudanças no HDL-colesterol e Triglicerídios não foram significantes e não mostraram tendência ao efeito da isoflavona. Salienta-

se que, recente metanálise (WEGGEMANS et al, 2003) conclui também que as isoflavonas não afetam a concentração sanguínea de lipídios.

Recentemente, Campbell e colaboradores (2009) realizaram ensaio clínico randomizado com 87 mulheres na pós-menopausa, as quais consumiram proteína de soja ou placebo. Após um ano de intervenção o estudo não encontrou diferenças significativas entre os grupos, para os níveis séricos de LDL-colesterol e triglicerídios. Além disso, houve um aumento significativo do colesterol total.

A tabela 2 apresenta um resumo dos ensaios clínicos randomizados que utilizaram proteína de soja isolada como intervenção, com destaque aos resultados referentes aos efeitos sobre colesterol total, LDL-colesterol, HDL-colesterol e triglicerídios.

Após a descrição de alguns estudos percebe-se que as evidências favorecem a proteína de soja mais do que a isoflavona isolada. A possibilidade da isoflavona como componente da proteína de soja foi considerada por muitos autores como o fator ativo dos efeitos benéficos a saúde cardiovascular (MERZ-DEMLOW et al, 2000; WANGEN et al, 2001; GARDNER et al, 2001).

Entretanto, recentes estudos não confirmam esta hipótese. A presença de outros componentes presentes na soja, tais como, fibras, lipídios, ácido fítico e saponinas assim como outros componentes presentes na dieta habitual dos indivíduos podem ser os responsáveis por estes efeitos (SACKS et al, 2006; WEGGEMANS; TRAUTWEIN, 2003; BALK et al, 2005).

Somando-se a essas evidências, a maioria dos estudos não apresenta benefícios com relação ao HDL-colesterol, aos triglicerídios, a lipoproteína (a) ou a pressão arterial. Além disso, os efeitos do consumo de proteína de soja, tais como, os efeitos benéficos com relação à redução do LDL-colesterol e outros fatores de risco das Doenças Cardiovasculares não tem sido um consenso entre os estudos publicados nos últimos anos.

Avaliando todos os dados de artigos publicados após 1999, e verificando a controvérsia presente nestes, o FDA (US Food and Drug Administration) anunciou a reavaliação do documento elaborado anteriormente sobre os efeitos do consumo de proteína de soja e os fatores de risco para doenças cardiovasculares (FDA, 2007). Sendo assim, justifica-se o estudo do efeito do consumo de proteína de soja sobre os níveis de lipídios séricos em mulheres na região sul do País.

Tabela 2. Efeitos do consumo de Proteína de Soja sobre os níveis de lipídios séricos

Autor/ ano	n	Sujeitos	Idade	Desenho	Dose	Duração	CT (%)	LDL (%)	HDL (%)	TG (%)
Allen et al, 2007	202	F, HC	57	Para, DB	ISP 20 g, IF 160 mg vs ptn do leite	6 semanas	↓1*	↓3*	0	↓3 (NS)
West et al, 2005	32	M, F, HC	58	Cross, DB	ISP 25g, IF 90mg vs ptn do leite	6 semanas	↑1(NS)	0	↑1(NS)	↑5(NS)
Kreijkamp-Kaspers et al, 2004	88	F, HC	67	Para, DB	ISP 26g, IF 99mg vs ptn do leite	12 meses	↑2 (NS)	↑4(NS)	↑3(NS)	↓8(NS)
Steinberg et al, 2003	28	F, N	55	Cross, DB	ISP 25g, IF 107mg vs ptn do leite	6 semanas	↓4(NS)	↓3(NS)	↓7(NS)	↑6(NS)
Cuevas et al, 2003	18	F, HC	59	Cross, DB	ISP 40g, IF 80mg vs caseína	4 semanas	↓1(NS)	0	↑4(NS)	↓15(NS)
Blum et al, 2003	24	F, HC	55	Cross, DB	ISP 25g, IF 85mg vs ptn do leite	6 semanas	↑1(NS)	↑4(NS)	↓4(NS)	↓1(NS)
Dalais et al, 2003	38	F, HC	60	Para, DB	ISP 40g, IF 118mg vs caseína	3 meses	↓4(NS)	↓6*	↑7(NS)	↓26*
Jenkins et al, 2002	41	M, F, HC	62	Cross	ISP 50g, IF 73mg vs ptn do ovo	1 mês	↓4*	↓6*	↑2(NS)	↑2(NS)
Tonstad et al, 2002	30	M,F, HC	52	Para	ISP 30-50g, IF 111-185mg vs caseína	16 semanas	↓4*	↓5*	↑3(NS)	↓3(NS)
Meinertz et al, 2002	12	M,F, NI	30	Cross	ISP 133g, IF 318mg vs caseína	32 dias	↑8(NS)	↓2(NS)	↑10*	↑12(NS)
Lichtenstein et al, 2002	42	M, F	63	Cross	F: ISP 55g, IF 108mg M: ISP 71g, IF 139 vs ptn da carne	6 semanas	↑1(NS) ↓7*	↑4(NS) ↓7*	↑3* ↓1(NS)	↓7* ↓17(NS)
Sirtori et al, 2002	20	M, F, HC	60	Cross, DB	Soy 25g, ISF 77mg vs leite	4 semanas	↓3(NS)	↓4(NS)	ND	ND
Puska et al, 2002	30	HC	56	Para, DB	ISP 52g, IF 192mg vs caseína	6 semanas	↓3*	↓5*	↑1(NS)	↑3(NS)
Dent et al, 2001	24	F	50	Para	ISP 40g, IF 80mg vs ptn do leite	24 semanas		No effect on lipids; Numerical data not show		
Van Horn et al, 2001	62	F, HC	67	Para	ISP 29g, IF 85mg vs ptn do leite	6 semana	0	↓1(NS)	↑1(NS)	ND
Teed et al, 2001	90	M,F	61	Para, DB	ISP 40g, IF 118mg vs caseína	3 meses	↓2(NS)	↓4(NS)	↑5(NS)	↓15*
Vigna et al, 2001	40	F	53	Para, DB	ISP 60g, IF 76mg vs caseína	12 semanas	0	↓1(NS)	↑2(NS)	↓1(NS)
Jenkins et al, 2000	25	M, F, HC		Cross	ISP 36g, IF 168mg vs ptn do leite	3 semanas	↓2(NS)	↓1(NS)	↓2(NS)	↓6(NS)
Crouse et al, 1999	30	M, F	52	Para, DB	ISP 25g, IF 62 mg vs caseína	9 semanas	↓4*	↓6*	0	↑9(NS)
Wong et al, 1998	26	M, HC	38	Cross	ISP 50g, vs mix ptn animal	5 semanas	↓3	↓6*	↑3(NS)	↑6(NS)
Baum et al, 1998	21	M, NI	61	Para, DB	ISP 40g, IF 90 mg vs caseína	24 semanas	↓2(NS)	↓4*	↑4*	↑1(NS)

CT, colesterol; TG, triglicerídios; M, masculino; F, feminino; HC, hipercolesterolemicos; NI, normolipidemicos; DB, duplo cego; Cross, crossover; Para, paralelo; ISP, proteína de soja isolada; IF, isoflavona; NS, não significativo (P>0.05); ND, não determinado. *P<0,05

Fonte: Tabela adaptada e atualizada SACKS et al, 2006

3 JUSTIFICATIVA

Dada às condições demográficas e epidemiológicas atuais e a transição nutricional, é importante considerarmos a carga global de doenças atribuíveis às Doenças Crônicas não transmissíveis, entre elas as Doenças Cardiovasculares (DCV). Dados da literatura mostram que, as doenças cardiovasculares constituem as principais causas de morbimortalidade, em todo o mundo, e o Brasil segue tendência similar. Deste modo, sua alta prevalência e incidência crescente exigem esforços na prevenção e estudos voltados a redução de fatores de risco bem estabelecidos.

Dados epidemiológicos mostram que o consumo regular de alimentos de origem vegetal pode reduzir o risco de aparecimento de DCV (JOSHIPURA et al, 2001). Uma das alternativas é o consumo de alimentos ricos em isoflavonas (soja e seus produtos) as quais podem agir no organismo de forma semelhante ao hormônio feminino estradiol (ALBERT, 2002; FRIAS, 2003; MURKIES et al, 1995).

Estudos epidemiológicos, ensaios clínicos e metanálises mostram que o consumo de proteína de soja pode reduzir significativamente a concentração sérica de colesterol total e LDL-colesterol, quando esta é comparada à proteína animal (HO et al, 2000; ANDERSON et al, 1995; NAGATA et al, 1998; MERZ-DEMLOW et al, 2000; GARDNER et al, 2001; WANGEN et al, 2001; ZHUO et al, 2004; ZHAN; HO, 2005; FDA, 1999). Entretanto outros estudos mostram pequena ou nenhuma redução desses níveis (TEIXEIRA et al, 2000; VIGNA et al, 2000; VAN HORN et al, 2001; LICHTENSTEIN et al, 2002; PUSKA et al, 2002; TONSTAD et al, 2002; STEINBERG et al, 2003; KREIJKAMP-KASPERS et al, 2004; ENGELMAN et al, 2005; ROUGHHEAD et al, 2005; DEWEEL et al, 2006).

Sabendo que as evidências ainda são controversas com relação à soja e a fatores de risco para DCV, nosso estudo poderá contribuir para esclarecer os reais efeitos do consumo de proteína de soja isolada sobre estes fatores de risco, em especial, sobre os níveis de lipídios séricos.

4 OBJETIVO

4.1 GERAL

- Avaliar o efeito do consumo da proteína de soja isolada sobre os níveis de lipídios séricos em mulheres adultas.

4.2 ESPECÍFICOS

- Verificar os efeitos do consumo de proteína de soja isolada em mulheres adultas sobre níveis de:
 - Colesterol-total, LDL-colesterol, Triglicerídios e HDL-colesterol, Lipoproteína(a), LDL-peroxidada;
 - Pressão arterial

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

O presente estudo apresentou efeitos positivos com relação à redução de fatores de risco para Doença Cardiovascular em mulheres com idade entre 36-68 anos, em especial, sobre os níveis séricos de Colesterol-total e LDL - colesterol, após quatro semanas de intervenção.

Porém, não podemos esquecer que uma das limitações do estudo foi a baixa adesão ao consumo da proteína de soja isolada. Isto pode ter ocorrido devido ao produto com sabor não palatável e muito diferente do hábito alimentar das mulheres residentes nas cidades de São Leopoldo e Caxias do Sul, RS.

Ressalta-se, então, a importância de buscarmos alternativas para facilitar o consumo deste alimento, procurando um produto com sabor mais agradável e que este faça parte do paladar gaúcho.

Não podemos, ainda, deixar de falar que, para que a real prevenção de fatores de risco para as Doenças Cardiovasculares sejam combatidos, devemos investir em programas que levem em consideração o combate ao consumo de álcool e tabagismo, o resgate de uma vida mais ativa (referindo-se a realização de atividades físicas), deixando de lado o sedentarismo, destacando, por fim, a mudança de hábitos alimentares para hábitos mais saudáveis, com objetivo de manter-se saudável durante muitos anos.

REFERÊNCIAS

Adlercreutz H, Hamalainen E, Gorbach S, Goldin N B. Dietary phyto-oestrogens and the menopause in Japan [Letter]. *Lancet*. 1992;339:1233.

Adlercreutz H, Mazur W. Phyto-oestrogens and Western diseases. *Ann Med*. 1997;29:95–120.

Adlercreutz, H. Phyto-oestrogens and cancer. *Lancet Oncology*, 2002; 3: 364-373.

Albert A, Altabre C, Baró F, Buendía E, Cabero A, Cancelo MJ et al. Efficacy and safety of a phytoestrogen preparation derived from *Glycine max* (L.) Merr in climacteric symptomatology: a multicentric, open, prospective and non-randomized trial. *Phytomedicine*; mar, 2002; 9(2):85-92.

Albertazzi P, Pansini F, Bonaccorsi G, Zanotti L, Forini E, De Aloysio D. The effect of dietary soy supplementation on hot flushes. *Obstetrics and Gynecology* 1998; 91: 6–11.

Aldrighi JM, Aldrighi CMS, Aldrighi APS. Alterações sistêmicas do climatério. *Rev Bras Med* 2002; 59(4): 15-21.

Aldrighi JM, Faludi AA, Mansur AP. *Doença Cardiovascular no climatério*. São Paulo: Atheneu, 2005.

Alekel DI, Germain AS, Peterson CT, Hanson KB, Stewart JW, Toda T. Isoflavone-rich soy protein isolate attenuates bone loss in the lumbar spine of perimenopausal women. *Am J Clin Nutr*. 2000;72:844–852.

Allen JKRN, Becker DM., Kwiterovich PO; Lindenstruth KA, Curtis CBS. Effect of soy protein-containing isoflavones on lipoproteins in postmenopausal women. *Menopause*: January/February 2007;14 (issue 1): 106-114.

Almeida APF, Moura L, Chaves FR, Romaldini JH. Dislipidemias e diabetes mellitus: fisiopatologia e tratamento / Dyslipidemia and diabetes mellitus: pathophysiology and treatment. *Rev. ciênc. méd.*, (Campinas); jun.-dez. 2007;16(4/6):267-277.

Anderson JJ, Anthony MS, Cline JM et al. Health potential of soy isoflavones for menopausal women. *Public Health Nutrition* 1999; 2: 489-504.

Anderson JW, Hanna TJ. Whole grains and protection against coronary heart disease: what are the active components and mechanisms? *American Journal of Clinical Nutrition* 1999b; 70: 307-308

Anderson JW, Johnstone BM, Cook-Newell ME. Metaanalysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. *New England Journal of Medicine* 1995; 333: 276-282.

Anderson JW, Major AW. Pulses and lipaemia, short- and long-term effect: potential in the prevention of cardiovascular disease. *British Journal of Nutrition*, 2002; 88: s263-s271.

Anderson RL, Wolf WJ. Compositional changes in trypsin inhibitors, phytic acid, saponins and isoflavones related to soybean processing. *J Nutr.* 1995;125:581S-588S.

Anthony MS, Clarkson TB, Hughes, CL. Soybean isoflavones improve cardiovascular risk factors affecting the reproductive system of peripubertal rhesus monkeys. *Journal of Nutrition*, Bethesda, 1996;126: 43-50.

Anthony MS, Clarkson TB, Williams JK. Effects of soy isoflavones on atherosclerosis: potential mechanisms. *Am J Clin Nutr.* 1998;68: 1390S-1393S.

Atkinson C, Oosthuizen W, Scollen S, Laktionov A, DAY NE, Bingham AS, Modest protective effects of isoflavonas from a red clover-derived dietary supplement on cardiovascular disease risk factors in perimenopausal women, and evidence of an interaction with ApoE genotype in 2004a; 49-65 year-old women.

Atkinson C, Warren RM, Sala E, Dowsett M, Dunning AM, Healey CS, Runswick S, Day NE, Bingham SA. Red-clover-derived isoflavones and mammographic breast density: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Breast Cancer Research* 2004;6: R170-R179.

Avezum A., Neto J. M. R., Piegas L. Why do we need randomized and epidemiological studies on cardiovascular disease? Evidence based cardiology VII. *Arq. Bras. Cardiol*, 1999;72: 281-296.

Avezum A., Piegas L. S., Pereira J. C. R. Fatores de risco associados com infarto agudo do miocárdio na região desenvolvida em um país em desenvolvimento. *Arq. Bras. Cardiol.*, 2005;84: 206-213.

Bachmann GA, Leiblum SR. The impact of hormones on menopausal sexuality: a literature review. *Menopause*: January/February 2004;11 (Issue 1): 120-130

Baird D. D., Umbach D. M., Lansdell L., Hughes C. L., Setchell K.D.R., Weinberg C. R., Haney A. F., Wilcox A. J., Mclachlan J. A. Dietary intervention study to assess estrogenicity of dietary soy among postmenopausal women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1995;80: 1685–1690.

Balk E, Chung M, Chew P, Ip S, Raman G, Kupelnick B, Tatsioni A, Sun Y, Wolk B, Devine D, LAU J. Efeccts of soy on health outcomes. *Evid Rep Technol Assess (Summ)* 2005;126:1– 8.

Barnes S. Phyto-oestrogens and osteoposis: what is safe dose? *British Journal of Nutrition* 2003;89;S101-S108.

Barnes S. Soy isoflavones: phytoestrogens and what else? *J Nutr.* 2004; 134:1225S–1228S.

Barret J. Phytoestrogens. Friends or foes? *Environmental Health Perspectives*, 1996; 104: 478-482.

Barros MBA, César CLG, Carandina L, Torre GD. Desigualdades sociais na prevalência de doenças crônicas no Brasil, PNAD-2003 / Social inequalities in the prevalence of chronic diseases in Brazil, PNAD-2003 *Cienc. saude coletiva*, out.-dez. 2006;11(4):911-926.

Baum JA, Teng H, Erdman JW JR, Weigel RM, Klein BP, Persky VW, Freels S, Surya P, Bakhit RM, Ramos E, Shay NF, Potter SM. Long-term intake of soy protein improves blood lipid profiles and increases mononuclear cell low-density-lipoprotein receptor messenger RNA in hypercholesterolemic,postmenopausal women. *Am J Clin Nutr.* 1998;68:545–551.

Beaglehole R. International trends in coronary heart disease mortality, morbidity, and risk factors *Epidemiol Rev.*1990; 12: 1-15.

Berg K. A new serum type system in man-the Lp system. *Acta Pathol Scand* 1963;59:382-86.

Bierman E.L., Glomset J.A. Disorders of lipid metabolism. IN Wilson JD, Foster DW, ed. *Williams Textbook of Endocrinology*, Philadelphia: Saunders. 1992;26:1367-95.

Blum A, Lang N, Peleg A, Vigder F, Israeli P, Gumanovsky M, Lupovitz S, Elgazi A, Ben-Ami M. Effects of oral soy protein on markers of inflammation in postmenopausal women with mild hypercholesterolemia. *American Heart Journal* 2003a; 145, e7.

Blum A, Lang N, Vigder F, Israeli P, Gumanovsky M, Lupovitz S, Elgazi A, Peleg A, Ben-Ami M. Effects of soy protein on endothelium-dependent vasodilatation and lipid profile in postmenopausal women with mild hypercholesterolemia. *Clin Invest Med*. 2003;26:20–26.

Bosi PL, Carvalho AM, Contrera D, Casale G, Pereira MA, Gronner MF, Diogo TM, Torquato MT, Oishi J, Leal AM. Prevalência de Diabetes Mellitus e Tolerância à Glicose Diminuída na População Urbana de 30 a 79 anos da Cidade de São Carlos (SP). *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*, 2009;53(6).

Bossemeyer RP. Aspectos gerais do climatério. In: Fernandes CE, Melo NR, Wehba S. *Climatério feminino: fisiopatologia, diagnóstico e tratamento*. São Paulo: Lemos, 1999: 17-33.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise de Situação em Saúde. *Saúde Brasil 2007: uma análise da situação de saúde no Brasil*. Brasília: Ministério da Saúde, 2008.

Braunwald E. Cardiovascular medicine at the turn of the millennium: triumphs, concerns and opportunities. *N Engl J Med*. 1997;337:1360-9.

Burke GL, Legault C, Anthony M, Bland DR, Morgan TM, Naughton MJ, Leggett K, Washburn SA, Vitolins MZ. Soy protein and isoflavone effects on vasomotor symptoms in peri- and postmenopausal women: the Soy Estrogen Alternative Study. *Menopause*. 2003;10:147–153.

Burnett JR, Hooper AJ. Common and Rare Gene Variants Affecting Plasma LDL Cholesterol. *Clin Biochem Rev*. February 2008; 29(1): 11–26.

Bush TL, Barret-Connor E, Cowan LD, Criqui MH, Wallace RB, Suchindran CM. Cardiovascular mortality and noncontraceptive use of estrogen in women: results from the Lipid Research Clinics Program Follow-Up Study. *Circulation* 1987;75:1102-9.

Cambri LT, Souza M, Mannrich G, Cruz RO, Gevaerd MS. Perfil Lipídico, Dislipidemias E Exercícios Físicos. *Rev. Bras.Cineantropom. Desempenho Hum.* 2006;8(3):100-106.

Cantos G. A., Duarte M. F. S., Dutra R. L., Silva C. S. M., Waltrick C. D. A., Balen et al. Prevalência de fatores de risco de doença arterial coronariana em funcionários de hospital universitário e sua correlação com estresse psicológico. *J. Bras. Patol. Med. Lab.*, 2004;40: 240-247.

Carroll KK. Hypercholesterolemia and atherosclerosis: effects of dietary protein. *Fed Proc.* 1982;41:2792-2796.

Case F. Produção de Leite de soa enriquecido com Cálcio. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas. 2005; (25): 86-91.

Cassidy A, Bingham S, Setchell K. Biological effects of isoflavones in young women: importance of the chemical composition of soyabean products. *Br J Nutr.* 1995;74:587-601.

Cassidy A, Brown JE, Hawdon A, Faughnan MS, King LJ, Millward J, Zimmer-Nechemias L, Wolfe B, Setchell KDR. Factors Affecting the Bioavailability of Soy Isoflavones in Humans after Ingestion of Physiologically Relevant Levels from Different Soy Foods. *American Society for Nutrition J. Nutr.* January 2006;136:45-51.

Cassidy A., Bingham S., Setchell K.D.R. Biological effects of a diet of soy protein rich in isoflavones on the menstrual cycle of premenopausal women. *Am. J. Clin. Nutr.* 1994;60: 333-340.

Cassileth BR, Vickers AJ. Soy: an anticancer agent in wide use despite some troubling data. *Cancer Invest.* 2003;21:817-818.

Castelli Wp, Anderson K, Wilson Pw, Levy D. Lipids and risk of coronary heart disease. The Framingham Study. *Ann Epidemiol.* Jan-Mar 1992;2(1-2):23-8.

Chen X, Anderson JJB. Isoflavones and bone: animal and human evidence of efficacy. *Journal of Musculoskeletal and Neuron Interactions* 2002; 2:352-9.

Chen YM, Ho SC, Lam SS, Ho SS, Woo JL. Soy isoflavones have a favorable effect on bone loss in Chinese postmenopausal women with lower bone mass: a double-blind, randomized, controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:4740–4747.

Cheong JM, Martin BR, Jackson GS, Elmore D, McCabe GP, Nolan JR, Barnes S, Peacock M, Weaver CM. Soy isoflavones do not affect bone resorption in postmenopausal women: a dose-response study using a novel approach with ⁴⁵Ca. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:577–82.

Chong P.H., Bachenheimer B.S. Current, new and future treatment in dyslipidaemia and atherosclerosis. *Drugs*, 2000;60:55-93,.

Clapauch R., Meirelles R. M. R., Julião M. A. S. G., Loureiro C. K. C., Giarodoli P. B., Pinheiro et al. Fitoestrogênios: posicionamento do Departamento de Endocrinologia Feminina da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM). *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.*, 2002;46: 679-695.

Clarkson T.B. Soy, soy phytoestrogens and Cardiovascular Disease. *J Nutr* 132:566S-569S, 2002.

Clarkson TB, Anthony MS, Morgan TM. Inhibition of postmenopausal atherosclerosis progression: a comparison of the effects of conjugated equine estrogens and soy phytoestrogens. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86:41–47.

Coelho V. G., Caetano L. F., Liberatore J. R. D. R., Cordeiro J. A., Souza D. R. S. Perfil lipídico e fatores de risco para doenças cardiovasculares em estudantes de medicina. *Arq. Bras. Cardiol.*, 2005;85: 57-62.

Cornwell T., Cohick W., Raskin I. Dietary phytoestrogens and health. *Phytochemistry.* 2004;65:995-1016.

Costa A. G. V., Priore S. E., Sabarense C. M., Franceschini S. C. C. Questionário de frequência de consumo alimentar e recordatório de 24 horas: aspectos metodológicos para avaliação da ingestão de lipídeos. *Rev. Nutr.*, 2006;19: 631-641.

Crisafulli A, Marini H, Bitto A, Altavilla D, Squadrito G, Romeo A, Adamo EB, Marini R, D'anna R, Corrado F, Bartolone S, Frisina N, Squadrito F. Effects of genistein on hot flushes in early postmenopausal women: a randomized, double-blind EPT- and placebo-controlled study. *Menopause*: July/August 2004;11 (Issue 4): 400-404.

Crouse J.R., Morgan T., Terry J.G., Ellis J., Vitolins M., Burke G.L. A randomized trial comparing the effect of casein with that of soy protein containing varying amount of isoflavones on plasma concentration of lipids and lipoproteins. *Archives of Internal Medicine*, 1998;159: 2070-2076.

Crouse Jr, Morgan T, Terry Jg, Ellis J, Vitolins M, Burke Gl. A randomized trial comparing the effect of casein with that of soy protein containing varying amounts of isoflavones on plasma concentrations of lipids and lipoproteins. *Arch Intern Med*. 1999;159:2070–2076.

Cuevas AM, Iribarra VI, Castillo OA, Yanez MD, Germain AM. Isolated soy protein improves endothelial function in postmenopausal hypercholesterolemic women. *Eur J Clin Nutr*. 2003;57:889–894.

Dai Q, Franke AA, Jin F, Shu XO, Hebert JR, Custer LJ, Cheng J, Gao YT, Zheng W. Urinary excretion of phytoestrogens and risk of breast cancer among Chinese women in Shanghai. *Cancer Epidemiology, Biomarkers; Prevention* 2002;11, 815–821.

Dalais FS, Ebeling PR, Kotsopoulos D, Mcgrath BP, Teede HJ. The effects of soy protein containing isoflavones on lipids and indices of bone resorption in postmenopausal women. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2003;58: 704–709.

Dalais FS, Rice GE, Wahlqvist MI, Grehan M, Murkies AL, Medley G, et al. Effects of dietary phytoestrogens in postmenopausal women. *Climacteric*. 1998;1:124-9.

Damasceno N.R.T. et al. Casein and soy protein isolate in experimental atherosclerosis: influence on hyperlipidemia and lipoprotein oxidation. *Ann. Nutr. Metabol.*, 2001;45:38-46.

Damasceno N.R.T. et al. Detection of electronegative low density lipoprotein (LDL-) in plasma and atherosclerotic lesions by monoclonal antibody-based immunoassays. *Clin. Biochem.*, 2006;39:28-38.

Damasceno N.R.T. et al. Soy protein isolate reduces the oxidizability of LDL and the generation of oxidized LDL autoantibodies in rabbits with diet induced atherosclerosis. *J. Nutr.*, 2000;130: 2641-2647.

Dâmaso A. *Nutrição e Exercício na Prevenção de Doenças*. Rio de Janeiro: Medsi, 2001.

D'anna R, Cannata MI, Atteritano M, Cancellieri F, Corrado F, Baviera G, Triolo O, Antico F, Gaudio A, Frisina N, Bitto A, Polito F, Minutoli L, Altavilla D, Marini H, Squadrito F. Effects of the phytoestrogen genistein on hot flushes, endometrium, and vaginal epithelium in postmenopausal women: a 1-year randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Menopause*: July/August 2007; 14 (Issue 4): 648-655

DATASUS. Acesso em set 2009.

DATASUS. BRASIL Ministério da Saúde SUS Óbitos por residência segundo a causa para todo o território brasileiro. Brasília, 1997. Disponível em: <http://www.datasus.gov.br>.

DATASUS. Óbitos por residência segundo a causa no Rio Grande do Sul (2001) Disponível em: <http://www.datasus.gov.br>. Acesso: 25 set 2004.

De Lorenzi DRS, Baracat EC, Saciloto B, Padilha JR. I. Fatores Associados à qualidade de vida na pós-menopausa. *Rev Assoc Med Bras* 2006; 52(5): 312-7.

De Lorenzi DRS, Danelon C, Saciloto B, Padilha JR I. Fatores indicadores da sintomatologia climatérica. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2005; 27(1): 12-9.

DE LORENZI DRS, SACILOTO B. Frequência da atividade sexual em mulheres menopausadas. *Rev Assoc Med Bras* 2006; 52(4): 256-60.

Dennerstein L, Smith A, Morse C, Burger H, Green A, Hopper J, Ryan M. Menopausal symptoms in Australian women. *Med J Austral* 1993;159:232-236.

Dent SB, Peterson CT, Brace LD, Swain JH, Reddy MB, Hanson KB, Robinson JG, Alekel DL. Soy protein intake by perimenopausal women does not affect circulating lipids and lipoproteins or coagulation and fibrinolytic factors. *J Nutr*. 2001;131:2280-2287.

Descovich Gc, Ceredi C, Gaddi A, Benassi MS, Mannino G, Colombo L, Cattin L, Fontana G, Senin U, Mannarino E, Caruzzo C, Bertelli E, Fragiaco C, Nosedà G, Sirtori M, Sirtori CR. Multicentre study of soybean protein diet for outpatient hypercholesterolaemic patients. *Lancet*. 1980;2:709-712.

Dewell A, Hollenbeck CB, Bruce B. The effects of soy-derived phytoestrogens on serum lipids and lipoproteins in moderately hypercholesterolemic postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87: 118–121.

Dias Da Costa JS, Olinto MTA, Assunção MCF, Gigante DP, Macedo S, Menezes AMB. Prevalência de Diabetes Mellitus em Pelotas, RS: um estudo de base populacional. *Rev. Saúde Pública* June 2006;40(3).

Doris M.T., Gardner C.D., Haskell W.L. Potential Health Benefits of Dietary Phytoestrogens: A Review of the Clinical, Epidemiological, and Mechanistic Evidence. *Jorn. Clin. End. Metab.* 1998;83(7).

Douglas C. R. Fisiologia das lipoproteínas plasmáticas. In: Cisternas J. R. *Tratado de fisiologia aplicada à nutrição*. São Paulo: Robe, 2002:159-166.

EMBRAPA. Disponível em <http://www.cnpso.embrapa.br/> Acesso em: 13 set 2004.

EMBRAPA. Soja. SBRT-Serviço Brasileiro de Resposta Técnica. Disponível em: <http://sbrt.ibict.br/upload/sbrt834.pdf>. Acesso em 22 jul 2006.

Erdman JW JR, Badger TM, Lampe JW, Setchell KD, Messina M. Not all soy products are created equal: caution needed in interpretation of research results. *J Nutr.* 2004;134:1229S–1233S.

Esteves E.A., Monteiro J.B.R. Efeitos benéficos das isoflavonas de soja em doenças crônicas. *Rev. Nutr.*, Campinas, jan./abr., 2001;14(1):43-52.

Farret JF. *Nutrição e doenças cardiovasculares: prevenção primária e secundária*. São Paulo: Atheneu, 2005.

Farriol M., Jorda M., Delgado G. Tendencias pasadas y actuales en la complementación con soja: un estudio bibliográfico. *Nutr. Hosp.* [online]. 2006;21(4): 448-451.

Faure ED, Chantre P, Mares P. Effects of a standardized soy extract on hot flushes: a multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Menopause*: September 2002;9 (Issue 5): 329-334

FDA. Food and Drug Administration. Food labeling, health claims, soy proteins and coronary disease. *Fed Eg*, 1999;57:699.

Fein F, Scheuer J. Heart disease in diabetes mellitus: theory and practice. In: Rifkin H, Port D (Eds). *Diabetes Mellitus*. New York: Elsever, 1990: 812-23.

Fernandes CE, Pinho-Neto JSL, Gebara OCE, Santos Filho RD, Pinto Neto AM, Pereira Filho AS, et al. I Diretriz Brasileira sobre prevenção de DCV em mulheres climatéricas e a influência da Terapia de Reposição Hormonal (TRH) da Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC) e da Associação Brasileira do Climatério (SOBRAC). *Arq Bras Cardiol*. 2008;91(1 Supl 1):1-23.

Fiol M, Cabades A, Sala J, Marrugat J, Elosua R, Vega G, et al. Variabilidad en el manejo hospitalario del infarto agudo de miocardio en España. Estudio IBERICA (Investigación, Búsqueda Específica y Registro de Isquemia Coronaria Aguda). *Rev Esp Cardiol*. 2001;54:443-52.

FISPAL. Disponível em: <http://www.fispal.com/>. Acesso em 22 jul 2006.

Forti N, Diament J. Lipoproteínas de alta densidade: Aspectos metabólicos, clínicos, epidemiológicos e de intervenção terapêutica. Atualização para os clínicos. *Arq. Bras. Cardiol*. [online]. 2006;87(5): 671-679.

Franca E., Alves J. G. B. Dislipidemia entre crianças e adolescentes de Pernambuco. *Arq. Bras. Cardiol.*, 2006;87: 722-727.

Frias A.D. Eficácia de um Alimento à Base de Soja na Sintomatologia da Menopausa. *Nutrição em Pauta* jul/ago 2003.

Friedman M, Brandon DL. Nutritional and Health Benefits of Soy Proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2001 49 (3), 1069-1086.

Frohlich J, Dobíasova M, Adler L, et al. Gender differences in plasma levels of lipoprotein(a) in patients with angiographically proven coronary artery disease. *Physiol Res* 2004;53:481-6.

Fujino A, Watanabe T, Kunii H, et al. Lipoprotein(a) is a potential coronary risk factor. *Jpn Circ J* 2000;64:51-56.

Gallagher JC, Satpathy R, Rafferty K, Haynatzka V. The effect of soy protein isolate on bone metabolism. *Menopause*. 2004;11:290–298.

Ganry O. Phytoestrogen and breast cancer prevention. *Eur J Cancer Prev*. 2002;11:519-22.

Gardner CD, Newell KA, Cherin R, Haskell WL. The effect of soy protein with or without isoflavones relative to milk protein on plasma lipids in hypercholesterolemic postmenopausal women. *Am J Clin Nutr*. 2001;73: 728–735.

Genazzani AR. Controversial issues in climacteric medicine: cardiovascular disease and hormone replacement therapy. *Maturitas* 2001;38:263-71.

Genest J, Jenner JL, Mcnamara JR, et al. Prevalence of lipoprotein(a) [Lp(a)] excess in coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1991;67:1039-45.

Gómez M, Valle V, Arós F, Sanz G, Sala J, Fiol M, Bruguera J, Elosua R, Molina L, Martí H, Covas MI, Rodríguez-Llorián A, Fitó M, Suárez-Pinilla Ma, Amezaga R, Marrugat J, en nombre del grupo de investigadores FORTIAM. LDL oxidada, lipoproteína(a) y otros factores de riesgo emergentes en el infarto agudo de miocardio (estudio FORTIAM). *Rev Esp Cardiol*. 2009;62(4):373-82.

Goodman-Gruen D., Kritz-Silverstein D. Usual dietary isoflavone intake is associated with cardiovascular disease risk factors in postmenopausal women. *J. Nutr*. 2001;131:1202-1206.

Gordon T, Castelli WP, Hjortland MC, Kannel WB, Dawber TR. Predicting coronary heart disease in middle-aged and older persons: the Framingham Study. *JAMA*. 1977;238:497-9.

Gottlieb MG, Bonardi G, Moriguchi EH. *Fisiopatologia e aspectos inflamatórios da aterosclerose*. Scientia Medica. Porto Alegre: PUCRS. jul/set. 2005;15(3).

Gould AI, Rossoouw JE, Santanello NC, Heyse Jf, Furberg ED. Cholesterol reduction yields clinical benefit: impact of statin trials. *Circulation* 1998; 97: 946-52.

Grady D, Herrington D, Bittner V, Blumenthal R, Davidson M, Hlatky M, et al. Cardiovascular disease outcomes during 6.8 years of hormone therapy: heart and estrogen/pregestin replacement study follow-up (HERS II). *JAMA*. 2002; 288: 49-57.

Greaves K.A., Parks J.S., Williams J.K., Wagner J.D. Intact dietary soy protein, but not adding an isoflavone-rich soy extract to casein, improves plasma lipids in ovariectomized cynomolgus monkeys. *The Journal of Nutrition*, 1999;129: 1585-1592.

Greenland P, Knoll M, Stamler J, Neaton J, Dyer A, Garside D, et al. Major risk factors as antecedents of fatal and nonfatal coronary heart disease events. *JAMA*. 2003;290:891-7.

Grodstein F, Stampfer MJ, Colditz GA, Willet WC, Manson JE, Joffe M, et al. Postmenopausal hormone therapy and mortality. *N Engl J Med* 1997;336:1769-75

Gus I, Fischmann A, Medina C. Prevalência dos Fatores de Risco da Doença Arterial Coronariana no Estado do Rio Grande do Sul. *Arq Bras Cardiol*, 2002; 78 (5): 478-83.

Gus I, Harzheim E, Zaslavsky C, Medina C, Gus M. Prevalência, Reconhecimento e Controle da Hipertensão Arterial Sistêmica no Estado do Rio Grande do Sul. *Arq. Bras. Cardiol*. 2004;83(5): 424-428.

Gutiérrez J.R.V. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Rev. Cub. Med. Mil.*, 2002;31: 126-133.

Hackam D, Anand S. Emerging risk factors for atherosclerotic vascular disease. *JAMA*. 2003;290:932-40.

Hajjar KA, Nachman RL. The role of lipoprotein(a) in atherogenesis and thrombosis. *Ann Rev Med* 1996;47:423-42.

Halbe HW, Fonseca AM, Assis JDS, Vitória SM, Arie MHA, Elias DS, et al. Aspectos epidemiológicos e clínicos em 1.319 pacientes climatéricas. *Revista de Ginecologia e Obstetrícia* 1989; 1:182-94.

Hale GE, Hughes CL, Robboy SJ, Agarwal SK, Bievre M. A double-blind randomized study on the effects of red clover isoflavones on the endometrium. *Menopause*. 2001;8:338-346.

Hall WI, Vafeiadou K, Hallund J, Bugel S, Koebnick C, Reimann M et al. Soy isoflavone enriched foods and inflammatory biomarkers of cardiovascular risk in postmenopausal women: interactions with genotype and equol production. *American Journal of Clinical Nutrition* (In the Press). 2005.

Hall WL, Vafeiadou K, Hallund J, Bugel S, Reimann M 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.

Han K.K, Soares J.M, Haidar M.A, De Lima G.R, Baracat E.C. Benefits of soy isoflavone therapeutic regimen on menopausal symptoms. *Obstet Gynecol*. Mar, 2002;99(3):389-94.

Hancock MA, Boffa MB, Marcovina SM, et al. Inhibition of plasminogen activation by lipoprotein(a): critical domains in apolipoprotein(a) and mechanism of inhibition on fibrin and degraded fibrin surfaces. *J Biol Chem* 2003;278:23260-9.

Hartmann M, Dias-Da-Costa JS, Olinto MTA, Pattussi MP, Tramontini A. Prevalência de hipertensão arterial sistêmica e fatores associados: um estudo de base populacional em mulheres no Sul do Brasil. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, ago, 2007;23(8):1857-1866.

Henkel J. Soy: health claims for soy protein, questions about other components. *FDA Consumer* 2000; 3(3).

Hermansen K, Sondergaard M, Hoie L, Carstensen M, Brock B. Beneficial effects of a soy-based dietary supplement on lipid levels and cardiovascular risk markers in type 2 diabetic subjects. *Diabetes Care*. 2001;24:228–233.

Hers A.L., Stefanick M.L., Stafford R.S. National use of postmenopausal hormone therapy: annual trends and response to recent evidence, *JAMA*, 2004;291(1): 47-53.

Hilditch Jr, Lewis J, Ross Ah, Peter A, Van Maris B, Franssen E, et al. A comparison of the effects of oral conjugated equine estrogen and transdermal estradiol-17 beta combined with and oral progestin on quality of life in postmenopausal women. *Maturitas* 1996; 24:177-84.

Hirose K, Tajima K, Hamajima N, Inoue M, Takezaki T, Kuroishi T, Yoshida M; Tokudome S. A large-scale, hospital-based case-control study of risk factors of breast cancer according to menopausal status. *Japanese Journal of Cancer Research* 1995;86, 146–154.

Hodges RE, Krehl WA, Stone DB, Lopez A. Dietary carbohydrates and low cholesterol diets: effects on serum lipids on man. *Am J Clin Nutr.* 1967;20:198–208.

Hodgson JM, Puddey IB, Beilin LJ, Mori TA, Croft KD. Supplementation with isoflavonoid phytoestrogens does not alter serum lipid concentrations: a randomized controlled trial in humans. *Journal of Nutrition* 1998;128, 728–732.

Hodgson JM, Puddey IB, Beilin LJ, Mori TA, Burke V, Croft KD, Rogers PB. Effects of isoflavonoids on blood pressure in subjects with high-normal ambulatory blood pressure levels: a randomized controlled trial. *Am J Hypertens.* 1999;12:47–53.

Holmes WI, Rubel GB, Hood SS. Comparison of the effect of dietary meat versus dietary soybean protein on plasma lipids of hyperlipidemic individuals. *Atherosclerosis.* 1980;36:379–387.

Hu FB, Willett WC. Optimal diets for prevention of coronary heart disease. *JAMA.* 2002;288:2569-78.

Hu JF, Liu YY, Yu YK, Zhao TZ, Liu SD, Wang QQ. Diet and cancer of the colon and rectum: a case-control study in China. *International Journal of Epidemiology* 1991;20: 362–367.

Hubert HB, Feinleib M, McNamara PM, Castelli WP. Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26- year follow-up of participants in the Framingham Heart Study. *Circulation* 1983;67:968-977.

Hulley S., Grady, D., Bush T. et al. Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary disease in postmenopausal women. *J Am Med Assoc,* 280:605-13, 1998.

Huntley AL, Ernst E A systematic review of herbal medicinal products for the treatment of menopausal symptoms. *Menopause* 2003;10, 465–476.

Huntley AL, Ernst E. Soy for the treatment of perimenopausal symptoms – a systematic review. *Maturitas* 2004;47, 1–9.

III Diretrizes Brasileiras Sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia, ago 2001.

Instituto Brasileiro De Geografia E Estatística (IBGE). Pesquisa nacional por amostra de domicílios (on line). [Acesso em 2008 jan. 20]. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/trabalhoerendimento>.

Ishitani LH, Franco GC, Perpétuo IHO, França E. Desigualdade social e mortalidade precoce por doenças cardiovasculares no Brasil. *Rev. Saúde Pública*, São Paulo, Aug. 2006;40(4).

Isosaki M, Cardoso E. Manual de dietoterapia e avaliação nutricional: Serviço de Nutrição e Dietética do Instituto do Coração-HCFMUSP. São Paulo: Atheneu, 2004.

IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. Arquivos Brasileiros de Cardiologia. abril 2007;88. Supl. I.

Jackman KA, Woodman OL, Sobey CG. Isoflavones, equol and cardiovascular disease: pharmacological and therapeutic insights. *Curr Med Chem*. 2007;14(26):2824-30

Jenkins DJ, Kendall CW, Connelly PW, Jackson CJ, Parker T, Faulkner D, Vidgen E. Effects of high- and lowisoflavone (phytoestrogen) soy foods on inflammatory biomarkers and proinflammatory cytokines in middle-aged men and women. *Metabolism* 2002b; 51: 919–924.

Jenkins DJ, Kendall CW, D'costa MA, Jackson CJ, Vidgen E, Singer W, Silverman Ja, Koumbridis G, Honey J, Rao AV, Fleshner N, Klotz L. Soy consumption and phytoestrogens: effect on serum prostate specific antigen when blood lipids and oxidized low-density lipoprotein are reduced in hyperlipidemic men. *J Urol*. 2003;169:507–511.

Jenkins DJ, Kendall CW, Jackson CJ, Connelly PW, Parker T, Faulkner D, Vidgen E, Cunnane SC, Leiter LA, Josse RG. Effects of high- and lowisoflavone soyfoods on blood lipids, oxidized LDL, homocysteine, and blood pressure in hyperlipidemic men and women. *Am J Clin Nutr*. 2002^a;76:365–372.

Jenkins DJ, Kendall CW, Marchie A, Faulkner DA, Wong JM, De Souza R, Emam A, Parker TI, Vidgen E, Lapsley KG, Trautwein EA, Josse RG, Leiter LA, Connelly PW. Effects of a dietary portfolio of cholesterol-lowering foods vs lovastatin on serum lipids and C-reactive protein. *JAMA*. 2003;290:502–510.

Jenkins DJ, Kendall CW, Vidgen E, Vuksan V, Jackson CJ, Augustin LS, Lee B, Garsetti M, Agarwal S, Rao AV, Cagampang GB, Fulgoni V 3rd. Effect of soy-based breakfast cereal on blood lipids and oxidized lowdensity lipoprotein. *Metabolism*. 2000;49:1496–1500.

Kang HJ, Ansbacher R, Hammoud MM. Use of alternative and complementary medicine in menopause. *Int J Gynaecol Obstet*. 79(3):195-207, Dec, 2002.

Keinan-Boker L, Van Der Schouw YT, Grobbee DE, Peeters PH. Dietary phytoestrogens and breast cancer risk. *Am J Clin Nutr*. 2004;79:282–288.

Kern M., Ellison d.y., Ambrose M., Mosier K. Effects of Soy Protein Supplemented with methinine on blood lipids and adiposity of rats. *Nutrition*, 2002;18:654-656.

Khot U, Khot M, Bajzer C, Sapp S, Ohman E, Brener S, et al. Prevalence of conventional risk factors in patients with coronary heart disease. *JAMA*. 2003;290:898-904.

Kim M.K., Chung B.C., Yu V.Y., Nam J.H. et al. Relationships of urinary phytoestrogen excretion to BMD in postmenopausal women. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2002;56, 321-328.

Knight DC, Howes JB, Eden JA. The effect of Promensil, an isoflavone extract, on menopausal symptoms. *Climacteric* 1999;2, 79–84.

Knight DC, Howes JB, Eden JA, Howes LG. Effects on menopausal symptoms and acceptability of isoflavone-containing soy powder dietary supplementation. *Climacteric*. 2001;4:13–18.

Koschinsky ML. Lipoprotein(a) and the link between atherosclerosis and trombosis. *Can J Cardiol* 2004;20(Supl B):37B-43B.

Kotsopoulos D, Dalais FS, Liang YL, Mcgrath BP, Teede HJ. The effects of soy protein containing phytoestrogens on menopausal symptoms in postmenopausal women. *Climacteric*. 2000;3:161–167.

Krebs EE, Ensrud KE, Macdonald R, Wilt TJ. Phytoestrogens for treatment of menopausal symptoms: a systematic review. *Obstet Gynecol*. 2004;104:824–36.

Kreijkamp-Kaspers S, Kok L, Grobbee DE, De Haan EH, Aleman A, Lampe JW, Van Der Schouw YT. Effect of soy protein containing isoflavones on cognitive function, bone mineral density, and plasma lipids in postmenopausal women: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2004;292:65–74.

Kris-Etherton PM, Hecker KD, Bonanome A, Coval SM, Binkoski AE, Hilpert KF, Griel AE, Etherton TD. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *Am J Med*. 2002;113(suppl 9B):71S–88S.

Kritz-Silverstein D, Von Muhlen D, Barrett-Connor E, Bressel MA. Isoflavones and cognitive function in older women: the SOy and Postmenopausal Health In Aging (SOPHIA) Study. *Menopause* 2003;10, 196–202.

Kronenberg F, Fugh-Berman A. Complementary and alternative medicine for menopausal symptoms: a review of randomized, controlled trials. Comment In: ACP J Club. 2003 Jul-Aug;139(1):21. *Ann Intern Med*. 2002;137(10):805-13, Nov 19.

Kuhnau J. The flavonoids. A class of semi-essential food components: their role in human nutrition. *World Rev Nutr Diet*. 1976;24:117–91.

Kupperman HS, Blatt M, Wiesbader H, Filler W. Comparative clinical evaluation of estrogenic preparations by the menopausal and amenorrheal indices. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1953;13, 688–703.

Kurzer M.S., Xu X. Dietary Phytoestrogens. *Annu. Rev. Nutr.*, 1997;17:353-81.

Lampe JW. Is equol the key to the efficacy of soy foods? *Am. J. Clinical Nutrition*, May 2009; 89: 1664S - 1667S.

Lauber C, De Bacquer D, De Backer G, et al. Plasma lipoprotein(a) values and severity of coronary artery disease in a large population of patients undergoing coronary angiography. *Clin Chem* 1992;38:2261-6.

Leborgne L. et al. Effect of antioxidants on atherosclerotic plaque formation in balloon-denuded and irradiated hypercholesterolemic rabbits. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, v.46, p.540-547, 2005.

Lee HP, Gourley I, Duffy SW, Esteve J, Lee J, Day NE. Dietary effects on breast-cancer risk in Singapore. *Lancet* 1991;337, 1197–1200.

Lee SJ, Ahn JK, Kim SH, Kim JT, Han SJ, Jung MY, Chung IM. Variation in isoflavone of soybean cultivars with location and storage duration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2003;51, 3382–3389.

Lenfant C. Can we prevent cardiovascular diseases in low and middle-income countries? *Bull World Health Organ.* 2001;79:980-2.

Leon AS, Connett J, Jacobs DR JR, Rauramaa R. Leisure-time physical activity levels and risk of coronary heart disease and death: the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *JAMA* 1987, 258: 2388-95.

Lepahart E.D., West T.W., Weber K.S., Rhees R.W., Setchell K.D.R., et al. Neurobehavioral effects of dietary soy phytoestrogens. *Neurotoxicol Teratol.* 2002;24:5-16.

Lichtenstein AH, Jalbert SM, Adlercreutz H, Goldin BR, Rasmussen H, Schaefer EJ, Ausman LM. Lipoprotein response to diets high in soy or animal protein with and without isoflavones in moderately hypercholesterolemic subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22:1852–1858.

Lichtenstein, A.H. Soy protein, isoflavones and cardiovascular disease risk. *J Nutr, Bethesda*, 1998;128(10):1589-1592.

Lima Lm, Carvalho MG, Loures-Vale AA, Fernandes AP, Mota APL, Neto CPF, Garcia JCF, Saad JA, Souza MO. Increased Serum Levels of Lipoprotein(a) Correlated with the Severity of Coronary Artery Disease in Patients Submitted to Angiography. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* September 2006;87(3).

Lima I. M., Carvalho M. G., Sabino A. P., Souza M. O. Lipoproteína (a) e inibição da fibrinólise na doença arterial coronariana. *Rev. Bras. Hematol.Hemoter.*, 2006,28: 53-59.

Lin Y, Meijer GW, Vermeer MA, Trautwein EA. Soy protein enhances the cholesterol-lowering effect of plant sterol esters in cholesterol-fed hamsters. *J Nutr.* 2004;134:143–8.

Linseisen J, Piller R, Hermann S, Chang-Claude J, for the German Case-Control Study. Dietary phytoestrogen intake and premenopausal breast cancer risk in a German case-control study. *Int J Cancer.* 2004;110: 284–290.

Lock M, Kaufert P, Gilbert P. Cultural construction of the menopausal syndrome: the Japanese case. *Maturitas*. 1988;10:317-32.

Lorenzi DRS De, Catan LB., Moreira K., Artico GR. Assistência à mulher climatérica: novos paradigmas. *Rev. bras. enferm.* [online]. 2009;62(2): 287-293.

Luc G, Bard Jm, Arveiler D, et al. Lipoprotein(a) as a predictor of coronary heart disease: the PRIME study. *Atherosclerosis* 2002;163:377-84.

Lydeking-Olsen E, Beck-Jensen JE, Setchell KD, Holm-Jensen T. Soymilk or progesterone for prevention of bone loss—a 2 year randomized, placebo-controlled trial. *Eur J Nutr.* 2004;43:246–57.

Ma Df, Qin Lq, Wang Py, Kato R. Soy isoflavone intake increases bone mineral density in the spine of menopausal women: Meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin Nutr.* 2007;27:57–64.

Ma DF, Qin LQ, Wang PY, Kato R. Soy isoflavone intake inhibits bone resorption and stimulates bone formation in menopausal women: metaanalysis of randomized controlled trials. *Eur J Clin Nutr.* 2008;62:155–61.

Macgregor CA, Canney PA, Patterson G, McDonald R, Paul J. A randomised double-blind controlled trial of oral soy supplements versus placebo for treatment of menopausal symptoms in patients with early breast cancer. *Eur J Cancer.* 2005;41:708–14.

Mackey R, Ekangaki A, Eden JA. The effects of soy protein in women and men with elevated plasma lipids. *Biofactors.* 2000;12:251–257.

Magee PJ, Rowland IR. Phyto-oestrogens, their mechanism of action: current evidence for a role in breast and prostate cancer. *Br J Nutr.* 2004, 91:513–531.

Marcovina SM, Koschinsky ML, Albers JJ, Skarlatos S. Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute Workshop on Lipoprotein(a) and Cardiovascular Disease: recent advances and future directions. *Clin Chem.* 2003;49:1785–1796.

Marini H, Minutoli L, Polito F, Bitto A, Altavilla D, Atteritano M, Gaudio A, Mazzaferro S, Frisina A, et al. Effects of the phytoestrogen genistein on bone metabolism in osteopenic postmenopausal women: a randomized trial. *Ann Intern Med.* 2007;146:839–47.

Martinez TLR, Santos RD, Armaganijan D et al. Campanha nacional de alerta sobre o colesterol elevado: determinação do nível de colesterol de 81.262 brasileiros. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 2003,80: 631-634.

Maskarinec G, Williams AE, Carlin L. Mammographic densities in a one-year isoflavone intervention. *European Journal of Cancer Prevention* 2003;12, 165–169.

Masson CR et al. Prevalência de sedentarismo nas mulheres adultas da cidade de São Leopoldo, Rio Grande do Sul, Brasil. *Cad. Saúde Pública* [online]. 2005;21(6):1685-1695.

Meinertz H, Nilausen K, Hilden J. Alcohol-extracted, but not intact, dietary soy protein lowers lipoprotein(a) markedly. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002,22:312–316.

Meisinger C, Baumert J, Khuseyinova N, Loewel H, Koenig W. Plasma oxidized low-density lipoprotein, a strong predictor for acute coronary heart disease events in apparently healthy, middle-aged men from the general population. *Circulation.* 2005,112:651-7.

Menezes AMB, Minteni GC, Hallali PC, Victora CG, Hortai BI, Gigante DP, Barros FC. Tabagismo na coorte de nascimentos de 1982: da adolescência à vida adulta, Pelotas, RS. *Rev Saúde Pública* 2008,42(Supl. 2):78-85.

Merz-Demlow BE, Duncan AM, Wangen KE, Xu X, Carr TP, Phipps WR, Kurzer MS. Soy isoflavones improve plasma lipids in normocholesterolemic, premenopausal women. *Am J Clin Nutr.* 2000,71:1462–1469.

Messina M, Nagata C, Wu AH. Estimated Asian adult soy protein and isoflavone intakes. *Nutr Cancer.* 2006,55:1–12.

Messina MJ. Soy foods and soybean isoflavones and menopausal health. *Nutrition in Clinical Care* 2002, 5: 272-82.

Messina M, Hughes C. Efficacy of soyfoods and soybean isoflavone supplements for alleviating menopausal symptoms is positively related to initial hot flush frequency. *J Med Food.* 2003;6(1):1-11.

Miksicek RJ. Estrogenic flavonoids: structural requirements for biological activity. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1995,208:44–50.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Análise de Situação de Saúde. Saúde Brasil 2004 - uma análise da situação de saúde. Brasília (DF), 2004.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Agita Brasil: guia para agentes multiplicadores. Brasília: Ministério da Saúde, 2001.

Morabito N, Crisafulli A, Vergara C, Gaudio A, Lasco A, Frisina N, D'anna R, Corrado F, Pizzoleo MA, Cincotta M, Altavilla D, Ientile R, Squadrito F. Effects of genistein and hormone-replacement therapy on bone loss in early postmenopausal women: a randomized double-blind placebocontrolled study. *J Bone Miner Res.* 2002,17:1904–1912.

Moreira RO., Santos RD., Martinez I., Saldanha FC., Pimenta JLAC., Feijoo et al. Perfil Lipídico de pacientes com alto risco para eventos cardiovasculares na prática clínica diária. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.*, 2006;50: 481-489.

Moriyama T, Kishimoto K, Nagai K, Urade R, Ogawa T, Utsumi S, Maruyama N, Maebuchi M. Soybean beta-conglycinin diet suppresses serum triglyceride levels in normal and genetically obese mice by induction of beta-oxidation, downregulation of fatty acid synthase, and inhibition of triglyceride absorption. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2004,68:352–9.

Moura EC., Castro CM., Mellin AS., Figueiredo DB. Perfil lipídico em escolares de Campinas, SP, Brasil. *Rev. Saúde Pública*, 2000;34: 499-505.

Muco OMCC., Ramires JAF. Análise coronariana aguda. *Arq. Bras. Cardiol.*, 2006;87: 28-36.

Murkies AI, Lombard C, Strauss BJ, Wilcox G, Burger HG, Morton MS. Dietary flour supplementation decreases post-menopausal hot flushes: effect of soy and wheat. *Maturitas.* 1995,21:189-95.

Murkies AI, Wilcox G, Davis SR. Clinical review 92: Phytoestrogens. *J Clin Endocrinol Metab*, 1998;83(2): 297-303.

Napoli C. Low density lipoprotein oxidation and atherosclerosis: from experimental models to clinical studies. *G. Ital. Cardiol.*, v. 27, p.1302-1314, 1997.

NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH. Morbidity and Mortality Chartbook on Cardiovascular, Lung and Blood Service, 1990.

Nestel PJ, Pomeroy S, Kay S, Komesaroff P, Behrsing J, Cameron JD, West L. Isoflavones from red clover improve systemic arterial compliance but not plasma lipids in menopausal women. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1999;84, 895–898.

Nestel Pj, Yamashita T, Sasahara T, Pomeroy S, Dart A, Komesaroff P, Owen A, Abbey M. Soy isoflavones improve systemic arterial compliance but not plasma lipids in menopausal and perimenopausal women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997,17:3392–3398.

Newton KM, Reed SD, Lacroix AZ, Grothaus LC, Ehrlich K, Guiltinan J, Treatment OF Vasomotor Symptoms of Menopause with Black Cohosh, Multibotanicals, Soy, Hormone Therapy, or Placebo. *Ann Intern Med.* 2006,145:869-879.

Nikander E, Kilkkinen A, Metsa-Heikkila M, Adlercreutz H, Pietinen P, Tiitinen A, Ylikorkala O. A randomized placebo-controlled crossover trial with phytoestrogens in treatment of menopause in breast cancer patients. *Obstetrics and Gynecology* 2003;101, 1213–1220.

Nikander E, Metsa-Heikkila M, Ylikorkala O, Tiitinen A. Effects of phytoestrogens on bone turnover in postmenopausal women with a history of breast cancer. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004,89:1207–1212.

Nilausen K, Meinertz H. Lipoprotein(a) and dietary proteins: casein lowers lipoprotein(a) concentrations as compared with soy protein. *Am J Clin Nutr.* 1999,69:419–425.

Nishio K, Niwa Y, Toyoshima H, Tamakoshi K, Kondo T, Yatsuya H, Yamamoto A, Suzuki S, Tokudome S, et al. Consumption of soy foods and the risk of breast cancer: findings from the Japan Collaborative Cohort (JACC) Study. *Cancer Causes Control.* 2007,18: 801–8.

Nolte E, Mckee M. *Does healthcare save lives? Avoidable mortality revisited.* London: Nuffield Trust, 2004.

Oh K, Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ, Willett WC. Dietary fat intake and risk of coronary heart disease in women 20 years of follow-up of the Nurses Health Study. *Am J Epidemiol.* 2005 ;161:672–679.

Olinto MTA, Dias da Costa JS, Schwengber RB. *A saúde de São Leopoldo: duas décadas de informações*. São Leopoldo: UNISINOS, 2001.

Oliveira A, Mancini FJ. Perfil Nutricional e lipídico de mulheres na pós-menopausa com doença arterial coronariana. *Arq. Bras. Card.*, 2005;84: 325-329.

Paffenberger Jr RS, Hyde RT, Wing AI, Lee IM, Jung DI, Kampert JB. The association of changes in physical-activity level and other lifestyle characteristics with mortality among men. *N Engl J Med* 1993, 328: 538-45.

Paganini-Hill A, Henderson V. Estrogen deficiency and risk of Alzheimer's disease in women. *Am J Epidemiol* 1994,140:256-61.

Pasqualucci C, Uint I, Lage SG. Aterosclerose – parte 2: papel dos lípidos e lipoproteínas na aterosclerose. *Revista Brasileira de Cardiologia*, 1999;1(2): 62-67.

Pati U, Pati N. Lipoprotein(a), atherosclerosis, and apolipoprotein(a) gene polymorphism. *Mol Gen Met* 2000,71:87-92.

Pedro AO, Neto AMP, Paiva LH, Osis JM, Hardy E. Idade de ocorrência da menopausa natural em mulheres brasileiras: resultados de um inquérito populacional domiciliar. *CAD Saúde Púb* 2003,19(1):7-25.

Peeters Ph, Keinan-Boker L, Van Der Schouw YT, Grobbee DE. Phytoestrogens and breast cancer risk: review of the epidemiological evidence. *Breast Cancer Res Treat.* 2003,77:171–183.

Penotti M, Fabio E, Modena AB, Rinaldi M, Omodei U, Viganò P. Effect of soy-derived isoflavones on hot flushes, endometrial thickness, and the pulsatility index of the uterine and cerebral arteries. *Fertility and Sterility* 2003;79, 1112–1117.

PEPI. Effects of hormone replacement therapy on endometrial histology in postmenopausal women. The Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions (PEPI) Trial. The Writing Group for the PEPI Trial. *JAMA* 1996,275:370-5.

PEPI. The writing group for the PEPI TRIAL. Effects of estrogen or estrogen/progestin regimens on heart disease risk factors in postmenopausal women. The postmenopausal estrogen/progestin interventions (PEPI) trial. *JAMA* 1995,273:199-208.

Pereira MA, O'reilly E, Augustsson K, Fraser GE, Goldbourt U, Heitmann BI, et al. Dietary fiber and risk of coronary heart disease: a pooled analysis of cohort studies. *Arch Int Med*. 2004,164:370-6.

Petri Nahas E, Nahas Neto J, De Luca L, Traiman P, Pontes A, Dalben I. Benefits of soy germ isoflavones in postmenopausal women with contraindication for conventional hormone replacement therapy. *Maturitas* 2004;48, 372–380.

Phipps WR, Cuncan AM, Kurzer MS. Isoflavones and postmenopausal women – a critical review. *Treatments in Endocrinology* 2002, 1:293-311.

Potter SM, Baum JA, Teng H, Stillman RJ, Shay NF, Erdman JW JR. Soy protein and isoflavones: their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr*. 1998,68:1375S–1379S.

Powell KE, Thompson PD, Caspersen CJ, Kendrick JS. Physical activity and the incidence of coronary heart disease. *Annu Rev Public Health* 1987, 8: 253-87.

Prado ES, Dantas EH. Efeitos dos exercícios físicos aeróbio e de força nas lipoproteínas HDL, LDL e lipoproteína(a). *Arq Bras Cardiol* 2002,79:429-33.

Puska P, Korpelainen V, Hoie LH, Skovlund E, Lahti T, Smerud KT. Soy in hypercholesterolaemia: a double-blind, placebo-controlled trial. *Eur J Clin Nutr*. 2002,56:352–357.

Quella Sk, Loprinzi CI, Barton DI, Knost JA, Sloan JA, Lvasseur BI, et al. Evaluation of soy phytoestrogens for the treatment of hot flashes in breast cancer survivors: A North Central Cancer Treatment Group Trial. *J Clin Oncol*. 2000,18:1068-74.

Repetto G, Rizzolli J, Bonatto C. Prevalência, riscos e soluções na obesidade e sobrepeso: Here, There, and Everywhere. *Arq Bras Endocrinol Metab* [online]. 2003;47(6): 633-635.

Reynolds K, Chin A, Lees Ka,Nguyen A, Bujnowski D, Jiang HE. A meta-analysis of the effect of soy protein supplementation on serum lipids. *The American journal of cardiology* 2006;98(5):633-640

Rosengren A, Wilhelmsen L, Eriksson E, Risberg B. Lipoprotein (a) and coronary heart disease: a prospective case-control study in a general population sample of middle aged men. *BMJ*. 1990,301:1248-51.

Routledge EJ, White R, Parker MG, Sumpter JP. Differential effects of xenoestrogens on coactivator recruitment by estrogen receptor (ER) alpha and ErbB2. *Journal of Biological Chemistry* 2000; 275:35986-93.

Russouw JE, Anderson GL, Prentice RI et al. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the Women's Health initiative randomized controlled trial. *J Am Med Assoc*, 2002;288:321-33.

Sacks FM, Breslow JL, Wood PG, Kass EH. Lack of an effect of dairy protein (casein) and soy protein on plasma cholesterol of strict vegetarians: an experiment and a critical review. *J Lipid Res*. 1983;24:1012-1020.

Sacks FM, Lichtenstein A, Van Horn L, Harris W, Kris-Etherton P, Winston M. Soy protein, isoflavones, and cardiovascular health. An American Heart Association Science Advisory for Professionals from the Nutrition Committee. *Circulation*. 2006;113:1034-44.

Sanders TA, Dean TS, Grainger D, Miller GJ, Wiseman H. Moderate intakes of intact soy protein rich in isoflavones compared with ethanolextracted soy protein increase HDL but do not influence transforming growth factor beta(1) concentrations and hemostatic risk factors for coronary heart disease in healthy subjects. *Am J Clin Nutr*. 2002;76: 373-377.

Santos EF, Marcellini PS, Melo Mgd, Almeida ML. Avaliação do consumo alimentar e do perfil lipídico de mulheres na menopausa. *RBAC*, 2008; 40(4): 267-271.

Santos CRB, Portella ES, Ávila SS, Soares EA. Fatores dietéticos na prevenção e tratamento de comorbidades associadas à síndrome metabólica. *Rev. Nutr.*, 2006;19: 389-401.

Santos ZMSA, Silva RM, Monteiro DA. Mulher com hipertensão e a relação com a menopausa. *Rev. René*, 2006;7: 68-74.

Sarkar FH, Li Y. Soy isoflavones and cancer prevention. *Cancer Invest*. 2003;21:744-757.

Scalbert A, Williamson G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J Nutr*. 2000;130: 8 Suppl:S2073-85.

Scambia G, Mango D, Signorile PG, Anselmi Angeli RA, Palena C, Gallo D, Bombardelli E, Morazzoni P, Riva A, Mancuso S. Clinical effects of a standardized soy extract in postmenopausal women: a pilot study. *Menopause*. 2000;7:105–111.

Scowitz IKT, Santos IS, Silveira MF. Prevalência e fatores associados a fogachos em mulheres climatéricas e pós-climatéricas. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, mar-abr, 2005;21(2):469-481.

Secreto G, Chiechi LM, Amadori A, Miceli R, Venturelli E, Valerio T, Marubini E. Soy isoflavones and melatonin for the relief of climacteric symptoms: a multicenter, double-blind, randomized study. *Maturitas*. 2004, 47:11–20.

Setchell KD. Phytoestrogens: the biochemistry, physiology, and implications for human health of soy isoflavones. *American Journal of Clinical Nutrition* 1998;68: 1333S–1346S.

Setchell KD, Brown NM, Lydeking-Olsen E. The clinical importance of the metabolite equol – a clue to the effectiveness of soy and its isoflavones. *Journal of Nutrition* 2002a;132: 3577–3584.

Setchell KD, Brown Nm, Desai P, Zimmer-Nechemias L, Wolfe Be, Brashear WT, Kirschner AS, Cassidy A, Heubi JE. Bioavailability of pure isoflavones in healthy humans and analysis of commercial soy isoflavone supplements. *Journal of Nutrition* 2001;131:1362S–1375S.

Setchell KD, Brown NM, Desai Pb, Zimmer-Nechimias L, Wolfe B, Jakate AS, Creutzinger V, Heubi JE. Bioavailability, disposition, and dose-response effects of soy isoflavones when consumed by healthy women at physiologically typical dietary intakes. *Journal of Nutrition* 2003a;133, 1027–1035.

Setchell Kd, Brown NM, Lydeking-Olsen E. The clinical importance of the metabolite equol – a clue to the effectiveness of soy and its isoflavones. *Journal of Nutrition* 2002; 132:3577-84.

Setchell KD, Brown NM, Zimmer-Nechemias L, Brashear WT, Wolfe BE, Kirschner AS, Heubi JE. Evidence for lack of absorption of soy isoflavone glycosides in humans, supporting the crucial role of intestinal metabolism for bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition* 2002b;76: 447–453.

Setchell KD, Cassidy A. Dietary isoflavones: biological effects and relevance to human health. *Journal of Nutrition* 1999, 129:758S-767S.

Setchell KD, Faughnan MS, Avades T, Zimmer-Nechemias L, Brown NM, Wolfe BE, Brashear WT, Desai P, Oldfield MF, Botting Np, Cassidy A. Comparing the pharmacokinetics of daidzein and genistein with the use of ¹³C-labeled tracers in premenopausal women. *American Journal of Clinical Nutrition* 2003b; 77, 411–419.

Setchell KD, Lydeking-Olsen E. Dietary phytoestrogens and their effect on bone: evidence from in vitro and in vivo, human observational, and dietary intervention studies. *Am J Clin Nutr.* 2003,78:593S–609S.

Setchell Kd, Zimmer-Nechemias L, Cai J, Heubi JE. Exposure of infants to phytoestrogens from soy-based infant formula. *Lancet* 1997; 350, 23–27.

Setchell KDR. Phytoestrogens: the biochemistry, physiology, and implications for human health of soy isoflavones. *Am J Clin Nutr* 1998 68(suppl):1333S-46S.

Shimoda M, Sugayama S, Kim C, Ebaid M. Orientação Familiar preventiva: aspectos genéticos das doenças cardiovasculares e perspectivas futuras. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo* 1996, 6: 623-22.

Shu Xo, Jin F, Dai Q, Wen W, Potter Jd, Kushi Lh, Ruan Z, Gao Yt, Zheng W. Soyfood intake during adolescence and subsequent risk of breast cancer among Chinese women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2001, 10:483–488.

Silvestre JA, Kalache A, Ramos,L et al. O envelhecimento populacional brasileiro e o setor da saúde. *Arq. Geriatr. Gerontol.* 1996; (1):81-89.

Simons La, Von Konigsmark M, Simons J, Celermajer DS. Phytoestrogens do not influence lipoprotein levels or endothelial function in healthy, postmenopausal women. *Am J Cardiol.* 2000,85:1297–1301.

Sirtori Cr, Bosisio R, Pazzucconi F, Bondioli A, Gatti E, Lovati Mr, Murphy P. Soy milk with a high glycitein content does not reduce lowdensity lipoprotein cholesterol in type II hypercholesterolemic patients. *Ann Nutr Metab.* 2002,46:88–92.

Sirtori Cr, Gatti E, Mantero O, Conti F, Agradi E, Tremoli E, Sirtori M, Fraterrigo L, Tavazzi L, Kritchevsky D. Clinical experience with the soybean protein diet in the treatment of hypercholesterolemia. *Am J Clin Nutr.* 1979,32:1645–1658.

Spritzer PM, Wender MCO. Terapia Hormonal na Menopausa: Quando Não Usar. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2007,51/7:1058-1063.

Squadrito F, Altavilla D, Crisafulli A, Saitta A, Cucinotta D, Morabito N, D'anna R, Corrado F, Ruggeri P, Frisina N, Squadrito G. Effect of genistein on endothelial function in postmenopausal women: a randomized, double-blind, controlled study. *American Journal of Medicine* 2003;114, 470–476.

Squadrito F, Altavilla D, Morabito N, Crisafulli A, D'anna R, Corrado F, Ruggeri P, Campo Gm, Calapai G, Caputi Ap, Squadrito G. The effect of the phytoestrogen genistein on plasma nitric oxide concentrations, endothelin-1 levels and endothelium dependent vasodilation in postmenopausal women. *Atherosclerosis*. 2002,163:339–347.

Germain ST A, Peterson CT, Robinson JG, Alekel DL. Isoflavone-rich or isoflavone-poor soy protein does not reduce menopausal symptoms during 24 weeks of treatment. *Menopause*. 2001,8:17–26.

Stamler J, Wentworth D, Neaton JD. Is relationship between serum cholesterol and risk of premature death from coronary heart disease continuous and graded? Findings in 356222 primary screenees of the Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT). *JAMA* 1986,256:2823–8.

Steinberg FM, Guthrie NI, Villablanca AC, Kumar K, Murray MJ. Soy protein with isoflavones has favorable effects on endothelial function that are independent of lipid and antioxidant effects in healthy postmenopausal women. *Am J Clin Nutr*. 2003,78:123–130.

Steinberg D. Oxidative modification of LDL in the pathogenesis of atherosclerosis. *Am J Geriatr Cardiol*, 1993;2(5): 38-41.

Tang GW. The climacteric of Chinese factory workers. *Maturitas* 1994, 19:177-82.

Teede HJ, Dalais FS, Kotsopoulos D, Liang YI, Davis S, Mcgrath BP. Dietary soy has both beneficial and potentially adverse cardiovascular effects: a placebo-controlled study in men and postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001,86:3053–3060.

Teede HJ, Dalais FS, Kotsopoulos D, Mcgrath BP, Malan E, Gan Te, Peverill RE. Dietary soy containing phytoestrogens does not activate the hemostatic system in postmenopausal women. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2005;90: 1936–1941.

Teede Hj, Mcgrath Bp, Desilva L, Cehun M, Fassoulakis A, Nestel PJ. Isoflavones reduce arterial stiffness: a placebo-controlled study in men and postmenopausal women. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2003;23, 1066–1071.

Teichmann L, Olinto MTA, Costa JSD, Ziegler D. Fatores de risco associados ao sobrepeso e a obesidade em mulheres de São Leopoldo, RS. *Rev. bras. epidemiol.* [online]. 2006;9(3): 360-373.

Teixeira SR, Potter SM, Weigel R, Hannum S, Erdman JW Jr, Hasler CM. Effects of feeding 4 levels of soy protein for 3 and 6 wk on blood lipids and apolipoproteins in moderately hypercholesterolemic men. *Am J Clin Nutr.* 2000;71:1077–1084.

Tham DM, Gardener CD, Haskell WL. Potential health benefits of dietary phytoestrogens: a review of the clinical, epidemiological, and mechanistic evidence. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 1998;83: 2223-2235.

Tonstad S, Smerud K, Hoie L. A comparison of the effects of 2 doses of soy protein or casein on serum lipids, serum lipoproteins, and plasma total homocysteine in hypercholesterolemic subjects. *Am J Clin Nutr.* 2002;76: 78–84.

Tsimikas S, Brilakis E, Miller E, Mcconnell J, Lennon R, Kornman K, et al. Oxidized phospholipids, lp(a) lipoprotein, and coronary artery disease. *N Engl J Med.* 2005;353:46-57.

Tsimikas S, Lau HK, Han KR, Shortal B, Miller ER, Segev A, et al. Percutaneous coronary intervention results in acute increases in oxidized phospholipids and lipoprotein(a): Short-term and long-term immunologic responses to oxidized low-density lipoprotein. *Circulation.* 2004;109:3164-70.

Upmalis Dh, Lobo R, Bradley L, Warren M, Cone FI, Lamia CA. Vasomotor symptom relief by soy isoflavone extract tablets in postmenopausal women: a multicenter, double-blind, 23. Miksicek RJ. Estrogenic flavonoids: structural requirements for biological activity. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1995;208:44–50.

Upmalis DH, Lobo R, Bradley L, Warren M, Cone FI, Lamia CA. Vasomotor symptom relief by soy isoflavone extract tablets in postmenopausal women: a multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Menopause.* 2000;7:236–242.

Utian WH. The International Menopause Society menopause-related terminology definitions. *Climateric* 1999, 2:284-6.

Vacanti LJ, Santos SCM, Fujita AM, Lima DS, Lopes Af, Vettorazzi et al. A baixa taxa de obtenção da meta do LDL-colesterol numa população de baixa renda. *Arq. Bras. Cardiol.*, 2005;85: 162-165.

Van Horn L, Liu K, Gerber J, Garside D, Schiffer L, Gernhofer N, Greenland P. Oats and soy in lipid-lowering diets for women with hypercholesterolemia: is there synergy? *J Am Diet Assoc.* 2001;101:1319–1325.

Van Patten CI, Olivotto IA, Chambers GK, Gelmon KA, Hislop TG, Templeton E, et al. Effect of soy phytoestrogens on hot flashes in postmenopausal women with breast cancer: a randomized, controlled clinical trial. *J Clin Oncol.* 2002;20:1449-55.

Veras AB, Rassi A, Valença AM, Nardi AE. Prevalência de transtornos depressivos e ansiosos em uma amostra ambulatorial brasileira de mulheres na menopausa. *Rev. Psiquiatr. Rio Gd. Sul*, 2006,28: 130-134.

Vigitel Brasil 2008: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Secretaria de Gestão Estratégica e Participativa. – Brasília : Ministério da Saúde, 2009. 112 p.: il. – (Série G. Estatística e Informação em Saúde).

Vigna Gb, Pansini F, Bonaccorsi G, Albertazzi P, Donega P, Zanotti L, De Aloysio D, Mollica G, Fellin R. Plasma lipoproteins in soy-treated postmenopausal women: a double-blind, placebo-controlled trial. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2000;10:315–322.

Wangen KE, Duncan AM, Xu X, Kurzer MS. Soy isoflavones improve plasma lipids in normocholesterolemic and mildly hypercholesterolemic postmenopausal women. *Am J Clin Nutr.* 2001;73:225–231.

Washburn S, Burke GI, Morgan T, Anthony M. Effect of soy protein supplementation on serum lipoproteins, blood pressure, and menopausal symptoms symptoms in perimenopausal women. *Menopause.* 1999;6:7-13.

Weggemans RM, Trautwein EA. Relation between soy-associated isoflavones and LDL and HDL cholesterol concentrations in humans: a meta-analysis. *Eur J Clin Nutr.* 2003;57:940–946.

West SG, Hilpery Kf, Juturu V, Bordi PL, Lampe JW, Mousa SA, Kris Etherton PM. Effects of including soy protein in a blood cholesterol lowering diet on markers of cardiac risk in men, and postmenopausal women _/- hormone replacement therapy. *J Womens Health (Larchmt).* 2005;14:253–262.

WHI Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators. Risks and benefits of oestrogen plus progestin in health postmenopausal women: principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA*. 2002; 288: 321-33.

WHO. Preventing chronic disease: a vital investment. Geneva, World Health Organization, 2005.

WHO. Prevention of cardiovascular disease: guidelines for assessment and management of total cardiovascular risk. Geneva. World Health Organization 2007.

WHO Scientific Group on Research on the Menopause in the 1990s. WHO technical report series 1996;866:1-107.

WHO Study Group. Diet, nutrition and prevention of chronic disease. Geneva; 2005 (WHO Technical Report Series, 916).

WHO. World Health Organization. Research on the menopause in the 1990s. Geneva: World Health Organization; 1996 (Technical Report Series 866).

Wiklund I, Karlberg J, Mattsson LA. Quality of life of postmenopausal women on a regimen of transdermal estradiol therapy: a double-blind placebo-controlled study. *Am J Obstet Gynecol* 1993;168:824-30.

Wilcox G., Wahlquist ML., Burger HG., Medley G. Oestrogenic effects of plants foods in postmenopausal women. *British Medical Journal*, 1990;301: 905-906.

Willett WC. *Nutritional epidemiology*. 2.ed. New York (NY): Oxford University Press, 1998.

Witztum JL. The oxidation hypothesis of atherosclerosis. *Lancet*. 1994;344:793-5.

Wong WW, Smith EO, Stuff JE, Hachey DI, Heird WC, Pownell HJ. Cholesterol-lowering effect of soy protein in normocholesterolemic and hypercholesterolemic men. *Am J Clin Nutr*. 1998;68:1385S-1389S.

Wu AH, Wan P, Hankin J, Tseng CC, Yu Mc, Pike MC. Adolescent and adult soy intake and risk of breast cancer in Asian-Americans. *Carcinogenesis*. 2002;23:1491-1496.

Wu AH, Ziegler RG, Horn-Ross PI, Nomura AM, West DW, Kolonel LN, Rosenthal JF, Hoover RN, Pike MC. Tofu and risk of breast cancer in Asian-Americans. *Cancer Epidemiology, Biomarkers; Prevention* 1996;5, 901–906.

iao CW, Mei J, Huang W, Wood C, L'abbe´ MR, Gilani GS, Cooke GM, Curran IH. Dietary soy protein isolate modifies hepatic retinoic acid receptor-b proteins and inhibits their DNA binding activity in rats. *J Nutr.* 2007;137:1–6.

Xiao CW. Health Effects of Soy Protein and Isoflavones in Humans. *J Nutr* 2008;138:1244S-1249S.

Yamamoto S, Sobue T, Kobayashi M, Sasaki S, Tsugane S, Soy, isoflavones, and breast cancer risk in Japan. *J Natl Cancer Inst.* 2003;95:906–913.

Yeung J., Yu T. Effects of isoflavones (soy phyto-estrogens) on serum lipids: a meta-analysis of randomized controlled trial. *Nutrition Journal.* 2003;22:15.

Yuan JM, Wang QS, Ross RK, Henderson BE, Yu MC. Diet and breast cancer in Shanghai and Tianjin, China. *British Journal of Cancer* 1995;71, 1353–1358.

Zahar SEV., Aldrighi JM., Pinto NAM., Conde DM., Zahar IO., Russomano, F. Qualidade de vida em usuárias e não usuárias de terapia de reposição hormonal. *Rev. Assoc. Méd. Bras.*, 2005;51: 133-138.

Zhan S, Ho S.C. Meta-analysis of the effects of soy protein containing isoflavones on the lipid profile. *Am J Clin Nutr* 2005;81: 397-408.

Zhang X, Patel A, Horibe H, et al. Cholesterol, coronary heart disease, and stroke in the Asia Pacific region. *Int J Epidemiol* 2003;32:563–72.

Zhang Y, Hendrich S, Murphy PA. Glucuronides are the main isoflavone metabolites in women. *Journal of Nutrition* 2003;133, 399–404.

Zhang X., Shu XO., Gao YT., Yang G., Li Q., Li H., Jin F., Zheng W. Soy food consumption is associated with lower risk of coronary heart disease in Chinese women. *J Nutr* 133: 2874-2878, 2003.

Zheng W, Dai Q, Custer LJ, Shu XO, Wen WQ, Jin F, Franke AA. Urinary excretion of isoflavonoids and the risk of breast cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers ; Prevention* 1999;8, 35–40.

Zhuo X. G., Melby M. K., Watanabe S. Soy isoflavone intake lowers serum LDL cholesterol: a meta-analysis of 8 randomized controlled trials in humans. *J Nutr* 2004;134: 2395-2400.

Ziegler RG. Phytoestrogens and breast cancer. *Am J Clin Nutr.* 2004;79: 183–184.

ARTIGOS

THE EFFECTS OF ISOLATED SOY PROTEIN ON WOMEN'S LIPID PROFILE

EFEITOS DO CONSUMO DE PROTEÍNA DE SOJA ISOLADA SOBRE NÍVEIS DE LIPÍDIOS SÉRICOS EM MULHERES

Running title:

SOY PROTEIN AND LIPID PROFILE

PTN DE SOJA E LIPÍDIOS SÉRICOS

Clarice Cardozo da Costa Pediger¹, Maria Teresa Anselmo Olinto², Marcos Pascoal Pattussi²

¹ Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), R. Souza Costa, 636/28, B. Protásio Alves, Porto Alegre, RS, Brasil, CEP 91450140, e-mail: c.cc@terra.com.br, Fone: (51) 3276-2621. ² Maria Teresa A. Olinto e Marcos Pascoal Pattussi: Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva, Universidade do Vale do Rio dos Sinos (UNISINOS), Av. Unisinos 950, CEP 93022-000, São Leopoldo, RS, Brasil. Fone: (51) 3591-1231. Fax: (51) 5908479.

ABSTRACT

Objective: We aimed to evaluate the effect of isolated soy protein lipid profile in adult women.

Design: In this a randomized, placebo controlled, triple-blind, parallel, 8-wk study, ninety six adult women aged 36-68y, with total cholesterol ≥ 200 mg/dL, 96 women were randomly assigned to intervention diet (isolated soy protein) or control diet (milk protein). Anthropometric data, blood pressure and biochemical analyses were collected during baseline, 4-wk and 8-wk visits.

Results: "Lipids profiles improved with significant decreases in cholesterol total (-25.7 mg/dl \pm 35.5 (SD) vs -9.8 mg/dl \pm 48.3, $P= 0.038$) in the soy protein group compared to placebo at 4wk. After 8wk, this level did not show significant differences. No significant differences were detected for LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, tryglicerides, LDL-peroxide and Lipoprotein (a).

Conclusion: Consumption of Isolated Soy Protein during 4 wk is more effective than total milk protein for improving the serum total cholesterol in adult women.

Key Words: soy protein, women, cholesterol

INTRODUCCION

Considerable interest has been focused on the role of soy protein and isoflavones in improving plasmatic lipoprotein profiles and subsequent cardiovascular disease (CVD) risk. The favourable effects of soy protein on serum lipids were firstly reported in the classic Anderson et al meta-analysis (ANDERSON et al, 1995). In 1999, the Food and Drug Administration (FDA) in USA approved a health claim establishing that 25g/d soy protein included in a diet low in saturated fat and cholesterol can reduce the risk of coronary heart disease (FDA, 1999).

Thereafter a number of studies (HO et al, 2000; NAGATA et al, 1998; MERZDEMLOW et al, 2000; GARDNER et al, 2001; WANGEN et al, 2001) and meta-analysis (ZHUO et al, 2004; ZHAN; HO, 2005) reported that soy protein enriched diets significantly reduced plasma cholesterol concentrations when compared with diets containing animal protein.

In addition, recognition that soy protein products contain bioactive molecules called phytoestrogens or isoflavonas. Isoflavones remain in soy protein preparations that are not extracted with alcohol. During the preparation of soy protein isolate, the soy is washed with alcohol, removing a substantial amount of the isoflavones. This led to the intriguing idea that the presence and amount of isoflavones explain the variable results of soy studies; only those that used high-isoflavone preparations produced favorable results (SACKS et al, 2006).

However, subsequent studies of soy protein and CVD risk have not been completely supportive of the original claims. Findings show a small or no plasma cholesterol reduction in either in normo- or hypercholesterolemic subjects (TEIXEIRA et al, 2000; VIGNA et al, 2000; VAN HORN et al, 2001; LICHTENSTEIN et al, 2002; PUSKA et al, 2002; TONSTAD et al, 2002; STEINBERG et al, 2003; KREIJKAMP-KASPERS et al, 2004; ENGELMAN et al, 2005; ROUGHEAD et al, 2005; DEWEL et al, 2006). Most of trials showing an effect pooled together men and women in their analysis. ZHAN & HO (2005) meta-analysis showed larger reductions in total cholesterol and LDL-cholesterol in men than in women, suggesting that there may be gender difference. In addition, a review on soy protein, isoflavones and cardiovascular health showed that although soy protein, as compared with others proteins, may have an effect on LDL-cholesterol, its effect on other CVD risk factors

has not been confirmed by studies during the past 10 years (SACKS et al, 2006). US Food and Drug Administration announced its intent to re-evaluate the scientific evidence for soy protein and the risk of coronary heart disease using its newly proposed “evidence-based” guidelines (FDA, 2007).

The main objective of this study was to investigate the effect of isolated soy protein containing isoflavones on lipid profile in adult women.

SUBJECTS AND METHODS

Subjects

Hipercholesterolemic volunteer women (n=96) aged ≥ 35 y, with total plasma cholesterol ≥ 200 mg/dL were recruited from two cities in Southern Brazil, Porto Alegre and Caxias do Sul, RS, and were initially enrolled and randomly assigned in this study. Voluntaries answered an eligibility questionnaire by telephone. Women were included if they: did not have a history of CVD, inflammatory disease or diabetes; were not taking medications known to affect lipid metabolism, including statins, hypertension medication, antidepressants and medication to lose weight; were not using dietary supplements; had not taken hormone replacement therapy (HRT) for the previous 6mo; were not following a weight-reducing diet; did not usually consume diets containing soy or isoflavones; were not moderate or heavy exercisers (≥ 3 x/wk); were not pregnant or nursing; and did not have a known allergy or hypersensitivity to soy or cow’s milk. All volunteers signed written informed consent before beginning the study and were free to withdraw from the study at any time. The present study was approved by the research council and ethics committee of the HCPA-UFRGS (Porto Alegre Hospital of Clinics) and University of do Vale of Rio Sinos -UNISINOS.

Experimental Design and Study Procedures

The study was a randomized, placebo-controlled, 8-wk triple-blind parallel design. Intervention lasted 8 weeks and women were visited three times: baseline, 4wk and 8 weeks. The number of subjects needed to enable a statistically significant

effect on risk biomarkers was calculated by assuming a predicted plasma LDL-cholesterol reduction of 10% as the response to isolated soy protein with isoflavone supplementation and 5% for control group, with a power of 80% and alpha error = 0,0125. According to this, it would be necessary 50 women in each group.

Women had an equal probability of assignment to groups. In order to ensure close balance of the numbers in each group at any time during the trial, 30 blocks, with block sizes of four and 1:1 allocation ratio, were randomly generated. Therefore, there were six different ways in which four patients could be assigned equally to the two treatments. One of the six types of block at the time when the first patient was randomized determined the treatments received by the first four patients. The second block was randomly selected when patient 5 was registered in order to create allocations for patients 5–8, and thus successively (ALTMAN, 1999; VICKERS, 2006; www.randomization.com). The details of the series were unknown to any of the investigators or to the research coordinator. Each woman collected her “packets” directly from a central office. The packages of supplements were given for women in the first home visit (30 packets) and the second visit (more than 30 packets).

All study personnel and participants were blinded to treatment assignment for the duration of the study. The codes were only revealed once the data analyses were complete. To assess the efficacy of women blinding, the participants were asked whether they thought they had been assigned to the placebo or the soy group at the end of intervention.

Home visits were conducted by nutritionist and staff previously trained through the application of standardized assessment tools and measures. To assess the level of physical activity we used a standardized questionnaire and pre-coded, where the instrument was inserted about specific habits of physical activity, adapted from the program *Agita Brasil* (Ministério da Saúde, 2001). During all visits were made questions about medications and supplements as well as assessing the level of physical activity.

Intervention

The powdered beverages were provided by Solae LLC. The soy beverage was made with *SUPRO®SOY* isolated soy protein that has been water washed to retain the naturally occurring isoflavones. The intervention consisted on packet a day of

24.9 g of soy protein, with 56 mg of isoflavones (expressed as aglycone equivalents) containing: 52,5mg of genistein, 27,5mg of daidzein, and 5mg of glycitein (aglycone weights) in 36.5g of powder (Solae, Solae Co, St Louis, Mo) that could be mixed with food or beverages in breakfast. The placebo (36.5g of milk protein isolate, providing 26g of milk protein and no isoflavones) looked and tasted identical to the soy and contained the same nutrients other than isoflavones. Extra vitamins and minerals were added to the supplement for both groups (vitamins A, C, D, B12, folate, riboflavin, calcium, phosphorus, magnesium and iron). One supplement was taken per day in usual breakfast for a total of 8 wk. Took care to remove the dietary habits of each woman, even with food calorie supplements (130 kcal).

The participants were asked not to change their habitual physical activity level for the duration of the study. This was checked by phone with specific questions. To maximize treatment adherence, patients also received information on how to prepare products and their diet followed. They were contacted by a nutritionist every 15 days by phone. Patient compliance was assessed by packet counting during every visit and by answering questions by phone once a week.

Outcomes Assessment

The Socioeconomic and demographic characteristics were collected at the first visit at home using pre-coded questionnaire, standardized (ALVES et al, 2006). For all participants we measured in all visits, in duplicate, blood pressure, height and weight. Adverse events or symptoms were recorded in all visits. Body weight was measured while the subjects were minimally clothed without shoes by using a portable scale with capacity of 150kg and precision of 0.1 kg, brand "Fantasy Sunrise" (Brazil). Blood pressure was measured twice after the participants sat for 15 min (OMRON - HEM 711 ACINT). Twelve-hour fasting blood samples were collected by a qualified professional, as follows: total-cholesterol, (automated enzymatic method, kit Advia 1650, Bayer), triglycerides (an automated kinetic method), HDL-cholesterol (enzymatic method automated Advia Dasa kit (direct method)), LDL - cholesterol (calculated by the Friedewald equation (LDL cholesterol = total

cholesterol - (HDL cholesterol) + triglycerides / 5). Lipoprotein (a) was measured by nephelometry with a Dade Behring, BN, and LDL-peroxide, enzyme immuno test kit LOINC. All outcomes was assessment at baseline, 4wk and 8wk.

Statistical analysis

The three values obtained per subjects per variable were averaged, and this mean value was used in subsequent statistical analysis. Before the statistical testing was done, data were checked for normality and the groups were considered to have normal distribution. Normality was checked by the Shapiro-Wilk test and the simetry of histograms.

We compare groups using net change. Data were analyzed according to a modified intention-to-treat principle, i.e. all subjects who had at least two measurements, including baseline, were included in the analysis. Linear regression analysis was used with baseline-to-third and to second visit changes as the dependent variable and group allocation as the independent variable controlling for baseline values of the total cholesterol. This procedure could result in slight rounding effects in the data. Statistical analysis was performed by using SPSS for Windows version 16.0.

The socioeconomic and demographic characteristics between the intervention and control groups were compared using the "Chi-Square Test. All tests were two-tailed, using the significance level 0.05.

RESULTS

A trial flow diagram for this experiment is provided in Figure 1. Among 96 women initially recruited 25 did not complete the study because following reasons: changing medical status (n=7) and having gastrointestinal complains (constipation, nausea and heartburn) (n=18), 71 women completed the three visits. Women that completed at least two visits (first and second visits) were included, (n=76) using intention-to-treat analysis. The Table 1 shows baseline characteristics. No differences on socioeconomic and demographic characteristics were found between soy protein and control groups. High percentage of women belonging to A and B

social position was observed. It is noteworthy that no statistically significant difference between the average baseline in total cholesterol.

The Table 2 shows the means of anthropometric, blood pressure and biomarker measures for the intervention and the control groups and difference changes between the first versus second visits (4wk) and first versus third visits (8wk). Lipids profiles improved with significant decreases in cholesterol total (-25.7 mg/dl \pm 35.5 (SD) vs -9.8 mg/dl \pm 48.3, $P= 0.038$) in the soy protein group compared to control at 4wk. After 8wk, this level did not show significant differences.

No significant differences were detected for LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, tryglicerides, LDL-peroxide and Lipoprotein (a) at 4wk and 8wk. However, reductions on lipid profiles were observed in total cholesterol (20 mg/dl) e LDL-cholesterol (24 mg/dl) levels in intervention group (soy protein) between first and third visit, whereas the correspondent reductions in control group were lower than 13 mg/dl and 14mg/dl, respectively, in total cholesterol and LDL-cholesterol levels. Overall, both the intervention group and the control group show trend of improvement on lipid profile, except for triglycerides.

No significant differences were observed in all outcomes, except in body weight shows greater reduction between the first and the final visit in intervention group than control group using Intention-to-treat analysis.

Adherence to the intervention was small. After evaluation of the count package of supplements was noticed that the consumption of the product was lower in group soy protein than in the control group. The evaluation the efficacy of the blinding, through specific issues, confirming that blinding had been effective.

DISCUSSION

This study assessed the effect of isolated soy protein containing isoflavones on lipid profile. No effect was found for intake of isolated soy protein for 8wk on serum lipids profile. However, a significantly reduction on total cholesterol after 4 wk of isolated soy protein consumption when compared with total milk protein was observed.

Although studies have reported improvement on lipids profile (ALLEN et al, 2007; DALAIS et al, 2003) after soy intake, others did not demonstrate any effect on

plasma lipids (DENT et al, 2001; KREIJKAMP-KASPRES et al, 2004; CAMPBELL et al, 2009). It should be pointed out that stronger positive effects were reported mainly by studies with a shorter duration of intervention. This is consistent with our results. In addition, Allen et al (2007) also reported a significant reduction in total-cholesterol and LDL-cholesterol after 6 wk of intervention.

The relation between net changes and duration of intervention is unclear. The extent of the lipid-lowering effect decreased as the duration of the intervention increased. It may imply a physiologic adaptation mechanism to more prolonged supplementation. It could also be related to “diet fatigue” and thus less attention paid to the diet or lower product adherence in prolonged periods of intervention (ZHAN; HO, 2005). Recent data indicate that one year soy protein supplementation does not confer cardiovascular benefits in women in terms of improving lipid profile (CAMPBELL et al, 2009; KREIJKAMP-KASPERS et al, 2004).

The Anderson et al meta-analysis (ANDERSON et al, 1995) showed that an average intake of 47g per day of soy protein was associated with 9.3% reduction in serum concentrations of total cholesterol and 12.9% in LDL-cholesterol. Other meta-analysis of the effects of soy protein containing 80 mg per day of isoflavones on lipid profile show that the soy protein containing isoflavones significantly reduced serum total cholesterol in 3,8% and LDL-cholesterol in 5,2% (ZHAN; HO et al, 2005). Our study the intervention group, 25g/d of isolated soy protein contained 56 mg of isoflavones showed significantly reductions of 9.6 % in total cholesterol after 4 wk, and non significantly reductions of 7.5%, after 8 wk.

Despite the difference in the change of concentration of LDL-cholesterol was not statistically significant, it showed a tendency toward significance. This reduction has clinical relevance, for if the number of participants was higher, increase the power of the sample, and this difference could also be statistically significant.

It has been pointed on the literature that the magnitude of the effect of soy protein on lipoprotein profiles is variable and less dramatic than originally reported (DEWELL et al, 2006; SACKS et al, 2006). The soy hypothesis for lipid lowering and cardiovascular disease risk reduction has focused mainly on the isoflavone content of soy, but uncertainty still exists regarding the bioactive component responsible for the physiologic response to soy. The use of different products in clinical trials and different study designs has contributed to much of the variability in study results (STEINBERG, 2007).

Daily isoflavone intake in our study from soy was 56 mg, a dose which is smaller than what is used in most studies, for example Gardner's study, which showed an inverse relationship between isoflavone intake and blood lipids, used 80 mg of isoflavones per day (GARDNER et al, 2001).

Discrepancy among findings may be due to the presence or absence of specific components associated with the soy protein preparations or unaccounted shifts in the fatty acid, cholesterol, or fiber content of the diets used in earlier studies (MATHAN et al, 2007). We could also hypothesize that results affected for equol production, one of isoflavone daidzein metabolites. In humans the production is dependent on the individual's intestinal flora, and research shows that only about one third of people will produce equol when exposed to high amounts of daidzein. Not all humans can form equol. The "equol-producer" status of the volunteers and the influence of other foods eaten during the study can determine whether a significant biological or clinical effect is observed, or not (CASSIDY et al, 2006; WEST et al, 2007; MATHAN et al, 2007).

Among the 96 women recruited, 18 gave up to participate after the 4 wk. They reported having gastrointestinal complaints (constipation, nausea and heartburn). Also, we can not be assured that those women who remained in the study up to third visit took correctly the packets of supplement as they reported. Women compliance was assessed by packet counting during every visit and answering questions by phone once a week. The ideal way to assess compliance would be measuring changes in levels of urinary isoflavonoids of genistein and daidzein baseline throughout visits.

Also, we should point out the relative unattractive intervention, especially considering this is an unusual eating habit of western women, that is to consume soy powdered beverages. The usual consumption of phytoestrogens by western populations is very low, less than 5mg/d (BOKER et al, 2002; de KLEIJN et al, 2001; STROM et al, 1999) as compared to its consumption by Asian population, 40mg/d (CHEN et al, 1999). In our intervention, women had to ingest 25 g of isolated soy protein per day.. Consequently, despite women's reporting and packs collected, we believe that compliance may have been reduced after 4 wk of intervention,

Our study also failed to find an effect of soy consumption on blood pressure. This is consistent with most of published studies (VIGNA et al, 2000; TEED et al, 2001; PUSKA et al, 2002; JENKINS et al, 2002; KREIJKAMP-KASPERS et al, 2004).

Clinical trials that examined the effect of an increased intake of dietary protein on blood pressure produced conflicting results (WASHBURN et al, 1999; BURKE et al, 2001). Studies that tested the effect of soy protein, as compared with casein or milk protein, did not report a significant decrease on blood pressure levels (VIGNA et al, 2000; CUEVAS et al, 2003).

Finally, some methodological considerations should be addressed. First, the Hawthorne effect can not be excluded in better results of the 4 wk intervention. It is noteworthy that all reductions were higher in intervention groups for all outcomes, except not difference in HDL-cholesterol levels. Second, even though women were asked to remove a food item with the same valor calorico of the products from their diets, weigh reduction of women in soy protein group was an unexpected findind. That may be due to the presence o research team and knowledge acquired during the research period (SANTOS; VICTORA, 2004). And third, the use of a high amount of protein a single time during breakfast may have influenced product's acceptance. Another limitation is that we did not assess the quality of participants' diet. Diet composition may have affected our results.

In summary, the effect of soy protein on cardiovascular risk factors still were not straightforward, especially for women from "western" lifestyle. Further studies are still needed to better understand the effect in women.

Acknowledgements

We thank the participants for their enthusiastic support; Special thanks to Vania Hirakata for the statistical support. We would also like to thank the Universidade do Vale do Rio dos Sinos and the Faculdade Fátima for logistical support.

CCP was the study coordinator, worked in all phases of the study and wrote the manuscript; MTAO and MPP participated in the study design and reviewed the manuscript.

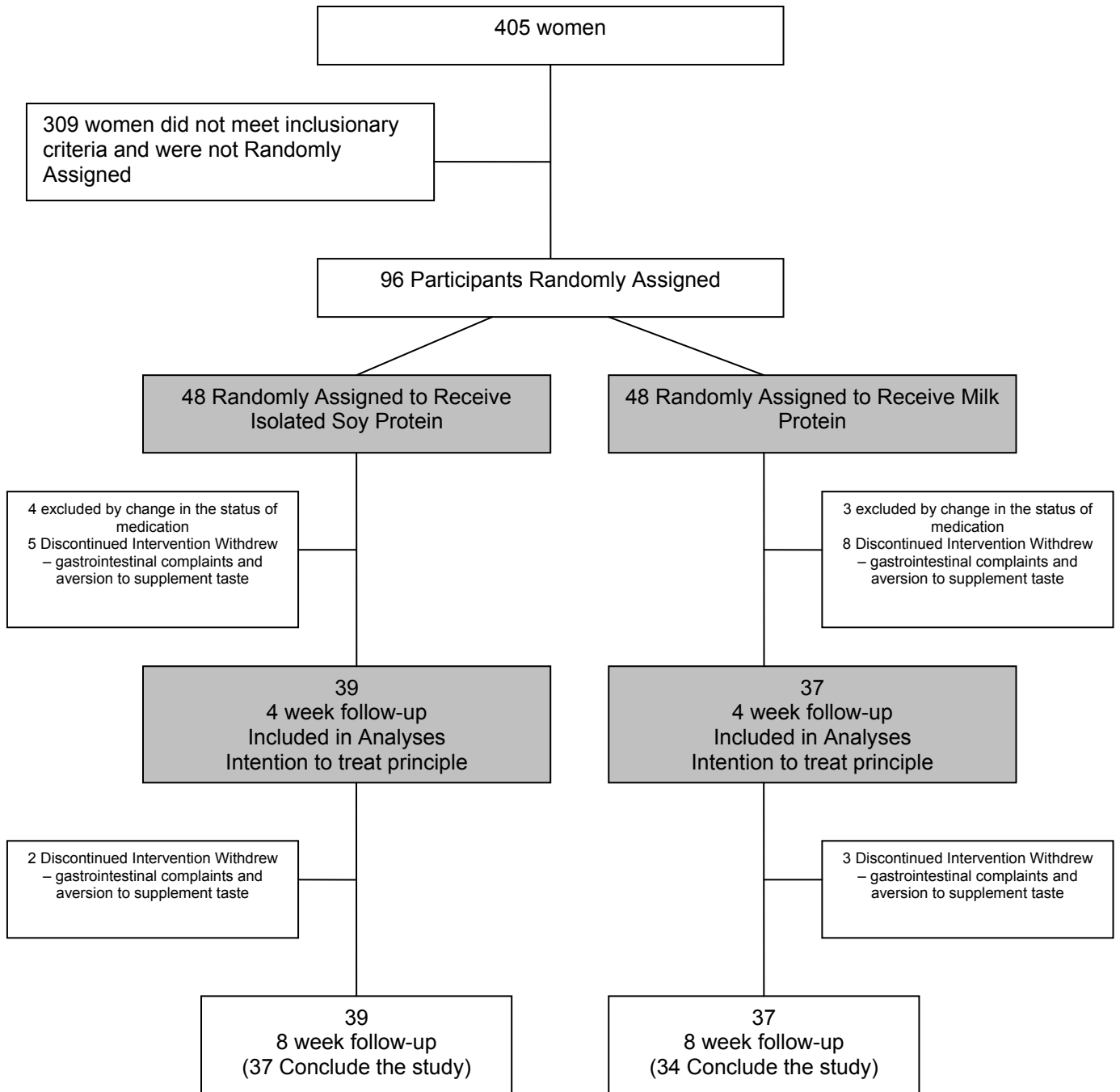


Figure 1. Flow diagram of the Trial

Table 1. Comparison of baseline characteristics between the intervention and the control group (n =76)

	Soy Protein n(%)	Control n(%)	p valor
Sociodemographic*			
Age, (y)			
< 50	18, (46,2)	15 (40,5)	
≥ 50	21 (53,8)	22 (59,5)	0,65
Marital Status			
Married	21 (53,8)	22 (59,5)	
Not married	18 (46,2)	15 (40,5)	0,65
Skin color			
White	30 (76,9)	33 (89,2)	
Black/mixed	9 (23,1)	4 (10,8)	0,22
Education (years of schooling)			
0-9	14 (35,9)	11 (29,7)	
10-13	11 (28,2)	13 (35,1)	
≥ 14	14 (35,9)	13 (35,1)	0,77
Working status			
Working	23 (59,0)	19 (51,4)	
Not working	16 (41,0)	18 (48,6)	0,64
Social Position			
A and B (richer)	24 (63,2)	29 (78,4)	
C	10 (26,3)	7 (18,9)	
D and E (poorer)	4 (10,5)	1 (2,7)	0,19
Income for month (<i>per capita</i>)			
1 -1,4	11 (28,2)	8 (21,6)	
1,41 -2,34	12 (30,8)	6 (16,2)	
2,35 -4,14	10 (25,6)	10 (27,0)	
4,15 +	6 (15,4)	13 (35,1)	0,18
	Soy Protein Mean/SD	Control Mean/SD	p valor
Lipid Profile**			
Total Cholesterol ^a	266,62 ± 49,31	248,08 ± 40,96	0,03
HDL-cholesterol ^a	52,18 ± 10,20	52,95 ± 11,82	0,44
LDL-cholesterol ^a	186,23 ± 41,26	166,76 ± 39,56	0,29
Tryglicerides ^a	153,36 ± 75,66	135,83 ± 56,17	0,98
LDL-peroxide ^b	0,2278 ± 0,08	0,2556 ± 0,08	0,81
Lipoprotein(a) ^a	42,27 ± 48,38	29,48 ± 30,17	0,38

Table 2. Effect comparison on weight, arterial pressure and serum lipids between intervention and the control groups on 4wk and 8wk (n =76)

	Intention to Treat		p valor
	Soy Protein (n=39)	Control (n = 37)	
Weight (kg)			
First visit (baseline)	71,39 ± 11,68	69,63 ± 14,73	
Second visit (4wk)	71,13 ± 11,82	69,88 ± 15,27	
Third visit (8wk)	70,44 ± 11,83	70,27 ± 15,49	
Change (1x2)	-0,26 ± 1,77	0,25 ± 1,34	0,160
Change (1x3)	-0,663 ± 1,86	0,642 ± 2,10	0,005
Systolic Pressure (mmHg)			
First visit (baseline)	135,19 ± 20,11	126,86 ± 10,16	
Second visit (4wk)	129,73 ± 15,59	121,28 ± 12,94	
Third visit (8wk)	125,64 ± 13,78	120,87 ± 12,02	
Change (1x2)	-5,46 ± 14,75	-5,60 ± 11,38	0,965
Change (1x3)	-9,55 ± 15,07	-6,00 ± 10,36	0,242
Diastolic Pressure (mmHg)			
First visit (baseline)	83,61 ± 12,79	78,59 ± 8,87	
Second visit (4wk)	79,99 ± 11,04	77,15 ± 8,73	
Third visit (8wk)	79,32 ± 9,78	76,67 ± 7,99	
Change (1x2)	-2,63 ± 8,52	-1,44 ± 8,55	0,550
Change (1x3)	-3,29 ± 8,48	-1,93 ± 7,02	0,453
Total Cholesterol^a			
First visit (baseline)	266,62 ± 49,31	248,08 ± 40,96	
Second visit (4wk)	240,95 ± 33,23	238,30 ± 41,21	
Third visit (8wk)	246,61 ± 38,93	235,03 ± 48,34	
Change (1x2)	-25,67 ± 35,45	-9,78 ± 29,78	0,038
Change (1x3)	-20,0 ± 34,86	-13,0 ± 24,11	0,318
HDL-cholesterol^a			
First visit (baseline)	52,18 ± 10,20	52,95 ± 11,82	
Second visit (4wk)	49,38 ± 10,69	50,73 ± 12,16	
Third visit (8wk)	55,05 ± 11,94	54,67 ± 10,63	
Change (1x2)	-2,79 ± 9,51	-2,2 ± 8,8	0,784
Change (1x3)	2,87 ± 8,57	1,73 ± 8,28	0,557
LDL-cholesterol^a			
First visit (baseline)	186,23 ± 41,26	166,76 ± 39,56	
Second visit (4wk)	161,28 ± 30,49	156,43 ± 36,75	
Third visit (8wk)	162,46 ± 34,55	152,94 ± 44,01	
Change (1x2)	-24,95 ± 31,16	-10,32 ± 35,31	0,059
Change (1x3)	-23,76 ± 32,92	-13,81 ± 26,58	0,152
Tryglicerides^a			
First visit (baseline)	153,36 ± 75,66	135,83 ± 56,17	
Second visit (4wk)	138,03 ± 67,44	116,75 ± 43,52	
Third visit (8wk)	159,10 ± 99,01	129,94 ± 54,63	
Change (1x2)	-15,33 ± 53,12	-19,08 ± 43,37	0,740
Change (1x3)	5,74 ± 65,29	-5,89 ± 52,50	0,400
LDL peroxide^b			
First visit (baseline)	0,2278 ± 0,08	0,2556 ± 0,08	
Second visit (4wk)	0,2417 ± 0,07	0,24 ± 0,077	
Third visit (8wk)	0,1944 ± 0,083	0,1889 ± 0,067	
Change (1x2)	0,0139 ± 0,1197	-0,0143 ± 0,1192	0,324
Change (1x3)	-0,0333 ± 0,1042	-0,0667 ± 0,8944	0,150
Lipoprotein (a)^a			
First visit (baseline)	42,27 ± 48,38	29,48 ± 30,17	
Second visit (4wk)	42,72 ± 52,73	28,79 ± 29,46	
Third visit (8wk)	40,18 ± 47,00	27,17 ± 26,96	
Change (1x2)	0,44 ± 9,20	-0,69 ± 4,66	0,312
Change (1x3)	-2,09 ± 8,53	-2,03 ± 8,91	0,917

^a mg/dL; ^b nmol/mg of apoprotein

REFERENCES

Allen JK, Becker DM, Kwiterovich PO, Lindenstruth KA, Curtis C. Effect of soy proteinYcontaining isoflavones on lipoproteins in postmenopausal women. *Menopause: The Journal of The North American Menopause Society*. 2007; 14(1): 106-114.

Altman DG. How to randomize. *BMJ* 1999; 319(7211): 703–704.

Alves ALS, Olinto, MTA, Costa JSD, Bairros FS, Balbinotti, MAA. Padrões alimentares de mulheres adultas residentes em área urbana no sul do Brasil. *Rev. Saúde Pública* . 2006, 40(5): 865-873.

Anderson JW, Johnstone BM, Cook-Newell ME. Metaanalysis of the effects of soybean protein intake on serum lipids. *N Engl J Med* 1995; 333:276-282.

Boker LK, van der Schow YT, de Klein MJ, Jacques PF, Grobbee DE, Peeters PH. Intake of ietary phytoestrogens by Dutch women. *J Nutr*. 2002; 132:1319-1328.

Burke V, Hodgson JM, Beilin LJ, Giangiulioi N, Rogers P, Puddey IB. Dietary Protein and Soluble Fiber Reduce Ambulatory Blood Pressure in Treated Hypertensives. *Hypertension*. 2001;38:821-826.

Campbell SC, Khalil DA, Payton ME, Arjmandi BH. One year soy protein supplementation does not improve lipid profile in postmenopausal women *FASEB J*. 23: 722.6, 2009

Cassidy A, Brown JE, Hawdon A, Faughnan MS, King LJ, Millward J, Zimmer-Nechemias L, Wolfe B, and Setchell KDR. Factors Affecting the Bioavailability of Soy Isoflavones in Humans after Ingestion of Physiologically Relevant Levels from Different Soy Foods. *J. Nutr*. 2006; 136:45-51.

Chen Z, Sheng W, Custer LJ et al. Usual dietary consumption of soy foods and its correlation with the excretion rate os isoflavonoids in overnight urine samples among Chines women in Shanghai. *Nut Cancer*. 1999; 33:82-87.

Cuevas AM, Iribarra VL, Castillo OA, Yañez MD Germain AM. Isolated soy protein improves endothelial function in postmenopausal hypercholesterolemic women. *European Journal of Clinical Nutrition* 2003;57: 889–894.

Dalais FS, Ebeling PR, Kotsopoulos D, McGrath BP, Teede HJ. The effects of soy protein containing isoflavones on lipids and indices of bone resorption in postmenopausal women. *Clinical Endocrinology*. 2003;58 (Issue 6): 704 – 709.

Dent SB, Peterson CT, Brace LD, Swain JH, Reddy MB, Hanson KB, Robinson JG, Alekel DL. Soy protein intake by perimenopausal women does not affect circulation lipids and lipoproteins or coagulation and fibrinolytic factors. *J Nutr*. 2001; 131:2280-2287.

Dewell A, Hollenbeck PLW, Hollenbeck CB. Clinical review: a critical evaluation of the role of soy protein and isoflavone supplementation in the control of plasma cholesterol concentrations. *J Endocrinol Metab* 2006;91:772– 80.

Engelman HM, Alekel DL, Hanson LN, Kanthasamy AG, Reddy MB. Blood lipid and oxidative stress responses to soy protein with isoflavones and phytic acid in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 2005;81: 590–6.

FDA. Fed. Reg. 57700 (Oct. 26, 1999). *Authorization of the health claim and its eligibility criteria are codified at 21 C.F.R. § 101.82.*

FDA. Federal Register. December 21, 2007 72(245). Disponível em: <http://www.fda.gov/OHRMS/DOCKETS/98fr/E7-24813.pdf>

Food and Drug Administration (FDA). FDA approves new health claim for soybean protein and coronary heart disease. FDA Talk Paper 1999, Disponível em: www.fda.gov

Gardner CD, Newwell KA, Cherin R, Haskell WL. The effects of soy protein with or without isoflavones relative to milk protein on plasma lipids in hypercholesterolemic postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 2001;73:728-735.

Ho SC, Woo J, Leung SS, Sham AL, Lam TH, Janus ED. Intake of soy products is associated with better plasma lipid profiles in the Hong Kong Chinese population. *J Nutr* 2000;130:2590 –3.

Jenkins DJ, Kendall CW, Jackson CJ, et al. Effects of high- and low isoflavone soyfoods on blood lipids, oxidized LDL, homocysteine, and blood pressure in hyperlipidemic men and women. *Am J Clin Nutr*. 2002;76:365–72.

Kleijn MJJ, van der Schouw IT, Wilson PWF, Adlercreutz H, Mazur W, Grobbee DE, Jacques PF. Intake of Dietary Phytoestrogens Is Low in Postmenopausal Women in the United States: The Framingham Study. *Journal of Nutrition*. 2001;131:1826-1832.

Kreijkamp-Kaspers S, Kok L, Grobbee DE, de Haan EH, Aleman A, Lampe JW, van der Schouw YT. Effect of soy protein containing isoflavones on cognitive function, bone mineral density, and plasma lipids in postmenopausal women: a randomized controlled trial. *J Am Med Assoc*. 2004;292:65-74.

Lichtenstein AH, Jalbert SM, Adlercreutz H, Goldin BR, Rasmussen H, Schaefer EJ, Ausman LM. Lipoprotein response to diets high in soy or animal protein with and without isoflavones in moderately hypercholesterolemic subjects. [see comment]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002; 22:1852-1858.

Matthan NR, Jalbert SM, Ausman LM, Kuvin JT, Karas RH, Lichtenstein AH. Effect of soy protein from differently processed products on cardiovascular disease risk factors and vascular endothelial function in hypercholesterolemic subjects. *Am J Clin Nutr* 2007;85:960-6.

Merz-Demlow BE, Duncan AM, Wangen KE, et al. Soy isoflavones improve plasma lipids in normocholesterolemic premenopausal women. *Am J Clin Nutr* 2000;71:1462-9.

Messina MJ. In *The Simple Soybean and Your Health*. Avery Publishing Group, New Nagata C, Takatsuka N, Kurisu Y, Shimizu H. Decreased serum total cholesterol concentration is associated with high intake of soy products in Japanese men and women. *J Nutr* 1998;128:209-13.

Ministério da Saúde. *Agita Brasil: guia para agentes multiplicadores*. Brasília: Ministério da Saúde; 2001.

Puska P, Korpelainen V, Hoie LH, Skovlund E, Lahti T, Smerud KT. Soy in hypercholesterolaemia: a double-blind, placebo-controlled trial. *Eur J Clin Nutr*. 2002;56:352-357.

Random allocation sequence was generated. Disponível em: <http://www.randomization.com>.

Roughead ZK, Hunt JR, Johnson L, 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;90:181-9.

Sacks FM, Lichtenstein AH, Van Horn L, et al. Soy protein, isoflavones, and cardiovascular health: an American Heart Association Science Advisory for Professionals From the Nutrition Committee. *Circulation* 2006;113:1034–44.

Santos IS, Victora CG. Serviços de saúde: epidemiologia, pesquisa e avaliação. *Cad. Saúde Pública*. 2004;20 suppl.2: S337-S341.

Steinberg FM, Guthrie NL, Villablanca AC, Kumar K, Murray MJ. Soy protein with isoflavones has favorable effects on endothelial function that are independent of lipid and antioxidant effects in healthy postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 2003;78:123–30.

Steinberg FM. Soybeans or soymilk: does it make a difference for cardiovascular protection? Does it even matter?. *Am J Clin Nutr* 2007;85:927-8.

Teede HJ, Dalais FS, Kotsopoulos D, Liang YL, Davis S, McGrath BP. Dietary soy has both beneficial and potentially adverse cardiovascular effects: a placebo-controlled study in men and postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:3053– 60.

Teixeira SR, Potter SM, Weigel R, Hannum S, Erdman JW Jr, Hasler CM. Effects of feeding 4 levels of soy protein for 3 and 6 wk on blood lipids and apolipoproteins in moderately hypercholesterolemic men. *Am J Clin Nutr* 2000;71:1077– 84.

Tonstad S, Smerud K, Hoie L. A comparison of the effects of 2 doses of soy protein or casein on serum lipids, serum lipoproteins, and plasma total homocysteine in hypercholesterolemic subjects. *Am J Clin Nutr*. 2002; 76:78–84.

Van Horn L, Liu K, Gerber J, et al. Oats and soy in lipid-lowering diets for women with hypercholesterolemia: is there synergy? *J Am Diet Assoc* 2001;101:1319 –25.

Vickers AJ. How to randomize. *J Soc Integr Oncol*. 2006; 4(4): 194–198.

Vigna GB, Pansini F, Bonaccorsi G, Albertazzi P, Donega P, Zanotti L, De Aloysio D, Mollica G, Fellin R. Plasma lipoproteins in soy-treated postmenopausal women: a double-blind, placebo-controlled trial. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2000;10:315–322.

Wangen KE, Duncan AM, Xu X, Kurzer MS. Soy isoflavones improve plasma lipids in normocholesterolemic and mildly hypercholesterolemic postmenopausal women. *Am J Clin Nutr*. 2001;73:225–231.

Washburn S, Burke GL, Morgan T, Anthony M. Effect of Soy Protein Supplementation on Serum Lipoproteins, Blood Pressure, and Menopausal Symptoms in Perimenopausal Women. *Menopause*. 1999; 6(1):7-13.

Weggemans RM, Trautwein EA. Relation between soy-associated isoflavones and LDL and HDL cholesterol concentrations in humans: a meta-analysis. *Eur J Clin Nutr* 2003;57:940–6.

West SG, Hilpery KF, Juturu V, Bordi PL, Lampe JW, Mousa SA, Kris-Etherton PM. Effects of including soy protein in a blood cholesterol lowering diet on markers of cardiac risk in men, and postmenopausal women with or without hormone replacement therapy. *J Womens Health*. 2005;14:253–262.

Zhan S, Ho SC. Meta-analysis of the effects of soy protein containing isoflavones on the lipid profile. *Am J Clin Nutr*, 2005; 81, 397-408.

Zhuo XG, Melby MK, Watanabe S. Soy isoflavone intake lowers serum LDL cholesterol: a meta-analysis of 8 randomized controlled trials in humans. *J Nutr*, 2004; 134, 2395-400.

EFEITOS DO CONSUMO DE PROTEÍNA DE SOJA ISOLADA SOBRE NÍVEIS DE
LIPÍDIOS SÉRICOS EM MULHERES

THE EFFECTS OF SOY PROTEIN ON WOMEN'S LIPIDE PROFILE

Running title:

PTN DE SOJA E LIPÍDIOS SÉRICOS

SOY PROTEIN AND LIPID PROFILE

Clarice Cardozo da Costa Pediger¹, Maria Teresa Anselmo Olinto², Marcos Pascoal
Pattussi²

¹ Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), R. Souza Costa, 636/28, B. Protásio Alves, Porto Alegre, RS, Brasil, CEP 91450140, e-mail: c.cc@terra.com.br, Fone: (51) 3276-2621. ² Maria Teresa A. Olinto e Marcos Pascoal Pattussi: Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva, Universidade do Vale do Rio dos Sinos (UNISINOS), Av. Unisinos 950, CEP 93022-000, São Leopoldo, RS, Brasil. Fone: (51) 3591-1231. Fax: (51) 5908479.

RESUMO

Objetivo: Avaliar o efeito do consumo de proteína de soja isolada sobre fatores de risco para Doença Cardiovascular em mulheres adultas.

Métodos: Foi conduzido ensaio clínico randomizado, placebo controlado, triplo cego, paralelo com oito semanas de intervenção. Noventa e seis mulheres com idade entre 36 a 68 anos, as quais apresentavam níveis séricos de colesterol total ≥ 200 mg/dL, foram randomizadas para o grupo intervenção (proteína de soja isolada) ou grupo controle (proteína total do leite). Dados antropométricos, níveis de pressão arterial e exames bioquímicos foram coletados em visitas domiciliares no início do estudo, após quatro semanas e ao final do estudo, o qual teve duração de oito semanas.

Resultados: A redução observada nos níveis séricos de colesterol total ($-25,7$ mg/dL $\pm 35,5$, $P=0,038$) do grupo intervenção apresentaram significância estatística quando comparadas com as reduções ocorridas no grupo controle ($-9,8$ mg/dL $\pm 48,3$), nas primeiras quatro semanas de intervenção. Após oito semanas este valor não apresentou alterações significativas. Para outras variáveis, como LDL-colesterol, HDL-colesterol, triglicerídios, LDL-peroxidada e Lipoproteína(a) não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos.

Conclusão: Concluimos que o consumo de proteína de soja isolada é mais efetivo do que a proteína total do leite, após quatro semanas, melhorando os níveis séricos de colesterol total em mulheres adultas.

Palavras chave: proteína de soja, mulheres, colesterol

INTRODUÇÃO

Considerável interesse tem sido focado no papel do consumo de proteína de soja isolada sobre fatores de risco para Doença Cardiovascular (DCV), principalmente na possível melhora dos níveis plasmáticos de lipoproteínas. A clássica metanálise de Anderson e colaboradores (1995) mostraram que o consumo de proteína de soja possui efeitos positivos sobre os níveis de lipídios séricos. Em 1999, o FDA (Food and Drug Administration) aprovou documento estabelecendo que 25g/dia de proteína de soja incluída em uma dieta com baixo teor de gordura saturada e colesterol pode reduzir o risco de Doenças Cardiovasculares (FDA, 1999).

Posteriormente, alguns estudos (HO et al, 2000; NAGATA et al, 1998; MERZ-DEMLOW et al, 2000; GARDNER et al, 2001; WANGEN et al, 2001) e metanálises (ZHUO et al, 2004; ZHAN; HO, 2005) apresentaram dados de que o consumo de proteína de soja reduz significativamente as concentrações de colesterol quando comparadas com dietas contendo proteína animal.

Sabe-se que, os produtos à base de proteína de soja contêm moléculas bioativas chamadas fitoestrógenos ou isoflavonas. Durante a preparação da proteína isolada de soja, a soja é lavada com álcool, removendo uma quantidade substancial de isoflavonas. Isto conduz à idéia de que a presença e a quantidade de isoflavonas podem explicar os divergentes resultados entre os estudos, pois apenas aqueles que utilizaram preparações com alta quantidade de isoflavonas, produziram resultados favoráveis (SACKS et al, 2006)

Entretanto, subsequentes estudos relacionando proteína de soja e fatores de risco para DCV não confirmaram a hipótese sugerida. Achados mostram uma pequena ou nenhuma redução nos níveis plasmáticos de colesterol, tanto em sujeitos normo- como hipercolesterolêmicos (TEIXEIRA et al, 2000; VIGNA et al, 2000; VAN HORN et al, 2001; LICHTENSTEIN et al, 2002; PUSKA et al, 2002; TONSTAD et al, 2002; STEINBERG et al, 2003; KREIJKAMP-KASPERS et al, 2004; ENGELMAN et al, 2005; ROUGHEAD et al, 2005; DEWEL et al, 2006).

A metanálise de Zhan e Ho (2005) mostra maior redução nos níveis de colesterol total e LDL - colesterol em homens do que em mulheres, sugerindo que o efeito do consumo de proteína de soja pode variar de acordo com o gênero. Além disso, estudo de revisão mostra que o consumo de proteína de soja quando

comparada a outras proteínas possui efeito positivo sobre os níveis de LDL - colesterol, porém os efeitos sobre outros fatores de risco para DCV ainda são controversos (SACKS et al, 2006). Sabendo disso, o FDA anunciou em 2007 a intenção de reavaliar a evidência científica apresentada anteriormente sobre os efeitos do consumo de proteína de soja e a relação com a DCV (FDA, 2007).

O objetivo deste estudo é avaliar o efeito do consumo de proteína de soja isolada contendo isoflavonas sobre os níveis de lipídios séricos em mulheres adultas.

SUJEITOS E MÉTODOS

Sujeitos

Mulheres hipercolesterolêmicas (colesterol total ≥ 200 mg/dL) com idade ≥ 35 anos, foram recrutadas em duas cidades no Sul do Brasil (Porto Alegre e Caxias do Sul/RS). As voluntárias interessadas responderam ao questionário de seleção, contendo critérios de inclusão e exclusão, por telefone. Foram incluídas somente as mulheres que não possuíam história de DCV de doenças inflamatórias ou de *diabete mellitus*; não consumiam medicamentos que afetam o metabolismo lipídico, incluindo estatinas, anti-hipertensivos, antidepressivos e que reduzam o peso; não utilizassem suplementos; não realizassem terapia de reposição hormonal durante os seis meses anteriores; não realizassem dieta de emagrecimento; não consumissem alimentos ricos em soja ou isoflavonas; não realizassem atividade física mais de 2x/semama; não estivessem grávidas ou amamentando; não possuíssem alergia a soja ou intolerância à lactose. Todas as voluntárias assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do HCPA- UFRGS (Porto Alegre Hospital de Clínicas) e da Universidade do Vale do Rio dos Sinos -UNISINOS.

Métodos

Foi conduzido ensaio clínico randomizado, placebo controlado, triplo cego, paralelo. A intervenção durou oito semanas e neste período as mulheres receberam visitas domiciliares durante três momentos: início do estudo (baseline), na quarta

semana e ao final do estudo (oitava semana). A amostra foi calculada assumindo-se uma redução de 10% nos níveis de LDL-colesterol para o grupo intervenção e 5% para o grupo controle, com poder de 80% e erro $\alpha = 0,0125$. Sendo assim, seriam necessárias 50 mulheres para cada grupo.

As mulheres tiveram igual probabilidade de participar dos grupos. A fim de garantir o equilíbrio entre o número de sujeitos em cada grupo, a qualquer momento durante a duração do estudo, foram gerados aleatoriamente 30 blocos, com tamanhos de blocos de quatro e 1:1. Portanto, havia seis maneiras diferentes em que os quatro sujeitos poderiam ser atribuídos igualmente para os dois tratamentos. Um dos seis tipos de bloco, no momento em que o primeiro sujeito foi randomizado determinou o tratamento recebido pelos primeiros quatro sujeitos.

O segundo bloco foi aleatoriamente selecionado quando o sujeito 5 foi registrado, a fim de criar atribuições para os sujeitos 5-8, e assim sucessivamente (ALTMAN, 1999; VICKERS, 2006; www.randomization.com). Os detalhes da série eram desconhecidos para qualquer um dos investigadores ou para o coordenador da pesquisa. Cada mulher recebia os pacotinhos com os produtos diretamente de um escritório central. Todos os envolvidos no estudo, pesquisadores e participantes foram cegados. Os códigos só foram revelados após a análise dos dados estar completa. Para avaliar a eficácia de cegamento dos sujeitos, ao final da intervenção os participantes foram questionados sobre a que grupo achavam que haviam pertencido.

Foram realizadas visitas domiciliares por nutricionista e equipe previamente treinadas para aplicação de instrumentos e padronização de medidas. Para avaliação do nível de atividade física foi utilizado questionário padronizado e pré-codificado, onde foi inserido o instrumento específico sobre os hábitos de atividade física, adaptado do programa Agita Brasil (Ministério da Saúde, 2001). Durante todas as visitas foram realizadas questões sobre os medicamentos e suplementos, bem como avaliação do nível de atividade física.

Intervenção

O grupo intervenção recebeu pacotes diários contendo 24,9 g de proteína de soja isolada com 56 mg de isoflavonas (equivalentes de agliconas) das quais: 52,5mg de genisteína, 27,5mg de daidzeína e 5mg de gliciteína em 36,5g de pó

(Solae, Solae Co, St Louis, Mo) as quais deveriam ser misturadas ao café da manhã atual. O produto a base de soja utilizado foi SUPRO®SOY proteína de soja isolada.

O grupo controle foi constituído de 36,5g de pó contendo 26g de proteína do leite sem isoflavonas. Ambos produtos foram fornecidos pela empresa Solae LLC. Os grupos apresentavam aparência e sabor idêntico e continham os mesmos nutrientes (exceto as isoflavonas). Vitaminas e minerais foram adicionadas a ambos os grupos (vitaminas A, C, D, B12, folato, riboflavina, cálcio, fósforo, magnésio e ferro). As mulheres consumiram um destes suplementos no café da manhã durante oito semanas.

As participantes foram orientadas a não mudar seus hábitos alimentares nem seu nível de atividade física durante o estudo. Isto foi verificado durante as visitas e por telefone com questões específicas. Para maximizar a adesão ao tratamento, as pacientes receberam orientações de como preparar o produto e facilitar o consumo. Além disso, receberam acompanhamento de uma nutricionista no período entre visitas, por telefone. A adesão foi avaliada através da contagem de pacotinhos durante as visitas e respondendo questões semanais por telefone.

Dados Antropométricos, Pressão Arterial e Exames Bioquímicos

Os dados socioeconômicos e demográficos foram coletados na primeira visita domiciliar, utilizando-se questionário padronizado, pré-codificado (ALEVES et al, 2006). Em todas as visitas domiciliares, foram avaliadas medidas duplicadas da pressão arterial, de peso e de altura, bem como realizadas questões sobre efeitos adversos. Exames bioquímicos também foram coletados, nas mesmas visitas domiciliares, em três momentos: início do estudo, após quatro semanas e no final do estudo (oito semanas). O peso foi medido com os sujeitos minimamente vestidos, sem sapatos utilizando-se a balança portátil (Fantazy Sunrise (Brazil) com capacidade de até 150Kg e precisão de 0,1Kg. A pressão arterial foi medida duas vezes após os participantes estarem sentados por 15 min (OMRON - HEM 711 ACINT).

Amostras de sangue foram coletadas, por profissionais habilitados, em todas as visitas domiciliares, após todas as mulheres terem realizado jejum de 12h e analisados em laboratório,, da seguinte forma: colesterol total (método enzimático automatizado, *kit* Advia 1650, Bayer, Alemanha), triglicerídeos (método cinético

enzimático automatizado), HDL-colesterol (método enzimático automatizado, *kit* Advia Dasa (método direto, fabricação IN-HOUSE)), LDL-colesterol (calculado pela equação de Friedewald ($\text{LDL-colesterol} = \text{colesterol total} - (\text{HDL-colesterol}) + \text{triglicerídeos} / 5$). A Lipoproteína (a) foi dosada por nefelometria, com Kit Dade Behring, BN, e LDL-peroxidada, enzima imuno ensaio, kit LOINC.

Análise Estatística

Os três valores de cada variável foram obtidos através de médias, e este valor médio foi utilizado na análise estatística posterior. Antes do teste estatístico foi realizado o teste de Shapiro-Wilk para verificar a normalidade e histogramas para avaliar a simetria. Os grupos foram considerados como tendo distribuição normal. Os dados foram analisados de acordo com intenção de tratar, destacando que foram incluídos na análise todos os indivíduos que tiveram pelo menos duas medidas, incluindo a visita inicial. Análise de regressão linear foi realizada, controlando os valores basais, pelo programa SPSS para Windows versão 16.0. As características socioeconômicas e demográficas foram comparadas entre os grupos utilizando o teste qui-quadrado. Para todos os testes foi considerado nível de significância 0,005.

RESULTADOS

A Figura 1 apresenta o fluxograma dos participantes durante este estudo de intervenção. Das 96 mulheres que foram inicialmente selecionadas, 71 concluíram o estudo. 25 não concluíram pelas seguintes razões: alteração na utilização de medicamentos (n=7) e alterações gastrointestinais (constipação, náusea e azia) (n=18). Foram incluídas na análise, as mulheres que completaram no mínimo duas visitas (primeira e segunda visita) (n=76).

A tabela 1 mostra as características socioeconômicas e demográficas encontradas no grupo intervenção e controle. Não houve diferenças estatísticas entre as características baseline entre os grupos, exceto para o desfecho colesterol-total. Foi observada maior porcentagem de mulheres que pertencem as classes A e B. A Tabela 2 mostra as médias de redução das medidas antropométricas, pressão

arterial e exames bioquímicos entre os grupos entre a primeira e segunda visita (4 semanas) e entre a primeira e última visita (8 semanas).

A tabela 2 apresenta as médias de dados antropométricos, pressão arterial sistólica e diastólica e exames bioquímicos, entre o grupo intervenção e grupo controle e a comparação da alteração entre os grupos, na quarta e oitava semana. Os resultados mostram que o consumo de proteína de soja após quatro semanas reduziu significativamente as concentrações de colesterol total ($-25,7 \text{ mg / dL} \pm 35,5$ (DP) vs $-9,8 \text{ mg / dL} \pm 48,3$ no grupo controle, $P = 0,038$) ao comparar com o grupo controle. Após oito semanas de intervenção, os resultados não apresentaram diferenças significativas para este desfecho. No entanto, foi observada a redução nos níveis de colesterol total de 20 mg / dL e LDL-colesterol de 24 mg / dL no grupo intervenção (proteína de soja isolada) entre a primeira visita e a terceira, enquanto que a redução correspondente no grupo controle foram inferiores a 13 mg / dL e 14 mg / dL , respectivamente. No geral, tanto o grupo intervenção quanto o grupo controle mostraram tendência na melhora no perfil lipídico, exceto para os níveis de triglicerídios.

Não foram observadas diferenças significativas nos níveis de pressão arterial (sistólica e diastólica), LDL-colesterol, HDL-colesterol, triglicerídeos, LDL-preroxidada e Lipoproteína(a), porém o peso corporal apresentou alteração significativa entre a primeira e a última visita (oito semanas) no grupo de intervenção quando comparado com o controle.

A adesão à intervenção foi pequena. Após a avaliação da contagem de pacotes de suplementos foi observado que o consumo do produto era menor no grupo de proteína de soja do que no grupo controle. A avaliação da eficácia do cegamento, por meio de questões específicas, confirmou o sucesso do cegamento.

DISCUSSÃO

Este estudo avaliou o efeito do consumo de proteína isolada de soja sobre fatores de risco para Doença Cardiovascular (DCV) após 8 semanas de intervenção, em mulheres com idade ≥ 35 anos, com níveis séricos de colesterol total $\geq 200 \text{ mg / dL}$, residentes no Sul do Brasil, Porto Alegre e Caxias do Sul/RS.

Não foram encontrados efeitos significativos sobre os níveis de lipídios séricos após oito semanas de consumo de 25g/dia de proteína de soja isolada contendo isoflavonas. Entretanto, redução significativa de -25,7 md/dL no nível sérico de colesterol foi observada, no grupo intervenção, quando comparada à redução deste mesmo desfecho no grupo controle, após quatro semanas de intervenção.

Embora estudos evidenciem a melhora do perfil lipídico em mulheres após o consumo de proteína de soja isolada (ALLEN et al, 2007; DALAIS et al, 2003), outros não demonstram tais efeitos (DENT et al, 2001; KREIJKAMP-KASPRES et al, 2004; CAMPBELL et al, 2009). Salienta-se que dentre estes estudos, aqueles que realizaram a intervenção em períodos mais curtos apresentaram melhores alterações no perfil de lipídios séricos do que estudos com tempo mais longo.

Semelhante ao nosso estudo, Allen et al (2007) encontraram efeitos positivos significativos para colesterol total e LDL-colesterol após seis semanas de intervenção e após 12 semanas os efeitos foram atenuados para o colesterol total. A relação entre tamanho da alteração e duração da intervenção ainda não é clara.

A extensão do efeito sobre os níveis de lipídios séricos diminuiu quando o tempo de intervenção aumentou. O que poderia estar acontecendo é uma adaptação fisiológica à suplementação por uso prolongado. Este resultado também poderia estar relacionado com a "fadiga" no uso do suplemento e, portanto, menor atenção à dieta ou menor adesão à intervenção (ZHAN; HO, 2005). Dados recentes indicam que um ano de suplementação de proteína de soja não conferem benefícios cardiovasculares em mulheres em termos de melhoria do perfil lipídico (CAMPBELL et al, 2009; KREIJKAMP-KASPERS et al, 2004).

A metanálise de Anderson et al (ANDERSON et al, 1995) mostrou que a ingestão de 47g/dia de proteína de soja está relacionada à redução de colesterol total e LDL-colesterol respectivamente em -9,3% e -12,9%. Outra metanálise relata que o consumo de proteína de soja com 80mg/dia de isoflavonas reduz significativamente o colesterol total em -3,8% e o LDL-colesterol em -5,2% (ZHAN; HO et al, 2005).

Nosso estudo mostra que o consumo de 25g/dia de proteína de soja isolada contendo 52mg de isoflavonas por dia reduz em -9,6% os níveis séricos de colesterol total e em -13,4% o LDL-colesterol após quatro semanas de intervenção,

apresentando reduções não significativas após oito semanas de -7,5% e -12,8%, respectivamente, quando comparadas ao controle.

Apesar da diferença da alteração das concentrações de LDL-colesterol não apresentarem resultados estatisticamente significativos, tais dados apresentaram tendência a significância para este desfecho.

Estudos recentes destacam que a magnitude do efeito do consumo de proteína de soja sobre o perfil de lipoproteínas séricas é variável e menor do que os relatos de estudos iniciais (DEWEL et al, 2006; SACKS et al, 2006). Discordâncias entre os resultados podem ser devido à presença ou ausência de componentes específicos associados à preparação da proteína de soja ou às diferenças dos componentes da dieta dos sujeitos, tais como ácidos graxos, colesterol e fibras (MATHAN et al, 2007).

Além disso, poderíamos supor que os resultados foram afetados pela produção do equol, um dos metabólitos de isoflavona -daidzeína. Em humanos, a produção depende da flora intestinal do indivíduo e pesquisas mostram que apenas cerca de um terço das pessoas produz equol quando expostas a quantidades elevadas de daidzeína. Nem todos os seres humanos podem formar equol. A produção de equol e a influência de outros alimentos consumidos durante o estudo poderiam determinar se o efeito significativo biológico ou clínico é observada ou não (CASSIDY et al, 2006; WEST et al, 2007; MATHAN et al, 2007).

Entre as 96 mulheres recrutadas, 18 desistiram de participar após quatro semanas de intervenção. Estas relataram queixas gastrointestinais (constipação, náuseas e azia). Não podemos ter a certeza se as mulheres que permaneceram até terceira visita relataram adequadamente o consumo do suplemento através da contagem de pacotinhos do mesmo. A adesão foi avaliada pela contagem de pacotinhos em todas as visitas e através de questões realizadas por telefone, uma vez por semana.

Além disso, devemos levar em consideração que o produto de intervenção era pouco atrativo, especialmente por ser a proteína de soja, neste caso, um suplemento em pó, um alimento incomum ao hábito alimentar de mulheres ocidentais. O consumo normal de fitoestrogênios em populações ocidentais é muito baixo, inferior a 5 mg / d (BOKER et al, 2002; De KLEIJ et al, 2001; STROM et al, 1999), diferente do consumo em população asiática, o qual pode ser de 10 a 50

vezes maior, com um consumo estimado em 40 mg/d, por mulheres, em Xangai (CHEN et al, 1999).

Em nosso estudo, as mulheres precisavam consumir 25 g de proteína isolada de soja por dia. Acreditamos que, durante um período de quatro semanas, estas tentaram manter o consumo do suplemento da forma indicada, depois disso a adesão foi menor.

Nosso estudo também avaliou o efeito do consumo de proteína de soja isolada sobre a pressão arterial. Os resultados foram consistentes com a maioria dos achados publicados em estudos que avaliam o efeito do consumo de soja sobre os níveis de pressão arterial (VIGNA et al, 2000; TEED et al, 2001; PUSKA et al, 2002; JENKINS et al, 2002; KREIJKAMP-KASPERS et al, 2004).

Os ensaios clínicos que examinaram o efeito da ingestão desta proteína na dieta sobre os níveis de pressão arterial apresentam ainda resultados conflitantes (WASHBURN et al, 1999; BURKE et al, 2001). Estudos que testaram o efeito da proteína da soja, em comparação com a caseína ou proteína do leite, mostraram que a pressão arterial não diminuiu significativamente (VIGNA et al, 2000; CUEVAS et al, 2003).

Finalmente, destacamos algumas considerações metodológicas. Primeiro, o efeito “Hawthorne” não pode ser excluído, ao salientarmos os melhores resultados nas primeiras quatro semanas de intervenção. Porém, é notável que todas as alterações foram mais positivas nos resultados das variáveis do grupo intervenção do que no grupo controle, exceto para a variável triglicerídios.

Segundo, a redução no peso das mulheres voluntárias nos dois grupos foi um efeito não esperado, mesmo estas recebendo a orientação de retirar da dieta habitual um alimento com o mesmo valor calórico do produto introduzido. Tal alteração pode ser devido à mera presença de uma equipe de coleta de dados e o conhecimento por parte dos provedores de que estão sendo avaliados favorecem a os resultados obtidos, os quais normalmente são superiores aos observados na vida real (SANTOS; VICTORA, 2004).

Terceiro, o consumo de grande quantidade de proteína em uma única dose no café da manhã talvez tenha dificultado a aceitação do produto. A solução poderia ser dividir em duas ou três porções diárias. E por último, outra limitação foi o fato da qualidade da dieta destas mulheres não ter sido avaliada, visto que a composição desta pode influenciar nos resultados.

Em resumo, acreditamos que as conclusões sobre o efeito do consumo de proteína de soja isolada sobre fatores de risco para DCV não são claras. São necessários mais estudos, especialmente em mulheres para melhor compreendermos os efeitos nesta população.

Agradecimento

Agradecemos a todas as mulheres que, voluntariamente participaram deste estudo. Agradecimento especial a Vânia Hiraka pela ajuda na condução da análise estatística. Agradecemos também a Universidade do Vale do Rio dos Sinos e a Faculdade Fátima.

CCP coordenou o estudo, trabalhou em todas as fases (exceto na randomização) e escreveu este manuscrito; MTAO e MPP participaram do desenho do estudo, randomização e contribuíram para a preparação deste manuscrito.

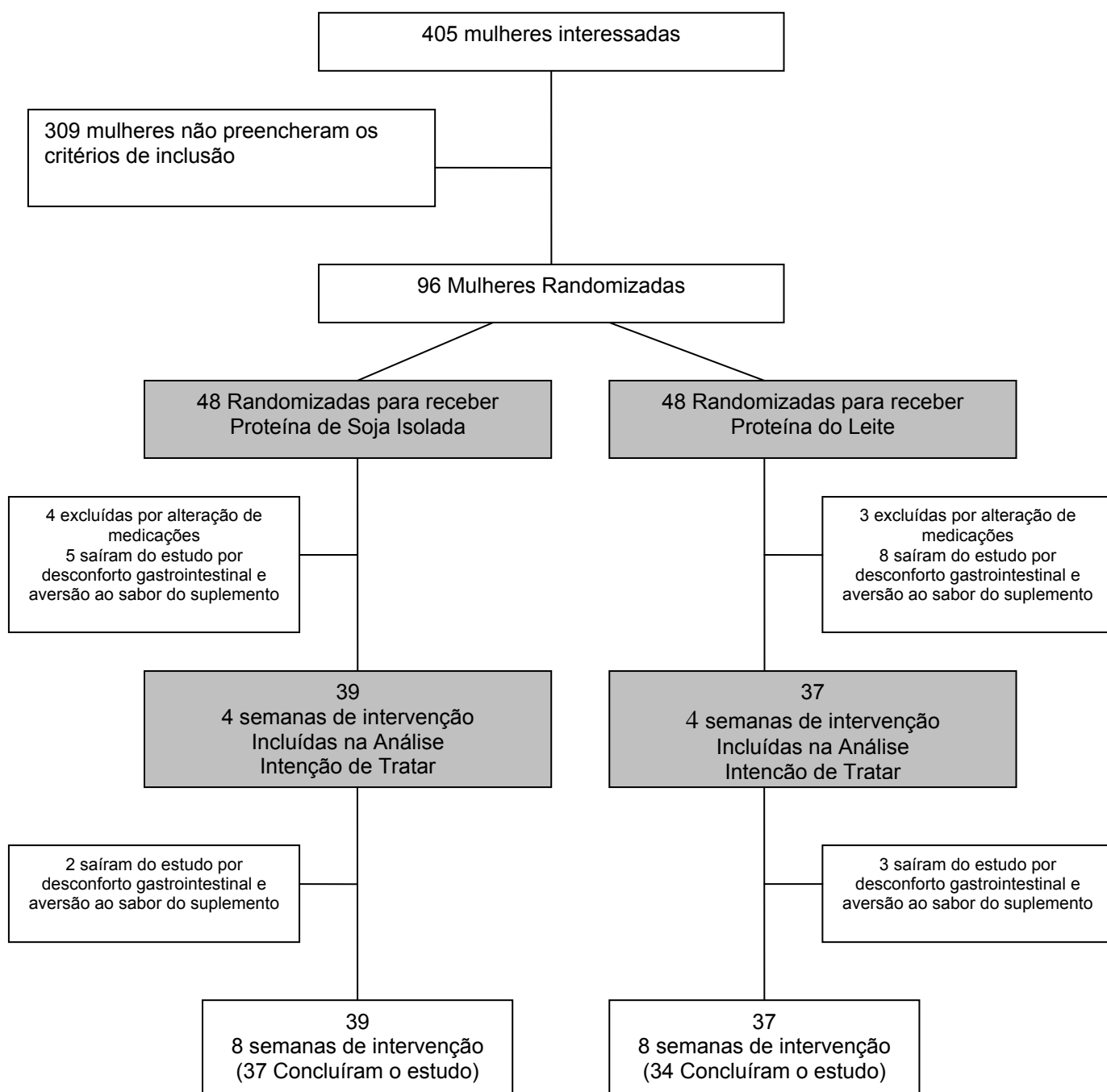


Figura 1. Fluxograma dos participantes durante o estudo de intervenção.

Tabela 1. Comparação das características entre o grupo intervenção e controle início do estudo (n =76)

	Proteína de Soja n(%)	Controle n(%)	p valor
Dados Socioeconômicos e Demográficos			
Idade, (anos)			
< 50	18, (46,2)	15 (40,5)	0,65
≥ 50	21 (53,8)	22 (59,5)	
Estado civil			
Casada	21 (53,8)	22 (59,5)	0,65
Não Casada	18 (46,2)	15 (40,5)	
Cor da pele			
Branca	30 (76,9)	33 (89,2)	0,22
Não branca	9 (23,1)	4 (10,8)	
Escolaridade (anos de estudo)			
0-9	14 (35,9)	11 (29,7)	0,77
10-13	11 (28,2)	13 (35,1)	
≥ 14	14 (35,9)	13 (35,1)	
Emprego			
Trabalhando	23 (59,0)	19 (51,4)	0,64
Não trabalhando	16 (41,0)	18 (48,6)	
Classe Social			
A e B	24 (63,2)	29 (78,4)	0,19
C	10 (26,3)	7 (18,9)	
D e E	4 (10,5)	1 (2,7)	
Renda (<i>per capita</i>)			
1 -1,4	11 (28,2)	8 (21,6)	0,18
1,41 -2,34	12 (30,8)	6 (16,2)	
2,35 -4,14	10 (25,6)	10 (27,0)	
4,15 +	6 (15,4)	13 (35,1)	
	Proteína de Soja Média/DP	Controle Média/DP	p valor
Lipídios Séricos			
Colesterol total ^a	266,62 ± 49,31	248,08 ± 40,96	0,03
HDL-colesterol ^a	52,18 ± 10,20	52,95 ± 11,82	0,44
LDL-colesterol ^a	186,23 ± 41,26	166,76 ± 39,56	0,29
Triglicerídios ^a	153,36 ± 75,66	135,83 ± 56,17	0,98
LDL-peroxidada ^b	0,2278 ± 0,08	0,2556 ± 0,08	0,81
Lipoproteína(a) ^a	42,27 ± 48,38	29,48 ± 30,17	0,38

^a mg/dL, ^b nmol/mg de apoproteína

(teste utilizado para dados socioeconômico-demogr: Fisher's Exact Test; nível de significância aceito ≤0,05; teste utilizado para lipídios séricos: Levene's Test)

Tabela 2. Comparação do peso, pressão arterial e lipídios séricos entre o grupo intervenção e controle (n =76)

	Intenção de Tratar		p valor
	Proteína de Soja (n=39)	Controle (n = 37)	
Peso (kg)			
Primeira visita (baseline)	71,39 ± 11,68	69,63 ± 14,73	
Segunda visita (4wk)	71,13 ± 11,82	69,88 ± 15,27	
Terceira visita (8 wk)	70,44 ± 11,83	70,27 ± 15,49	
Alteração (1x2)	-0,26 ± 1,77	0,25 ± 1,34	0,160
Alteração (1x3)	-0,663 ± 1,86	0,642 ± 2,10	0,005
Pressão Arterial Sistólica (mmHg)			
Primeira visita (baseline)	135,19 ± 20,11	126,86 ± 10,16	
Segunda visita (4wk)	129,73 ± 15,59	121,28 ± 12,94	
Terceira visita (8 wk)	125,64 ± 13,78	120,87 ± 12,02	
Alteração (1x2)	-5,46 ± 14,75	-5,60 ± 11,38	0,965
Alteração (1x3)	-9,55 ± 15,07	-6,00 ± 10,36	0,242
Pressão Arterial Diastólica (mmHg)			
Primeira visita (baseline)	83,61 ± 12,79	78,59 ± 8,87	
Segunda visita (4wk)	79,99 ± 11,04	77,15 ± 8,73	
Terceira visita (8 wk)	79,32 ± 9,78	76,67 ± 7,99	
Alteração (1x2)	-2,63 ± 8,52	-1,44 ± 8,55	0,550
Alteração (1x3)	-3,29 ± 8,48	-1,93 ± 7,02	0,453
Colesterol total^a			
Primeira visita (baseline)	266,62 ± 49,31	248,08 ± 40,96	
Segunda visita (4wk)	240,95 ± 33,23	238,30 ± 41,21	
Terceira visita (8 wk)	246,61 ± 38,93	235,03 ± 48,34	
Alteração (1x2)	-25,67 ± 35,45	-9,78 ± 29,78	0,038
Alteração (1x3)	-20,0 ± 34,86	-13,0 ± 24,11	0,318
HDL-colesterol^a			
Primeira visita (baseline)	52,18 ± 10,20	52,95 ± 11,82	
Segunda visita (4wk)	49,38 ± 10,69	50,73 ± 12,16	
Terceira visita (8 wk)	55,05 ± 11,94	54,67 ± 10,63	
Alteração (1x2)	-2,79 ± 9,51	-2,2 ± 8,8	0,784
Alteração (1x3)	2,87 ± 8,57	1,73 ± 8,28	0,557
LDL-colesterol^a			
Primeira visita (baseline)	186,23 ± 41,26	166,76 ± 39,56	
Segunda visita (4wk)	161,28 ± 30,49	156,43 ± 36,75	
Terceira visita (8 wk)	162,46 ± 34,55	152,94 ± 44,01	
Alteração (1x2)	-24,95 ± 31,16	-10,32 ± 35,31	0,059
Alteração (1x3)	-23,76 ± 32,92	-13,81 ± 26,58	0,152
Triglicerídios^a			
Primeira visita (baseline)	153,36 ± 75,66	135,83 ± 56,17	
Segunda visita (4wk)	138,03 ± 67,44	116,75 ± 43,52	
Terceira visita (8 wk)	159,10 ± 99,01	129,94 ± 54,63	
Alteração (1x2)	-15,33 ± 53,12	-19,08 ± 43,37	0,740
Alteração (1x3)	5,74 ± 65,29	-5,89 ± 52,50	0,400
LDL peroxidada^b			
Primeira visita (baseline)	0,2278 ± 0,08	0,2556 ± 0,08	
Segunda visita (4wk)	0,2417 ± 0,07	0,24 ± 0,077	
Terceira visita (8 wk)	0,1944 ± 0,083	0,1889 ± 0,067	
Alteração (1x2)	0,0139 ± 0,1197	-0,0143 ± 0,1192	0,324
Alteração (1x3)	-0,0333 ± 0,1042	-0,0667 ± 0,8944	0,150
Lipoproteína (a)^a			
Primeira visita (baseline)	42,27 ± 48,38	29,48 ± 30,17	
Segunda visita (4wk)	42,72 ± 52,73	28,79 ± 29,46	
Terceira visita (8 wk)	40,18 ± 47,00	27,17 ± 26,96	
Alteração (1x2)	0,44 ± 9,20	-0,69 ± 4,66	0,312
Alteração (1x3)	-2,09 ± 8,53	-2,03 ± 8,91	0,917

^a mg/dL; ^b nmol/mg de apoproteína

REFERENCIAS

Allen JK, Becker DM, Kwiterovich PO, Lindenstruth KA, Curtis C. Effect of soy proteinYcontaining isoflavones on lipoproteins in postmenopausal women. *Menopause: The Journal of The North American Menopause Society*. 2007; 14(1): 106-114.

Altman DG. How to randomize. *BMJ* 1999; 319(7211): 703–704.

Alves ALS, Olinto, MTA, Costa JSD, Bairros FS, Balbinotti, MAA. Padrões alimentares de mulheres adultas residentes em área urbana no sul do Brasil. *Rev. Saúde Pública* . 2006, 40(5): 865-873.

Anderson JW, Johnstone BM, Cook-Newell ME. Metaanalysis of the effects of soybean protein intake on serum lipids. *N Engl J Med* 1995; 333:276-282.

Boker LK, van der Schow YT, de Klein MJ, Jacques PF, Grobbee DE, Peeters PH. Intake of ietary phytoestrogens by Dutch women. *J Nutr*. 2002; 132:1319-1328.

Burke V, Hodgson JM, Beilin LJ, Giangiulioi N, Rogers P, Puddey IB. Dietary Protein and Soluble Fiber Reduce Ambulatory Blood Pressure in Treated Hypertensives. *Hypertension*. 2001;38:821-826.

Campbell SC, Khalil DA, Payton ME, Arjmandi BH. One year soy protein supplementation does not improve lipid profile in postmenopausal women *FASEB J*. 23: 722.6, 2009

Cassidy A, Brown JE, Hawdon A, Faughnan MS, King LJ, Millward J, Zimmer-Nechemias L, Wolfe B, and Setchell KDR. Factors Affecting the Bioavailability of Soy Isoflavones in Humans after Ingestion of Physiologically Relevant Levels from Different Soy Foods. *J. Nutr*. 2006; 136:45-51.

Chen Z, Sheng W, Custer LJ et al. Usual dietary consumption of soy foods and its correlation with the excretion rate os isoflavonoids in overnight urine samples among Chines women in Shanghai. *Nut Cancer*. 1999; 33:82-87.

Cuevas AM, Iribarra VL, Castillo OA, Yañez MD Germain AM. Isolated soy protein improves endothelial function in postmenopausal hypercholesterolemic women. *European Journal of Clinical Nutrition* 2003;57: 889–894.

Dalais FS, Ebeling PR, Kotsopoulos D, McGrath BP, Teede HJ. The effects of soy protein containing isoflavones on lipids and indices of bone resorption in postmenopausal women. *Clinical Endocrinology*. 2003;58 (Issue 6): 704 - 709

Dent SB, Peterson CT, Brace LD, Swain JH, Reddy MB, Hanson KB, Robinson JG, Alekel DL. Soy protein intake by perimenopausal women does not affect circulation lipids and lipoproteins or coagulation and fibrinolytic factors. *J Nutr*. 2001; 131:2280-2287.

Dewell A, Hollenbeck PLW, Hollenbeck CB. Clinical review: a critical evaluation of the role of soy protein and isoflavone supplementation in the control of plasma cholesterol concentrations. *J Endocrinol Metab* 2006;91:772– 80.

Engelman HM, Alekel DL, Hanson LN, Kanthasamy AG, Reddy MB. Blood lipid and oxidative stress responses to soy protein with isoflavones and phytic acid in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 2005;81: 590–6.

FDA. Fed. Reg. 57700 (Oct. 26, 1999). *Authorization of the health claim and its eligibility criteria are codified at 21 C.F.R. § 101.82.*

FDA. Federal Register. December 21, 2007 72(245). Disponível em: <http://www.fda.gov/OHRMS/DOCKETS/98fr/E7-24813.pdf>

Food and Drug Administration (FDA). FDA approves new health claim for soybean protein and coronary heart disease. FDA Talk Paper 1999, Disponível em: www.fda.gov

Gardner CD, Newwell KA, Cherin R, Haskell WL. The effects of soy protein with or without isoflavones relative to milk protein on plasma lipids in hypercholesterolemic postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 2001;73:728-735.

Ho SC, Woo J, Leung SS, Sham AL, Lam TH, Janus ED. Intake of soy products is associated with better plasma lipid profiles in the Hong Kong Chinese population. *J Nutr* 2000;130:2590 –3.

Jenkins DJ, Kendall CW, Jackson CJ, et al. Effects of high- and low isoflavone soyfoods on blood lipids, oxidized LDL, homocysteine, and blood pressure in hyperlipidemic men and women. *Am J Clin Nutr*. 2002;76:365–72.

Kleijn MJJ, van der Schouw IT, Wilson PWF, Adlercreutz H, Mazur W, Grobbee DE, Jacques PF. Intake of Dietary Phytoestrogens Is Low in Postmenopausal Women in the United States: The Framingham Study. *Journal of Nutrition*. 2001;131:1826-1832.

Kreijkamp-Kaspers S, Kok L, Grobbee DE, de Haan EH, Aleman A, Lampe JW, van der Schouw YT. Effect of soy protein containing isoflavones on cognitive function, bone mineral density, and plasma lipids in postmenopausal women: a randomized controlled trial. *J Am Med Assoc*. 2004;292:65-74.

Lichtenstein AH, Jalbert SM, Adlercreutz H, Goldin BR, Rasmussen H, Schaefer EJ, Ausman LM. Lipoprotein response to diets high in soy or animal protein with and without isoflavones in moderately hypercholesterolemic subjects. [see comment]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002; 22:1852-1858.

Matthan NR, Jalbert SM, Ausman LM, Kuvin JT, Karas RH, Lichtenstein AH. Effect of soy protein from differently processed products on cardiovascular disease risk factors and vascular endothelial function in hypercholesterolemic subjects. *Am J Clin Nutr* 2007;85:960-6.

Merz-Demlow BE, Duncan AM, Wangen KE, et al. Soy isoflavones improve plasma lipids in normocholesterolemic premenopausal women. *Am J Clin Nutr* 2000;71:1462-9.

Messina MJ. In *The Simple Soybean and Your Health*. Avery Publishing Group, New Nagata C, Takatsuka N, Kurisu Y, Shimizu H. Decreased serum total cholesterol concentration is associated with high intake of soy products in Japanese men and women. *J Nutr* 1998;128:209-13.

Puska P, Korpelainen V, Hoie LH, Skovlund E, Lahti T, Smerud KT. Soy in hypercholesterolaemia: a double-blind, placebo-controlled trial. *Eur J Clin Nutr*. 2002;56:352-357.

Random allocation sequence was generated. Disponível em: <http://www.randomization.com>.

Roughead ZK, Hunt JR, Johnson L, 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;90:181-9.

Sacks FM, Lichtenstein AH, Van Horn L, et al. Soy protein, isoflavones, and cardiovascular health: an American Heart Association Science Advisory for Professionals From the Nutrition Committee. *Circulation* 2006;113:1034–44.

Santos IS, Victora CG. Serviços de saúde: epidemiologia, pesquisa e avaliação. *Cad. Saúde Pública*. 2004;20 suppl.2: S337-S341.

Steinberg FM, Guthrie NL, Villablanca AC, Kumar K, Murray MJ. Soy protein with isoflavones has favorable effects on endothelial function that are independent of lipid and antioxidant effects in healthy postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 2003;78:123–30.

Teede HJ, Dalais FS, Kotsopoulos D, Liang YL, Davis S, McGrath BP. Dietary soy has both beneficial and potentially adverse cardiovascular effects: a placebo-controlled study in men and postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:3053–60.

Teixeira SR, Potter SM, Weigel R, Hannum S, Erdman JW Jr, Hasler CM. Effects of feeding 4 levels of soy protein for 3 and 6 wk on blood lipids and apolipoproteins in moderately hypercholesterolemic men. *Am J Clin Nutr* 2000;71:1077–84.

Tonstad S, Smerud K, Hoie L. A comparison of the effects of 2 doses of soy protein or casein on serum lipids, serum lipoproteins, and plasma total homocysteine in hypercholesterolemic subjects. *Am J Clin Nutr*. 2002; 76:78–84.

Van Horn L, Liu K, Gerber J, et al. Oats and soy in lipid-lowering diets for women with hypercholesterolemia: is there synergy? *J Am Diet Assoc* 2001;101:1319–25.

Vickers AJ. How to randomize. *J Soc Integr Oncol*. 2006; 4(4): 194–198.

Vigna GB, Pansini F, Bonaccorsi G, Albertazzi P, Donega P, Zanotti L, De Aloysio D, Mollica G, Fellin R. Plasma lipoproteins in soy-treated postmenopausal women: a double-blind, placebo-controlled trial. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2000;10:315–322.

Wangen KE, Duncan AM, Xu X, Kurzer MS. Soy isoflavones improve plasma lipids in normocholesterolemic and mildly hypercholesterolemic postmenopausal women. *Am J Clin Nutr*. 2001;73:225–231.

Washburn S, Burke GL, Morgan T, Anthony M. Effect of Soy Protein Supplementation on Serum Lipoproteins, Blood Pressure, and Menopausal Symptoms in Perimenopausal Women. *Menopause*. 1999; 6(1):7-13.

Weggemans RM, Trautwein EA. Relation between soy-associated isoflavones and LDL and HDL cholesterol concentrations in humans: a meta-analysis. *Eur J Clin Nutr* 2003;57:940-6.

West SG, Hilpery KF, Juturu V, Bordi PL, Lampe JW, Mousa SA, Kris-Etherton PM. Effects of including soy protein in a blood cholesterol lowering diet on markers of cardiac risk in men, and postmenopausal women with or without hormone replacement therapy. *J Womens Health*. 2005;14:253-262.

Zhan S, Ho SC. Meta-analysis of the effects of soy protein containing isoflavones on the lipid profile. *Am J Clin Nutr*, 2005; 81, 397-408.

Zhuo XG, Melby MK, Watanabe S. Soy isoflavone intake lowers serum LDL cholesterol: a meta-analysis of 8 randomized controlled trials in humans. *J Nutr*, 2004; 134, 2395-400.