

Proteína de soya: Alternativa no farmacológica para el tratamiento de niños con hipercolesterolemia.

Ana Gladys Araúz-Hernández, Marlene Roselló-Araya, Gioconda Padilla-Vargas, Sonia Guzmán-Padilla, Louella Cunningham-Lucas, Sara Rodríguez-Aguilar.

Resumen

El tratamiento de la hipercolesterolemia primaria (HCP) se basa en una dieta reducida en grasa saturada y en colesterol, con la cual se puede disminuir entre 10 y 20% del colesterol total (CT). La proteína de soya tiene el potencial de reducir el CT, cuando sustituye parcial o totalmente a la proteína animal. El presente estudio reporta los resultados del efecto de una dieta baja en grasa saturada, colesterol y con proteína de soya, sobre el colesterol ligado a lipoproteína de baja densidad (LDL-C) en niños costarricenses con HCP.

En un ensayo clínico paralelo de asignación aleatoria, 20 niños, entre los 7 y 14 años de edad fueron asignados a uno de los dos tratamientos dietéticos según los criterios de inclusión -*grupo experimental*: dieta etapa I recomendada por el NCEP, más 25 gramos de proteína de soya diarios y, -*grupo control*: dieta etapa I NCEP, sin proteína de soya. Después de un período de homogenización de diez días, se inició la intervención por ocho semanas.

Tanto los niños del grupo experimental como los del grupo control, redujeron el colesterol total y el LDL-C ($p < 0,05$). Sin embargo, a pesar que no hubo diferencias significativas entre los grupos, se notó una mayor reducción en el LDL-C del grupo experimental (10,5 % vs. 3,9%). Los que consumieron más de 20 gramos de proteína de soya diaria, tuvieron mayor reducción en el LDL-C y un efecto negativo menor en el HDL-C.

Descriptores: niños con hipercolesterolemia, proteína de soya, dieta, LDL-C

Recibido: 10 setiembre de 2003

Aceptado: 20 enero de 2004

Unidad de Bioquímica y Nutrición. Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud.

Abreviaturas: ADM, Archer Daniels Midland Co, CT, Colesterol sérico total; LDL-C, Colesterol ligado a la lipoproteína de baja densidad; HDL-C, Colesterol ligado a la lipoproteína de alta densidad; VLDL, Colesterol ligado a las lipoproteínas de muy baja densidad; HCP, Hipercolesterolemia primaria; NCEP, National Cholesterol Education Program; TG, Triglicéridos. HNN, Hospital Nacional de Niños.

Correspondencia: Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud (INCIENSA), Apartado 4 Tres Ríos, Costa Rica. E-mail: aaarauz@inciensa.sa.cr

La hipercolesterolemia primaria (HCP) es un desorden del metabolismo de las lipoproteínas que se caracteriza por elevaciones en las lipoproteínas de baja densidad y del colesterol total¹. El colesterol sérico elevado es un factor de riesgo importante de la enfermedad cardiovascular, especialmente el que se transporta en las LDL-C por su correlación positiva con el desarrollo prematuro de la aterosclerosis coronaria.^{2,3}

El tratamiento de la HCP se basa en una dieta reducida en grasa saturada y en colesterol,⁴ con ella se puede disminuir del 10 al 20% del colesterol sérico.⁵ Recientes investigaciones señalan que la proteína de soya tiene el potencial de reducir el colesterol sérico, cuando sustituye parcial o totalmente a la proteína animal.⁶ Entre los mecanismos involucrados se incluye la disminución de la absorción de colesterol, el aumento de las vías de excreción de ácidos biliares, la baja actividad de las hormonas tiroideas y el aumento en la actividad de los receptores de las LDL-C. También se ha observado que la proteína de soya es efectiva en reducir la peroxidación de las LDL-C.⁷

El beneficio se obtiene al ingerir de 20 a 60 gramos de proteína de soya por día y la disminución es más efectiva cuanto más elevado sea el valor inicial de colesterol sérico.^{6,8-12} La adición de proteína de soya a dietas mixtas reduce el colesterol total y las LDL-C en 6% y 20%, respectivamente.^{6,13,14} En los niños, los resultados del uso de la proteína de soya en el tratamiento de la hipercolesterolemia, han sido estimulantes;^{11,12} parte de su importancia radica en la preocupación de los pediatras por los efectos secundarios que pudieran generar las drogas hipolipemiantes en los niños,^{15,16} por lo cual se han buscado alternativas no farmacológicas. El presente estudio reporta los resultados del efecto de una dieta baja en grasa saturada, colesterol y con proteína de soya, sobre las LDL-C en niños costarricenses con HCP.

Metodología

Tipo de estudio y Pacientes

Se trata de un ensayo clínico paralelo de asignación aleatoria, participaron siete niños y 13 niñas con HCP, atendidos en la consulta externa de la Unidad de Enfermedades Metabólicas (UEM) del Hospital Nacional de Niños 'Dr. Carlos Sáenz Herrera' (HNN), referidos a la Unidad de Bioquímica y Nutrición del INCIENSA. Se establecieron los siguientes criterios de inclusión: entre 7 y 14 años de edad, control clínico de al menos 6 meses en el HNN sin haber logrado normalizar los valores sanguíneos de CT (≥ 180 mg/dl al momento del reclutamiento), ausencia de enfermedades que interfirieran con el metabolismo del colesterol, ausencia de tratamiento farmacológico que afecte los valores plasmáticos de lípidos, con tratamiento dietético anterior de al menos 6 semanas (dieta baja en grasa y colesterol), no consumo de suplementos vitamínicos, sin conocimiento de los beneficios

ni consumo de proteína de soya en su alimentación, asentir participar en el estudio y que los padres firmaran el consentimiento informado. Del listado de expedientes se seleccionaron los niños y niñas que cumplieron con los criterios de inclusión. Se localizaron telefónicamente y se concertó una cita con sus padres en el INCIENSA.

Los pacientes que aceptaron participar, se asignaron aleatoriamente en dos grupos: experimental (n=10) y control (n=10), con características similares en cuanto a estado socioeconómico, edad y peso corporal.

El protocolo de este estudio fue aprobado por el Comité Ético Científico del INCIENSA y del HNN.

Tratamiento dietético

Los pacientes fueron asignados aleatoriamente a uno de los 2 tratamientos dietéticos: el grupo experimental recibió la dieta etapa 1 del NCEP¹⁷, más 25 gramos de proteína de soya y el grupo control recibió la dieta etapa 1 NCEP sin proteína de soya. Después de un período de homogenización de diez días, se inició el período de intervención en el hogar por un lapso de 8 semanas.

Al inicio del estudio todos los pacientes completaron un registro de alimentos de 3 días¹⁸ y una frecuencia de consumo de alimentos, para prescribir la dieta de acuerdo a sus requerimientos y a sus hábitos alimentarios. Ambos tratamientos dietéticos aportaron la energía necesaria para mantener el peso de los niños. La distribución energética de la dieta fue 20% de proteínas, 50% de hidratos de carbono y 30% de grasas, de las cuales los ácidos grasos saturados aportaban menos del 10% de la energía, los poliinsaturados hasta 10% y los monoinsaturados del 10 al 15%. La dieta aportó menos de 300 mg de colesterol y 30 gramos de fibra dietética al día.

En ambos grupos, la dieta fue cuidadosamente explicada a los niños y a los padres, adicionalmente, al grupo experimental, se les demostró mediante una práctica, los beneficios, los usos y la forma de preparación de los productos de soya (aislados y texturizados). Se utilizó proteína de soya ADM (Archer Daniels Midland Co.): leche de soya (WMR4) sabor fresa (CT-4738) y sabor chocolate (CT-4721) y carne de soya (CT-4807), adicionalmente, se verificó el contenido de proteína mediante el método de Macrokjeldahl (2.049), según la metodología del AOAC.²⁰

Durante el período de estudio, 4 nutricionistas capacitadas realizaron las visitas semanales al hogar de cada paciente y vigilaron la adherencia al tratamiento mediante el cuaderno de registro de alimentos que completaba diariamente cada paciente. Para el análisis del contenido de nutrientes de las dietas, las nutricionistas fueron estandarizadas en los procedimientos de control de calidad, sugeridos para estudios similares.¹⁹

Determinaciones de lípidos séricos

Antes de iniciar la intervención, luego de 12 a 14 horas de ayuno, a cada paciente se le tomaron 2 muestras de sangre de 10 ml, cada una, con un intervalo de 7 días para considerar la variabilidad biológica. Este procedimiento se repitió al terminar el período de intervención. El valor de laboratorio utilizado para el análisis estadístico tanto al inicio como al final fue el promedio de estas mediciones.

La toma de la muestra se realizó en un tubo "vacoutainer" sin anticoagulante y se centrifugó a 4°C por 15 minutos a 2500 rpm, para separar el suero y obtener el perfil lipídico TG, CT, HDL-C y los niveles de glucosa. El LDL-C se determinó mediante la fórmula de Friedewald: $COL - HDL - (TG/5)$. El colesterol y los TG se determinaron por métodos colorimétricos enzimáticos (Wiener Laboratorios S.A.I.C Argentina). En el control de calidad externo de las determinaciones de lípidos (CMCL), los porcentajes de error obtenidos fueron de 1,7%, -1,1% y -31,6% para el colesterol, TG y HDL, respectivamente.

Análisis estadísticos

Los valores son expresados como promedios y desviación estándar. El criterio de significancia fue del 5% ($p < 0.05$) y

el análisis de datos fue elaborado utilizando la t de Student para datos pareados, mediante el paquete estadístico SPSS versión 10.0.

Resultados

De los participantes, 9 vivían en el área metropolitana y 11 en el interior del país. En el grupo experimental participaron 6 mujeres y 4 hombres ($n=10$) y en el control 7 mujeres y 3 hombres ($n=10$); todos ellos presentaron peso adecuado para la talla y durante el estudio no se observó variación en el peso corporal mayor a los 2 kilos ($33,1 \pm 9,6$ kg a $33,7 \pm 9,4$ kg en el grupo experimental y $42,4 \pm 15,0$ kg a $43,4 \pm 13,7$ kg en el control).

La composición nutricional inicial de la dieta estuvo dentro de los rangos prescritos para cada nutriente, excepto en la ingesta de fibra dietética en ambos grupos, la cual al finalizar la intervención mostró diferencias significativas. La dieta del grupo control mostró incremento en el consumo de grasa total, grasa saturada y monoinsaturada (cuadro 1). La comparación de la composición nutricional entre los grupos tanto al inicio como al final no fue estadísticamente diferente ($p > 0.05$).

Cuadro 1. Composición nutricional de la dieta de los niños con hipercolesterolemia, según grupo. Costa Rica

Composición De dieta	Prescripción*	Experimental		Control	
		Inicial [†]	Final [‡]	Inicial [†]	Final [‡]
Calorías (kcal)	Individual	1560±409	1321±384	1245±420	1330±275
Carbohidratos (%)	50-60	59,1 (230,7±74) [§]	55,3 (182,9±65)	56,3 (175,3±64)	54,2 (154,0±40,8)
Proteínas (%)	10-20	15,0 (58,7±11,9)	17,3 (57,2±21,9)	16,4 (51,0±18,2)	15,1 (42,9±9,6)
Grasa total (%)	< 30	26,1 (45,2±13,9)	28,4 (41,6±13,9)	28,9 (40,0±15,9)	31,4 (39,7±14,7)
Grasa saturada (%)	≤ 10	6,9 (12,0±5,5)	7,4 (10,9±5,2)	9,9 (13,7±5,7)	10,9 (13,8±5,7)
Grasa poliinsaturada (%)	Hasta 10	4,8 (8,3±4,0)	5,8 (8,5±4,4)	6,0 (8,3±3,4)	6,0 (7,6±2,5)
Grasa monoinsaturada (%)	10-15	7,5 (13,0±5,9)	8,8 (12,9±3,8)	10,5 (14,5±6,5)	11,8 (14,9±6,3)
Fibra dietética (g) [†]	20-30	17,2±4,7	15,0±9,9	18,4±8,0	14,4±7,1
Colesterol (mg)	< 200	100±53	173±143	150±65	130±45
P/S (Relación grasa poliinsaturada/saturada)	1	0,7	0,8	0,6	0,5

* Prescripción dietética del NCEP, Etapa 1.
[†] Dieta de primera semana de intervención
[‡] Promedio de ocho semanas de tratamiento
[§] Promedio ± desviación estándar en gramos
[¶] $p < 0.05$

Los cambios en el perfil lipídico se presentan en el cuadro 2, los valores del colesterol sérico y de las LDL-C se redujeron significativamente ($p < 0,05$) en cada grupo. En el grupo experimental la reducción del LDL-C fue casi 3 veces mayor que en el control, 10,5% vs. 3,9% sin embargo estas diferencias no fueron significativas ($p > 0,05$). El HDL-C descendió en ambos grupos; en el grupo control los triglicéridos aumentaron, siendo este cambio no estadísticamente significativo. También, se observó que los pacientes que iniciaron el estudio con valores de CT y LDL-C, considerados altos para este grupo de edad (mayor de 200 mg/dl y mayor de 130 mg/dl, respectivamente), ²² presentaron un comportamiento más homogéneo, que los que iniciaron con valores inferiores (figura 1 y 2).

Los pacientes del grupo experimental, que redujeron el valor del LDL-C, lo hicieron en 25 mg/dl, comparado con 11,4 mg/dl del grupo control y los que aumentaron el LDL-C, lo hicieron en 6,7mg/dl, comparado con 8,9 mg/dl del grupo control.

Con respecto al consumo de proteína de soya, el grupo experimental consumió en promedio $20,8 \pm 5,3$ gramos por persona por día y de ellos, 50% más de 20 gramos. La respuesta en la reducción del LDL-C fue superior en los niños que consumieron mayor cantidad de proteína y la reducción del HDL-C fue menor (cuadro 3).

No hubo rechazo a los alimentos de soya, debido a la creatividad de las familias para introducir los productos de soya como parte de la dieta regular, aspecto que fue clave para su aceptación.

Discusión

Varios estudios clínicos han descrito los beneficios de la proteína de soya en la reducción del colesterol sérico ⁶ y aunque los mecanismos de acción no están claramente identificados se han propuestos varios, entre los que destacan la diferencia en la composición, digestión y absorción de aminoácidos de la proteína de soya con respecto a la animal ^{10,23}, la reducción de la absorción intestinal de lípidos y el incremento en la excreción de ácidos biliares y esteroides, el incremento en el catabolismo del colesterol y de las VLDL ^{24,25}, así como el incremento en la acción del receptor del LDL-C en pacientes con hipercolesterolemia ^{26,27}. Sin embargo, este estudio no trató de explorar dichos mecanismos, asimismo no se cuantificó el efecto beneficioso de los flavonoides sobre la reducción del colesterol sérico, descrito recientemente, ^{6, 10, 23, 28} porque se conocía de antemano que los productos utilizados no eran fuente de flavonoides (extracción de proteínas con alcohol).

La dieta es el primer paso del tratamiento de la hipercolesterolemia y los pacientes deben iniciar lo antes posible un control dietético con regímenes bajos en grasas saturadas y en

Cuadro 2. Cambios en el perfil lipídico en niños con HCP según grupo de intervención

Experimental (n=10)	Inicial	Final	Cambio % ¹
Colesterol total	215,9 ± 23,7	201,5 ± 28,9*	-6,7
LDL- colesterol	148,1 ± 20,7	132,5 ± 22,5*	-10,5
HDL - colesterol	48,0 ± 6,8	43,5 ± 9,9	-9,4
Triglicéridos	98,8 ± 16,8	118,2 ± 38,4	+19,6
Control (n=10)			
Colesterol total	212,2 ± 28,5	199,8 ± 19,0*	-5,8
LDL- colesterol	135,9 ± 24,7	130,8 ± 19,1*	-3,9
HDL- colesterol	42,8 ± 9,7	39,1 ± 9,7*	-8,5
Triglicéridos	167,3 ± 97,8	149,3 ± 47,2*	-10,8

Valores expresados como promedio ± desviación estándar
¹ Porcentaje con respecto al valor basal
* $p < 0,05$

Cuadro 3. Cambios en el perfil lipídico (mg/dl) en niños hipercolesterolémicos, según ingesta de proteína de soya

	< 20 g proteína de soya (n=5) mg/dl	≥ 20 g proteína de soya (n=5) mg/dl
Colesterol total	-16,6	-12,2
LDL-colesterol	-14,2	-17,0
HDL- colesterol	-7,4	-1,6
Triglicéridos	25,8	1,8

Ingesta promedio de soya = $20,8 \pm 5,3$ g por día

colesterol, ²⁹ con ello, puede esperarse que el colesterol total y el LDL-C se reduzcan de 10% a 20%. ³ Sin embargo, aunque estas disminuciones son importantes, no son suficientes para reducir el riesgo cardiovascular en estos niños, los cuales tienen dificultad de alcanzar valores normales del colesterol total.

La hipercolesterolemia familiar es más resistente a los cambios dietéticos que otras hipercolesterolemias, ^{15,30} lo cual ha estimulado la investigación de alternativas dietéticas basadas en los elementos nutritivos y no nutritivos del frijol de soya. ^{6,27} Estudios previos en niños con hipercolesterolemia, que utilizaron proteína de soya, mostraron beneficios, Widhalm obtuvo reducción de 16% en colesterol total y 22% del LDL-C en 23 niños, ¹¹ Sirtori obtuvo reducciones entre 8 y 16% del colesterol total, ⁹ similar a la reducción descrita por Glueck de 6% a 15% ³ y Gaddi estudió 16 niños con hipercolesterolemia y encontró reducción del colesterol total en 21,8%. ³²

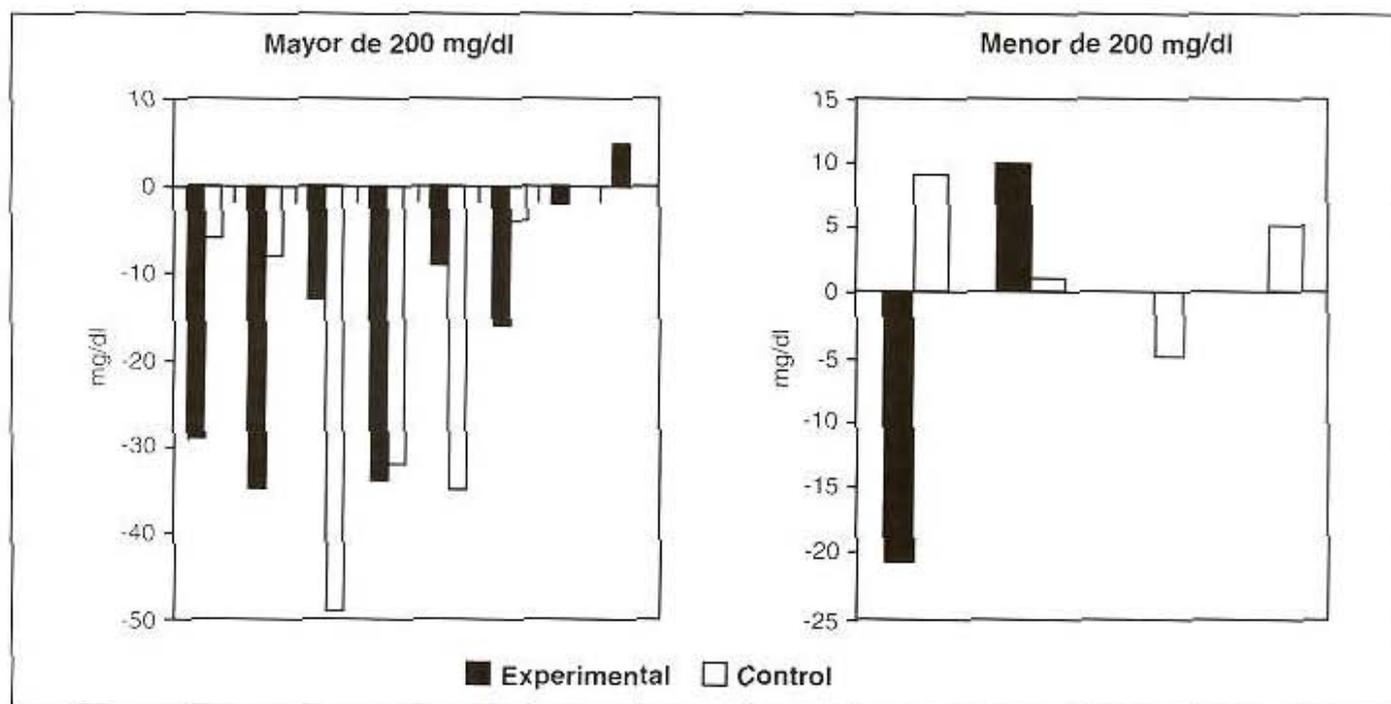


Figura 1. Cambios en colesterol total de acuerdo al valor sérico inicial en niños (as) con hipercolesterolemia. Casos individuales (n=20)

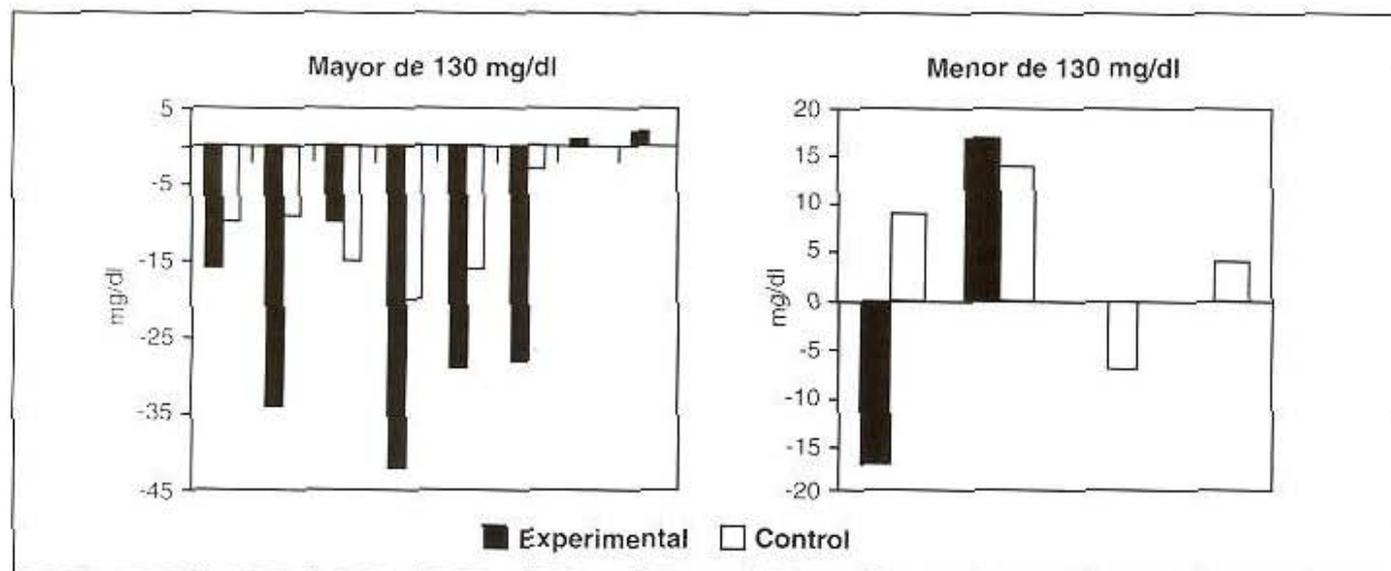


Figura 2. Cambios en LDL-colesterol de acuerdo al valor sérico inicial en niños (as) con hipercolesterolemia. Casos individuales (n=20)

En nuestro estudio, la reducción en el LDL-C fue del 10,5%; mayor que la del colesterol total, este valor es ligeramente inferior al reportado por Anderson ⁵ (12,9%); sin embargo, es importante mencionar que estos niños(as) posiblemente, ya habían reducido parte del colesterol sérico inicial con la dieta de la etapa 2 del NCEP realizada previamente en el HNN. El beneficio adicional obtenido en el colesterol sérico cuando se ofreció supervisión y asesoría dietética en el hogar, apoya la necesidad de terapia personalizada en estos niños y, posiblemente por esta razón en ambos grupos se redujo el colesterol total y el LDL-C.

La concentración inicial de colesterol ha sido el único predictor significativo del cambio del colesterol, ⁶ en nuestro estudio, los valores iniciales del colesterol total estaban muy cerca de la normalidad por lo que la posibilidad de reducir el colesterol fue muy baja (180 mg/dl a 170 mg/dl). Esto podría sugerir, que si este estudio se hubiera realizado con pacientes recién diagnosticados y sin tratamiento dietético, el efecto sobre el colesterol observado habría sido diferente, aspecto que se observó al agrupar a los niños según sus valores iniciales de colesterol. Otro elemento que posiblemente influyó en los resultados fue el número de niños, así como las respuestas

individuales del colesterol sérico de cada uno de ellos¹⁴, además, de la dificultad de adherirse a la cantidad de proteína de soya prescrita y al tratamiento dietético en general de los niños(as), cuando la dieta involucra cambios en el grupo familiar.³¹ La madre resultó ser la persona más motivada en poner en práctica las recomendaciones, también se observó en algunos hogares, que los miembros de la familia muchas veces más que un apoyo, representaron una barrera para cumplir con el tratamiento.

La reducción del valor del HDL-C es un hallazgo no deseado en este estudio, se han descrito resultados contrarios, donde la ingesta de proteína de soya aumenta entre 2,4% y 4% el HDL;^{6,30} sin embargo, en los niños que consumieron mayor cantidad de proteína de soya, la reducción del colesterol-HDL fue menor (-1,6%), comparado con los que consumieron menos de 20 gramos (-7,4%), lo que sugiere que la proteína de soya evita el descenso de esta lipoproteína. El valor bajo de HDL-C pareciera que es una condición asociada al desorden metabólico causado por la herencia de defectos en el receptor de LDL-C³³ y, debe tomarse en cuenta además, que el bajo consumo de grasas totales y saturadas puede afectar el valor del HDL-C.^{34,35} El incremento en valores de triglicéridos en los niños del grupo experimental, pudo deberse a que en el grupo habían niños con hipercolesterolemias combinadas e inicialmente ya presentaban valores altos para su edad. Estudios previos demuestran la capacidad de la proteína de soya para reducir los triglicéridos,⁶ aunque en este estudio no pudo ser demostrado.

El consumo promedio de proteína de soya diario sustituyó 25% de la proteína total de la dieta del niño(a); sin embargo, para tener un máximo efecto sobre el colesterol sérico se sugiere hasta un 65% de sustitución.³² Anderson ha reportado ingestas entre 31 y 47 gramos por día en adultos y un efecto hipocolesterolemico que depende más de la cantidad consumida, que del tipo de proteína de soya utilizada.⁶

Durante el estudio se observó que los niños del grupo control, al iniciar el tratamiento modificaron sus hábitos alimentarios y mantuvieron la dieta dentro de la prescripción diaria, pero posteriormente volvieron al consumo de preparaciones tradicionales altas en carnes y leche, lo cual contribuyó al aumento de grasa saturada al final del período de estudio.

La grasa monoinsaturada fue difícil de incrementar en la dieta del grupo experimental debido a que algunos de los alimentos que se sustituyeron en el estudio (mantequilla de palma y de carne), son fuente de este tipo de grasa. En nuestro medio, el aguacate hubiera sido una excelente fuente de grasa monoinsaturada, sin embargo, no estuvo disponible en la época del estudio.

En este estudio, debido a que la dieta que incluyó proteína de soya, no tuvo un efecto significativamente mayor sobre la reducción del LDL-C, comparada con el grupo control no se puede concluir que exista ventajas de la dieta con proteína de soya sobre el tratamiento dietético tradicional. No obstante la disminución observada en la LDL-C, fue mayor en el grupo experimental.

Agradecimiento

Los autores agradecen en las familias que participaron en este estudio, a la empresa Baltimore Spice, por donar los productos de soya, a la Asociación Americana de Soya por el financiamiento parcial de este estudio y al Hospital Nacional de Niños. Muy especial nuestro agradecimiento al Doctor José Ordovás por sus aportes al proyecto.

Abstract

Soybean Protein: A non-pharmacological alternative for the treatment of children with hypercholesterolemia

Primary hypercholesterolemia treatment (PHT) is based on a reduced diet in saturated fat and cholesterol, which can diminish between 10 and 20% of serum cholesterol (CT). Soybean protein has the potential to reduce CT, when it substitutes partial or totally animal protein. The present study shows the results of the effect of a low saturated fat, cholesterol and soybean protein diet on LDL-C in Costa Rican children with primary hypercholesterolemia.

Twenty children, between the ages of 7 and 14, were randomly assigned to one of the two dietary treatments at home. *The experimental group received:* Stage I NCEP diet, it consisted of 25 more grams of soybean protein and *the control group received:* Stage I NCEP diet without soybean protein. After a homogenization period of ten days, the intervention began for eight weeks.

Both groups reduced their total cholesterol and their LDL-C ($p < 0.05$). However, the experimental group showed a greater reduction of their LDL-C (10,5% vs. 3,9%), than the control, but this difference was not significant. Those who consumed more than 20 grams of soybean protein had a bigger reduction of their LDL-C and a smaller negative effect of their HDL-C.

Soy protein diet did not have significant effect on LDL-C reduction. We can not conclude that there is an advantage of using soy protein over traditional treatment of primary hypercholesterolemia.

 REFERENCIAS

1. Chapman MJ. Clasificación de las dislipoproteinemias: una puesta al día. *Anales Nestlé* 1994; 52:1-14.
2. Castellí WP, Garrison RS, Wilson WPF, Abbott RD, Kalousdian S, Kannel WB. "Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels. The Framingham Study". *JAMA* 1987; 256: 2835-2838.
3. Feinleib M. "The magnitude of the decrease in coronary heart disease mortality rate". *Am J Cardiol* 1984; 54: 20-60.
4. Resumen del segundo informe del panel de expertos sobre detección, evaluación y tratamiento de la hipercolesterolemia en adultos del Programa Nacional de Educación sobre el colesterol (NCEP). (Panel II sobre tratamiento en adultos). *JAMA* 1993; 269: 3023 - 3023.
5. Glueck CJ, McGill HC, Shank RE, Lauer RN. Value and safety of modification to control hyperlipidemia in childhood and adolescence. A statement for physicians. *Circulation* 1978; 58:381-385
6. Anderson JW, Johnstone BM, Cood-Newell ME. "Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. *N Engl J Med* 1995;333:276-283.
7. Sirtori C, Lovati M, Manzoni C, Monietti M, Pazzucconi F, Gatti E. Soy and Cholesterol Reduction: Clinical Experience. *J Nutr* 1995; 125: 598S - 605S.
8. Bakhit R, Klein B, Essex-Sorlie D, Ham J, Erdman and Potter S. Intake of 25 g of soybean protein with or without soybean fiber alters plasma lipids in men with elevated cholesterol concentrations. *J Nutr* 1994; 124: 213-222.
9. Sirtori C, Agradi E, Conti F, Mantero O and Gotti E. Soybean protein diet in the treatment of type II hyperlipoproteinemia. *Lancet* 1977; 1: 275 - 277.
10. Carroll K and Kurowska E. Soy Consumption and Cholesterol Reduction: Review of Animal and Human Studies. *J Nutr* 1995; 125: 594S - 597S.
11. Widhalm K, Brazda G, Schneider B and Kohl S. Effect of soy protein diet versus standard low fat, low cholesterol diet on lipid and lipoprotein levels in children with familial or polygenic hypercholesterolemia. *J Pediatr* 1993; 123: 30-34.
12. Gaddi A, Descovich G, Nosedà G, Fragiaco C, Nicolini A, Montanari G, et al. Hypercholesterolemia treated by soybean protein diet. *Arch Dis Child* 1987; 62: 274 - 278.
13. Verrillo A, de Teresa A, Giarrusso PC and La Rocca S. Soybean protein diets in the management of type II hyperlipoproteinemia Atherosclerosis 1985; 54:321 - 331.
14. Wong W, Smith E, Stuff J, Hachey D, Heird W and Pownell H. *Am J Clin Nutr* 1998; 68 :1385S-1389S.
15. Chait A, Brunzell J, Denke M, Eisenberg D, Ernest N, Franklin F, et al. Rationale of the diet-heart statement of the American Heart Association. *Circulation* 1993; 88(6):3008-3029.
16. Stein EA. Treatment of familiar hypercholesterolemia with drugs in children. *Arteriosclerosis* 1989; 9:145-151.
17. Expert panel report of the national cholesterol education program (NCEP). Expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adult". *Arch Inter Med* 1988; 148: 36-69.
18. Aráuz AG. Método de registro de alimentos de tres días. En: Madrigal H, Martínez H, ed. Manual de encuestas de dieta. México: Instituto Nacional de Salud Pública, 1996; 83- 98.
19. Dennis B, Ernest N, Hjortand M, Tillotson J, Grambsch. The NHLBI nutrition data system. *J Am Diet Assoc* 1980; 77:641-647
20. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Official methods of analysis of the AOAC. Ed Washington D. C. 1984; 514 - 515.
21. Friedwlad WT, Levez RI, Frederickson DS. Estimation of concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without use of preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;18:499-502.
22. Kwiterovich P. The Johns Hopkins complete guide for avoiding Herat disease. Beyond cholesterol. Baltimore: The Johns Hopkins University Press, 1989:80-102.
23. West CE, Beynen AC, Terpstra AHM, Scholz KE, Carrol KK, Woodward CJ. The nature of dietary protein and serum cholesterol. *Atherosclerosis* 1983; 46:253-256.
24. Huff MW, Carroll KK. Effect of dietary protein turnover, oxidation and absorption of cholesterol and on steroid excretion in rabbits. *J Lipid Res* 1980; 21:546-548.
25. Huff MW, Giovannetti PM, Wolfe BM. Turnover of very low-density lipoprotein-apoprotein B is increased by substitution of soybean protein for meat and dairy protein in the diets of hypercholesterolemic men. *Am J Clin Nutr* 1984; 39:888-897.
26. Lovati MR, Manzoni C, Canavesi A. Soybean protein diet increases low density lipoprotein receptor activity in mononuclear cells from hypercholesterolemic patients. *J Clin Invest* 1987; 80:1498-1502.
27. Potter SM. Overview proposed mechanism for the hypocholesterolemic effect of soy. *J Nutr* 1995; 125:606S-611S.
28. Anthony MS, Clarkson TB, Williams JK. Effects of soy isoflavones on atherosclerosis: potential mechanisms. *Am J Clin Nutr* 1998; 68:1390S-1393S.
29. Sirtori C, Even R, Lovatti M. Soybean protein diet and plasma cholesterol: from therapy to molecular mechanisms. *Ann NY Acad Sci* 1993; 676: 188 - 201
30. Laurin D, Jacques H, Moorjani S, Steinke F, Gagné C, Brun D, Lulpien P. Effects of soy-protein beverage on plasma lipoproteins in children with familial hypercholesterolemia. *Am J Clin Nutr* 1991; 54:98-103.
31. Sirtori C, Gatti E, Mantero O, Conti F, Agradi E, Tremoli E, Sirtori M, Fraterrigo L, Tavazzi L, Kritchevsky D. Clinical experience with the soybean protein diet in the treatment of hypercholesterolemia. *Am J Clin Nutr* 1979; 32:1645-1658.
32. Descovich G, Gaddi A, Mannino G, Cattin L, Senin U, Caruzzo C, et al. Multicenter study of soybean protein diet for outpatient hypercholesterolemic patients. *Lancet* 1980; 2:709 - 712.
33. Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 1986; 232:34-47.
34. Grundy SM. Comparison of monounsaturated fatty acids and carbohydrates for lowering plasma cholesterol. *N Engl J Med* 1986; 314:745-746.
35. Albrink MJ, Ullrich IH. Interaction of dietary sucrose and fiber on serum lipids in healthy young men fed high carbohydrates diets. *Am J Clin Nutr* 1986; 43:419-428.