**Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública**

**Efeito da proteína de feijão caupi (*Vigna unguiculata*
L. Walp) nos marcadores de risco para doença
cardiovascular em pacientes hipercolesterolêmicos**

Karoline de Macêdo Gonçalves Frota

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Nutrição em Saúde Pública para obtenção
do título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Nutrição em Saúde
Pública

Orientador: Prof. Tit. José Alfredo Gomes Arêas

Co-orientador: Dr. Raul Dias dos Santos Filho

São Paulo
2011

**Efeito da proteína de feijão caupi (*Vigna unguiculata*
L. Walp) nos marcadores de risco para doença
cardiovascular em pacientes hipercolesterolêmicos**

Karoline de Macêdo Gonçalves Frota

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Nutrição em Saúde Pública para obtenção
do título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Nutrição em Saúde
Pública

Orientador: Prof. Tit. José Alfredo Gomes Arêas
Co-orientador: Dr. Raul Dias dos Santos Filho

São Paulo
2011

Dedico a minha mãe, Gardênia, exemplo de perseverança, pela amizade, incentivo e apoio incondicional e ao meu esposo, João Filho, que sempre esteve ao meu lado, me apoiando e incentivando nesta dura caminhada.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. José Alfredo Gomes Arêas pela oportunidade, confiança, orientação prestada e pelo incentivo na busca de soluções em diversos momentos do trabalho.

Ao Dr. Raul Dias dos Santos Filho pela orientação prestada.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela concessão de apoio financeiro.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela bolsa concedida.

À técnica do laboratório MSc. Rosana Aparecida Manólio Soares pelo constante apoio, dedicação, carinho e auxílio na execução de diversas análises, recebimento e envio de matérias-primas, prestação de contas de projetos etc.

Ao Dr. Francisco Rodrigues Freire Filho pelo apoio prestado sempre que solicitado.

Ao Dr. Valdenir Queiroz Ribeiro pelo apoio estatístico prestado.

À equipe de imprensa da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA MEIO-NORTE) pelo auxílio na divulgação da pesquisa e recrutamento de voluntários.

À Dra. Regilda Saraiva dos Reis Moreira-Araújo pelo incentivo à pesquisa desde a minha Iniciação Científica.

Ao Dr. Heraldo P. Sousa pela grande ajuda nas análises de marcadores de inflamação.

À Dra. Ione Maria Ribeiro Soares Lopes pelo apoio e carinho prestado durante a intervenção realizada no Hospital Getúlio Vargas.

À empresa Línea Sucralose pelo apoio no desenvolvimento do shake com proteína de feijão caupi e shake com caseína, em especial à engenheira de alimentos Bruna Honorato da Silva, à gerente técnica Keila Bisinoto e a nutricionista Elaine Cristina Moreira.

À empresa Bremil, em especial ao gerente de produção André L. Brenner pelo apoio no isolamento da proteína de feijão caupi.

Ao laboratório Med Imagem, em especial Dr. Cerqueira e Dr. Erasmo pelo apoio em momentos importantes da pesquisa.

À Jenife pelo profissionalismo e apoio prestado durante as coletas de sangue.

Aos alunos de graduação do curso de Nutrição da UFPI Fernanda, Nayane, Paulo, Jose, Josehane, Nadli, Géssica e Denise pelo auxílio na coleta de dados.

Às professoras Dra. Sandra e Dra. Ana Maria Pita Lottenberg pelas válidas sugestões prestadas durante a qualificação.

Aos (às) professores(as) Dra. Nágila, Dra Úrsula, Dra Regilda, Dra Sandra e Dr. Marcelo pelas sugestões prestadas durante a fase de pré-banca.

À empresa M. Cassab pela doação do carbonato de cálcio.

Aos voluntários, que sensibilizados com o estudo, colaboraram de forma fundamental para execução deste trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública: José Bezerra, José Pereira, Bastos, Alessandra, Vanessa, Vânia, Roseli, Elizabeth Santos por auxiliar nas dúvidas burocráticas.

Às amigas Renée e Thais pela amizade, carinho e companheirismo.

Às colegas de laboratório LÍlian, Rosana, Luíla, Karen, Ludmila, Olívia, Márcia, Gustavo, Jéssica e Thais pelo apoio em momentos difíceis e companheirismo durante o trabalho.

Às professoras Dra. Socorro Cruz e Dra. Ivete pelo empréstimo de ultrafreezer na Universidade Federal do Piauí.

Aos colegas José Wilson e Cleverton pelo apoio em momentos difíceis na execução deste trabalho.

A pedra

"O distraído nela tropeçou.

O bruto a usou como projétil.

O empreendedor, usando-a, construiu.

O camponês, cansado da lida, dela fez assento.

Para meninos, foi brinquedo.

Drummond a poetizou.

Já, David matou Golias, e Michelangelo extraiu-lhe a mais bela escultura.

E em todos esses casos, a diferença não esteve na pedra, mas no Homem!

Não existe 'pedra' no seu caminho que você não possa aproveitá-la para o seu próprio crescimento."

Fenelon Portilho

RESUMO

Frota, KMG. Efeito da proteína de feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) nos marcadores de risco para doença cardiovascular em pacientes hipercolesterolêmicos [Tese de doutorado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP; 2011.

Introdução: As doenças cardiovasculares representam a principal causa de morte no mundo, sendo o aumento da concentração de colesterol sanguíneo um dos seus principais fatores de risco. O processo aterosclerótico envolve não apenas a deposição de colesterol nas artérias, mas a inflamação tem papel central em todas as fases do processo aterosclerótico. Estudo em animais mostrou, por sua vez, que a proteína de feijão caupi é um potente redutor na concentração de colesterol sanguíneo. **Objetivo:** Avaliar a influência da proteína de feijão caupi sobre o perfil lipídico, apolipoproteínas, glicose, insulina, HOMA-IR, marcadores de inflamação e de disfunção endotelial em pacientes hipercolesterolêmicos. **Métodos:** A proteína de feijão caupi foi isolada por precipitação isoelétrica da farinha de feijão caupi desengordurada. O isolado protéico de caupi (IPC) foi utilizado no desenvolvimento do *shake* à base de proteína de caupi, caseinato de cálcio foi utilizado para desenvolvimento do *shake* controle. Realizou-se um ensaio clínico do tipo “cross-over”, aleatorizado, cego e controlado. Uma amostra de 44 indivíduos hipercolesterolêmicos foi dividida em 2 grupos (Grupo Controle e Grupo IPC), cada grupo recebeu *shake* caseína e *shake* IPC, respectivamente, por 6 semanas cada. Depois do *washout* de 4 semanas, os indivíduos receberam o *shake* oposto por mais 6 semanas. Foram quantificadas as variáveis bioquímicas: colesterol total, LDL-c, HDL-c, triglicerídeos, colesterol não-HDL, apo A1, apo B, razão LDL/HDL, razão TG/HDL, razão apo B/apo A1, glicose de jejum, insulina de jejum, HOMA-IR (modelo de avaliação da homeostase), proteína C reativa (PCR), molécula de adesão intercelular solúvel-1 (sICAM-1) e molécula de adesão vascular solúvel-1 (sVCAM-1) antes e após cada período experimental. A diferença entre os *shakes* foi analisada com ANOVA para medidas repetidas ao nível de significância de 5 %. **Resultados:** A amostra final foi composta por 38 indivíduos com idade média de 57 anos. A

redução em cadeia (delta após consumo de proteína de feijão caupi menos delta após consumo de caseína) no colesterol total foi de $21,0 \text{ mg.dL}^{-1}$ ($p < 0,001$), CT(%) foi de $8,4 \%$ ($p < 0,001$), LDL(%) foi de $14,4 \%$ ($p < 0,001$), colesterol não-HDL foi de $24,3 \text{ mg.dL}^{-1}$ ($p < 0,001$) e apo B foi de $15,5 \text{ mg.dL}^{-1}$ ($p < 0,001$). A ingestão de proteína de caupi afetou significativamente o HDL-c e a mudança em cadeia observada foi um aumento de $3,2 \text{ mg.dL}^{-1}$ ($p = 0,044$). Os marcadores de metabolismo glicídico (glicose de jejum, insulina de jejum e HOMA-IR), bem como os marcadores de inflamação (PCR) e de disfunção endotelial (sVCAM-1 e sICAM-1) não sofreram modificações significativas após consumo de proteína de feijão caupi ($p > 0,05$). **Conclusão:** O presente estudo mostra que a ingestão diária de 25 g de proteína de feijão caupi durante 6 semanas é capaz de reduzir os níveis de colesterol sanguíneo, em especial a fração LDL-c; no entanto, não parece exercer influência sobre os marcadores de inflamação subclínica e de disfunção endotelial. Portanto, o aumento do consumo de feijão caupi pode representar uma alternativa eficaz, barata e viável na melhora dos níveis lipídicos em indivíduos hipercolesterolêmicos.

Descritores: proteína, perfil lipídico, feijão caupi, inflamação, disfunção endotelial.

ABSTRACT

Frota, KMG. Effect of cowpea protein (*Vigna unguiculata* L. Walp) in risk markers for cardiovascular disease in hypercholesterolemic patients [Thesis]. São Paulo (BR): Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo; 2011.

Introduction: Cardiovascular diseases are the leading cause of death worldwide, and the increase of cholesterol in blood is one of their main risk factors. The atherosclerotic process involves not only the deposition of cholesterol in the arteries, inflammation plays a central role in all stages of atherosclerosis. Animal study showed that the protein of cowpea is a potent reducer of blood cholesterol.

Objective: To evaluate the influence of cowpea protein on blood lipids, apolipoproteins, glucose, insulin, HOMA-IR, markers of inflammation and endothelial dysfunction in hypercholesterolemic patients. **Methods:** The protein of cowpea was isolated by isoelectric precipitation of defatted flour of cowpea. Cowpea protein isolate (CPI) was used to develop the cowpea protein shake, and calcium caseinate was used for development of the control shake. A cross-over, randomized, blinded and controlled clinical trial was conducted with a sample of 44 hypercholesterolemic subjects, which was divided into two groups (control group and CPI group). Each group received casein shake and CPI shake, respectively, for taken for 6 weeks. After this period and a 4-week washout, subjects received the opposite shake for taken for 6 weeks. Biochemical variables were measured: total cholesterol, LDL-C, HDL-C, triglycerides, non-HDL cholesterol, apo A1, apo B, LDL/HDL ratio, TG/HDL ratio, apo B/apo A1 ration, fasting glucose, fasting insulin, HOMA-IR (homeostasis model assessment), C-reactive protein (CRP), soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1) and soluble vascular adhesion molecule-1 (sVCAM-1) before and after each experimental period. The difference between the shakes was analyzed with repeated measures analysis of variance (ANOVA) at a significance level of 5 %. **Results:** The final sample consisted of 38 subjects with mean age of 57 years. The net changes in serum total cholesterol

concentrations was a decrease of $-21.05 \text{ mg.dL}^{-1}$ ($p < 0.001$), in total cholesterol was -8.42% ($p < 0.001$), in LDL-c was -14.36% ($p < 0.001$), in non-HDL cholesterol was $-24.29 \text{ mg.dL}^{-1}$ ($p < 0.001$) and apoB was $-15.55 \text{ mg.dL}^{-1}$ ($p < 0.001$). Cowpea protein intake significantly affected serum HDL-c concentrations, the net change was a increase of 3.24 mg.dL^{-1} ($p = 0.044$). Markers of glycemic control (fasting glucose, fasting insulin and HOMA-IR) and inflammation markers (CRP) and endothelial dysfunction (sICAM-1 and sVCAM-1) have not changed significantly after consumption of cowpea protein ($p > 0.05$). **Conclusion:** This study shows that daily intake of 25 g of cowpea protein for 6 weeks can reduce levels of blood cholesterol, especially LDL-c, however did not exhibit influence on markers of subclinical inflammation and endothelial dysfunction. Therefore, the consumption of cowpea can be an effective, inexpensive and feasible way to control blood lipids of hypercholesterolemic subjects.

Descriptores: protein, lipid profile, cowpea, inflammation, endothelial dysfunction.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	18
1.1 - EPIDEMIOLOGIA DA DOENÇA CARDIOVASCULAR ATHEROSCLERÓTICA	18
1.2 – ASPECTOS FISIOPATOLÓGICOS DA DOENÇA CARDIOVASCULAR ATHEROSCLERÓTICA	20
1.3 - BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS DO PROCESSO ATHEROSCLERÓTICO	23
1.4 - PAPEL DOS GRÃOS NA DOENÇA CARDIOVASCULAR ATHEROSCLERÓTICA	26
1.5 - FEIJÃO CAUPI	29
2 – JUSTIFICATIVA	32
3 – OBJETIVOS	33
3.1 – OBJETIVO GERAL	33
3.2 – OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
4 - CASUÍSTICA E MÉTODOS	35
4.1 - CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA E DESENVOLVIMENTO DOS PRODUTOS	35
4.1.1 - Processamento da Matéria-prima	35
4.1.2 - Produção do Isolado Protéico de Caupi	36
4.1.3 - Desenvolvimento dos <i>Shakes</i> à Base de Proteína de Caupi e à Base de Caseína	38
4.1.4 - Composição Centesimal da Farinha de Feijão Caupi, do Isolado Protéico de Caupi e dos <i>Shakes</i>	39
4.1.5 - Perfil de Aminoácidos do Feijão Caupi Integral e Isolados Protéicos de Caupi	40
4.1.6 - Teor de cálcio no <i>Shake</i> à Base de Proteína de Feijão Caupi e no <i>Shake</i> à Base de Caseína	41
4.2 - ENSAIO CLÍNICO	42
4.2.1 - População de Estudo e Critérios de Elegibilidade	42

4.2.2 - Estimativa do Tamanho de Amostra	44
4.2.3 - Desenho Experimental	44
4.2.4 - Medicação	47
4.2.5 - Consumo Alimentar	47
4.2.6 - Antropometria	48
4.2.7 - Análises de Laboratório	50
4.2.7.1 - Análise dos Lipídios Séricos	50
4.2.7.2 - Quantificação de Apolipoproteínas Séricas	51
4.2.7.3 - Quantificação de Marcadores de Inflamação e de Marcadores de Disfunção Endotelial	51
4.2.7.4 - Quantificação dos Níveis de Glicose e Insulina de Jejum	52
4.2.7.5 - Avaliação do Modelo Homeostático (HOMA-IR)	52
4.3 - ANÁLISES ESTATÍSTICAS	52
5 - RESULTADOS	54
5.1 – CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA E DESENVOLVIMENTO DO PRODUTO	54
5.1.1 – Composição Centesimal da Farinha de Feijão Caupi Integral e Desengordura e Isolados Protéicos	54
5.1.2 – Perfil de Aminoácidos do Feijão Caupi e Isolados Protéicos de Feijão Caupi	55
5.1.3 - Composição Centesimal do <i>Shake</i> à Base de Proteína de Feijão Caupi e do <i>Shake</i> à Base de Caseína	56
5.2 – ENSAIO CLÍNICO	58
5.2.1 – População do Estudo	58
5.2.2 – Comparação dos Grupos Antes e Após Consumo dos <i>Shakes</i>	60
5.2.2.1 – Avaliação Antropométrica	60
5.2.2.2 – Avaliação do Consumo Alimentar	61
5.2.2.3 - Análises do Perfil Lipídico e de Apolipoproteínas	64
5.2.2.4 - Análises dos Marcadores de Inflamação e de Disfunção Endotelial	74

5.2.2.5 - Análises dos Marcadores do Metabolismo da Glicose	75
6 - DISCUSSÃO	78
6.1 – DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DAS MATÉRIAS-PRIMA/PRODUTOS	78
6.2 - ENSAIO CLÍNICO	81
6.2.1 - Avaliação de Parâmetros Antropométricos e Dieta Habitual dos Participantes	81
6.2.2 - Efeito do Consumo da Proteína de Feijão Caupi e da Caseína sobre o Perfil Lipídico e Apolipoproteínas	82
6.2.3 - Efeito do Consumo de Proteína de Feijão Caupi e de Caseína nos Marcadores de Inflamação e Disfunção Endotelial	90
6.2.4 - Efeito do Consumo da Proteína de Feijão Caupi e de Caseína nos Marcadores de Metabolismo Glicídico	92
6.3. – LIMITAÇÕES E FORTALEZAS DO ESTUDO	96
7- CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS	98
8 - REFERÊNCIAS	100
ANEXOS	
ANEXO A-1: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí	115
ANEXO A-2: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Getúlio Vargas	120
ANEXO B-1: Carta de Aprovação pela Comissão Científica do Instituto do Coração.	125
ANEXO B-2: Carta de Aprovação pela Comissão de Ética para Análise de Projeto de Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina.	126
ANEXO B-3: Carta de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí	127
ANEXO B-4: Carta de Aprovação da Comissão de Ética em Pesquisa do Hospital Getúlio Vargas	128
ANEXO C: Modelo de Recordatório Alimentar de 24h	129

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Composição centesimal da farinha de feijão caupi integral, da farinha de feijão caupi desengordurada e isolado protéico de caupi obtido em escala indústria e laboratorial (g/100 g), em base seca. Média $\pm$ Desvio-padrão.	54
Tabela 2	Perfil de aminoácidos do feijão caupi, do isolado protéico obtido em escala industrial e laboratorial (g/100 g) e recomendação de aminoácidos essenciais.	55
Tabela 3	Composição centesimal e valor calórico (kcal/100 g e kcal/30 g) dos <i>shakes</i> desenvolvidos com proteína isolada de feijão caupi e com caseína (g/100 g e g/30 g), em base úmida. Média $\pm$ Desvio-padrão.	57
Tabela 4	Teor de cálcio dos <i>shakes</i> desenvolvidos com proteína isolada de feijão caupi e com caseína (mg/100 g e mg/30 g), em base úmida. Média $\pm$ desvio-padrão.	58
Tabela 5	Descrição das características clínicas.	59
Tabela 6	Valores médios dos indicadores antropométricas antes e após consumo de <i>shake</i> com proteína de feijão caupi e <i>shake</i> com caseína.	60
Tabela 7	Valores de “p” para os deltas dos indicadores antropométricos avaliados entre o tipo de <i>shake</i> e a ordem de ingestão dos <i>shakes</i> .	61
Tabela 8	Ingestão total de energia (kcal/dia), macronutrientes (g/dia), ácidos graxos (g/dia), colesterol (mg/dia) e fibra (g/dia) antes e após consumo do <i>shake</i> com proteína de feijão caupi e do <i>shake</i> com caseína.	62
Tabela 9	Valores de “p” para os deltas dos indicadores de consumo alimentar avaliados entre o tipo de <i>shake</i> e a ordem de ingestão dos <i>shakes</i> .	63
Tabela 10	Variações ocorridas nas frações lipídicas e apolipoproteínas de 38 indivíduos que consumiram <i>shake</i> com proteína de feijão caupi e <i>shake</i> com caseína e valores de “p” para os deltas e deltas (%) dos parâmetros avaliados entre o tipo de <i>shake</i> e a ordem de ingestão dos <i>shakes</i> .	64
Tabela 11	Valores médios de triacilgliceróis, razão TG/HDL e apolipoproteína AI antes e após consumo do <i>shake</i> com proteína de feijão caupi e do <i>shake</i> com caseína.	73

Tabela 12	Resultado das comparações múltiplas de Bonferroni para as variações dos indicadores que apresentaram diferenças entre o tipo de <i>shake</i> ou entre o <i>shake</i> conforme a ordem de ingestão.	73
Tabela 13	Valores médios de marcadores de inflamação e de disfunção endotelial antes e após consumo do <i>shake</i> com proteína de feijão caupi e do <i>shake</i> com caseína.	74
Tabela 14	Variações ocorridas nos marcadores de inflamação e de disfunção endotelial de 38 indivíduos que consumiram <i>shake</i> com proteína de feijão caupi e <i>shake</i> com caseína e valores de “p” para os deltas avaliados entre o tipo de <i>shake</i> e a ordem de ingestão dos <i>shakes</i> .	75
Tabela 15	Valores médios de glicose de jejum, insulina de jejum e HOMA-IR antes e após consumo do <i>shake</i> com proteína de feijão caupi e do <i>shake</i> com caseína.	76
Tabela 16	Variações ocorridas nas concentrações plasmáticas de insulina, glicose e no HOMA-IR de 38 indivíduos que consumiram <i>shake</i> com proteína de feijão caupi e <i>shake</i> com caseína e valores de “p” para os deltas avaliados entre o tipo de <i>shake</i> e a ordem de ingestão dos <i>shakes</i> .	76

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Fluxograma para produção do isolado protéico de feijão caupi.	37
Figura 2	Fluxograma das etapas do desenvolvimento dos <i>shakes</i> à base de proteína de feijão caupi e a base de caseína.	39
Figura 3	Fluxograma do desenho experimental.	45
Figura 4	<i>Shakes</i> oferecido em pacotes codificados, contendo 12,5 g de proteína de feijão caupi ou de caseína.	46
Figura 5	Avaliação antropométrica.	49
Figura 6	Valores médios e respectivos erros padrão do colesterol total de 38 indivíduos segundo ingestão de <i>shake</i> com proteína de feijão caupi e <i>shake</i> controle (caseína).	66
Figura 7	Valores médios e respectivos erros padrão do LDL-c de 38 indivíduos segundo ingestão de <i>shake</i> com proteína de feijão caupi e <i>shake</i> controle (caseína).	67
Figura 8	Valores médios e respectivos erros padrão do HDL-c de 38 indivíduos segundo ingestão de <i>shake</i> com proteína de feijão caupi e <i>shake</i> controle (caseína).	68
Figura 9	Valores médios e respectivos erros padrão do colesterol não-HDL de 38 indivíduos segundo ingestão de <i>shake</i> com proteína de feijão caupi e <i>shake</i> controle (caseína).	69
Figura 10	Valores médios e respectivos erros padrão da razão LDL/HDL de 38 indivíduos segundo ingestão de <i>shake</i> com proteína de feijão caupi e <i>shake</i> controle (caseína).	70
Figura 11	Valores médios e respectivos erros padrão da apoliproteína B de 38 indivíduos segundo ingestão de <i>shake</i> com proteína de feijão caupi e <i>shake</i> controle (caseína).	71
Figura 12	Valores médios e respectivos erros padrão da razão apo B/apo A1 de 38 indivíduos segundo ingestão de <i>shake</i> com proteína de feijão caupi e <i>shake</i> controle (caseína).	72

LISTA DE ABREVIATURAS

HDL	Lipoproteína de alta densidade
HDL-c	Colesterol de lipoproteína de alta densidade
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LDL-c	Colesterol de lipoproteína de baixa densidade
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade
TG	Triglicéride
Apo	Apolipoproteína
ABCA-1	ATP-binding cassette transporter 1
SR-B1	Scavenger Receptor Class B Type I
MCP-1	Monocyte Chemoattractant Protein-1
LDLr	Receptor de LDL
SREBP	Sterol Regulatory Element Binding Proteins
HMG-CoA	3-Hidroxi-3-metilglutaril coenzima A
PCRus	Proteína C reativa de alta sensibilidade
IL	Interleucina
TNF- α	Fator de necrose tumoral-alfa
sICAM-1	Molécula de adesão intercelular-1
sVCAM-1	Molécula de adesão vascular-1
IMC	Índice de massa corporal
CC	Circunferência da cintura
CQ	Circunferência do quadril
RCQ	Razão cintura quadril
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
R24H	Recordatório alimentar de 24 horas

LISTA DE SÍMBOLOS

Kcal/dia	Quilo-caloria por dia
g/dia	Grama por dia
m	Metro
cm	Centímetro
Kg/m ²	Quilograma por metro ao quadrado
mg/dL	Miligrama por decilitro
mg/30 g	Miligrama por 30 gramas
mg/100 g	Miligrama por 100 gramas
g	Grama
°C	Graus Celsius
mL	Mililitro
µm	Micrômetro
n	Amostra
p	Nível descritivo de probabilidade do teste
m/v	Massa por volume
ng/mL	Nanograma por mililitro
mg/L	Miligrama por litro
HOMA-IR	Modelo de avaliação da homeostase
mmol/L	Milimol por litro

1. INTRODUÇÃO

1.1 - EPIDEMIOLOGIA DA DOENÇA CARDIOVASCULAR ATEROSCLERÓTICA

O cenário epidemiológico brasileiro é caracterizado por importante mudança no perfil de morbimortalidade, denominado de transição epidemiológica. Em 1930, as doenças infecciosas respondiam por cerca de 46 % das mortes em capitais brasileiras, em 2003 essas doenças responderam apenas por cerca de 5 % (BARBOSA, 2003). Por outro lado, a doença cardiovascular aterosclerótica, que representava apenas 12 % na década de 30, são, atualmente, as principais causas de morte em todas as regiões brasileiras, respondendo por quase 1/3 dos óbitos. A magnitude de parte das doenças crônicas não transmissíveis pode ser avaliada pelas doenças cardiovasculares, responsáveis por 31 % do total de óbitos por causas conhecidas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005).

Recentes dados mostram que 71,3 milhões de pessoas nos Estados Unidos possuem 2 ou mais fatores de risco para as doenças cardiovasculares (THOM et al., 2006). Estudos têm consistentemente mostrado que as modificações nos fatores de risco podem reduzir a incidência das doenças cardiovasculares (GIAMPAOLI et al., 2006; ISO et al., 2011).

Estatística alarmante sugere que as doenças cardiovasculares afetarão mais de 1 em cada 3 americanos adultos durante a sua vida (ROSAMOND et al., 2007).

Embora o risco de infarto do miocárdio seja maior entre os homens, os acidentes cerebrovasculares ocorrem mais comumente entre as mulheres, sendo que as doenças cardiovasculares são importante causa de morte nas mulheres acima de 40 anos (ROSAMOND et al., 2007).

Este elevado risco é em grande parte reflexo do declínio da concentração de estrogênio circulante (BITTNER, 2005). Em contraste ao rápido declínio de estradiol, os níveis de testosterona circulantes são lentamente reduzidos durante este período de menopausa, levando a um relativo excesso androgênico (LIU et al, 2001). As mudanças durante a menopausa nos níveis hormonais e na razão estrogênios:androgênios são importantes porque estes esteróides sexuais parecem ter efeito oposto sobre o risco vascular. Os estrogênios têm efeitos benéficos múltiplos no sistema cardiovascular, incluindo vasodilatação e aumento do fluxo sanguíneo cerebral por reduzir o tônus vascular cerebral e aumentar a complacência arterial (RAJKUMAR et al., 1997; PERSICO et al., 2005). Além disso, na menopausa há mudança no perfil lipídico, que incluem a redução do HDL-c, aumento nos triacilgliceróis e nas lipoproteínas contendo apo B (BITTNER, 2005).

Uma estimativa de 16,7 milhões ou 29,2 % dos óbitos totais no mundo são conseqüências de várias formas de doenças cardiovasculares, muitas das quais evitáveis por ações de controle dos fatores de risco primários: alimentação inadequada, sedentarismo e tabagismo (WHO, 2007).

1.2 – ASPECTOS FISIOPATOLÓGICOS DA DOENÇA CARDIOVASCULAR ATEROSCLERÓTICA

A aterosclerose é um processo dinâmico que envolve disfunção endotelial, inflamação, acúmulo de colesterol, apoptose, degradação da matriz extracelular e estresse oxidativo (CORTI et al., 2004). A aterogênese é drasticamente acelerada pela presença concomitante dos principais fatores de risco cardiovascular como dislipidemia, hipertensão arterial, diabetes melito, tabagismo e obesidade visceral, que provocam alterações no endotélio da parede arterial favorecendo a disfunção endotelial e o início do processo aterogênico (NAGHAVI et al., 2003).

Como consequência da disfunção endotelial ocorre penetração de lipoproteínas no espaço subendotelial, particularmente LDL, geração de glicoproteínas de adesão na superfície de células endoteliais, secreção de fatores de crescimento e citocinas implicadas na migração, na proliferação celular e na coagulação (ROSS, 1993; HUNT, 2000). Monócitos penetram na íntima e no espaço subendotelial e são transformados em macrófagos ativados que capturam LDL, especialmente a oxidada. O acúmulo progressivo de lipídeos intracelulares nas células espumosas forma as estrias de gorduras. Lesões fibrosas têm uma capa consistindo em células musculares lisas e matriz extracelular rica em colágeno e proteoglicanos que recobrem o núcleo necrótico rico em lipídeos. O estreitamento luminal causado pela instalação de uma placa aterosclerótica contribui para manifestações clínicas da oclusão vascular. O desenvolvimento de um trombo arterial sobreposto a uma placa com ruptura é o responsável pela maioria das manifestações aguda e potencialmente letais da doença

(DAVIES, 2000; FUSTER, 2000). Elevados níveis plasmáticos de colesterol total, LDL-c e triacilgliceróis (TG), estão associados ao risco aumentado de aterosclerose (SMITH et al., 2004).

O colesterol é transportado majoritariamente em lipoproteínas contendo apolipoproteína B que são aterogênicas (MARCOVINA e PACKARD, 2006). A apolipoproteína-B (apo B) está presente nos quilomicrons como apo-B48 e nas lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL), lipoproteínas de densidade intermediária (IDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e lipoproteína (a) como apo-B100, que é responsável pela ligação da lipoproteína ao receptor tecidual específico (PACKARD e SHEPHERD, 1997; NCEP, 2001). A apolipoproteína B é a principal proteína funcional para o transporte de colesterol às células periféricas (RIFAI et al., 1999). As partículas de LDL, IDL, VLDL e Lp(a) apresentam uma molécula de apo B em sua estrutura (PACKARD e SHEPHERD, 1997), e, desta forma, a concentração plasmática de apo B indica o número total de partículas potencialmente aterogênicas, correlacionando-se com os níveis de colesterol não-HDL (WALLDIUS e JUNGNER, 2004; PISCHON et al., 2005).

Um indicador bastante utilizado como uma medida do potencial aterogênico total é o colesterol não-HDL, que reflete os níveis circulantes das lipoproteínas contendo apolipoproteína B aterogênica (NCEP, 2001). Outro aspecto importante na aterogênese é o processo oxidativo que modifica as lipoproteínas, principalmente a LDL, podendo ser considerado um fator de risco agravante, desde que não seja contrabalançado pelo sistema de defesa antioxidante (REGSTROM et al., 1992; VAN DE VIJVER et al., 1999).

Estudos mostram que níveis altos de HDL são inversamente associados com risco de doença arterial coronariana, o que daria a esta fração um papel claramente protetor da doença cardiovascular. O HDL-c pode retardar a progressão da aterosclerose pelo fato de transportar o excesso de colesterol das células periféricas para o fígado, em um processo conhecido como transporte reverso de colesterol (KUPAR et al., 2008).

Há consideráveis debates sobre qual componente da HDL mais claramente reflete seu papel como agente anti-aterogênico (BARTER et al., 2003). A proteína apo AI, que representa 70% do conteúdo protéico da HDL-c, é considerada como o componente ativo desta macromolécula, pois modula a interação lipoproteína-célula e acredita-se que esta apoproteína seja essencial para a captação de colesterol das células periféricas pela associação com proteínas de superfície ABCA-1 (*ATP-binding cassette transporter 1*) e para a deposição dos lipídios nos hepatócitos via receptor SR-B1 (*Scavenger Receptor Class B Type I*) (RYE et al., 1999; LEWIS e RADER, 2005; KAPUR et al., 2008). A apo AI também apresenta atividade antiinflamatória e antioxidante e isso pode contribuir para seu papel cardioprotetor (BATER et al., 2003).

Atualmente, os níveis plasmáticos das apolipoproteínas A1 e B têm sido descritos como melhores preditores de doenças ateroscleróticas do que as concentrações de lipídeos e lipoproteínas (WALLDIUS e JUNGNER, 2004; VAN LENNEP et al., 2000), e tem sido sugerido que o índice apo B/apo A1 representa um parâmetro superior para predição do risco cardiovascular do que outros índices lipídicos, como colesterol total/HDL-c, LDL-c/HDL-c e colesterol não-HDL/HDL-c

(WALLDIUS et al., 2004; SNIDERMAN et al., 2006). O estudo INTERHEART avaliou cerca de 30 mil indivíduos de 52 países e demonstrou que o índice apo B/apo A1 se mostrou mais fortemente associado com a predição de infarto agudo do miocárdio do que vários fatores de risco convencionais como o tabagismo, hipertensão, diabetes, estresse e obesidade abdominal, independentemente de sexo, idade e origem étnica (YUSUF et al., 2004).

1.3 – BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS DO PROCESSO ATHEROSCLERÓTICO

Na resposta inflamatória, presente durante o desenvolvimento da aterosclerose, há uma constante produção de citocinas e fatores de crescimento secretados localmente. A presença destas citocinas e mitógenos perpetua a migração e a adesão dos monócitos às células endoteliais, ativação e migração de plaquetas, ativação de fatores de coagulação e aumento da permeabilidade do endotélio, permitindo que monócitos, LDL nativa e LDL oxidada atinjam o espaço subendotelial e ocorra a conseqüente ativação de uma resposta imune específica (ROSS e GLONSET, 1983; NILSSON, 1986; REGNSTROM e NILSSON, 1994; O'BREIN e CHAIT, 1994). Assim, o processo inflamatório é claramente associado à deposição de gordura na placa de ateroma.

O marcador inflamatório, proteína-C-reativa (PCR) é, portanto, um forte preditor independente de infarto do miocárdio futuro entre homens assintomáticos aparentemente saudáveis. A capacidade preditora deste indicador é similar àquela do colesterol e da pressão sangüínea (RIDKER et al., 1997; RIDKER et al., 1998; PIRRO et al., 2001; RIDKER et al., 2002). Ao se considerar a PCR junto com os fatores de risco tradicionais, mais de 30% de indivíduos de risco intermediário são reclassificados para categorias de menor ou maior risco. A capacidade preditiva da PCR no risco cardiovascular é tão importante quanto o da LDL-c, da HDL-c, da pressão sangüínea ou do fumo individualmente (COOK et al., 2006).

Atualmente a proteína C reativa não é vista apenas como um marcador de inflamação, mas como um mediador da inflamação na doença aterosclerótica (LIBBY et al., 2002). Entretanto, a inflamação contribui em todo o espectro da doença cardiovascular, incluindo as primeiras etapas na aterogênese. Este reconhecimento tem tido um impacto profundo na compreensão de aterotrombose como mais do que uma doença de acúmulo de lipídeos, mas sim como um distúrbio caracterizado por baixo grau de inflamação vascular (LIBBY et al., 2002). Funcionalmente, a PCR além de proporcionar ativação das citocinas, em geral, apresenta vários efeitos diretos que podem afetar a progressão da doença vascular. Estas funções incluem uma capacidade de se ligar e ativar complemento, induzir a expressão de moléculas de adesão e fator tecidual em várias células, mediar a captação de LDL pelos macrófagos endoteliais, induzir o recrutamento de monócitos na parede arterial e melhorar a produção de MCP-1 (*monocyte*

chemoattractant protein-1) (TORZEWSKI et al., 2000; PASCERI et al., 2000; ZWAKA et al., 2001; PASCERI et al., 2001).

Outros marcadores da inflamação envolvidos com a gênese da doença cardiovascular são as citocinas pró-inflamatórias (ex. interleucina-6, fator de necrose tumoral alfa) e moléculas de adesão (ex. E-selectinas, sVCAM-1 e sICAM-1). A expressão de moléculas de adesão no endotélio é induzida por várias citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β e TNF- α (MADAN et al., 2004).

A inflamação é conhecida por apresentar um papel importante na progressão das doenças cardiovasculares e isso é refletido, em parte, pelos níveis aumentados de citocinas pró-inflamatórias. Elevados níveis de tais citocinas, especificamente TNF-alfa e IL-6 predizem mortalidade por todas as causas e mortalidade cardiovascular (VOLPATO et al., 2001; ZHANG et al., 2009). Evidências acumuladas também indicam que o estresse oxidativo tem um papel importante na iniciação e progressão da disfunção cardiovascular (DROGE, 2002; HARRISON e GONGORA, 2009). A geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) causa apoptose de células endoteliais, aumento da adesão de monócitos e angiogênese, todos envolvidos no desenvolvimento da doença cardiovascular (TANIAYMA e GRIENDLING, 2003). A IL-6 é um dos principais componentes responsáveis pela produção hepática de proteína de fase aguda, particularmente, PCR, um indicador não específico e sensível de inflamação.

Diversos fatores genéticos e ambientais afetam os marcadores de inflamação sistêmica. Entre os fatores ambientais encontra-se o efeito da composição da dieta,

em particular a presença de determinados tipos de ácidos graxos (MEZZANO et al., 2001; LIU et al., 2002; JENKINS et al., 2002).

1.4 - PAPEL DOS GRÃOS NA DOENÇA CARDIOVASCULAR ATEROSCLERÓTICA

Estudos têm consistentemente mostrado que a modificação dos fatores de risco pode reduzir a incidência de doenças cardiovasculares, tais como doenças cerebrovasculares e coronariopatias (NCEP, 2001; GIAMPAOLI et al., 2006).

A dieta tem um importante impacto sobre vários fatores de risco modificáveis para as doenças do coração como: dislipidemias, hipertensão, obesidade e diabetes. A recomendação de uma dieta com reduzida concentração de gordura saturada e colesterol ajuda a diminuir os riscos para doenças cardiovasculares, no entanto, outros fatores dietéticos podem oferecer benefícios adicionais (AMERICAN HEART ASSOCIATION, 1998; YU-POTH et al., 1999; SPOSITO et al., 2007). Estudos observacionais epidemiológicos mostram que o consumo de leguminosas tem sido associado ao menor risco de doença arterial (BAZZANO et al., 2001) e testes clínicos mostram que o consumo de leguminosas reduz o colesterol total sérico e LDL-c, principais fatores de risco para as doenças cardiovasculares (ANDERSON et al., 1995; ANDERSON e MAJOR, 2002; DURANTI, 2006). Entretanto, a maioria dos estudos que avaliou o efeito hipocolesterolemizante do consumo de leguminosas examinou especificamente a soja, sendo que há outras que são mais comumente

consumidas nos países ocidentais (ANDERSON et al., 1995; FUKUI et al., 2004; REYNOLDS et al., 2006).

Outras leguminosas, tais como fava, grão de bico e feijão também têm recebido alguma atenção pela sua importância na redução do risco de distúrbios lipídicos (ROSA et al., 1998; MACARULLA et al., 2001; PITTAWAY et al., 2006). Há poucos dados na literatura a respeito da capacidade hipocolesterolemizante destas leguminosas e os componentes e mecanismos responsáveis por este efeito não estão totalmente esclarecidos. Estudos sugerem vários componentes alimentares que justificam tal efeito, como o teor de fibras alimentares totais e solúveis, a presença de amido resistente, composição de aminoácidos, peptídeo, proteínas, saponinas, fitoesteróis e isoflavonas (POTTER, 1995; ALI e MUZQUIZ, 1998; ADLERCREUTZ et al., 2000; ALONSO et al., 2001).

Meta-análise sobre o efeito da suplementação de proteína de soja nos lipídios séricos mostra que a suplementação com proteína de soja ou substituição da proteína animal pela proteína de soja reduz o colesterol total, LDL-c e TG em humanos. Esta redução é ainda mais evidente nos indivíduos com maior nível de colesterol no início do estudo (ANDERSON et al., 1995; REYNOLDS et al., 2006). Na meta-análise torna-se evidente que a quantidade de proteína está associada à redução na concentração de colesterol e que a ingestão diária de 25 g de proteína de soja reduz o colesterol total sérico em 8,9 mg/dL (ANDERSON *et al.*, 1995).

A meta-análise de BAZZANO et al. (2011) incluindo 10 ensaios clínicos aleatorizados mostra que dieta rica em leguminosas que não seja a soja reduzem o colesterol total em 11,8 mg/dL e o LDL-c em 8 mg/dL.

FROTA et al. (2008a), ao estudar o efeito hipocolesterolemizante da proteína isolada de feijão caupi em hamsters, observou que a proteína deste feijão reduziu em 20 % o colesterol total e em 22 % o colesterol não-HDL quando comparado ao grupo controle. Este estudo mostra o efeito benéfico da proteína de feijão caupi de modo similar ao da soja.

Outro grão recentemente estudado, o amaranto (*Amaranthus cruentus* L., *A. caudatus* L.), também apresenta relevante efeito hipocolesterolemizante e se somam aos já estudados que potencialmente podem trazer benefício na redução do risco de doenças cardiovasculares (PLATE e ARÊAS, 2002; MENDONÇA, 2009).

Vários mecanismos têm sido propostos para explicar a menor concentração de colesterol sérico em animais que recebem dieta contendo proteína de soja ao invés de caseína. Entre eles destaca-se o aumento na atividade de receptores de LDL (POTTER, 1995). A expressão de genes para receptor de LDL (LDLr) é regulada preferencialmente pelo fator de transcrição SREBP-2 (*Sterol Regulatory Element Binding Proteins*). TOVAR et al. (2005) estudaram dois grupos de animais: um alimentado com proteína de soja e outro com caseína. Os animais com dieta à base de soja apresentaram menor concentração de colesterol sanguíneo e aumento no SREBP-2, na expressão de 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A redutase (HMG-CoA redutase) e receptor de LDL (LDLr) comparado aos ratos que receberam caseína.

1.5 – FEIJÃO CAUPI

O feijão caupi é uma dicotiledônea que pertence à ordem *Fabales*, família *Fabaceae*, subfamília *Faboideae*, tribo *Phaseoleae*, subtribo *Phaseolinae* e ao gênero *Vigna* (FREIRE FILHO e SILVA, 1999). Esta leguminosa apresenta ciclo curto, e se adapta bem a diversas condições ambientais, incluindo regiões áridas e áreas impróprias para o crescimento da soja (SARR et al., 2001). O feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) é uma cultura de origem africana, a qual foi introduzida no Brasil na metade do século XVI pelos colonizadores portugueses, no Estado da Bahia (FREIRE FILHO et al., 1981). Posteriormente, disseminou-se por todo o país, onde adquiriu denominações regionais como feijão miúdo na região Sul, feijão fradinho nos estados da Bahia e Rio de Janeiro e feijão macassar ou feijão de corda, na região Nordeste.

No Brasil, o feijão caupi é cultivado predominantemente no sertão semi-árido da região Nordeste e em pequenas áreas na Amazônia (MAIA, 1996). No Brasil, a produção e a produtividade média no período de 2005 a 2009 foram de 513.619 toneladas e 369 kg/ha, respectivamente. No Nordeste, a produção e a produtividade no período de 2005 a 2009 foram de 426.367 toneladas e 330 kg/ha, respectivamente. Os maiores produtores são os Estados do Ceará (170.907 toneladas), Piauí (56.090 toneladas) e Pernambuco (54.252 toneladas) (IBGE, 2009). Estima-se que o Brasil contribui com 26 % da produção mundial e 82 % da produção do continente

americano (ARAÚJO e WATT, 1988). Entre todos os países, os principais produtores mundiais são Nigéria, Niger e Brasil (QUIN, 1997).

Dos diferentes produtos agrícolas encontrados nas regiões tropicais, o caupi se destaca pelo seu alto valor nutritivo, além de seu baixo custo de produção. É amplamente cultivado pelos pequenos produtores e constitui um dos principais componentes da dieta alimentar, especialmente na zona rural, representando alimento básico para as populações de baixa renda do Nordeste brasileiro (EMBRAPA MEIO-NORTE, 2003). Sua importância tem sido registrada pelo IBGE em seus levantamentos, que apontam um consumo per capita anual de 16 kg (MAIA, 1996).

O feijão caupi é uma excelente fonte de proteínas (23 – 25 % em média) e apresenta carboidratos, vitaminas, minerais e aminoácidos essenciais, além de possuir grande quantidade de fibras alimentares e baixa quantidade de gordura, em média 2 % (EMBRAPA MEIO-NORTE, 2003; FROTA et al., 2008b). Pelo seu valor nutritivo, é cultivado principalmente para a produção de grãos, secos ou verdes, para o consumo humano, *in natura*, na forma de conserva ou desidratado (EMBRAPA MEIO-NORTE, 2003).

A tendência de queda do consumo de feijão em geral no Brasil causa preocupação pela perda de um possível fator de proteção cardiovascular (IBGE, 2010). Resultados da Pesquisa de Orçamento Familiar 2008-2009 mostrou uma queda de 26,4 % comparado ao resultado da POF 2002-2003 (de 12,4 kg para 9,1 kg) na aquisição média anual per capita de feijão, sendo o feijão fradinho pouco consumido no Brasil, representando apenas 1,2 kg da aquisição média anual per capita em 2008-2009 (IBGE, 2010). Diante da realidade de queda no consumo de

feijão e baseado nos resultados prévios obtidos com a proteína do feijão caupi isolada (FROTA et al., 2008a) torna-se importante o desenvolvimento de um alimento pronto para consumo rico nesta proteína, que pode colaborar na redução do risco cardiovascular.

2. JUSTIFICATIVA

Resultados anteriores mostraram que o consumo de isolado protéico de feijão caupi por quatro semanas levou a um marcado efeito hipocolesterolemizante em hamsters. Assim, a verificação da ação desta proteína, nos níveis lipídicos de pacientes hipercolesterolêmicos e os seus efeitos nos demais marcadores de risco para doenças cardiovasculares em humanos torna-se necessária.

Não há estudos em humanos quanto aos efeitos da proteína do feijão caupi nos marcadores de risco cardiovascular: marcadores de inflamação e nas alterações das lipoproteínas.

Resultados positivos poderão incentivar o consumo tanto do feijão caupi como do produto rico em proteína a ser desenvolvido nesta pesquisa, estimulando a produção regional e agregando renda ao produtor local.

3. OBJETIVOS

3.1 - OBJETIVO GERAL

Desenvolver um produto tipo *shake*, rico em proteína do feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) e avaliar a sua influência sobre o perfil lipídico e marcadores bioquímicos de risco cardiovascular em pacientes hipercolesterolêmicos.

3.2 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 3.2.1 Isolar a proteína de feijão caupi;
- 3.2.2 Desenvolver produto do tipo *shake* que incorpore 25g de proteína isolada de feijão caupi. Elaborar um produto controle com caseína, com a mesma concentração de proteína que o produto com feijão;
- 3.2.3 Avaliar o efeito da proteína de feijão caupi no perfil lipídico e na concentração de apolipoproteínas nos indivíduos hipercolesterolêmicos;

- 3.2.4 Avaliar o efeito da proteína de feijão caupi sobre os marcadores de inflamação e disfunção endotelial associados ao risco de doenças cardiovasculares;
- 3.2.5 Avaliar alterações nos marcadores de metabolismo glicídico da população em estudo após consumo dos *shakes*;

4. CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1 - CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA E DESENVOLVIMENTO DOS PRODUTOS

4.1.1 - Processamento da Matéria-prima

O feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp), cultivar BRS-Milênio, foi obtido de fornecedor Agropecuário Milênio, Bragança, Pará, Brasil. Uma amostra de 1200 kg de feijão caupi foi moída na empresa Nutribras Nutrição Brasileira Ltda, Guarulhos, São Paulo. Após a moagem, a farinha foi selecionada com peneira para tamanho < 1,0 mm de diâmetro ou *tyler* 16, originando uma farinha de feijão integral cru (Fcr) que foi posteriormente desengordura com solvente hexano na proporção massa/volume de 1/1,5. A Fcr desengordurada foi seca em capela com exaustão por 24 horas, sendo completada a secagem em estufa de circulação de ar, à temperatura de 50 °C, por 2 horas. Terminada a secagem, a Fcr desengordurada foi acondicionada em sacos de polietileno, selados e mantida em sala à temperatura de 18 °C até utilização na produção do isolado protéico.

4.1.2 - Produção do Isolado Protéico de Caupi (IPC)

A proteína isolada do feijão caupi foi obtida por precipitação isoeletrica da Fcr desengordurada. O isolamento protéico foi baseado em metodologia sugerida por PAREDES-LOPEZ e ORDORICA-FALOMIR (1986), com modificações (FROTA, 2007). Suspensão a 10 % da Fcr desengordurada em água destilada (m.v^{-1}) teve pH ajustado para 8,5 com NaOH 1M e foi deixada por 2 horas sob agitação horizontal. A mistura foi filtrada e o resíduo, descartado. O filtrado foi centrifugado a $10.000 \times g$ por 20 minutos. O sobrenadante teve pH ajustado para 4,5, correspondendo ao ponto isoeletrico da *vicilina*, por adição de HCl 1M. A mistura foi armazenada sob refrigeração (4°C) por 12 h para floculação. Após esta etapa, a mistura foi novamente centrifugada a $10.000 \times g$, por 20 minutos. A fração insolúvel representou o isolado protéico de caupi (IPC) que foi coletado e seco por *spray drier*.

A produção do isolado protéico foi realizada em parceria com a empresa BREMIL – Indústria de Produtos Alimentícios (Arroio do Meio, Rio Grande do Sul, Brasil).

Figura 1. Fluxograma para produção do isolado protéico de feijão caupi.

4.1.3 - Desenvolvimento dos *Shakes* à Base de Proteína de Caupi e à Base de Caseína

Foi desenvolvida uma bebida (*shake*) com proteína isolada de feijão caupi e outra com caseinato de cálcio obtido da empresa Select Chemie, São Paulo, Brasil. Cada *shake* foi desenvolvido com a finalidade de fornecer 12,5 g de proteína/porção, seja da proteína de feijão caupi ou de caseína.

Para a produção do *shake* à base de caseína foram utilizados 14,2 g de caseinato de cálcio por porção, acrescido de sucralose, estabilizantes, aromatizantes e corantes.

Durante a produção do *shake* à base de proteína de feijão caupi utilizaram-se 15,4 g/porção de isolado protéico de caupi com acréscimo de 532,5 mg de carbonato de cálcio (M. Cassab Comércio e Indústria Ltda, São Paulo, Brasil), a fim de que o teor de cálcio dos *shakes* com caseína e proteína de feijão caupi fossem semelhantes. Foram acrescentados os mesmos aditivos alimentares utilizados no *shake* à base de caseína. O desenvolvimento dos dois produtos ocorreu em parceria com a Empresa Linea Sucralose (Anápolis, Goiás, Brasil) (Figura 2).

Os dois *shakes* (caseína e isolado protéico de caupi) foram aromatizados de forma similar empregando-se os aromas morango e vitaminas e o pó foi envazado em embalagem metálica (*stand-up pouch*). Os *shakes* em pó apresentavam em seus rótulos a informação que a porção de 30 g deveria ser diluída em 170 mL de água fria.

Figura 2: Fluxograma das etapas do desenvolvimento dos *shakes* à base de proteína de feijão caupi e a base de caseína.

4.1.4 - Composição Centesimal da Farinha de Feijão Caupi, do Isolado Protéico de Caupi e dos *Shakes*

Foram realizadas as análises de umidade, cinzas, proteína e extrato etéreo do feijão caupi integral, do isolado protéico de feijão caupi obtido em escala industrial, do isolado protéico de feijão caupi obtido em escala laboratorial, *shakes* à base de protéico de feijão caupi e *shake* à base de caseína (AOAC, 1990). O teor de

carboidratos totais foi calculado por diferença. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Os *shakes* tiveram seus valores calóricos estimados através dos fatores de conversão de ATWATER: 4 kcal/g para proteínas, 4 kcal/g para carboidratos e 9 kcal/g para lipídios (WATT e MERRILL, 1963).

4.1.5 - Perfil de Aminoácidos do Feijão Caupi Integral e Isolados Protéicos de Caupi

A composição de aminoácidos do feijão caupi integral e isolado protéico de caupi obtidos em escala laboratorial e industrial foi determinada por cromatografia de troca iônica e reação pós-coluna com ninidrina. A técnica é baseada na hidrólise da proteína (tomada de amostra que contenha o equivalente a 25 mg de proteína) em meio ácido (10 mL HCl 6N, sob vácuo, à temperatura de 110 °C por 22 horas). Posteriormente, os aminoácidos hidrolisados foram recuperados em tampão citrato de pH 2,2 (marca Pickering). Uma alíquota de 25 µL foi injetada no analisador Dionex DX 300 para separação dos aminoácidos. O produto dessa reação foi registrado em um colorímetro sob a forma de pico e quantificado pelas áreas de cada pico. As áreas dos picos obtidos a partir das amostras investigadas foram comparadas a de uma mistura padrão de aminoácidos - aminoácidos Pierce (SPACKMAN et al., 1958).

Os valores de triptofano foram determinados por espectrofotometria. Foi empregado o método descrito por SPIES (1967), usando-se hidrólise enzimática com pronase a 40 °C por 24 horas. A amostra hidrolisada foi submetida à reação colorimétrica com p-dimetilamino benzaldeído (DAB) e posterior leitura em espectrofotômetro a 590 nm. A composição de triptofano foi calculada por comparação com uma curva padrão.

Estas análises foram realizadas, sem repetição, no laboratório CBO (Campinas, SP).

4.1.6 - Teor de cálcio no *Shake* à Base de Proteína de Feijão Caupi e no *Shake* à Base de Caseína

Uma amostra (2 g) foi homogeneizada com 20 mL de uma solução contendo ácido nítrico e ácido perclórico na proporção 5/1 (v/v) e deixada em repouso por 12 horas. A mistura foi aquecida a 80 °C por 2 horas. Após secagem as amostras digeridas foram diluídas em água destilada e realizada análise de cálcio, utilizando um espectrômetro de absorção atômica em equipamento Analytik Jena, modelo ContrAA 700 (AOAC, 1984).

Estas análises foram realizadas em duplicata no laboratório CBO (Campinas, SP).

4.2 - ENSAIO CLÍNICO

4.2.1 - População de Estudo e Critérios de Elegibilidade

Foram recrutados homens de 30 a 70 anos e mulheres na pós-menopausa ou hysterectomizadas com idade de 45 a 70 anos, com hipercolesterolemia leve e moderada (LDL-c entre 160 a 190 mg/dL) frequentadores das Clínicas Cardiológica, Ginecológica e Endocrinológica do Hospital Getúlio Vargas e do Centro Integrado Lineu Araújo (Teresina, PI), no período de maio a outubro de 2010, durante consultas de rotina. Foram incluídos indivíduos com riscos de eventos coronarianos menores que 20 % em 10 anos segundo cálculo pelo escore de Framingham (WILSON et al., 1998). O estado de pós-menopausa foi assumido se nenhum sangramento vaginal tivesse ocorrido nos últimos 12 meses anteriores ao estudo (TEOMAN et al., 2004).

Os critérios de exclusão foram concentração de triacilgliceróis maior que 400 mg/dL, IMC > 35 kg/m², vegetarianos vegans, presença de sinais significantes de doenças cardiovascular, renal, hepática, gastrointestinal e endócrina, incluindo diabetes *mellitus*, hipercolesterolemia familiar, hipotireoidismo não-tratado e hipertensão descontrolada (pressão sanguínea > 160/100 mmHg). Foram excluídos também indivíduos que planejavam perder peso durante o estudo, apresentavam distúrbios alimentares ou faziam uso de estatinas redutoras de colesterol, suplementos de ácidos graxos ω -3 ou outras drogas redutoras de lipídios num período de 8 semanas anteriores ao início do estudo. Além disso, foram excluídas

mulheres que receberam terapia de reposição hormonal para menopausa em período de 6 meses anteriores ao início do estudo.

Todos os participantes assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXOS A-1 e A-2), conforme as normas e diretrizes regulamentadas para pesquisas envolvendo seres humanos (CNS, 1996).

O protocolo foi aprovado pela Comissão Científica e de Ética do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo (SDC 3059/07/134), pela Comissão de Ética para Análise de Projetos (CAPPesq) da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, sob o número 1037/07, pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí (CAEE 0206.0.045.000-09) e pelo Comissão de Ética em Pesquisa do Hospital Getúlio Vargas (nº 4907/09) (ANEXOS B-1, B-2, B-3 e B-4).

No início do experimento os voluntários responderam questionários sobre variações no estilo de vida (tabagismo, uso de bebida alcoólica, prática de atividade física), dieta, uso de medicamentos, presença de hipertensão, história familiar de doença cardiovascular e possíveis intercorrências. Todos os participantes foram orientados a manter seu estilo de vida, incluindo dieta e atividade física, assim como a não participar em outros estudos simultaneamente.

4.2.2- Estimativa do Tamanho de Amostra

O tamanho de amostra foi baseado na magnitude do efeito (E - redução de colesterol total = 21 mg/dL) observado por MAESTA et al. (2007), após intervenção com 25 g de proteína de soja em 16 semanas comparado com o grupo controle que recebeu maltodextrina. A variabilidade (S) da variável de desfecho foi estimada em 40 mg/dL. A magnitude padronizada do efeito (E/S), portanto, será de 0,52. O poder estatístico adotado foi de 80 % ($\beta = 0,20$) e $\alpha = 0,05$ para detectar uma redução no colesterol total de 21 mg/dL. Considerando-se estas condições e para se comparar médias entre os grupos, o tamanho da amostra (n) deveria ser de 35 indivíduos por grupo (HULLEY et al. 2003). Considerando que poderia haver perda durante o seguimento, acrescentou-se 20 % ao tamanho da amostra, aumentando-a para 42 indivíduos.

4.2.3 - Desenho Experimental

Este estudo seguiu desenho do tipo *cross-over*, aleatorizado, cego e controlado. Nas consultas de seleção todos os indivíduos receberam orientações para continuar com a dieta habitual. Os pacientes selecionados foram aleatorizados e distribuídos em 2 grupos, GRUPO *Shake* Isolado Protéico de Caupi (IPC) ou GRUPO *Shake* Caseína (Controle). A quantidade de proteína oferecida foi de 25 g/dia (2 porções de *shake*/dia), seja de IPC ou Controle por 6 semanas, seguido por um período de 4 semanas sem receber “produto intervenção” (*washout*), para que

os níveis lipídicos se restabelecessem, e a nova intervenção, invertendo-se os grupos, fosse realizada por mais 6 semanas. Todos os participantes foram orientados a ingerir uma porção do *shake* pela manhã e outra porção à tarde ou à noite. A Figura 1 ilustra o desenho experimental.

Figura 3. Fluxograma do desenho experimental.

Os participantes foram aconselhados a não tomar mais que duas porções padronizadas de bebida alcoólica por dia, manterem o padrão de atividade física e peso corporal habitual por todo o período de estudo.

Conformidade, estado de saúde e mudanças na dieta habitual e no estilo de vida foram registradas. Quando os pacientes que receberam um dos produtos (*Shake* IPC ou *Shake* controle) apresentaram piora nos quadros de dislipidemia, o procedimento alternativo foi indicação de tratamento medicamentoso, por médico da Clínica Ginecológica do Hospital Getúlio Vargas. A intervenção foi interrompida quando algum sintoma gastrointestinal (diarréia ou constipação) ocorreu durante o período experimental.

4.2.4 - Medicação

Foram incluídos indivíduos que faziam uso de outros medicamentos, com exceção dos hipolipemiantes, desde que fosse mantido o esquema terapêutico.

4.2.5 - Consumo Alimentar

Durante cada período experimental foram aplicados 3 recordatórios alimentares de 24 horas (Anexo C), sendo o primeiro no início do experimento, o segundo no meio do experimento (3 semanas após o início do consumo do produto) e o terceiro no final do período de intervenção (6 semanas após o início do consumo do

produto). Os recordatórios foram utilizados para avaliar a dieta atual do paciente, eventuais interferentes no experimento e para saber se não houve modificação da dieta. Os dados dietéticos (energia, carboidratos, proteínas, lipídeos, colesterol, fibras, ácidos graxos saturados, moninsaturados e poliinsaturados) foram calculados com auxílio do software NutWin (UNIFESP, 2005) e foi realizada comparação da ingestão de nutrientes antes e após cada intervenção para verificar se houve modificações.

4.2.6 - Antropometria

As medidas antropométricas peso, circunferência da cintura e circunferência do quadril foram colhidas no início e final de cada período experimental, enquanto a estatura foi aferida somente na primeira consulta.

O peso corporal foi obtido com auxílio de balança tipo plataforma com capacidade para 150 kg marca Filizola® (São Paulo, Brasil), estando o indivíduo com o mínimo de roupa possível e sem sapatos.

A estatura foi aferida de forma direta, por meio de fita métrica inelástica com precisão de 1,0mm, acoplado à parede, com o sujeito ereto, descalço ou somente com meias, com os calcanhares unidos, em superfície lisa, plana e rígida, com os braços pendentes ao longo do corpo.

O índice de massa corporal (IMC) foi obtido a partir das medidas de peso e altura, utilizando a fórmula $IMC = \text{peso (kg)} / \text{altura}^2 \text{ (m)}$.

As circunferências da cintura (CC) e do quadril (CQ) foram aferidas utilizando-se uma fita métrica inelástica flexível com precisão de 1,0 mm (TBW Brasil®, São Paulo, Brasil). A circunferência da cintura foi mensurada no ponto médio entre a crista ilíaca e a face externa da última costela, com o indivíduo em posição ereta, abdômen relaxado, braços ao lado do corpo e os pés juntos, enquanto a circunferência do quadril foi mensurada na maior circunferência da região glútea, com o avaliador posicionado ao lado do avaliado.

A RCQ foi calculada dividindo-se o valor da CC (em cm) pelo valor da circunferência do quadril (em cm) (HEYWARD e STOLARCZYK, 1996).

Figura 5. Avaliação antropométrica.

4.2.7 - Análises de laboratório

4.2.7.1 - Análise dos Lipídios Séricos

As coletas de sangue foram realizadas no início e ao final de cada período experimental de 6 semanas por punção venosa. Os indivíduos estavam em jejum de 12 a 14 horas. Amostras de sangue (aproximadamente 20 mL) foram colhidas em tubo sem anticoagulante (BD VACUTAINER REF 367812). As amostras foram mantidas durante 30 minutos à temperatura ambiente antes da centrifugação a 5 °C por 15 minutos a 1500 x g. Amostras de soro foram imediatamente isoladas e alíquotas foram armazenadas a -80 °C para análises posteriores.

As concentrações de colesterol total, HDL-c e triacilgliceróis presentes no soro foram determinadas por meio de métodos colorimétricos enzimáticos, utilizando kits adquiridos da Labtest (Belo Horizonte, MG) em equipamento Modular da empresa Roche Diagnóstica, no Laboratório Med Imagem, Teresina-PI. O teor de LDL-c foi calculado pela fórmula de FRIEDEWALD et al.(1974).

Foram calculados os valores de colesterol não-HDL (colesterol total subtraído do HDL-c) e as razões triacilgliceróis/HDL e LDL/HDL.

4.2.7.2 - Quantificação de Apolipoproteínas Séricas

As concentrações de apolipoproteína AI e apolipoproteína B foram determinadas por métodos enzimáticos padrão e as quantificações foram feitas por método imunoturbidimétrico em equipamento Modular da empresa Roche Diagnóstica, no Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo. Foi calculada a razão apoB/apoAI.

4.2.7.3 - Quantificação de Marcadores de Inflamação e de Marcadores de Disfunção Endotelial

O teor de proteína-C-reativa de alta sensibilidade foi medida por método de nefelometria, em equipamento BN II, Dade Behring/Siemens, com valor de referência 0 a 5 mg/dL, no Laboratório Med Imagem, Teresina-PI. Níveis de moléculas de adesão (sICAM-1 e sVCAM-1) foram medidos com utilização de kits comerciais (R & D Systems®), por meio da metodologia ELISA, enquanto os níveis de interleucinas (IL-6), fator de necrose tumoral (TNF- α) foram medidos com kits comerciais (B & D Biosciences®), através de metodologia ELISA. Essas análises foram realizadas no Laboratório de Emergência Clínica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (LIM 51).

4.2.7.4 - Quantificação dos Níveis de Glicose e Insulina de Jejum

Os níveis de glicose de jejum foram medidas utilizando método enzimático colorimétrico (Labtest, Belo Horizonte, MG) e insulina de jejum foram medidos por quimioluminescência.

4.2.7.5 - Avaliação do Modelo Homeostático (HOMA-IR)

A avaliação do modelo homeostático foi calculado de acordo com a fórmula:
$$[\text{glicose (mmol/L)} \times \text{insulina imunoreativa (\mu U/mL)}] / 22,5.$$

4.3 - ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Foram descritos os valores das medidas antropométricas e dos lipídeos em cada momento de avaliação e elaborados os gráficos de barras representando as médias com os respectivos erros padrões de alguns parâmetros avaliados.

Os parâmetros antropométricos (índice de massa corporal, peso, circunferência da cintura, circunferência do quadril e relação cintura quadril) e parâmetros de consumo alimentar (energia, macronutrientes, ácidos graxos, colesterol e fibras) foram comparados entre os momentos, tipo de *shake* ingerido e ordem de ingestão dos *shakes* com uso de ANOVA com medidas repetidas com 3

fatores (SINGER e ANDRADE, 2000), supondo estrutura de correlações componente simétrica entre uma avaliação e outra.

Para cada parâmetro lipídico, apolipoproteína, insulina, glicose, PCRus, sVCAM-1 e sICAM-1 foram calculadas as variações ocorridas durante a ingestão de cada *shake* (delta: final-inicial) e para o colesterol total e LDL foram calculados também a variação percentual (delta %: (final-inicial)/inicial) e as medidas de variações foram comparadas entre a ingestão de cada *shake* e a ordem de ingestão com uso de ANOVA com medidas repetidas e dois fatores (SINGER e ANDRADE, 2000), supondo matriz de correlações não estruturadas entre o resultado de um *shake* e outro. Para os resultados que foram estatisticamente significativos foram realizadas comparações múltiplas de Bonferroni (NETER et. al., 1996) para verificar qual o tratamento que apresentou maior variação nos parâmetros e se a ordem de ingestão influenciou nessa diferença.

Foram descritas as variações médias de cada parâmetro com cada *shake* com uso de médias e desvios padrão. Os testes foram realizados com nível de significância de 5 %. O programa estatístico utilizado foi SAS (SAS INSTITUTE, 2000).

5. RESULTADOS

5.1 - CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA E DESENVOLVIMENTO DO PRODUTO

5.1.1 Composição Centesimal da Farinha de Feijão Caupi Integral e Desengordura e Isolados Protéicos

A composição centesimal do feijão caupi integral e desengordurado e isolado protéico de caupi obtido em escala industrial e laboratorial está demonstrada na Tabela 1. O isolado protéico de caupi obtido em escala industrial foi utilizado no desenvolvimento do *shake* usado no ensaio clínico com pacientes hipercolesterolêmicos.

Tabela 1. Composição centesimal da farinha de feijão caupi integral, da farinha de feijão caupi desengordurada e isolado protéico de caupi obtido em escala industrial e laboratorial (g/100 g), em base seca. Média $\pm$ Desvio-padrão.

Nutriente/ ingredientes (%)	Feijão caupi integral	Farinha de feijão caupi desengordurada	Isolado protéico (indústria)	Isolado protéico (laboratório)
Umidade	10,01 $\pm$ 0,11	12,04 $\pm$ 0,05	5,08 $\pm$ 0,17	2,79 $\pm$ 0,14
Proteína*	22,68 $\pm$ 0,20	21,25 $\pm$ 0,94	85,15 $\pm$ 0,61	88,77 $\pm$ 1,00
Lipídios	1,30 $\pm$ 0,18	0,72 $\pm$ 0,13	0,80 $\pm$ 0,03	0,91 $\pm$ 0,03
Cinzas	3,48 $\pm$ 0,02	2,75 $\pm$ 0,05	6,33 $\pm$ 0,03	3,18 $\pm$ 0,06
Carboidratos**	72,49	75,03	7,71	7,14

Notas:

*fator de conversão = 6,25

**calculado pela diferença (inclui fibras)

Os isolados protéicos obtidos em escala laboratorial e industrial apresentaram percentuais de proteína próximos (88,77 % e 85,15 %, respectivamente), o que mostra que o processo industrial foi tão eficiente quanto o processo laboratorial.

5.1.2 – Perfil de Aminoácidos do Feijão Caupi e Isolados Protéicos de Feijão Caupi

O perfil de aminoácidos do feijão caupi e dos isolados protéicos obtidos em escala industrial e laboratorial, bem com as recomendações da FAO/WHO, são mostradas na Tabela 2.

Tabela 2. Perfil de aminoácidos do feijão caupi, do isolado protéico obtido em escala industrial e laboratorial (g/100 g) e recomendação de aminoácidos essenciais.

Aminoácidos	Feijão caupi	Isolado protéico indústria	Isolado protéico laboratório ⁽¹⁾	Recomendado FAO/WHO (1991) ⁽²⁾
Arginina	7,0	7,6	6,8	-
Cisteína	0,4	1,2	0,4	2,5*
Metionina	0,8	1,3	1,1	
Histidina	3,3	2,4	2,5	1,9
Isoleucina	4,4	5,0	4,3	2,8
Leucina	8,3	8,5	8,1	6,6
Lisina	7,2	5,9	6,7	5,8
Tirosina	1,8	3,7	2,0	6,3**
Fenilalanina	5,8	5,4	5,4	
Treonina	5,2	3,6	3,7	3,4
Triptofano	4,1	1,0	1,0	1,1
Valina	4,9	4,9	6,0	3,5
Glicina	3,8	3,9	3,1	-

Notas:

⁽¹⁾ Isolado protéico de caupi, obtido em escala laboratorial, cultivar BRS Milênio, Frota (2007)

⁽²⁾ Recomendação para Idade Pré-Escolar

*(Met+Cys)

** (Phe+Tyr)

5.1.3 – Composição Centesimal do *Shake* à Base de Proteína de Feijão Caupi e do *Shake* à Base de Caseína

A quantidade de proteína, em base úmida, do caseinato de cálcio é de 88 g/100 g, segundo especificação técnica do fabricante. A quantidade de proteína necessária para o estudo foi de 25 g/dia, portanto foi necessário 28,4 g de caseinato de cálcio, esta quantidade foi dividida em 2 porções, perfazendo 14,2 g/porção.

O teor de proteína do isolado protéico de caupi foi de 85,15 g/100g em base seca e 80,9g/100g em base úmida (Tabela 1), como a quantidade de proteína por dia para desenvolvimento do produto (*shake* IPC) seria de 25 g de proteína de feijão caupi, utilizou-se 30,9 g de IPC, dividido em 2 porções de 15,4 g de IPC. A quantidade de 15,4 g foi adicionada em cada porção do *shake*, para que a quantidade de proteína oferecida por porção fosse de 12,5 g de proteína.

Os resultados da composição centesimal e valor calórico dos *shakes* à base de proteína de feijão caupi e caseinato de cálcio são apresentados em g/100 g e em g/30 g. A caracterização do produto em 30 g foi realizada por ser a porção de *shake* oferecida durante o ensaio clínico. Os resultados de umidade, proteínas, lipídeos e cinzas referem-se a determinações em triplicata (Tabela 3).

Tabela 3. Composição centesimal e valor calórico (kcal/100 g e kcal/30 g) dos *shakes* desenvolvidos com proteína isolada de feijão caupi e com caseína (g/100 g e g/30 g), em base úmida. Média $\pm$ Desvio-padrão.

Nutriente/ ingredientes (%)	<i>Shake</i> proteína de feijão caupi (g/100 g)	<i>Shake</i> de caseína (g/100 g)	<i>Shake</i> proteína de feijão caupi (g/30 g) [†]	<i>Shake</i> de caseína (g/30 g) [†]
Umidade	8,41 $\pm$ 0,04	9,42 $\pm$ 0,15	2,52 $\pm$ 0,01	2,83 $\pm$ 0,04
Proteína*	42,14 $\pm$ 1,23	46,92 $\pm$ 0,20	12,64 $\pm$ 0,37	14,08 $\pm$ 0,06
Lipídios	1,26 $\pm$ 0,15	1,11 $\pm$ 0,11	0,38 $\pm$ 0,05	0,33 $\pm$ 0,03
Cinzas	7,86 $\pm$ 0,33	6,21 $\pm$ 0,03	2,36 $\pm$ 0,10	1,86 $\pm$ 0,01
Carboidratos**	40,32	36,32	12,09	10,09
Kcal	341,18	343	108,3	106,01

Notas:

*fator de conversão = 6,25

**calculado pela diferença (inclui fibras)

[†] Porção de *shake* oferecida durante ensaio clínico

Como se observa na Tabela 3, a porção de 30 g de *shake* contendo proteína de feijão caupi forneceu em média 12,64 g de proteína, muito próximo ao valor esperado de 12,5 g. Como foram utilizadas 2 porções por dia, a quantidade total de proteína fornecida foi de 25,3 g (esperado 25 g). O *shake* contendo caseinato de cálcio apresentou 14,08 g de proteína por porção de 30 g, portanto a quantidade diária de caseína fornecida foi de 28,2 g, durante o ensaio clínico.

O teor de cálcio do caseinato de cálcio, segundo especificação do fabricante é de 1500 mg/100 g de caseinato, portanto as 14,2 g do produto contém 213 mg de cálcio. Utilizou-se o carbonato de cálcio (40% de cálcio) para igualar o teor de cálcio no *shake* IPC. Assim utilizou-se 532,5 mg de carbonato de cálcio em cada porção do *shake* à base de isolado protéico de caupi. A tabela 4 apresenta o teor de cálcio dos *shakes* à base de isolado protéico de caupi e à base de caseinato de cálcio.

Tabela 4. Teor de cálcio dos *shakes* desenvolvidos com proteína isolada de feijão caupi e com caseína (mg/100 g e mg/30 g), em base úmida. Média $\pm$ desvio-padrão.

Produtos	Teor de cálcio
<i>Shake</i> Isolado Protéico de Caupi (mg/100 g)	1126,5 $\pm$ 38,9
<i>Shake</i> Isolado Protéico de Caupi (mg/30 g)	337,2 $\pm$ 11,7
<i>Shake</i> Caseína (mg/100 g)	1286,2 $\pm$ 0,0
<i>Shake</i> Caseína (mg/30 g)	385,9 $\pm$ 0,0

Com pode-se observar na Tabela 4, o teor de cálcio no *shake* IPC e *shake* caseína foram maiores que o teor esperado. Esta diferença é justificada pela adição de 0,14 g de antiemético fosfato tricálcico que contém 34 a 40% de cálcio.

5.2 - ENSAIO CLÍNICO

5.2.1 – População do Estudo

Foram selecionados 44 indivíduos e randomizados em 2 grupos. Um grupo de 23 participantes recebeu *shake* com caseína (Grupo controle) e o outro grupo de 21 participantes recebeu *shake* com isolado protéico de caupi (Grupo IPC) por 6 semanas cada. Depois do período *washout* de 4 semanas, os indivíduos receberam o *shake* oposto por mais 6 semanas.

Ambos os *shakes* foram bem aceitos pela maioria dos participantes. Dos 44 indivíduos selecionados, somente 6 não concluíram o estudo por falta às consultas (1 paciente), doença (2 pacientes), não consumo do produto (2 paciente) ou por

apresentar alteração de exames (1 paciente). Trinta e oito indivíduos completaram o teste com sucesso (Figura 3). Os 6 participantes desistentes tinham parâmetros clínicos e sócio-demográficos semelhantes aos participantes não-desistentes.

A média de idade dos participantes foi de $57,05 \pm 10,31$ anos, sendo a idade mínima de 30 anos e máxima de 71 anos. Do total de 38 participantes do estudo 32 (84,2 %) eram do sexo feminino. Hipertensão arterial foi verificada em 18 indivíduos (47,4 %), 35 indivíduos (92,1 %) eram não fumantes, 29 indivíduos (76,3 %) não consumiam bebida alcoólica e 25 indivíduos (65,8 %) utilizavam algum medicamento. As características clínicas dos indivíduos estudados são apresentadas na tabela 5.

Tabela 5. Descrição das características clínicas.

Gênero		Tabagismo		Etilismo		Presença de HAS*		Uso de medicamento	
Fem N(%)	Masc N(%)	Sim N(%)	Não N(%)	Sim N(%)	Não N(%)	Sim N(%)	Não N(%)	Sim N(%)	Não N(%)
32 (84,2)	6 (15,8)	3 (7,9)	35 (92,1)	9 (23,7)	29 (76,3)	18 (47,4)	20 (52,6)	25 (65,8)	13 (34,2)

*Hipertensão arterial sistêmica.

No que se refere aos medicamentos, os mais usados foram hidroclorotiazida (9 indivíduos), seguido do captopril (5 indivíduos), AAS (3 indivíduos), enalapril (3 indivíduos) e atenolol (3 indivíduos). Ainda havia utilização de clortalidona e outros como, analgésicos. Os medicamentos na maioria das vezes eram utilizados em associação.

5.2.2 – Comparação dos Grupos Antes e Após Consumo dos *Shakes*

5.2.2.1 – Avaliação Antropométrica

A tabela 6 apresenta os valores médios dos parâmetros antropométricos (IMC, peso, circunferência da cintura, circunferência do quadril e relação cintura-quadril) verificadas antes e após consumo de proteína de feijão caupi e de caseína.

Tabela 6. Valores médios dos indicadores antropométricas antes e após consumo de *shake* com proteína de feijão caupi e *shake* com caseína.

Indicadores antropométricos	Proteína de feijão caupi (n=38)		Caseína (n=38)	
	Pré-consumo	Pós-consumo (6 semanas)	Pré-consumo	Pós-consumo (6 semanas)
IMC (kg/m ²)	27,3 (3,9)	27,2 (4,0)	27,1 (3,8)	27,2 (3,9)
Peso (kg)	66,9 (14,2)	66,7 (14,8)	66,3 (14,0)	66,6 (14,4)
CC (cm)	88,4 (9,5)	88,5 (9,8)	88,2 (9,4)	88,3 (9,5)
CQ (cm)	104,2 (8,4)	103,5 (9,0)	103,8 (8,1)	104,4 (8,5)
RCQ	0,85 (0,05)	0,85 (0,05)	0,85 (0,06)	0,85 (0,05)

Valores expressos como média (desvio-padrão).

IMC – índice de massa corporal; CC – circunferência da cintura; CQ – circunferência do quadril; RCQ – razão cintura quadril.

Tabela 7. Valores de “p” para os deltas dos indicadores antropométricos avaliados entre o tipo de *shake* e a ordem de ingestão dos *shakes*.

Indicadores antropométricos	p valor		
	Fator		
	Tratamento	Ordem	Tratamento*ordem
IMC	0,9099	0,3120	0,4210
Peso	0,7335	0,2805	0,0801
CC	0,6705	0,2880	0,5944
CQ	0,0166	0,2097	0,2322
RCQ	0,0204	0,9835	0,5572

IMC – índice de massa corporal; CC – circunferência da cintura; CQ – circunferência do quadril; RCQ – razão cintura quadril.

ANOVA para medidas repetidas, $p < 0,05$.

As Tabelas 6 e 7 mostram que o IMC, peso e CC não sofreram alteração durante o estudo, nem entre os *shakes* ($p = 0,9099$; $p = 0,7335$; $p = 0,6705$, respectivamente) e nem entre a ordem de ingestão dos *shakes* ($p = 0,3120$; $p = 0,2805$; $p = 0,2880$, respectivamente). As interações entre o *shake* e a ordem de ingestão não foram estatisticamente significativas ($p > 0,05$) para todos os parâmetros analisados.

5.2.2.2 – Avaliação do Consumo Alimentar

A ingestão de energia, macronutrientes, ácidos graxos, colesterol e fibras antes e após consumo de *shake* com proteína de feijão caupi e de *shake* com caseína são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8. Ingestão total de energia (kcal/dia), macronutrientes (g/dia), ácidos graxos (g/dia), colesterol (mg/dia) e fibra (g/dia) antes e após consumo do *shake* com proteína de feijão caupi e do *shake* com caseína.

Indicadores de consumo alimentar	Proteína de feijão caupi (n=38)		Caseína (n=38)	
	Pré-consumo	Pós-consumo (6 semanas)	Pré-consumo	Pós-consumo (6 semanas)
Energia	1344,6 (589,5)	1400,3 (436,7)	1388,3 (521,2)	1370,1 (551,4)
Carboidratos	198,5 (100,8)	181,8 (59,5)	184,7 (87,1)	171,1 (87,2)
Proteínas	71,7 (33,1)	92,3 (42,6)	80,4 (41,1)	90,7 (34,5)
Lipídeos totais	34,8 (23,0)	33,7 (19,3)	41,9 (36,0)	34,5 (19,3)
Lipídeos saturados	9,3 (7,5)	8,2 (6,0)	9,4 (5,5)	8,3 (5,6)
Lipídeos poli-insaturados	7,3 (4,8)	6,7 (3,9)	7,0 (4,5)	7,2 (4,3)
Lipídeos mono-insaturados	10,3 (12,2)	8,7 (6,2)	9,1 (5,1)	9,4 (7,2)
Colesterol	183,2 (140,6)	187,9 (140,3)	178,6 (102,6)	165,7 (248,3)
Fibra alimentar	17,1 (13,9)	11,7 (7,7)	14,3 (10,9)	11,8 (10,14)

Valores expressos como média (desvio-padrão).

A tabela 9 apresenta os valores de “p” dos deltas dos indicadores de consumo alimentar avaliados entre os tipos de *shakes* e ordem de ingestão dos *shakes*.

Tabela 9. Valores de “p” para os deltas dos indicadores de consumo alimentar avaliados entre o tipo de *shake* e a ordem de ingestão dos *shakes*.

Indicadores de consumo alimentar	p valor		
	Fator		
	Tratamento	Ordem	Tratamento*ordem
Energia	0,4740	0,1394	0,4436
Carboidratos	0,0783	0,2302	0,6841
Proteínas	0,7325	0,0575	0,4378
Lipídeos totais	0,3202	0,4409	0,9226
Lipídeos saturados	0,8494	0,7548	0,2082
Lipídeos poliinsaturados	0,1802	0,7227	0,4181
Lipídeos monoinsaturados	0,5011	0,4350	0,9117
Colesterol	0,0086	0,7003	0,3734
Fibra alimentar	0,0462	0,4158	0,7905

ANOVA para medidas repetidas, $p < 0,05$.

A ingestão energética e dos nutrientes carboidratos, proteínas, gorduras totais, gorduras saturadas, poliinsaturadas e monoinsaturadas não foi significativamente diferente entre os momentos e cada tratamento ($p > 0,05$).

Em termos de ingestão dietética os teores de fibra alimentar e colesterol foram diferentes entre os tratamentos ($p < 0,05$).

5.2.2.3 - Análises do Perfil Lipídico e de Apolipoproteínas

A tabela 10 apresenta as variações ocorridas nos parâmetros lipídicos e apolipoproteínas antes e após consumo de 25g de proteína de feijão e de caseína.

Tabela 10. Variações ocorridas nas frações lipídicas e apolipoproteínas de 38 indivíduos que consumiram *shake* com proteína de feijão caupi e *shake* com caseína e valores de “p” para os deltas e deltas (%) dos parâmetros avaliados entre o tipo de *shake* e a ordem de ingestão dos *shakes*.

Indicadores bioquímicos	Δ <i>shake</i> proteína de feijão caupi	Δ <i>shake</i> caseína	p valor		
			Fator	Trat.	Ordem T*O
Colesterol total (mg/dL)	-32,1 (19,0)	-11,1 (28,1)	<0,001	0,180	0,497
Colesterol total (%)	-12,1 (7,1)	-3,7 (11,1)	<0,001	0,146	0,500
LDL-c (mg/dL)	-33,0 (16,9)	-9,5 (25,5)	<0,001	0,170	0,021
LDL-c (%)	-18,9 (9,5)	-4,5 (15,3)	<0,001	0,128	0,054
HDL-c (mg/dL)	1,24 (7,0)	-2,0 (6,8)	0,041	0,035	0,229
Triacilgliceróis (mg/dL)	-2,9 (59,8)	7,5 (52,6)	0,406	0,471	0,136
Colesterol não-HDL (mg/dL)	-33,4 (19,8)	-9,1 (24,7)	<0,001	0,369	0,253
LDL/HDL	-0,6 (0,5)	-0,1 (0,4)	<0,001	0,831	0,003
TG/HDL	-0,1 (1,3)	0,2 (1,2)	0,228	0,451	0,323
Apo AI (mg/dL)	0,1 (15,9)	-2,1 (12,2)	0,509	0,032	0,410
Apo B (mg/dL)	-18,4 (12,8)	-2,9 (16,2)	<0,001	0,226	0,109
Apo B/Apo AI	-0,1 (0,1)	0,0 (0,1)	<0,001	0,672	0,019

Resultados expressos como média (desvio-padrão).

LDL-c foi calculado por fórmula de FRIEDEWALD *et al.* (1974).

Colesterol não-HDL = Colesterol total – HDL-c.

ANOVA para medidas repetidas, p < 0,05.

Para o colesterol total, o colesterol total (%), o LDL (%), colesterol não HDL e Apo B a ordem de ingestão dos *shakes* não influenciou a variação média ($p > 0,05$) e houve diferença nessa variação entre os *shakes* ($p < 0,05$). Para o HDL-c a variação média sofreu influência da ordem de ingestão dos *shakes* ($p = 0,035$), porém o comportamento médio da variação do HDL-c foi estatisticamente o mesmo entre os *shakes* quando o paciente começou com o *shake* feijão e quando ele começou com o *shake* controle ($p = 0,229$), sendo que a ingestão do *shake* feijão desencadeou maior incremento médio do HDL-c comparado ao *shake* controle ($p = 0,041$).

As variações da razão LDL/HDL e da razão Apo B/Apo AI apresentam comportamento médio diferente entre os *shakes* conforme a ordem de ingestão dos mesmos ($p < 0,05$; *Shake*Ordem*).

A Tabela 10 mostra que as variações nos triacilgliceróis e na razão TG/HDL após a ingestão dos *shakes* foram estatisticamente as mesmas nos dois *shakes* ($p > 0,05$) sem haver influência da ordem de ingestão ($p > 0,05$). Para a variação ocorrida na Apo A1 a ordem de ingestão dos *shakes* influenciou estatisticamente ($p = 0,032$), sendo que os indivíduos que começaram ingerindo o *shake* controle apresenta maior redução média nessa apolipoproteína que os indivíduos que começaram ingerindo o *shake* feijão, porém a variação não diferiu entre os *shakes* ($p > 0,05$).

Figura 6. Valores médios e respectivos erros padrão do colesterol total de 38 indivíduos segundo ingestão de *shake* com proteína de feijão caupi e *shake* controle (caseína).

ANOVA com medidas repetidas para as variações ocorridas no colesterol total durante a ingestão de cada *shake* (delta: final – inicial), $p < 0,001$.

A figura 6 mostra os valores médios e erros-padrão de colesterol total antes e após consumo de proteína de feijão caupi e caseína.

A redução de colesterol total após consumo de proteína de feijão foi de 12 % ($\Delta = -32,1 \pm 19,0$ mg/dL; inicial - 264,4 mg/dL e final - 232,3 mg/dL) e significativamente maior ($p < 0,001$) que a redução após consumo de caseína foi de 4 % ($\Delta = -11,1 \pm 28,1$ mg/dL; inicial - 265,4 mg/dL e final - 254,3 mg/dL).

Os valores médios e erros-padrão de LDL-c antes e após tratamento com proteína de feijão caupi e caseína são mostrados na figura 7.

Figura 7. Valores médios e respectivos erros padrão do LDL-c de 38 indivíduos segundo ingestão de *shake* com proteína de feijão caupi e *shake* controle (caseína).

ANOVA com medidas repetidas para as variações ocorridas no LDL-c durante a ingestão de cada *shake* (delta: final – inicial), $p < 0,001$.

A redução de LDL-c foi de 19 % após consumo de proteína de feijão ($\Delta = -33,0 \pm 16,9$ mg/dL; inicial – 174,9 mg/dL e final – 141,9 mg/dL;) e de 5,5 % após consumo de caseína ($\Delta = -9,5 \pm 25,5$ mg/dL; inicial – 174,5 mg/dL e final – 165 mg/dL), porém a redução (delta) foi significativamente maior após consumo de *shake* com proteína de feijão caupi ($p < 0,001$).

Os valores médios e erros-padrão de HDL-c antes e após consumo de proteína de feijão caupi e de caseína são apresentados nas figuras 8.

Figura 8. Valores médios e respectivos erros padrão do HDL-c de 38 indivíduos segundo ingestão de *shake* com proteína de feijão caupi e *shake* controle (caseína).

ANOVA com medidas repetidas para as variações ocorridas no HDL-c durante a ingestão de cada *shake* (delta: final – inicial), $p = 0,041$.

Como se pode observar na Figura 8, após consumo de proteína de feijão caupi o HDL-c sofreu aumento de 2,2 % ($\Delta = 1,24 \pm 7,0$ mg/dL; inicial – 56,0 mg/dL e final – 57,3 mg/dL), enquanto após consumo de caseína houve redução de -3,5 % ($\Delta = -2,0 \pm 6,8$ mg/dL; inicial – 56,6 mg/dL e final – 54,6 mg/dL).

Na figura 9 são apresentados os valores médios e erros-padrão de colesterol não-HDL antes e após consumo de proteína de feijão caupi e de caseína.

Figura 9. Valores médios e respectivos erros padrão do colesterol não-HDL de 38 indivíduos segundo ingestão de *shake* com proteína de feijão caupi e *shake* controle (caseína).

ANOVA com medidas repetidas para as variações ocorridas no colesterol não-HDL durante a ingestão de cada *shake* (delta: final – inicial), $p < 0,001$.

A redução no colesterol não-HDL após consumo de proteína de feijão caupi e caseína foram de 16 % ($\Delta = -33,4 \pm 19,8$ mg/dL; inicial – 208,3 mg/dL e final – 175,0mg/dL) e 4 % ($\Delta = -9,1 \pm 24,7$ mg/dL; inicial – 208,8 mg/dL e final – 200,0 mg/dL), respectivamente. A redução (delta) no colesterol não-HDL foi significativamente maior após consumo de proteína de feijão caupi ($p < 0,001$).

A figura 10 mostra os valores médios e erros-padrão da razão LDL/HDL antes e após consumo de proteína de feijão caupi e de caseína.

Figura 10. Valores médios e respectivos erros padrão da razão LDL/HDL de 38 indivíduos segundo ingestão de *shake* com proteína de feijão caupi e *shake* controle (caseína).

ANOVA com medidas repetidas para as variações ocorridas na razão LDL/HDL durante a ingestão de cada *shake* (delta: final – inicial), $p < 0,001$.

A razão LDL/HDL caiu significativamente após consumo de *shake* com proteína isolada de feijão caupi ($\Delta = -0,6 \pm 0,5$ mg/dL; inicial - 3,17 e final - 2,52), mas não após consumo do *shake* com caseína ($\Delta = -0,1 \pm 0,4$ mg/dL; inicial - 3,16 e final - 3,10), $p < 0,001$.

A figura 11 apresenta os valores médios e erros-padrão da apo B antes e após consumo de proteína de feijão caupi e de caseína.

Figura 11. Valores médios e respectivos erros padrão da apoliproteína B de 38 indivíduos segundo ingestão de *shake* com proteína de feijão caupi e *shake* controle (caseína).

ANOVA com medidas repetidas para as variações ocorridas na apo B durante a ingestão de cada *shake* (delta: final – inicial), $p < 0,001$.

Os valores médios de apo B antes e após consumo de proteína de feijão caupi (130,6 mg/dL vs 112,2 mg/dL; $\Delta = -18,4 \pm 12,8$ mg/dL) e de caseína (128,1 mg/dL vs 125,2 mg/dL; $\Delta = -2,9 \pm 16,2$ mg/dL) caíram significativamente, porém a queda foi maior no *shake* com proteína de feijão caupi ($p < 0,001$).

Os valores médios e erros-padrão da razão apo B/apo AI antes e após consumo de proteína de feijão caupi e de caseína são mostradas na Figura 12.

Figura 12. Valores médios e respectivos erros padrão da razão apo B/apo A1 de 38 indivíduos segundo ingestão de *shake* com proteína de feijão caupi e *shake* controle (caseína).

ANOVA com medidas repetidas para as variações ocorridas na razão apo B/apo A1 durante a ingestão de cada *shake* (delta: final – inicial), $p < 0,001$.

A razão apo B/apo AI caiu significativamente ($p < 0,001$) após consumo de proteína de feijão caupi ($\Delta = -0,1 \pm 0,1$ mg/dL; inicial - 0,87 e final - 0,74), comparado à caseína ($\Delta = 0,0 \pm 0,1$ mg/dL; inicial - 0,86 e final - 0,86).

Mudanças na concentração de triacilgliceróis, TG/HDL e apolipoproteína AI após consumo de 25 g de proteína de feijão caupi durante 6 semanas não foram significativas ($p > 0,05$) (Tabela 10).

Tabela 11. Valores médios de triacilgliceróis, razão TG/HDL e apolipoproteína AI antes e após consumo do *shake* com proteína de feijão caupi e do *shake* com caseína.

	Proteína de feijão caupi (n=38)		Caseína (n=38)	
	Pré-consumo	Pós-consumo (6 semanas)	Pré-consumo	Pós-consumo (6 semanas)
Triacilgliceróis (mg/dL)	166,3 (68,5)	163,5 (88,0)	165,5 (54,0)	173,0 (60,1)
TG/HDL	3,1 (1,5)	3,0 (1,9)	3,0 (1,2)	3,3 (1,3)
Apo AI (mg/dL)	152,6 (21,5)	152,7 (20,0)	150,9 (20,7)	148,8 (22,5)

Resultados expressos como média (desvio-padrão).

Abreviações: Apo AI – apolipoproteína AI; TG/HDL – razão triacilgliceróis e HDL.

A Tabela 12 mostra que a redução média ocorrida no colesterol total, colesterol total (%), LDL (%), colesterol não-HDL e Apo B é estatisticamente maior após tratamento com proteína de feijão caupi.

Tabela 12. Resultado das comparações múltiplas de Bonferroni para as variações dos indicadores que apresentaram diferenças entre o tipo de *shake* ou entre o *shake* conforme a ordem de ingestão.

Indicadores bioquímicos	Primeiro <i>shake</i>	Comparação	Δ média estimada	p valor
Colesterol total (mg/dL)		Feijão-caseína	-21,0 (4,4)	<0,001
Colesterol total (%)		Feijão-caseína	-8,4 (1,7)	<0,001
LDL-c (mg/dL)	Caseína	Feijão-caseína	-14,0 (5,6)	0,104
	Feijão	Feijão-caseína	-33,1 (5,6)	<0,001
LDL (%)		Feijão-caseína	-14,4 (2,5)	<0,001
HDL (mg/dL)		Feijão-caseína	3,2 (1,6)	0,044
Colesterol não-HDL		Feijão-caseína	-24,3 (4,3)	<0,001
LDL/HDL	Caseína	Feijão-caseína	-0,3 (0,1)	0,214
	Feijão	Feijão-caseína	-0,9 (0,1)	<0,001
ApoB		Feijão-caseína	-15,5 (3,4)	<0,001
ApoB/ApoAI	Caseína	Feijão-caseína	-0,1 (0,0)	0,301
	Feijão	Feijão-caseína	-0,2 (0,0)	<0,001

Resultados expressos como média (erro-padrão).

Apo AI – apolipoproteína AI; Apo B – apolipoproteína B; apo B/apo AI – razão apo B e apo AI;

LDL/HDL – razão LDL e HDL

Colesterol não-HDL = Colesterol total – HDL-c.

O HDL-c apresenta maior aumento médio após tratamento com proteína de feijão caupi. Enquanto a variação média do LDL-c, da razão LDL/HDL e da razão Apo A1/Apo B só é estatisticamente maior após consumo de proteína de feijão quando o paciente iniciou o estudo com este tratamento ($p < 0,05$), o mesmo não ocorre para pacientes que iniciaram ingerindo caseína.

5.2.2.4 - Análises dos Marcadores de Inflamação e de Disfunção Endotelial

A tabela 13 mostra os valores médios do marcador de inflamação proteína-C-reativa e dos marcadores de disfunção endotelial molécula de adesão vascular solúvel 1 (sVCAM-1) e molécula de adesão intercelular solúvel 1 (sICAM-1).

Tabela 13. Valores médios de marcadores de inflamação e de disfunção endotelial antes e após consumo do *shake* com proteína de feijão caupi e do *shake* com caseína.

Marcadores de inflamação	Proteína feijão caupi (n=38)		Caseína (n=38)	
	Pré-consumo	Pós-consumo (6 semanas)	Pré-consumo	Pós-consumo (6 semanas)
PCR (mg/L)	2,0 (1,9)	2,4 (2,4)	1,9 (1,4)	2,3 (1,5)
sVCAM-1 (ng/mL)	246,0 (80,8)	252,9 (104,4)	246,3 (96,7)	266,5 (102,0)
sICAM-1 (ng/mL)	127,3 (52,3)	137,9 (63,8)	123,5 (57,6)	138,6 (70,4)

Resultados expressos como média (desvio-padrão).

PCRus – proteína C reativa altamente sensível; sVCAM-1: molécula de adesão vascular solúvel 1; sICAM-1: molécula de adesão intercelular solúvel 1

A Tabela 14 apresenta as variações ocorridas antes e após consumo de proteína de feijão caupi e caseína nos marcadores de inflamação (PCRus) e de disfunção endotelial (sVCAM-1 e sICAM-1), bem com os valores de “p” para os deltas avaliados.

Tabela 14. Variações ocorridas nos marcadores de inflamação e de disfunção endotelial de 38 indivíduos que consumiram *shake* com proteína de feijão caupi e *shake* com caseína e valores de “p” para os deltas avaliados entre o tipo de *shake* e a ordem de ingestão dos *shakes*.

Marcadores de inflamação	Δ Proteína feijão caupi	Δ Caseína	P valor Fator		
			Tratamento	Ordem	Trat*Ordem
PCRus (mg/L)	0,46 (2,52)	0,36 (1,89)	0,838	0,794	0,699
sVCAM-1 (ng/mL)	6,92 (73,03)	20,23 (72,32)	0,401	0,495	0,148
sICAM-1 (ng/mL)	10,63 (43,65)	15,09 (49,31)	0,644	0,279	0,081

Resultados expressos como média (desvio-padrão).

PCRus, proteína C reativa altamente sensível; sVCAM-1, molécula de adesão vascular solúvel;

sICAM-1, molécula de adesão intercelular solúvel.

ANOVA para medidas repetidas, $p < 0,05$.

A Tabela 14 mostra que as variações que ocorrem com a ingestão dos *shakes* na PCR, sVCAM-1 e sICAM-1 são estatisticamente as mesmas nos dois *shakes* ($p > 0,05$) sem haver influência da ordem de ingestão dos *shakes* ($p > 0,05$) e da interação entre *shake**ordem ($p > 0,05$).

Os resultados desta investigação sugerem que a proteína de feijão caupi não produz alteração na citocina pró-inflamatória PCR, nem exerce efeito nas citocinas anti-inflamatórias molécula de adesão vascular (Tabelas 13 e 14).

5.2.2.5 - Análises dos Marcadores de Metabolismo da Glicose

A tabela 15 mostra os valores médios de glicose e insulina de jejum e HOMA-IR antes e após consumo de proteína de feijão caupi e de caseína.

Tabela 15. Valores médios de glicose de jejum, insulina de jejum e HOMA-IR antes e após consumo do *shake* com proteína de feijão caupi e do *shake* com caseína.

Indicadores de controle glicêmico	Proteína de feijão caupi (n=38)		Caseína (n=38)	
	Pré-consumo	Pós-consumo (6 semanas)	Pré-consumo	Pós-consumo (6 semanas)
Glicose (mg/dL)	103,9 (17,0)	99,3 (9,3)	100,7 (10,8)	99,0 (12,3)
Insulina (μIU/mL)	4,0 (3,7)	3,7 (3,6)	4,8 (5,1)	4,0 (3,8)
Homa-IR	1,0 (0,9)	0,9 (0,9)	1,3 (1,6)	1,0 (0,9)

Resultados expressos como média (desvio-padrão)

Homa-IR, Homeostatic Model Assessment – Insulin Resistance: [glicose (mmol/L) x insulina imunoreativa (μU/ml)] / 22,5.

A tabela 16 apresenta os deltas dos parâmetros insulina, glicose e HOMA-IR, segundo consumo de proteína de feijão caupi e de caseína, bem como os valores de “p” para as variações destes parâmetros entre o tipo de *shake* e a ordem de ingestão.

Tabela 16. Variações ocorridas nas concentrações plasmáticas de insulina, glicose e no HOMA-IR de 38 indivíduos que consumiram *shake* com proteína de feijão caupi e *shake* com caseína e valores de “p” para os deltas avaliados entre o tipo de *shake* e a ordem de ingestão dos *shakes*.

Indicadores de controle glicêmico	Δ Proteína feijão caupi	Δ Caseína	P valor Fator		
			Tratamento	Ordem	Trat*Ordem
Glicose (mg/dL)	-4,61 (14,62)	-1,71 (10,64)	0,341	0,955	0,627
Insulina (μIU/mL)	-0,29 (3,35)	-0,81 (3,93)	0,562	0,041	0,976
HOMA-IR	-0,11 (0,91)	-0,33 (1,27)	0,423	0,076	0,978

Resultados expressos como média (desvio-padrão).

Homa-IR, Homeostatic Model Assessment – Insulin Resistance: [glicose (mmol/L) x insulina imunoreativa (μU/mL)] / 22,5.

ANOVA para medidas repetidas, p < 0,05.

Como se observa nas tabelas 15 e 16, o consumo de proteína de feijão caupi não afetou significativamente a glicemia e insulinemia de jejum, bem como o HOMA-IR em indivíduos hipercolesterolêmicos ($p > 0,05$).

A Tabela 16 mostra que as variações que ocorrem após consumo de proteína de feijão caupi e de caseína na glicemia de jejum e HOMA-IR, não diferiram entre os dois *shakes* ($p > 0,05$) sem haver influência da ordem de ingestão dos *shakes* ($p > 0,05$). Para a variação ocorrida na insulina de jejum a ordem de ingestão dos *shakes* influencia estatisticamente ($p = 0,041$), sendo que os indivíduos que começam ingerindo o *shake* controle apresentam maior redução média nesse parâmetro que os indivíduos que começaram ingerindo o *shake* feijão, porém a variação desse parâmetro não difere entre os *shakes* ($p > 0,05$).

6. DISCUSSÃO

A proposta deste estudo foi de desenvolver uma bebida à base de proteína de feijão caupi e avaliar o efeito do consumo desta proteína, como parte da dieta habitual, sobre o perfil lipídico, as apolipoproteínas plasmáticas, os marcadores de inflamação, de disfunção endotelial e do metabolismo glicídico em homens e mulheres com hipercolesterolemia moderada.

Estes resultados mostram pela primeira vez a capacidade da proteína de feijão caupi em modificar favoravelmente o perfil de lipoproteínas aterogênicas que transportam colesterol em humanos, estando de acordo com os resultados observados em estudo com hamsters (FROTA et al., 2008a).

6.1 – DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DAS MATÉRIAS-PRIMA/PRODUTOS

O teor de lipídeos da farinha de feijão caupi desengordurada foi ligeiramente menor que na farinha de feijão caupi integral (0,72 % e 1,30 %, respectivamente) (Tabela 1). A principal vantagem do desengorduramento é que remove lipídeos livres ou fracamente ligados à proteína, resultando no aumento da proteína que pode ser solubilizada (ABBOTT et al., 1991; SATHE et al., 2002). Além disso, o desengorduramento remove certos compostos indesejáveis, geralmente presente nas sementes, tais como oligossacarídeos e compostos de baixo peso molecular (fitatos,

compostos fenólicos e outros fitoquímicos) que podem interferir no isolamento ou no produto final (ALUKO, 2004).

A adição de carbonato de cálcio no *shake* com proteína de feijão caupi é justificada pela possibilidade do conteúdo de cálcio presente no caseinato de cálcio contribuir com alguma resposta hipocolesterolemizante. Alguns estudos têm mostrado relação inversa entre ingestão de cálcio e concentração de lipídeos aterogênicos (MAJOR et al., 2007), embora a literatura não seja inteiramente coerente nessa matéria (REID et al., 2010). O cálcio é conhecido por formar sabão insolúvel com ácidos biliares e ácidos graxos no intestino, reduzindo assim a absorção de ambos compostos e isso poderia produzir uma resposta hipocolesterolemizante (DENKE et al., 1993; REID, 2004).

A determinação do perfil de aminoácidos da farinha de feijão caupi mostra que cisteína e metionina são os aminoácidos “limitantes” para crianças em idade pré-escolar, enquanto que os demais aminoácidos essenciais atenderam as necessidades nutricionais (Tabela 2), isto confirma os resultados encontrados por MAIA et al. (2000). IQBAL et al. (2006) obteve o triptofano como aminoácido limitante do feijão caupi, provavelmente decorrente de diferenças metodológicas.

Em concordância com os resultados de outros estudos (RANGEL et al., 2004; HORAX et al., 2004), o isolado protéico de caupi obtido em laboratório apresentou metionina, cisteína e triptofano em quantidade inferior à recomendação. Diferente do observado com o isolado obtido em laboratório, o isolado protéico obtido em indústria apresentou apenas o triptofano como aminoácido limitante (Tabela 2).

Geralmente, as proteínas vegetais têm maior quantidade absoluta de aminoácidos não-essenciais tais como arginina, glicina e alanina, enquanto as proteínas animais têm maior quantidade de aminoácidos essenciais como lisina e metionina. A baixa razão lisina/arginina está associada ao aumento da concentração sérica de glucagon e menor colesterolemia (SANCHEZ et al., 1988; RADCLIFFE e CZAJKA-NARINS, 2000; MADANI et al., 2000). Essa mudança na razão insulina/glucagon pode produzir profundas mudanças na expressão de genes do metabolismo intermediário (TORRES et al., 2006).

GORINSTEIN et al. (2001) e SANCHES et al. (1988) determinaram o perfil de aminoácidos da soja e verificaram que a relação lisina/arginina foi de 0,9 e 0,63, respectivamente. No entanto, a caseína, uma proteína reconhecida como hipercolesterolemizante em coelhos, apresenta uma razão lisina/arginina de 2,2 (SANCHES et al., 1988). A razão lisina/arginina do isolado protéico de caupi obtido em indústria no presente estudo foi de 0,78, muito próxima à razão da proteína de soja. A composição de aminoácidos pode ser um possível fator desencadeante para o efeito hipocolesterolemizante da proteína de caupi.

6.2 - ENSAIO CLÍNICO

6.2.1 - Avaliação de Parâmetros Antropométricos e Dieta Habitual dos Participantes

Não houve diferença nos marcadores de adiposidade IMC, peso e circunferência da cintura antes e após o consumo do *shake* com proteína de feijão caupi e do *shake* com caseína. Sabendo-se que a perda de peso e, em particular, da gordura abdominal (avaliada pela circunferência da cintura) podem melhorar o controle glicêmico, lipídico e inflamatório (MARKOVIC et al., 1998; MUELLER et al., 2010), a falta de mudança significativa nessas medidas antropométrica reduziu qualquer potencial efeito de confundimento sobre os desfechos estudados.

A dieta habitual dos participantes foi avaliada por meio da aplicação de 3 recordatórios de 24 horas em cada período experimental. A análise dos recordatórios mostra não ter havido alteração na dieta habitual dos indivíduos, com exceção do colesterol e fibras. Além disso, a análise dos recordatórios mostra que consumo calórico estava próximo à recomendação de 1500 kcal/dia para manutenção ou perda de peso em adultos saudáveis. Apenas o consumo de fibras estava abaixo das recomendações da IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemia e Prevenção de Aterosclerose (SPOSITO et al., 2007).

Os *shakes* estudados eram isocalóricos e apresentaram teor de proteínas muito próximos a quantidade desejada de 12,5 g/porção (Tabela 3). O conteúdo de cálcio foi semelhantes no *shake* com proteína de feijão caupi e no *shake* com caseína. A

única diferença entre os produtos (*shakes*) foi com relação à origem da fonte protéica.

6.2.2 - Efeito do Consumo da Proteína de Feijão Caupi e da Caseína sobre o Perfil Lipídico e Apolipoproteínas

No presente estudo o consumo de 25 g/dia de isolado protéico de caupi (IPC) e de caseína exerceu efeito hipocolesterolemizante, porém com menor intensidade para a caseína. Resultados semelhantes, porém mais discretos, foram observados em estudos recentes com proteína de soja. Em um estudo no qual 30 g de proteína isolada de soja incorporada em *cookies* e oferecido aos indivíduos hipercolesterolêmicos por 8 semanas demonstrou uma redução no colesterol total de -17 mg/dL (-6,5 %) (BORODIN et al., 2009). Outro estudo que utilizou a proteína de soja (bebida) com baixo teor de isoflavona (25 g de proteína e 23 – 26 mg de equivalentes de agliconas) durante 4 semanas em mulheres com hipercolesterolemia moderada encontrou uma redução de -7,4 % no colesterol total (MAKI et al., 2010). A redução mais discreta no colesterol total observada por MAKI et al. (2010) pode ser em parte atribuídas aos menores níveis de colesterol no início do estudo (213,6 mg/dL). Na meta-análise de ANDERSON et al. (1995) ficou comprovado que a mudança na concentração de colesterol está diretamente relacionada à concentração de colesterol sérico inicial.

TONSTAD et al. (2002) obtiveram redução no colesterol total em indivíduos hipercolesterolêmicos que consumiram 30 g de proteína de soja de 33,2 mg/dL, muito próximo ao encontrado no presente estudo. Na meta-análise de ANDERSON et al. (1995) foi observada uma mudança em cadeia (delta da dieta com proteína de soja menos delta da dieta controle) de 23,2 mg/dL ou 9,3 % no colesterol sérico total. Esta redução em cadeia está muito próxima da redução em cadeia do presente estudo -21,0 mg/dL ou -8,4 % (Tabela 13).

No que se refere ao LDL-c, este estudo mostrou que o consumo de proteína de feijão caupi reduziu o LDL-c em -18,9 %, enquanto o consumo de caseína reduziu em -4,5 %. A redução do LDL-c é uma das armas mais poderosas para reduzir o risco de eventos cardiovasculares sendo que a redução de cerca de 19 % e 33 mg/dL absolutos nesta fração lipídica pode ter impacto no risco de eventos cardiovasculares a longo prazo. Recente meta-análise com 170.000 indivíduos mostra que a diminuição do LDL-c em 40 mg/dL diminui o risco de eventos ateroscleróticos maiores como infarto do miocárdio, morte cardíaca, acidente vascular cerebral e revascularização do miocárdio em 22 % (CHOLESTEROL TREATMENT TRIALISTS' (CTT) COLLABORATION, 2010).

Estes resultados estão na mesma linha da meta-análise de ANDERSON et al. (1995) que mostra que o consumo de proteína de soja provoca redução em cadeia no LDL-c de 21,7 mg/dL ou 12,9 %. No entanto, TONSTAD et al. (2002) verificaram redução mais discreta no LDL-c (3 a 4 %) após intervenção com 30 g e 50 g de proteína isolada de soja.

Um estudo semelhante avaliou o efeito da suplementação de 25 g de fração insolúvel da proteína de soja em pacientes moderadamente hipercolesterolêmicos e observou uma redução no LDL-c na ordem 10,9 % para o grupo de indivíduos que recebeu a proteína de soja e de 5,9 % para o grupo que recebeu proteína do leite total (MAKI et al., 2010).

PIPE et al. (2009) observaram redução significativa no LDL-c em pacientes adultos com diabetes tipo 2 controlado pela dieta após consumo de 40 g de proteína de soja rica em isoflavona comparada ao consumo de proteína do leite.

A redução em cadeia de 19 % no LDL-c, no presente estudo, foi clinicamente importante, consistente com outras intervenções não medicamentosas (exemplo fibra solúvel e esteróis vegetais) e superiores aos relatos em revisões de estudos com proteína de soja (ZHAN e HO, 2005; SACKS et al., 2006). Evidências epidemiológicas sugerem que a taxa de evento cardiovascular é reduzida em aproximadamente 1 % para cada 1 % de redução de LDL-c e se o declínio for mantido por um longo período de tempo, a redução do risco de evento cardiovascular pode ser de 3 % para cada 1 % de redução no LDL-c (BROWN et al., 2006).

O consumo de proteína de feijão caupi indicou elevação no HDL-c, enquanto o consumo de caseína indicou redução do HDL-c (Tabela 10). Este aumento apesar de pequeno pode ser importante na redução do risco de eventos cardiovasculares, pois estudos epidemiológicos mostram que a porcentagem de elevação no HDL-c é equivalente e aditivo à redução do LDL-c na redução do risco cardiovascular. Dados de 4 estudos (*Framingham Health Study*, *Lipid Research Clinic Prevalence Mortality Follow-up Study*, *Lipid Research Clinic Primary Prevention Trial* e *Multiple Risk*

Factor Intervention Trial) estima uma redução no risco cardiovascular de 2 % para cada aumento de 1 mg/dL no HDL-c sérico (MULTIPLE RISK FACTOR INTERVENTION TRIAL, 1982; GORDON et al., 1989; CASTELLI et al., 1992).

Os dados do presente estudo concordam com os resultados obtidos por MAKI et al. (2010) que verificaram que o consumo de 25 g/dia de proteína de soja levou a um aumento no HDL-c de magnitude semelhante quando comparado a proteína do leite.

O efeito da proteína de leguminosa sobre o HDL colesterol é controverso. Enquanto um estudo com adultos russos hipercolesterolêmicos mostrou que a ingestão de 30 g de proteína de soja na forma de *cookies* durante 2 meses levou ao aumento do HDL-c em 9 % ou 5,1 mg/dL (BORODIN et al., 2009), outro estudo também realizado com adultos hipercolesterolêmicos não obtiveram alteração significativa no HDL-c em indivíduos hipercolesterolêmicos após consumo de 30 g ou 50 g de proteína de soja durante 4 meses (TONSTAD et al., 2002). A meta-análise de ZHAN et al. (2005) mostrou aumento significativo no HDL-c sérico, no entanto a meta-análise de ANDERSON et al. (1995) não mostrou efeito algum.

Estes dados controversos podem ser explicados pelas diferentes formas de preparação na qual a proteína vegetal, seja a proteína de soja ou proteína de feijão caupi foi oferecida aos participantes hipercolesterolêmicos, diferenças nas características basais dos participantes, na quantidade de proteína vegetal oferecida durante a intervenção ou diferença no desenho dos estudos. No estudo de MAKI et al (2010), cujo resultado na concentração de HDL-c foi semelhante ao presente estudo, a proteína de soja foi oferecida como um pó para ser reconstituído em água e a

quantidade de proteína de soja foi de 25g/dia durante 4 semanas de intervenção. Em contrapartida a meta-análise de ANDERSON et al. (1995) incluiu estudos com proteína isolada de soja e proteína texturizada de soja, com desenhos aleatorizados *cross-over* ou paralelos e meta-análise de ZHAN et al (2005) incluiu apenas estudos que ofereceram a proteína de soja contendo isoflavona intacta. No estudo de TONSTAD et al.(2002) todos os participantes foram orientados a consumir uma dieta redutora em colesterol antes do início da intervenção, além disso foi utilizado uma desenho de grupo paralelos.

O colesterol não-HDL sofreu redução em cadeia de 24,3 mg/dL decorrente do consumo de proteína de feijão e de caseína (Tabela 12). Um estudo muito semelhante ao nosso, cujo delineamento foi do tipo *cross-over*, observou redução no colesterol não-HDL após 8 semanas de consumo de 30 g de proteína isolada de soja de - 22 mg/dL ou - 11 % (BORODIN et al., 2009).

Esta redução no colesterol não-HDL parece importante, pois um estudo de meta-análise mostrou que há uma relação de 1:1 entre a redução de colesterol não-HDL e redução do risco de doenças do coração após usos de drogas hipolipemiantes utilizadas como monoterapia (ROBINSON et al., 2009). Outra meta-análise constatou que a dieta, os seqüestrantes de ácidos biliares, a cirurgia de *bypass* ileal e as estatinas reduzem eventos do coração na proporção de 1:1 com a redução do LDL-c (ROBINSON et al., 2005).

A mudança na razão LDL/HDL foi estatisticamente maior após consumo de proteína de feijão caupi, comparado ao consumo de caseína (Tabelas 10 e Figura 10). Um estudo de intervenção com 30 g de proteína de soja, comparado à proteína do

leite, realizado com homens jovens saudáveis mostrou que a proteína de soja com baixa ou alto teor de isoflavona foi capaz de reduzir a razão LDL/HDL (MCVEIGH et al., 2006). Esta observação comprova que o efeito observado com a soja deve-se principalmente a sua proteína e não apenas à isoflavona. Outro estudo realizado com indivíduos diabéticos controlados pela dieta mostrou que a soja reduziu significativamente esta razão (PIPE et al., 2009). Estas observações nos leva a acreditar que a proteína do feijão caupi exerce um papel semelhante à proteína de soja na colesterolemia.

A concentração plasmática de apolipoproteína B tem sido proposta como um indicador de risco cardiovascular (STEIN, 1994). Este estudo de intervenção com proteína de caupi e caseína mostrou que apenas a proteína de feijão caupi reduziu significativamente a concentração plasmática de apo B comparado a caseína.

Dois estudos prévios com proteína de soja que incluíram a quantificação de apolipoproteínas após consumo de proteína isolada de soja em indivíduos hipercolesterolêmicos obtiveram resultados semelhantes. Um dos estudos, realizado com indivíduos hipercolesterolêmicos, mostrou alteração significativa na concentração de apo B (MAKI et al., 2010) e o outro estudo no qual foi avaliado efeito dose resposta de 20 g, 30 g, 40 g e 50 g de proteína de soja, encontrou uma mudança significativa na apo B de -2,2 % com 20 g de proteína de soja após 3 semanas de intervenção, este efeito foi mantido após 6 semanas e foi semelhante ao obtido com 40 g e 50 g de proteína de soja (TEIXEIRA et al., 2000). Resultados conflitantes foram encontrado em estudo realizado com homens

hipercolesterolêmicos em que não foi verificada mudança significativa na apo B (MCVEIGH et al., 2006).

A razão apo B/apo AI foi reduzida significativamente após consumo de proteína de caupi. Utilizando-se os valores de referência para classificação do risco de infarto agudo do miocárdio (WALLDIUS et al., 2001; YUSUF et al., 2004) para mulheres: baixo risco (0,3-0,59), risco moderado (0,6-0,79) e alto risco (0,8-1,0) pode-se inferir que esta população passou da classificação de alto risco para risco moderado, considerando que a maioria dos participantes eram do sexo feminino (84,2%).

Outros estudos têm confirmado efeito similar da proteína vegetal sobre a razão apo B/apo AI. O estudo de MCVEIGH et al. (2006) mostrou que a razão apo B/apo AI foi significativamente menor depois do tratamento com 30 g de proteína de soja com alto e baixo teor de isoflavona, comparado ao tratamento com proteína de leite. Outro estudo que avaliou o efeito da suplementação de 40 g de proteína de soja rica em isoflavona em pacientes com diabetes tipo 2 controlada pela dieta também mostrou uma redução significativa na razão apo B/apo AI compara ao grupo que recebeu proteína do leite (PIPE et al., 2009).

A inclusão de lipoproteínas em futuros estudos de intervenção com leguminosas é recomendada, pois sua relevância para o risco cardiovascular é bem estabelecido (WALLDIUS e JUNGNER, 2005) e há uma particular ênfase na razão apo B/apo AI como altamente preditivo da avaliação do risco cardiovascular (WALLDIUS et al., 2001).

Os efeitos observados no perfil lipídico podem ser considerados de forte intensidade, tendo em vista que uma recente meta-análise sobre o efeito da suplementação com proteína de soja sobre os lipídeos séricos, mostrou que o efeito em cadeia da suplementação com proteína de soja foi de -5,26 mg/dL para o colesterol total, - 4,25 mg/dL para o LDL-c, 0,77 mg/dL⁻¹ para o HDL-c e redução de -6,26 mg/dL para os triacilgliceróis (REYNOLDS et al., 2006).

Com relação à concentração dos triacilgliceróis, da apolipoproteína AI e razão TG/HDL, nenhuma redução significativa foi observada após consumo de proteína de feijão caupi e caseína ($p > 0,05$) (Tabelas 10 e 11).

Observações sobre os triglicerídeos são conflitantes, alguns estudos encontraram uma redução nos TGs, enquanto outros estudos não observaram alterações neste marcador de risco cardiovascular. MCVEIGH et al. (2006), GARDNER et al. (2007) e TONSTAD et al. (2002) não observaram alteração nos triacilgliceróis, no entanto 2 meta-análises e um estudo de intervenção com proteína de soja encontraram redução significativa (ANDERSON et al., 1995; ZHAN e HO, 2005; BORODIN et al., 2009).

A concentração de apo AI é um indicador do número de partículas de HDL circulantes e mudanças nesta apolipoproteína frequentemente são paralelas à concentração de HDL-c (NCEP, 2001). Neste estudo apesar de se observar mudança no HDL-c, a apo AI não sofreu alteração. Esses dados sugerem que possa ter tido um aumento no conteúdo de colesterol carregado pelas HDL, ou na sua densidade sem contudo haver aumento no número de partículas circulantes.

Com relação à apo AI, a maioria dos estudos não mostra diferença nesta apolipoproteína (TEIXEIRA et al., 2000; JENKINS et al., 2002; MCVEIGH et al., 2006). Apenas um estudo com proteína de soja mostrou que o consumo de 25 g/dia durante 8 semanas reduziu o apo AI em 2,9 %, diferente do esperado, pois no mesmo estudo houve aumento de 4 % no HDL-c (MAKI et al., 2010).

Assim, sugere-se que o mecanismo de ação pelo qual a proteína do feijão caupi atua na redução de LDL-c seja semelhante ao da proteína de soja. Consonni et al. (2010) ao realizarem um estudo com células hepáticas humanas (Hep G2) e polipeptídeo α' da subunidade 7S da globulina da soja observaram que o mecanismo pelo qual a proteína de soja reduz o colesterol é pelo aumento na expressão de receptores de LDL, aumentando o *clearance* de colesterol. Neste estudo os autores observaram aumento na captação de LDL (+192 %) e na degradação (+143 %) nas células hepáticas que receberam maior dose do polipeptídeo da soja (CONSONNI et al., 2010).

6.2.3 - Efeito do Consumo de Proteína de Feijão Caupi e de Caseína nos Marcadores de Inflamação e Disfunção Endotelial

O presente estudo não mostrou alteração na proteína-C-reativa e nas moléculas de adesão (sICAM-1 e sVCAM-1) após consumo de proteína de caupi e de caseína. A maioria dos estudos recentemente publicados mostram que administração da proteína isolada de soja não alteram a PCR (HILPERT e KRIS-

ETHERON, 2005; CAMPBELL et al., 2006; GREANY et al., 2008). Outro estudo de intervenção com alimentos à base de soja, cuja duração foi de 2 anos, também não encontrou alteração na PCR após consumo desta leguminosa (MASKARINEC et al., 2009).

Em contraste com os resultados desta intervenção e outras publicadas recentemente, dados experimentais com proteína de soja em mulheres com síndrome metabólica (AZADBAKHT et al., 2007) e mulheres normotensas que consumiram 25 g de proteína de soja apóiam a influência de alimentos com soja e a resposta inflamatória (NASCA et al., 2008).

Embora o presente estudo e a maioria das investigações publicadas tenham falhado em encontrar uma redução em sICAM-1 e sVCAM-1; após consumo de proteína de leguminosa (BLUM et al., 2003; STEINBERG et al., 2003; WEST et al., 2005; GREANY et al., 2008), alguns estudos têm relatado mudança nestes marcadores. Um estudo, cuja duração foi de 3 anos, conduzido com macacas que receberam 19 % das calorias proveniente da proteína de soja encontrou uma significativa redução em sVCAM-1 (REGISTER et al., 2005). Estes resultados controversos sobre efeito da proteína de leguminosas nos marcadores de disfunção endotelial podem chamar a atenção para outras questões importantes que influenciam no desfecho como: duração da intervenção e dose utilizada. No presente estudo e nas 4 investigações que não encontraram efeito sobre as moléculas de adesão (BLUM et al., 2003; STEINBERG et al., 2003; WEST et al., 2005; GREANY et al., 2008), a duração dos protocolos foram relativamente curtas (apenas 6 semanas), provavelmente uma maior duração na intervenção seria necessária para se observar

uma redução nestes marcadores. Esses estudos incorporaram similarmente em torno de 25 g de proteína de leguminosa, talvez uma quantidade maior de proteína vegetal fosse necessária para se observar o efeito esperado nas moléculas de adesão ou realmente a proteína de feijão caupi não atue nesta via..

6.2.4 - Efeito do Consumo da Proteína de Feijão Caupi e de Caseína nos Marcadores de Metabolismo Glicídico

Contrária à hipótese deste estudo, os resultados não comprovam o efeito da intervenção por 6 semanas com proteína de feijão caupi na glicemia de jejum, na insulinemia de jejum e no HOMA-IR ($p = 0,341$; $p = 0,562$; $p = 0,423$, respectivamente) (Tabela 16).

Esses dados são consistentes com estudos prévios em adultos com diabetes tipo 2, o qual não foi verificado efeito significativo na glicose de jejum após consumo de proteína de soja (50 g de proteína de soja, 165 mg de isoflavona) e suplemento de fibra (20 g fibra de soja) por 6 semanas (HERMANSEN et al., 2001). Um recente estudo realizado com homens e mulheres na pós-menopausa com diabetes tipo 2 controlada pela dieta mostrou que o consumo de proteína isolada de soja (40 g proteína de soja e 88 mg de isoflavonas) durante 8 semanas não afetou significativamente a glicose (GOBERT et al., 2010).

Em contrapartida, estudo com adultos com diabetes tipo 2 têm encontrado significativa redução na glicose de jejum após consumo de proteína de soja (12 g de proteína de soja e 50 mg de isoflavona) por 3 meses (SHAHBAZIAN et al., 2007); suplemento de proteína de soja (5,22 g de proteína de soja) por 12 semanas (RISTIC et al., 2006) e proteína de soja (12 a 17 g de proteína de soja e 36 a 48 mg de isoflavona) por 4 anos (AZADBAKHT et al., 2008). A soja tem sido relacionada à redução da glicose de jejum quando consumida como parte de substituto de refeição por 3 a 12 meses (LI et al., 2005).

Esses achados talvez possam ser explicados pelas diferenças metodológicas como duração do estudo, quantidade de proteína oferecida e características dos participantes. Nestes estudos os indivíduos apresentavam diabetes tipo 2 e a proteína de soja utilizada nas intervenções apresentavam isoflavonas, bem como os estudos mostrados tiveram duração mínima de 3 meses e máxima de 4 anos.

A insulina de jejum também não foi influenciada após consumo de 25 g de proteína de feijão caupi comparada a 25 g de proteína do leite (caseína) no presente estudo (Tabelas 15 e 16). Esse resultado é consistente com estudos prévios em adultos com diabetes tipo 2, que não encontraram mudança significativa na insulina de jejum após consumo de 10 g de polissacarídeo da soja (TSAI et al., 1987); suplemento de soja e fibra (50 g de proteína de soja, 165 mg de isoflavona e 20 g de fibra de soja) por 6 semanas (HERMANSEN et al., 2001); e substituição baseada em soja por 3 a 12 meses (LI et al., 2005) e 40 g de proteína de soja e 88 mg de isoflavonas (GOBERT et al., 2010). No entanto, a insulina de jejum sofreu significativa redução em adultos com diabetes tipo 2 após consumo de proteína de

soja (30 g de proteína e 132 mg de isoflavona) por 12 semanas (JAYAGOPAL et al., 2002).

Um relevante estudo realizado com 32 mulheres na pós-menopausa com dieta controlada para o diabetes tipo 2, no qual 30 g de proteína de soja contendo 132 mg de isoflavona foi oferecida durante 12 semanas reduziu significativamente a insulina de jejum e resistência à insulina quando comparado à celulose (JAYAGOPAL et al., 2002), embora os resultados poderiam ser atribuídos a alta quantidade de proteína no grupo que recebeu a proteína de soja, consistentes com evidências de efeitos benéficos da dieta com alto teor de proteína em indivíduos com diabetes tipo 2 (GANNON e NUTTALL, 2006; LAYMAN et al., 2008).

Estudo realizado com ratas saudáveis mostrou que a proteína de soja significativamente reduziu a glicose e a insulina de jejum (LAVIGNE et al., 2000), reduziu significativamente a insulina no soro e melhorou a secreção de insulina (VELOSO et al., 2008). Estudo com macacos mostrou que a proteína de soja aumentou a eficácia da glicose e a sensibilidade à insulina (WAGNER et al., 1997). Finalmente, investigação em camundongos diabéticos mostrou que a proteína de soja significativamente reduziu a glicose e insulina de jejum, bem como aumentou a expressão de genes reguladores de insulina (NORDENTOFT et al., 2008).

No presente estudo foi calculado o HOMA-IR como medida da sensibilidade à insulina e foi encontrado que o consumo de 25 g de proteína de feijão caupi não afetou significativamente este índice, consistente com estudo prévio em adultos com diabetes tipo 2 que consumiram 40 g de proteína de soja e 88 mg de isoflavonas por 8 semanas (GOBERT et al., 2010). Em contrapartida, o HOMA-IR foi reduzido

significativamente em mulheres na pós-menopausa com diabetes tipo 2 controlada pela dieta após consumo de proteína de soja (30 g de proteína e 132 mg de isoflavona) por 12 semanas (JAYAGOPAL et al., 2002).

6.3. – LIMITAÇÕES E FORTALEZAS DO ESTUDO

Embora o presente estudo contribua com novos achados referente ao efeito do consumo de proteína de feijão caupi no perfil lipídico de indivíduos hipercolesterolêmicos, houve limitações dignas de serem mencionadas. O período de tratamento de 6 semanas foi relativamente curto para avaliar mudança nos marcadores de inflamação e disfunção endotelial. Os participantes do estudo tinham vida livre (*free-living*) e os produtos do estudo (*shakes*) foram adicionados à sua dieta, sendo que o ideal seria a padronização de toda a dieta dos indivíduos em cozinha metabólica. Como se sabe muitas variáveis de ingestão dietética é reconhecida por afetar a resposta lipídica, inflamatória e glicêmica durante o período de tratamento.

Outra limitação está relacionada à inclusão de homens e mulheres aparentemente saudáveis com baixo grau de inflamação sistêmica, caracterizado pelos baixos níveis de PCR plasmática no início do estudo ($PCR < 2 \text{ mg/L}$). O baixo grau de inflamação associado ao curto tempo de intervenção (6 semanas) pode ter sido responsáveis pela não detecção de alterações na proteína C reativa e moléculas de adesão.

Apesar destas limitações o ponto forte do estudo que permitiu observar o efeito favorável de 25 g de proteína de feijão caupi sobre o perfil lipídico foi a administração da dieta experimental por 6 semanas com o delineamento *cross-over*, pois esse tipo de estudo minimiza as diferenças inter-individuais e anula muitas

variáveis de confundimento presente em estudos paralelos. Outro aspecto favorável foi a inclusão de indivíduos hipercolesterolêmicos. Como revisado por ANDERSON et al. (1995) o efeito redutor de colesterol da proteína de soja foi observado mais claramente nos indivíduos com maior nível sérico de colesterol total e LDL-c. Além disso, foram selecionados indivíduos que não tomavam medicação hipocolesterolemizante, o que elimina a possibilidade de efeitos de confundimento nos resultados. Por fim, houve correspondência no conteúdo de proteína entre o *shake* com isolado protéico de caupi e o *shake* com caseína.

7. CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados deste estudo são consistentes com evidências recentes que o consumo de proteína de leguminosas tem ação hipocolesterlemizante e indicam que o consumo de 25 g/dia de proteína de feijão caupi por indivíduos adultos hipercolesterolêmicos, sem alterar estilo de vida, incluindo alimentação e atividade física é capaz de modificar o perfil lipídico principalmente no que se refere à redução de colesterol total, LDL colesterol, colesterol não-HDL e discreto aumento do HDL colesterol. Além disso, foram encontrados efeitos favoráveis sobre a apolipoproteína B, outro marcador de risco aterogênico.

Embora esses resultados não apóiam a hipótese de que proteína de feijão caupi melhora a inflamação vascular e o controle glicêmico, acredita-se que as modificações encontradas no perfil lipídico possam ter forte impacto sobre o risco de eventos cardiovasculares. A redução do LDL-c é uma das armas mais poderosas para reduzir o risco de eventos cardiovasculares sendo que a redução de 33 mg/dL absolutos nesta fração lipídica pode ter impacto no risco de eventos cardiovasculares a longo prazo. Devido ao fato de não se poder medicalizar a população como um todo para redução do colesterol, estilo de vida saudável e consumo de alimentos que possam modificar favoravelmente os lipídeos são primordiais para redução do risco da doença cardiovascular populacional.

Pesquisas adicionais, com maior tempo de intervenção são necessárias para avaliar o efeito da proteína de feijão caupi sobre lipídeos, marcadores de inflamação

e de controle glicêmico. Além disso, são necessárias novas pesquisas para avaliar o mecanismo pelo qual estas proteínas atuam no metabolismo das lipoproteínas.

8. REFERÊNCIAS

A.O.A.C. - ASSOCIATION OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. Washington, 1990.

A.O.A.C. - ASSOCIATIONS OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analyses of the Association of Analytical Chemists**. 14. ed., p. 164, 1984.

ABBOTT, T. P.; NAKAMURA, L. K.; BUCHHOLZ, G.; WOLF, W. J.; PALMER, D. M.; GASDORF, H. J.; NELSEN, T. C.; KLEIMAN, R. Process for making animal feed and protein isolate from jojoba meal. **J. Agric. Food Chem.** v. 39, p. 1488-1493, 1991

ADLERCREUTZ, H.; MAZUR, W.; STUMPF, K.; KILKKINEM, A.; PIETINEN, P.; HULTEN, K.; HALLMANS, G. Food containing phytoestrogens, and breast câncer. **Biofactores.**, v. 12, p. 89-93, 2000.

ALI, R.; MUZQUIZ, M. ANFs in tropical legume seeds for human nutrition. In: JANSMAN, A. J. M.; HILL, G. D.; HUISMAN, J.; VAN DER POEL, A. F. B. **Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds and Rapessed**. Eds. Wageningen Pers: Wageningen, 1998. p. 107-130.

ALONSO, R.; GRANT, G.; MARZO, F. Thermal treatment improves nutritional quality of pea seeds (*Pisum sativum* L.) without reducing their hypocholesterolemic properties. **Nutr. Res.**, v. 21, p. 1067-1077, 2001.

ALUKO, R. E. **The extraction and purification of proteins: an introduction**. In: YADA, R. Y., editor. Proteins in food processing. Cambridge, UK: Woodhead Publishing Limited, p. 325-351, 2004.

AMERICAN HEART ASSOCIATION. 1999 **Heart and Stroke Statistical Update**. Dallas, Tex: American Heart Association; 1998.

ANDERSON, J. W.; JOHNSTONE, B. M.; COOK-NEWELL, M. E. Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipid. **N. Engl. J. Med.**, v. 333, p. 276-282, 1995.

ANDERSON, J. W.; MAJOR, A. W. Pulses and lipaemia, short- and long term effect: potential in the prevention of cardiovascular disease. **Br J Nutr**, v. 88, p. 263-271, 2002.

ARAÚJO, J. P. P.; WATT, E. E. **O caupi no Brasil**. Brasília: IITA, EMBRAPA, 1988, 722p.

AZADBAKHT, L.; ATABAK, S.; ESMAILLZADEH, A. . Soy protein intake, cardiorenal indices, and C-reactive protein in type 2 diabetes with nephropathy: a longitudinal randomized clinical trial. **Diabetes Care**, v. 31, p. 648–654, 2008.

AZADBAKHT, L.; KIMIAGAR, M.; MEHRABI, Y.; ESMAILLZADEH, A.; HU, F. B.; WILLETT, W. C. Soy consumption, markers of inflammation, and endothelial function: a cross-over study in postmenopausal women with the metabolic syndrome. **Diabetes Care**, v. 30, p. 967–973, 2007.

BARBOSA J. Doenças não-transmissíveis: tema relevante para a vigilância em saúde pública no Brasil. In: III FÓRUM GLOBAL DE PREVENÇÃO E CONTROLE DE DOENÇAS NÃO-TRANSMISSÍVEIS, 3., 2003, Rio de Janeiro, **Anais...** Rio de Janeiro, 2003.

BARTER, P.; KASTELEIN, J.; NUNN, A.; HOBBS, R. Future Forum Editorial Board. High density lipoproteins (HDL) and atherosclerosis; the unanswered questions. **Atherosclerosis**, v. 168, p. 195-202, 2003.

BAZZANO, L. A.; HE, J.; OGDEN, L. G.; LORIA, C.; VUPPUTURI, S.; MYERS, L.; et al. Legume consumption and risk of coronary heart disease in US men and women: NHANES I epidemiologic follow-up study. **Arch Intern Med**, V. 161, p. 2573-2578, 2001.

BAZZANO, L. A.; THOMPSON, A. M.; TEES, M. T.; NGUYEN, C. H.; WINHAM, D. M. Non-soy legume consumption lowers cholesterol levels: A meta-analysis of randomized controlled trials. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, v. 21, n. 2, 94-103, feb. 2011.

BITTNER, V. Perspectives on dyslipimia and coronary heart disease in women. **JACC**, v.46, p. 1628-1635, 2005.

BLUM, A.; LANG, N.; PELEG, A.; VIDGER, F.; ISRAELI, P.; GUMANOVSKY, M.; et al. Effects of oral soy protein on markers of inflammation in postmenopausal women with mild hypercholesterolemia. **AM Heart J**, v. 145, e7, February, 2003.

BORODIN, E. A.; MENSHIKOVA, I. G.; DOROVSKIKH, V. A.; FEOKTISTOVA, N. A.; SHTARBERG, M. A.; YAMAMOTO, T.; TAKAMATSU, K.; MORI, H.; YAMAMOTO, S. Effects of two-month consumption on 30g a day of soy protein isolate or skimmed curd protein on blood lipid concentration in Russian adults with hyperlipidemia. **J Nutr Sci Vitaminol**. v. 55, p. 492-497, 2009.

BROWN, B. G.; STUKOVSKY, K. H.; ZHAO, X. Q. Simultaneous low-density lipoprotein-C lowering and high-density lipoprotein-C elevation for optimum cardiovascular disease prevention with various drug classes, and their combinations: a meta-analysis of 23 randomized lipid trials. **Curr Opin Lipidol.**, v. 17, n. 6, p. 631–636, 2006.

CAMPBELL, C. G.; BROWN, B. D.; DUFNER, D.; THORLAND, W. G. Effects of Soy or Milk Protein During a High-Fat Feeding Challenge on Oxidative Stress, Inflammation, and Lipids in Healthy Men. **Lipids**, v. 41, 257–265, March, 2006.

CASTELLI, W. P.; ANDERSON, K.; WILSON, P. W.; et al. Lipids and risk of coronary heart disease. The Framingham Study. **Ann Epidemiol**, v. 2, p. 23-28, 1992.

CHOLESTEROL TREATMENT TRIALISTS' (CTT) COLLABORATION. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170 000 participants in 26 randomised trials. **Lancet**, v. 376, p. 1670-1681, 2010.

CNS. Conselho Nacional de Saúde. Ministério da Saúde. Resolução nº 196 de 10 de outubro de 1996. **Regulamenta Pesquisas envolvendo seres humanos**. Disponível em: <URL: <http://conselho.saude.gov.br>>

CONSONNI, A.; LOVATI, M. R.; MANZONI, C.; PIZZAGALLI, A.; MORAZZONI, P.; DURANTI, M. Cloning, yeast expression, purification and biological activity of a truncated form of the soybean 7S globulin α' subunit involved in Hep G2 cell cholesterol homeostasis. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 21, p. 887–891, 2010.

COOK, N. R.; BURING, J. E.; RIDKER, P. M. The effect of including C-reactive protein in cardiovascular risk prediction models for women. **Ann. Intern. Med.**, v. 145, p. 21-29, 2006.

CORTI, R.; HUTTER, R.; BADIMON, J. J.; FUSTER, V. Evolving concepts in the triad of atherosclerosis, inflammation and thrombosis. **J. Thromb. Thrombolysis.**, v. 17, p. 35-44, 2004.

DAVIES, M. L. Pathophysiology of agute coronary syndromes. **Indian Heart J.**, v. 52, p. 473-479, 2000.

DENKE, M. A.; FOX, M. M.; SCHULTE, M. C. Short-term dietary calcium fortification increases fecal saturated fat content and reduces serum lipids in men. **J Nutr.** v. 123:p. 1047–1053, 1993.

DROGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiol Rev**, v. 82, p. 47-95, 2002.

DURANTI, M. Grain legume proteins and nutraceutical properties. **Fitoterapia**, v. 77, p. 67-82, 2006.

EMBRAPA MEIO-NORTE. **Cultivo de feijão caupi**. Jul/2003. Disponível em: <http://www.cpamn.embrapa.br/pesquisa/graos/FeijaoCaupi/referencias.htm>. Sistemas de Produção, 2 ISSN 1678-8818. Acesso em: 21 fev. 2007.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION/WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Protein quality evaluation**. Roma, 66p. (FAO Food and Nutrition Paper, 51), 1991.

FREIRE FILHO, F. R.; CARDOSO, M. J.; ARAÚJO, A. G.; SANTOS, A. A.; SILVA, P. H. S. **Características botânicas e agrônômicas de cultivares de feijão macassar (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.)**. Teresina, EMBRAPA-UEPAE de Teresina, 45p, 1981. (EMBRAPA-UEPAE de Teresina. Boletim de Pesquisa, 4).

FREIRE FILHO, F. R.; SILVA, S. M. S. **Proteínas de feijão caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp]: Caracterização e aplicação nutricional**. n. 44, Teresina, 1999.

FRIEDEWALD, W. T.; FREDRICK, D. S.; LEVY, R. I. Estimation of concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of preparative ultracentrifuge **Clin. Chem.**, v.18, n. 6, p. 499, 1974.

FROTA, K. M. G.. **Efeito do feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) e da proteína isolada no metabolismo lipídico em hamsters hipercolesterolemizados**. 2007, 136p. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana Aplicada) – Faculdade de Saúde Pública/Faculdade de Ciências Farmacêuticas/Faculdade de Economia e Administração, Universidade de São Paulo, São Paulo.

FROTA, K. M. G.; MENDONÇA, S.; SALDIVA, P. H. N.; CRUZ, R. J.; ARÊAS, J. A. G. Cholesterol-lowering properties of whole cowpea seed and its protein isolate in hamsters. **J. Food Sci.** v. 73, n. 9, p. 235-240, 2008a.

FROTA, K. M. G.; SOARES, R. A. M.; ARÊAS, J. A. G. Composição química do feijão caupi (*Vigna unguiculata*. L. Walp), cultivar BRS-Milênio. **Ciênc. Tecnol. Alim.** v. 28, n. 2, p. 470-476, 2008b.

FUKUI, K.; TACHIBANA, N.; FUKUDA, Y.; TAKAMATSU, K.; SUGANO, M. Ethanol washing does not attenuate the hypocholesterolemic potential of soy protein. **Nutrition**, v. 20, p. 984-990, 2004.

FUSTER, V. 50th anniversary historical article. Acute coronary syndromes. The degree and morphology of coronary stenoses. **J Am Coll Cardiol**, v. 35 (supl. B): 52B-54B, 2000.

GANNON, M. C.; NUTTALL, F. Q. Control of blood glucose in type 2 diabetes without weight loss by modification of diet composition. **Nutr Metab (Lond)** v.3, n.16, p. 1-8, march, 2006.

GARDNER, C. D.; MESSINA, M.; KIAZAND, A.; MORRIS, J. L.; FRANKE, A. A. Effect of Two Types of Soy Milk and Dairy Milk on Plasma Lipids in Hypercholesterolemic Adults: A Randomized Trial. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 26, n. 6, p. 669-677, 2007.

GIAMPAOLI, S.; PALMIERI, L.; PANICO, S.; VANUZZO, D.; FERRARIO, M.; CHIODINI, P.; et al. Favorable cardiovascular risk profile (low risk) and 10-year stroke incidence in women and men: findings from 12 Italian population samples. **Am J Epidemiol**, v.163, p.893-902, 2006.

GOBERT, C. P.; PIPE, E. A.; CAPES, S. E.; DARLINGTON, G. A.; LAMPE, J. W.; DUNCAN, A. M. Soya protein does not affect glycaemic control in adults with type 2 diabetes. **British Journal of Nutrition**, v. 103, p. 412–421, 2010

GORDON, T.; CASTELLI, W. P.; HJORTLAND, M. C.; et al. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. The Framingham Study. **Am J Med**, v. 62, n. 5, p. 707-714, 1989.

GORINSTEIN, S.; DELGADO-LICON, E.; PAWELZIK, E.; PERMADY, H. H.; WEISZ, M.; TRAKHTENBERG, S. Characterization of Soluble Amaranth and Soybean Proteins Based on Fluorescence, Hydrophobicity, Electrophoresis, Amino Acid Analysis, Circular Dichroism, and Differential Scanning Calorimetry Measurements. **J. Agric. Food Chem.** v. 49, p. 5595-5601, 2001.

GREANY, K. A.; NETTLETON, J. A.; WANGEN, K. E.; THOMAS, W.; KURZER, M. S. Consumption of isoflavone-rich soy protein does not alter homocysteine or markers of inflammation in postmenopausal women. **European Journal of Clinical Nutrition**. v. 62, p. 1419–1425, 2008.

HARRISON, D. G.; GONGORA, M. C. Oxidative stress and hypertension. **Med Clin North Am**, v. 93, p. 621-635, 2009.

HERMANSEN, K.; SONDERGAARD, M.; HOIE, L.; et al. Beneficial effects of a soy-based dietary supplement on lipid levels and cardiovascular risk markers in type 2 diabetic subjects. **Diabetes Care**, v. 24, p.228–233, 2001.

HEYWARD, V. H.; STOLARCZYK, L. M. **Anthropometric method applied body composition assessment**. Champaign, IL: Human Kinetics; 1996.

HILPERT, K. F.; KRIS-ETHERON, P.; WEST, C. E. Lipid response to a low-fat diet with or without soy is modified by C-reactive protein status in moderately hypercholesterolemic adults. **J Nutr.**, v.135, p.1075–1079, 2005.

HORAX, R.; HETTIRACHCHY, N. S.; CHEN, P.; JALALUDDIN, M. Preparation and characterization of protein isolate from cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). **Food Chem. Toxicol.**, v. 69, n. 20, p. 114-118, 2004.

HULLEY, S. B.; CUMMINGS, S. R.; BROWNER, W. S.; GRADY, D.; HEARST, N.; NEWMAN, T. B. **Delineando a pesquisa clínica: uma abordagem epidemiológica**. Porto Alegre: Artmed, 2003. 374 p.

HUNT, B. J. The endothelium in atherogenesis. **Lúpus**, v. 9: p. 189-193, 2000.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Aquisição alimentar domiciliar per capita Brasil e grandes regiões, comunicação de 16 dez de 2010. Disponível em: http://www.ibge.com.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=1788&id_pagina=1. Acesso em: 28 jun. 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Rio de Janeiro: IBGE. v. 17, 2005; v. 18, 2006; v. 19, 2007; v. 20, 2008; v.21, 2009.

IQBAL, A.; KHALIL, I. A.; ATEEQ, N.; KHAN, M. S. Nutrition quality of important food legumes. **Food Chem.** v. 97, p. 331-335, 2006.

ISO, H. Lifestyle and cardiovascular disease in japan. **Journal of atherosclerosis and Thrombosis.** v. 18, n. 2, p. 83-88, 2011.

JAYAGOPAL, V.; ALBERTAZZI, P.; KILPATRICK, E. S.; et al. Beneficial effects of soy phytoestrogen intake in postmenopausal women with type 2 diabetes. **Diabetes Care**, v. 25, p. 1709–1714, 2002.

JENKINS DJ, KENDALL CW, JACKSON CJ, et al. Effects of high- and low-isoflavone soyfoods on blood lipids, oxidized LDL, homocysteine, and blood pressure in hyperlipidemic men and women. **Am J Clin Nutr.** v. 76, p. 365–372, 2002.

JENKINS, D. J.; KENDALL, C. W.; CONNELLY, P. W.; 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, p. 919-924, 2002.

KAPUR, N. K.; ASHEN, D.; BLUMENTHAL, R. S. High density lipoprotein cholesterol: an evolving target of therapy in the management of cardiovascular disease. **Vascular Health and Risk Management**, v. 4, n. 1, p. 39–57, 2008.

LAVIGNE, C.; MARETTE, A.; JACQUES, H. Cod and soy proteins compared with casein improve glucose tolerance and insulin sensitivity in rats. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 278, p. E491–E500, 2000.

LAYMAN, D. K.; CLIFTON, P.; GANNON, M. C.; et al. Protein in optimal health: heart disease and type 2 diabetes. **Am J Clin Nutr**, v. 87, p. 1571S–1575S, 2008.

LEWIS, G. F.; RADER, D. J. New insights into the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport. **Circ. Res.**, v. 96, p. 122-132, 2005.

LI, Z.; HONG, K.; SALTSMAN, P.; et al. Long-term efficacy of soy-based meal replacements vs an individualized diet plan in obese type II DM patients: relative effects on weight loss, metabolic parameters, and C-reactive protein. **Eur J Clin Nutr**, v. 59, p. 411–418, 2005

LIBBY, P.; RIDKER, P. M.; MASERI, A. Inflammation and Atherosclerosis. **Circulation**, v. 105, p. 1135-1143, 2002.

LIU, S.; MANSON, J. E.; BURING, J. E.; STAMPFER, M. J.; WILLETT, W. C.; RIDKER, P. M. Relation between a diet with a high glycemic load and plasma concentrations of high-sensitivity C-reactive protein in middle-aged women. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 75, p. 492-498, 2002.

LIU, Y.; DING, J.; BUSH, T.; et al. Relative androgen excess and increased cardiovascular risk after menopause: a hypothesized relation. **Am J Epidemiol**, v. 154, p. 489-494, 2001.

MACARULLA, M. T.; MEDINA, C.; DE DIEGO, M. A.; CHÁVARRI, M.; ZULET, M. A.; MARTÍNEZ, J. A.; NOEL-SUBERVILLE, C.; HIGUERET, P.; PORTILLO, M. P. Effects of whole seed and protein isolate of faba bean (*Vicia faba*) on the cholesterol metabolism of hipercholesterolaemic rats. **Br. J. Nutr.**, v. 85, p. 607-614, 2001.

MADAN, B.; PRASAD, A. K.; PARMAR, V. S.; GHOSH, B. 1,4-Dihydroxyxanthone modulates the adhesive property of endothelial cells by inhibiting intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) and E-selectin. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 12, p. 1431-1437, 2004.

MADANI, S.; PROST, J.; BELLEVILLE, J. Dietary protein level and origin (casein and highly purified soybean protein) affect hepatic storage, plasma lipid transport, and antioxidative defense status in the rat. **Nutrition**, v. 16, p. 368– 375, 2000.

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.**, v. 56, p. 350-358, 2007.

MAIA, F. M. M. **Composição e caracterização nutricional de três cultivares de *Vigna unguiculata* (L.) Walp: EPACE-10, Olho de ovelha e IPA-206.** 1996. 87p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Vegetal) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

MAIA, F. M. M.; OLIVEIRA, J. T. A.; MATOS, M. R. T.; MOREIRA, R. A.; VASCONCELOS, I. M. Proximate composition, amino acid content and haemagglutinating and trypsin-inhibiting activities of some Brazilian *Vigna unguiculata* (L.) Walp cultivars. **J. Sci. Food Agric.**, v. 80, p.453-458, 2000.

MAJOR, G. C.; ALARIE, F.; DORÉ, J.; PHOUTTAMA, S.; TREMBLAY, A. Supplementation with calcium 1 vitamin D enhances the beneficial effect of weight loss on plasma lipid and lipoprotein concentrations. **Am J Clin Nutr.** v. 85 p. 54–59, 2007.

MAKI, K. C.; BUTTEIGER, D. N.; RAINS, T. M.; LAWLESS, A.; REEVES, M. S.; SCHASTEEN, C.; KRUL, E. S. Effects of soy protein on lipoprotein lipids and fecal bile acid excretion in men and women with moderate hypercholesterolemia. **Journal of Clinical Lipidology**, v. 4, n. 6, p. 531-542, Nov, 2010.

MARCOVINA, S.; PACKARD, C. J. Measurement and meaning of apolipoprotein AI and apolipoprotein B plasma levels. **Journal of Internal Medicine**, v. 259, p. 437-446, 2006.

MARKOVIC, T. P.; JENKINS, A. B.; CAMPBELL, L. V.; et al. The determinants of glycemic responses to diet restriction and weight loss in obesity and NIDDM. **Diabetes Care**, v. 21, p. 687-694, 1998.

MASKARINEC, G.; STEUDE, J. S.; FRANKE, A. A.; COONEY, R. V. Inflammatory markers in a 2-year soy intervention among premenopausal women. **J Inflamm (Lond)**, v. 6, n. 9, p. p1-7, 2009.

MCVEIGH, B. L.; DILLINGHAM, B. L.; LAMPE, J. W.; DUNCAN, A. M. Effect of soy protein varying in isoflavone content on serum lipids in healthy young men. **Am J Clin Nutr**, v. 83, p. 244-251, 2006.

MENDONÇA, S. SALDIVA, P.H.; CRUZ, R.; ARÊAS, J. A. G. Amaranth protein presents cholesterol-lowering effect. **Food Chemistry**, v. 116, p. 738-742, 2009.

MEZZANO, D.; LEIGHTON, F.; MARTINEZ, C.; MARSHALL, G.; CUEVAS, A.; CASTILLO, O.; et al. Complementary effects of mediterranean diet and moderate red wine intake on haemostatic cardiovascular risk factors. **Eur. J. Clin. Nutr**, v. 55, n. 6, p. 444-451, 2001.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **A vigilância, o controle e a prevenção das doenças crônicas não-transmissíveis : DCNT no contexto do Sistema Único de Saúde brasileiro/Brasil**. 1 ed. Brasília : Organização Pan-Americana da Saúde, 2005. 80 p.

MUELLER, C.; MASRI, B.; HOGG, J.; MASTROGIACOMO, M.; CHIU, Y. L. Carbohydrate- vs fat-controlled diet effect on weight loss and coronary artery disease risk: a pilot feeding study. **Nutr Clin Pract**, v. 25, n. 5, p. 542-547, oct, 2010.

MULTIPLE RISK FACTOR INTERVENTION TRIAL. Risk factor changes and mortality results. Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group. **JAMA**, v. 248, p. 1465-1477, 1982.

NAGHAVI, M.; LIBBY, P.; FALK, E.; CASSCELLS, S. W.; LITOVOSKY, S.; RUMBERGER, J.; et al. From vulnerable plaque to vulnerable patient. A call for new definitions and risk assessment strategies: part I. **Circulation**, v. 108, p. 1664-1672, 2003.

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. **Am J Cardiol**, v. 102, p. 84-86, 2008.

NCEP. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program. Expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adults Treatment Panel III). **JAMA.**, v. 285, n.9 p. 2486-2497, 2001.

NETER, J.; KUTNER, M. H.; NACHTSHEIM, C. J.; WASSERMAN, W. **Applied Linear Statistical Models**. 4. ed. Illinois: Richard D. Irwing. 1408p, 1996.

NILSSON, J. Grown factors and the pathogenesis of atherosclerosis. **Atherosclerosis.**, v. 62, p. 185-199, 1986.

NORDENTOFT, I.; JEPPESEN, P. B.; HONG, J.; et al. Increased insulin sensitivity and changes in the expression profile of key insulin regulatory genes and beta cell transcription factors in diabetic KKAY-mice after feeding with a soy bean protein rich diet high in isoflavone content. **J Agric Food Chem**, v. 56, p. 4377–4385, 2008.

O'BREIN, K. D.; CHAIT, A. The biology of the artery wall in atherogenesis. **Med. Clin. North. Am.**, v. 78, p. 41-67, 1994.

PACKARD, C. J.; SHEPHERD, J. Lipoprotein heterogeneity and apolipoprotein B metabolism. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 17, p. 3542-3556, 1997.

PARADES-LOPEZ, O.; ORDORICA-FALOMIR, C. Production of safflower protein isolates: composition, yield and protein quality. **J. Sci. Food Agric.** v. 37, p. 1097-1103, 1986.

PASCERI, V.; CHANG, J.; WILLERSON, J. T.; YEH, E. T. H. Modulation of C-reactive protein-mediated monocyte chemoattractant protein-1 induction in human endothelial cells by anti-atherosclerosis drugs. **Circulation**, v. 103, p. 2531–2534, 2001.

PASCERI, V.; WILLERSON, J. T.; YEH, E. T. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. **Circulation**. v. 102, p. 2165–2168, 2000.

PERSICO, N.; MANCINI, F.; ARTINI, P.; et al. Transdermal HRT and Doppler findings in normotensive and hypertensive postmenopausal patients. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v. 26, p. 546-551, 2005.

PIPE, E. A.; GOBERT, C. P.; CAPES, S. E.; DARLINGTON, G. A.; LAMPE, J. W.; DUNCAN, A. M. Soy Protein Reduces Serum LDL Cholesterol and the LDL Cholesterol:HDL Cholesterol and Apolipoprotein B:Apolipoprotein A-I Ratios in Adults with Type 2 Diabetes. **J. Nutr.**, v. 139, p. 1700–1706, 2009.

PIRRO, M.; BERGERON, J.; DAGENAIS, G. R.; BERNARD, P. M.; CANTIN, B.; DESPRES, J. P.; et al. Age and duration of follow-up as modulators of the risk for ischemic heart disease associated with high plasma C-reactive protein levels in men. **Arch. Intern. Med.**, v. 161, n. 20, p. 2474-2480, 2001.

PISCHON, T.; GIRMAN, C. J.; SACKS, F. M.; RIFAI, N.; STAMPFER, M. J.; RIMM, E. B. Non-high density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein B in the prediction of coronary heart disease in men. **Circulation**, v. 112, p. 3375-3383, 2005.

PITTAWAY, J. K.; AHUJA, K. D. K.; CEHUN, M.; CHRONOPOULOS, A.; ROBERTSON, I. K.; NESTEL, P. J.; BALL, M. J. Dietary supplementation with chickpeas for at least 5 weeks results in small but significant reductions in serum total and low-density lipoprotein cholesterol in adults women and men. **Ann. Nutr. Metab.**, v. 50, p. 512-518, 2006.

PLATE, A. Y. A ; ARÊAS, J. A. G. Cholesterol-lowering effect of extruded amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) in hypercholesterolemic rabbits. **Food Chem.**, v. 76, n.1, p. 1-6, 2002.

POTTER, S. M. Overview of propose mechanism for the hypocholesterolemic effect of soy. **J. Nutr.**, v. 125, p. 606-611, 1995. Suplemento.

QUIN, F. M. Introduction. In: SING, BB.; MOHAN RAJ, DR.; DASHIEL, KE; JACKAI, LEN. (Editores). **Advances in cowpea research**. Ibadan: IITA-JIRCAS, 1997,. p. ix-xv.

RADCLIFFE, J. D.; CZAJKA-NARINS, D. M. Use of arginine to reduce theseverity of retinoid-induced hypertriglyceridemia. **Nutr Cancer**, v. 36, p. 200–206, 2000.

RAJKUMAR, C.; KINGWELL, B. A.; CAMERON, J. D.; et al. Hormonal therapy increases arterial compliance in postmenopausal women. **J Am Coll Cardiol**, v. 30, p. 350-356, 1997.

RANGEL, A.; SARAIVA, K.; SCHWENGBER, P.; NARCISO, M. S.; DOMONT, G. B.; FERREIRA S. T.; PEDROSA, C. Biological evaluation of a protein isolate from cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds. **Food Chem.**, v., 87, p. 491-499, 2004.

REGISTER, T.; CANN, J.; KAPLAN, J.; WILLIAMS, J.; ADAMS, M.; MORGAN, T. et al. Effects of soy isoflavones and conjugated equine estrogens on inflammatory markers in atherosclerotic, ovariectomized monkeys. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 90, p.1734–1740, 2005.

REGNSTROM, J.; NILSSON, J. Lipid oxidation and inflammation induced intimal fibrosis in coronary heart disease. **J. Lab. Clin. Med.**, v. 124, p. 162-168, 1994.

REGSTROM, J.; TORVALL, P.; NILSSON, J.; LANDOU, C.; HAMSTEN, A. Susceptibility to low density lipoprotein oxidation and coronary atherosclerosis in man. **Lancet**, v. 339, p. 1183-1186, 1992.

REID, I. R. Effects of calcium supplementation on circulating lipids: potential pharmacoeconomic implications. **Drugs Aging**, v. 21, p. 7–17, 2004.

REID, I. R.; AMES, R.; MASON, B.; et al. Effects of calcium supplementation on lipids, blood pressure, and body composition in healthy older men: a randomized controlled trial. **Am J Clin Nutr**, v. 91, p. 131–139, 2010.

REYNOLDS, K.; CHIN, A.; LEES, K. A.; NGUYEN, A.; BUJNOWSKI, D.; HE, J. A meta-analysis of the effect of soy protein supplementation on serum lipids. **Am. J. Cardiol.**, v. 98, p. 633-640, 2006.

RIDKER, P. M.; CUSHMAN, M.; STAMPFER, M. J.; TRACY, R. P.; HENNEKENS, C. H. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. **N. Engl. J. Med.**, v. 336, p. 973-979, 1997.

RIDKER, P. M.; GLYNN, R. J.; HENNEKENS, C. H. C-reactive protein adds to the predictive value of total and HDL cholesterol in determining risk of first myocardial infarction. **Circulation**, v. 97, p. 2007-2011, 1998.

RIDKER, P. M.; RIFAI, N.; ROSE, L.; BURING, J. E.; COOK, N. R. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. **New Engl. J. Med.**, v. 347, n. 20, p. 1557-1565, 2002.

RIFAI, N.; BACHORIK, P. S.; ALBERTS, J. J. **Lipids, lipoproteins, and apolipoproteins**. In: BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R. (eds). Tietz - textbook of clinical chemistry. 3rd ed. Philadelphia: Saunders, p. 809-861, 1999.

RISTIC, M. D.; RISTIC, V.; ARSIC, A.; et al. Effects of soybean D-LeciVita product on serum lipids and fatty acid composition in type 2 diabetic patients with hyperlipidemia. **Nutr Metab Cardiovasc Dis**, v. 16, p. 395–404, 2006.

ROBINSON, J. G.; SMITH, B.; MAHESHWARI, N.; SCHROTT, H. Pleiotropic effects of statins: benefit beyond cholesterol reduction? A meta-regression analysis. **J Am Coll Cardiol**, v.46, p. 1855–1862, 2005.

ROBINSON, J. G.; WANG, S.; SMITH, B. J.; JACOBSON, T. A. Meta-Analysis of the Relationship Between Non-High-Density Lipoprotein Cholesterol Reduction and Coronary Heart Disease Risk. **J. Am. Coll. Cardiol.** v. 53, p. 316-322, 2009.

ROSA, C. O. B.; COSTA, N. M. B.; LEAL, P. F. G.; OLIVEIRA, T. T. Efeito do Feijão Preto (*Phaseolus vulgaris*, L.) sem casca na redução do colesterol sanguíneo de ratos hipercolesterolêmicos. **Arch. Latin. Nutr.**, v. 48, n. 4, p. 299-305, 1998.

ROSAMOND, W.; FLEGAL, K.; FRIDAY, G.; FURIE, K.; GO, A.; GREENLUND, K., et al. American Heart Association Statistics Committee and stroke statistics subcommittee. Heart disease and stroke statistics -2007 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics subcommittee. **Circulation**. v. 115, n. 5, p. e69-e171, 2007.

ROSS, R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. **Nature**, v.362, p. 801-809, 1993.

ROSS, R.; GLONSET, J. A. The pathogenesis of atherosclerosis. **N. Engl. J. Med.**, v. 295, p. 369-377, 1983.

RYE, K. A.; CLAY, M. A.; BARTER, P. J. Remodelling of high density lipoproteins by plasma factors. **Atherosclerosis**, v. 145, p. 227-238, 1999.

SACKS, F. M.; LICHTENSTEIN, A.; VAN HORN, L.; HARRIS, W.; KRIS-ETHERTON, P.; WINSTON, M. Soy protein, isoflavones, and cardiovascular health. An American Heart Association Science Advisory for Professionals from the Nutrition Committee. **Circulation.**, v. 113, p. 1034-1044, 2006.

SANCHEZ, A.; RUBANO, D. A.; SHAVLIK, G. W.; HUBBARD, R. W.; HORNING, M. C. Cholesterolemic effects of the lysine/arginine ratio in rabbits after initial early growth. **Arch Latinoam Nutr**, v. 38, p. 229-238, 1988.

SARR, B.; DIOUF, O.; DIOUF, M.; ROY-MACAULEY, H.; BROU, C. Agronomic drought tolerance indicators in three cowpea varieties cultivated in Senegal and Niger. **Secheresse.**, v. 12, p. 259-266, 2001.

SAS INSTITUTE (Cary. NC). SAS/STAT: user`s guide, version 8.1. Cary 2000: v-1 943p.

SATHE, S. K.; HAMAKER, B. R.; SZE-TAO, K. W. C.; VENKATACHALAM, M. Isolation, purification, and biochemical characterization of a novel water soluble protein from Inca peanut (*Plukenetia volubilis* L.). **J Agric Food Chem.** v. 50, p. 4896-4906, 2002.

SHAHBAZIAN, H.; REZA, A.; JAVAD, S.; et al. Beneficial effects of soy protein isoflavones on lipid and blood glucose concentrations in type 2 diabetic subjects. **Saudi Med J**, v. 28, p. 652-654, 2007.

SINGER, J. M.; ANDRADE, D. F. . Analysis of longitudinal data. In Handbook of Statistics. Volume 18: **Bio-Environmental and Public Health Statistics**. eds. SEN, P. K.; RAO, C. R. Amsterdam: North Holland. 115-160, 2000.

SMITH Jr, S. C.; JACKSON, R.; PEARSON, T. A.; FUSTER, V.; YUSUF, S.; FAERGEMAN, O.; WOOD, D. A.; ALDERMAN, M.; HORGAN, J.; HOME, P.; HUNN, M.; GRUNDY, S. M. Principles for national and regional guidelines on cardiovascular disease prevention: a scientific statement from the World Heart and Stroke Forum. **Circulation.**, v. 1109, p. 3112-3121, 2004.

SNIDERMAN, A. D.; JUNGNER, I.; HOLME, I.; AASTVEIT, A.; WALLDIUS, G. Errors that result from the TC/HDL C ratio rather than the apoB/apoA-I ratio to identify the lipoprotein-related risk of vascular disease. **J Intern Med.**, v. 259, p. 455-461, 2006.

SPACKMAN, D. C.; STEIN, W. H.; MOORE, S. Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. **Anal. Biochem.**, v. 30, p. 1190-1206, 1958.

SPIES, J. R. Determination of tryptophan in protein. **Anal. Chem.**, v. 39, n. 9, p. 1412-1415, 1967.

SPOSITO, A. C.; CARAMELLI, B.; FONSECA, F. A. H.; BERTOLAMI, M. C.; et al. IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 88, n. 1, p. 2-19, 2007.

STEIN, E. Clinical significance and measurements of apolipoproteins AI and B. In: RIFAI, N.; WARNICK, G.; eds. **Laboratory measurement of lipids, lipoproteins and apolipoproteins**. Washington, DC: AACC Press. p.141-154, 1994.

STEINBERG, F.; GUTHRIE, N.; VILLABLANCA, A. C.; KUMAR, K.; MURRAY, M. Soy protein with isoflavones has favorable effects on endothelial function that are independent of lipid and antioxidant effects in healthy postmenopausal women. **Am J Clin Nutr**, v. 78, p. 123-130, 2003.

TANIYAMA, Y.; GRIENDLING, K. K. Reactive oxygen species in the vasculature: molecular and cellular mechanisms. **Hypertension**, v.42, p.1075-1081, 2003.

TEIXEIRA, S. R.; POTTER, S. M.; WEIGEL, R.; HANNUM, S.; ERDMAN Jr, J. W.; HASLER, C. M. Effects of feeding 4 levels of soy protein for 3 and 6 wk on blood lipids and apolipoproteins in moderately hypercholesterolemic men. **Am J Clin Nutr**, v. 71, p. 1077-1084, 2000.

TEOMAN, N; OZCAN, A.; ACAR, B. The effect of exercise on physical fitness and quality of life in postmenopausal women. **Maturitas**, v. 47, n.1, p. 71-77, 2004.

THOM, T.; HAASE, N.; ROSAMOND, W.; HOWARD, V. J.; RUMSFELD, J.; MANOLIO, T.; et al. Heart disease and stroke statistics 2006 update: a report from the American heart association statistics committee and stroke statistics subcommittee. **Circulation**.v.113, p.85-151, 2006.

TONSTAD, S.; SMERUD, K.; HØIE, L. A comparison of the effects of 2 doses of soy protein or casein on serum lipids, serum lipoproteins, and plasma total homocysteine in hypercholesterolemic subjects. **Am J Clin Nutr**, v. 76, p. 78-84, 2002.

TORRES, N.; TORRES-VILLALVAZO, I.; TOVAR, A. R. Regulation of lipid metabolism by soy protein and its implication in diseases mediated by lipid disorders. **J. Nutrit. Biochem.**, v. 17, p. 365-373, 2006.

TORZEWSKI, M.; RIST, C.; MORTENSEN, R. F.; ZWAKA, T. P.; BIENEK, M.; WALTENBERGER, J.; KOENIG, W.; SCHMITZ, G.; HOMBACH, V.; TORZEWSKI, J. C-reactive protein in the arterial intima: role of C-reactive protein receptor-dependent monocyte recruitment in atherogenesis. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 20, p. 2094-2099, 2000.

TOVAR, A. R.; TORRE-VILLALVAZO, I.; OCHOA, M.; ELÍAS, A. L.; ORTÍZ, V.; AGUILAR-SALINAS, C. A.; TORRES, N. Soy protein reduces hepatic lipotoxicity in hyperinsulinemic obese Zucker fa/fa rats. **J. Lipid Res.**, v. 46, p. 1823–1832, 2005.

TSAI, A. C.; VINIK, A. I.; LASICHAK, A.; et al. Effects of soy polysaccharide on postprandial plasma glucose, insulin, glucagon, pancreatic polypeptide, somatostatin, and triglyceride in obese diabetic patients. **Am J Clin Nutr**, v. 45, p. 596–601, 1987.

UNIFESP. Programa de Apoio a Nutrição – NutWin [software]. Departamento de Informática em Saúde. Universidade Federal de São Paulo; 2005.

VAN DE VIJVER, L. P.; KARDINALL, A. F.; VAN DUYVENVOORDE, W.; KRUIJSSEN, D. A.; GROBBEE, D. E.; VAN POPPEL, G.; PRINCE, H. M. Oxidation of LDL and extent of peripheral atherosclerosis. **Free Radic Res.**, v. 31, n. 2, p. 129-139, 1999.

VAN LENNEP, J. E.; WESTERVELD, H. T.; VAN LENNEP, H. W.; ZWINDERMAN, A. H.; ERKELENS, D. W.; VAN DER WALL, E. E. Apolipoprotein concentrations during treatment and recurrent coronary artery disease events. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.**, v. 20, p. 2408-2413, 2000.

VELOSO, R. V.; LATORRACA, M. Q.; ARANTES, V. C.; et al. Soybean diet improves insulin secretion through activation of cAMP/PKA pathway in rats. **J Nutr Biochem**, v. 19, p. 778–784, 2008.

VOLPATO, S.; GURALNIK, J. M.; FERRUCCI, L.; BALFOUR, J.; CHAVES, P.; FRIED, L. P.; et al. Cardiovascular disease, interleukin-6, and risk of mortality in older women: the women's health and aging study. **Circulation**, v. 103, p. 947-953, 2001.

WAGNER, J. D.; CEFALU, W. T.; ANTHONY, M. S.; et al. (1997) Dietary soy protein and estrogen replacement therapy improve cardio-vascular risk factors and decrease aortic cholesteryl ester content in ovariectomized cynomolgus monkeys. **Metabolism**, v. 46, p. 698–705, 1997.

WALLDIUS, G.; JUNGNER, I. Apolipoprotein B and apolipoprotein A-I: risk indicators of coronary heart disease and targets for lipid-modifying therapy. **J Intern Med.**, v. 255, p. 188-205, 2004.

WALLDIUS, G.; JUNGNER, I. Rationale for using apolipoprotein B and apolipoprotein A-I as indicators of cardiac risk and as targets for lipid lowering therapy. **Eur Heart J.**, v. 26, p. 210-212, 2005.

WALLDIUS, G.; JUNGNER, I.; AASTVEIT, A. H.; HOLME, I.; FURBERG, C. D.; SNIDERMAN, A. D. The apoB/apoA-I ratio is better than cholesterol ratios to estimate the balance between plasma proatherogenic and antiatherogenic lipoproteins and to predict coronary risk. **Clin Chem Lab Med.**, v. 42, p. 1355-1363, 2004.

WALLDIUS, G.; JUNGNER, I.; HOLME, I.; AASTVEIT, A. H.; KOLAR, W.; STEINER, E. High apolipoprotein B, low apolipoprotein A-I, and improvement in the prediction of fatal myocardial infarction (AMORIS study): a prospective study. **Lancet**, v. 358, p. 2026-2033, 2001.

WATT, B.; MERRILL, A. L. **Composition of foods: raw, processed, prepared**. Washington DC: Consumer and Food Economics Research. Division/Agricultural Service, 1963. (Agriculture Handbook, 8).

WEST, S. G.; HILPERT K. F.; JUTURU, V.; BORDI, P. L.; LAMPE, J. W.; MOUSA, S. A. et al. Effects of including soy protein in a blood cholesterol lowering diet on markers on cardiac risk in men and in postmenopausal women with and without hormone replacement therapy. **J Womens Health**, v. 14, p. 253–262, 2005.

WILSON, P. W.; D'AGOSTINO, R. B.; LEVY, D.; BELANGER, A. M.; SILBERSCHATZ, H.; KANNEL, W. B. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. **Circulation**, v. 97, p. 1837-1847, 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Cardiovascular disease: prevention and control. **Global Strategy on Diet, Physical Activity and Health**. Disponível em: <http://www.who.int/dietphysicalactivity/publications/facts/cvd/en/>. Acesso em: 01 fev. 2007.

YU-POTH, S.; ZHAO, G.; ETHEERTON, T.; et al. Effects of the National Cholesterol Education Program's Step I and Step II dietary intervention programs on cardiovascular disease risk factors: a meta-analysis. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 69, p. 632-646, 1999.

YUSUF, S.; HAWKEN, S.; ÖUNPUU, S.; DANS, T.; AVEZUM, A.; LANAS, F.; et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. **Lancet**, v. 364, p. 937-952, 2004.

ZHAN, S.; HO, S. C. Meta-analysis of the effects of soy protein containing isoflavones on the lipid profile. **Am J Clin Nutr**, v. 81, p. 397–408, 2005.

ZHANG, H.; PARK, Y.; WU, J.; CHEN, X.; LEE, S.; YANG, J.; et al. Role of TNFalpha in vascular dysfunction. **Clin Sci**, Lond, v. 116, p. 219-230, 2009.

ZWAKA, T. P.; HOMBACH, V.; TORZEWSKI, J. C-reactive protein-mediated low density lipoprotein uptake by macrophages: implications for atherosclerosis. **Circulation**, v. 103, p. 1194–1197, 2001.

ANEXOS

ANEXO A-1: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE SAÚDE PÚBLICA**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do projeto: Efeito da proteína isolada de feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) nos marcadores de risco para doença cardiovascular em pacientes hipercolesterolêmicos.

Pesquisador responsável: Karoline de Macêdo Gonçalves Frota

Instituição/Departamento: Universidade Federal do Piauí/Nutrição

Telefone para contato (inclusive a cobrar): (86) 9404-3330, (86) 9930-9303, (86) 3231-9880

Pesquisadores participantes: José Alfredo Gomes Arêas (Orientador), Raul Dias dos Santos Filho (Co-orientador), Ione Maria Ribeiro Soares Lopes (Ginecologista - HGV), Dr. Maurício Batista Paes Landim (Cardiologista – HGV).

Telefones para contato: (11) 3061-7765 (Faculdade de Saúde Pública); (11) 3069-5320 (Incor – FMUSP); (86) 3221-3040 (Hospital Getúlio Vargas)

Você está sendo convidado (a) para participar, como voluntário, em uma pesquisa. Você precisa decidir se quer participar ou não. Por favor, não se apresse em tomar a decisão. Leia cuidadosamente o que se segue e pergunte ao responsável pelo estudo qualquer dúvida que você tiver. Após ser **esclarecido(a)** sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa você não será penalizado(a) de forma alguma.

1. **Justificativa:** O Sr(a) é portador de hipercolesterolemia, ou seja, uma alteração nas gorduras do sangue (triacilgliceróis, LDL-colesterol, Colesterol Total e HDL-colesterol). Uma das maneiras de se controlar as alterações das gorduras do sangue é pelo consumo de certos alimentos. O consumo de proteína de soja (25g) têm sido recomendado para se

melhorar as gorduras do sangue. Contudo até o momento não foram avaliados, em humanos, os efeitos da proteína do feijão caupi, leguminosa amplamente consumida no Norte e Nordeste brasileiro, sobre gordura do sangue de pessoas com hipercolesterolemia. Desta forma este estudo é necessário para a verificação da influência desta proteína, sob a forma de produto comercial (*shake*), em pacientes hipercolesterolêmicos. Melhorias nos fatores de risco para doença cardiovascular nestes pacientes, através de mudanças na dieta, podem diminuir o risco de doença cardiovascular (infarto do miocárdio, derrame etc) e conseqüentemente melhorar sua qualidade de vida, além de ser vantajosa pelo baixo custo tanto para o paciente quanto para o Estado. **Objetivo:** Investigar a influência da proteína isolada de feijão caupi comparada à caseína sobre as gorduras do sangue (colesterol total, HDL-c, LDL-c) e outros marcadores bioquímicos de risco para doença cardiovascular, em pacientes hipercolesterolêmicos.

2. **Procedimentos:** Nesse estudo o(a) Sr(a) deverá consumir 2 produtos (*shake* com proteína isolada de caupi (grupo experimental) ou com caseína (grupo placebo), sabor morango e vitaminas inicialmente por 6 semanas e o outro, por mais 6 semanas, a ser sorteado. Entre o consumo do primeiro e do segundo produto o(a) Sr(a) passará um período 4 semanas sem consumir produto algum. Os alimentos serão fornecidos pela pesquisadora. Antes disso o(a) Sr(a) será requisitado para a coleta de 20 ml de sangue após período de jejum de 12 horas, seguindo todos os padrões higiênico-sanitários como usualmente feito no HGV, para causar o menor desconforto possível ao senhor(a). Após estas primeiras 6 semanas, que chamamos de fase 1, o Sr (a) será novamente requisitado(a) para a coleta de sangue e a Sr(a) ficará 4 semanas sem receber os *shakes*. Será então colhido sangue no início e final desta nova fase (ou fase 2). Com isso pretendemos verificar os efeitos dos produtos no sangue dos pacientes.

Além disso, medidas como peso, altura e circunferência da cintura serão colhidas no início do experimento e o peso será novamente avaliado ao final de cada período experimental.

3. **Desconfortos e riscos:** Os riscos para este experimento são mínimos, já que será utilizado um produto alimentar (*shake*), contendo proteína na concentração de 10g/100mL oriunda de uma leguminosa (feijão caupi ou feijão de corda) normalmente consumido pela população do Nordeste brasileiro. Para produção do isolado proteico de caupi será utilizada metodologia semelhante a utilizada pela Bunge Alimentos (Brasil) na produção de isolado protéico de

soja. A coleta de sangue será efetuada por profissionais treinados, que seguirão os procedimentos higiênicos sanitários estipulados para este fim, para minimizar desconfortos e riscos. Contudo, pequenos hematomas e dor no local da picada da agulha podem ocorrer. Você será solicitado a se apresentar 6 vezes durante 4 meses, sendo 1 vez por mês, em local previamente marcado no horário do expediente para coleta de sangue ou para entrega do *shake*.

4. Benefícios: Somente no final desse estudo poderemos concluir se a proteína isolada de feijão caupi tem efeito benéfico sobre os diversos marcadores de risco cardiovascular estudados. Assim, pode-se-á estimular a produção de alimentos que incorpore tal proteína, bem como o consumo da própria leguminosa integral, visando não só a obtenção de uma dieta balanceada, mas um benefício adicional à saúde.

5. Procedimentos alternativos: Caso os pacientes que receberem um dos produtos apresentarem piora nos quadros de dislipidemia, o procedimento alternativo será indicação, por médicos da Clínica Ginecológica ou da Clínica cardiológica do HGV, de tratamento medicamentoso.

6. Garantia de acesso: os pacientes terão acesso, a qualquer tempo, às informações sobre os procedimentos que estão ou serão realizados, assim como os riscos e benefícios do consumo correto dos produtos e da coleta de sangue. Todas as dúvidas serão sanadas, em todas as ocasiões que surgirem.

7. Garantia de sigilo: Se você concordar em participar do estudo, seu nome e identidade, assim como resultados confidenciais serão mantidos em sigilo. A menos que requerido por lei ou por sua solicitação, somente o pesquisador, a equipe do estudo, representantes do patrocinador (quando presente), Comitê de Ética independente e inspetores de agências regulamentadoras do governo (quando necessário) terão acesso a suas informações para verificar as informações do estudo).

8. Esclarecimento do período de participação, término, direito de retirar o consentimento: cada paciente receberá por 6 semanas um produto controle e por mais 6 semanas um produto intervenção. Entre cada período o paciente ficará de 3 a 4 semanas sem receber produto algum. O paciente pode, a qualquer momento, retirar seu consentimento,

deixando assim de participar da pesquisa. Esta decisão não trará nenhum prejuízo ao paciente ou a continuidade na sua assistência. Em caso de eventuais danos à saúde, decorrentes da pesquisa, haverá assistência disponível no Hospital Getúlio Vargas.

Consentimento da participação da pessoa como sujeito

Eu, _____, RG/ CPF/ n.º de prontuário/ n.º de matrícula _____, abaixo assinado, concordo em participar do estudo _____, como sujeito. Fui suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo **“Efeito da proteína isolada de feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) nos marcadores de risco para doença cardiovascular em pacientes hipercolesterolêmicos”**. Eu discuti com a Dra. Karoline de Macêdo Gonçalves Frota sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu acompanhamento/ assistência/tratamento neste Serviço.

Local e data _____

Nome e Assinatura do sujeito ou responsável: _____

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e aceite do sujeito em participar

Testemunhas (não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome: _____

—

RG: _____ Assinatura:

Nome: _____

RG: _____

Assinatura:

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste sujeito de pesquisa ou representante legal para a participação neste estudo.

Teresina, ____ de _____ de _____.

Assinatura do pesquisador responsável

Observações complementares

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato:
Comitê de Ética em Pesquisa – UFPI - Campus Universitário Ministro Petrônio Portella -
Bairro Ininga
Centro de Convivência L09 e 10 - CEP: 64.049-550 - Teresina - PI
tel.: (86) 3215-5734 - email: cep.ufpi@ufpi.br web: www.ufpi.br/cep

**ANEXO A-2: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido aprovado pelo
Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Getúlio Vargas**

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE SAÚDE PÚBLICA**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU
RESPONSÁVEL LEGAL**

1. NOME DO PACIENTE :.....
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M ☐ F ☐
☐
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO Nº AP:
BAIRRO: CIDADE
CEP:.....TELEFONE: DDD (.....)
2. RESPONSÁVEL LEGAL
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
DOCUMENTO DE IDENTIDADE :.....SEXO: M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO.:/...../.....
ENDEREÇO: Nº
..... APTO:
BAIRRO: CIDADE:
CEP:
TELEFONE: DDD (.....).....

II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: **Efeito da proteína isolada de feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) nos marcadores de risco cardiovascular em pacientes hipercolesterolêmicos**

PESQUISADOR: **Karoline de Macêdo Gonçalves Frota**

CARGO/FUNÇÃO: **Doutoranda da FSP/USP - Nutricionista.** INSCRIÇÃO
CONSELHO REGIONAL Nº **7476**

UNIDADE DO HOSPITAL DE ENSINO E PESQUISA: **Clínica
Ginecológica/Clínica Cardiológica**

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

SEM RISCO ☐ RISCO MÍNIMO **X** RISCO MÉDIO
☐
RISCO BAIXO ☐ RISCO MAIOR ☐

(probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : **12 meses**

III - REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA, CONSIGNANDO:

1. justificativa e os objetivos da pesquisa ;
2. procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais;
3. desconfortos e riscos esperados;
4. benefícios que poderão ser obtidos;
5. procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo.

1. **Justificativa:** O Sr(a) é portador de hipercolesterolemia, ou seja, uma alteração nas gorduras do sangue (triacilgliceróis, LDL-colesterol, Colesterol Total e HDL-colesterol). Uma das maneiras de se controlar as alterações das gorduras do sangue é pelo consumo de certos alimentos. O consumo de proteína de soja (25g) têm sido recomendado para se melhorar as gorduras do sangue. Contudo até o momento não foram avaliados, em humanos, os efeitos da proteína do feijão caupi, leguminosa amplamente consumida no Norte e Nordeste brasileiro, sobre lipídeos do sangue de pessoas com hipercolesterolemia. Desta forma este estudo é necessário para a verificação da influência desta proteína, sob a forma de produto comercial (*shake*), em pacientes hipercolesterolêmicos. Melhorias nos fatores de risco para doença cardiovascular nestes pacientes, através de mudanças na dieta, podem diminuir o risco de doença cardiovascular e conseqüentemente melhorar sua qualidade de vida, além de ser vantajosa pelo baixo custo tanto para o paciente quanto para o Estado.

Objetivo: Investigar a influência da proteína isolada de feijão caupi comparada à caseína sobre as gorduras do sangue (colesterol total, HDL-c, LDL-c) e marcadores bioquímicos de risco para doença cardiovascular, em pacientes hipercolesterolêmicos.

2. **Procedimentos:** Nesse estudo o Sr(a) deverá consumir 2 produtos (*shake* com proteína isolada de caupi ou com caseína, sabor vitaminas ou morango) inicialmente por 6 semanas e o outro, por mais 6 semanas, a ser sorteado. Entre o consumo do primeiro e do segundo produto o Sr(a) passará um período 4 semanas sem consumir produto algum. Os alimentos serão fornecidos pela pesquisadora. Antes disso, será colhido 20 ml de sangue após período de jejum de 12 horas, seguindo todos os padrões higiênico-sanitários como usualmente feito no Hospital de Referência da Rede Pública do Piauí de Alta Complexidade, para causar o menor desconforto possível ao senhor(a). Após estas primeiras 6 semanas, que chamamos de fase 1, será colhido sangue novamente e a Sr(a) ficará 4 semanas sem receber os *shakes*. Será então colhido sangue no início e final desta nova fase (ou fase 2). Com isso pretendemos verificar os efeitos dos produtos no sangue dos pacientes.

3. **Desconfortos e riscos:** Os riscos para este experimento são mínimos, já que será utilizado um produto alimentar (*shake*), contendo proteína na concentração de 10g/100mL oriunda de uma leguminosa (feijão caupi ou feijão de corda) normalmente consumido pela população do Nordeste brasileiro. Para produção do isolado proteico de caupi será utilizada metodologia semelhante à utilizada pela Bunge Alimentos (Brasil) na produção de isolado proteico de soja. A coleta de sangue será efetuada por profissionais treinados, que seguirão os procedimentos higiênicos sanitários estipulados para este fim, para minimizar desconfortos e riscos. Contudo, pequenos hematomas e dor podem ocorrer no local da punção.

4. **Benefícios:** Com este estudo poderá concluir se a proteína isolada de feijão caupi tem efeito benéfico sobre os diversos marcadores de risco cardiovascular estudados. Assim, pode-se-á estimular a produção de alimentos que incorpore tal proteína, bem como o consumo da própria leguminosa integral, visando não só a obtenção de uma dieta balanceada, mas um benefício adicional à saúde.

5. **Procedimentos alternativos:** Caso os pacientes que receberem um dos produtos apresentarem piora nos quadros de dislipidemia, o procedimento alternativo será indicação, por médicos da Clínica Ginecológica ou Clínica Cardiológica do Hospital de Referência da Rede Pública do Piauí de Alta Complexidade, de tratamento medicamentoso.

IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA:

1. acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para dirimir eventuais dúvidas.
2. liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência.
3. salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade.
4. disponibilidade de assistência no Hospital de Ensino e Pesquisa de Teresina-PI, por eventuais danos à saúde, decorrentes da pesquisa.

1. Os pacientes terão acesso, a qualquer tempo, às informações sobre os procedimentos que estão ou serão realizados, assim como os riscos e benefícios do consumo correto dos produtos e da coleta de sangue. Todas as dúvidas serão sanadas, em todas as ocasiões que surgirem.
2. O paciente pode, a qualquer momento, retirar seu consentimento, deixando assim de participar da pesquisa. Esta decisão não trará nenhum prejuízo ao paciente ou a continuidade na sua assistência.
3. Os pesquisadores se comprometem em manter sigilo sobre identidade do paciente, assim como os resultados confidenciais, mantendo a privacidade dos mesmos.
4. Em caso de eventuais danos à saúde, decorrentes da pesquisa, haverá assistência disponível no Hospital de Referência da Rede Pública do Piauí de Alta Complexidade.

V. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.

Pesquisadora gerente/executante: Karoline de Macêdo Gonçalves Frota

Tel: 86-32319880 ou 86-94043330 ou (86)99309303

VI. OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:

VII - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa

Teresina, ____ de _____ de ____ .

Assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

Assinatura do pesquisador (carimbo ou nome legível)

ANEXO B-1: Carta de Aprovação pela Comissão Científica do Instituto do Coração.

Mem. CC. 1492

São Paulo, 18 de outubro de 2007.

À
Prof. Dr. Raul Dias dos Santos Filho

A Comissão Científica do Instituto do Coração, **APROVOU** na sessão 524/07/16 de 18.10.2007, o Protocolo de Pesquisa SDC 3059/07/134 **"Efeito da Proteína Isolada de Feijão Caupi (Vigna Unguiculata L. Walp) nos Marcadores de Risco para Doença cardiovascular em Pacientes Hipercolesterolêmicos"**.

Aguardar aprovação da CAPPesq e do financiamento para iniciar o estudo. Solicitamos nos enviar cópia da aprovação dos recursos solicitados à agência de fomento, assim que possível. Caso o financiamento não seja aprovado ou não tenhamos recebido a carta de aprovação após o prazo de 120 dias, o pesquisador será convocado pela Comissão Científica para justificar-se.

Atenciosamente,

Selma C. Quaila Fortunato
Secretária da Comissão Científica
InCor - HC.FMUSP

Obs.: Lembramos que de acordo com a Res. 196 de 10/10/96, incisos IX.1 e 2, a responsabilidade do pesquisador é indelegável, indeclinável e compreende os aspectos éticos e legais e cabe ao pesquisador apresentar o protocolo, devidamente instruído ao CEP, aguardando o pronunciamento deste, antes de iniciar a pesquisa.

ANEXO B-2: Carta de Aprovação pela Comissão de Ética para Análise de Projeto de Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina.

APROVAÇÃO

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 14/11/2007, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **1037/07**, intitulado: **"EFEITO DA PROTEÍNA ISOLADA DE FEIJÃO CAUPI (VIGNA UNGUICULATA L. WALP) NOS MARCADORES DE RISCO PARA DOENÇA CARDIOVASCULAR EM PACIENTES HIPERCOLESTEROLÊMICOS"** apresentado pela **COMISSÃO CIENTÍFICA DO INCOR**, inclusive o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10/10/1996, inciso IX.2, letra "c").

Pesquisadores Responsáveis: **Dr. Raul Dias dos Santos Filho, Dr. José Alfredo Gomes Arêas**

Pesquisador (a) Executante: **Karoline de Macêdo Gonçalves Frota**

CAPPesq, 21 de Novembro de 2007

**Prof. Dr. Eduardo Massad
Presidente da Comissão
de Ética para Análise de
Projetos de Pesquisa**

Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do HCFMUSP e da FMUSP Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo Rua Ovídio Pires de Campos, 255, 5º andar - CEP 05403 010 - São Paulo - SP Fone: 011 3069

6442 Fax: 011 3069 6492 e-mail: cappesq@hcnet.usp.br / secretariacappesq2@hcnet.usp.br-sol

ANEXO B-3: Carta de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí

MINISTÉRIO DA SAÚDE Conselho Nacional de Saúde Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)	UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação Comitê de Ética em Pesquisa - CEP-UFPI REGISTRO CONEP: 045
--	--

CARTA DE APROVAÇÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa – UFPI, reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – (CONEP/MS) analisou o protocolo de pesquisa:

Título: Efeito da proteína isolada de feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) nos marcadores de risco para doença cardiovascular em pacientes hipercolesterolêmicos
CAAE (Certificado de Apresentação para Apreciação Ética): 0206.0.045.000-09
Pesquisador Responsável: Karoline de Macedo Gonçalves Frota

Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos e metodológicos de acordo com as Diretrizes estabelecidas na Resolução 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde. Toda e qualquer alteração do Projeto, assim como os eventos adversos graves, deverão ser comunicados imediatamente a este Comitê. O pesquisador deve apresentar ao CEP:

Dezembro/2010	Relatório parcial
Julho/2011	Relatório final

Os membros do CEP-UFPI não participaram do processo de avaliação dos projetos onde constam como pesquisadores.

DATA DA APROVAÇÃO: 06/1/2010

Teresina, 06 de janeiro de 2010.

Prof. Dr. Carlos Ernando da Silva
Comitê de Ética em Pesquisa – UFPI
COORDENADOR

Comitê de Ética em Pesquisa - UFPI - Campus Universitário Ministro Petrônio Portella - Centro de Convivência L09 e 10
Bairro Ininga - 64.049-550 - Teresina - PI Tel: 0 xx 86 3215-5734 – email: cep.ufpi@ufpi.br – web: www.ufpi.br/cep

**ANEXO B-4: Carta de Aprovação da Comissão de Ética em Pesquisa do
Hospital Getúlio Vargas**

---	--	---

COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA

CARTA DE APROVAÇÃO

A Comissão de Ética em Pesquisa do Hospital Getúlio Vargas, analisou o projeto de pesquisa protocolo nº 4907/09.

Título – EFEITO DA PROTEÍNA ISOLADA DE FEIJÃO CAUPI (VIGNA UNGUICULATA L. WALP) NOS MARCADORES DE RISCO PARA DOENÇA CARDIOVASCULAR EM PACIENTES HIPERCOLESTEROLÊMICOS

Pesquisador Responsável: KAROLINE DE MACEDO GONÇALVES FROTA

Este projeto foi **APROVADO** em seus aspectos éticos e metodológicos, de acordo com as Diretrizes estabelecidas na Resolução 196/96 e complementares do Conselho nacional de Saúde. Toda e qualquer alteração do Projeto, assim como os eventos adversos graves, deverão ser comunicados imediatamente a esta Comissão. O pesquisador deve apresentar ao CEP:

Os membros do CEP-HGV não participaram do processo de avaliação dos projetos onde constam como pesquisadores.

DATA DA APROVAÇÃO: 18/12/20/09

Dr. Arquimedes Cavalcante Cardoso
Presidente da CEP/HGV

<p>Hospital Getúlio Vargas Av. Frei Serafim, 2352 – Centro (86) 3221-3040 – 64001-020 – Teresina - PI</p>
---	--

ANEXO C: Modelo de Recordatório Alimentar de 24h

Anamnese alimentar

Consulta

Data: __/__/__

Nome: _____

REFEIÇÃO	ALIMENTO	QUANTIDADE
Café da manhã		
Lanche da manhã		
Almoço		
Lanche da tarde		
Jantar		
Lanche da noite		