

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

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ISOFLAVONAS ASSOCIADAS AO
TREINAMENTO COM EXERCÍCIOS FÍSICOS COMBINADOS NOS NÍVEIS
LIPÍDICOS, MARCADORES INFLAMATÓRIOS E DE ESTRESSE OXIDATIVO EM
MULHERES PÓS-MENOPÁUSADAS**

JÉSSICA SANJULIANO GIOLO

UBERLÂNDIA

2018

JÉSSICA SANJULIÃO GIOLO

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ISOFLAVONAS ASSOCIADAS AO
TREINAMENTO COM EXERCÍCIOS FÍSICOS COMBINADOS NOS NÍVEIS
LIPÍDICOS, MARCADORES INFLAMATÓRIOS E DE ESTRESSE OXIDATIVO EM
MULHERES PÓS MENOPAUASADAS**

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. Guilherme Morais Puga

UBERLÂNDIA

2018

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

- G496e
2018 Giolo, Jéssica Sanjulião, 1992
 Efeitos da suplementação de isoflavonas associadas ao treinamento
 com exercícios físicos combinados nos níveis lipídicos, marcadores
 inflamatórios e de estresse oxidativo em mulheres pósmenopausadas /
 Jéssica Sanjulião Giolo. - 2018.
 45 f. : il.
- Orientador: 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.2018.193>
 Inclui bibliografia.
1. Ciências médicas - Teses. 2. Menopausa - Teses. 3. Citocinas -
 Teses. 4. Exercícios físicos para mulheres - Teses. I. Puga, Guilherme
 Morais. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-
 Graduação em Ciências da Saúde. III. Título.

CDU: 61

FOLHA DE APROVAÇÃO

Jéssica Sanjulião Giolo

Efeitos da suplementação de isoflavonas associadas ao treinamento com exercícios físicos combinados nos níveis lipídicos, marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo em mulheres pós-menopausadas

Presidente da banca (orientador): Prof. Dr. Guilherme Morais Puga

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

Banca Examinadora

Titular: Prof. Dra. Cíbele Aparecida Crispim

Instituição: Universidade Federal de Uberlândia (UFU)

Titular: Prof. Dr. Fábio Lera Orsatti

Instituição: Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM)

*Aos meus queridos pais, Delma e Cláudio, por
todo amor e incentivo à minha formação
profissional.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por toda luz, paciência e força durante o período de realização deste trabalho.

Agradeço imensamente ao meu orientador Prof. Dr. Guilherme Morais Puga pelos 5 anos de trabalho que tivemos juntos. Agradeço por toda sua confiança, paciência, sabedoria e dedicação. Obrigada por ser o exemplo de profissional e pessoa que você é, por ter me ajudado por todos esses anos (da graduação ao mestrado) e por compartilhar seu conhecimento comigo. Sou grata porque isso tudo não só contribuiu para que eu me tornasse uma profissional melhor, mas com certeza, contribuiu também para que eu me tornasse uma pessoa melhor.

Agradeço à Universidade Federal de Uberlândia e ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde pela oportunidade de realizar este projeto. Agradeço também à Faculdade de Educação Física por possibilitar a execução deste trabalho.

Agradeço a todos os integrantes do Laboratório de Fisiologia Cardiorrespiratória e Metabólica (LAFICAM), especialmente à Juliene pela parceria e paciência durante todo esse processo. Obrigada Ju, por compartilhar e me acompanhar em absolutamente todas as etapas deste trabalho (do piloto à revisão do material escrito) e por me socorrer nas dúvidas e urgências que eventualmente apareciam. Um agradecimento especial também à Ana Luiza, Igor e Priscila pelo apoio e pela ajuda durante todo esse caminho do mestrado. Agradeço ao grupo “Tchegas do lab” pelas conversas, apoio e momentos de descontração.

Agradeço aos professores, técnicos, mestrandos e doutorandos do Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular – LABIBI e do Instituto de Ciências Biomédicas – ICBIM pela parceria nas análises das amostras sanguíneas. Agradeço especialmente à Adriele Vieira de Souza não só pelas análises, mas também por todo conhecimento compartilhado, paciência e disponibilidade para ajudar sempre que eu precisei.

Agradeço às agências de fomento FAPEMIG e CNPq pelo apoio financeiro.

Agradeço a todas as mulheres que participaram deste projeto, por toda dedicação durante o treinamento, pelo apoio e compreensão da importância deste trabalho.

Agradeço aos meus pais que embora não tenham participação direta na realização deste estudo, são minha base, meu porto seguro e o mais importante que eu tenho na minha vida. Obrigada por todo amor, apoio e dedicação.

Agradeço à todos os amigos que sempre estiveram comigo, me apoiando e respeitando minhas escolhas durante essa jornada. Obrigada especialmente à Milany, Guilherme, Vanessa e Camila.

Agradeço à todos que direta ou indiretamente tornaram esse projeto possível.

RESUMO

Introdução: O exercício físico ou o consumo de isoflavonas podem melhorar o estado inflamatório e o estresse oxidativo, mas o efeito da combinação dessas duas intervenções ainda não é claro na literatura. Nossa hipótese foi que as isoflavonas podem aumentar os efeitos benéficos do exercício. **Objetivo:** Este estudo testou os efeitos aditivos da suplementação de isoflavonas ao treinamento com exercícios combinados sobre níveis plasmáticos de lipídios, marcadores inflamatórios e estresse oxidativo em mulheres pósmenopausadas. **Material e métodos:** Trinta e duas mulheres pósmenopausadas saudáveis, não obesas e sem terapia hormonal foram alocadas aleatoriamente para os grupos de exercício + placebo (EXE + PLA, n = 15) ou exercício + suplementação de isoflavonas (EXE + ISO, n = 17). Elas realizaram 30 sessões durante dez semanas de exercícios combinados (aeróbico + resistido) e consumiram 100 mg de isoflavonas ou placebo. As amostras de sangue foram coletadas após jejum noturno para analisar o perfil lipídico, interleucina-6, interleucina-8, superóxido dismutase (SOD), capacidade antioxidante total (FRAP) e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) antes e após as dez semanas de intervenção. **Resultados:** Não houve diferença nas mudanças (pré vs pós) entre grupos em qualquer um dos marcadores inflamatórios, estresse oxidativo ou variáveis de perfil lipídico. No entanto, apenas o EXE + PLA apresentou alterações significativas ($p \leq 0,05$) no colesterol total ($\Delta = -13,07$ mg/dL) e a interleucina-8 foi diferente entre o pré e pós intervenção ($p < 0,001$) em ambos os grupos ($\Delta = 7,61$ e $5,61$ pg/mL). **Conclusão:** A combinação da suplementação de isoflavonas com treinamento físico não alterou os marcadores de estresse oxidativo em mulheres na pós-menopausa, mas esse treinamento de exercícios aumenta a IL-8, e a isoflavona aparentemente bloqueia os efeitos induzidos pelo exercício sobre os níveis de colesterol no sangue.

Palavras-chave: Exercício físico aeróbico e resistido; Proteína da soja; Menopausa; Citocinas; Sistema antioxidante.

ABSTRACT

Introduction: Physical exercise or isoflavone consumption may improve the inflammatory state and oxidative stress, but the effect of the combination of these two interventions is not yet clear in the literature. Our hypothesis was that isoflavones may enhance the beneficial effects of exercise. **Objective:** This study tested the effect of isoflavone supplementation in addition to combined exercise training on plasma lipid levels, inflammatory markers and oxidative stress in postmenopausal women. **Material and methods:** Thirty-two healthy and non-obese postmenopausal women without hormone therapy were randomly assigned to exercise+placebo (EXE+PLA, n=15) or exercise+isoflavone supplementation (EXE+ISO, n=17) groups. They performed 30 sessions during ten weeks of combined exercises (aerobic plus resistance), and consumed 100 mg of isoflavone supplementation or placebo. Blood samples were collected after an overnight fast to analyze the lipid profile, interleukin-6, interleukin-8, superoxide dismutase (SOD), total antioxidant capacity (FRAP), and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) before and after ten weeks of the intervention. **Results:** There were no differences in the changes (pre vs post) between groups in any of the inflammatory markers, oxidative stress, or lipid profile variables. However, only EXE+PLA presented significant changes ($p \leq 0.05$) in total cholesterol ($\Delta = -13.07$ mg / dL), and interleukin-8 was different between pre and posttests ($p < 0.001$) in both groups ($\Delta = 7.61$ and 5.61 pg / mL). **Conclusion:** The combination of isoflavone supplementation and exercise training did not alter oxidative stress markers in postmenopausal women, but this exercise training increase IL-8, and the isoflavone apparently blunts the exercise-induced effects on blood cholesterol levels.

Keywords: Aerobic and Resistance exercises; Soy protein; Menopause; Cytokines; Anti oxidant system.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Fluxograma com a distribuição dos participantes no estudo.....	29
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Comparação do perfil lipídico, glicose, hemoglobina glicada e ácido úrico nos momentos pré e pós intervenção nos grupos placebo (EXE + PLA) e isoflavonas (EXE + ISO)	31-32
Tabela 2: Comparação dos marcadores inflamatórios e de estresse oxidativos nos momentos pré e pós intervenção nos grupos placebo (EXE + PLA) e isoflavonas (EXE + ISO).....	32-33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1RM	<i>1 Repetition Maximum</i> / 1 Repetição Máxima
BMI	<i>Body mass index</i> / Índice de massa corporal
CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
CT	Colesterol Total
DCNT	Doenças Crônicas Não Transmissíveis
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i> / Ácido desoxirribonucleico
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
FRAP	<i>Ferric Reducing Ability of Plasma</i> / Capacidade de Redução Férrica no Plasma
HbA1c	<i>Glycated Hemoglobin</i> / Hemoglobina Glicada
HDL	<i>High Density Lipoprotein</i> / Lipoproteína de Alta Densidade
ICAM-1	<i>Intercellular adhesion molecule</i> / Molécula de adesão intercelular
IL-1	Interleucina-1
IL1- β	Interleucina-1-Beta
IL-6	Interleucina-6
IL-8	Interleucina-8
IL-10	Interleucina-10
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i> / Lipoproteína de Baixa Densidade
PCR	Proteína C-reativa
SOD	<i>Superoxide dismutase</i> / Superoxido dismutase
TBARS	<i>Thiobarbituric acid reactive substances</i> / Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico
TH	Terapia Hormonal
TNF- α	<i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i> / Fator de Necrose Tumoral Alfa
VE	<i>Ventilation</i> / Ventilação
VLDL	<i>Very low density lipoprotein</i> / Lipoproteína de muito baixa densidade
VO ₂	<i>Volume of oxygen consumption</i> / Volume de consumo de oxigênio
VCO ₂	<i>Volume of carbono dioxide</i> / Volume de dióxido de carbono
VT1	<i>Ventilatory Threshold 1</i> / Limiar ventilatório 1
VT2	<i>Ventilatory Threshold 2</i> / Limiar ventilatório 2

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13-14
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	15
2.1 Climatério.....	15
2.2 Principais alterações na pós-menopausa.....	16
2.2.1 Inflamação.....	16
2.2.2 Estresse Oxidativo.....	16-17
2.3 Terapia hormonal (TH) na pós-menopausa.....	17-18
2.4 Isoflavonas.....	18-20
2.5 Exercícios Físicos.....	20-23
2.6 Exercícios físicos associados à suplementação de isoflavonas.....	23-24
3 OBJETIVOS.....	25
4 ARTIGO: The effects of isoflavone supplementation plus combined exercise on lipid levels, inflammatory or oxidative stress markers in postmenopausal women.....	26-37
5 REFERÊNCIAS.....	38-43
APÊNDICE 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	44-45

1 INTRODUÇÃO

O período após a menopausa está relacionado a diversas alterações fisiológicas que incluem o aumento nos níveis circulantes de citocinas pró-inflamatórias (SADASHIV et al., 2015), mudanças na composição corporal e no perfil lipídico (ANAGNOSTIS et al., 2015), além de um desequilíbrio no sistema pró e antioxidante (SIGNORELLI et al., 2006). Estas alterações refletem em um ambiente mais propício ao desenvolvimento de doenças crônicas e acontecem principalmente devido à deficiência na produção de estrogênio, hábitos de vida não saudáveis e ao sedentarismo (BLÜMEL et al., 2016; ZANESCO; ZAROS, 2009).

O consumo de fitoestrogênios, como as isoflavonas (compostos derivados da soja), é comum entre mulheres na pós-menopausa por possuírem estrutura e ação similares ao estradiol (BORRELLI; ERNST, 2010). Os principais benefícios promovidos por essa proteína da soja estão relacionados com as suas propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes que podem minimizar os efeitos da deficiência de estrógeno protegendo mulheres na pós-menopausa contra doenças cardiovasculares e metabólicas (CHRISTIE et al., 2010a; DHARMA et al., 2013; HUANG et al., 2005). No entanto, existem estudos que não encontraram nenhum efeito com a ingestão de isoflavonas nessa população (GARRIDO et al., 2006; RIOS et al., 2008).

Além das isoflavonas, o exercício físico também é uma alternativa de prevenção e controle de doenças cardiometabólicas. Estudos mostraram que a prática do exercício aumenta as defesas antioxidantes e reduzem o estresse oxidativo a longo prazo (SARIFAKIOĞLU et al., 2014; SHIN et al., 2008). Da mesma forma, o exercício crônico, seja ele aeróbio, resistido ou combinado (aeróbio + resistido), pode melhorar o perfil lipídico, reduzir biomarcadores pró-inflamatórios circulantes e aumentar as citocinas anti-inflamatórias (GLEESON et al., 2011; HO et al., 2013; PARK et al., 2003).

Devido às evidências que demonstraram os benefícios da suplementação de isoflavonas ou da prática do exercício físico, alguns estudos investigaram a associação destas duas terapias com intuito de verificar possíveis efeitos aditivos. De fato, alguns autores encontraram melhorias em fatores de risco como a lipoproteína de alta densidade (HDL) (WU et al., 2006), composição corporal, e níveis circulantes de proteína C-reativa (PCR) com essa associação em mulheres pós-menopausadas (LEBON et al., 2014). Porém, podemos encontrar na literatura, ensaios clínicos que não encontraram efeitos adicionais das isoflavonas ao exercício (ORSATTI et al., 2010; RIESCO et al., 2012) ou, até mesmo, que detectaram efeitos adversos como o aumento do agente pró-inflamatório TNF- α (LEBON et al., 2014) e uma redução na densidade

mineral óssea (CHILIBECK et al., 2013) indicando que ainda existem lacunas a respeito dessa associação.

Em nosso conhecimento este é o primeiro estudo a analisar os efeitos da associação da suplementação de isoflavonas com o exercício físico combinado em parâmetros relacionados ao estresse oxidativo em mulheres pós-menopausadas, e um dos poucos a avaliar as respostas de marcadores inflamatórios com esse tipo de intervenção. Sendo assim, justifica-se a relevância deste trabalho pela necessidade de verificar se essa associação atende a hipótese de que as isoflavonas potencializarão os possíveis efeitos benéficos do exercício físico combinado.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Climatério

O climatério é determinado como o período de transição fisiológica da fase reprodutiva para a fase não reprodutiva da mulher e é caracterizado, principalmente, por desregulações na produção de hormônios sexuais femininos. Inicia-se normalmente entre 35 e 40 anos, sendo frequentemente acompanhado por sintomas característicos e alterações fisiológicas. Esse período é dividido em: pré-menopausa, perimenopausa, menopausa e pós-menopausa (TAECHAKRAICHANA et al., 2002).

O estrogênio, classificado como um hormônio sexual feminino, tem como função principal a manutenção e o desenvolvimento dos órgãos reprodutores e glândulas mamárias. Além disso, o estrogênio contribui em vários processos sistêmicos atuando com diversos efeitos benéficos para a saúde da mulher (ANTUNES; MARCELINO; AGUIAR, 2003). Dentre esses efeitos benéficos estão ações anti-inflamatórias e vasoprotetoras que incluem a liberação de substâncias vasodilatadoras, assim como a diminuição do estresse oxidativo vascular. Esse hormônio é encontrado principalmente de três formas dominantes no organismo feminino: o estriol, a estrona e o mais potente deles, o estradiol (MENDELSON; KARAS, 1999).

O período denominado pós-menopausa inicia-se após a fase em que ocorre a cessação espontânea e permanente da menstruação da mulher por pelo menos 12 meses. Nessa fase ocorre mínima ou nenhuma liberação de estrogênio e isto está associado a uma inclinação acentuada no risco de desenvolver doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) (ANTUNES; MARCELINO; AGUIAR, 2003). A mortalidade por DCNT chega a mais de 70% de todas as causas de óbito no Brasil e dentre as principais doenças envolvidas estão as doenças cardiovasculares, as respiratórias crônicas, o câncer e diabetes (IBGE, 2015).

De fato, um estudo mostrou que mulheres após a menopausa (n=97.577) apresentam maior probabilidade de desenvolver doenças cardiovasculares quando comparadas aos homens de mesma idade (n=79.944) (DAUGHERTY et al., 2013). Sendo assim, como a expectativa de vida para o sexo feminino chega a 79 anos (IBGE, 2015) e as mulheres passam 1/3 de suas vidas no período do climatério torna-se grande a atenção dos profissionais da saúde no atendimento desta população.

2.2 Principais alterações na pós-menopausa

2.2.1 Inflamação

Uma das principais alterações no período da pós-menopausa é o aumento da gordura corporal total que consequentemente pode aumentar a inflamação. Um estudo que comparou mulheres na pré e na pós-menopausa saudáveis e não obesas demonstrou que o percentual de gordura foi maior e consequentemente a expressão das citocinas pró-inflamatórias interleucina-8 (IL-8) e interleucina-6 (IL-6) foi mais elevada nas biópsias do tecido adiposo subcutâneo abdominal no grupo de mulheres na pós-menopausa. Neste mesmo estudo, os níveis séricos de IL-8 e de PCR também foram maiores em mulheres pós-menopausadas, evidenciando assim, um perfil desfavorável de fatores de risco para doenças crônicas nessa população (ALVEHUS et al., 2012).

A IL-6 é uma importante mediadora de processos inflamatórios e seus níveis sanguíneos elevados estão associados à uma variedade de doenças incluindo artrite reumatoide, diabetes tipo 2 e câncer (MIHARA et al., 2012). Entretanto, mulheres saudáveis, não obesas e na pós-menopausa podem apresentar níveis séricos de IL-6 maiores quando comparadas a mulheres na pré-menopausa (KIM et al., 2012). O aumento desse marcador inflamatório nessa população, mesmo na ausência de doenças, está relacionado principalmente com a redução nos níveis de estradiol (YASUI et al., 2007). Além disso, a falta desse hormônio demonstrou aumentar também o receptor específico da IL-6, aumentando assim, a capacidade de resposta celular à essa citocina (GIRASOLE et al., 1999).

Outros marcadores inflamatórios como a interleucina-1 (IL-1), TNF- α e a PCR também aumentam com a deficiência de estrogênio (BARINAS-MITCHELL et al., 2001a; GAMEIRO; ROMÃO; CASTELO-BRANCO, 2010), sendo que os níveis de PCR podem ser ainda maiores em mulheres pós-menopausadas com adiposidade geral mais elevada do que em aquelas que perderam peso ou possuem um peso normal (BARINAS-MITCHELL et al., 2001a).

2.2.2 Estresse Oxidativo

O estresse oxidativo é caracterizado por um desequilíbrio entre agentes oxidantes e antioxidantes. Esse desequilíbrio favorece a ação de substâncias oxidantes como radicais livres

e espécies reativas de oxigênio (EROs) prejudicando a integridade de várias biomoléculas como proteínas, lipídios, lipoproteínas e ácido desoxirribonucleico (DNA) (MARNETT, 2000).

O desequilíbrio desses fatores também está relacionado com as mudanças fisiológicas após a menopausa. Um estudo observou que as reações de radicais livres foram maiores e a capacidade antioxidante total foi menor em mulheres na pós-menopausa em comparação com o grupo controle de mulheres na pré-menopausa (BEDNAREK-TUPIKOWSKA et al., 2004). Considerando que um dos papéis do estrogênio é proteger o organismo contra o estresse oxidativo através da redução na produção de EROs, a deficiência desse hormônio também é o principal responsável pelo aumento dos danos oxidativos e alterações nas enzimas antioxidantes em mulheres pós-menopausadas (ANTUNES; MARCELINO; AGUIAR, 2003).

Alguns autores demonstraram que o metabolismo lipídico é marcadamente alterado em mulheres após a menopausa, onde foram relatados anteriormente níveis maiores de colesterol total, triglicerídeos e lipoproteínas de baixa densidade (LDL) nessa população (GAMBACCIANI et al., 1999). Essas alterações no perfil lipídico são consideradas fatores de risco para doenças cardiovasculares e, apesar disso, o aumento na LDL está relacionado com o agravamento do estado oxidativo, pois essa lipoproteína é muito sensível à oxidação causada pelo excesso de radicais livres no organismo (STEINBERG, 1997).

Mittal e Kant (2009) observaram que mulheres pós-menopausadas saudáveis apresentaram maior peso corporal e que isso correlacionou significativamente com maior peroxidação lipídica e menor atividade da enzima antioxidante superóxido dismutase (SOD) quando comparadas a um grupo controle de mulheres jovens e a um grupo de mulheres na pré-menopausa (MITTAL; KANT, 2009).

Da mesma forma, os resultados de outro estudo indicam que mulheres pós-menopausadas saudáveis possuem concentrações de malondialdeído e os níveis de LDL oxidado maiores, além de menores níveis da enzima antioxidante glutathione peroxidase em comparação com as mulheres mais novas (SIGNORELLI et al., 2006). Logo, mulheres na pós-menopausa podem estar mais expostas ao estresse oxidativo não só pela deficiência de estrogênio, mas também pelo desequilíbrio no perfil lipídico e excesso de gordura corporal.

2.3 Terapia hormonal (TH) na pós-menopausa

Como a redução de estrogênio no período após a menopausa é a principal responsável pelas mudanças fisiológicas, espera-se que a administração desse hormônio resolva os

problemas e proteja as mulheres de desenvolver doenças crônicas. De fato, uma meta-análise de 18 estudos epidemiológicos sobre terapia hormonal na pós-menopausa concluiu que o uso de TH diminuiu o risco de câncer de cólon e retal em mulheres que faziam a terapia em comparação com mulheres pósmenopausadas que nunca tomaram hormônios (GRODSTEIN; NEWCOMB; STAMPFER, 1999). Em outro estudo, a mortalidade, a insuficiência cardíaca ou infarto do miocárdio também diminuíram com o uso de TH, porém esses benefícios estão relacionados ao tratamento hormonal precoce, ou seja, com menos de 10 anos após a menopausa (SCHIERBECK et al., 2012). Além disso, essa terapia pode reduzir os níveis séricos de IL-6 (STRAUB et al., 2000) e aumentar a atividade da SOD, além da capacidade antioxidante total de mulheres após a menopausa em comparação ao grupo controle sem tratamento (UNFER et al., 2015). Da mesma forma, a administração de estradiol reduziu a oxidação lipídica diretamente na parede arterial em modelo animal (ESCALANTE; MORA; BOLAÑOS, 2017).

No entanto, ainda que o tratamento com estrogênios possa promover benefícios em mulheres pósmenopausadas, existem resultados controversos na literatura que precisam ser considerados. Barinas-Mitchell e colaboradores (2001) observaram que as mulheres que tomavam TH apresentaram níveis mais altos de triglicerídeos, tecido adiposo subcutâneo inferior e PCR quando comparadas com as mulheres que não tomavam TH (BARINAS-MITCHELL et al., 2001). O tratamento com TH também está relacionado com o risco de acidente vascular cerebral (GRODSTEIN et al., 2000), assim como, com o risco de desenvolver tromboembolismo venoso (DALY et al., 1996). Outro grande problema associado a essa terapia é o risco de câncer de mama, onde o diagnóstico é maior em mulheres que usam TH e aumenta ainda mais com o uso contínuo e a longo prazo (CANCER, 1997).

2.4 Isoflavonas

Com os riscos do uso da terapia hormonal outras propostas para minimizar e controlar as alterações provenientes da deficiência de estrogênio após a menopausa vêm sendo adotadas nos últimos anos. Dentre elas, a ingestão de fitoestrogênios é uma forma de terapia alternativa. As isoflavonas como a genisteína, a dadzeína e a gliciteína, são os fitoestrogênios mais comuns no tratamento alternativo dessa população e são encontrados em alimentos como grãos da soja, trevo, lentilhas, feijão e grão de bico (ROSIC; KENDIC; ROSIC, 2013).

Esses compostos possuem uma distância entre seus dois grupos hidroxila igual à existente na molécula de 17β -estradiol e podem se ligar aos receptores estrogênicos permitindo

uma ação similar à do estradiol. A genisteína e a daidzeína se ligam preferencialmente aos receptores estrogênicos do tipo β presentes no rim, cérebro, osso, coração, pulmões, mucosa intestinal e células endoteliais e apresentam pouca afinidade pelos receptores α (MORITO et al., 2001).

Na natureza, as isoflavonas se encontram na forma glicosilada, biologicamente inativas. Após ingestão, as enzimas do trato gastrointestinal convertem as isoflavonas em fenóis heterocíclicos que são estruturalmente semelhantes ao 17β -estradiol. Posteriormente ao complexo mecanismo enzimático de conversão, são absorvidas as formas ativas e apropriadas para atravessar a membrana plasmática, as chamadas aglicolas (genisteína, daidzeína e gliciteína) (ESTEVES; MONTEIRO, 2001).

Em países asiáticos a tradição inclui um consumo diário de 20 a 150 mg de isoflavonas na dieta enquanto que a dieta ocidental é composta de 1 a 3 mg/dia. Esse alto consumo de soja na Ásia pode ser o responsável por menores incidências de câncer e doenças cardiovasculares nessas regiões (MESSINA, 2014).

Em uma meta-análise de 23 ensaios, a suplementação de isoflavonas foi associada a melhorias no perfil lipídico, onde os maiores benefícios foram relacionados a um consumo maior que 80 mg por dia (ZHAN; HO, 2005). Já outra meta-análise demonstrou que a suplementação desse composto da soja pode ser benéfica na redução do peso corporal, redução da glicose e controle da insulina no plasma em mulheres após a menopausa (ZHANG et al., 2013).

As isoflavonas também são conhecidas pelos seus efeitos anti-inflamatórios. Huang e colaboradores (2005) demonstraram que a ingestão de daidzeína e genisteína foi eficaz em reduzir os níveis circulantes de TNF- α em mulheres na pós-menopausa após 16 semanas de consumo (HUANG et al., 2005). Da mesma forma, a suplementação de isoflavonas por 3 meses diminuiu a gordura abdominal total e subcutânea, além de reduzir as concentrações séricas de IL-6 em mulheres obesas pós-menopausadas (CHRISTIE et al., 2010).

Outro papel importante que esses compostos da soja podem exercer inclui a neutralização de radicais livres concomitantemente ao melhoramento da capacidade de enzimas antioxidantes. Autores mostraram que o consumo de 100 mg de isoflavonas por dia pode reduzir a espécie reativa malondialdeído em mulheres após a menopausa (DHARMA et al., 2013). Além disso, 138 mg de isoflavonas, sendo 81 mg de daidzeína, aumentou a atividade da enzima antioxidante superóxido dismutase também em mulheres pós-menopausadas (DISILVESTRO

et al., 2005). Em modelo animal, esses compostos fitoestrogênicos foram responsáveis por aumentar a capacidade antioxidante total (OH et al., 2007) e aumentar a atividade das enzimas antioxidantes SOD e catalase hepáticas (YOON; PARK, 2014).

No entanto, mesmo diante de muitos estudos que apresentaram efeitos positivos, ainda existem resultados controversos. No estudo de Brandão e colaboradores (2009), marcadores de estresse oxidativo e a atividade de enzimas antioxidantes não foram diferentes após 4 meses de suplementação de 100 mg de isoflavonas em mulheres mais velhas (BRANDÃO et al., 2009). Em outro estudo, não foi encontrado nenhum efeito estrogênico biologicamente significativo das isoflavonas nos parâmetros relacionados ao perfil lipídico em mulheres brasileiras após a menopausa (RIOS et al., 2008). Garrido e colaboradores (2006) também não encontraram diferenças na pressão arterial, índice de massa corporal, gordura subcutânea, insulina e perfil lipídico com a suplementação de isoflavonas (GARRIDO et al., 2006). Com relação a inflamação, alguns autores não detectaram diferenças na IL-6 com o consumo de 101 mg de isoflavonas por 8 semanas em mulheres normotensas (NASCA; ZHOU; WELTY, 2008).

Além da ausência de efeitos com o consumo de isoflavonas, também podemos encontrar na literatura alguns resultados negativos desses compostos. No estudo de Jenkins e colaboradores (2002) os níveis de IL-6 aumentaram após 4 semanas de altas doses de isoflavonas em mulheres pós-menopausadas (JENKINS et al., 2002). Além disso, a exposição à genisteína a longo prazo está relacionada com o crescimento de células de câncer de mama em modelo animal (ANDRADE et al., 2015).

A divergência de resultados nos estudos com isoflavonas podem estar relacionados não só com variações nas características do sujeito, incluindo etnia, idade e até mesmo estado da flora intestinal, mas também com as diversas composições do suplemento, quantidades e tempo de ingestão.

2.5 Exercícios Físicos

O sedentarismo é considerado um fator de risco para a mortalidade prematura e está, na maioria das vezes, associado direta ou indiretamente às causas ou ao agravamento de diversas doenças como a obesidade, diabetes tipo 2 e hipertensão arterial (BISWAS et al., 2015). Atualmente, há um denso e crescente conhecimento que consolida o exercício físico como ferramenta crucial na promoção de saúde por meio do controle ou prevenção de doenças.

De forma aguda, o exercício físico promove o aumento do fluxo sanguíneo, do trabalho muscular, aumento na liberação de hormônios, no consumo de oxigênio, aceleração do metabolismo, entre outras alterações que podem acelerar a produção de EROs (GOMES; SILVA; OLIVEIRA, 2012). Porém, os efeitos cumulativos de várias sessões agudas de exercício aumentam de forma crônica as defesas antioxidantes e reduzem o estresse oxidativo (GOMES; SILVA; OLIVEIRA, 2012; SHIN et al., 2008).

Em um estudo com 41 mulheres saudáveis após a menopausa, Karolkiewicz e colaboradores (2009) encontraram que o exercício aeróbico moderado de 8 semanas foi eficaz em reduzir as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no plasma, a glicose sérica e a LDL, além de aumentar a capacidade antioxidante total e a atividade da enzima antioxidante glutathione peroxidase (KAROLKIEWICZ et al., 2009). Da mesma forma, Sarifakioglu e colaboradores (2014) demonstraram que o treinamento resistido combinado com o aeróbico também foi capaz de reduzir substâncias reativas e aumentar enzimas antioxidantes após 12 semanas em mulheres com fibromialgia (SARIFAKIOĞLU et al., 2014).

O exercício físico também possui função importante no sistema anti-inflamatório. Sua ação inclui reduções na liberação de agentes pró-inflamatórios pelos adipócitos através da diminuição na gordura visceral e total, além de aumentar as citocinas anti-inflamatórias liberadas pela musculatura esquelética (GLEESON et al., 2011). No entanto, Izzicupo e colaboradores (2017) demonstraram que a ação anti-inflamatória do exercício não é dependente da redução de gordura. Neste estudo, 13 semanas de exercício aeróbico moderado reduziu as concentrações de IL-8 e TNF- α , mas não alterou a composição corporal de mulheres pós-menopausadas (IZZICUPO et al., 2017).

Exercícios aeróbicos e resistidos de forma isolada podem promover benefícios, porém o exercício combinado pode ser uma estratégia melhor na redução da inflamação. Ho e colaboradores (2013) observaram que as concentrações de TNF- α de indivíduos com sobrepeso e obesos reduziram 20,8% no grupo de exercícios aeróbicos, 26,9% no grupo de exercícios resistidos e 32,6% no grupo combinado após 12 semanas de estudo (HO et al., 2013). Mais recentemente, Chagas e colaboradores (2017) também encontraram reduções no TNF- α de mulheres pós-menopausadas após 20 semanas de exercícios combinados (CHAGAS et al., 2017).

Algumas citocinas pró-inflamatórias quando liberadas pelo músculo através do estímulo do exercício podem promover funções distintas e importantes. A mais estudada e associada às respostas anti-inflamatórias do exercício físico é a IL-6. Após o exercício prolongado de

natureza aguda ocorre um aumento acentuado nos níveis circulantes de IL-6, porém esse aumento retorna aos níveis normais logo após o exercício (NIELSEN; PEDERSEN, 2007). Já no exercício crônico, acredita-se que este aumento agudo nas concentrações de IL-6 possa inibir a liberação de agentes pró-inflamatórios como o TNF- α e a interleucina-1 β (IL1- β), além de estimular células imunes a produzirem citocinas anti-inflamatórias como a IL-10 promovendo um efeito anti-inflamatório a longo prazo (PEDERSEN et al., 2007).

Além desse aumento de IL-6 derivado do exercício, a IL-8 também é liberada pelo músculo esquelético com a realização do exercício e possui uma função de angiogênese que é distinta da sua ação pró-inflamatória (PEDERSEN et al., 2007). No estudo de Nieman e colaboradores (2003), houve um aumento no mRNA de IL-8 em biópsias do músculo esquelético concomitantemente com um aumento nos níveis plasmáticos de IL-8 de indivíduos que completaram 3 horas de corrida (NIEMAN et al., 2003). Da mesma forma, o mRNA de IL-8 aumentou em resposta a 1 hora de exercício em bicicleta ergométrica, mas sem alteração na concentração plasmática de IL-8 (CHAN et al., 2004).

A IL-8 derivada do músculo interage com o receptor CXCR2 presente no endotélio dos capilares e estimula a angiogênese. Porém, acredita-se que sua ação seja local e seu efeito de forma endócrina ou paracrina (PEDERSEN et al., 2007).

Poucos estudos investigaram o comportamento da IL-8 no exercício crônico. Recentemente, Forti e colaboradores (2017) encontraram aumentos nas concentrações séricas de IL-8 no grupo que realizou um único exercício resistido de alta intensidade e no grupo que fez o mesmo exercício com alto volume e esforço máximo por 3 vezes na semana durante 9 semanas. Os autores associaram essa resposta à adaptação ao exercício intenso e acredita-se que isso possa ser responsável pela indução de angiogênese (FORTI et al., 2017). Por outro lado, outro estudo recente, encontrou reduções nos níveis de IL-8 após 13 semanas de exercício aeróbico moderado, porém as propriedades angiogênicas dosadas no soro melhoraram após o estudo (IZZICUPO et al., 2017).

Outros benefícios dos exercícios estão relacionados ao controle do perfil lipídico. A primeira meta-análise sobre o assunto documentou que o exercício pode exercer um efeito positivo no perfil lipídico das mulheres. No entanto, fatores como os valores iniciais dos lipídios e as alterações do peso corporal podem influenciar os resultados esperados do treinamento (LOKEY; TRAN, 1989). Ao comparar os tipos de exercícios no colesterol e suas frações, Mann e colaboradores (2014), em uma revisão, demonstraram que tanto o exercício aeróbico quanto o exercício resistido regular pode aumentar o HDL e reduzir os níveis de colesterol total, LDL e

triglicerídeos. Além disso, a adição do treinamento de resistência ao exercício aeróbio irá complementar e possivelmente aumentar os efeitos no perfil lipídico, embora haja literatura limitada comparando os três tipos de exercício (MANN; BEEDIE; JIMENEZ, 2014). Mais especificamente sobre o exercício combinado, Park e colaboradores (2003) observaram que este tipo de exercício de forma crônica reduziu de forma mais acentuada o colesterol total em mulheres obesas quando comparado ao exercício aeróbio isolado, demonstrando que a combinação do exercício resistido com o aeróbio é uma boa opção nessas variáveis (PARK et al., 2003).

2.6 Exercícios físicos associados à suplementação de isoflavonas

Diante das evidências a respeito dos benefícios dos exercícios físicos ou da suplementação de isoflavonas de forma isolada, alguns estudos investigaram a hipótese de efeitos aditivos desses fitoestrogênios quando associados ao exercício nos fatores de risco para o desenvolvimento de doenças crônicas. No entanto, ainda são poucos os estudos realizados e os resultados são mistos.

Em ratos ovariectomizados, a combinação do exercício físico de intensidade moderada com a suplementação de isoflavonas impediu a acumulação de gordura, aumentou a massa magra, restaurou a massa mineral óssea e reduziu o colesterol total de forma semelhante que a terapia com 17β -estradiol após 6 semanas de tratamento (WU et al., 2004). Outro estudo com característica amostral semelhante encontrou que a associação dessas duas intervenções foi capaz de melhorar o perfil lipídico e a capacidade antioxidante total após 12 semanas de intervenção, porém a enzima antioxidante glutathione reduziu no grupo associado quando comparado ao grupo que fez apenas a suplementação de isoflavonas (OH et al., 2007).

Ensaio clínico com mulheres após a menopausa também demonstraram benefícios. Wu e colaboradores (2006) encontraram aumento no HDL e redução na massa gorda corporal após 24 semanas de suplementação de 75 mg de isoflavonas associadas ao exercício aeróbio em mulheres japonesas pós-menopausadas. No entanto, a intervenção não alterou as outras frações do colesterol e a densidade mineral óssea na população estudada. Os autores acreditam que os efeitos das isoflavonas são influenciados pela produção de equol, um metabolito específico da daidzeína produzido por bactérias no intestino (WU et al., 2006). Este metabolito parece ser responsável por maiores benefícios com o consumo desses compostos, porém não é encontrado na soja e sim, formado pela flora intestinal em 30 – 50% dos indivíduos

(SETCHELL et al., 2005). Alguns anos depois, Llaneza e colaboradores (2011), verificaram que a associação de 1 hora de caminhada por dia com a ingestão a 80 mg isoflavona promove um efeito benéfico sobre a leptina, adiponectina e TNF- α em mulheres na pós-menopausa, mas neste estudo houve também controle dietético associado às intervenções e portanto os efeitos não podem ser atribuídos somente ao consumo de isoflavonas associado ao exercício físico (LLANEZA et al., 2011).

Outros estudos encontraram benefícios, mas também efeitos adversos com essa intervenção. Chilibeck e colaboradores (2013) observaram reduções na LDL e melhorias nos sintomas da menopausa após 2 anos de uma alta dose diária de isoflavonas (165 mg) associadas ao exercício combinado e, de acordo com os autores, esses resultados podem estar relacionados ao longo tempo de intervenção e ao alto consumo de isoflavonas. No entanto, os autores também encontraram uma interação negativa entre essas duas terapias que provocou reduções na densidade mineral óssea total do quadril de mulheres na pós-menopausa (CHILIBECK et al., 2013). Da mesma forma, Lebon e colaboradores (2014) mostraram que a suplementação de 70 mg de isoflavonas com o exercício combinado foi eficaz em reduzir a massa gorda, aumentar a massa magra e reduzir a PCR, porém essa intervenção também aumentou os níveis de TNF- α ao final do estudo (LEBON et al., 2014).

Por outro lado, Orsatti e colaboradores (2010) não observaram efeitos aditivos da suplementação de 100 mg de isoflavonas com o treinamento resistido na composição corporal de mulheres pós-menopausadas após 9 meses de intervenção (ORSATTI et al., 2010). Riesco e colaboradores (2012) também não encontraram diferenças entre o consumo de 70 mg de isoflavonas associadas ao treinamento combinado e o treinamento sozinho na composição corporal, PCR e leptina após 6 meses. Neste estudo, as melhorias nessas variáveis foram relacionadas ao programa de exercícios indicando que as isoflavonas não promoveram efeitos adicionais (RIESCO et al., 2012).

As evidências neste contexto ainda são poucas e conflitantes. A associação das isoflavonas com um programa de exercícios físicos carece de novos estudos para verificar seus efeitos conjuntos e suas possíveis interações negativas principalmente em parâmetros relacionados ao estresse oxidativo e inflamação.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Este estudo testou os efeitos aditivos da suplementação de isoflavonas ao treinamento com exercícios combinados sobre níveis plasmáticos de lipídios, marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo em mulheres pós-menopausadas.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar os efeitos crônicos da suplementação de 100 mg de isoflavonas associada ao treinamento com exercícios físicos combinados nos valores do perfil lipídico (Colesterol total, lipoproteína de baixa densidade, lipoproteína de alta densidade, lipoproteína de muito baixa densidade e triglicerídeos), glicose, hemoglobina glicada e ácido úrico;
- Verificar as alterações nos níveis séricos das citocinas pró-inflamatórias interleucina-6 (IL-6) e interleucina-8 (IL-8) após a associação da suplementação de 100 mg isoflavonas com o treinamento físico combinado;
- Analisar a influência da suplementação de 100 mg isoflavonas associada ao treinamento com exercícios físicos combinados na enzima antioxidante superóxido dismutase (SOD), na capacidade antioxidante total através do método de FRAP e nas concentrações das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs).

4 ARTIGO

The effects of isoflavone supplementation plus combined exercise on lipid levels, inflammatory or oxidative stress markers in postmenopausal women

The Effects of Isoflavone Supplementation plus Combined Exercise on Lipid Levels, and Inflammatory and Oxidative Stress Markers in Postmenopausal Women

Jéssica S. Giolo ¹, Juliene G. Costa ¹, Jair P. da Cunha-Junior ², Ana Cláudia A. M. Pajuaba ², Ernesto A. Taketomi ², Adrielle V. de Souza ³, Douglas C. Caixeta ³, Leonardo G. Peixoto ³, Erick P. de Oliveira ⁴, Sarah Everman ⁵, Foued S. Espindola ³ and Guilherme M. Puga ^{1,*}

¹ Laboratory of Cardiorespiratory and Metabolic Physiology, Federal University of Uberlândia, Uberlândia-MG, 38400-678, Brazil; sanjuliaogiolo@hotmail.com (J.S.G.); julienegoncalves@hotmail.com (J.G.C.).

² Laboratory of Immunotechnology and Immunochemistry, Institute of Biomedical Sciences, Federal University of Uberlândia, Uberlândia-MG, 38400-902, Brazil; jair.cunha.junior@gmail.com (J.P.d.C.-J.); anapajuaba@gmail.com (A.C.A.M.P.); eat4y@yahoo.com.br (E.A.T.).

³ Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology, Institute of Biotechnology, Federal University of Uberlândia, Uberlândia-MG, 38400-902, Brazil; adrielle_vds@hotmail.com (A.V.d.S.); caixetadoug@gmail.com (D.C.C.); lgpeixoto@yahoo.com.br (L.G.P.); foued@ufu.br (F.S.E.).

⁴ School of Medicine, Federal University of Uberlândia, Uberlândia-MG, 38400-902, Brazil; erick_po@yahoo.com.br

⁵ College of Graduate Health Studies, AT. Still University, Mesa, AZ, 85206, USA; severman@atsu.edu

* Correspondence: gmpuga@gmail.com; Tel.: +55-34-3218-2967

Received: 31 January 2018; Accepted: 21 March 2018; Published: date

Abstract: This study tested the effect of isoflavone supplementation in addition to combined exercise training on plasma lipid levels, inflammatory markers and oxidative stress in postmenopausal women. Thirty-two healthy and non-obese postmenopausal women without hormone therapy were randomly assigned to exercise + placebo (PLA; $n = 15$) or exercise + isoflavone supplementation (ISO; $n = 17$) groups. They performed 30 sessions of combined exercises (aerobic plus resistance) over ten weeks and consumed 100 mg of isoflavone supplementation or placebo. Blood samples were collected after an overnight fast to analyze the lipid profile, interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8), superoxide dismutase (SOD), total antioxidant capacity (FRAP), and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), before and after ten weeks of the intervention. There were no differences in the changes (pre vs. post) between groups for any of the inflammatory markers, oxidative stress markers or lipid profile variables. However, interleukin-8 was different between pre- and post-tests ($p < 0.001$) in both groups ($\Delta = 7.61$ and 5.61 pg/mL) as were cholesterol levels ($p < 0.05$), with no interaction between groups. The combination of isoflavone supplementation and exercise training did not alter oxidative stress markers in postmenopausal women, but exercise training alone may increase IL-8 and decrease total cholesterol levels.

Keywords: aerobic and resistance exercises; soy protein; menopause; cytokines; anti-oxidant system

1. Introduction

The postmenopausal period is often associated with chronic diseases, which demonstrates the importance of prevention strategies. Low-grade chronic inflammation and oxidative stress are common changes in postmenopausal women [1,2], and regular physical exercise training and/or the consumption of phytoestrogens may be important strategies for minimizing or preventing these changes in women [3,4].

Resistance training combined with aerobic exercise has been shown to be effective for reducing reactive oxygen species and increasing antioxidant enzymes [5], as well as reducing total cholesterol levels in obese women more than aerobic exercise alone [6]. Regular exercise also plays an important role in increasing anti-inflammatory cytokines and reducing the release of pro-inflammatory agents by adipocytes by reducing visceral and total fat [4]. Interleukin-8 (IL-8) and interleukin-6 (IL-6) are pro-inflammatory cytokines, but they perform different and beneficial functions when released by skeletal muscle via the stimulus of physical exercise. IL-8 can induce angiogenesis and IL-6 can inhibit the release of pro-inflammatory tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin 1 beta (IL-1 β), concurrently with an increase of anti-inflammatory cytokines IL-10 and IL-1ra, when released by exercise [7].

Among the phytoestrogens found in foods, soy isoflavones are frequently used as an alternative treatment for metabolic and cardiovascular diseases, and to ameliorate symptoms that appear during postmenopausal period in women, due to their similar structure and action to estradiol [8]. Some studies have shown that the consumption of 100 mg of isoflavones per day may reduce the reactive species, malondialdehyde, in postmenopausal women [3]. In addition, 138 mg of isoflavones along with 81 mg of daidzein increased the activity of the antioxidant enzyme, superoxide dismutase, in postmenopausal women [9]. Likewise, in animal models, these compounds have been shown to improve the lipid profile and total antioxidant capacity [10].

Due to the separate anti-inflammatory and antioxidant functions of physical exercise and isoflavones, our hypothesis was that the addition of isoflavone could induce greater and/or additive benefits to those found with exercise alone. A few studies have investigated the combined effect of isoflavone supplementation and exercise, but the results are still conflicting [11–13]. In fact, a clinical trial found improvements in risk factors, such as fat body mass, and inflammatory markers, such as C-reactive protein [11]. In addition, other studies showed reductions in low-density lipoprotein [13] and increased high-density lipoprotein with isoflavone supplementation and exercise in postmenopausal women [12]. In ovariectomized rats, this type of intervention was able to increase the total antioxidant capacity after 12 weeks [10]. However, few studies have investigated the effects of aerobic and resistance exercise in addition to isoflavone supplementation on inflammatory and oxidative stress markers in humans.

Therefore, the purpose of this study was to determine if the addition of isoflavone supplementation with combined aerobic and resistance exercise training has additional or better effects than exercise training alone on lipid profiles and inflammatory and oxidative stress markers in postmenopausal women.

2. Materials and Methods

This trial was a double-blind, randomized (electronic lottery), parallel prospective clinical trial conducted at the Laboratory of Cardiorespiratory and Metabolic Physiology at Physical Education Department at Federal University of Uberlândia, Uberlândia MG, Brazil. The study was approved by the local Ethics Committee for human studies (CAAE: 40622414.9.0000.5152), and all participants read and signed the informed consent before participation in the study. The experiments conformed to the principles set out in the World Medical Association Declaration of Helsinki. This research was registered at Clinicaltrials.gov (number: NCT03008785).

2.1. Participants

This study included non-obese, postmenopausal women, aged between 50 and 70 years old. The inclusion criteria for the study were as follows: amenorrhea for at least 12 months; body mass index ≤ 30 kg/m²; ability to engage in treadmill and resistance exercises; no history of cardiovascular disease, diabetes or high blood pressure; no hormone therapy or soy derived supplementation; non smokers; and not using drugs that alter the lipid profile. Figure 1 presents the flowchart with the distribution of the participants in the study.

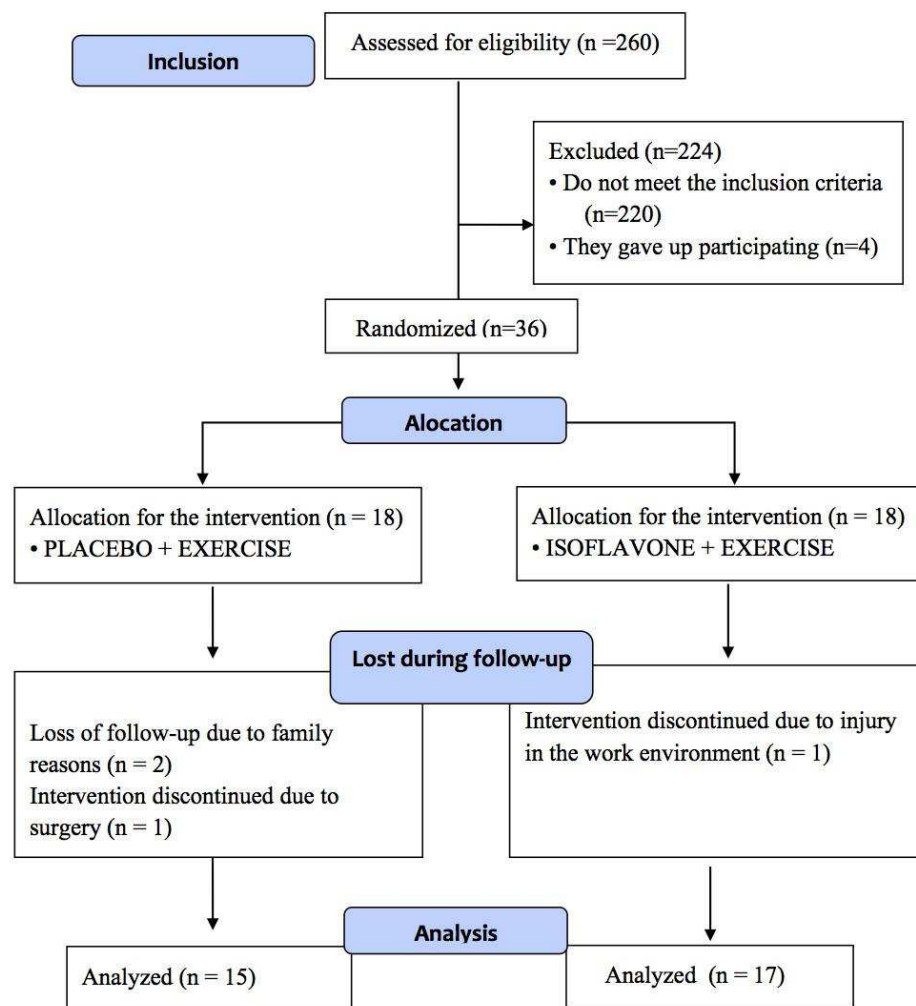


Figure 1. Flowchart with the distribution of the participants in the study.

All participants who met the inclusion criteria were randomly assigned to two different groups: exercise training and placebo supplementation (PLA) or exercise training and isoflavone supplementation (ISO). The participants also underwent anthropometric measurements, fasting blood collection, an aerobic capacity and maximal strength test (1RM) and were familiarized with the exercises and ergometers used before testing. Blood samples were collected before and after 10 weeks of isoflavone or placebo supplementation and combined aerobic and resistance exercise training.

2.2. Supplementation

The participants in the ISO group consumed one capsule per day containing 100 mg of isoflavones (Xi' An Green-Life Natural Products, Xian, Shaanxi, China) 33 mg of genistein, 93.5 mg of dadzein and 3.2 mg of glycitein derived from soybean and corresponding approximately 37.58 g of soy [14]. The plasma half-life of isoflavone is approximately 6–8 h [15,16], however metabolites derived after its ingestion may be elevated in the urine for 24 h and return to baseline in the next 48–72 h [17]. The participants in the PLA group received 100 mg of cornstarch daily in a single capsule. All capsules were identical in appearance.

2.3. Body Composition and Anthropometric Measures

Body mass was measured using a Micheletti (São Paulo, SP, Brazil) electronic scale and height was measured using a standard stadiometer Sanny (São Paulo, SP, Brazil), followed by body mass index

(BMI) calculation. Total fat mass and fat-free mass were measured by bioimpedance (Biodynamics model 450c—Biodynamics, Shoreline, WA, USA). This analysis was performed in the morning after participants had fasted for at least 8 h, and hydration was controlled as previously reported by de França et al. [18].

2.4. Dietary Assessment

All participants were instructed to maintain their regular diet during the study. Food intake was evaluated at baseline and at the end of the study by three dietary recalls collected by trained nutritionists. Dietary data were reported on non-consecutive days (two week days and one weekend day), and were analyzed by Dietpro® 5.7i (Minas Gerais, MG, Brazil) software and by the United States Department of Agriculture (USDA) food composition table.

2.5. Exercise Training

The exercise training consisted of combined aerobic and resistance exercises performed during the same session. All women performed 30 sessions over ten weeks on non-consecutive days three times per week, and all sessions lasted 50 min, including 5 min of warm-up on a treadmill, 20 min of aerobic exercise on a treadmill, 20 min of resistance exercises and 5 min of cool down exercises. The order of aerobic and resistance exercises was changed every training session. Before the exercise training intervention, all women performed a familiarization session with the treadmill and resistance exercises.

Aerobic training was performed on treadmill at a speed of 5.5 km/h, and exercise intensity was imposed only by increasing the treadmill incline. The training intensity was between ventilatory threshold 1 (VT1) and ventilatory threshold 2 (VT2), determined previously by an incremental test. The incremental test was adapted from Puga et al. [19]. Briefly, women performed a sub-maximal incremental test on treadmill at a fixed speed of 5.5 km/h and the intensity was added by increasing the treadmill incline (%). The test started with a 1% incline and was increased in increments of 1% every 2 min until the volunteers reached 85% of their predicted maximum heart rate and/or a perceived rate of exertion of 18 on the Borg Scale. The VT1 and 2 were identified based on the ventilatory equivalents for oxygen (VE/VO₂ ratio) and carbon dioxide (VE/VCO₂ ratio) responses using a gas analyzer (Cosmed Quark CPET, Rome, Italy) in accordance with Wasserman [20].

The resistance training was performed as 2 sets of 15 repetitions, with an interval of 30 s between exercises. The exercises consisted of seven exercises for large muscle groups, including 45° leg press, crossover seated row, bench press, pec deck, lateral pull-down, squat with fitball and abdominal exercises. The intensity of the exercises was 60%, based on the 1RM test, with load readjustments via a new test in the 5th week. The 1RM test started with a warm up that consisted of two sets of exercises at 40–50% (5–10 repetitions) and 60–80% (3–5 repetitions) of the participant's estimated 1RM. The test began with volunteers performing one complete repetition (eccentric and concentric phase) at maximal effort. The 1RM consisted of the workload being performed with no more than one repetition [21].

2.6. Blood Samples Collection and Analysis

Fifteen mL blood samples were collected after an overnight fast, five days before, and 72 h after, the last exercise training session to eliminate the acute effects of the exercise. These samples were placed in EDTA or serum tubes with separator gel and then centrifuged at 3000 rpm for 15 min and stored in small tubes for future analysis.

Plasma concentrations of total cholesterol, triglycerides, high density lipoprotein (HDL) and low density lipoprotein (LDL) cholesterol, uric acid and glucose were determined by enzymatic colorimetric methods. The concentration of glycated hemoglobin (HbA1c) was determined by the turbidimetry method. All analyses were performed using an automated system (Cobas Mira, Roche Instruments Inc. Bellport, NY, USA), using commercial kits (Labtest, Minas Gerais, Brazil). Very low density lipoprotein (VLDL) values were calculated using the Friedwald equation.

Human cytokines (IL-8, IL-1 β , IL-6, TNF, IL-10 and IL-12p70) in serum samples were measured by the flow cytometry technique (FACSCantoII BD™, San Jose, CA, USA) using a Human Inflammatory Cytokines Kit (BD™ Cytometric Bead Array (CBA), BD Biosciences, San Jose, CA, USA) according to the manufacturer's instructions.

The total antioxidant capacity in the plasma was evaluated by the Ferric-Ability of Plasma (FRAP) methodology and calculated from the standard trolox curve, as described by Justino et al. [22]. The activity of the superoxide dismutase enzyme (SOD) was determined based on the auto-oxidation capacity of pyrogallol. Lipid peroxidation levels were analyzed by the TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) method, using a curve of 1,1,3,3-tetramethoxypropane (TMP) as the standard [22].

2.7. Statistics

The results are presented as means \pm standard errors. The data distribution was analyzed using the Shapiro-Wilk test. Sample size was calculated using data from GPower 3.0.10, using an α value of 0.05, a β value of 0.15 and a power analysis of 85% with a final number of volunteers of 30 women. The two-way Analysis of Variance (ANOVA) for repeated measures was used to analyze the time (pre and post) and group (PLA and ISO) interactions with a Bonferroni post hoc test, when appropriate. Unpaired student's *t*-tests were used to compare the delta values between groups. A Pearson correlation was also performed. A *p*-value of ≤ 0.05 was used for statistical significance, and all statistical analyses were performed using SPSS software version 20.0 (IBM, New York, NY, USA).

3. Results

The included women had mean ages of 52.7 ± 4.9 and 56.0 ± 5.4 years; body masses of 64.7 ± 2.2 and 65.4 ± 2.1 kg; body mass indices of 26.9 ± 0.7 and 26.4 ± 0.8 kg/m² and fat masses of 35.4 ± 1.1 and $35.4 \pm 1.1\%$ in the PLA and ISO groups, respectively. There were no significant differences in any of these characteristics between groups at the beginning of the study. There were also no significant differences between pre-values (described above) and post values in body mass (65.6 ± 2.3 kg for PLA and 64.3 ± 2.1 kg for ISO), body mass index (26.9 ± 0.7 kg/m² for PLA and 26.4 ± 0.8 kg/m² for ISO), and fat mass (34.6 ± 1.2 kg for PLA and 35.5 ± 1.3 kg for ISO).

The volunteers exercised at an average intensity of $5 \pm 5\%$ (treadmill inclination), a rate of perceived exertion of 16 ± 2 and a heart rate zone of 158 ± 16 bpm. There were no significant differences in dietary protein, fat or carbohydrate ingestion evaluated by food recall during the 10-week intervention between the groups.

Vitamins A, C and D, which are considered exogenous non-enzymatic antioxidants, were also evaluated by food recall and were not different between groups or moments during the intervention. The consumption of vitamin A in the PLA group was 224.82 ± 368.28 mg pre-intervention and 217.82 ± 376.82 mg post-intervention, and in the ISO group, 147.57 ± 128.53 mg pre-intervention and 113.08 ± 60.05 mg post-intervention. Vitamin C consumption in PLA was 224.82 ± 368.28 mg pre-intervention and 217.82 ± 376.82 mg post-intervention, and in the ISO group, 147.57 ± 128.53 mg pre-intervention and 113.08 ± 60.05 mg post-intervention. The intake of vitamin D in the PLA group was 46.21 ± 33.11 mg pre-intervention and 44.69 ± 31.36 mg post-intervention, and in the ISO group, 49.91 ± 42.76 mg pre-intervention and 51.48 ± 40.16 mg post-intervention. There were also no differences between moments or groups in carbohydrate (pre: 221.02 ± 45.87 g and post: 204.65 ± 63.85 g for PLA group and pre: 203.98 ± 42.21 and post: 193.17 ± 48.98 g for ISO group), protein (pre: 67.25 ± 16.83 g and post: 60.84 ± 20.44 g for PLA group and pre: 61.61 ± 16.40 g and post: 56.97 ± 15.63 g for ISO group) lipid (pre: 80.14 ± 26.34 g and post: 68.05 ± 17.85 for PLA group and pre: 64.90 ± 17.13 g and post: 61.42 ± 18.83 for ISO group) or fiber intake (pre: 15.97 ± 6.24 g and post: 12.79 ± 4.94 g for PLA group and pre: 15.49 ± 6.04 g and post: 13.50 ± 4.94 g for ISO group).

The fasting lipid profile, glucose, glycated hemoglobin (HbA1C) and uric acid levels were analyzed before and after the 10-week intervention in both groups and are shown in Table 1. No significant differences were found for any of the variables for time or group. Although total cholesterol levels increased after the intervention in both groups with a significant effect of time ($p = 0.04$), no interaction

between the groups was found (group * moment) ($p = 0.07$). The delta values (post–pre values) were also not different between groups.

Table 1. Comparison of lipid profile, glucose, glycated hemoglobin and uric acid between the pre- and post-intervention in the placebo (PLA) and isoflavone (ISO) groups.

	Pre	Post	Δ	p	p	p
	Mean \pm SE	Mean \pm SE		(Groups)	(Moments)	(Groups * Moments)
Total Cholesterol (mg/dL)						
PLA	210 \pm 8	197 \pm 7	–13.07 \pm 3.72	0.34	0.04	0.07
ISO	215 \pm 9	214 \pm 9	–1.13 \pm 5.03			
LDL (mg/dL)						
PLA	126 \pm 9	118 \pm 6	–7.54 \pm 4.29	0.34	0.24	0.21
ISO	133 \pm 8	133 \pm 8	0.25 \pm 4.21			
HDL (mg/dL)						
PLA	55.4 \pm 3.6	50.5 \pm 3.0	–4.54 \pm 1.27	0.25	0.07	0.16
ISO	58.1 \pm 3.4	57.5 \pm 2.6	–0.59 \pm 2.16			
VLDL (mg/dL)						
PLA	24.7 \pm 3.1	23.5 \pm 3.0	–1.20 \pm 1.60	0.77	0.91	0.47
ISO	22.7 \pm 2.1	23.6 \pm 2.0	0.88 \pm 2.17			
Triglycerides (mg/dL)						
PLA	124 \pm 16	118 \pm 15	–6.00 \pm 7.98	0.77	0.91	0.47
ISO	113 \pm 11	118 \pm 10	4.38 \pm 10.86			
Glucose (mg/dL)						
PLA	86.6 \pm 1.7	86.8 \pm 1.6	0.17 \pm 1.33	0.92	0.27	0.20
ISO	87.5 \pm 1.0	85.5 \pm 1.4	–2.08 \pm 1.09			
Glycated Hemoglobin (%)						
PLA	5.50 \pm 0.07	5.52 \pm 0.10	0.02 \pm 0.06	0.24	0.53	0.92
ISO	5.60 \pm 0.05	5.63 \pm 0.03	0.03 \pm 0.05			
Uric Acid (mg/dL)						
PLA	4.5 \pm 0.3	4.6 \pm 0.3	0.04 \pm 0.13	0.79	0.68	0.40
ISO	4.5 \pm 0.2	4.4 \pm 0.1	–0.12 \pm 0.14			

PLA: placebo and exercise group; ISO: isoflavones and exercise group; LDL: Low density lipoprotein; HDL: High density lipoprotein; VLDL: Very low density lipoprotein.

Table 2 shows the levels of inflammatory and oxidative stresses markers analyzed before and after the 10-week intervention in both groups. Among the possible cytokines to be analyzed in the Kit (IL-8, IL-1 β , IL-6, TNF, IL-10 and IL-12p70), only interleukin-6 (IL-6) and interleukin-8 (IL-8) were read-sensitive. We found no differences between time or group in any of the inflammatory markers or oxidative stress. However, IL-8 concentrations increased after the intervention in both groups with a significant effect of time ($p = 0.001$), but no interaction between the groups was found (group * moment) ($p = 0.55$). The deltas of the variables (post–pre values) were not different between groups.

Table 2. Comparison of inflammatory and oxidative stress markers in the pre and post intervention moments in the placebo (PLA) and isoflavone (ISO) groups.

	Pre	Post	Δ	p	p	p
	Mean \pm SE	Mean \pm SE		(Groups)	(Moments)	(Groups * Moments)
Interleukin-8 (pg/mL)						
PLA	13.70 \pm 1.91	21.31 \pm 2.23	7.61 \pm 2.50	0.92	0.001	0.55
ISO	14.52 \pm 1.10	20.13 \pm 1.79	5.61 \pm 2.23			
Interleukin-6 (pg/mL)						
PLA	1.54 \pm 0.39	1.30 \pm 0.32	–0.24 \pm 0.27	0.76	0.22	0.98
ISO	1.42 \pm 0.21	1.19 \pm 0.26	–0.23 \pm 0.25			
FRAP (umol/ L eq. Trolox)						
PLA	124.31 \pm 5.24	123.18 \pm 5.67	–1.13 \pm 3.48	0.65	0.39	0.73
ISO	122.47 \pm 2.83	119.85 \pm 3.03	–2.63 \pm 2.58			

TBARS (umol/L TBA-RS)						
PLA	24.65 ± 1.08	24.42 ± 1.17	-0.23 ± 0.72	0.72	0.38	0.70
ISO	24.40 ± 0.61	23.82 ± 0.66	-0.58 ± 0.56			
SOD (SOD/mg prot)						
PLA	0.190 ± 0.007	0.194 ± 0.008	0.003 ± 0.010	0.20	0.24	0.50
ISO	0.176 ± 0.007	0.193 ± 0.008	0.012 ± 0.008			

PLA: placebo and exercise group; ISO: isoflavones and exercise group; FRAP: plasma ferric reduction capacity; TBARS: thiobarbituric acid reactive substances; SOD: superoxide dismutase.

We found a significant positive Pearson correlation between the TBARS and FRAP variables ($r = 1.0$, $p < 0.0001$) in both groups after the intervention. A significant negative correlation between IL-8 and FRAP ($r = 0.76$, $p = 0.0009$) and between IL-8 and TBARS ($r = 0.76$; $p = 0.0009$) was observed only in the PLA group after the intervention. No other significant correlations were found among all the other variables analyzed. No changes were found to be significant between the groups.

4. Discussion

The present study examined the effect of isoflavone supplementation in addition to a combined aerobic and resistance training program on lipid levels, inflammatory markers and oxidative stress in postmenopausal women. Our results indicate that the supplementation of isoflavones when combined with exercise training does not promote additive changes in any of the inflammatory markers or oxidative stress markers measured in postmenopausal women. However, combined training was effective in reducing total cholesterol and increasing IL-8 levels in non-obese, postmenopausal women.

The increase in IL-6 concentration caused by acute exercise (after one exercise session) is believed to inhibit the release of pro-inflammatory agents, such as TNF- α , and stimulate immune cells to produce anti-inflammatory cytokines by promoting a chronic anti-inflammatory effect, when exercise is practiced regularly [7]. In our study, we found no significant difference in serum IL-6 concentration after the intervention in either group. Lebon et al. [11] that also found no change in IL-6 concentration after 6 months of supplementation of 70 mg of isoflavones and combined exercise in healthy postmenopausal women. Likewise, Ho et al. [23] did not observe a change in IL-6 after performance of any of the types of exercises studied, but TNF- α levels decreased more sharply after 12 weeks in a group that performed combined moderate intensity exercise compared to groups that performed isolated aerobic and resistance exercises. On the other hand, the study conducted by Forti et al. [24] found reductions in IL-6 concentrations in healthy young participants. This study showed that nine weeks of resistance training increased IL-8 and decreased IL-6, which demonstrated that this kind of training can have anti-inflammatory effects in healthy, young people.

Balducci et al. [25] showed that, in people with metabolic syndrome and type 2 diabetes, high-intensity training, performed over a 12-month period, reduced IL-6 concentrations in patients who performed combined aerobic and resistance exercises. These results are not in agreement with our results, and we believe that those who already have elevated levels of inflammatory markers are more likely to see improvements after an exercise training program. Although postmenopausal women may present higher concentrations of IL-6 compared to premenopausal women [26], our volunteers were healthy and had low baseline serum levels of IL-6, which may explain the absence of changes after 10 weeks of study.

IL-8, when released by skeletal muscle through exercise, acts as an important angiogenic factor which is separate from its pro-inflammatory capacity [7]. In a recent study, Forti et al. [24] analyzed different intensities of resistance exercise training in healthy young participants for 9 weeks and found an increase in IL-8 concentrations in participants in a high-intensity exercise group and in low-resistance training with maximal effort group, but not in a low intensity with low effort exercise group. This response was associated with adaptation to intense exercise and may be responsible for the induction of angiogenesis. Alternatively, Izzicupo et al. [27] found a reduction in serum IL-8 levels after a 13-week moderate intensity walking program in postmenopausal women. Although the authors found a reduction in IL-8 concentrations rather than an increase, the angiogenic properties found in the serum

improved after the study [27]. In our study, we observed a significant increase in serum IL-8 in both groups after the 10-week intervention, but there was no difference between groups. Independent of isoflavone supplementation, combined exercise training, with the complementary effects of both exercise components (aerobic and resistance) at a moderate intensity, increases IL-8 levels and this may be related to the induction of angiogenesis, since skeletal muscle, with stimulation from exercise, may induce the production of IL-8 and increase the expression of its receptor responsible for angiogenesis [7].

The period after menopause also contributes to an imbalance in the pro and antioxidant systems [2]. In fact, acute exercise can increase reactive oxygen species production, but chronic exercise training contributes to an improvement in antioxidant defenses and consequently, reduces the state of oxidative stress [28]. One study, using a combined exercise training intervention over 12 weeks in women with fibromyalgia, found a reduction in plasma TBARS and an increase in serum levels of the antioxidant enzyme, catalase [5]. Similarly, the consumption of 100 mg of isoflavones (with no exercise intervention) per day may reduce the concentration of the reactive species, malondialdehyde [3], the intercellular adhesion molecule (ICAM-1) and E-selectin, in postmenopausal women [29]. So, to our knowledge, this is the first study to investigate the association of isoflavones with a combined exercise program for oxidative stress markers in postmenopausal women, and our results indicate that 100 mg of isoflavones in addition to moderate combined exercise does not alter these markers after 10 weeks in this population. We believe that a longer time frame may be necessary to detect the effects of this type of intervention on oxidative stress variables in healthy postmenopausal women.

Maintaining a healthy lipid profile is very important, since elevated levels of total cholesterol are directly related to cardiovascular disease [30]. Mann et al. [31] reviewed the effects of different types of exercise training on cholesterol levels and concluded that resistance training may complement the effects of aerobic training, although there is limited literature comparing the three types of exercises (aerobic, resistance and combined exercises). Likewise, Park et al. [6], showed that combined exercise may reduce total cholesterol in obese women more than in aerobic exercise alone. Therefore, the reduction of total cholesterol found in both groups in our study is in agreement with previous clinical trials and indicates that combined physical exercise may be an alternative for reducing this risk factor in postmenopausal women.

On the other hand, the effect of isoflavone consumption on cholesterol levels is still controversial. According to a meta-analysis by Zhan and Ho [32], isoflavone supplementation is associated with improvements in the lipid profile, although other authors have not found the same isoflavone effect on lipid parameters [33,34]. When isoflavones are taken in combination with exercise training, the effect on the lipid profile remains inconclusive. Some authors did not observe the additive effects of these compounds and exercise training on lipid variables [35,36]. However, Wu et al. [12] found an increase in HDL after 24 weeks of 75 mg of isoflavones combined with aerobic exercise and concluded that some benefits of this association can be depend on the production of equol, a specific metabolite of daidzein produced by bacteria in the gut. This metabolite is not found in soya, but is formed by intestinal flora in 30–50% of individuals after consumption of these compounds [37]. In the present study, we found no interaction between group or time for total cholesterol, and this suggests that isoflavone supplementation had no additive beneficial effects on exercise-mediated responses. The mechanisms behind a possible lack of interaction between exercise and isoflavone consumption are still unclear.

There were some limitations in the present study. The study was conducted in generally healthy, non-obese women; therefore, the results might not be applicable to other groups receiving treatment with higher potency medication or for longer than 10 weeks. It is important to note also that this result is applicable only for isoflavone supplementation and may not be extrapolated to isoflavone consumption from natural and regular food. Other limitations were the absence of an evaluation of isoflavone levels in the urine to detect how much soy protein was actually absorbed, as well as the 10-week intervention, which is a biologically acceptable time frame for a clinical study but may have been relatively short for detecting the effects of isoflavone supplementation associated with combined exercise. More studies are needed with larger numbers of participants and with patients with

dyslipidemia, obesity or with high oxidative stress levels or inflammatory states to investigate the effects of these interventions.

5. Conclusions

Isoflavone supplementation did not promote additive or independent effects compared to the combination of aerobic and resistance exercises alone on the lipid profile and on inflammatory and oxidative stress markers in non-obese postmenopausal women. However, this exercise training program increased IL-8 levels independent of the isoflavone supplementation and appears to be effective for reducing total cholesterol in this population.

Acknowledgments: This work was funded by the Minas Gerais State Research Foundation (FAPEMIG) (APQ-00750-14) and the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) (456443/2014-2) e CNPq (794078/2013). FSE is gran recipient of CNPq (308965/2015-9).

Author Contributions: J.S.G. participated in collection and analysis of the data, performed statistical analysis, and wrote the manuscript; J.G.C. participated in collection and analysis of the data, performed statistical analysis and contributed with the revision of the manuscript; J.P.d.C.-J., A.C.A.M.P., E.A.T., A.V.d.S. and L.G.P. participated in collection and analysis of the data; F.S.E. participated in the study design and contributed with the revision of the manuscript; E.P.d.O. contributed with food recall analysis, elaboration of the discussion and with the revision of the manuscript; S.E. contributed with manuscript and English review; G.M.P. contributed with the study design, data collection and analysis, statistical analysis, and with manuscript elaboration and review. All authors read and approved the final manuscript.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Alvehus, M.; Simonyte, K.; Andersson, T.; Söderström, I.; Burén, J.; Rask, E.; Mattsson, C.; Olsson, T. Adipose tissue IL-8 is increased in normal weight women after menopause and reduced after gastric bypass surgery in obese women: IL-8 levels in normal weight and obese women. *Clin. Endocrinol.* **2012**, *77*, 684–690, doi:10.1111/j.1365-2265.2011.04322.x.
2. Signorelli, S.S.; Neri, S.; Sciacchitano, S.; Pino, L.D.; Costa, M.P.; Marchese, G.; Celotta, G.; Cassibba, N.; Pennisi, G.; Caschetto, S. Behaviour of some indicators of oxidative stress in postmenopausal and fertile women. *Maturitas* **2006**, *53*, 77–82, doi:10.1016/j.maturitas.2005.03.001.
3. Pusparini, Dharma, R.; Suyatna, F.D.; Mansyur, M.; Hidajat, A. Effect of soy isoflavone supplementation on vascular endothelial function and oxidative stress in postmenopausal women: A community randomized controlled trial. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* **2013**, *22*, 357–364, doi: 10.6133/apjcn.2013.22.3.13.
4. Gleeson, M.; Bishop, N.C.; Stensel, D.J.; Lindley, M.R.; Mastana, S.S.; Nimmo, M.A. The anti-inflammatory effects of exercise: Mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. *Nat. Rev. Immunol.* **2011**, *11*, 607–615, doi:10.1038/nri3041.
5. Sarıfakioğlu, B.; Güzelant, A.Y.; Güzel, E.Ç.; Güzel, S.; Kızılar, A.R. Effects of 12-week combined exercise therapy on oxidative stress in female fibromyalgia patients. *Rheumatol. Int.* **2014**, *34*, 1361–1367, doi:10.1007/s00296-014-2978-2.
6. Park, S.-K.; Park, J.-H.; Kwon, Y.-C.; Kim, H.-S.; Yoon, M.-S.; Park, H.-T. The effect of combined aerobic and resistance exercise training on abdominal fat in obese middle-aged women. *J. Physiol. Anthropol. Appl. Hum. Sci.* **2003**, *22*, 129–135, doi:10.2114/jpa.22.129.
7. Nielsen, A.R.; Pedersen, B.K. The biological roles of exercise-induced cytokines: IL-6, IL-8, and IL-15. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* **2007**, *32*, 833–839, doi:10.1139/H07-054.
8. Borrelli, F.; Ernst, E. Alternative and complementary therapies for the menopause. *Maturitas* **2010**, *66*, 333–343, doi:10.1016/j.maturitas.2010.05.010.
9. DiSilvestro, R.A.; Goodman, J.; Dy, E.; LaValle, G. Soy isoflavone supplementation elevates erythrocyte superoxide dismutase, but not plasma ceruloplasmin in postmenopausal breast cancer survivors. *Breast Cancer Res. Treat.* **2005**, *89*, 251–255, doi:10.1007/s10549-004-2227-6.
10. Oh, H.Y.; Lim, S.; Lee, J.M.; Kim, D.-Y.; Ann, E.-S.; Yoon, S. A combination of soy isoflavone supplementation and exercise improves lipid profiles and protects antioxidant defense-systems against exercise-induced oxidative stress in ovariectomized rats. *Biofactors* **2007**, *29*, 175–185, doi:10.1002/biof.5520290402.

11. Lebon, J.; Riesco, E.; Tessier, D.; Dionne, I.J. Additive effects of isoflavones and exercise training on inflammatory cytokines and body composition in overweight and obese postmenopausal women: A randomized controlled trial. *Menopause* **2014**, *21*, 869–875, doi:10.1097/GME.0000000000000177.
12. Wu, J.; Oka, J.; Higuchi, M.; Tabata, I.; Toda, T.; Fujioka, M.; Fuku, N.; Teramoto, T.; Okuhira, T.; Ueno, T.; et al. Cooperative effects of isoflavones and exercise on bone and lipid metabolism in postmenopausal Japanese women: A randomized placebo-controlled trial. *Metabolism* **2006**, *55*, 423–433, doi:10.1016/j.metabol.2005.10.002.
13. Chilibeck, P.D.; Vatanparast, H.; Pierson, R.; Case, A.; Olatunbosun, O.; Whiting, S.J.; Beck, T.J.; Pahwa, P.; Biem, H.J. 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*, 780–793, doi:10.1002/jbmr.1815.
14. Wang, H.; Murphy, P.A. Isoflavone content in commercial soybean foods. *J. Agric. Food Chem.* **1994**, *42*, 1666–1673, doi:10.1021/jf00044a016.
15. Anupongsanugool, E.; Teekachunhatean, S.; Rojanasthien, N.; Pongsatha, S.; Sangdee, C. Pharmacokinetics of isoflavones, daidzein and genistein, after ingestion of soy beverage compared with soy extract capsules in postmenopausal Thai women. *BMC Clin. Pharmacol.* **2005**, *5*, 2, doi:10.1186/1472-6904-5-2.
16. Watanabe, S.; Yamaguchi, M.; Sobue, T.; Takahashi, T.; Miura, T.; Arai, Y.; Mazur, W.; Wähälä, K.; Adlercreutz, H. Pharmacokinetics of soybean isoflavones in plasma, urine and feces of men after ingestion of 60 g baked soybean powder (kinako). *J. Nutr.* **1998**, *128*, 1710–1715, doi:10.1093/jn/128.10.1710.
17. Kelly, G.E.; Joannou, G.E.; Reeder, A.Y.; Nelson, C.; Waring, M.A. The variable metabolic response to dietary isoflavones in humans. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **1995**, *208*, 40–43, doi:10.3181/00379727-208-43829.
18. De França, N.A.G.; 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: Dietary quality, muscle mass and phase angle. *Nutr. Diet.* **2016**, *73*, 474–481, doi:10.1111/1747-0080.12267.
19. Puga, G.M.; Novais, I. de P.; Katsanos, C.S.; Zanesco, A. Combined effects of aerobic exercise and L-arginine ingestion on blood pressure in normotensive postmenopausal women: A crossover study. *Life Sci.* **2016**, *151*, 323–329, doi: 10.1016/j.lfs.2016.02.091.
20. Wasserman, K. The anaerobic threshold measurement to evaluate exercise performance. *Am. Rev. Respir. Dis.* **1984**, *129*, S35–S40, doi:10.1164/arrd.1984.129.2P2.S35.
21. Kraemer, W.J.; Gordon, S.E.; Fleck, S.J.; Marchitelli, L.J.; Mello, R.; Dziados, J.E.; Friedl, K.; Harman, E.; Mares, C.; Fry, A.C. Endogenous anabolic hormonal and growth factor responses to heavy resistance exercise in males and females. *Int. J. Sports Med.* **1991**, *12*, 228–235, doi:10.1055/s-2007-1024673.
22. Justino, A.B.; Pereira, M.N.; Peixoto, L.G.; Vilela, D.D.; Caixeta, D.C.; de Souza, A.V.; Teixeira, R.R.; Silva, H.C.G.; de Moura, F.B.R.; Moraes, I.B.; et al. Hepatoprotective Properties of a Polyphenol-Enriched Fraction from *Annona crassiflora* Mart. Fruit Peel against Diabetes-Induced Oxidative and Nitrosative Stress. *J. Agric. Food Chem.* **2017**, *65*, 4428–4438, doi:10.1021/acs.jafc.7b01355.
23. Ho, S.S.; Dhaliwal, S.S.; Hills, A.P.; Pal, S. Effects of Chronic Exercise Training on Inflammatory Markers in Australian Overweight and Obese Individuals in a Randomized Controlled Trial. *Inflammation* **2013**, *36*, 625–632, doi:10.1007/s10753-012-9584-9.
24. Forti, L.N.; Van Roie, E.; Njemini, R.; Coudyzer, W.; Beyer, I.; Delecluse, C.; Bautmans, I. Effects of resistance training at different loads on inflammatory markers in young adults. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2017**, *117*, 511–519, doi:10.1007/s00421-017-3548-6.
25. Balducci, S.; Zanuso, S.; Nicolucci, A.; Fernando, F.; Cavallo, S.; Cardelli, P.; Fallucca, S.; Alessi, E.; Letizia, C.; Jimenez, A.; et al. Anti-inflammatory effect of exercise training in subjects with type 2 diabetes and the metabolic syndrome is dependent on exercise modalities and independent of weight loss. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **2010**, *20*, 608–617, doi:10.1016/j.numecd.2009.04.015.
26. Kim, O.Y.; Chae, J.S.; Paik, J.K.; Seo, H.S.; Jang, Y.; Cavaillon, J.-M.; Lee, J.H. Effects of aging and menopause on serum interleukin-6 levels and peripheral blood mononuclear cell cytokine production in healthy nonobese women. *AGE* **2012**, *34*, 415–425, doi:10.1007/s11357-011-9244-2.
27. Izzicupo, P.; D'Amico, M.A.; Di Blasio, A.; Napolitano, G.; Nakamura, F.Y.; Di Baldassarre, A.; Ghinassi, B. Aerobic Training Improves Angiogenic Potential Independently of Vascular Endothelial Growth Factor Modifications in Postmenopausal Women. *Front. Endocrinol.* **2017**, *8*, 363, doi:10.3389/fendo.2017.00363.

28. Gomes, E.C.; Silva, A.N.; de Oliveira, M.R. Oxidants, Antioxidants, and the Beneficial Roles of Exercise-Induced Production of Reactive Species. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2012**, *2012*, 756132, doi:10.1155/2012/756132.
29. Liu, Z.-M.; Ho, S.C.; Chen, Y.-M.; Woo, J. Effect of soy protein and isoflavones on blood pressure and endothelial cytokines: A 6-month randomized controlled trial among postmenopausal women. *J. Hypertens.* **2013**, *31*, 384–392, doi:10.1097/HJH.0b013e32835c0905.
30. Taleb-Belkadi, O.; Chaib, H.; Zemour, L.; Fatah, A.; Chafi, B.; Mekki, K. Lipid profile, inflammation, and oxidative status in peri- and postmenopausal women. *Gynecol. Endocrinol.* **2016**, *32*, 982–985, doi:10.1080/09513590.2016.1214257.
31. Mann, S.; Beedie, C.; Jimenez, A. Differential Effects of Aerobic Exercise, Resistance Training and Combined Exercise Modalities on Cholesterol and the Lipid Profile: Review, Synthesis and Recommendations. *Sports Med.* **2014**, *44*, 211–221, doi:10.1007/s40279-013-0110-5.
32. 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.
33. Rios, D.R.A.; Rodrigues, E.T.; Cardoso, A.P.Z.; Montes, M.B.A.; Franceschini, S.A.; Tolo, M.R.T. Lack of effects of isoflavones on the lipid profile of Brazilian postmenopausal women. *Nutrition* **2008**, *24*, 1153–1158, doi:10.1016/j.nut.2008.06.030.
34. Garrido, A.; De la Maza, M.P.; Hirsch, S.; Valladares, L. Soy isoflavones affect platelet thromboxane A2 receptor density but not plasma lipids in menopausal women. *Maturitas* **2006**, *54*, 270–276, doi:10.1016/j.maturitas.2005.12.002.
35. Maesta, N.; Nahas, E.A.P.; Nahas-Neto, J.; Orsatti, F.L.; Fernandes, C.E.; Traiman, P.; Burini, R.C. Effects of soy protein and resistance exercise on body composition and blood lipids in postmenopausal women. *Maturitas* **2007**, *56*, 350–358, doi:10.1016/j.maturitas.2006.10.001.
36. Choquette, S.; Riesco, É.; Cormier, É.; Dion, T.; Aubertin-Leheudre, M.; Dionne, I.J. 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. *Br. J. Nutr.* **2011**, *105*, 1199–1209, doi:10.1017/S0007114510004897.
37. Setchell, K.D.; Clerici, C.; Lephart, E.D.; Cole, S.J.; Heenan, C.; Castellani, D.; Wolfe, B.E.; Nechemias-Zimmer, L.; Brown, N.M.; Lund, T.D. S-Equol, a potent ligand for estrogen receptor β , is the exclusive enantiomeric form of the soy isoflavone metabolite produced by human intestinal bacterial flora. *Am. J. Clin. Nutr.* **2005**, *81*, 1072–1079.



© 2018 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

5 REFERÊNCIAS

- ALVEHUS, M. et al. Adipose tissue IL-8 is increased in normal weight women after menopause and reduced after gastric bypass surgery in obese women: *IL-8 levels in normal weight and obese women*. **Clinical Endocrinology**, v. 77, n. 5, p. 684–690, nov. 2012.
- ANAGNOSTIS, P. et al. Effects of menopause, gender and age on lipids and high-density lipoprotein cholesterol subfractions. **Maturitas**, v. 81, n. 1, p. 62–68, maio 2015.
- ANDRADE, J. E. et al. Long-term exposure to dietary sources of genistein induces estrogen-independence in the human breast cancer (MCF-7) xenograft model. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 59, n. 3, p. 413–423, mar. 2015.
- ANTUNES, S.; MARCELINO, O.; AGUIAR, T. Fisiopatologia da menopausa. **Revista Portuguesa de Medicina Geral e Familiar**, v. 19, n. 4, p. 353–7, 2003.
- BARINAS-MITCHELL, E. et al. Serum levels of C-reactive protein are associated with obesity, weight gain, and hormone replacement therapy in healthy postmenopausal women. **American journal of epidemiology**, v. 153, n. 11, p. 1094–1101, 2001a.
- BARINAS-MITCHELL, E. et al. Serum levels of C-reactive protein are associated with obesity, weight gain, and hormone replacement therapy in healthy postmenopausal women. **American journal of epidemiology**, v. 153, n. 11, p. 1094–1101, 2001b.
- BEDNAREK-TUPIKOWSKA, G. et al. Serum lipid peroxides and total antioxidant status in postmenopausal women on hormone replacement therapy. **Gynecological Endocrinology**, v. 19, n. 2, p. 57–63, ago. 2004.
- BISWAS, A. et al. Sedentary Time and Its Association With Risk for Disease Incidence, Mortality, and Hospitalization in Adults: A Systematic Review and Meta-analysis. **Annals of Internal Medicine**, v. 162, n. 2, p. 123, 20 jan. 2015.
- BLÜMEL, J. E. et al. Sedentary lifestyle in middle-aged women is associated with severe menopausal symptoms and obesity: **Menopause**, v. 23, n. 5, p. 488–493, maio 2016.
- BORRELLI, F.; ERNST, E. Alternative and complementary therapies for the menopause. **Maturitas**, v. 66, n. 4, p. 333–343, ago. 2010.
- BRANDAO, L. C. et al. Effects of isoflavone on oxidative stress parameters and homocysteine in postmenopausal women complaining of insomnia. **Biological research**, v. 42, n. 3, p. 281–287, 2009.
- CANCER, C. G. ON H. F. IN B. Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52 705 women with breast cancer and 108 411 women without breast cancer. **The Lancet**, v. 350, n. 9084, p. 1047–1059, 1997.
- CHAGAS, E. F. B. et al. Effect of Moderate-Intensity Exercise on Inflammatory Markers Among Postmenopausal Women. **Journal of Physical Activity and Health**, v. 14, n. 6, p. 479–485, jun. 2017.
- CHAN, M. H. S. et al. Cytokine gene expression in human skeletal muscle during concentric contraction: evidence that IL-8, like IL-6, is influenced by glycogen availability. **American**

Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, v. 287, n. 2, p. R322–R327, ago. 2004.

CHILIBECK, P. 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, abr. 2013.

CHRISTIE, D. R. et al. Metabolic effects of soy supplementation in postmenopausal Caucasian and African American women: a randomized, placebo-controlled trial. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 203, n. 2, p. 153.e1-153.e9, ago. 2010a.

CHRISTIE, D. R. et al. Metabolic effects of soy supplementation in postmenopausal Caucasian and African American women: a randomized, placebo-controlled trial. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 203, n. 2, p. 153.e1-153.e9, ago. 2010b.

DALY, E. et al. Risk of venous thromboembolism in users of hormone replacement therapy. **The Lancet**, v. 348, n. 9033, p. 977–980, 1996.

DAUGHERTY, S. L. et al. Patterns of Use and Comparative Effectiveness of Bleeding Avoidance Strategies in Men and Women Following Percutaneous Coronary Interventions. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 61, n. 20, p. 2070–2078, maio 2013.

DHARMA, R. et al. Effect of soy isoflavone supplementation on vascular endothelial function and oxidative stress in postmenopausal women: a community randomized controlled trial. **Asia Pacific journal of clinical nutrition**, 2013.

DISILVESTRO, R. A. et al. Soy isoflavone supplementation elevates erythrocyte superoxide dismutase, but not plasma ceruloplasmin in postmenopausal breast cancer survivors. **Breast cancer research and treatment**, v. 89, n. 3, p. 251–255, 2005.

ESCALANTE, C.; MORA, S.; BOLAÑOS, L. Hormone replacement therapy reduces lipid oxidation directly at the arterial wall: A possible link to estrogens' cardioprotective effect through atherosclerosis prevention. **Journal of Mid-life Health**, v. 8, n. 1, p. 11, 2017.

ESTEVES, E. A.; MONTEIRO, J. B. R. Beneficial effects of soy isoflavones on chronic diseases. **Revista de Nutrição**, v. 14, n. 1, p. 43–52, 2001.

FORTI, L. N. et al. Effects of resistance training at different loads on inflammatory markers in young adults. **European Journal of Applied Physiology**, v. 117, n. 3, p. 511–519, mar. 2017.

GAMBACCIANI, M. et al. The effect of menopause on blood lipid and lipoprotein levels the Icarus study group. **Atherosclerosis**, v. 147, n. 1, p. 147–53, 1999.

GAMEIRO, C. M.; ROMÃO, F.; CASTELO-BRANCO, C. Menopause and aging: Changes in the immune system—A review. **Maturitas**, v. 67, n. 4, p. 316–320, dez. 2010.

GARRIDO, A. et al. Soy isoflavones affect platelet thromboxane A2 receptor density but not plasma lipids in menopausal women. **Maturitas**, v. 54, n. 3, p. 270–276, jun. 2006.

GIRASOLE, G. et al. Oestrogens prevent the increase of human serum soluble interleukin-6 receptor induced by ovariectomy in vivo and decrease its release in human osteoblastic cells in vitro. **Clinical endocrinology**, v. 51, n. 6, p. 801–807, 1999.

GLEESON, M. et al. The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. **Nature Reviews Immunology**, v. 11, n. 9, p. 607–615, set. 2011.

GOMES, E. C.; SILVA, A. N.; OLIVEIRA, M. R. DE. Oxidants, Antioxidants, and the Beneficial Roles of Exercise-Induced Production of Reactive Species. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2012, p. 1–12, 2012.

GRODSTEIN, F. et al. A prospective, observational study of postmenopausal hormone therapy and primary prevention of cardiovascular disease. **Annals of internal medicine**, v. 133, n. 12, p. 933–941, 2000.

GRODSTEIN, F.; NEWCOMB, P. A.; STAMPFER, M. J. Postmenopausal hormone therapy and the risk of colorectal cancer: a review and meta-analysis. **The American journal of medicine**, v. 106, n. 5, p. 574–582, 1999.

HO, S. S. et al. Effects of Chronic Exercise Training on Inflammatory Markers in Australian Overweight and Obese Individuals in a Randomized Controlled Trial. **Inflammation**, v. 36, n. 3, p. 625–632, jun. 2013.

HUANG, Y. et al. Decreased Circulating Levels of Tumor Necrosis Factor- α in Postmenopausal Women during Consumption of Soy-Containing Isoflavones. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 90, n. 7, p. 3956–3962, jul. 2005.

IBGE. **Tábua completa de mortalidade para o Brasil – 2014: breve análise da evolução da mortalidade no Brasil**, 2015. Disponível em: <ftp://ftp.ibge.gov.br/Tabuas_Completas_de_Mortalidade/Tabuas_Completas_de_Mortalidade_2015/tabua_de_mortalidade_analise.pdf>. Acesso em: 15 dezembro 2017.

IZZICUPO, P. et al. Aerobic Training Improves Angiogenic Potential Independently of Vascular Endothelial Growth Factor Modifications in Postmenopausal Women. **Frontiers in Endocrinology**, v. 8, 21 dez. 2017.

JENKINS, D. J. A. et al. Effects of high- and low-isoflavone (phytoestrogen) soy foods on inflammatory biomarkers and proinflammatory cytokines in middle-aged men and women. **Metabolism**, v. 51, n. 7, p. 919–924, jul. 2002.

KAROLKIEWICZ, J. et al. Response of oxidative stress markers and antioxidant parameters to an 8-week aerobic physical activity program in healthy, postmenopausal women. **Archives of Gerontology and Geriatrics**, v. 49, n. 1, p. e67–e71, jul. 2009.

KIM, O. Y. et al. Effects of aging and menopause on serum interleukin-6 levels and peripheral blood mononuclear cell cytokine production in healthy nonobese women. **AGE**, v. 34, n. 2, p. 415–425, abr. 2012.

LEBON, J. et al. Additive effects of isoflavones and exercise training on inflammatory cytokines and body composition in overweight and obese postmenopausal women: a randomized controlled trial. **Menopause**, v. 21, n. 8, p. 869–875, ago. 2014.

LLANEZA, P. et al. Soy isoflavones, diet and physical exercise modify serum cytokines in healthy obese postmenopausal women. **Phytomedicine**, v. 18, n. 4, p. 245–250, fev. 2011.

LOKEY, E. A.; TRAN, Z. V. Effects of exercise training on serum lipid and lipoprotein concentrations in women: a meta-analysis. **International journal of sports medicine**, v. 10, n. 06, p. 424–429, 1989.

MANN, S.; BEEDIE, C.; JIMENEZ, A. Differential Effects of Aerobic Exercise, Resistance Training and Combined Exercise Modalities on Cholesterol and the Lipid Profile: Review, Synthesis and Recommendations. **Sports Medicine**, v. 44, n. 2, p. 211–221, fev. 2014.

MARNETT, L. J. Oxyradicals and DNA damage. **Carcinogenesis**, p. 361–370, 2000.

MENDELSON, M. E.; KARAS, R. H. The protective effects of estrogen on the cardiovascular system. **New England journal of medicine**, v. 340, n. 23, p. 1801–1811, 1999.

MESSINA, M. Soy foods, isoflavones, and the health of postmenopausal women. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 100, n. Supplement_1, p. 423S–430S, 1 jul. 2014.

MIHARA, M. et al. IL-6/IL-6 receptor system and its role in physiological and pathological conditions. **Clinical Science**, v. 122, n. 4, p. 143–159, 1 fev. 2012.

MITTAL, P. C.; KANT, R. Correlation of increased oxidative stress to body weight in disease-free post menopausal women. **Clinical Biochemistry**, v. 42, n. 10–11, p. 1007–1011, jul. 2009.

MORITO, K. et al. Interaction of phytoestrogens with estrogen receptors α and β . **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 24, n. 4, p. 351–356, 2001.

NASCA, M. M.; ZHOU, J.-R.; WELTY, F. K. Effect of Soy Nuts on Adhesion Molecules and Markers of Inflammation in Hypertensive and Normotensive Postmenopausal Women. **The American Journal of Cardiology**, v. 102, n. 1, p. 84–86, jul. 2008.

NIELSEN, A. R.; PEDERSEN, B. K. The biological roles of exercise-induced cytokines: IL-6, IL-8, and IL-15. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 32, n. 5, p. 833–839, out. 2007.

NIEMAN, D. C. et al. Carbohydrate ingestion influences skeletal muscle cytokine mRNA and plasma cytokine levels after a 3-h run. **Journal of Applied Physiology**, v. 94, n. 5, p. 1917–1925, maio 2003.

OH, H. Y. et al. A combination of soy isoflavone supplementation and exercise improves lipid profiles and protects antioxidant defense-systems against exercise-induced oxidative stress in ovariectomized rats. **Biofactors**, v. 29, n. 4, p. 175–185, 2007.

ORSATTI, F. L. et al. Effects of Resistance Training and Soy Isoflavone on Body Composition in Postmenopausal Women. **Obstetrics and Gynecology International**, v. 2010, p. 1–8, 2010.

PARK, S.-K. et al. The effect of combined aerobic and resistance exercise training on abdominal fat in obese middle-aged women. **Journal of physiological anthropology and applied human science**, v. 22, n. 3, p. 129–135, 2003.

PEDERSEN, B. K. et al. Role of myokines in exercise and metabolism. **Journal of Applied Physiology**, v. 103, n. 3, p. 1093–1098, set. 2007.

RIESCO, E. et al. Effect of exercise training combined with phytoestrogens on adipokines and C-reactive protein in postmenopausal women: a randomized trial. **Metabolism**, v. 61, n. 2, p. 273–280, fev. 2012.

RIOS, D. R. A. et al. Lack of effects of isoflavones on the lipid profile of Brazilian postmenopausal women. **Nutrition**, v. 24, n. 11–12, p. 1153–1158, nov. 2008.

ROSIC, S.; KENDIC, S.; ROSIC, M. Phytoestrogens Impact on Menopausal Symptomatology. **Materia Socio Medica**, v. 25, n. 2, p. 98, 2013.

SADASHIV et al. IL-6 gene expression in adipose tissue of postmenopausal women and its association with metabolic risk factors. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 399, p. 87–94, jan. 2015.

SARIFAKIOĞLU, B. et al. Effects of 12-week combined exercise therapy on oxidative stress in female fibromyalgia patients. **Rheumatology International**, v. 34, n. 10, p. 1361–1367, out. 2014a.

SARIFAKIOĞLU, B. et al. Effects of 12-week combined exercise therapy on oxidative stress in female fibromyalgia patients. **Rheumatology International**, v. 34, n. 10, p. 1361–1367, out. 2014b.

SCHIERBECK, L. L. et al. Effect of hormone replacement therapy on cardiovascular events in recently postmenopausal women: randomised trial. **BMJ**, v. 345, n. oct09 2, p. e6409–e6409, 9 out. 2012.

SETCHELL, K. D. et al. S-Equol, a potent ligand for estrogen receptor β , is the exclusive enantiomeric form of the soy isoflavone metabolite produced by human intestinal bacterial flora-. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, n. 5, p. 1072–1079, 2005.

SHIN, Y.-A. et al. Exercise training improves the antioxidant enzyme activity with no changes of telomere length. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 129, n. 5, p. 254–260, maio 2008.

SIGNORELLI, S. S. et al. Behaviour of some indicators of oxidative stress in postmenopausal and fertile women. **Maturitas**, v. 53, n. 1, p. 77–82, jan. 2006.

STEINBERG, D. Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. **Journal of Biological Chemistry**, v. 272, n. 34, p. 20963–20966, 1997.

STRAUB, R. H. et al. Hormone replacement therapy and interrelation between serum interleukin-6 and body mass index in postmenopausal women: a population-based study. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 85, n. 3, p. 1340–1344, 2000.

TAECHAKRAICHANA N. et al. Climacteric: concept, consequence and care. **J Med Assoc Thai**, v. 85, Jun. 2002.

UNFER, T. C. et al. Estrogen plus progestin increase superoxide dismutase and total antioxidant capacity in postmenopausal women. **Climacteric**, v. 18, n. 3, p. 379–388, 4 maio 2015.

WU, J. et al. Combined intervention of soy isoflavone and moderate exercise prevents body fat elevation and bone loss in ovariectomized mice. **Metabolism**, v. 53, n. 7, p. 942–948, jul. 2004.

WU, J. et al. Cooperative effects of isoflavones and exercise on bone and lipid metabolism in postmenopausal Japanese women: a randomized placebo-controlled trial. **Metabolism**, v. 55, n. 4, p. 423–433, abr. 2006.

YASUI, T. et al. Changes in serum cytokine concentrations during the menopausal transition. **Maturitas**, v. 56, n. 4, p. 396–403, abr. 2007.

YOON, G.; PARK, S. Antioxidant action of soy isoflavones on oxidative stress and antioxidant enzyme activities in exercised rats. **Nutrition research and practice**, v. 8, n. 6, p. 618–624, 2014.

ZANESCO, A.; ZAROS, P. R. Exercício físico e menopausa. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, p. 254–261, 2009.

ZHAN, S.; HO, S. C. Meta-analysis of the effects of soy protein containing isoflavones on the lipid profile—. **The American journal of clinical nutrition**, v. 81, n. 2, p. 397–408, 2005.

ZHANG, Y.-B. et al. Soy isoflavone supplementation could reduce body weight and improve glucose metabolism in non-Asian postmenopausal women—A meta-analysis. **Nutrition**, v. 29, n. 1, p. 8–14, jan. 2013.

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) para participar da pesquisa intitulada EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ISOFLAVONAS ASSOCIADAS AO TREINAMENTO COM EXERCÍCIOS FÍSICOS COMBINADOS NOS NÍVEIS LIPÍDICOS, MARCADORES INFLAMATÓRIOS E DE ESTRESSE OXIDATIVO EM MULHERES PÓS MENOPAUSADAS, sob a responsabilidade dos pesquisadores Jéssica Sanjulião Giolo e Prof. Dr. Guilherme Morais Puga.

Nesta pesquisa nós estamos buscando entender os efeitos da suplementação periódica de isoflavonas associadas ao treinamento com exercícios físicos nas respostas metabólicas em mulheres após a menopausa. Nos períodos pré e pós treinamento serão coletadas amostras de sangue (15mL) em jejum (12 horas). Todas essas coletas serão realizadas por um profissional de enfermagem habilitado e experiente.

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será obtido pelo pesquisador Jéssica Sanjulião Giolo na Faculdade de Educação Física da Universidade Federal de Uberlândia.

Na sua participação você fará parte de um programa de treinamento, sob supervisão, com exercícios físicos três vezes semanais durante 10 semanas, associado à suplementação (diária de 100mg) ou não de isoflavonas e serão coletadas amostras de sangue em jejum antes e após o período de treinamento com exercícios físicos.

Em nenhum momento você será identificado. Os resultados da pesquisa serão publicados e ainda assim a sua identidade será preservada. Você não terá nenhum gasto e ganho financeiro por participar na pesquisa. Fica assegurado ao participante o direito de se recusar a responder as perguntas que lhes cause constrangimento de qualquer natureza.

Os benefícios serão de proporcionar novas abordagens na prevenção e controle das doenças cardiovasculares e metabólicas, através da prática de exercícios físicos associados à suplementação de isoflavonas. Você é livre para deixar de participar da pesquisa a qualquer momento sem nenhum prejuízo ou coação. Uma via original deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ficará com você.

Qualquer dúvida a respeito da pesquisa, você poderá entrar em contato com: Jéssica Sanjulião Giolo, na Faculdade de Educação Física da Universidade Federal de Uberlândia, na Rua Benjamin Constant, 1286 - Bairro Aparecida - Uberlândia - MG - CEP 38400-678; fone: 34 3218-2955. Poderá também entrar em contato com o Comitê de Ética na Pesquisa com Seres-Humanos – Universidade Federal de

Uberlândia: Av. João Naves de Ávila, nº 2121, bloco A, sala 224, Campus Santa Mônica – Uberlândia – MG, CEP: 38408-100; fone: 34-32394131.

Uberlândia, dede 20.....

Assinatura dos pesquisadores

Eu aceito participar do projeto citado acima, voluntariamente, após ter sido devidamente esclarecido.
