

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE ISOFLAVONA NOS VALORES DE
ÂNGULO DE FASE DE MULHERES PÓS-MENOPASADAS**

CINTHIA DOMINGOS BARBOSA

UBERLÂNDIA

2017

CINTHIA DOMINGOS BARBOSA

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE ISOFLAVONA NOS VALORES DE
ÂNGULO DE FASE DE MULHERES PÓS-MENOPAUSADAS**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde da Faculdade de
Medicina da Universidade Federal
de Uberlândia, como requisito
parcial para a obtenção do título de
Mestre em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Erick Prado de Oliveira

Co – orientador: Prof. Dr. Guilherme Morais Puga

UBERLÂNDIA

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
(CIP) Sistema de Bibliotecas da UFU, MG,
Brasil.

B238e
2017 Barbosa, Cinthia Domingos, 1991
 Efeito da suplementação de isoflavona nos valores de ângulo de fase
de mulheres pós-menopausadas / Cinthia Domingos Barbosa. - 2017.
 40 p. : il.

Orientador: Erick Prado de Oliveira.
Coorientador: Guilherme Morais Puga.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.
Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2018.19>
Inclui bibliografia.

1. Ciências médicas - Teses. 2. Stress oxidativo - Teses. 3. Isoflavonas
- Teses. 4. Pós-Menopausa - Teses. I. De Oliveira, Erick Prado. II. Puga,
Guilherme Morais. III. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de
Pós-Graduação em Ciências da Saúde. IV. Título.

CDU: 61

FOLHA DE APROVAÇÃO

Cinthia Domingos Barbosa

ISOFLAVONE SUPPLEMENTATION DOES NOT CHANGE PHASE ANGLE VALUES IN POSTMENOPAUSAL WOMEN AFTER COMBINED AEROBIC AND RESISTANCE EXERCISE TRAINING: A RANDOMIZED CLINICAL TRIAL

Presidente da banca (orientador): Profa. Dr. Erick Prado de Oliveira

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Banca Examinadora

Titular: Profa. Dr. Ana Carolina Kanitz

Instituição: Universidade Federal de Uberlândia (UFU)

Titular: Prof. Dr. Fábio Orsatti

Instituição: Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM)



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE



Ata da defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia.

Defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico Nº 018/PPCSA

Área de concentração: Ciências da Saúde

Linha de Pesquisa 2: Diagnóstico, tratamento e prognóstico das doenças e agravos à saúde.

Projeto de Pesquisa de vinculação: Intervenções nutricionais na Sarcopenia.

Discente: **Cinthia Domingos Barbosa** - Matrícula nº **11512CSD006**

Título do Trabalho: **"Efeito da suplementação da Isoflavona nos valores de ângulo de fase de mulheres pós-menopausadas."** Às 14:00 horas do dia 23 de fevereiro do ano de 2017, no anfiteatro do Bloco 2A - Campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia reuniu-se a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, assim composta: Professores Doutores: Fábio Lera Orsatti (UFTM), Ana Carolina Kanitz (UFU) e Erick Prado de Oliveira (UFU) – orientador da discente. Iniciando os trabalhos, o presidente da mesa o Prof. Dr. Erick Prado de Oliveira (UFU) apresentou a Comissão Examinadora e a discente, agradeceu a presença do público e concedeu a discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A seguir o senhor presidente concedeu a palavra aos examinadores que passaram a arguir a candidata. Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, em sessão secreta, em face do resultado obtido, a Banca Examinadora considerou a candidata ☒ aprovada () reprovada. Esta defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico é parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, legislação e regulamentação internas da UFU, em especial do artigo 55 da resolução 12/2008 do Conselho de Pós-Graduação e Pesquisa da Universidade Federal de Uberlândia. Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos às 17:00 horas. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.

Prof. Dr. Erick Prado de Oliveira _____

Prof. Dr. Fábio Lera Orsatti _____

Profa. Dra. Ana Carolina Kanitz _____

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Erick Prado de Oliveira, meu orientador, por todo o apoio, ensinamento, paciência e conhecimento que nos repassou durante esses dois anos de mestrado, sem você essa caminhada teria sido muito difícil. Obrigada por ser um excelente professor e um exemplo a ser seguido!

Ao Prof. Dr. Guilherme Morais Puga, meu co – orientador, professor do curso de Educação Física da Universidade Federal de Uberlândia, responsável pelo meu projeto, por todos os conselhos e ensinamentos, por sua solicitude e gentileza, e acima de tudo, por ser um excelente profissional.

A aluna de mestrado e companheira de projeto de pesquisa, Juliene Gonçalves Costa, por toda a ajuda com a construção do meu artigo, sem você eu não teria conseguido chegar aonde cheguei. Muito obrigada por tudo!

Ao Grupo de Pesquisa em Nutrição Esportiva, por todas as reuniões, artigos apresentados, conhecimentos compartilhados e ombros amigos. Obrigada por fazerem parte dessa caminhada, com certeza fiz amigos para a vida toda.

“Palavras são, na minha humilde opinião, nossa inesgotável fonte de magia. Capazes de causar grandes sofrimentos, mas também remediá-los”.

Alvo Dumbledore – Harry Potter e as Relíquias da Morte

J.K. Rowling

RESUMO

Introdução: Durante o período pós-menopausa, observa-se maior dano celular em mulheres, devido ao estresse oxidativo e à inflamação mais elevadas em comparação com mulheres jovens, o que pode refletir em valores de menor ângulo de fase (PhA). O consumo de isoflavonas pode diminuir o estresse oxidativo devido a propriedades antioxidantes que podem provavelmente afetar os valores de PhA. O exercício também parece aumentar os valores de PhA, aumentando a "saúde celular". **Objetivo:** Avaliar o efeito da suplementação com isoflavonas associada ao treinamento físico em valores de PhA em mulheres pós-menopáusicas (PW). **Métodos:** Foram selecionadas aleatoriamente 30 mulheres pós-menopáusicas em um estudo clínico, duplo-cego e controlado, dividido em dois grupos: um com suplementação de 100mg por dia de isoflavona (Intervenção n = 16) eo outro com placebo (Controle n = 14), com treinamento combinado aeróbico e exercício de resistência por 10 semanas. **Resultados:** Não foram encontradas diferenças significativas nos parâmetros antropométricos e dietéticos em ambos os grupos após suplementação. Houve melhora na função física após o protocolo de treinamento ($p > 0,001$), mas não relacionado ao consumo de isoflavonas. Não houve alteração nos valores de ângulo de fase em ambos os grupos. (Isoflavona: $p = 0,863$; Placebo: $p = 0,131$). **Conclusão:** A suplementação de isoflavona não alterou PhA em PW que realizaram 10 semanas deste protocolo de exercício. **Clinical Trial:** NCT03008785.

Palavras – chave: Suplementação de Isoflavona. Mulheres Pós – Menopausadas. Ângulo de Fase. Estresse Oxidativo.

ABSTRACT

Introduction: During postmenopausal period it is observed higher cell damage in women due higher oxidative stress and inflammation comparing with young women, which might reflect in lower phase angle (PhA) values. The consumption of isoflavones may decrease oxidative stress due to antioxidant properties which can probably affect PhA values. Exercise also seems to enhance PhA values, increasing “cell health”. **Aim:** Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of isoflavone supplementation associated with exercise training on PhA values in postmenopausal women (PW). **Methods:** A total of 30 post-menopausal women were randomly assigned in a clinical trial, double – blind and controlled study, divided into two groups: one with supplementation of 100mg per day of isoflavone (intervention n = 14) and the other with placebo intake (control n = 16), with combined aerobic and resistance exercise training for 10 weeks. **Results:** No significant differences were found in anthropometric and dietary parameters in both groups after supplementation. There was improvement in physical function after training protocol ($p > 0.001$) but not related to isoflavone consumption. There was no change in phase angle values in both groups. (Isoflavone: $p = 0.863$; Placebo: $p = 0.131$). **Conclusion:** Isoflavone supplementation did not change PhA in PW that realized 10 weeks of this exercise protocol. **Clinical Trial:** NCT03008785.

Keywords: Isoflavone Supplementation. Post-Menopausal Women. Phase Angle. Oxidative stress.

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	11
2.FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	12
2.1Menopausa: Conceito e características.....	12
3. Prevenção das consequências do período pós menopausa.....	13
3.1 Exercício Físico de Força.....	14
3.2Exercício Físico Aeróbico.....	14
3.3Exercício Físico Combinado.....	15
4. Aspectos nutricionais no período pós menopausa.....	15
4.1 Recomendações Gerais.....	15
5. Suplementação.....	17
5.1 Consumo de Isoflavonas.....	17
6. Ângulo de Fase e Intervenções.....	17
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19
3.OBJETIVOS.....	23
4. ARTIGO CIENTÍFICO.....	24

1 Introdução

O climatério é uma fase que ocorre na vida da mulher caracterizada pela transição do ciclo reprodutivo para o não reprodutivo, marcando o seu último período menstrual, sendo a menopausa reconhecida após 12 meses de ausência de fluxo menstrual, surgindo por volta dos 50 anos de idade (YIM et al., 2015). É um período fisiológico esperado na saúde reprodutiva da mulher, mas que pode trazer alterações na dinâmica do organismo, modificando algumas funções endócrinas e trazendo uma soma de efeitos colaterais indesejados (STEINBERG et al., 2003).

Em mulheres pós-menopausadas, diversos sintomas característicos dessa fase são percebidos, como aumento da adiposidade corporal, especialmente da gordura central (ZAMBONI et al., 1992), aparecimento da osteoporose (CHILIBECK et al., 2013), problemas cardiovasculares (DOSI et al., 2014) entre outros. É um período com intensas modificações corporais, que se não forem bem acompanhadas e tratadas, podem trazer prejuízos importantes na qualidade de vida das mulheres. Por isso é essencial a pesquisa de novas alternativas farmacológicas e não farmacológicas para o tratamento da menopausa e suas consequências (SITES et al., 2007).

Entre as opções de tratamento não farmacológicos existentes, a suplementação com as isoflavonas (fitoestrógeno) provenientes da soja surge como uma alternativa que pode reduzir alguns sintomas da menopausa (MESSINA et al., 2014). As isoflavonas (dentre as mais conhecidas a genisteína e a daidzeína) são compostos químicos fenólicos amplamente encontrados no reino vegetal (ARORA; NAIR; STRASBUTG, 1998), que apresentam várias atividades no organismo, como estimulantes da proliferação celular, ação antioxidante e inibição de algumas atividades enzimáticas (BHATENA et al., 2002).

As isoflavonas têm sido amplamente estudadas por sua capacidade de se ligar a receptores de estrogênio, sendo uma possível alternativa menos agressiva do que a terapia de reposição hormonal, causando menos efeitos colaterais indesejados (STEINBERG et al., 2003). O consumo de isoflavonas, em especial, a genisteína, um dos seus componentes mais ativos, pode conter essa atividade oxidante presente nesse período (ARORA; NAIR; Strasbutg, 1998), evitando assim, a destruição de componentes celulares importantes, e mantendo assim a integridade das células.

O ângulo de fase (AF) é uma medida importante obtida por meio da utilização de um aparelho denominado bioimpedância elétrica (BIA), responsável por analisar os mais variados componentes corporais, como os fluidos extra e intracelular, massa livre de gordura e gordura corporal (NORMAN et al., 2015). A BIA tem sido comumente

utilizada para avaliação da composição corporal por ser um método relativamente barato, acessível e simples, com rapidez no processamento dos dados coletados (BASILE et al., 2014).

O AF é obtido por meio da relação entre o arco tangente da reactância (X_c) pela resistência (R), através da passagem de uma corrente elétrica através de todo o corpo, refletindo de forma direta sobre a estabilidade das células e a distribuição de água nos espaços celulares. É um bom indicador de integridade da membrana e preditor de massa celular corporal, sendo um importante parâmetro prognóstico para diversas doenças (BONACCORSI et al., 2016).

Portanto, uma possível suplementação com isoflavonas poderia auxiliar na preservação das células corporais, impedindo sua degradação, e consequentemente, evitando um maior estresse oxidativo nesse período (CELEC et al., 2013). Em conjunto com esses benefícios, o consumo dessas proteínas de soja poderia melhorar o AF das células do organismo, preservando a massa celular corporal e prevenindo doenças relacionadas, como câncer, infecções, estresse oxidativo e o próprio avanço precoce do envelhecimento (ARORA; NAIR; Strasbutg, 1998).

No entanto, mais pesquisas devem ser realizadas sobre os benefícios da isoflavona com relação a manutenção da integridade celular e um possível aumento do AF, pois até o momento, nenhum outro estudo relacionou essas duas variáveis, tornando inviável uma conclusão definitiva sobre o assunto.

2. Fundamentação teórica

2.1 Menopausa: Conceito e características

Durante o processo de envelhecimento, o organismo passa por uma variedade de mudanças estruturais, hormonais e psicológicas que podem modificar a relação saúde-doença de grupos populacionais específicos (NYKANEN et al, 2014). De acordo com a Organização Mundial da Saúde, até 2050, a população mundial de idosos chegará a 2 bilhões de indivíduos (OMS, 2015), o que reforça a preocupação em buscar soluções eficazes para um envelhecimento saudável. A expectativa de vida teve aumento significativo no Brasil, nas últimas décadas, com a melhora dos serviços de saúde e a criação de programas de atenção básica (CAMPOLINA et al, 2013). Neste sentido, as mulheres compõem a maioria da população brasileira e são as maiores usuárias do Sistema Único de Saúde, por isso, vários estudos ao longo dos anos procuram encontrar

melhorias na área da saúde voltadas para esse público, principalmente com relação à chegada do climatério, que corresponde a fase que precede o início da menopausa, com alterações psíquicas e somáticas (BRASIL, 2004).

A menopausa é um período da vida da mulher caracterizada pela interrupção do fluxo menstrual, causado por uma diminuição na produção de hormônios sexuais (SOWERS et al., 2007). Seu aparecimento pode variar, mas é comumente iniciada aos 50 anos de idade, sendo um processo fisiológico esperado (YIM et al., 2015). Devido à queda na produção de estrogênio, um dos principais hormônios envolvidos na regulação ovariana (YAFEE et al., 1988), alguns sintomas podem ser relatados na fase inicial deste período, como o aparecimento da osteoporose (CHILIBECK et al., 2013), ondas de calor (BUCKLER, 2005), aumento de adiposidade corporal (ZAMBONI et al., 1992) entre outros. Geralmente, esses sintomas vão diminuindo ao longo dos anos, na medida em que ocorre uma adaptação do organismo a essas mudanças (SITES et al., 2007). Entretanto, esses sintomas podem causar vários incômodos e afetar a qualidade de vida dessas mulheres, limitando suas atividades diárias e causando um possível isolamento social (YIM et al., 2015).

Dentre as consequências mais relatadas da menopausa, o aumento do estresse oxidativo (DOSHI; & AGARWAL, 2013), perda de massa magra (SIROLA; RIKKONEN, 2005) e aumento da adiposidade corporal (STEVENSON; CROOK; GODSLAND, 1993) são os que mais podem causar impacto na saúde. Devido a diminuição do estrogênio no organismo durante a menopausa, ocorre um aumento da prevalência de sobrepeso e obesidade, com maior deposição de gordura na região abdominal (SOWERS et al., 2007), o que possibilita o aparecimento de doenças associadas, como a diabetes mellitus tipo 2, doenças cardiovasculares e dislipidemias, podendo caracterizar uma síndrome metabólica (BONOMINI; RODELLA; REZZANI, 2015). Além disso, envelhecimento pode acarretar uma diminuição da aptidão física e redução da prática de exercícios, podendo ocorrer progressiva redução na massa e na força muscular, causada por fatores fisiológico que compõe a sarcopenia (SNIDJERS; VERDIJK; VAN LOON, 2009).

O sistema antioxidante tem o papel fundamental de regular os mecanismos oxidativos para que não ocorra prejuízo de processos metabólicos, porém, no envelhecimento, pode ocorrer um desequilíbrio entre a produção e regulação desses compostos (DAI et al., 2014). Nas mulheres pós menopausadas, em função do avanço da idade, podem ocorrer paralelamente mudanças nos processos oxidativos do organismo, com aumento da concentração de radicais livres na circulação, sendo um dos principais

fatores que causam danos celulares e alterações da membrana (DOSHI; AGARWAL, 2013). O dano as células corporais podem levar ao aparecimento de doenças como cânceres e problemas cardiovasculares, doenças que costumam ser muito frequentes nessa população (BONOMINI; RODELLA; REZZANI, 2015).

2.2 Prevenção das consequências do período pós menopausa

2.2.1 Exercício físico de força

O treinamento de força proporciona diversos benefícios para a saúde, pois promove o aumento de força, hipertrofia e resistência muscular localizada. Tem sido reportado na literatura efeitos positivos no controle da pressão arterial, além de promover melhores resultados no ganho e na manutenção de massa muscular (SCHOENFELD et al., 2015). Em estudo realizado por Orsatti e colaboradores, em 2008, foi avaliado o efeito de 16 semanas de treinamento de força (60% -80% de 1-RM) durante três vezes por semana em 43 mulheres pós-menopáusicas, foi observado aumento nos valores de força e ganho de massa muscular, indicando que o treinamento de força pode ser aplicado na reabilitação ou prevenção da sarcopenia nesse grupo populacional (ORSATTI et al., 2008). Além disso, o treinamento de força parece estar relacionado com a redução da gordura abdominal em mulheres mais velhas. Em um estudo realizado por Botero e colaboradores, em 2013, mostrou que um treinamento de força periodizado e a longo prazo (12 meses) foi capaz de prevenir o aparecimento da sarcopenia, promoveu diminuição da massa gorda e de marcadores inflamatórios sistêmicos em mulheres pós menopausa, evidenciando a importância desse protocolo na melhora de força nesta população (BOTERO al., 2013).

2.2.2 Exercício físico aeróbico

A realização de exercícios aeróbicos promove melhorias na função cardiorrespiratória e no ganho de massa mineral óssea (ROGHANI et al., 2013), e sua prática regular também pode melhorar aspectos da composição corporal, como redução de massa gorda (FRIEDENREICH et al., 2011). É bem relatado para a manutenção da aptidão física, e geralmente é um dos protocolos mais indicados para a prática de atividade física habitual, dependendo da intensidade desejada (FRIEDENREICH et al., 2015).

Em mulheres pós-menopausadas, esse protocolo de exercício para avaliação do seu impacto na densidade mineral óssea e parâmetros lipídicos já foi utilizado. Em um

estudo realizado por Roghani e colaboradores, em 2013, foi demonstrado, em 36 voluntárias sedentárias e pós menopausadas portadoras de osteoporose, que o treinamento aeróbico isolado foi capaz de melhorar a síntese óssea e diminuir sua reabsorção pelo organismo após 18 sessões de caminhada submáxima em esteira (ROGHANI et al., 2013). Em outro estudo, realizado por Rezende e colaboradores em 2016, mostrou-se que um programa de atividade física aeróbica de 24 semanas em mulheres pós menopausa com doença hepática não alcoólica melhorou algumas variáveis como circunferência da cintura, colesterol e performance cardiopulmonar nesta população (REZENDE et al., 2016).

2.2.3 Exercício físico combinado

Para a melhoria de vários aspectos da aptidão física e adaptação ao exercício, tem-se utilizado o treinamento físico combinado como forma de potencializar os efeitos benéficos do treinamento aeróbico e o de força. Cada estilo de exercício promove modificações importantes no funcionamento do organismo, de forma que eles poderiam se complementar, tornando-se uma modalidade de treinamento completa (CONTI et al., 2015). Não existe um consenso sobre a prescrição desse estilo de exercício em mulheres pós-menopausadas, porém pesquisas já foram realizadas para avaliar os seus efeitos. Em estudo realizado por Rossi e colaboradores (2015) foram avaliadas 65 mulheres obesas pós menopausadas que realizaram exercício físico isolado (aeróbico) e combinado (aeróbico + resistido) ao longo de 16 semanas, e foi encontrado que o exercício combinado promoveu maior redução na massa gorda mas não demonstrou diferença nos perfis lipídicos dessas mulheres, quando comparado com o treinamento aeróbico similar. Ambos os treinos foram efetivos para melhorar a composição corporal e induzir um efeito antiaterogênico (ROSSI et al., 2015).

2.3 Aspectos nutricionais no período pós menopausa

2.3.1 Recomendações gerais

As recomendações nutricionais para o período pós menopausa estão relacionadas ao controle de algumas alterações e sintomas que surgem no envelhecimento, como o aumento do estresse oxidativo (DOSHI & AGARWAL., 2013), perda de massa magra (SIROLA; RIKKONEN., 2005) e aumento da adiposidade corporal (STEVENSON; CROOK; GODSLAND, 1993). Evitar alimentos ricos em gorduras e industrializados são as principais modificações alimentares a serem incorporadas na dieta habitual, pois estão

diretamente relacionados com o aumento da deposição de gordura na região abdominal central e aumento de casos de aterosclerose, principais causadores de problemas cardiovasculares (LI et al, 2015).

A ocorrência de osteoporose também é comum nessa fase da vida, portanto consumir alimentos ricos em cálcio, como leite, queijos e outros derivados, é importante para a manutenção da densidade mineral óssea (WLODAREK et al., 2014). O consumo de cálcio, de acordo com as Dietary Reference Intakes (DRI'S), é de 1000 mg/dia para mulheres entre 51 a 70 anos de idade, e de 1200mg para mulheres acima de 70 anos (DRI's., 1989). A ingestão de cálcio em mulheres pós menopausa ainda é muito abaixo do que é esperado para essa população, devido à maior chance de ocorrência de quedas e fraturas ósseas (RAJ; OOMMEN; PAUL, 2015).

Com relação ao consumo de proteína, é importante que haja uma ingestão adequada de fontes com alto valor biológico (provenientes de alimentos como frango, peixe, ovos, leite) e até mesmo uma possível suplementação de proteína do soro do leite, quando necessária (DEUTZ et al., 2014). O ganho de massa muscular é importante para garantir a realização das atividades de vida diárias e melhoria na qualidade de vida. O consumo de proteína em mulheres mais velhas é em torno de 0,8g/kg/ (DRI's, 1989), porém vários estudos já demonstraram que esse consumo é inadequado para a promoção da síntese proteica, devendo ser ingeridos em torno de 1,2 a 1,5g/kg/dia para aumentos significativos de síntese e ganho de massa muscular (BAUER et al., 2013).

O consumo de frutas e verduras também deve ser estimulado nessa fase da vida, pois contém vitaminas antioxidantes que podem melhorar o estresse oxidativo presente nessa fase (LEELARUNGRAYUB et al., 2016). A ingestão de vitamina C, E, e A podem minimizar a formação de radicais livres no organismo, promovendo manutenção da integridade da membrana e reduzindo possíveis danos as células corporais (LEE et al., 2005). Várias substâncias têm sido estudadas por terem possíveis propriedades antioxidantes e preventivas de vários sintomas da menopausa, como por exemplo as isoflavonas, podendo atenuar os efeitos dessa fase da vida, e devem ser consumidos em forma de suplemento e em quantidades suficientes para causar um impacto positivo na saúde (MESSINA, 2014).

2.4 Suplementação

2.4.1 Consumo de isoflavona

Estudos recentes na literatura demonstram que a Terapia de Reposição Hormonal (TRH) pode trazer efeitos colaterais impactantes na qualidade de vida e causar possíveis doenças a longo prazo, como câncer de mama e acidente vascular cerebral (STEINBERG et al., 2003; BAE; KIM, 2015). Muitas mulheres têm optado por não fazer uso de tratamentos farmacológicos, buscando alternativas naturais e menos agressivas para a melhora dos sintomas da menopausa (SITES et al., 2007).

Entre as opções de tratamento não farmacológicos existentes, a suplementação com as isoflavonas, que são fitoestrógenos provenientes da soja, surgem como alternativa que pode reduzir alguns sintomas da menopausa (CHOQUETTE et al., 2011). Os componentes da isoflavona podem se ligar aos receptores de estrogênio tradicionais, causando diminuição dos efeitos negativos dessa fase da vida, sendo os seus principais benefícios a redução das ondas de calor e dos níveis séricos de colesterol (HOOPER et al., 2009). O consumo de isoflavonas, em especial, a genisteína, um dos seus componentes mais ativos, pode conter essa atividade oxidante presente nesse período, evitando assim, a destruição de componentes celulares importantes, e mantendo assim a integridade da célula (MESSINA, 2014).

Portanto, a suplementação com isoflavonas poderia auxiliar na preservação das células corporais, impedindo sua degradação, e conseqüentemente, evitando um maior estresse oxidativo nesse período (DOSHI; ARGAWAL, 2013). Em conjunto com esses benefícios, o consumo desses componentes da soja poderia melhorar a integridade das células do organismo, preservando a massa celular corporal e prevenindo doenças relacionadas, como câncer, doenças renais, sepses e o próprio avanço precoce do envelhecimento (CELEC et al., 2013).

2.5 Ângulo de fase e intervenções

O ângulo de fase (AF) é uma medida obtida por meio da utilização de um aparelho denominado bioimpedância elétrica (BIA), responsável por analisar os mais variados componentes corporais, como os fluidos extra e intracelular, e também a integridade da membrana das células (MARTÍN et al., 2014). A BIA tem sido comumente utilizada para avaliação da composição corporal por ser um método relativamente barato, acessível e simples, com rapidez no processamento dos dados coletados (BASILE et al., 2014).

O AF é obtido por meio da relação entre o arco tangente da reactância (X_c) pela resistência (R), através da passagem de uma corrente elétrica através de todo o corpo, refletindo de forma direta sobre a estabilidade das células e a distribuição de água nos espaços celulares. É um bom indicador de integridade da membrana e preditor de massa celular corporal, sendo um importante parâmetro prognóstico para diversas doenças (BONACCORSI et al, 2016).

O AF tem sido utilizado como um bom parâmetro prognóstico para várias doenças clínicas como câncer de pulmão e colorretal, cirrose hepática e sepse, pois a variação nos seus valores é capaz de demonstrar o estado de integridade da membrana celular, que indica o real estado de saúde do paciente e quais medidas serão necessárias para melhorar seu estado de saúde (BEBERASHVILI et al., 2014) Uma possível hipótese que explica sua utilidade no prognóstico de pacientes é sua boa associação com marcadores nutricionais, o que o leva a ser importante como um método de acompanhamento do estado nutricional (BASILE et al., 2014). Além disso, a bioimpedância elétrica pode ser usada em conjunto com outros parâmetros como a força de preensão manual e a medida da espessura do músculo adutor do polegar para um diagnóstico mais efetivo (BEBERASHVILI et al., 2014).

A prática de exercícios físicos, sobretudo o treinamento resistido, demonstra ter efeito significativo no aumento do ganho de massa magra e nos valores de AF das células. Em estudo realizado por Dos Santos e colaboradores, em 2016, foi encontrado que em mulheres em pós menopausa e destreinadas, a realização de treinamento físico aumentou os valores de AF das células corporais. Em adição, o estudo também encontrou que o treinamento nessa população causa diminuição dos valores de AF, reforçando a importância da manutenção da atividade no dia a dia desses indivíduos (DOS SANTOS et al., 2016).

Em relação ao consumo de isoflavonas, ainda não foram realizados estudos que observaram o efeito desta suplementação nos valores de AF. Entretanto, novos estudos são necessários para verificar o efeito das isoflavonas no ângulo de fase de mulheres pós-menopausadas, e se existe relação desse parâmetro com a saúde e integridade das células corporais.

Referências

- ARORA, Arti; NAIR, Muraleedharan G.; STRASBURG, Gale M. Antioxidant activities of isoflavones and their biological metabolites in a liposomal system. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 356, n. 2, p. 133-141, 1998.
<https://doi.org/10.1006/abbi.1998.0783>
- BAE, Jong-Myon; KIM, Eun Hee. Hormone replacement therapy and risk of breast cancer in Korean women: a quantitative systematic review. *Journal of Preventive Medicine and Public Health*, v. 48, n. 5, p. 225, 2015.
<https://doi.org/10.3961/jpmph.15.046>
- BASILE, Claudia et al. Phase angle as bioelectrical marker to identify elderly patients at risk of sarcopenia. *Experimental gerontology*, v. 58, p. 43-46, 2014.
- BAUER, Jürgen et al. Evidence-based recommendations for optimal dietary protein intake in older people: a position paper from the PROT-AGE Study Group. *Journal of the American Medical Directors Association*, v. 14, n. 8, p. 542-559, 2013.
<https://doi.org/10.1016/j.jamda.2013.05.021>
- BHATHENA, Sam J.; VELASQUEZ, Manuel T. Beneficial role of dietary phytoestrogens in obesity and diabetes. *The American journal of clinical nutrition*, v. 76, n. 6, p. 1191-1201, 2002.
- Brasil. Política Nacional de Atenção Integral à Saúde da Mulher: Princípios e Diretrizes. Ministério da Saúde. 2004.
- Beberashvili, I. et al. Bioimpedance phase angle predicts muscle function, quality of life and clinical outcome in maintenance hemodialysis patients. *European journal of clinical nutrition*, v. 68, n. 6, p. 683, 2014.
<https://doi.org/10.1038/ejcn.2014.67>
- BONACCORSI, Guglielmo et al. Risk of malnutrition in a sample of nonagenarians: Specific versus classic bioelectrical impedance vector analysis. *Nutrition*, v. 32, n. 3, p. 368-374, 2016.
- BONOMINI, Francesca; RODELLA, Luigi Fabrizio; REZZANI, Rita. Metabolic syndrome, aging and involvement of oxidative stress. *Aging and disease*, v. 6, n. 2, p. 109, 2015.
<https://doi.org/10.14336/AD.2014.0305>
- Botero, J. P. et al. Effects of long-term periodized resistance training on body composition, leptin, resistin and muscle strength in elderly post-menopausal women. *J Sports Med Phys Fitness*, v. 53, n. 3, p. 289-94, 2013.
- BUCKLER, Helen. The menopause transition: endocrine changes and clinical symptoms. *British Menopause Society Journal*, v. 11, n. 2, p. 61-65, 2005.
<https://doi.org/10.1258/136218005775544525>
- CAMPOLINA, Alessandro Gonçalves et al. A transição de saúde e as mudanças na expectativa de vida saudável da população idosa: possíveis impactos da prevenção de doenças crônicas. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 29, n. 6, p. 1217-1229, 2013.

CELEC, Peter et al. The short-term effects of soybean intake on oxidative and carbonyl stress in men and women. *Molecules*, v. 18, n. 5, p. 5190-5200, 2013.

CONTI, Filipe Fernandes et al. Positive effect of combined exercise training in a model of metabolic syndrome and menopause: autonomic, inflammatory, and oxidative stress evaluations. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, v. 309, n. 12, p. R1532-R1539, 2015.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.00076.2015>

CHILIBECK, Philip D. et al. Effect of exercise training combined with isoflavone supplementation on bone and lipids in postmenopausal women: a randomized clinical trial. *Journal of Bone and Mineral Research*, v. 28, n. 4, p. 780-793, 2013.
<https://doi.org/10.1002/jbmr.1815>

CHOQUETTE, Stéphane et al. Effects of soya isoflavones and exercise on body composition and clinical risk factors of cardiovascular diseases in overweight postmenopausal women: a 6-month double-blind controlled trial. *British journal of nutrition*, v. 105, n. 8, p. 1199-1209, 2011.

DAI, Dao-Fu et al. Mitochondrial oxidative stress in aging and healthspan. *Longevity & healthspan*, v. 3, n. 1, p. 6, 2014.
<https://doi.org/10.1186/2046-2395-3-6>

DEUTZ, Nicolaas EP et al. Protein intake and exercise for optimal muscle function with aging: recommendations from the ESPEN Expert Group. *Clinical Nutrition*, v. 33, n. 6, p. 929-936, 2014.

DRI's. Dietary Reference Intakes: Applications in Dietary Assessment. National Academic Press (9ª Edição). 1989.

DOSI, Rupal et al. Cardiovascular disease and menopause. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, v. 8, n. 2, p. 62, 2014.

DOSHI, Sejal B.; AGARWAL, Ashok. The role of oxidative stress in menopause. *Journal of mid-life health*, v. 4, n. 3, p. 140, 2013.
<https://doi.org/10.4103/0976-7800.118990>

DOS SANTOS, L. et al. Changes in phase angle and body composition induced by resistance training in older women. *European journal of clinical nutrition*, v. 1, p. 6, 2016.
<https://doi.org/10.1038/ejcn.2016.124>

FRIEDENREICH, C. M. et al. Adiposity changes after a 1-year aerobic exercise intervention among postmenopausal women: a randomized controlled trial. *International journal of obesity (2005)*, v. 35, n. 3, p. 427, 2011.

FRIEDENREICH, Christine M. et al. Effects of a high vs moderate volume of aerobic exercise on adiposity outcomes in postmenopausal women: a randomized clinical trial. *JAMA oncology*, v. 1, n. 6, p. 766-776, 2015.

Hooper, L. et al. Effects of soy protein and isoflavones on circulating hormone concentrations in pre-and post-menopausal women: a systematic review and meta-analysis. *Human reproduction update*, v. 15, n. 4, p. 423-440, 2009.
<https://doi.org/10.1093/humupd/dmp010>

LEE, Chung Hung et al. Relative antioxidant activity of soybean isoflavones and their glycosides. *Food Chemistry*, v. 90, n. 4, p. 735-741, 2005.

LEELARUNGRAYUB, Jirakrit et al. A preliminary study on the effects of star fruit consumption on antioxidant and lipid status in elderly Thai individuals. *Clinical interventions in aging*, v. 11, p. 1183, 2016.
<https://doi.org/10.2147/CIA.S110718>

LI, Yanping et al. Saturated fats compared with unsaturated fats and sources of carbohydrates in relation to risk of coronary heart disease: a prospective cohort study. *Journal of the American College of Cardiology*, v. 66, n. 14, p. 1538-1548, 2015.
<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2015.07.055>

MARTÍN, M^a Alicia Camina et al. Specific bioelectrical impedance vector analysis (BIVA) is more accurate than classic BIVA to detect changes in body composition and in nutritional status in institutionalised elderly with dementia. *Experimental gerontology*, v. 57, p. 264-271, 2014.

MESSINA, Mark. Soy foods, isoflavones, and the health of postmenopausal women. *The American journal of clinical nutrition*, v. 100, n. Supplement 1, p. 423S-430S, 2014.

NYKÄNEN, Irma et al. Effects of individual dietary counseling as part of a comprehensive geriatric assessment (CGA) on nutritional status: a population-based intervention study. *The journal of nutrition, health & aging*, v. 18, n. 1, p. 54, 2014.
<https://doi.org/10.1007/s12603-013-0342-y>

NORMAN, Kristina et al. The bioimpedance phase angle predicts low muscle strength, impaired quality of life, and increased mortality in old patients with cancer. *Journal of the American Medical Directors Association*, v. 16, n. 2, p. 173. e17-173. e22, 2015.

OMS. Organização Mundial da Saúde. Relatório Mundial de Envelhecimento e Saúde. Genebra, 2015.

ORSATTI, Fabio L. et al. Plasma hormones, muscle mass and strength in resistance-trained postmenopausal women. *Maturitas*, v. 59, n. 4, p. 394-404, 2008.

RAJ, Jeffrey Pradeep; OOMMEN, Anu Mary; PAUL, Thomas V. Dietary calcium intake and physical activity levels among urban South Indian postmenopausal women. *Journal of family medicine and primary care*, v. 4, n. 3, p. 461, 2015.
<https://doi.org/10.4103/2249-4863.161355>

REZENDE, Rosamar EF et al. Randomized clinical trial: benefits of aerobic physical activity for 24 weeks in postmenopausal women with nonalcoholic fatty liver disease. *Menopause*, v. 23, n. 8, p. 876-883, 2016.

ROGHANI, Tayebbeh et al. Effects of short-term aerobic exercise with and without external loading on bone metabolism and balance in postmenopausal women with osteoporosis. *Rheumatology international*, v. 33, n. 2, p. 291-298, 2013.

ROSSI, Fabrício E. et al. Combined training (aerobic plus strength) potentiates a reduction in body fat but demonstrates no difference on the lipid profile in postmenopausal women when compared with aerobic training with a similar training load. *The Journal of Strength*

& Conditioning Research, v. 30, n. 1, p. 226-234, 2016.
<https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000001020>

STEINBERG, Francene M. et al. Soy protein with isoflavones has favorable effects on endothelial function that are independent of lipid and antioxidant effects in healthy postmenopausal women. The American journal of clinical nutrition, v. 78, n. 1, p. 123-130, 2003.

STEVENSON, John C.; CROOK, David; GODSLAND, Ian F. Influence of age and menopause on serum lipids and lipoproteins in healthy women. Atherosclerosis, v. 98, n. 1, p. 83-90, 1993.
[https://doi.org/10.1016/0021-9150\(93\)90225-J](https://doi.org/10.1016/0021-9150(93)90225-J)

SITES, Cynthia K. et al. Effect of a daily supplement of soy protein on body composition and insulin secretion in postmenopausal women. Fertility and sterility, v. 88, n. 6, p. 1609-1617, 2007.
<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.01.061>

SIROLA, Joonas; RIKKONEN, Toni. Muscle performance after the menopause. British Menopause Society Journal, v. 11, n. 2, p. 45-50, 2005.
<https://doi.org/10.1258/136218005775544561>

SNIJDERS, Tim; VERDIJK, Lex B.; VAN LOON, Luc JC. The impact of sarcopenia and exercise training on skeletal muscle satellite cells. Ageing research reviews, v. 8, n. 4, p. 328-338, 2009.
<https://doi.org/10.1016/j.arr.2009.05.003>

SOWERS, MaryFran et al. Changes in body composition in women over six years at midlife: ovarian and chronological aging. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, v. 92, n. 3, p. 895-901, 2007.
<https://doi.org/10.1210/jc.2006-1393>

SCHOENFELD, Brad J. et al. Effects of low-vs. high-load resistance training on muscle strength and hypertrophy in well-trained men. The Journal of Strength & Conditioning Research, v. 29, n. 10, p. 2954-2963, 2015.
<https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000000958>

Zamboni, M. et al. Body fat distribution in pre-and post-menopausal women: metabolic and anthropometric variables and their inter-relationships. International journal of obesity and related metabolic disorders: journal of the International Association for the Study of Obesity, v. 16, n. 7, p. 495-504, 1992.

WŁODAREK, Dariusz et al. Calcium intake and osteoporosis: the influence of calcium intake from dairy products on hip bone mineral density and fracture incidence—a population-based study in women over 55 years of age. Public health nutrition, v. 17, n. 2, p. 383-389, 2014.

YAFFE, Kristine et al. Estrogen therapy in postmenopausal women: effects on cognitive function and dementia. Jama, v. 279, n. 9, p. 688-695, 1998.

YIM, Gyeyoon et al. Prevalence and severity of menopause symptoms and associated factors across menopause status in Korean women. Menopause, v. 22, n. 10, p. 1108-

3. Objetivos

3.1 Objetivo Geral

O objetivo do estudo foi avaliar os efeitos da suplementação de isoflavona aliada ao exercício físico nos valores de ângulo de fase em mulheres pós-menopausadas.

3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o possível efeito da isoflavona em parâmetros de adiposidade, musculares e celulares (bioimpedância elétrica);
- Avaliar o estado e a composição corporal de mulheres pós-menopausadas;
- Avaliar se os valores de ângulo de fase estavam dentro do recomendado nessa população.

ARTIGO ORIGINAL

Isoflavone supplementation plus combined aerobic and resistance exercise training do not change phase angle values in postmenopausal women: a randomized placebo-controlled clinical trial

Cinthia D. Barbosa¹, Juliene G. Costa², Jéssica S. Giolo², Luana T. Rossato¹, Paula C. Nahas¹, Guilherme M. Puga², Erick P. de Oliveira¹

Original Article

**Isoflavone supplementation plus combined aerobic and resistance exercise training
do not change phase angle values in postmenopausal women: a randomized
placebo-controlled clinical trial**

Cinthia D. Barbosa¹, Juliene G. Costa², Jéssica S. Giolo², Luana T. Rossato¹, Paula C. Nahas¹, Guilherme M. Puga², Erick P. de Oliveira^{1*}

¹ School of Medicine, Federal University of Uberlândia (UFU), Uberlândia/MG, Brazil.

² Department of Physical Education, Federal University of Uberlândia (UFU), Uberlândia/MG, Brazil.

***Corresponding author**

Erick Prado de Oliveira

Federal University of Uberlândia, School of Medicine.

Av. Pará, 1.720 Bloco 2U – Sala 20 – Campus Umuarama

Umuarama, Zip code: 38400902 – Uberlândia, MG – Brazil

Phone: +55 34 32182084

Fax: +55 34 32328620

e-mail: erick_po@yahoo.com.br

ABSTRACT

Phase angle (PhA) has been used as a marker of “cell health” and the effect of isoflavone supplementation on PhA is unknown. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of isoflavone supplementation associated with exercise protocol on PhA values in postmenopausal women (PW). A total of 30 PW were randomly assigned in a clinical trial, double blind and placebo-controlled study, divided into two groups: 100 mg per day of isoflavone supplementation (isoflavone = 16) and placebo group (n = 14), both groups performed a combined aerobic and resistance exercise during 10 weeks. PhA values did not change after isoflavone supplementation (PRE: $6.7 \pm 0.7^\circ$ vs POST: $6.7 \pm 0.6^\circ$ $p = 0.863$) and placebo (PRE: 7.2 ± 1.0 ; POST: 6.8 ± 0.5 $p = 0.131$) plus exercise. We concluded that isoflavone supplementation did not change PhA in PW who performed 10 weeks of exercise protocol. Clinical Trial: NCT03008785.

Keywords: Isoflavone Supplementation; Post-Menopausal Women; Phase Angle; bioimpedance, body mass

INTRODUCTION

Postmenopausal women (PW) have a decrease in sex hormones, mainly due to age, which contributes to increase in body fat [1] and decrease in muscle mass [2], onset of osteoporosis [3], and increased serum cholesterol [4]. An additional consequence of postmenopausal is an increase in oxidative stress and inflammation, leading to higher cell/tissue damage [5].

Phase angle (PhA) is a parameter obtained by bioelectrical impedance analysis [6] that has been used as “cell health” marker due to its association with membrane integrity and body cell mass [7], muscle mass [8], and many diseases [9]. PW presents lower PhA angle than young women [10] probably due to higher cell damage [5] and lower muscle mass [8]. Therefore, new non-pharmacological alternatives for prevention and treatment of postmenopausal consequences, such as decrease in PhA, are essential for PW [11].

Isoflavone supplementation (genistein, daidzein, coumestrol and equol) has been widely used in PW for its ability to bind to estrogen receptors [12] and reduction in cholesterol levels [13]. Due to these beneficial effects, isoflavone has been used as a possible alternative treatment presenting lower side effects than hormone replacement [14]. Additionally, the consumption of isoflavones may decrease oxidative stress due to antioxidant properties [15, 16] which could probably affect PhA values.

Physical exercise can also be considered a non-pharmacological treatment for PW because maintain and/or increase muscle mass [17]. Additionally, exercise also seems to enhance PhA values, increasing “cell health” [18]. A recent study showed that 12-weeks of resistance training protocol increased PhA in older women [18]. Therefore, it seems that resistance exercise increases PhA, however it is not known the effects of combined aerobic and strength exercise training on PhA values in PW.

Therefore, considering that PhA has been used as a marker of “cell healthy” and membrane damage; and knowing that isoflavone supplementation has antioxidant effects and exercise seems to increase PhA values, we hypothesize that isoflavone supplementation plus exercise would increase PhA values. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of isoflavone supplementation plus exercise on PhA values in PW.

METHODS

Study design and subjects

This was a randomized, double-blind, parallel and placebo-controlled study. The sample size calculation was performed in GPower® software (version 3.1.3). The level of significance was 95% and an error based on literature by Riesco et al (2011) [19]. Two hundred and sixty women, aged between 50 and 70 years, postmenopausal (amenorrhea of at least 12 months), were recruited and screened according to the following inclusion criteria: able to exercise on treadmill exercises and resistance exercises; do not present physical or cardiovascular problems that prevents to do exercises; do not present history of cardiovascular and renal disease, diabetes or hypertension; do not be a smoker, do not use drugs that interfere in lipid metabolism and antihypertensive; do not use hormone replacement therapy or isoflavone and antioxidant supplementation (**Figure 1**).

After adjusting for these criteria, 34 PW were eligible to participate in the study, aged 54.4 ± 5.4 years, 5.6 ± 4.6 years after menopause. Of the volunteers included, 4 did not complete the training protocol for personal reasons (two in each group) and 30 PW completed the study. The participants were randomly assigned into two groups: placebo and exercise (Placebo) ($n = 14$); or isoflavone supplementation and exercise (Isoflavone) ($n = 16$) during 10 weeks (**Figure 1**). This study was approved by Human Research Ethics Committee of the Federal University of Uberlandia (protocol: 002095/2015). All the volunteers signed the free and informed consent term and this study was registered at Clinical Trial: NCT03008785.

Anthropometric and body composition parameters

Body mass was measured using an electronic scale (Filizola®), and height was measured in a fixed estadiometer of Sanny®. After measures, body mass index (BMI) was calculated (body mass in kilograms divided by height in square meter). PW under 60 years old were classified according to the proposal by World Health Organization [20] and over 60 years by Lipschitz classification [21]. All anthropometric measures were performed according to protocol proposed by Lohman (1988) [22].

Bioelectrical impedance (Biodynamics®, model 450c, EUA) was used to determine PhA, resistance, reactance and absolute and relative extracellular mass and body cell mass. Phase angle, in degrees (°) was calculated using the equation $(\text{Reactance/Resistance}) \times (180/\pi)$. Subjects were previously instructed to not perform vigorous physical exercise in the previously 24 hours and to avoid alcohol and caffeinated

drinks 72 hours before testing. Individuals with abnormal hydration status were excluded considering the normal values of total body water per lean mass of 69 to 75%, according to the bioimpedances's manufacturer recommendations, to ensure great reliability in phase angle values. The participants were instructed to lie down for a few minutes prior to the examination and after cleaning the skin with alcohol four electrodes were positioned on the surface of the right hand and right foot. Fat-free mass [23] and muscle mass [24] were calculated by equations. Body fat mass was calculated subtracting body mass by fat-free mass.

Dietary intake assessment

All participants answered to a 24-hour recall performed by trained nutritionists. The participants were advised to remember the food and beverages they had consumed in the previous day. Two non-consecutive weekdays and one day of the weekend were reported at baseline and after 10 weeks of intervention. Total energy intake, protein, fat, carbohydrates, fiber and vitamin C were quantified using USDA food composition table [25] and were determined using software DietPro® (version 5.7i).

One repetition maximum test

Resistance exercise intensity was assessed and prescribed based on one repetition maximum (1-RM) [26], which was estimated after three warm-ups. The first warm-up was performed with 20 repetitions at 40% of 1-RM; the second was done with 8 repetitions at 60% of the 1-RM and the third was performed with 3 repetitions at 80% of the 1-RM. Between the warm ups, there was an interval of 1 minute to rest. Five attempts were made to determine 1-RM and it was allowed 2 minutes of rest between the attempts. When was not possible to complete the exercise load, the PW rested for 48 to 72 hours and repeated the test [26].

Aerobic capacity assessment

The aerobic capacity assessment was determined by submaximal incremental test on a treadmill [27] using ergospirometer Cosmed Quark CPET. The test started with a fixed velocity of 5.5km/h (speed that did not change during the whole test) plus 5 minutes of warm-up without inclination. An ergospirometer (gas analyzer) was also used to assess the ventilatory threshold 1 and heart rate were monitored during all test. From the warm-up, each stage lasted 2 minutes, and in each new stage the inclination was increased in

1%. At the end of each stage, the Borg Scale was shown for the volunteer to report the rating perceived exertion.

Additionally, 6-minute walk test was made, which consisted in performing a walk in sustained speed without running in a circuit with a distance to be covered in six minutes.

Experimental protocol

Isoflavone supplementation

Isoflavone group received a daily supplement containing 100 mg of isoflavones (3.3% of genistein, 93.5% of daidzein and 3.2% of glycitein) in form of capsule. Individuals ingested one capsule daily, during the morning. For those women who trained in the afternoon, the capsules were ingested before training. Placebo group received the same amount of daily capsules containing cornstarch, being the same aspect of the isoflavone capsules with the same recommendation of ingestion. All participants were instructed to maintain their habitual diet during the study.

Exercise training protocol

Training protocol consisted in combined aerobic and resistance exercise with a frequency of three times per week on nonconsecutive days during a 10-week period. The duration of each training session was about 45 minutes, being 5 minutes of warm-up on the treadmill, 20 minutes consisting of aerobic exercise and 20 minutes consisting of resistance exercises. The order of the exercises was reversed every training session, just keeping the warm up on a treadmill at the beginning of every session.

Resistance exercise consisted in seven exercises on weight machines for large muscle groups, performed in this order: leg press 45° (extension of the hip and knee), paddling in crossover (shoulder front adduction with elbow flexion), bench press on the machine (horizontal shoulder abduction with elbow extension), handle the front (shoulder abduction and elbow flexion), crucifix machine, squatting on the ball (fitball) and abdominal (flexion of the spine with fixed hip and knee flexed with feet on the ground). For each exercises, 2 sets of 15 repetitions was performed; each set lasted approximately 45 seconds and each repetition lasted about 3 seconds to perform the complete movements (eccentric and concentric phases). The intensity of the exercise was based on the 1-RM test previously conducted using the intensity of 60% of 1-RM with an interval of 30

seconds between exercises. After 5 weeks of training, 1-RM test was repeated for adjust of the training load.

Aerobic exercise lasted 20 minutes and was performed on a treadmill at the fixed speed of 5.5 km/h with exercise intensity corresponded to treadmill inclination between ventilatory threshold 1 and 2. Therefore, exercise intensity was imposed only on increasing the inclination of the treadmill, while remaining every 20 minutes to fixed speed of 5.5 km/h.

Statistical Analysis

The tests were performed using STATISTICA 6.0 software. Data were presented as mean \pm SD. Sample normality was tested by Kolmogorov-Smirnov test. For comparison of groups at baseline we used Student's T test unpaired. To evaluate the effect of interventions, ANOVA and Tukey *post hoc* were performed. Significance level was considered as $p < 0.05$.

RESULTS

No differences in body composition, strength parameters, and PhA values were found at baseline. Between groups, except for lipid (grams), and total caloric intake, which was higher in placebo group. Regarding vitamins intake, there were also no significant between groups. There was no significant differences between groups in relation to

Regarding dietary intake, all macro and micronutrients were not different after intervention between groups. Energy, protein, lipid, carbohydrate, and vitamins intake was considered in normal range, whereas fiber intake (mean values) was below the recommendation (Table 2).

There were no significant differences before and after the intervention in isoflavone and placebo group for body mass, waist circumference, and BMI. However, both groups increased leg press and bench press strength and the performance in walk test. The values of reactance, capacitance, and resistance did not change after the intervention in both groups (Table 3).

PhA values did not change after intake of isoflavone (PRE: $6.7 \pm 0.7^\circ$ vs POST: $6.7 \pm 0.6^\circ$ $p = 0.863$) and placebo (PRE: 7.2 ± 1.0 ; POST: 6.8 ± 0.5 $p = 0.131$). Additionally, delta values were not different (0.04 ± 0.5 vs -0.40 ± 0.99 ; $p = 0.176$) between isoflavone and placebo, respectively (**Figure 2**).

DISCUSSION

The main finding of present study was that isoflavone supplementation associated with combined aerobic and resistance exercise training during 10 weeks did not change PhA values in PW, therefore, the results of present study were contrary to our initial hypothesis.

To the best of our knowledge, this is the first study evaluating the effect of isoflavone supplementation plus combined exercise protocol on PhA values, however, other studies have been already evaluated the isolated effect of physical exercise. A recent study [28] showed that resistance training promoted muscle mass gain in older women (≥ 60 years old) and also increased phase angle values. In our study, there was an improvement in muscle strength in both groups (no differences between groups) after intervention, showing that PW adhered to training protocol, but there were no changes in muscle mass, and consequently, in PhA. Recently, de França et al., 2016 [8] showed that PhA is associated with muscle mass, therefore, it seems that exercise protocol needs to promote muscle mass gain to increase PhA values, although more studies are needed to confirm it. The absence of muscle mass gain in our study could have been occurred due to low load of resistance exercise (60% of the RM) and by the addition of aerobic training in our protocol. Nevertheless, it was not our aim to promote a specific hypertrophy protocol.

With regard to the benefits of isoflavone supplementation for improving body composition and physical function, Orsatti et al (2010) [29] showed that resistance training during nine months increased strength, and reduced fat mass, however, 100 mg daily of isoflavone supplementation did not promote additive effects.

It has been reported that genistein has better effects on menopausal symptoms when compared to the other phytoestrogens present in soybean [12], although the effects of each type of isoflavone on PhA is unknown. Genistein, one of the major isoflavones found in soybeans, is considered an antioxidant due to its three hydroxyl groupings present in its chemical structure. *In vitro* studies have shown that genistein is able to replace one of its hydroxyl groups by a methyl group, preventing lipid peroxidation caused by free radicals, mainly phospholipids present in cell membranes, which could cause cellular damage [16]. Considering that PhA predicts cell membrane integrity, we hypothesized that isoflavone supplementation could increase PhA, however we did not find differences in PhA after 10 weeks of isoflavone supplementation. Therefore, new studies evaluating the effect of isoflavone supplementation, presenting higher amounts of

genistein, are needed, this leads us to conclude that isoflavone does not appear to promote improvements in any phase angle of postmenopausal women. However, consumption of isoflavone has other associated benefits in this population.

Another possible explanation to non-changes in PhA after intervention at present study may be due to high PhA values at baseline in our sample. According to the study conducted by Barbosa-Silva et al (2005) [10], that proposed reference values for PhA, the 5th and 95th percentiles for older women (50-59 year) are 5.4° and 7.9°, respectively. The PW of our sample presented high mean basal PhA values (6.7-7.2°), similar to 95th percentile proposed by Barbosa-Silva et al. Therefore, due to high basal PhA values, it is improbable that significant improvements can be found. In the study performed by Dos Santos et al (2016) [28], increases in PhA values after resistance training in older women were found, however, their sample presented PhA values similar to 5th percentile of reference values. Therefore, it is possible to speculate that PhA values may increase when individuals present lower values.

The present study has some limitations. Due to inclusion and exclusion criteria initially proposed, the number of women included in this study evaluated was small. In addition, we did not evaluate other antioxidants in diet that can affect cells membrane integrity, such as catechins and flavonoids. In addition, we did not evaluate the effect of isoflavone supplementation on oxidative stress parameters and cell membrane damage.

Therefore, we concluded that isoflavone supplementation did not change PhA in PW that realized 10 weeks of combined aerobic and resistance exercise training. Future studies are needed evaluating the changes in PhA values testing isoflavone supplementation in different doses and types, and also associating with other types of exercise, such as resistance exercise isolated.

Acknowledgments

FAPEMIG, CAPES and CNPQ for financial support.

Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interests.

Ethics declaration: All experimental procedures were conducted in accordance with the guidelines in the Declaration of Helsinki and approved by the Bioethics Committee of Federal University of Uberlandia in Brazil.

REFERENCES

- [1] Asikainen TM, Kukkonen-Harjula K, Miilunpalo S. Exercise for health for early postmenopausal women: a systematic review of randomised controlled trials. *Sports Med.* 2004;34:753-78.
- [2] Sowers MZ, H.; Tomey, K.; Karvonen-Gutierrez, C.; Jannausch, M.; Li, X.; Yosef, M.; Symons, J. Changes in body composition in women over six years at midlife: ovarian and chronological aging. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:895-901.
- [3] Chilibeck PD, Vatanparast H, Pierson R, Case A, Olatunbosun O, Whiting SJ, et al. Effect of exercise training combined with isoflavone supplementation on bone and lipids in postmenopausal women: a randomized clinical trial. *J Bone Miner Res.* 2013;28:780-93.
- [4] Howes JB, Sullivan D, Lai N, Nestel P, Pomeroy S, West L, et al. The effects of dietary supplementation with isoflavones from red clover on the lipoprotein profiles of post menopausal women with mild to moderate hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis.* 2000;152:143-7.
- [5] Panneerselvam S, & Packirisamy, R. M. Protective Effect of Soy Isoflavones (from Glycine max) on Adipose Tissue Oxidative Stress and Inflammatory Response in an Experimental Model of Post-menopausal Obesity: The Molecular Mechanisms. *Biochemistry & Analytical Biochemistry.* 2016;5.
- [6] Camina Martin MA, de Mateo Silleras B, Barrera Ortega S, Dominguez Rodriguez L, Redondo del Rio MP. Specific bioelectrical impedance vector analysis (BIVA) is more accurate than classic BIVA to detect changes in body composition and in nutritional status in institutionalised elderly with dementia. *Exp Gerontol.* 2014;57:264-71.
- [7] Gupta D, Lammersfeld CA, Vashi PG, King J, Dahlk SL, Grutsch JF, et al. Bioelectrical impedance phase angle as a prognostic indicator in breast cancer. *BMC Cancer.* 2008;8:249.
- [8] de França NAG, Callegari, A., Gondo, F. F., Corrente, J. E., Mclellan, K. C. P., Burini, R. C., & de Oliveira, E. P. Higher dietary quality and muscle mass decrease the odds of low phase angle in bioelectrical impedance analysis in Brazilian individuals. *Nutrition and Dietetics.* 2016.
- [9] Bonaccorsi G, Santomauro F, Lorini C, Indiani L, Pellegrino E, Pasquini G, et al. Risk of malnutrition in a sample of nonagenarians: Specific versus classic bioelectrical impedance vector analysis. *Nutrition.* 2016;32:368-74.
- [10] Barbosa-Silva MC, Barros AJ, Wang J, Heymsfield SB, Pierson RN, Jr. Bioelectrical impedance analysis: population reference values for phase angle by age and sex. *Am J Clin Nutr.* 2005;82:49-52.
- [11] Islam F, Sparkes C, Roodenrys S, Astheimer L. Short-term changes in endogenous estrogen levels and consumption of soy isoflavones affect working and verbal memory in young adult females. *Nutr Neurosci.* 2008;11:251-62.

- [12] Almeida IM, Rodrigues F, Sarmiento B, Alves RC, Oliveira MB. Isoflavones in food supplements: chemical profile, label accordance and permeability study in Caco-2 cells. *Food Funct.* 2015;6:938-46.
- [13] Ho SC, Chen YM, Ho SS, Woo JL. Soy isoflavone supplementation and fasting serum glucose and lipid profile among postmenopausal Chinese women: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Menopause.* 2007;14:905-12.
- [14] Hooper L, Ryder JJ, Kurzer MS, Lampe JW, Messina MJ, Phipps WR, et al. Effects of soy protein and isoflavones on circulating hormone concentrations in pre- and post-menopausal women: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2009;15:423-40.
- [15] Wiseman H, O'Reilly JD, Adlercreutz H, Mallet AI, Bowey EA, Rowland IR, et al. Isoflavone phytoestrogens consumed in soy decrease F(2)-isoprostane concentrations and increase resistance of low-density lipoprotein to oxidation in humans. *Am J Clin Nutr.* 2000;72:395-400.
- [16] Selvaraj S, Krishnaswamy S, Devashya V, Sethuraman S, Krishnan UM. Influence of membrane lipid composition on flavonoid-membrane interactions: Implications on their biological activity. *Prog Lipid Res.* 2015;58:1-13.
- [17] Roghani T, Torkaman G, Movassegh S, Hedayati M, Goosheh B, Bayat N. Effects of short-term aerobic exercise with and without external loading on bone metabolism and balance in postmenopausal women with osteoporosis. *Rheumatol Int.* 2013;33:291-8.
- [18] Souza MF, Tomeleri CM, Ribeiro AS, Schoenfeld BJ, Silva AM, Sardinha LB, et al. Effect of resistance training on phase angle in older women: A randomized controlled trial. *Scand J Med Sci Sports.* 2016.
- [19] Riesco E, Choquette S, Audet M, Tessier D, Dionne IJ. Effect of exercise combined with phytoestrogens on quality of life in postmenopausal women. *Climacteric.* 2011;14:573-80.
- [20] WHO. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Geneva: World Health Organization. 1998.
- [21] Lipschitz DA. Screening for nutritional status in the elderly. *Primary care.* 1994;21:55-67.
- [22] Lohman TG, Roche A. F., Martorell, R. Anthropometric standardization reference manual. In: Champaign IHKB, ©1988, editor. 1988.
- [23] Segal KR, Van Loan M, Fitzgerald PI, Hodgdon JA, Van Itallie TB. Lean body mass estimation by bioelectrical impedance analysis: a four-site cross-validation study. *Am J Clin Nutr.* 1988;47:7-14.
- [24] Janssen I, Heymsfield SB, Baumgartner RN, Ross R. Estimation of skeletal muscle mass by bioelectrical impedance analysis. *J Appl Physiol (1985).* 2000;89:465-71.
- [25] USDA. Food Composition Databases. United States Department of Agriculture. Release 20 slightly revised. 2007.
- [26] Nieman D. Exercise Testing and Prescription. A Health-Related Approach 2010.
- [27] Bruce RA, Kusumi F, Hosmer D. Maximal oxygen intake and nomographic assessment of functional aerobic impairment in cardiovascular disease. *Am Heart J.* 1973;85:546-62.
- [28] Dos Santos L, Cyrino ES, Antunes M, Santos DA, Sardinha LB. Changes in phase angle and body composition induced by resistance training in older women. *Eur J Clin Nutr.* 2016;70:1408-13.
- [29] Orsatti FL, Nahas EA, Nahas-Neto J, Maesta N, Orsatti CL, Fernandes CE. Effects of resistance training and soy isoflavone on body composition in postmenopausal women. *Obstet Gynecol Int.* 2010;2010:156037.

TABLES AND FIGURES

Table 1. Anthropometric, dietary, and physical characteristics of postmenopausal women at baseline.

	Isoflavone (n= 16)	Placebo (n = 14)	p-value
Age (years)	56.1 ± 5.5	52.7 ± 4.4	0.077
<i>Anthropometry parameters</i>			
Weight (kg)	65.1 ± 8.9	64.5 ± 7.7	0.839
Height (m)	1.57 ± 0.1	1.55 ± 0.1	0.396
BMI (kg/m ²)	26.2 ± 3.5	26.4 ± 2.2	0.810
<i>Bioelectrical Impedance</i>			
Phase Angle (°)	6.7 ± 0.7	7.22 ± 1.0	0.159
Capacitance (F)	615.6 ± 76.9	658.2 ± 92.6	0.179
Resistance (Ω)	604.9 ± 38.6	604.0 ± 29.4	0.941
Reactance (ohms)	67.9 ± 18.5	76.6 ± 12.1	0.145
Total Body Water/MM (%)	72.7 ± 1.2	73.2 ± 1.5	0.390
Body Fat mass (%)	36.7 ± 4.3	36.5 ± 3.2	0.889
Fat-free mass (kg)	40.92 ± 3.82	40.84 ± 4.50	0.958
<i>Dietary intake assessment</i>			
Energy (kcal)	1614.2 ± 319.2	1911.4 ± 339.1	.022
Protein (g)	60.6 ± 16.4	70.02 ± 15.9	0.134
Protein (%)	15.0 ± 2.4	14.7 ± 2.6	0.776
Protein (g/kg)	0.9 ± 0.2	1.1 ± 0.3	0.179
Carbohydrate (g)	206.6 ± 42.1	223.5 ± 48.5	0.322
Carbohydrate (%)	51.4 ± 5.9	47.1 ± 7.3	0.091
Lipids (g)	63.6 ± 16.8	82.8 ± 27.0	0.027
Lipids (%)	35.2 ± 5.6	38.5 ± 8.0	0.204
Fiber (g)	17.3 ± 6.2	17.2 ± 6.3	0.970
Vitamin C (mg)	125.2 (14.9 – 599.9)	122.8 (37.2 – 1479.7)	0.518
<i>Exercise test</i>			
1-RM leg press (kg)	147.5 ± 37.8	169.1 ± 37.1	0.126
6-minute walk test (m)	647.3 ± 40.8	618.5 ± 59.2	0.137

BMI, body mass index.

Table 2. Dietary intake before and after intervention in postmenopausal women.

Variables	Isoflavone			Placebo			<i>p</i> -value			
	PRE	POST	DELTA (Δ)	PRE	POST	DELTA (Δ)	Δ	Group	Time	Group x Time Interaction
Energy (kcal)	1614.23 ± 319.29	1539.67 ± 384.92	-74.56 ± 299.70	1911.43 ± 339.17	1690.55 ± 417.71	-84.34 ± 506.86	0.948	0.052	0.050	0.401
Protein (g)	60.67 ± 16.47	57.66 ± 15.87	-3.00 ± 16.65	70.02 ± 15.94	62.38 ± 20.28	-2.64 ± 22.53	0.959	0.188	0.145	0.579
Protein (%)	15.01 ± 2.41	15.09 ± 2.58	0.07 ± 3.28	14.74 ± 2.61	14.72 ± 2.52	1.02 ± 2.31	0.537	0.618	0.924	0.814
Protein (g/kg)	0.95 ± 0.27	0.92 ± 0.30	-0.02 ± 0.27	1.10 ± 0.32	0.97 ± 0.31	-0.05 ± 0.38	0.841	0.295	0.193	0.398
Carbohydrate (g)	206.61 ± 42.12	193.74 ± 50.52	-12.86 ± 49.12	223.57 ± 48.58	209.08 ± 63.82	1.47 ± 65.76	0.501	0.274	0.246	0.868
Carbohydrate (%)	51.43 ± 5.95	50.58 ± 5.80	-0.84 ± 7.80	47.11 ± 7.32	49.22 ± 6.90	5.47 ± 15.24	0.156	0.143	0.698	0.350
Lipids (g)	63.61 ± 16.81	61.84 ± 19.36	-1.76 ± 16.99	82.82 ± 27.27	69.64 ± 17.38	-7.26 ± 32.12	0.555	0.028*	0.140	0.276
Lipids (%)	35.26 ± 5.63	35.78 ± 5.77	0.52 ± 6.47	38.57 ± 8.07	37.38 ± 5.07	1.56 ± 12.75	0.775	0.193	0.839	0.562
Fiber (g)	17.34 ± 6.23	15.01 ± 5.48	-2.33 ± 6.51	17.25 ± 6.33	15.25 ± 5.22	-0.77 ± 8.73	0.579	0.931	0.054	0.953

Table 3. Differences in body composition, physical activity, and bioimpedance parameters in postmenopausal women before and after the intervention.

	Isoflavone (n = 16)			Placebo (n = 14)			<i>p-value</i>			
	PRE	POST	DELTA (Δ)	PRE	POST	DELTA (Δ)	Δ	Group	Time	Group X Time Interaction
Weight (kg)	65.13 \pm 8.96	64.27 \pm 9.07	-0.856 \pm 5.20	64.50 \pm 7.77	64.57 \pm 8.17	0.07 \pm 1.59	0.527	0.957	0.593	0.528
Height (m)	1.57 \pm 0.04	1.57 \pm 0.04	0.001 \pm 0.006	1.55 \pm 0.06	1.56 \pm 0.05	-0.01 \pm 0.03	0.209	0.557	0.324	0.210
BMI (kg/m ²)	26.22 \pm 3.51	25.92 \pm 3.59	0.296 \pm 2.11	26.49 \pm 2.27	26.17 \pm 2.69	0.31 \pm 1.55	0.977	0.814	0.381	0.978
Waist Circumference (cm)	81.40 \pm 8.63	81.21 \pm 8.28	-0.181 \pm 2.80	81.21 \pm 6.50	80.42 \pm 6.63	-0.78 \pm 3.44	0.600	0.860	0.403	0.600
Phase Angle (°)	6.75 \pm 0.78	6.79 \pm 0.67	0.04 \pm 0.58	7.22 \pm 1.02	6.82 \pm 0.53	-0.40 \pm 0.99	0.136	0.304	0.227	0.137
Resistance (Ω)	604.94 \pm 38.69	609.60 \pm 46.74	4.656 \pm 25.65	604.00 \pm 29.42	589.5 \pm 43.92	-14.47 \pm 21.76	0.037*	0.463	0.272	0.037*
Reactance (Ω)	67.93 \pm 18.58	72.41 \pm 7.44	4.481 \pm 16.95	76.66 \pm 12.16	70.67 \pm 9.05	-5.99 \pm 10.78	0.057	0.367	0.777	0.057
Capacitance (F)	615.58 \pm 76.97	617.87 \pm 85.11	2.187 \pm 58.03	658.28 \pm 92.69	638.50 \pm 50.70	-19.78 \pm 95.70	0.446	0.214	0.542	0.447
Total Body Water/MM (%)	72.76 \pm 1.28	72.69 \pm 1.27	-0.069 \pm 0.417	73.21 \pm 1.55	73.10 \pm 1.31	-0.11 \pm 0.74	0.835	0.384	0.407	0.836
Fat-free Mass (kg)	40.92 \pm 3.82	40.47 \pm 3.33	-0.442 \pm 2.19	40.84 \pm 4.50	41.07 \pm 4.79	0.23 \pm 0.85	0.289	0.862	0.743	0.289
Fat Mass (kg)	24.21 \pm 6.12	23.79 \pm 6.70	-0.415 \pm 3.07	23.65 \pm 4.19	23.49 \pm 4.23	-0.16 \pm 0.83	0.768	0.831	0.502	0.769
Body Fat (%)	36.72 \pm 4.34	36.44 \pm 5.01	-0.278 \pm 2.15	36.52 \pm 3.27	36.23 \pm 3.14	-0.28 \pm 0.52	0.987	0.890	0.348	0.987
1-RM Leg press (kg)	147.56 \pm 37.82	229.37 \pm 50.75	81.81 \pm 34.95	169.14 \pm 37.10	248.21 \pm 41.49	79.07 \pm 34.90	0.831	0.163	<0.001	0.832
6-minute walk test (m)	647.30 \pm 40.82	687.53 \pm 33.40	37.71 \pm 28.18	618.57 \pm 59.23	652.50 \pm 55.73	33.92 \pm 52.21	0.803	0.059	<0.001	0.684

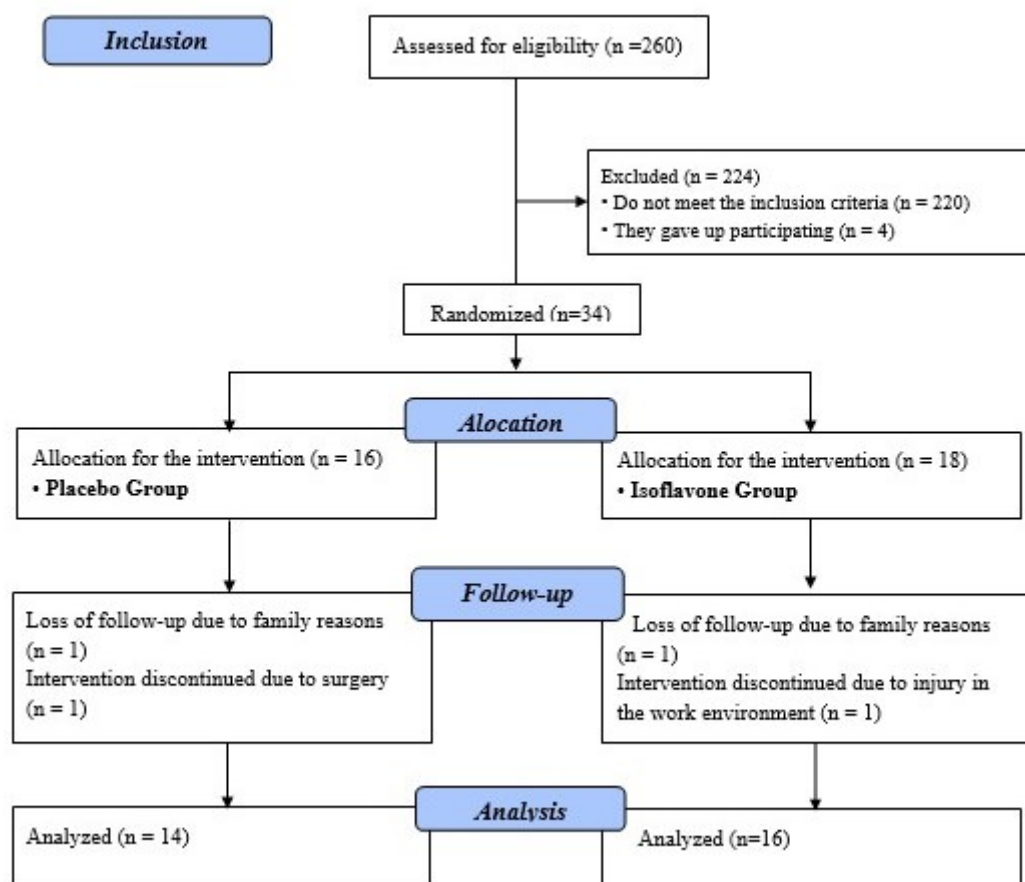


Figure 1. Follow chart of research volunteers.

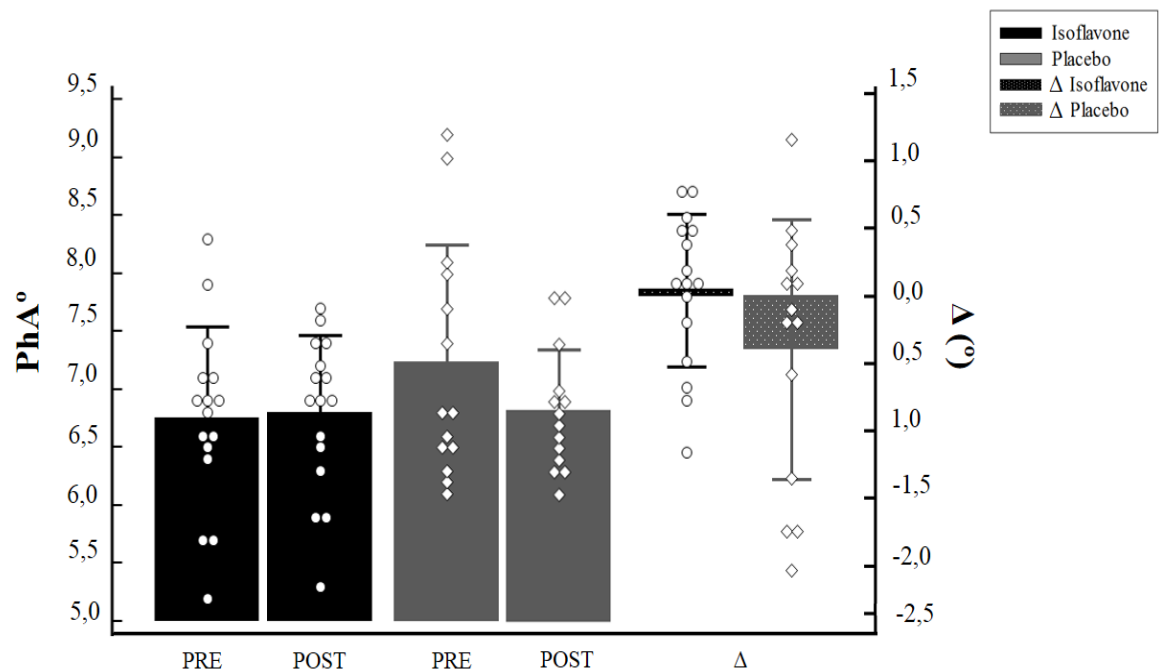


Figure 2. Phase angle values in isoflavone and placebo groups at baseline and after intervention. *PhA*, phase angle. Pré vs post intervention - repeated measures ANOVA; group $p = 0.304$; time $p = 0.227$; group x time interaction $p = 0.137$; Delta comparison – t-independent test; $p = 0.136$