

CRISTIANE SAMPAIO FONSECA

EFEITO HIPOLIPIDÊMICO E TOXICOLÓGICO DO ARROZ
FERMENTADO POR *MONASCUS RUBER*, CCT 1236, EM
COELHOS

**Tese apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
programa de Pós-graduação em
Bioquímica Agrícola para
obtenção do título de “Magister
Scientiae”.**

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
AGOSTO 2002.

CRISTIANE SAMPAIO FONSECA

EFEITO HIPOLIPIDÊMICO E TOXICOLÓGICO DO ARROZ
FERMENTADO POR *MONASCUS RUBER*, CCT 1236, EM
COELHOS

Tese apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
programa de Pós-graduação em
Bioquímica Agrícola para
obtenção do título de “Magister
Scientiae”.

APROVADA: 5 DE AGOSTO DE 2002.

Prof.^a. Dr.^a. Tânia Toledo de Oliveira
(Conselheira)

Prof.^a. Dr.^a. Neuza Maria Brunoro Costa
(Conselheira)

Prof. Dr. George Kling de Moraes

Prof. Dr. Sérgio Luis P. Matta

Prof. Dr. José Humberto de Queiroz
(Orientador)

Dedico este trabalho aos meus pais, Renato e Iolanda, pelo imenso amor, carinho e incentivo durante as etapas de minha vida;

E à minha filha, Maria Clara, pelo AMOR.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, pelo dom da vida, por ter me acompanhado nos momentos mais difíceis, iluminando todos os meus caminhos, me encorajando e me abençoando.

Aos meus pais, Renato e Iolanda, pelo amor, pela dedicação, pelo carinho, apoio, pela formação e pelo exemplo de força, garra, perseverança e honestidade. E, por muitas vezes, terem renunciado aos seus próprios sonhos para que eu realizasse os meus.

A minha filha Maria Clara, pelos momentos em que não pude lhe dar atenção, pela alegria, carinho e muito amor.

Aos meus irmãos, Cláudia e Renato, pelo amor, apoio, confiança e carinho.

A minha tia Maria da Glória, que sempre me deu o indispensável apoio.

Ao Henrique Simonini Rocha Gomes, pela constante ajuda para cuidar da nossa filha nos momentos em que não pude estar presente, pelo carinho e respeito.

Ao Dr. Prof. José Humberto de Queiroz, pela orientação, atenção dispensada e ensinamentos a mim conferidos.

A Dr^a. Prof^a. Tânia Toledo de Oliveira, pela confiança em mim dispensada, pela compreensão, sincera amizade e ensinamentos oferecidos durante este trabalho; sua ajuda foi muito valiosa para mim.

A Dr^a. Prof^a. Neuza Maria Brunoro Costa, pelos seus aconselhamentos, apoio e atenção dispensados.

Ao Dr. Prof. Tânus Jorge Nagem, pela amizade e pelo apoio oferecido.

Ao Dr. Prof. Luiz Carlos Guedes de Miranda pelos conselhos e pelo apoio à realização deste trabalho.

Ao Dr. Prof. Sérgio Luis da Matta, pelas orientações na interpretação das lâminas.

Ao Dr. Prof. George Kling de Moraes pelos ensinamentos e sugestões.

A amiga Maria Aparecida Leão, pela grande amizade, enorme carinho e por toda a atenção dispensada durante a realização deste trabalho.

Ao José Geraldo Pinto, pela amizade e apoio indispensável.

Ao Leonardo Ramos Paes de Lima pela amizade, apoio e grande ajuda nas realizações das dosagens dos constituintes sanguíneos.

Aos colegas de curso do Laboratório de Biofármacos, Rosimar Regina, Ednaldo Queiroga, Aloísio da Silva Pinto, Fabiana Carvalho, Leonardo Ramos Paes de Lima por toda amizade e apoio.

Ao colega Fabrício Luciani Valente que não mediu esforços para me ajudar na realização dos experimentos.

A todos os estagiários do Laboratório de Biofármacos que muito contribuíram para a realização desta obra, durante o desenvolvimento dos experimentos. A todos muito obrigado!

Aos amigos Maria Fernanda, Filipe, Marta, Danielle, Maria Isaura, Ana Paula Cavallari e Ana Flávia pela amizade, carinho e imensurável apoio durante as horas boas e ruins dessa longa caminhada.

A Silvana Lages Ribeiro Garcia pelas orientações durante a análise estatística.

Ao Eduardo Monteiro, secretário do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular pela disponibilidade e inestimável ajuda.

A Universidade Federal de Viçosa pela estrutura fundamental fornecida em todas as etapas da minha formação.

Ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular pela oportunidade de realizar o curso de mestrado.

A CAPES pelo fornecimento de bolsa.

A todos que, direta ou indiretamente, me ajudaram na realização deste trabalho e na conquista de mais esta etapa em minha vida.

BIOGRAFIA

Cristiane Sampaio Fonseca, filha de Renato Fonseca e Iolanda Sampaio Fonseca nascida em Viçosa, Minas Gerais em 07 de janeiro de 1975.

Em março de 1994 iniciou sua graduação em Nutrição pela Universidade Federal de Viçosa concluindo-a em março de 1999.

Iniciou a Pós-graduação em Bioquímica Agrícola, em nível de Mestrado nesta mesma instituição em abril de 2001, submetendo-se a defesa de tese em 05 de agosto de 2002.

CONTEÚDO

RESUMO	viii
ABSTRACT	x
I .INTRODUÇÃO	1
II .REVISÃO DE LITERATURA	3
1. Metabolismo Lipídico	3
1.1.Lipídios	3
1.2.Colesterol	4
1.3. Digestão e absorção de lipídios	8
1.4. Digestão e absorção de lipídios em coelhos	9
1.5. Transporte de lipídeos	10
1.6. Composição das lipoproteínas	14
1.6.1 Quilomícrons	14
1.6.2 Lipoproteína de muito baixa densidade	15
1.6.3. Lipoproteína de baixa densidade	15
1.6.4. Lipoproteína de alta densidade	18
2. Aterosclerose	18
2.1. Papéis das lipoproteínas das coronariopatias	20
3. Fungos do gênero <i>Monascus</i>	23
4. Tratamento das dislipidemias	33
4.1 Inibidores da HMG-CoA redutase	33
5. Parâmetros bioquímicos do soro sanguíneo e suas variações nas desordens metabólicas	35
III. MATERIAIS E MÉTODOS	43
1. Microrganismo	43
1.1. Conservação da cepa	43
2. Produção do arroz fermentado	44
3. Análise centesimal do arroz branco e fermentado	45
4. Ensaio biológicos	46
4.1. Modelo experimental do ensaio biológico com hiperlipidemia induzida	46
4.2. Modelo experimental para ensaio de toxicologia aguda de 30 dias	48
5. Análise estatística	49
6. Análise morfológica	49
IV. RESULTADOS E DISCUSSÕES	51
1.Caracterização do arroz fermentado por <i>Monascus ruber</i>	51
2.Efeito hipolipidêmico do arroz fermentado por <i>Monascus ruber</i>	53
2.1. Efeitos do arroz fermentado nos níveis de colesterol total	53
2.2. Efeitos do arroz fermentado nos níveis de triacilgliceróis	58
2.3. Efeitos do arroz fermentado nos níveis de LDL-c	61
2.4. Efeitos do arroz fermentado nos níveis de HDL-c.....	65
2.5. Efeitos do arroz fermentado nos níveis de VLDL-c	68
2.6. Efeitos do arroz fermentado no peso médio dos animais	71
2.7. Efeitos do arroz fermentado nos níveis de glicose.....	73
3. Avaliação dos efeitos toxicológicos do arroz fermentado por <i>Monascus ruber</i> sobre os parâmetros bioquímicos	76

3.1. Efeitos do arroz fermentado nos níveis de creatinina	77
3.2. Efeitos do arroz fermentado nos níveis de ácido úrico.....	79
3.3. Efeitos do arroz fermentado nos níveis de TGP.....	81
3.4. Efeitos do arroz fermentado nos níveis de TGO.....	83
3.5. Efeitos do arroz fermentado nos níveis de albumina	85
3.6. Efeitos do arroz fermentado nos níveis de gama GT.....	87
3.7. Efeitos do arroz fermentado nos níveis de proteínas totais.....	89
3.8. Efeitos do arroz fermentado nos níveis de fosfatase alcalina.....	91
3.9. Efeitos do arroz fermentado nos níveis de bilirrubina total.....	93
3.10. Efeitos do arroz fermentado nos níveis de bilirrubina direta.....	95
3.11. Efeitos do arroz fermentado nos níveis de fósforo.....	97
3.12. Efeitos do arroz fermentado nos níveis de cálcio.....	99
3.13. Efeitos do arroz fermentado nos níveis de cloreto.....	101
3.14. Efeitos do arroz fermentado nos níveis de ferro.....	103
3.15. Efeitos do arroz fermentado nos níveis de magnésio.....	105
4. Análise histopatológica.....	107
V. CONCLUSÕES.....	123
VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	125
VII. ANEXOS.....	137

RESUMO

FONSECA, Cristiane Sampaio, M.S., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2002. **Efeito hipolipidêmico e toxicológico do arroz fermentado por *Monascus ruber*, CCT 1236, em coelhos.** Orientador: José Humberto de Queiroz. Conselheiros: Tânia Toledo de Oliveira e Neuza Maria Brunoro Costa.

Produtos fermentados por fungos, em especial o “ang-kak” (arroz fermentado por fungos do gênero *Monascus*) são tradicionalmente usados na culinária asiática como corantes e condimentos. Estes fungos produzem uma substância denominada mevinolina, utilizada na redução da concentração do colesterol sérico. Essa substância inibe a enzima hidroximetilglutaril coenzima A redutase (HMG-CoA redutase), enzima chave na biossíntese do colesterol. Foi realizada a caracterização do arroz fermentado analisando as concentrações de proteínas, lipídios, carboidratos, cinzas e umidade. Posteriormente, foram realizados dois ensaios biológicos com o objetivo de avaliar os efeitos hipolipidêmicos e toxicológicos do arroz fermentado pelo fungo *Monascus ruber*. Utilizaram-se 36 coelhos machos da raça Nova Zelândia Branco, com hiperlipidemia induzida por colesterol 1% administrado na ração juntamente com

o arroz fermentado que foi seco e triturado e adicionado nas concentrações de 1, 5 e 10%. Da análise do arroz fermentado verificou-se que houve um aumento nas concentrações de proteínas, lipídios e redução na concentração de carboidratos. O arroz fermentado na concentração de 10% foi mais eficaz no controle da hiperlipidemia, promovendo redução de colesterol total (37,14%), LDL-c (37,73%), VLDL-c (51,44%), triacilgliceróis (51,44%). O arroz fermentado a 10% promoveu aumento da lipoproteína HDL em 33,85% . O segundo ensaio foi realizado com a finalidade de avaliar a toxicologia aguda deste produto. Foram dosados as concentrações de creatinina, proteínas totais, albumina, bilirrubina total, bilirrubina direta, ácido úrico, fosfato, ferro, cloro, cálcio, e as atividades de gama glutamil-transferase (gama-GT), transaminase glutâmico-pirúvica (TGP), transaminase glutâmico-oxaloacética (TGO) e fosfatase alcalina no 1º, 15º, 30º dias do experimento. No estudo toxicológico não foi observada variação significativa nos parâmetros bioquímicos analisados. No estudo histopatológico constatou-se que a adição de arroz fermentado na dieta dos animais não alterou a morfologia das células do coração. Quando adicionou-se o arroz fermentado juntamente com o colesterol, verificou-se que esse arroz impediu a formação de áreas extensas de lesões decorrentes da adição de colesterol. Quanto ao fígado, devido às características inerentes desse órgão em coelhos, o efeito da adição do arroz fermentado na dieta dos animais não levou a resultados conclusivos. O arroz fermentado por *Monascus ruber* se mostrou promissor na modulação dietética de lipídios sanguíneos, embora estudos em outros modelos animais e humanos sejam necessários para resultados mais conclusivos.

ABSTRACT

FONSECA, Cristiane Sampaio, M.S., Universidade Federal de Viçosa, August of 2002. **Hypolipidemic and toxicological effects of rice fermented by *Monascus ruber*, CCT 1236, in rabbits.** Adviser: José Humberto de Queiroz. Committee members: Tânia Toledo de Oliveira and Neuza Maria Brunoro Costa.

Products fermented by fungus, especially the “ang-kak” (fermented rice by fungus of gender *Monascus*) are used **traditionally** in the Asian cookery as colorings and condiments. These fungus produce a substance denominated mevinoline, used in the reduction of the concentration of blood cholesterol. That substance inhibits the enzyme 3-hidroxy – 3- metilglutaryl coenzyme A reductase (HMG-CoA reductase), the principal enzyme in the biosynthesis of cholesterol. The characterization of the fermented rice was accomplished investigating concentrations of proteins, fat, carbohydrates, ash and moisture. Biological assays were carried out with the objective of evaluating the hypolipidemic and toxicological effects of fermented rice by fungus *Monascus ruber*. Thirty six male rabbits of New Zealand White strain were used, with hyperlipidemia induced by 1% cholesterol administered in the animals feed, together with the fermented rice that was dried and

trituated and added in the concentrations of 1, 5 and 10%. It was verified an increase in the concentrations of proteins, fat and reduction in the carbohydrates concentration. The rice fermented in the concentration of 10% was more effective in the control of the hyperlipidemia, lowering total cholesterol by 37,14%, LDL-c 37,73%, VLDL-c 51,44% and triglycerides 51,44%. The 10% fermented rice promoted an increase of 33,85% on the level of HDL-c. The second assay was accomplished with the purpose of evaluating the sharp toxicological of this product on the levels of creatinine, total proteins, albumin, total bilirubin, direct bilirubin, uric acid, phosphate, iron, chlorine, calcium, glutamil gamma transferase (gama-GT), alanine aminotransferase (GPT), aspartate aminotransferase (GOT) and alkaline fosfatase in the 1st, 15th and 30th days of the experiment. For the constituents any significant variation was not observed. Heart histopathology showed that the addition of fermented rice in the diet of the animals didn't alter the morphology of the its cells. When the rice was added fermented together with the cholesterol, it was verified that that rice reduced the lesions promoted by cholesterol addition. In relation to the liver, due to the inherent characteristics of that organ of the rabbits, the effect of the addition of the fermented rice in the diet of the animals was not conclusive. The fermented rice with *Monascus ruber* was shown in that study to be an alternative choice in the dietary modulation of blood lipids

I- INTRODUÇÃO

Estudos epidemiológicos apontam as doenças cardiovasculares como causa de grande parte das mortes prematuras na América do Norte e em muitos outros países desenvolvidos.

Dentre as patologias pertencentes ao grupo das doenças coronarianas, a doença cardiovascular aterosclerótica tem sido atualmente considerada como problema de saúde pública no Brasil. A aterosclerose é causada por vários fatores, inclusive genéticos, entretanto existe estreita relação entre níveis de colesterol sérico e o desenvolvimento de ateromas. Neste sentido, vários trabalhos de pesquisa procuram identificar comportamentos, dietas, compostos químicos, dentre outros que diminuam os níveis de colesterol sanguíneo.

Investigando produtos fermentados por fungos, em especial o “ang-kak” (arroz fermentado por fungos do gênero *monascus*), tradicionalmente usado na culinária asiática, ENDO et al (1979) isolaram e identificaram algumas substâncias denominadas monacolinas, as quais apresentam as propriedades hipocolesterolemiantes. Outros grupos de pesquisa também identificaram esses metabólitos em culturas de outros fungos, principalmente, do gênero *Aspergillus terreus*.

É constante a busca de novos alimentos com potencial para redução de lipídios. Novos aditivos vêm sendo acrescentados a leites, farinhas, doces, enlatados, com a função de prevenir doenças ou minimiza-las.

Nesse sentido, a ciência dos Alimentos e da Nutrição, juntamente com a Bioquímica e Medicina vem abrindo fronteiras com o surgimento de alimentos funcionais. Os alimentos funcionais podem ser definidos como aqueles que além de nutrir, possuem componentes ativos que atuam sobre o organismo produzindo efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou benefícios sobre a saúde.

Assim, o presente trabalho teve como objetivo geral avaliar os efeitos do arroz fermentado pelo fungo *Monascus ruber* nas concentrações de lipídios sanguíneos e aspectos toxicológicos em coelhos.

Assim foi determinado a composição centesimal do arroz fermentado por *Monascus ruber*; o efeito do arroz fermentado pelo fungo *Monascus ruber* nas concentrações de 1, 5 e 10% nos níveis de lipídeos sanguíneos em coelhos hipercolesterolêmicos; os efeitos tóxicos do arroz fermentado por fungos *Monascus ruber* em coelhos; o efeito do arroz fermentado por *Monascus ruber* na histopatologia de fígado, coração e aorta de coelhos.

II - REVISÃO DE LITERATURA

1 – Metabolismo lipídico

1.1 – Lipídios

O termo geral lipídios abrange um grupo de moléculas que têm como principal característica baixa solubilidade em água e solubilidade em solventes orgânicos apolares. Apresenta-se como um grupo heterogêneo de componentes incluindo óleos, gorduras, ceras e componentes correlatos, encontrados em alimentos e no organismo humano. Em termos químicos, os lipídios são uma mistura de compostos que partilham algumas propriedades baseadas em similaridades estruturais, principalmente uma preponderância de grupamentos apolares (CAMPBELL, 2000).

Estes grupos de compostos estão envolvidos em diversas funções biológicas. Gorduras e óleos são a principal forma de armazenamento de energia de muitos organismos sendo os lipídios constituintes de 50% das membranas celulares. Outros lipídios, embora estejam presentes em pequenas quantidades são constituintes de cofatores de muitas enzimas, pigmentos, agentes emulsificantes, transportadores de vitaminas lipossolúveis, hormônios e mensageiros intracelulares (KRAUSE et al., 1998).

1.2 - Colesterol

O colesterol (Figura 1) é um componente essencial das membranas estruturais de todas as células e é o principal componente do cérebro e células nervosas. Encontra-se em altas concentrações nos tecidos glandulares e no fígado, onde é sintetizado e armazenado. É importante intermediário na biossíntese de esteróides, como ácidos biliares, hormônios adrenocorticais, estrógenos, andrógenos e progesterona e vitamina D (KRAUSE et al., 1998).

Uma vez formado, o colesterol pode ser convertido a outros esteróides, com diferentes funções biológicas. O retículo endoplasmático liso é um local importante para síntese de colesterol e para sua conversão em outros esteróides. A maior parte do colesterol é formada no fígado, o local principal de sua síntese, e convertida a sais biliares como colato e glicolato. Esses compostos ajudam na digestão de gotículas de lipídios, emulsificando-as e tornando-as mais acessíveis para o ataque das enzimas (CAMPBELL, 2000). Sua importância fisiológica reside no amplo papel que desempenha no organismo animal, como componente estrutural da maioria das membranas celulares, precursor de vitamina D, hormônios esteróides e ácidos biliares (BRODY, 1994). Todos os tecidos animais em crescimento necessitam de colesterol para a síntese de membrana (NELSON e COX, 2000). Por outro lado, estudos prospectivos estabeleceram relações positivas entre excesso de colesterol sérico e coronariopatias (KRAUSE et al., 1998).

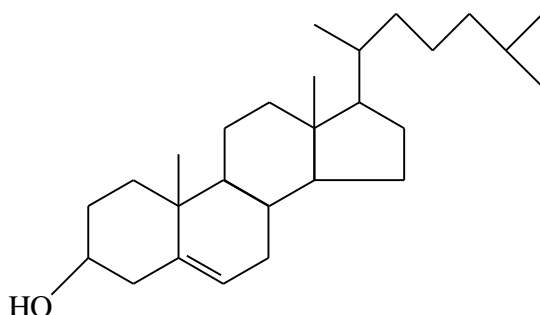


Figura 1 - Estrutura do colesterol

Fonte: STRYER, 1995.

Do total do colesterol presente no organismo, uma pequena fração é proveniente da dieta, por meio da ingestão de alimentos de origem animal, visto que plantas não produzem colesterol, embora sintetizem compostos similares como sitosterol, ergosterol e digitálicos, os quais são muito pouco absorvidos pelo organismo. Considerado dispensável na dieta, a maior parte do colesterol provém da síntese endógena, principalmente de origem hepática (BRODY, 1994).

O precursor de todos os átomos de carbono no colesterol (C_{27}) e nos esteróides derivados dele é o grupo acetil da acetil-CoA (CAMPBELL, 2000).

A síntese do colesterol (Figura 2) inicia-se com a condensação de três grupos acetila, produzindo β – hidroxil – β – metilglutaril – CoA (HMG-CoA), um composto de 6 átomos de carbono. A seguir, pela ação da enzima HMG-CoA redutase, forma-se o mevalonato. Esta reação é irreversível e considerada etapa limitante na síntese do colesterol. Esse passo é inibido por altos níveis de colesterol e serve como um alvo para drogas que reduzem níveis de colesterol no organismo (CAMPBELL, 2000).

O mevalonato é convertido, então, a uma unidade isoprenóide por reações de fosforilação, descarboxilação e desfosforilação. Esse composto é instável e após sofrer reações de descarboxilação e desfosforilação produz o isopentenil pirofosfato. A condensação de unidades isoprenóides conduz a produção de esqualeno, um composto de 30 carbonos, e, finalmente de colesterol.

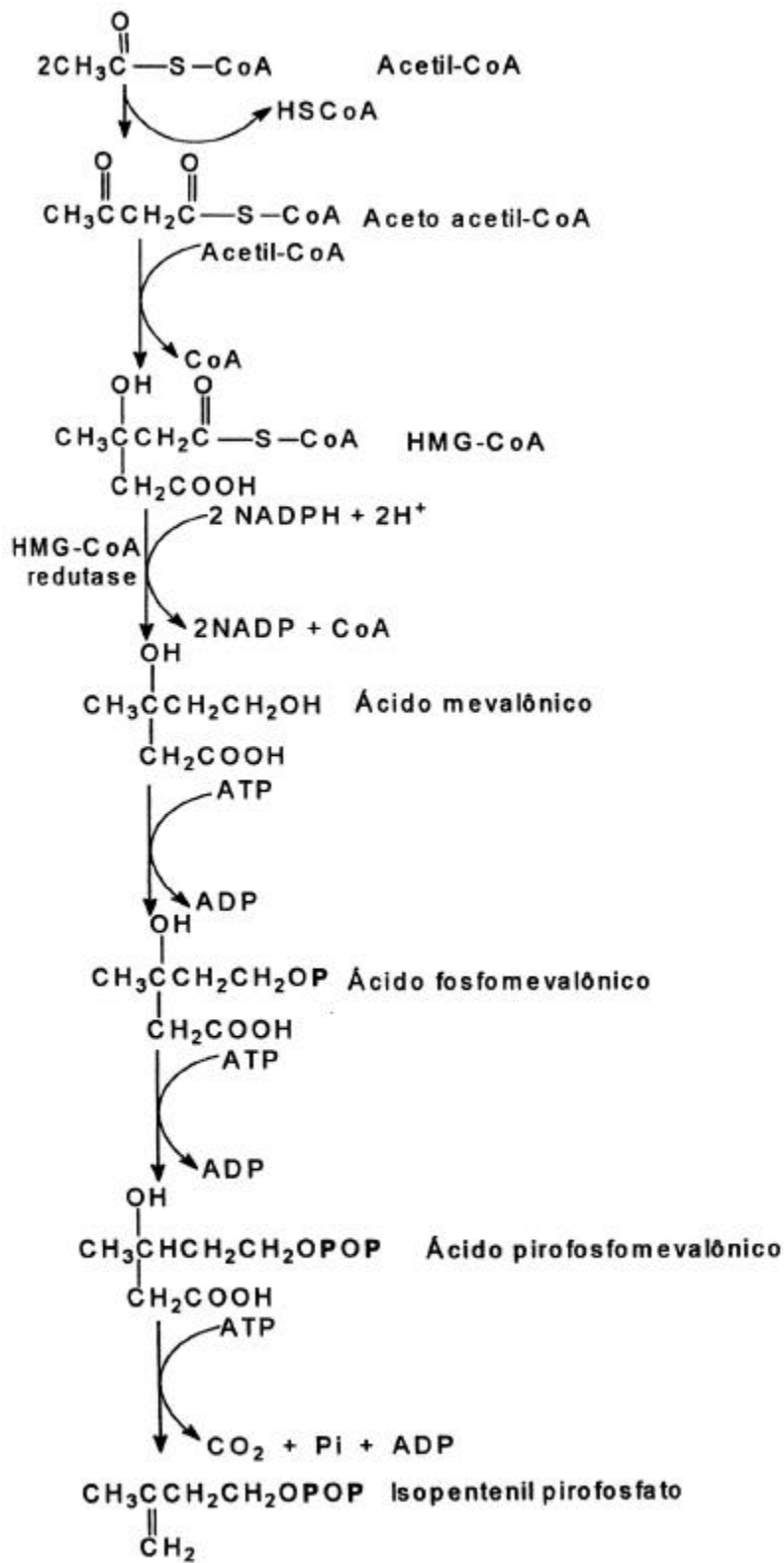


Figura 2 – Vias da biossíntese do colesterol

Fonte: BRODY (1994)

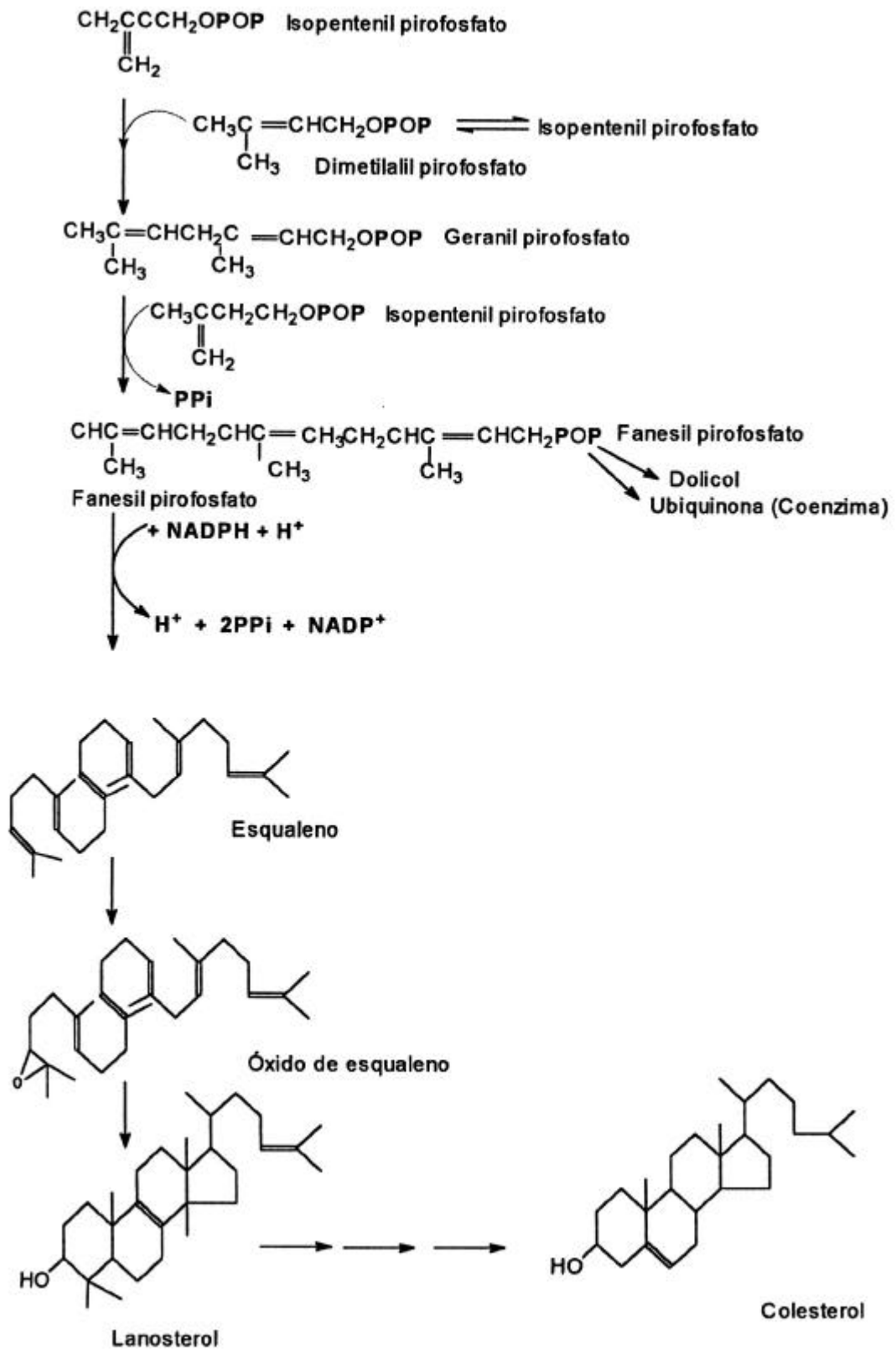


Figura 2 – continuação.

1.3 – Digestão e absorção de lipídios

A digestão de lipídios inicia-se no estômago sob a ação da lipase gástrica, que hidrolisa triacilgliceróis de cadeia curta em ácidos graxos e glicerol. A ação peristáltica do intestino delgado quebra os glóbulos de gordura em partículas menores, formando micelas com os componentes da bile facilitando a passagem dos lipídios através do meio aquoso do lúmen intestinal para a borda em escova (estrutura microvilar presente nas células da parede da luz intestinal). A ação emulsificante da bile facilita a digestão pela lipase pancreática. Observa-se a presença de uma proteína denominada colipase que mantém mais unida as lipases às micelas formadas (NELSON e COX, 2000).

O colesterol presente no trato gastrointestinal é derivado da dieta e da bile. A mucosa intestinal contribui com uma pequena quantidade. Calcula-se que adultos americanos consumam em média 400 a 500 mg/dia de colesterol e que a produção biliar esteja entre 800 a 1200 mg/dia em adultos normais. O colesterol biliar encontra-se completamente na forma livre, enquanto o colesterol dietético encontra-se principalmente na forma esterificada. Qualquer éster de colesterol que entra no intestino é rapidamente desesterificado pela enzima colesterol esterase pancreática, visto que o colesterol livre atravessa a membrana intestinal, mas não os seus ésteres (BRODY, 1994).

Antes da absorção, o colesterol deve ser solubilizado pelas micelas contendo sais biliares conjugados (GRUNDY, 1983). A solubilização do colesterol e dos outros produtos da digestão lipídica, através da incorporação em micelas mistas com sais biliares conjugados, é, no entanto, considerada essencial no processo de absorção. As micelas aumentam acentuadamente a velocidade de liberação desses produtos para a mucosa intestinal do jejuno, onde são absorvidos por difusão passiva, através das membranas das células epiteliais (SMITH et al., 1988).

A absorção intestinal do colesterol não é completa, sendo cerca de 50% absorvidos e o restante excretado nas fezes. O colesterol não absorvido pode ser metabolizado pela microbiota intestinal e convertido em colestanol e

coprostanol, os quais são muito pouco absorvidos e, portanto, eliminados nas fezes (MARINETTI, 1990).

Segundo GRUNDY (1983), vários fatores metabólitos podem ser considerados como determinantes de uma menor absorção de colesterol. Dentre eles destacam-se: a baixa quantidade de sais biliares; o aumento da velocidade do trânsito intestinal, com redução no tempo disponível para absorção; a redução na secreção da lipase pancreática; a deficiência na capacidade da mucosa intestinal em esterificar o colesterol; e a competição para absorção do colesterol biliar com o colesterol exógeno.

Outros fatores como dieta baixa em gordura podem reduzir a absorção do colesterol intestinal, pois ocorre uma redução na quantidade de ácidos graxos disponíveis para formação de micela (KRAUSE, 1998).

1.4 – Digestão e absorção de lipídios em coelhos

A capacidade digestiva do coelho é diferente dos demais animais domésticos. Esses animais são classificados como herbívoros não ruminantes, e têm tratos digestivos que possuem uma população microbiana que participa da digestão das fibras e dos vegetais (CHEEKE, 1995).

Informações sobre os pontos específicos da digestão dos lipídeos no coelho encontram-se de modo escasso. Provavelmente tem lugar fundamental no intestino delgado, onde se agregam a lipase e a bile. Os ácidos graxos insaturados consumidos pelos ruminantes, animais de metabolismo bem semelhante aos coelhos se hidrogenam no rúmen, convertendo-se em ácidos graxos saturados, fator este que determina o alto teor destes ácidos na carne destes animais. Não se sabe se esta hidrogenação tem lugar no intestino grosso do coelho, mas, como a absorção se realiza no intestino delgado, é pouco provável que se produza uma hidrogenação apreciável de gorduras insaturadas no coelho (CHEEKE, 1995).

Os ácidos graxos essenciais como o ácido linoléico, a-linolênico funcionam como componentes das membranas celulares e como precursores

das prostaglandinas. A partir de ácidos linoléico e α -linolênico podem ser sintetizados os outros ácidos da série ω -6 e ω -3, respectivamente, sendo estes classificados como um ácido graxo essencial primário. Deficiências de ácidos graxos essenciais no metabolismo de coelhos podem evidenciar sintomas como dermatites e crescimento lento destes animais (BLAS e WSEMEN, 1998).

Os coelhos possuem entre 40 e 50% de lipídios subcutâneos em relação aos lipídios totais presente em sua carne. Os níveis de lipídios intramusculares e peritoneais são diretamente proporcional à sua idade. (CHHEEKE, 1995).

Os triacilgliceróis provenientes da ração dos coelhos, sofrem um processo complexo de digestão e absorção, porém este processo é similar ao observado em outros não-ruminantes. Os triacilgliceróis são primeiramente emulsificados e depois hidrolisados pelas enzimas lipolíticas para finalmente serem absorvidas no lúmen do intestino delgado (BLAS e WISEMAN, 1998).

1.5 – Transporte de lipídios

Colesterol, triacilgliceróis e outros lipídios são transportados no organismo através das lipoproteínas plasmáticas (STRYER, 1996). Lipoproteínas são formadas por proteínas transportadoras específicas (apoproteínas) e lipídios, com combinações variadas de fosfolípidos, colesterol e triacilgliceróis (MONTEIRO e ROSADO, 1993).

Diferentes combinações de lipídios e proteínas produzem partículas com densidades diferentes, variando desde lipoproteínas com densidade muito baixa (VLDL) até lipoproteínas de densidade muito alta (HDL) (NELSON e COX, 2000).

As principais classes de lipoproteínas plasmáticas, considerando as maiores e menos densas até as menores e mais densas, são os quilomícrons, as lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), as lipoproteínas de densidade intermediária (IDL), as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e as lipoproteínas de alta densidade (HDL). Os quilomícrons são originados no

intestino e se constituem na principal partícula de transporte dos lipídeos da alimentação. As VLDL possuem formação hepática e iniciam o processo de transporte dos lipídeos chamados endógenos, das VLDL originam as LDL, quando libertam os triacilgliceróis. Quilomícrons e VLDL apresentam grandes proporções de triacilgliceróis, sendo que LDL e HDL transportam principalmente ésteres de colesterol. Diferenciando-se das demais lipoproteínas exógenas e endógenas, as HDL levam o colesterol dos tecidos periféricos para ser metabolizado pelo fígado (GOTTO, 1997).

As Tabelas 1 e 2 apresentam, respectivamente, a classificação e propriedades das lipoproteínas plasmáticas, e as principais funções das apolipoproteínas, assim, como seus locais de produção.

Tabela 1 – Classificação e propriedades das lipoproteínas plasmáticas

Classe de lipoproteínas	Lípídeos principais	Apolipoproteínas	Densidade (mg/mL)	Diâmetro (Å)
Quilomícrons	Triacilgliceróis da alimentação, ésteres de colesterol	A-I, A-II, A-IV, B-48, C-I, C-II, C-III, E	<0,95	800-5000
Quilomícrons Remanescentes	Ésteres de colesterol da alimentação	B-48, E	<1,006	>300
VLDL	Triacilgliceróis endógenos	B-100, C-I, C-II, C-III, E	<1,006	300-800
IDL	Ésteres de colesterol, Triacilgliceróis	B-100, E	1,006-1,019	250-350
LDL	Ésteres de colesterol	B-100	1,019-1,063	180-250
HDL	Ésteres de colesterol	A-I, A-II	1,063-1,125	90-120

Fonte: KWITEROVICHJR, 2000

Tabela 2 – Funções e locais de origem das apolipoproteínas (Apo-Lp)*

Apo-Lp	Função	Origem
A-I	Ativador de LCAT** e renovação celular do colesterol	Intestino e fígado
A-II	Inibe remoção celular do colesterol	Intestino e fígado
A-IV	Renovação de colesterol de macrófagos, diminui a remoção de VLDL	Intestino e fígado
B-100	Reconhece o receptor B-E	Fígado
B-48	Reconhece o receptor B-E e a 2-macroglobulina	Intestino apenas
C-I	Ativador da LCAT**	Fígado
C-II	Ativador da enzima lipoproteína lipase (LP)	Fígado
C-III	Inibidor da captação de VLDL e quilomícrons por receptores	Fígado
E	Reconhecimento por receptor	Fígado

* Fonte: QUINTÃO E NAKANDAKARE (1992)

** LCAT- Enzima lecitina-colesterol-acil-transferase.

1.6 – Composição das lipoproteínas

1.6.1 – Quilomícrons

Os quilomícrons são as lipoproteínas responsáveis pelo transporte dos lipídeos provenientes da dieta. Eles são sintetizados no intestino e contêm alta concentração de triacilgliceróis (NELSON e COX, 2000).

As apolipoproteínas dos quilomícrons incluem a apo B, apo A-II, apo C-II dentre outras conforme mostrado pela tabela 1. A lipase lipoprotéica é ativada pela apo C-II. Essa lipase é encontrada na superfície dos capilares do tecido adiposo, cardíaco e muscular esquelético e na glândula mamária em lactação, tem a função de hidrolisar os triacilgliceróis, permitindo a liberação de ácido graxos livres para esses tecidos.

Com a ação da lipase sobre os triacilgliceróis, ocorre uma diminuição do núcleo dos quilomícrons. Fosfolipídeos e colesterol livre são transferidos para a HDL (KWITEROVICHJR, 2000).

Os quilomícrons remanescentes podem interagir com o receptor da lipoproteína E na superfície de células hepáticas parenquimatosas, e serem captados por endocitose (KWITEROVICHJR, 2000; GOLDBERG et al., 1985). O resultado final do processo de transporte dos quilomícrons é levar o triacilglicerol do intestino ao tecido adiposo e o colesterol ao fígado.

A demora na remoção dos quilomícrons remanescentes pode promover aterogênese. Em pacientes normais, níveis pós-prandial de triacilgliceróis retornam ao nível basal oito a dez horas após a ingestão de gordura dietética. Por outro lado, pacientes com doença coronariana têm mostrado altas elevações no nível de triacilglicerol pós-prandial após alimentação gordurosa e demora retornar aos níveis basais, devido à pequena remoção de partículas de quilomícrons remanescentes (KWITEROVICHJR, 2000).

1.6.2 – Lipoproteínas de densidade muito baixa - VLDL –

A síntese de VLDL ocorre no intestino e fígado, sendo a maior parte das VLDL provenientes do fígado (KRAUSE et al., 1998)

Quando a dieta contém mais ácidos graxos que a quantidade imediatamente necessária como combustível, estes são convertidos em triacilgliceróis no fígado e unidos como apolipoproteínas específicas para formar as VLDL. Os carboidratos que chegam em excesso pela dieta, também podem ser convertidos em triacilgliceróis no fígado e exportados como VLDL (NELSON e COX, 2000).

As VLDL, além dos triacilgliceróis, contêm pequenas quantidades de ésteres de colesterol, bem como apo B-100, apo C-I, apo CII, apo CIII e apo E. Essas lipoproteínas realizam o transporte de triacilgliceróis do fígado para tecidos extra-hepáticos. Após a liberação dos ácidos graxos livres dos triacilgliceróis das VLDL, originam-se as IDL – lipoproteínas de densidade intermediária, que podem ser captadas pelo fígado, através dos receptores de apo B/E e degradados em seus componentes. O restante sofre a ação da lipase hepática, fazendo com que ocorra perda dos triacilgliceróis convertendo as IDL em LDL (KWITEROVICHJR, 2000).

1.6.3 – Lipoproteínas de baixa densidade – LDL

As LDL contêm mais ésteres de colesterol e colesterol livre no seu núcleo e apo B-100 na superfície, como principal apolipoproteína. São responsáveis pelo transporte de colesterol para os tecidos extra-hepáticos (NELSON e COX, 2000).

As partículas de LDL são captadas pela célula por meio de um processo altamente regulado de endocitose no qual uma porção da membrana celular contendo a partícula de LDL ligada a seu receptor é levada para o interior da célula (Figura 3). O receptor é devolvido à superfície da célula, ao passo que as partículas de LDL são degradadas nos lisossomos. A porção protéica da LDL é

hidrolisada aos aminoácidos constituintes, ao passo que os ésteres de colesterol são hidrolisados a colesterol e ácidos graxos. O colesterol livre pode ser usado diretamente como um componente de membranas. O colesterol não utilizado para a síntese de membranas pode ser armazenado como ésteres de oleato ou de palmitoleato, nos quais o ácido graxo é esterificado ao grupo hidroxila do colesterol. A produção desses ésteres é catalisada pela Acil-CoA-colesterol-acil-transferase (ACAT), sendo que presença de colesterol livre aumenta a atividade da ACAT. Além disso, o colesterol inibe tanto a síntese como a atividade da enzima HMG-CoA redutase. O colesterol proveniente da dieta suprime a síntese de colesterol endógeno, especialmente em outros tecidos que não o hepático. Um terceiro efeito da presença de colesterol livre na célula é a inibição da síntese de receptores de LDL. Como resultado da redução no número de receptores, a síntese intracelular de colesterol é inibida, e o nível de LDL no sangue é aumentado, podendo levar à deposição de placas ateroscleróticas (CAMPBELL, 2000).

Muitos tecidos são capazes de sintetizar todo o colesterol que necessitam, não dependendo da produção hepática ou da dieta como fonte de colesterol. Entretanto, nos períodos de divisão celular intensa, como no crescimento e na regeneração de tecidos, as células necessitam de grandes quantidades de colesterol. Órgãos como a glândula adrenal e as gônadas, que sintetizam hormônios esteróides, também necessitam de colesterol como matéria prima na biossíntese destes hormônios. Estas células expressam número maior de receptores de LDL em suas membranas plasmáticas para captação dessas partículas da corrente sangüínea. Assim, as células ajustam o número de receptores de LDL, em suas membranas, de acordo com suas necessidades de colesterol (BRODY, 1994).

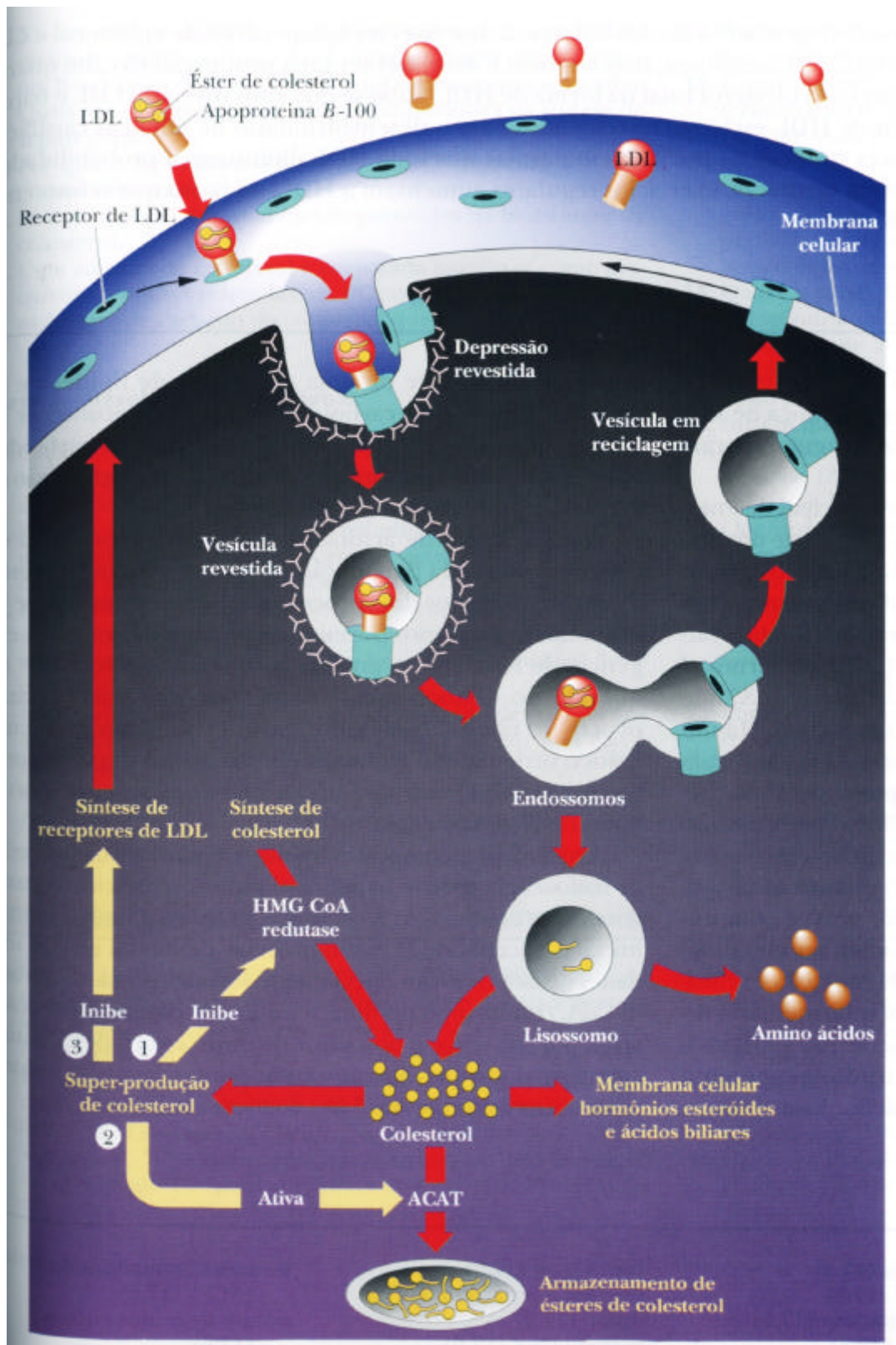


Figura 3 – Desenho esquemático do metabolismo de LDL

Fonte: CAMPBELL, 2000.

1.6.4 – Lipoproteína de alta densidade - HDL

Essas lipoproteínas são menores e consistem na maioria de proteínas e uma menor proporção de colesterol. São sintetizadas no fígado e intestino. São inicialmente sintetizadas na forma de um precursor, que com a incorporação de colesterol não-esterificado adquire a forma final da lipoproteína (NELSON e COX, 2000).

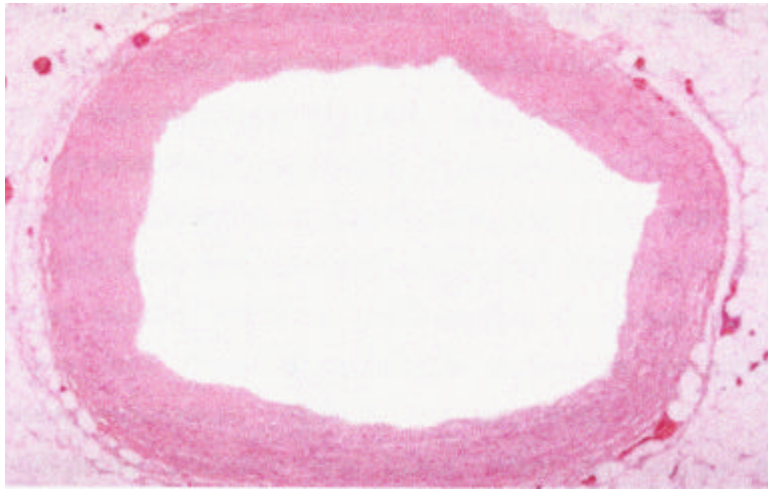
As lipoproteínas de alta densidade (HDL) são de fundamental importância pelo seu efeito protetor diante dos fenômenos aterogênicos. Ela é sintetizada no fígado como partículas pequenas ricas em proteína e contendo relativamente pouco colesterol e ésteres de colesterol. A LCAT é uma enzima sintetizada no fígado, exercendo sua função no plasma, onde esterifica o colesterol agregado à superfície da HDL. Esta enzima é ativada por Apo A-I, Apo A-II, possivelmente por Apo C-I e atua na transferência de um ácido graxo para a posição 3-beta-hidroxi do colesterol. Este por sua vez, deixa a interface com o meio aquoso (lipoproteína ou membrana celular) e é incorporado ao núcleo hidrofóbico da HDL (QUINTÃO, 1992; MARINETTI, 1990).

2 – Aterosclerose

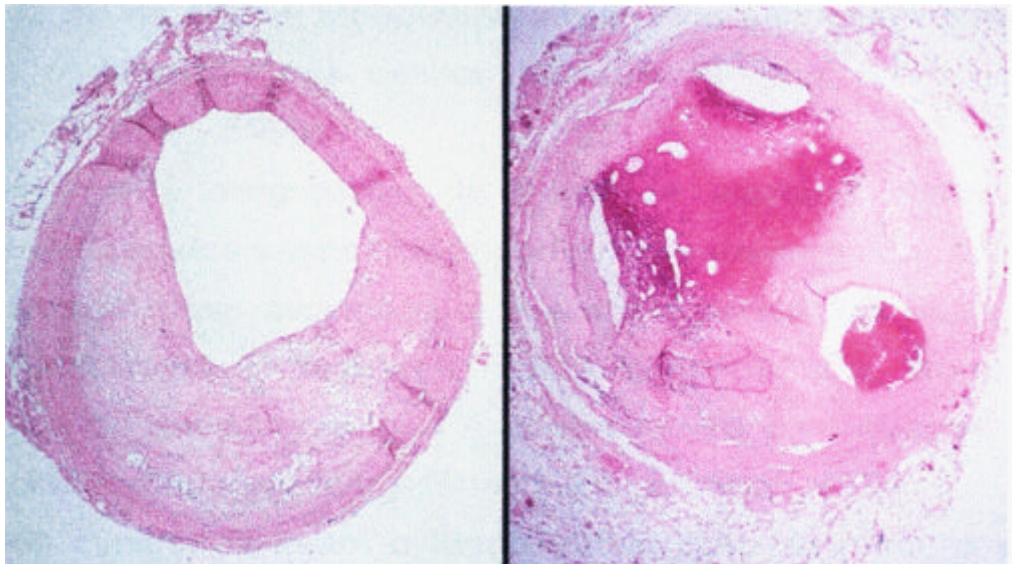
A aterogênese é um processo dinâmico, evolutivo, a partir de um dano endotelial de origem multifatorial, com característica de reparação tecidual.

A coronariopatia (CHD) caracteriza-se por um conjunto de doenças que envolvem a rede de vasos sanguíneos que circundam o coração e suprem o miocárdio. É a maior causa de óbito atualmente e responsável por 80% das mortes cardíacas.

As coronárias, como outras artérias no organismo, estão sujeitas à aterosclerose, que consiste em um espessamento da parede ou estreitamento do lúmen, provocados pela invasão de lipídios, primeiramente colesterol e outras substâncias, dentro da íntima, ou a camada interna, formando placas (Figura 4).



A - Lâmina de artéria coronária normal sem aterosclerose.



B - Representação de graus diferentes de oclusão da artéria proveniente da aterosclerose.

FIGURA 4 – Imagens comparativas de lâminas, mostrando uma artéria em sua integridade histológica (A) e artérias em estádios diferentes de aterosclerose (B).

Fonte: UNIVERSITY, 1999.

À medida que a placa aumenta, a artéria pode se tornar tão estreita que a circulação fica seriamente diminuída e pode ficar totalmente obstruída devido à formação de um coágulo (trombo). O coágulo pode ser formado por hemorragia da placa em si ou chegar ao local a partir de outro ponto do organismo. A artéria também pode sofrer um espasmo muscular que interfere na circulação. A isquemia resultante provoca um infarto ou morte da porção do miocárdio que fica privado de oxigênio e nutrição. A capacidade do coração de continuar batendo vai depender da extensão da musculatura envolvida, da presença e circulação colateral e das necessidades de oxigênio (KRAUSE et al., 1998).

2.1 – Papéis das lipoproteínas nas coronariopatias (CHD)

A etapa inicial das modificações na LDL causada nas células é a peroxidação de seus ácidos graxos poliinsaturados liberados dos fosfolípidios. Este processo é inibido por agentes antioxidantes. Há fortes evidências de que a peroxidação lipídica é processo mediado por radicais livres e catalisado em presença de metais de transição como ferro e cobre. Um dos eventos mais precoces na aterosclerose é a aderência de monócitos circulantes as células endoteliais da artéria. A LDL oxidada é um potente fator quimioestático positivo para monócitos e, ao mesmo tempo é um inibidor da mobilidade do macrófago.

Na presença de altos níveis de LDL no plasma, a concentração de LDL na íntima arterial aumenta e o maior número de partículas disponíveis no interstício arterial leva ao aumento na concentração de LDL oxidada. Essa, por sua vez, contribui para o recrutamento dos monócitos circulantes. Na parede arterial, os monócitos sofrem as modificações fenotípicas que os transformam em macrófagos, e, por ação quimioestática das LDLs oxidadas, são impedidos de retornar ao plasma. Uma vez que os próprios macrófagos podem modificar oxidativamente as LDL, a velocidade com que as LDL oxidadas são produzidas aumenta com o número de macrófagos no espaço subendotelial (KWITEROVICHJR, 2000).

As doenças degenerativas com implicações nutricionais por sua alta prevalência continuam representando sério problema de saúde pública em nosso país. Já é consensual que deva ser recomendada a utilização de medidas não farmacológicas no tratamento de doenças cardiovasculares. Nos últimos 30 anos, a atenção tem sido voltada, cada vez mais, para a relação da nutrição com as doenças degenerativas e seu desenvolvimento com eventos cardiovasculares. Embora esse interesse seja derivado, até certo ponto, do rápido aumento em número e longevidade da população, é também despertado pelo desejo de evitarem-se mortes prematuras por causas cardiovasculares. Das principais causas de óbito, na população adulta, várias estão associadas à dieta (LABRUNIE et al., 1997).

Um dos progressos mais importantes obtidos no controle e na prevenção das doenças ateroscleróticas em geral foi o aumento da precisão na identificação dos fatores de risco, o que permite que sejam feitas tentativas de impedir a aterogênese ou limitar sua progressão. Novos marcadores aterogênicos e interações entre esses fatores estão sendo pesquisadas e estudadas e as principais medidas preventivas são as alterações no estilo de vida e as intervenções farmacológicas. A modificação da dieta é o ponto central do tratamento da hipercolesterolemia (COSTA e MARTINEZ, 1997).

Diversos estudos epidemiológicos têm fornecido uma visão sobre os fatores de risco envolvidos na etiologia da doença cardiovascular esclerótica. Assim, entre os fatores de risco considerados de maior importância destacam-se a hipertensão arterial, as dislipidemias, a presença de hipertrofia ventricular esquerda, a obesidade, o diabetes melito e alguns hábitos relacionados ao estilo de vida, como dieta rica em calorias, gorduras saturadas, colesterol e sal, consumo de bebida alcoólica, tabagismo e sedentarismo (CERVATO et al, 1997; PASQUALUCCI et al., 1999a). Esses fatores de risco estão sumariamente apresentados no Quadro 1. Entretanto, se quisermos isolar um fator como preponderante na enfermidade cardiovascular aterosclerótica, este será sem dúvida a hipercolesterolemia (NEVES, 1997).

Quadro 1 – Fatores de risco na cardiopatia coronariana

Fatores que, conhecidamente, aumentam o risco e não são passíveis de intervenção preventiva
1- sexo masculino
2- idade avançada
3- história familiar de doença cardiovascular prematura
4- certos padrões de comportamento e características de personalidade
Fatores que acumulam o risco, os quais são, por si mesmo, entidades patológicas
1- hiperlipidemias
2- diabetes melittus
3- obesidade
4- hiperuricemia e gota
5- certas anormalidades eletrocardiográficas
Fatores que, conhecidamente, elevam os riscos e são devidos principalmente à cultura e aos fatores ambientais
1- tabagismo
2- hábitos dietéticos (elevada ingestão de gorduras saturadas, etc)
3- falta de exercício físico
4- riscos ocupacionais
Fatores menos bem demonstrados
1- estresse emocional e tensão
2- elevada ingesta de café
3- água “mole” (pobre em sais minerais)

Fonte: DAVIDSON, et al., 1979

Estudos realizados por Ignatowski, em 1908, mostram que coelhos alimentados com dieta rica em leite, ovos e carne desenvolviam lesões ateroscleróticas. Em 1919, Antischkow demonstrou que coelhos alimentados com dieta enriquecida com colesterol desenvolviam aterosclerose, estabelecendo a importante participação do colesterol na aterogênese. Desde essa época, diversos estudos em animais de experimentação e no homem têm demonstrado a relação entre elevados níveis de colesterol no plasma e doença arterial. No homem, especificamente, os níveis séricos aumentados da fração

LDL, se correlacionam com a presença de aterosclerose e, particularmente, com doença arterial coronária (PASQUALUCCI et al, 1999b).

Há aproximadamente 500.000 mortes por doenças coronarianas por ano nos EUA. O custo total de tratamento destas doenças é estimado anualmente 118 bilhões de dólares. Assim medidas preventivas que diminuam o desenvolvimento ou o progresso da doença aterosclerótica são também economicamente desejáveis (BATES, 2000; PEARSON, 1998).

As enfermidades do coração, sobretudo aquelas que se denominam de uma maneira geral enfermidades cardíacas degenerativas, em geral não têm cura; são graves e incapacitantes na sua fase final, levando a uma diminuição da qualidade e do tempo de vida. Elas figuram o primeiro plano no cenário mundial entre as causas de morbidade (NEVES, 1997).

3 – Fungos do gênero *Monascus sp*

Os povos asiáticos usam o produto da fermentação do arroz por fungos do gênero *Monascus* como corante e condimento na produção de alimentos, especialmente para coloração de carnes, peixes e aves (FINK-GREMMELS e LEISTNER, 1989).

Há milhares de anos, na China, segundo LIN (1973), fungos do gênero *Monascus* têm sido usados na indústria de fermentação para preparação de vinho tinto de arroz, vinho tinto Shao-Hsing e alimentos nativos, como o queijo de soja vermelho.

Segundo FRANCIS (1987), a fermentação do arroz por fungos do gênero *Monascus* produz uma massa vermelha, a qual pode ser usada como tal ou seca e na forma de pó, como corante.

Ang-khak (também conhecido na literatura como ang-kak, ankak, anka, ang-quac, beni-koji, aga-koji, arroz-vermelho ou arroz-vermelho chinês) é um produto da fermentação do arroz por *Monascus purpureus*, um dos fungos tradicionalmente usados no sul da China, Tailândia, Japão, Filipinas, Indonésia, e outros países asiáticos (WONG e KOEHLER, 1981).

Monascus purpureus foi primeiramente mencionado em “ Pen Chaw Kang Mu” – Shih-Chun Li (uma monografia da medicina chinesa), publicada em 1590, em que procedimentos da fabricação do arroz-vermelho fermentado, usando este fungo, foram descritos, em adição a atividades terapêuticas deste arroz. Doenças significativamente curadas pelo arroz-vermelho fermentado incluíam indigestão, contusão muscular, disenteria, e carbúnculo na medicina veterinária, etc. O arroz-vermelho fermentado foi também usado para preservar carnes antes da introdução da refrigeração (JUZLOVÁ et al., 1996; WONG e KOEHLER, 1981).

PALO et al. (1960) estudaram ang-kak e sua produção. O microorganismo foi isolado de amostras de ang-kak de um mercado de Manila (Filipinas) e identificado como *Monascus purpureus* went. Esses autores verificaram que essa estirpe de fungo em estudo apresentou bom crescimento na faixa de pH 3,5 a 7,5. A temperatura ótima para produção da cor vermelha no arroz por este fungo foi de cerca de 27°C. Diferentes qualidades de arroz comercial testada na produção de ang-kak mostraram-se igualmente satisfatórias. Dos diversos métodos testados para produção de ang-kak, o que apresentou melhores resultados foi o crescimento do fungo em arroz autoclavado, previamente deixado de molho por 24 horas, com adição de água estéril à cultura em tempos predeterminados, para manter sua umidade e o microorganismo num estado vigoroso de crescimento.

Três espécies do gênero *Monascus* pertencem ao grupo de fungos que produzem pigmentos: *Monascus pilosus*, *Monascus purpureus* e *Monascus ruber*, cuja taxonomia e cujos sinônimos em uso foram descritos por Hawksworth e Pitt (1983) (FINK-GREMMELS E LEISTNER, 1989) (Quadro 2).

Quadro 2 – Taxonomia do gênero *Monascus* (espécies reconhecidas e sinônimos correspondentes).

<i>Monascus pilosus</i>	<i>Monascus purpureus</i>	<i>Monascus ruber</i>
<i>M. pubigerus</i>	<i>M. albidus</i>	<i>Physomyces heterosporum</i>
<i>M. purpúreo</i>	<i>M. anka</i>	<i>M. heterosporus</i>
<i>M. rubropunctatum</i>	<i>M. araneosus</i>	<i>Eurotiopsis gagoni</i>
<i>M. serorubeszzenz</i>	<i>M. kaoliang</i>	<i>Allescheria gagoni</i>
	<i>M. major</i>	<i>M. barberi</i>
	<i>M. rubiginosus</i>	<i>M. fuliginosus</i>
	<i>M. vini</i>	<i>M. olei</i>
		<i>M. vtreus</i>
		<i>Bachusia terricola</i>

Fonte: FINK-GREMMELS e LEISTNER (1989)

Os fungos do gênero *Monascus* produzem, além de grande quantidade de enzimas hidrolíticas, como α -amilase, β -amilase, glicoamilase, protease e lipase, também pigmentos vermelhos, amarelos e purpúreos. Os principais pigmentos incluem: monascorubina, rubropunctatina, monascina, ankaflavina, rubropunctaminase e monascorubramina (LIN, 1973; WONG e KOEHLER, 1983).

A atividade antibacteriana de *Monascus purpureus* foi relatada por WONG e BAU (1997). Estirpes isoladas de arroz vermelho fermentado e algumas mutantes induzidas apresentaram atividade antibiótica a *Bacillus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* e *Enterococcus faecalis*.

WONG e KOEHLER (1981) estudaram a produção e o isolamento do principal composto com atividade antibacteriana produzido por *Monascus purpureus*, o monascidina A, e a sua relação com a produção de pigmentos,

verificando que a produção do antibiótico é usualmente acompanhada pelo aumento da produção de pigmentos.

FINK-GREMMELS e LEISTNER (1989) estudaram os pigmentos de *Monascus purpureus*, solúveis em metanol (extrato de ang-kak), quanto ao efeito tóxico e hipocolesteremiante em ratos. Esses autores concluíram que, em animais hiperlipidêmicos induzidos por alimentação, houve influência no metabolismo lipídico, manifestando-se como redução dos níveis de colesterol total, HDL-colesterol e triacilgliceróis plasmáticos. Efeitos tóxicos não foram verificados nos animais, utilizando-se 5 e 10g/kg de peso corporal do extrato de pigmentos.

Em 1979, ENDO descobriu que algumas espécies de *Monascus* podem produzir a substância Monacolina através da fermentação e que esta substância é inibidora da HMG-CoA redutase, a enzima chave da biossíntese de colesterol em humanos. A partir daí, várias publicações mostram que a monacolina é efetiva na redução do colesterol sanguíneo (<http://www.monascus.net>)

JAHN (1991) investigou amostras de extratos metanólicos de arroz fermentados por *Monascus purpureus* em testes, *in vitro*, para genotoxicidade. Testes para mutação de *Salmonella* apresentaram resultados positivos, entretanto outros testes apresentaram resultados negativos, concluindo esse autor que os extratos não apresentam genotoxicidade significativa.

FINK-GREMMELS et al. (1991) estudaram efeitos citotóxicos e genotóxicos de um extrato de *Monascus purpureus*. Enquanto a citotoxicidade não foi detectada, os extratos mostraram baixa genotoxicidade e apresentaram-se mutagênicos. No entanto, a genotoxicidade e mutagenicidade foram bem inferiores àquelas de compostos nitrosos formados em carnes curadas, o que levou esses autores a concluírem que extratos de *Monascus* podem ser uma alternativa para nitritos na produção de coloração vermelha em produtos cárneos.

Alguns autores citam a atividade antibiótica do extrato de *Monascus* e também efeito hipotensivo, nefrotóxico e supressor do crescimento de tumores *in vivo* (JUZLOVÁ et al., 1996; BLANC et al., 1995; MARTINKOVÁ et al., 1995).

A mevinolina é produzida comercialmente por fermentação em meio líquido, utilizando-se cepas da espécie *Monascus ruber*. As condições gerais de fermentação são: temperatura entre 25 e 30°C , pH entre 6,0 e 7,0, aerobiose, meio enriquecido com minerais, fonte de nitrogênio e carbono variadas e tempo de fermentação próximo de 10 dias. A produção da mevinolina no meio varia entre 10 e 20 µg/mL. Além da produção das monacolinas J e X (ENDO e HASUMI, 1985).

Segundo JUZLOVÁ et al. (1996), o gênero *Monascus* pertence à classe Ascomycetes e à família Monascales. Estes fungos são fontes de vários metabólitos secundários de estrutura policetídica, e das 124 estirpes de *Monascus* testadas, 17 demonstraram capacidade de produzir mevinolina.

O reconhecimento da importância da HMG-CoA redutase na regulação da biossíntese de colesterol leva a tentativas de identificar específicos e potentes inibidores para esta enzima. O primeiro sucesso foi obtido por ENDO et al, 1976 que isolaram e caracterizaram a mevastatina. Subseqüente a descoberta da mevastatina, descobriu-se outro e mais potente inibidor da HMG-CoA redutase – a lovastatina (mevinolina) que foi isolado de *Aspergillus terreus*, e independentemente, a monacolina K, *Monascus ruber* (ALBERTS, 1990).

Segundo ENDO et al. (1985), monacolina K (mevinolina), composto com ação hipocolesterolemizante, que especificamente inibe a enzima HMG-CoA redutase, foi isolada a partir de fungos *Monascus ruber* e *Aspergillus terreus*. No entanto, referência sobre a produção deste composto por *Monascus purpureus* não foi relatada.

A mevinolina, também conhecida como Monacolina K, Lovastatina, MB-530B, MK-803, MDS-803 é uma potente droga usada em humanos para reduzir os níveis de colesterol sanguíneo (JUZLOVÁ et al., 1996). A mevinolina é um produto da fermentação de fungos como *Aspergillus terreus*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium brevicompactum*, *Monascus ruber*, *Eupenicillium*, *Trichoderma* e *Pleurotus ostreatus* (YOSHIZAWA, et al., 1994).

A mevinolina (monacolina K) possui fórmula molecular $C_{24}H_{36}O_5$ e se apresenta na forma de um pó branco, solúvel em metanol, etanol, acetona, clorofórmio e benzeno e insolúvel em n-hexano e éter de petróleo.

O primeiro inibidor específico potente da HMG-CoA redutase foi o mevinolina (compactina ML-236B), que foi descoberto em 1976 por Endo et al.. Subseqüentemente, lovastatina, isolado de *Aspergillus terreus*. Lovastatina, o primeiro agente desta classe aprovado em uso clínico foi quimicamente modificado em sinvastatina. Sinvastatina é superior a lovastatina na potência de inibição. A caracterização farmacológica de lovastatina e sinvastatina tem demonstrado que eles são inibidores potentes da HMG-CoA redutase, especificamente inibindo a síntese de colesterol em células animais, após administração oral destes agentes (ALBERTS, 1990; ENDO, 1985a).

A mevinolina e sinvastatina são lactonas consideradas pró-drogas inativas que precisam ser enzimática ou quimicamente convertidas em suas respectivas formas abertas (diidroxiácido) para apresentar atividade inibitória da HMG-CoA redutase (Figura 5). Essa conversão enzimática ocorre eficientemente no fígado, e os estudos realizados em animais concluem que as lactonas são mais bem toleradas que os hidroxiácidos ativos. Estas duas pró-drogas lactônicas, que são muito eficazes no controle da hipercolesterolemia, possuem bom perfil de tolerância associado a uma boa complacência dos pacientes (ALBERTS, 1990).

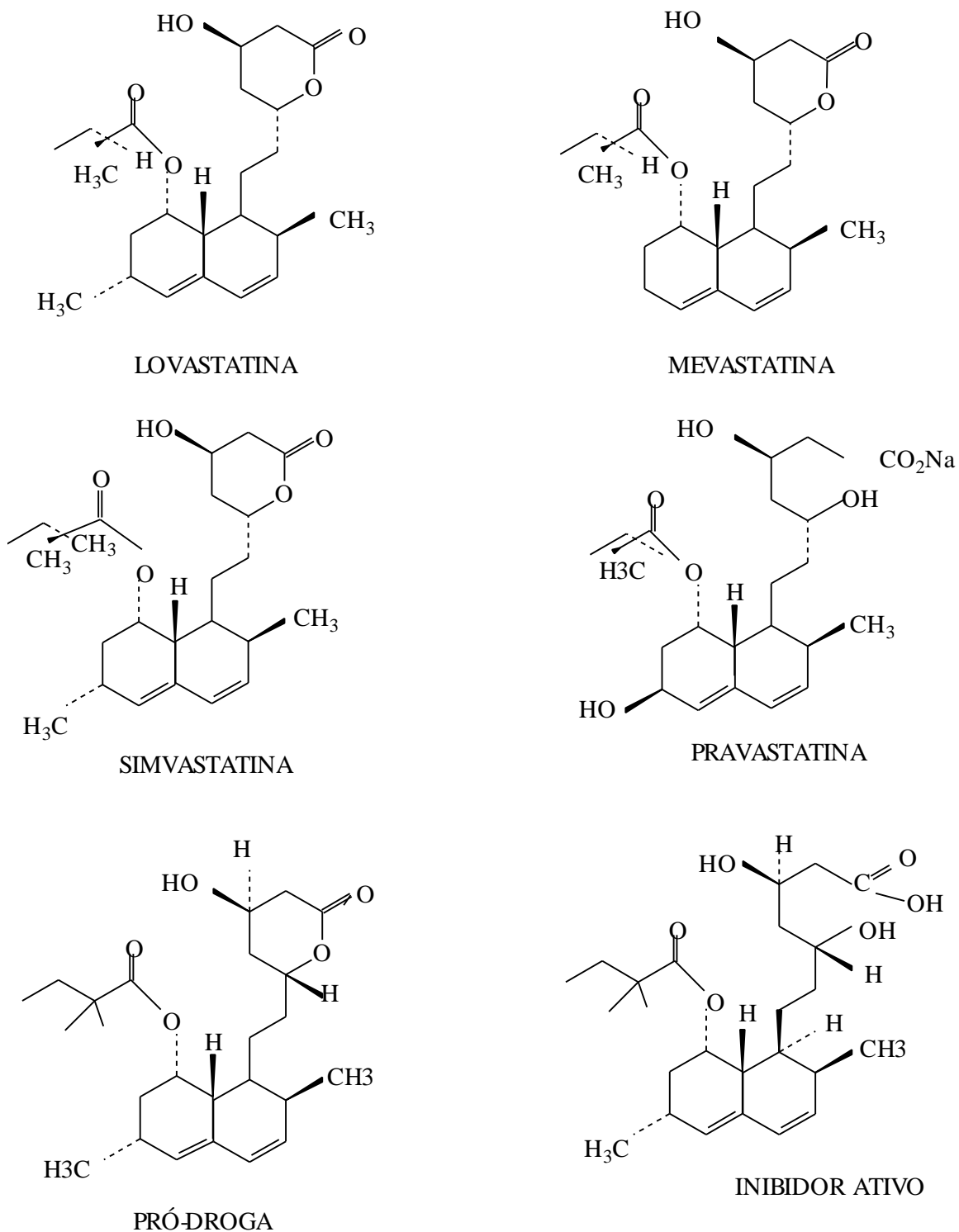


Figura 5 - Estrutura dos inibidores da HMG-CoA redutase, da pró-droga e da forma inibidora ativa da simvastatina.

Fonte: ALBERTS, (1990).

Além da mevinolina (monacolina K) existem outros compostos relacionados que são metabólitos secundários do fungo *Monascus ruber*, dentre eles monacolinas J, L, M e X (Figura 6) e esses compostos também inibem especificamente a enzima HMG-CoA redutase (NAKAMURA et al., 1990, ENDO et al, 1985).

Desde que ML-236B (compactina) foi isolado como potente inibidor da biossíntese de colesterol em 1976, vários compostos incluindo monacolinas J, K (mevinolina) e L foram descobertas em culturas de fungos incluindo *Monascus ruber*, *Penicillium citrinum* e *Aspergillus terreus* (ENDO et al, 1985).

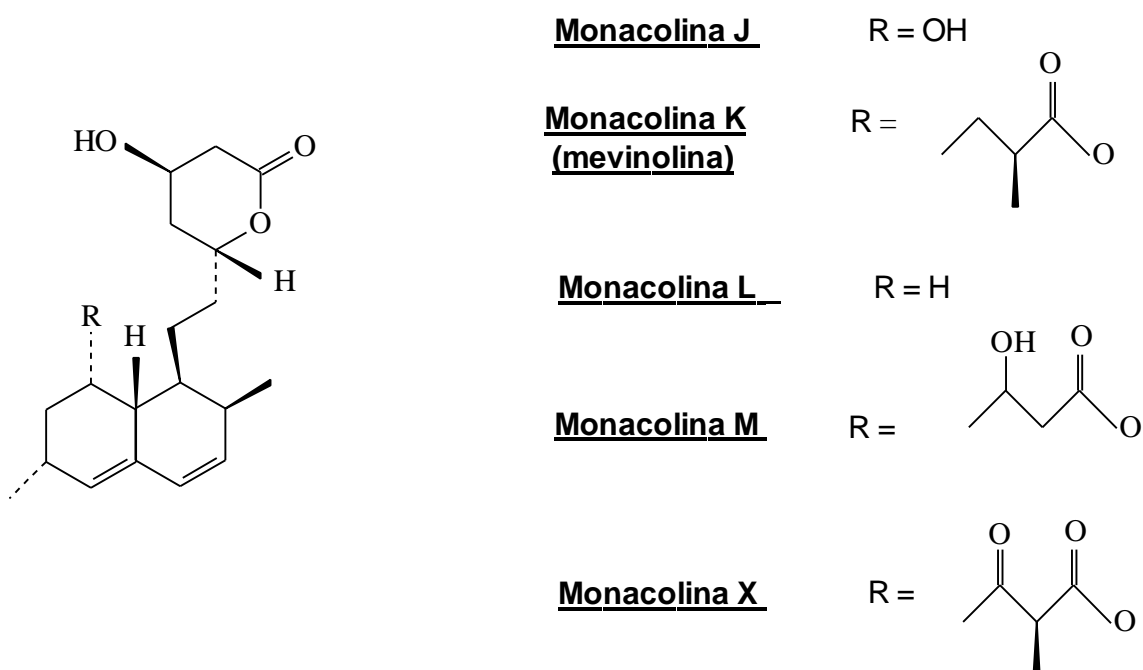


Figura 6 - Estrutura de diidromonacolina L, monacolina L, monacolina X e monacolina K

FORNTE: ENDO e HASUMI (1985).

Segundo ALBERTS (1990), a HMG-CoA redutase é uma enzima microsomal que catalisa a etapa dependente de NADPH para redução do HMG-CoA para ácido mevalônico. O mevalonato é intermediário para biossíntese de colesterol, sendo produzido a partir da acetil-CoA através de 3 enzimas chamadas de acetoacetil-CoA tiolase, HMG-CoA sintase e HMG-CoA redutase.

A inibição da HMG-CoA redutase pela mevinolina e compactina é do tipo competitiva em relação a HMG-CoA. A porção inibidora ativa desses compostos são os hidroxiácidos correspondentes ao substrato, no caso, o HMG-CoA, onde o anel lactônico é hidrolisado. O hidroxiácido da cadeia lateral da compactina e o da mevinolina se assemelham ao ácido mevalônico e, provavelmente, parte dos hidroxiácidos e desses compostos ocupe o sítio de ligação do HMG da enzima. A alta afinidade da mevinolina e da compactina pela HMG-CoA redutase se deve a interações simultâneas de duas áreas de ligações separadas: o domínio HMG e a região hidrofóbica, demonstrando assim que os compostos com interações simultâneas com dois sítios de ligações da enzima podem demonstrar altíssima constante de ligação (NAKAMURA e ABELES, 1985).

ENDO (1980) concluiu que a mevinolina é um inibidor específico da HMG-CoA redutase, e este é 4 a 5 vezes mais ativo que o ML-236B, em ambos os sistemas *in vitro* e *in vivo*.

KROON et al, (1982) avaliaram o efeito da mevinolina nos níveis séricos de colesterol em coelhos com hipercolesterolemia endógena. Verificou-se que os animais tratados com mevinolina por 39 dias, com doses administradas de 2mg/kg/dia, tiveram seus níveis de colesterol sérico reduzidos em 37% em média, enquanto doses de 6 mg/kg/dia resultaram num decréscimo de 48% quando comparados ao grupo controle

ZHU et al. (1992) avaliaram o efeito da mevinolina na supressão e regressão da aterosclerose em coelhos que consumiram dieta hiperlipídica e receberam doses diárias de 10 e 20 mg de mevinolina. Como resultado, foi constatado que a mevinolina é bem tolerada e eficaz no tratamento de hipercolesterolemia e suprime a aterosclerose aórtica e pulmonar.

O arroz fermentado por *Monascus ruber* tem sido utilizado em animais e em humanos para reduzir os níveis de lipídios séricos, pela atividade inibidora da HMG-CoA redutase e também por conter ácidos graxos insaturados, que podem ajudar na redução de lipídios séricos (WANG et al., 1997).

BROWN et al. (1978) demonstraram que a compactina também conhecida como ML-236B, é um potente inibidor competitivo da HMG-CoA redutase. Em extratos de fibroblastos humanos, a afinidade da enzima pelo ML-236B é aproximadamente 10.000 vezes maior que a afinidade para o substrato natural da HMG-CoA redutase.

4 – Tratamento das dislipidemias

Segundo ZANINI e OGA (1994), os estados dislipidêmicos podem se manifestar com hiperlipidemias ou hipolipidemias. No estágio atual dos conhecimentos científicos, reveste-se de grande relevância o tratamento das hiperlipidemias, principalmente tendo em vista a prevenção primária ou secundária da doença arterial coronariana (DAC), que tem na aterosclerose sua principal etiologia.

Os agentes antilipidêmicos, também chamados de agentes hipolipidêmicos, e hipocolesterolêmicos, são fármacos empregados no tratamento da aterosclerose (KOROLKOVAS e BURCKHALTER, 1988).

Após a tentativa de correção dos distúrbios lipídicos pelos métodos não farmacológicos (restrições dietéticas, inclusive perda de peso; atividade física regular; restrição de hábitos indesejáveis como alcoolismo e tabagismo), e não se atingindo os níveis desejados, está indicada a administração de medicamentos, tomando-se os cuidados de manter as orientações dirigidas a modificações do estilo de vida (ZANINI e OGA, 1994; KOROLKOVAS e BURCKHALTER, 1988).

Os medicamentos hipocolesterolêmiantes podem ser divididos em dois grupos principais:

a) de ação preponderante sobre a colesterolemia: inibidores enzimáticos da síntese do colesterol, resinas seqüestradoras de ácidos biliares, probucol.

b) de ação preponderante sobre a hipertrigliceridemia, com menor ação sobre hipercolesterolemia: fibratos, ácido nicotínicos e derivados, ácidos ômega-3.

4.1 – Inibidores da HMG-CoA redutase (estatinas)

De acordo com GOODMAN et al, (1996), um dos progressos estimulantes no tratamento da hipercolesterolemia foi a introdução de uma nova classe de compostos obtidos de fungos, que são potentes inibidores competitivos da HMG-

CoA redutase, a enzima que controla a velocidade na via de biossíntese de colesterol.

A **mevastatina** (originalmente denominada de *compactina*), o primeiro desses inibidores, foi isolada no Japão por ENDO em 1976. O composto foi obtido de culturas de espécies de *Penicillium*, e verificou-se que tinha a capacidade de inibir a síntese de colesterol em culturas de células humanas. Mais tarde, um composto relacionado estruturalmente, a **lovastatina** (também denominada mevinolina ou monacolina K), foi isolada de culturas de espécies de *Aspergillus* e *Monascus* (ZANINI e OGA, 1994). Recentemente, versões quimicamente modificadas destes compostos (pravastatina e sinvastatina) tornaram-se disponíveis para pesquisa clínica.

Cada um dos inibidores da HMG-CoA redutase é constituído de um sistema de anéis de hexaidronaftaleno com dois anexos, um éster metilbutirato e um hidroxiácido, que podem formar um anel lactônico de seis membros. O hidroxiácido é um análogo estrutural do intermediário semi-reduzido na reação da HMG-CoA redutase. A inibição da enzima é reversível e competitiva em relação ao substrato, HMG-CoA (GOODMAN et al, 1996).

A lovastatina é uma lactona inativa, cristalina, não higroscópica, branca, inodora, insolúvel em água e muito pouco solúvel em etanol, metanol e acetonitrila (QUINTÃO, 1992).

A lovastatina e sinvastatina são pró-drogas, inativas; após a ingestão oral, concentram-se predominantemente no fígado, onde se transformam em formas ativas (de lactonas para hidroxiácidos). Já a pravastatina exhibe o anel ácido, em sua forma ativa, não sendo necessária sua transformação (ZANINI e OGA, 1994).

4.1.1 - Efeitos sobre os lipídios e as lipoproteínas do plasma

Quando administrada como droga isolada a pacientes que consomem uma dieta com teor moderadamente baixo de colesterol, a lovastatina reduz a concentração plasmática de LDL-colesterol relacionada à dose. As reduções variam de 20% com 10mg ao dia até 40% com 80mg ao dia. Essa mudança

pode ser atribuída primariamente à diminuição do número total de partículas de LDL (GOODMAN et al, 1996). Além disso, verifica-se ligeira redução no conteúdo médio de colesterol de cada partícula de LDL. A quantidade de colesterol nas VLDLs também declina, possivelmente em virtude da redução no conteúdo de colesterol das VLDLs secretadas. As concentrações de triglicérides diminuem em até 25%. Tipicamente, a concentração de HDL-colesterol aumenta de 10 a 13%. (GRUNDY, 1983).

4.1.2 - Mecanismo de ação

Os inibidores da HMG-CoA redutase bloqueiam a síntese de colesterol no fígado, desencadeando com isso reações compensadoras que determinam uma redução os níveis plasmáticos de LDL.

Os inibidores da HMG-CoA redutase, inibem competitivamente esta enzima, bloqueando parcialmente a conversão de acetato em ácido mevalônico.

O estímulo da enzima HMG-CoA redutase está acoplado a um aumento do número de receptores de alta afinidade para as LDLs, os quais conduzem colesterol ao hepatócito. A menor disponibilidade de colesterol celular deve também contribuir para a diminuição da secreção de VLDL que é precursora das LDL (QUINTÃO, 1992).

5 – Parâmetros Bioquímicos do soro sanguíneo e suas variações nas desordens metabólicas

Creatinina

A creatinina é derivada da creatina, que foi formada por sua vez pelo nitrogênio proveniente do metabolismo de aminoácidos no fígado.

Quando os níveis de creatinina no plasma ultrapassam seu valor normal, os rins podem eliminar essa substância por excreção tubular ativa. A elevação do teor de creatinina no sangue se dá na insuficiência renal, na nefrite incipiente, na glomerulonefrite crônica, com uremia. Substâncias como uréia, creatinina e

ácido úrico são transportadas pelo sangue e eliminadas pelos rins (MILLER, 1999).

Ácido Úrico

O ácido úrico do plasma é filtrado pelos glomérulos e reabsorvido em seguida, pelos túbulos em proporção aproximada de 90%. Representa no homem o produto final do metabolismo das purinas. O teor de ácido úrico no plasma é influenciado por fatores extra-renais, além dos renais (MILLER e GONÇALVES, 1999).

Para a produção de ácido úrico contribui uma fração endógena pela desintegração constante das proteínas dos núcleos celulares, e outra “exógena”, a partir do metabolismo das purinas ingeridas (GORINA, 1996).

A dosagem de ácido úrico é muito útil no diagnóstico da doença gota. A hiperuricemia também é observada sempre que existe aumento do metabolismo das nucleoproteínas, como na leucemia e policetemia. O aumento dos níveis de ácido úrico no soro é achado constante na hiperuricemia idiopática familiar, da qual parece haver pelo menos dois tipos (um ligado à produção aumentada, outro, à excreção diminuída). Embora a diminuição do funcionamento renal se acompanhe, em geral, de aumento da concentração de ácido úrico no soro, esse exame é raramente utilizado nessa circunstância por causa da grande influência dos fatores extra-renais sobre os níveis de ácido úrico no soro (MILLER e GONÇALVES, 1999).

Transaminases

Constituem um grupo de enzimas que catalisam a interconversão de aminoácidos e alfa-cetoácidos por transferência de grupos amino. As duas transaminases de interesse clínico são a glutamato-oxalacetato (TGO), também chamada aspartato-transaminase (AST), e a de glutamato-piruvato (TGP), também chamada alanina-transaminase (ALT).

As transaminases são amplamente distribuídas nos tecidos, predominando a TGO no coração, fígado, músculo estriado, rim e pâncreas, e a TGP no fígado, rim e coração (MILLER e GONÇALVES, 1999).

Devido ao fato de serem enzimas intracelulares, em geral os níveis de TGP e TGO são muito baixos. Qualquer destruição significativa do tecido dá origem a níveis elevados de transaminase sérica. Por exemplo, no infarto do miocárdio, há um aumento no nível sérico de TGO. Há alterações dos níveis séricos de TGO e TGP em algumas doenças hepáticas (hepatite infecciosa, mononucleose infecciosa). Também foram encontrados altos níveis séricos desta enzima nas condições onde há lesão do músculo esquelético (BHAGAVAN, 1977).

Albumina

A albumina, cuja síntese se dá no fígado, desempenha funções biológicas diversas, dentre as quais incluem a ligação e o transporte de numerosas substâncias, tais como íons metálicos, aminoácidos, hormônios, ácidos graxos, bilirrubina, enzimas, drogas e metabólitos ou produtos tóxicos. Exerce igualmente um papel vital na preservação e na distribuição de água nos três compartimentos corporais. Seu peso molecular é de 68.000, o que significa que é a menor dentre as mais importantes moléculas protéicas. Em consequência disso, tende a se perder pela urina sempre que ocorre um dano nos glomérulos renais. A hipoalbuminemia é uma condição altamente inespecífica e acompanha numerosas doenças (MILLER e GONÇALVES, 1999).

Gama-glutamil-transferase (Gama-GT)

Esta enzima encontra sua maior concentração no tecido renal, mas seu significado clínico refere-se principalmente às doenças do fígado e das vias biliares, nas quais exibe grande sensibilidade. O aumento de atividade das chamadas “enzimas indicadoras de colestase” (gama-GT, fosfatase alcalina e leucina-aminopeptidase) deve-se provavelmente a uma maior síntese destas

enzimas no hepatócito e nos epitélios das vias biliares e também a um aumento simultâneo da permeabilidade celular a elas.

A gama-GT ligada á membrana celular encontra-se aumentada não apenas na colestase, mas também nas lesões hepáticas inflamatórias e tóxicas. A elevação da gama-GT é observada em mais de 90% dos casos de doenças do fígado e das vias biliares, representando, portanto, a alteração mais freqüente nessas patologias (MILLER e GONÇALVES, 1999).

Proteínas Totais

A determinação da taxa de proteínas totais do plasma e de suas frações assume extraordinária importância clínica, uma vez que a concentração protéica total nesse líquido orgânico é a responsável pela sua pressão coloidosmótica e as variações observadas nas diversas frações podem refletir doenças específicas e trazer valiosos subsídios para seu diagnóstico (MILLER e GONÇALVES, 1999).

Hiperproteinemia pode ser registrada nos seguintes casos, por exemplo: no mieloma múltiplo, hanseníase, artrite reumatóide, cirrose hepática esplenomegálica, linfogranuloma inguinal de Nicolas e Favre (MILLER e GONÇALVES, 1999).

Hipoproteinemias ocorrem nas seguintes circunstâncias: nas perdas renais por síndrome nefrótica, nos edemas, anorexia mental, infecções graves e prolongadas, esteatorréia por doença celíaca, anemias graves, nas perdas cutâneas por grandes feridas ou queimaduras extensas (GORINA, 1996).

Fosfatase Alcalina

Esta enzima encontra-se presente em praticamente todos os tecidos corporais, mas ocorre em níveis particularmente elevados no epitélio intestinal, túbulos renais, ossos (osteoblastos), leucócitos, fígado e placenta. Acredita-se que a enzima do soro proceda do fígado, embora existam muitas provas que apóiam sua possível origem no tecido ósseo (GORINA, 1996).

Na criança, os resultados são um pouco mais elevados do que nos adultos, por ser um período de crescimento e reparação óssea (MILLER e GONÇALVES, 1999; GORINA, 1996).

Os resultados patológicos mais elevados são observados nas osteopatias (tumores ósseos, raquitismo), no hiperparatireoidismo (havendo osteopatia) e nas icterícias obstrutivas. Níveis diminuídos de fosfatase alcalina ocorrem nos seguintes casos: hipotireoidismo infantil, escorbuto, doença celíaca (MILLER e GONÇALVES, 1999).

Bilirrubina

A bilirrubina é um pigmento resultante do catabolismo da hemoglobina, após a destruição (normal ou patológica) das hemácias. Ao passar pelo interior dos hepatócitos, a bilirrubina conjuga-se ao ácido glicurônico, transformando-se em mono e diglicurônico de bilirrubina, o que ocorre sob a ação de uma enzima específica, glicuroniltransferase. Assim, a bilirrubina encontra-se no plasma sob duas formas distintas: a) glicuronídeos de bilirrubina e b) bilirrubina livre, não esterificada. Os glicuronídeos são solúveis em água, ao passo que a bilirrubina livre é insolúvel, e está fortemente ligada às proteínas plasmáticas, especialmente à albumina (MILLER e GONÇALVES, 1999).

Somente a forma conjugada de bilirrubina (fração direta, solúvel em água) é eliminada pelo fígado e rim; a forma indireta não o é nem por um, nem pelo outro. Tal noção esclarece várias ocorrências fisiopatológicas de considerável importância clínica: a) na insuficiência da glicuronil transferase (icterícia fisiológica do recém-nascido) ocorre a hiperbilirrubinemia porque a bilirrubina indireta não se transforma em direta; b) nesse tipo de icterícia, bem como na hiperbilirrubinemia causada por hiper-hemólise, não há eliminação urinária de bilirrubina (urina clara), porque nesses casos, o pigmento retido no sangue é do tipo indireto; c) nas icterícias causadas por lesão hepatocelular ou hepatocanicular, bem como na obstrução biliar externa, está presente a eliminação urinária de bilirrubina (urina escura), já que o pigmento retido é do tipo direto (GORINA, 1996).

Fósforo

Sua maior concentração ocorre nos ossos e dentes onde encontra-se combinado com o cálcio, todavia ocorre em menor quantidade nos demais tecidos e líquidos do organismo (MATOS e MATOS, 1995).

O teor de fosfato inorgânico no plasma circulante é influenciado pelo hormônio paratireóideo, absorção intestinal, funcionamento renal e metabolismo ósseo. A absorção intestinal do fosfato está intimamente condicionada a do cálcio, pois, a permanência deste no intestino resulta na formação de fosfatos insolúveis que se perdem nas fezes. A absorção de fosfato depende indiretamente da presença de vitamina D. O hormônio paratireóideo exerce sobre a fosfatemia uma influência oposta à exercida sobre a calcemia, isto é, tende a reduzir a fosfatemia, por aumentar a excreção renal de fosfato, a despeito de causar mobilização do mesmo a partir dos ossos. O baixo nível de fosfato observado no raquitismo prende-se à sua má absorção intestinal, bem como ao aumento da excreção urinária devida à exaltação da atividade da paratireóide. Existe uma relação recíproca entre cálcio e fósforo. Todo aumento de fósforo no soro causa diminuição do cálcio por um mecanismo ainda não bem compreendido. O melhor exemplo desta situação é o aumento da fosfatemia na insuficiência renal, do que resulta hipocalcemia (MILLER e GONÇALVES, 1999).

Cálcio

Participa ativamente da contração muscular, coagulação sanguínea, permeabilidade das membranas, transmissão de impulsos nervosos. Sua maior concentração ocorre nos ossos e dentes, todavia ocorre em todos os tecidos. O teor de cálcio sérico é influenciado pela ação da vitamina D e do paratormônio; a primeira influencia na absorção do cálcio e o paratormônio determina a liberação de cálcio dos ossos (MATOS e MATOS, 1995).

A hipercalcemia é pouco freqüente e ocorre quando há:excesso de vitamina D, hiperparatireoidismo primário, alguns carcinomas ósseos, mieloma múltiplo, sarcoidose, hiperproteinemia. A hipocalcemia ocorre em: raquitismo,

osteomalacea, deficiência de vitamina A e D, hipoparatroidismo, inanição, acetonemia (MATOS e MATOS, 1995).

Cloreto

O cloreto é o principal anion inorgânico do líquido extracelular. Desempenha importante papel na manutenção do equilíbrio ácido-base. Juntamente com o sódio, desempenha papel fundamental também na manutenção da osmolaridade dos líquidos corporais (MILLER e GONÇALVES, 1999).

O cloreto é o ânion extracelular de maior concentração. Em razão da neutralidade eletroquímica, o cloreto não varia inversamente ao bicarbonato. Sua mensuração fornece a menor parcela de informação clínica entre os eletrólitos. A hiperclorêmia está associada a desidratação e a acidose tubular renal. Diminuições nas concentrações ocorrem na acidose metabólica e na êmese prolongada (alcalose metabólica hipoclorêmica e hipocalêmica).

Ferro

O ferro que circula no plasma está ligado a uma proteína especial denominada transferrina, cujas moléculas têm a capacidade de fixar dois átomos desse metal sob a forma férrica. Assim, a dosagem do ferro sérico está vinculada à da transferrina. O teor plasmático desta proteína é quantificada na prática em termos de quantidade de ferro que pode fixar, valor que é chamado de “capacidade total de fixação de ferro”. Em indivíduos normais, apenas cerca de um terço dessa capacidade é aproveitada. Isso significa que a quantidade de ferro contido no plasma em condições normal, nunca, é suficiente para saturar toda a transferrina nele existente, restando sempre, portanto, “uma capacidade latente de fixação de ferro” no plasma. O ferro sérico está baixo nos estados de carência de ferro e na anemia de doença crônica; está alto nas anemias hemolíticas e sideroblásticas, bem como nos estados de sobrecarga de ferro (MILLER e GONÇALVES, 1999).

Magnésio

O magnésio pode ser encontrado associado às proteínas e em forma de íons livres, todavia uma pequena parte encontra-se unida a ânions orgânicos (citrato). Este elemento exerce ação importante na produção e destruição da acetilcolina. Os bovinos e ovinos são as espécies mais suscetíveis aos distúrbios do magnésio. A hipomagnesemia determina tetania (MATOS e MATOS, 1995).

III - MATERIAIS E MÉTODOS

1 – Microorganismo

No presente trabalho utilizou-se a cepa do fungo filamentosso *Monascus ruber* CCT1236, adquirida da Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia André Tosello, Campinas, SP.

1.1 Conservação da cepa

A conservação da cepa foi feita em meio PDA. No preparo desse meio utilizou-se Ágar de Batata Dextrosado (da marca Biobrás®). Foram pesados 4g deste ágar e em um Becker de 200mL adicionaram-se 100mL de água destilada para hidratar por um período de 15 minutos. Depois de hidratada, esta solução foi aquecida agitando constantemente e ficou sob fervura por 1 minuto. Adicionaram-se 10mL desta solução em tubos de ensaio, que foram tampados com rolhas de algodão, envolvidas em papel alumínio. Os tubos de ensaio com o meio PDA foram esterilizados em autoclave a 120°C por 15 minutos. Após a esterilização, os tubos foram resfriados à temperatura ambiente e inclinados (agar inclinado).

Depois de resfriado o meio PDA, foi feita a repicagem da cepa e acondicionada em estufa incubadora à 28°C por 7 dias sendo, após este período, armazenado em geladeira.

2 – Produção do Arroz Fermentado

Para produção do arroz fermentado foram inicialmente pesados 100g de arroz marca Candy, parbolizado, longo fino, tipo 1 e colocados em erlenmeyer de 250mL. Em cada frasco adicionaram-se 60mL de uma solução 0,05% de MgSO₄, 0,05% de KH₂PO₄ e 0,5% de NH₄Cl, para enriquecimento do meio e elevação do teor de umidade para aproximadamente 45%. Os erlenmeyers foram vedados com rolhas de algodão, sendo estas envolvidas em papel alumínio e, deixados em repouso por 15 horas, para que se obtivesse uma umidade mais homogênea do grão. Após este período, os erlenmeyers foram esterilizados em autoclave à 120°C por 20 minutos, e então, resfriados à temperatura ambiente por 3 horas.

Depois de resfriados, os meios foram inoculados com as cepas mantidas em tubos de ensaio com PDA. Para o processo de inoculação foram adicionados 10mL de água destilada esterilizada nos tubos contendo a cepa (*Monascus ruber*), que foram agitados manualmente. A inoculação foi realizada utilizando-se de uma pipeta esterilizada e adicionando-se 1mL da suspensão de esporos em cada erlenmeyer contendo o arroz. Em seguida, os frascos foram agitados manualmente e colocados em estufa incubadora a 28°C por 13 dias.

Depois de fermentado (Figura 7), o arroz foi separado em bandejas de polietileno, e colocado em estufa com circulação de ar à temperatura de 65°C, durante 24 horas. Depois de resfriado, o arroz foi triturado em multiprocessador e a farinha obtida (Figura 8) foi utilizada como parte da dieta experimental dos animais.



Figura 7 – Arroz fermentado

Figura 8 – Arroz triturado

3- Análise centesimal do arroz branco e fermentado

As análises de teor de umidade, cinzas e lipídios totais foram realizados conforme métodos recomendados pelas normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

O teor de umidade foi determinado pela secagem direta a 105°C até peso constante e as cinzas por incineração a 550°C.

A quantificação dos lipídios totais ou extrato etéreo foi feita por pesagem do resíduo seco, após extração com éter etílico, em extrator soxhlet por 6 horas.

O teor de proteínas foi avaliado pelo método semimicro kjeldahl descrito por SILVA, 1981.

O teor de carboidratos foi calculado por diferença percentual, subtraindo-se do total da soma de proteínas, lipídios, cinzas e umidade.

4 - Ensaio Biológicos

Os ensaios biológicos e as dosagens bioquímicas foram realizados no Laboratório de Biofármacos do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG.

Todos os ensaios biológicos foram efetuados com coelhos machos da raça Nova Zelândia, com idade de 50 dias, pesando em média 1.700g adquiridos do setor de Cunicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa. No período experimental, os animais permaneceram em gaiolas individuais, apropriadas, com ventilação natural. No período de sete dias de adaptação, ou seja, antes de se iniciar o tratamento, os animais receberam 100g/dia de ração comercial SOCIL e água à vontade.

4.1 – Modelo experimental do ensaio biológico com hiperlipidemia induzida

Para esse ensaio biológico, realizado com o objetivo de testar o potencial hipolipidêmico do arroz fermentado por *Monascus ruber*, foram utilizados 36 coelhos. Os testes foram executados utilizando 6 animais por grupo.

Para que a indução da hiperlipidemia fosse obtida, foi incorporada à dieta dos animais, exceto para o grupo 1 controle, colesterol 1% da marca VETEC.

Para melhor aproveitamento das substâncias testadas, a ração foi triturada antes de ser administrada aos animais e então, realizada a mistura da ração com o arroz fermentado e não fermentado.

O pó seco do arroz fermentado e não fermentado utilizado como parte da dieta experimental, foi misturado à dieta dos animais nas concentrações de 1%, 5% e 10% .

A Tabela 3 demonstra a distribuição dos animais em cada grupo e substâncias administradas.

Tabela 3 – Distribuição dos animais em cada grupo e seus respectivos tratamentos

Grupo	Tratamento
G1	Ração
G2	Ração + colesterol (1%)
G3	Ração + colesterol (1%) + arroz sem fermentar 10%
G4	Ração + colesterol (1%) + arroz fermentado 1%
G5	Ração + colesterol (1%) + arroz fermentado 5%
G6	Ração + colesterol (1%)+ arroz fermentado 10%

As dosagens dos constituintes sanguíneos colesterol-total, triacilgliceróis, colesterol-HDL, colesterol-LDL e colesterol-VLDL e glicose foram realizadas em três etapas. Inicialmente após 7 dias de adaptação dos animais, caracterizando o tempo zero, após 15 dias de tratamento e com 30 dias concluídos sob o tratamento descrito. Os animais encontravam-se em jejum de doze horas e a coleta de sangue foi efetuada pelo plexo venoso retro-orbital utilizando-se tubo capilar, conforme ilustra a Figura 9.

As amostras de sangue dos animais foram centrifugadas a 7100 x g, durante 15 minutos para a obtenção do soro. As dosagens sorológicas foram efetuadas no equipamento de dosagens multiparamétrico de Bioquímica (Alizé), utilizando-se kits enzimáticos da marca BioMérieux.

Os animais foram pesados nos tempos 0, 15 e 30 dias, antes da coleta de sangue.

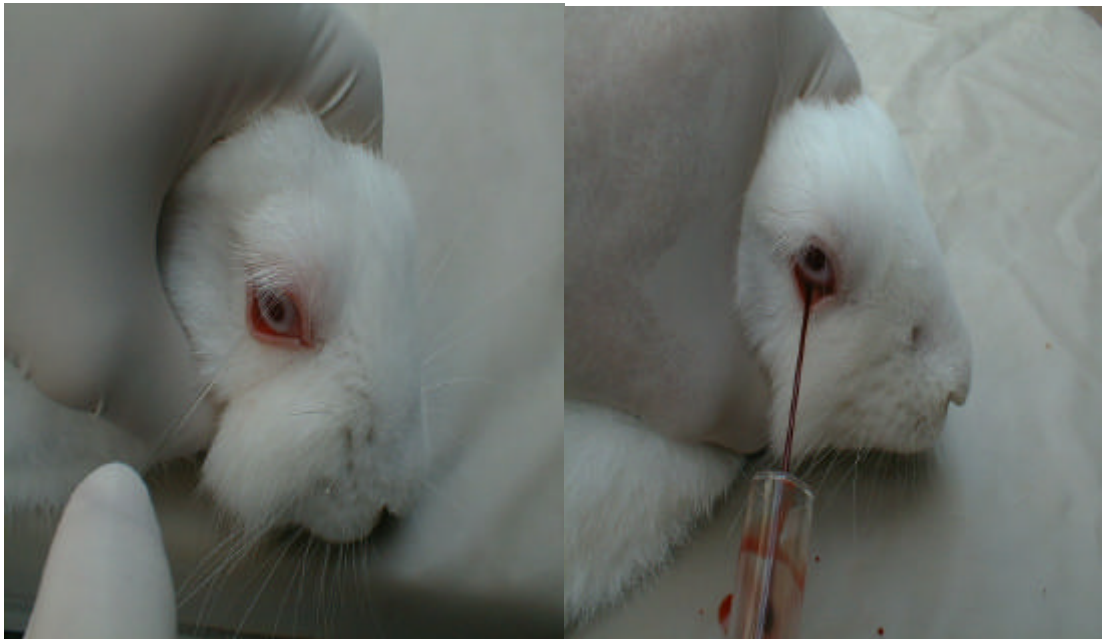


Figura 9 – Modelo de coleta de sangue em coelhos pelo plexo venoso retro-orbital.

3.2 – Modelo experimental para ensaio de toxicologia aguda de 30 dias

Para o ensaio biológico de toxicologia, realizado com o objetivo de avaliar o efeito do arroz fermentado por *Monascus ruber* no metabolismo de coelhos. Utilizou-se 18 coelhos machos, da raça Nova Zelândia branco, com idade de 50 dias, pesando em média 1700g. A avaliação dos possíveis efeitos toxicológicos foi efetuada a partir das dosagens de creatinina, ácido úrico, proteínas totais, albumina, bilirrubina direta e total, gama glutamil transferase (gama-GT), fosfatase alcalina, das enzimas transaminase glutâmico-pirúvica (TGP), transaminase glutâmico-oxaloacética (TGO), ferro, cloro, fósforo, magnésio, cálcio.

A Tabela 4 demonstra a distribuição dos animais em cada grupo e substâncias administradas.

Tabela 4 – Distribuição dos animais em cada grupo e seus respectivos tratamentos

Grupo	Tratamento
T1	Ração
T2	Ração + arroz sem fermentar 10%
T3	Ração + arroz fermentado 10%

As dosagens desses constituintes sanguíneos foram realizadas em três etapas. Inicialmente após 7 dias de adaptação dos animais, caracterizando o tempo zero, após 15 dias de tratamento de com 30 dias concluídos sob o tratamento descrito. Os animais encontravam-se em jejum de doze horas e a coleta de sangue foi efetuada pelo plexo venoso retro-orbital utilizando-se capilar.

As amostras de sangue dos animais foram centrifugadas a velocidade de 7100 x g, durante 15 minutos para a obtenção do soro. As dosagens sorológicas foram efetuadas no equipamento de dosagens multiparamétrico de Bioquímica (Alizé), utilizando-se kits da marca BioMérieux.

4 - Análise estatística

Os resultados obtidos dos ensaios biológicos foram analisados pelo teste de Tuckey (comparação entre as médias), teste de Dunnett (comparação de cada grupo com os grupos controles) e teste F (comparação entre os grupos controles).

5 – Análise morfológica

Para pesquisar a deposição de colesterol e triglicerídeos foram coletados fragmentos de fígado e coração assim como da região inicial da aorta, até o arco

aórtico. Pequenos segmentos desses órgãos, com no máximo 3 mm de espessura, foram fixados em glutaraldeído 4% em tampão fosfato de sódio 0,1M e pH 7,4, por 4 horas, a 4°C. Após esse período os fragmentos foram transferidos para o mesmo tampão e armazenados sob refrigeração até o processamento.

O material coletado foi desidratado em série etanólica crescente e incluído parafina. Os fragmentos foram seccionados em micrótomo rotativo, com navalha de vidro, na espessura de 4 μ m e fixados em lâminas de vidro. Os cortes foram corados com hematoxilina-eosina e analisados em microscópio de luz.

IV – RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 – Caracterização do arroz fermentado por *Monascus ruber*

Os resultados da análise centesimal do arroz são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4 – Caracterização centesimal do arroz fermentado e não fermentado

Composição Centesimal	Arroz não fermentado	Arroz fermentado
Umidade	6,65	14,13
Proteínas	9,40**	23,16**
Lipídios	0,47**	4,25**
Cinzas	0,85**	1,07**
Carboidratos*	89,28**	71,52**

* Calculado por diferença.

** Em base seca

Para que a fermentação se desenvolvesse de maneira adequada o arroz foi umedecido até aproximadamente 45% de umidade. Em seguida o arroz foi seco a 65°C a fim de preservar os possíveis princípios ativos.

A secagem a esta temperatura não foi suficiente para retirar a água mais fortemente ligada à matriz do arroz, o que explica o teor de umidade mais elevado.

A fermentação promoveu um aumento dos teores de proteínas e lipídios ao mesmo tempo em que provocou uma diminuição do teor de carboidratos. Os valores de 23,16% de proteína e 4,25% de lipídios, encontrados no presente trabalho para o arroz fermentado por *Monascus ruber* estão de acordo com a literatura que relata valores médios de 20 a 26% e 4 a 5%, respectivamente para proteínas e lipídios (<http://www.monascus.net>)

4.2 – Efeito hipocolesteremiante do arroz fermentado por *Monascus ruber*

4.2.1 – Efeitos do arroz fermentado nos níveis de colesterol total

De acordo com a tabela 5, no tempo zero, os grupos controles G1 (ração) e G2 (ração + colesterol) apresentam valores diferentes pelo teste F ($p < 0,05$). Já os grupos tratados G3, G4, G5 e G6 não mostram diferenças significativas. Observa-se também que o grupo G3 possuía uma diferença significativa em relação aos grupos controles.

Aos 15 dias, os grupos controles apresentavam diferença significativa ($p < 0,05$). Observou-se que o grupo tratado apenas com ração e colesterol (G2) teve um aumento percentual nos níveis de colesterol de 3371,47% em relação ao grupo que recebeu somente ração (G1), constatando, assim, que o colesterol a 1% foi eficaz na indução da hipercolesterolemia, como em um estudo realizado por GRUNDY (1983). Os grupos G5 e G6, os quais receberam uma dose maior de arroz fermentado, apresentaram variações dos níveis de colesterol significativamente menores daqueles do grupo controle G2.

Aos 30 dias, o aumento da colesterolemia dos animais do grupo 2 chegou a 4.487,00 mg/dL, com uma porcentagem de variação de 4.760,79% em relação do grupo G1. Segundo GRUNDY (1983), com a adição de 1% de colesterol na dieta de coelhos, os níveis plasmáticos de colesterol podem chegar até 5.000,00 mg/dL.

Com este experimento observou-se que o arroz fermentado nas porcentagens de 1, 5 e 10% foi eficaz na redução dos níveis de colesterol total em 19,25%; 30,96% e 37,14% em relação ao grupo 2, hipercolesterolêmico, após 30 dias de consumo das dietas, ou seja, a redução do colesterol sanguíneo foi dose-dependente. No entanto, os níveis sanguíneos de colesterol permaneceram elevados quando comparados com o grupo controle, que não recebeu colesterol na dieta.

Tabela 5 – Níveis médios de colesterol total e percentual de variação em relação aos grupos-controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 30 dias.

Tempo	Tratamento	Colesterol total (mg/dL)	% de variação	
			G1	G2
0	G1 = Ração	83,78 ± 5,46 B	-	-
	G2 = Ração	96,17 ± 3,00 A	+ 14,78	-
	G3 = Ração	148,83 ± 29,48 a	+ 77,64*	+ 54,75*
	G4 = Ração	96,43 ± 12,73 a	+ 15,10	+ 0,27
	G5 = Ração	94,43 ± 6,74 a	+ 12,71	- 1,81
	G6 = Ração	110,23 ± 8,37 a	+ 31,57	+ 14,62
15	G1 = Ração	93,73 ± 8,55 B	-	-
	G2 = R +C	3401,00 ± 141,31 A	+ 3371,47*	-
	G3 = R + C +AB (10%)	3264,17 ± 258,63 a	+ 3239,99*	- 4,02
	G4 = R + C + AV (1%)	2999,17 ± 274,15 a	+ 2968,83*	- 11,81
	G5 = R + C +AV (5%)	2879,00 ± 165,00 a	+ 2845,8*	- 15,35*
	G6 = R +C +AV (10%)	2665,00 ± 99,64 a	+ 2626,90*	- 21,64*
30	G1 = Ração	92,31 ± 4,26 B	-	-
	G2 = R +C	4487,00 ± 183,31 A	+ 4760,79*	-
	G3 = R + C +AB (10%)	4119,50 ± 266,59 a	+ 4362,68*	- 8,19
	G4 = R + C + AV (1%)	3623,33 ± 344,86 ab	+ 3825,18*	- 19,25*
	G5 = R + C +AV (5%)	3098,00 ± 128,01 bc	+ 3256,08*	- 30,96*
	G6 = R +C +AV (10%)	2820,50 ± 92,26 c	+ 2955,47*	- 37,14*

Em cada tempo, A difere de B pelo teste F ($p < 0,05$).

Em cada tempo, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo Teste de Tuckey ($p > 0,05$).

* Estatisticamente diferente do grupo controle pelo Teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

Na Figura 11 observa-se que a adição de colesterol a 1% foi eficiente na indução da hipercolesterolemia. Observa-se que durante o tratamento, os grupos tratados com uma quantidade maior de arroz fermentado, apresentaram um aumento nos níveis de colesterol total, porém este aumento foi inferior ao observado no grupo tratado com o arroz não fermentado (G3).

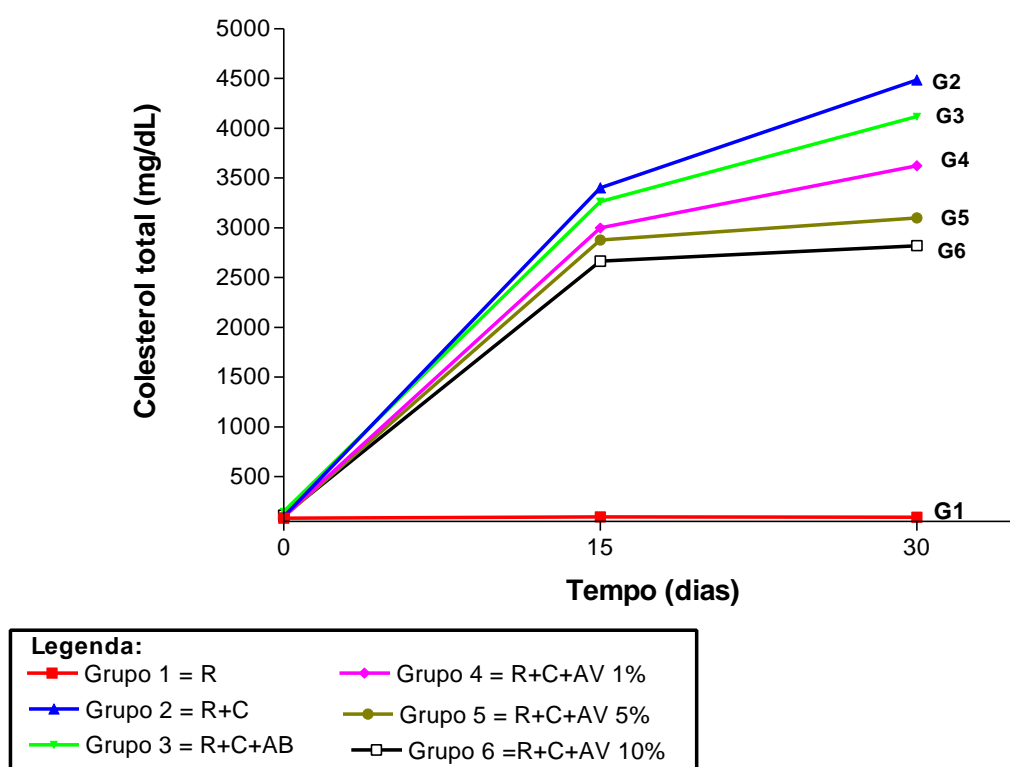


Figura 11 - Variação dos valores médios obtidos para colesterol total (mg/dL) em coelhos submetidos a diferentes tratamentos e avaliados durante 30 dias.

Em um experimento utilizando-se frutose 30%, WANG et al. (2000), induziram hipercolesterolemia em ratos e ao utilizarem 2,0% de Anka (arroz fermentado por *Monascus sp*) alcançaram uma redução significativa nos níveis séricos de colesterol total.

Em outro experimento, utilizando-se coelhos como modelo experimental, a adição de arroz fermentado por *Monascus purpureus* nos níveis de 0,4 e 0,8 g/kg/dia na dieta com hiperlipidemia induzida através de uma dieta rica em

gorduras, por 40 dias, observou-se uma redução do colesterol total em 24,79% e 33,2%, respectivamente. Quando a indução da hiperlipidemia foi por adição de caseína na dieta, a adição do arroz fermentado por *Monascus purpureus* nos níveis de 0,2, 0,4 e 0,8 g/kg/dia na dieta por 60 dias, reduziu os níveis de colesterol total em 45, 43 e 59%, respectivamente, enquanto que a mevinolina pura, na dose de 8 mg/kg reduziu em 52% o nível de colesterol total (LI et al., 1998).

O coelho é um modelo sugerido pela literatura para o estudo de drogas hipocolesterolemiantes, pois uma de suas características é que os níveis de colesterol sérico podem ser manipulados através da dieta hipercolesterolemiantes com relativa facilidade conforme observado nesse experimento.

Os fungos do gênero *Monascus* produzem a mevinolina, que é um potente inibidor da síntese de colesterol *in vivo* (RUBINSTEIN et al., 1991).

ENDO (1979) relata a redução de 23% na concentração de colesterol total em ratos tratados com 10mg/kg de mevinolina. Segundo WANG et al., 1997, o arroz fermentado por *Monascus ruber* contém, além da mevinolina, ácidos graxos insaturados que podem contribuir para a redução do colesterol sérico.

Segundo OLIVEIRA (2000), em um estudo onde analisou o efeito dos flavonóides e corantes naturais na redução dos lipídios séricos, foi possível concluir que o corante *Monascus* em associação com a substância morina reduziu a concentração de colesterol total em 74,23%. Quando analisou apenas a substância morina, a redução na concentração de colesterol total foi de 66,33%. O mesmo ocorreu com a associação do corante *Monascus* com a substância quercetina.

Em seres humanos, WANG et al. (1997) avaliaram o efeito de um preparado de arroz fermentado com fungo do gênero *Monascus* em pacientes com hiperlipidemia, num período de oito semanas. Como resultado, houve redução de 22,7% do colesterol total e 93,2% dos pacientes obtiveram benefícios com o arroz fermentado.

AIR et al (2000), ao realizarem um estudo com humanos para verificar o efeito do arroz fermentado por *Monascus sp*, na dose de 2,4g/dia, constataram uma redução de 16% nas concentrações de colesterol total.

Em outro estudo, também com humanos, o arroz fermentado por *Monascus sp* na dose 1,2g/dia, proporcionou uma redução de 17,1% nos níveis de colesterol total (Monascus.net)

O mecanismo pelo qual o Anka (arroz fermentado) reduz o colesterol não é completamente conhecido. Este alimento natural contém inibidores da HMG-CoA redutase, ácidos graxos monoinsaturados, esteróis, proteínas, sacarídeos, isoflavona, glicosídeos e também elementos traços como selênio e zinco. Embora a inibição da HMG-CoA redutase diminua o colesterol, foi sugerido que a diminuição do agregado de colesterol pelo efeito do Anka é devido à combinação do conjunto dos seus constituintes (LI et al., 1998).

CARVALHO (2001), realizou um estudo químico dos extratos de *Monascus ruber*, cct 1236, onde se constatou a ausência da mevinolina. Embora no presente estudo não tenha sido realizada a identificação dos compostos do extrato, sugere-se que a redução nos níveis séricos de colesterol total, observadas nesse experimento seja devida à presença de outros constituintes presentes no arroz fermentado, como ácidos graxos monoinsaturados, esteróis e outros como citado por LI et al. (1998), visto que o extrato de *Monascus ruber* foi obtido pela mesma metodologia empregada por CARVALHO (2001).

4.2.2 - Efeitos do arroz fermentado nos níveis de triacilgliceróis

Da análise da Tabela 6, observou-se que no tempo zero, os animais dos grupos controles (G1 e G2) não possuíam diferenças significativas. Neste dia, após a coleta de sangue dos animais para análise, iniciou-se o tratamento, onde os animais começaram receber colesterol e as substâncias teste.

Aos 15 dias, observou-se que o grupo 2 (ração + colesterol) estava hipertrigliceridêmico e diferindo do grupo 1 que recebeu apenas ração. Assim, adição de 1% de colesterol induziu a hipertrigliceridemia em coelhos. Notou-se que o grupo G2 teve um aumento nos níveis de triacilgliceróis séricos de 57,30% em relação ao grupo G1. Foi possível observar que já aos 15 dias houve um aumento inferior nos níveis de triacilgliceróis quando os animais foram tratados com arroz fermentado comparados aos animais tratados com ração e colesterol (grupo 2).

No último dia do experimento existia uma grande diferença entre os grupos controles, onde o grupo G2 diferiu em 117,63% do grupo G1. Aqui se observou que os grupos tratados G3, G4, G5 e G6 possuíam diferenças estatisticamente significativas pelo teste de Tuckey. Observou-se também aumentos inferiores nos níveis de triacilgliceróis dos grupos G4, G5 e G6 comparados ao grupo G2.

Na figura 12 observa-se que os animais pertencentes aos grupos G2 e G3 tiveram um aumento mais acentuado nos níveis de triacilgliceróis, comparado aos animais tratados com o arroz fermentado (G6), sendo possível observar que o grupo G6 teve uma redução maior nos níveis de triacilgliceróis, chegando a valores próximos aos animais pertencentes ao grupo controle (G1).

WANG et al.(2000), analisaram as concentrações de triacilgliceróis em ratos tratados com diferentes dietas e concluíram que a concentração sérica de triacilgliceróis nos animais que receberam ração + arroz fermentado a 2% diferiu significativamente dos animais que receberam apenas ração.

Tabela 6 – Níveis médios de triacilgliceróis e percentual de variação em relação aos grupos-controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 30 dias.

Tempo	Tratamento	Triacilglicerol (mg/dL)	% de variação	
			G1	G2
0	G1 = Ração	77,54 ± 8,41 A	-	-
	G2 = Ração	89,95 ± 5,86 A	+ 16,0	-
	G3 = Ração	91,47 ± 11,90 a	+ 17,96	+ 1,69
	G4 = Ração	79,81 ± 8,41 a	+ 2,93	- 11,2
	G5 = Ração	90,53 ± 5,19 a	+ 16,75	+ 0,65
	G6 = Ração	90,28 ± 10,11 a	+ 16,43	+ 0,36
15	G1 = Ração	94,74 ± 8,87 B	-	-
	G2 = R + C	149,03 ± 26,57 A	+ 57,30*	-
	G3 = R + C + AB (10%)	119,75 ± 26,24 a	+ 26,40	- 19,65
	G4 = R + C + AV (1%)	91,78 ± 7,33 a	- 34,79	- 38,42*
	G5 = R + C + AV (5%)	101,26 ± 12,64 a	+ 6,88	- 32,05*
	G6 = R + C + AV (10%)	87,81 ± 12,33 a	- 7,31	- 41,08*
30	G1 = Ração	105,75 ± 9,30 B	-	-
	G2 = R + C	230,14 ± 36,82 A	+ 117,63*	-
	G3 = R + C + AB (10%)	218,63 ± 63,03 a	+ 106,74*	- 5,0
	G4 = R + C + AV (1%)	150,40 ± 23,40 ab	+ 42,22	- 34,65*
	G5 = R + C + AV (5%)	137,84 ± 33,41 ab	+ 30,36	- 40,11*
	G6 = R + C + AV (10%)	111,75 ± 8,46 b	+ 5,67	- 51,44*

Em cada tempo, A difere de B pelo teste F.

Em cada tempo, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo Teste de Tuckey (P > 0,05).

* Estatisticamente diferente do grupo controle pelo Teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

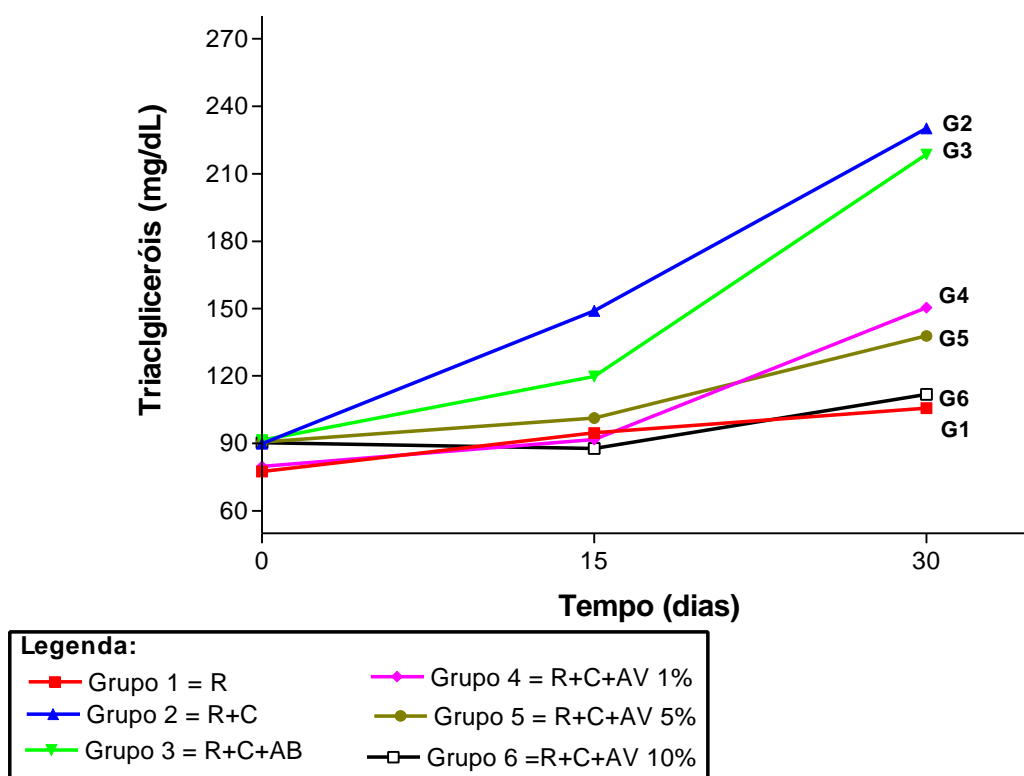


Figura 12 - Variação dos valores médios obtidos para triacilgliceróis (mg/dL) em coelhos submetidos a diferentes tratamentos e avaliados durante 30 dias.

Em outro estudo, utilizando ratos e Triton para se obter uma hiperlipidemia, observou-se que o corante *Monascus* quando em associação com a substância morina reduziu as concentrações de triacilgliceróis em 79,34%. Esta substância morina, isoladamente alcançou uma redução de 69,05%. A associação com quercetina mostra resultados semelhantes (OLIVEIRA, 2000).

WANG et al. (1997) realizaram um estudo com seres humanos com o objetivo de avaliar o efeito de um preparado de arroz fermentado com fungo do gênero *Monascus*. O estudo foi conduzido com 220 pacientes hiperlipidêmicos, por um período de oito semanas. Foi possível observar uma redução de 34,0% nos níveis séricos de triacilgliceróis.

4.2.3 - Efeitos do arroz fermentado nos níveis de LDL-colesterol

Na Tabela 7 observa-se que no tempo zero, os animais pertencentes aos grupos controle (G1 e G2) não se diferiam, segundo o teste F. Neste tempo os grupos G3, G4, G5 e G6 apresentaram diferenças individuais embora os animais estivessem recebendo a mesma ração comercial. Observou-se que o grupo G3 possuía o nível mais elevado de LDL-c, da ordem de 60,04 e 68,94% em relação aos grupos controles G1 e G2, respectivamente. Enquanto o grupo G3 possuía os níveis mais elevados, o grupo G4 tinha os menores níveis de LDL-c. Assim, concluiu-se, que os animais antes do início do tratamento compunham um grupo heterogêneo no que se trata dos níveis sanguíneos de LDL-c.

Aos 15 dias, observou-se que os grupos controles possuíam diferenças estatisticamente. Assim, o colesterol utilizado na dieta foi suficiente para induzir aumentos bastante significativos nos níveis de LDL-c, pois obteve-se um aumento da ordem de 6.102,45% do grupo G2 em relação ao G1. Neste tempo observou-se também que os grupos tratados G3, G4, G5, G6 não diferiram entre si. Foi possível constatar um menor aumento nos níveis de LDL-c dos animais dos grupos G5 (R+C+AV 5%) e grupo G6 (R+C+AV 10%) em relação ao grupo G2 (R+C).

No final do experimento observou-se que as reduções ocorridas nos grupos G4, G5, G6 de 24,38; 37,73 e 35,11% respectivamente foram estatisticamente significativas em relação ao grupo controle G2 (R+C). Quando se analisou os grupos tratados (G3, G4, G5, G6) observou-se que o grupo tratado com arroz branco (G3) diferia dos grupos tratados com arroz vermelho (G4, G5, G6).

A Figura 13 ilustra a variação dos valores médios obtidos para LDL-c, sendo possível observar que os grupos G2 e G3 alcançaram os mais elevados níveis de LDL-c enquanto que os grupos tratados com uma porcentagem maior de arroz fermentado G5 e G6, atingiram níveis mais baixos deste constituinte.

Tabela 7 – Níveis médios de LDL - colesterol e percentual de variação em relação aos grupos-controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 30 dias.

Tempo	Tratamento	LDL-c (mg/dL)	% de variação	
			G1	G2
0	G1 = Ração	45,54 ± 2,55 A	-	-
	G2 = Ração	43,14 ± 1,97 A	- 5,27	-
	G3= Ração	72,88 ± 7,17 a	+ 60,04*	+ 68,94*
	G4 = Ração	18,12 ± 3,29 c	- 60,21*	- 57,60*
	G5 = Ração	48,87 ± 7,60 b	+ 7,31	+ 13,28
	G6 = Ração	41,12 ± 8,21 b	- 9,71	- 4,68
15	G1 = Ração	45,77 ± 5,53 B	-	-
	G2 = R +C	2838,86 ± 81,18 A	+ 6102,45*	-
	G3 = R + C +AB (10%)	2610,31 ± 257,31 a	+ 5603,10*	- 8,05
	G4 = R + C + AV (1%)	2666,83 ± 217,07 a	+ 5726,59*	- 6,06
	G5 = R + C +AV (5%)	2367,27 ± 120,89 a	+ 5072,10*	- 16,61*
	G6 = R +C +AV (10%)	2171,64 ± 114,76 a	+ 4644,68*	- 23,50*
30	G1 = Ração	37,55 ± 4,07 B	-	-
	G2 = R +C	3498,38 ± 143,74 A	+ 9216,59*	-
	G3 = R + C +AB (10%)	3429,28 ± 331,84a	+ 9032,56*	- 1,96
	G4 = R + C + AV (1%)	2645,55 ± 340,02 b	+ 6945,41*	- 24,38*
	G5 = R + C +AV (5%)	2178,46 ± 114,81b	+ 5701,49*	- 37,73*
	G6= R +C +AV (10%)	2270,06 ± 78,66 b	+ 5945,43*	- 35,11*

Em cada tempo, A difere de B pelo teste F.

Em cada tempo, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo Teste de Tuckey ($p > 0,05$).

* Estatisticamente diferente do grupo controle pelo Teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

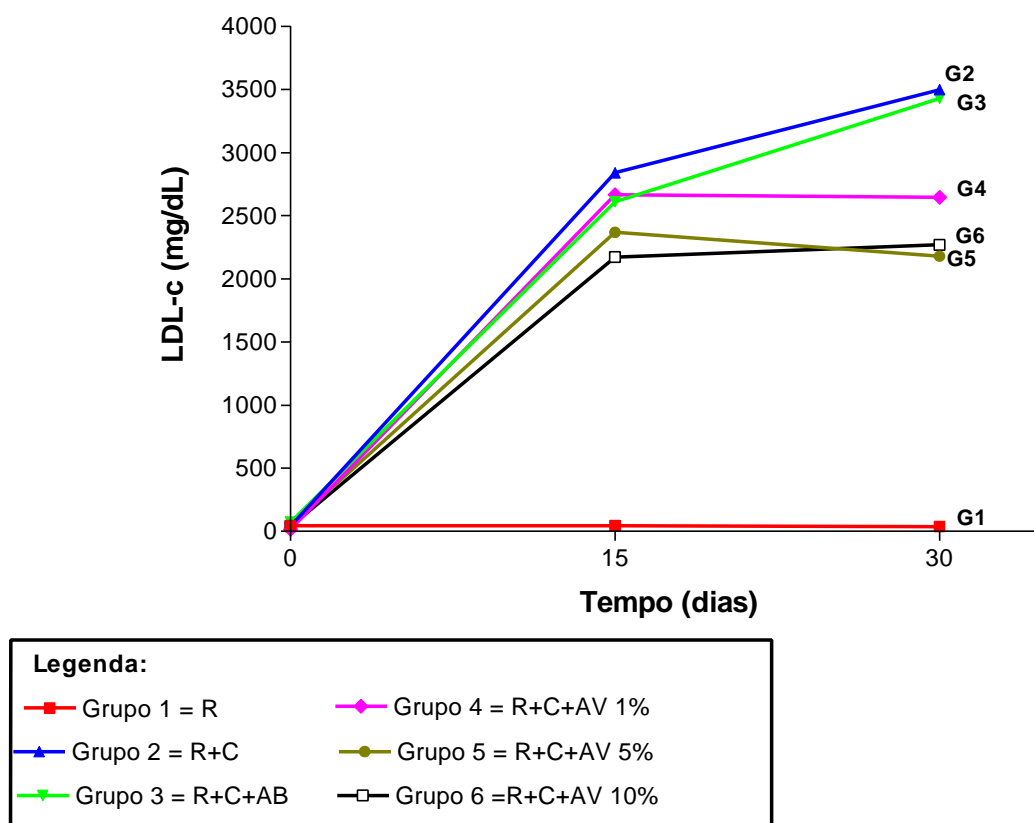


Figura 13 - Variação dos valores médios obtidos para LDL-c (mg/dL) em coelhos submetidos a diferentes tratamentos e avaliados durante 30 dias.

LI et al. (1998), em seu trabalho para analisar o efeito do arroz fermentado por *Monascus purpureus*, constataram que em animais tratados com dieta suplementada com 25% de caseína para induzir hipercolesterolemia (endógena), acrescida de 0,8 g/kg/dia de arroz fermentado por *Monascus purpureus* houve uma redução de 44% nos níveis de LDL-c.

WANG et al., 2000, em um estudo de 6 semanas mostraram uma redução significativa nos níveis de LDL-c quando utilizaram Anka 2% como parte da dieta experimental dos animais. Neste estudo foi utilizada frutose 30% para induzir hiperlipidemia.

Em um estudo realizado com humanos, na Flórida, avaliou-se os efeitos do arroz fermentado por *Monascus sp* na dosagem de 2,4g/dia e constatou-se uma redução de 21% nos níveis de LDL-c (AIR et al, 2000). Em outro estudo

realizado com humanos, o arroz fermentado por *Monascus sp* foi oferecido aos pacientes hiperlipidêmicos em 600mg, duas vezes ao dia (1200 mg/dia), alcançando uma redução de 30,4% nos níveis de LDL-c (Monascus.net)

WANG et al. (1997) avaliaram o efeito de um preparado de arroz fermentado com fungo do gênero *Monascus* em pacientes com hiperlipidemia, num período de oito semanas. Como resultado, houve redução de 33,9% do LDL-c.

Os resultados encontrados nesse estudo são de grande importância fisiológica uma vez que a LDL transporta colesterol do fígado para os tecidos periféricos, aumentando os níveis de colesterol na circulação sanguínea. Também altos níveis de LDL estão relacionados com maior incidência de problemas cardiovasculares.

4.2.4 - Efeitos do arroz fermentado nos níveis de HDL-c

A análise da Tabela 8 mostra que no tempo zero, ou seja, antes de se iniciar os tratamentos, os grupos apresentaram diferenças significativas. Assim, para o HDL-c, observou-se que os animais compunham um grupo bastante heterogêneo.

Aos 15 dias, foi possível observar que os grupos-controle continuavam com diferenças significativas, porém o grupo G2 (R+C) teve um aumento na porcentagem de variação de 1.447,45% em relação ao grupo G1. Os grupos tratados (G3, G4, G5 e G6) possuíam diferenças significativas em relação ao grupo 1.

Aos 30 dias observou-se que os grupos tratados com o arroz vermelho (G4, G5, G6) tiveram a tendência de elevar os valores de HDL-c, sendo que quando comparou-se o grupo G6 tratado com arroz vermelho 10%, observou-se um aumento de 33,85% comparado com o grupo G2 (R+C) sendo este aumento estatisticamente significativo.

É importante ressaltar que os níveis de HDL-c sanguíneo devem ser elevados, pois a lipoproteína HDL possui a função de levar colesterol esterificado ao fígado, removendo-o a partir da íntima, assim explica-se a relação entre altos níveis de HDL-c e redução nos riscos de doenças cardiovasculares (LEHNINGER et al., 1995). A lipoproteína de alta densidade (HDL) é de fundamental importância por seu efeito protetor diante dos fenômenos aterogênicos.

Segundo AIR et al. (2000), em um estudo realizado com 187 pessoas, sendo 116 homens e 71 mulheres, todos hiperlipidêmicos, após 8 semanas de tratamento, oferecendo 2,4 g/dia de arroz fermentado por *Monascus ruber*, obteve-se um aumento de 14,6% nos níveis de HDL-c.

Na figura 14 observa-se que os animais tratados com uma maior quantidade de arroz fermentado alcançou níveis mais elevados para essa lipoproteína.

Tabela 8 – Níveis médios de HDL-colesterol e percentual de variação em relação aos grupos-controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 30 dias.

Tempo	Tratamento	HDL (mg/dL)	% de variação	
			G1	G2
0	G1= Ração	22,73 ± 3,17 B	-	-
	G2 = Ração	36,74 ± 6,05 A	+ 61,63*	-
	G3 = Ração	36,46 ± 3,11 ab	+ 60,40*	- 0,76
	G4 = Ração	25,18 ± 1,92 b	+ 10,78	- 31,46*
	G5 = Ração	32,26 ± 3,53 ab	+ 41,93	- 12,19
	G6 = Ração	40,65 ± 4,04 a	+ 78,84*	+ 10,64
15	G1 = Ração	33,00 ± 9,44 B	-	-
	G2 = R +C	510,66 ± 73,61 A	+ 1447,45*	-
	G3 = R + C +AB (10%)	629,90 ± 7,19 a	+ 1808,79*	- 23,35*
	G4 = R + C + AV (1%)	565,72 ± 56,78 a	+ 1614,30*	+ 10,78
	G5 = R + C +AV (5%)	488,56 ± 53,18 a	+ 1380,48*	- 4,33
	G6 = R +C +AV (10%)	555,94 ± 22,14 a	+ 1584,67*	+ 8,87
30	G1 = Ração	45,33 ± 13,45 B	-	-
	G2 = R +C	714,57 ± 148,79 A	+ 1476,37*	-
	G3 = R + C +AB (10%)	720,15 ± 115,38 a	+ 1488,68*	+ 0,78
	G4 = R + C + AV (1%)	810,89 ± 110,59 a	+ 1688,86*	+ 13,48
	G5 = R + C +AV (5%)	895,85 ± 23,37 ab	+ 1876,28*	+ 25,37
	G6 = R +C +AV (10%)	956,45 ± 122,31 b	+ 1963,57*	+ 33,85*

Em cada tempo, A difere de B pelo teste F.

Em cada tempo, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo Teste de Tuckey ($p > 0,05$).

* Estatisticamente diferente do grupo controle pelo Teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

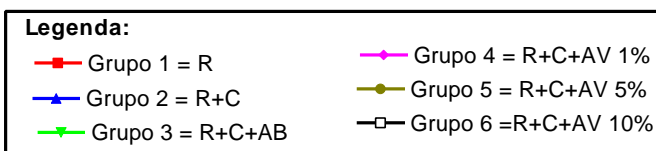
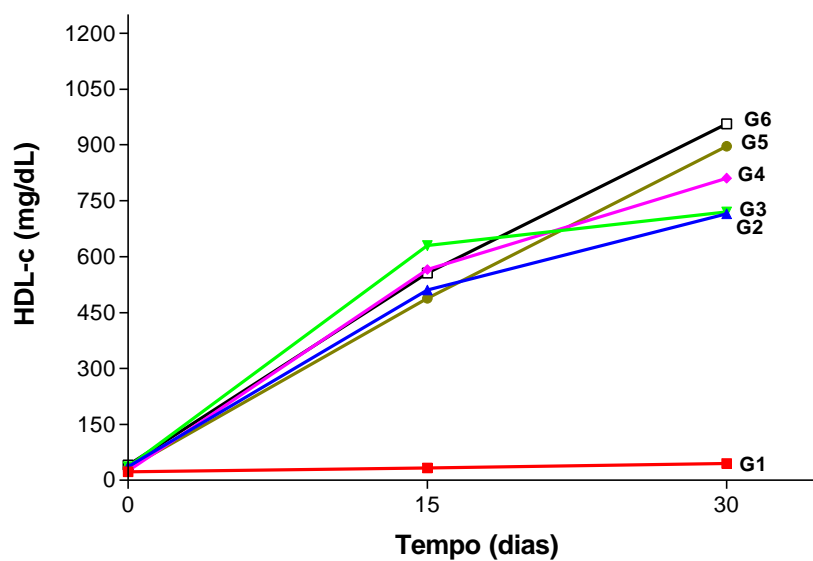


Figura 14 - Variação dos valores médios obtidos para HDL-c (mg/dL) em coelhos submetidos a diferentes tratamentos e avaliados durante 30 dias.

4.2.5 - Efeitos do arroz fermentado nos níveis de VLDL-c

Da análise da Tabela 9, observa-se que os animais pertencentes aos grupos controles G1 e G2, no tempo zero, possuíam diferenças estatisticamente significativas. O mesmo aconteceu com os grupos G3, G4, G5, G6. Pelo teste de Dunnett, verificou-se que os grupos G3, G4, G5 e G6 estatisticamente diferentes do grupo G2. Assim, concluiu-se que os animais antes do início do tratamento eram pertencentes a um grupo heterogêneo.

No 15^o dia do tratamento, observou que os animais pertencentes aos grupos controles não possuíam diferenças significativas, segundo o teste F. Os grupos tratados não apresentaram valores estatisticamente significativos.

No 30^o dia do experimento, verificou-se que os grupos controles (G1 e G2) possuíam diferenças significativas. Observou-se também uma grande redução nos níveis de VLDL-c nos grupos tratados com arroz vermelho. Sendo que os grupos G4 (R+C+AV 1%), G5 (R+C+AV5%) e G6 (R+C+AV 10%) tiveram uma redução nesses níveis de 47,10; 46,51 e 51,44% em relação ao grupo G2 tratado com ração + colesterol.

WANG et al. (2000), ao realizarem um estudo com coelhos, observaram que a dieta experimental acrescida de arroz fermentado por *Monascus sp* a 2% reduziu significativamente os níveis de VLDL-c nesses animais.

Ao mesmo tempo em que o arroz fermentado reduziu os níveis de LDL e VLDL, aumentou HDL, que é o desejável em relação ao combate aos problemas cardiovasculares.

Tabela 9 – Níveis médios de VLDL-colesterol e percentual de variação em relação aos grupos-controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 30 dias.

Tempo	Tratamento	VLDL (mg/dL)	% de variação	
			G1	G2
0	G1 = Ração	15,51 ± 1,68 B	-	-
	G2 = Ração	28,99 ± 5,17 A	+ 86,91*	-
	G3 = Ração	18,29 ± 2,38 a	+ 17,92	- 36,90*
	G4 = Ração	15,96 ± 1,68 c	+ 2,90	- 45,05*
	G5 = Ração	18,11 ± 1,04 b	+ 16,76	- 37,53*
	G6 = Ração	18,05 ± 2,02 b	+ 16,38	- 37,74*
15	G1 = Ração	25,39 ± 4,36 A	-	-
	G2 = R +C	24,54 ± 4,20 A	- 5,36	-
	G3 = R + C +AB (10%)	23,86 ± 5,26 a	- 6,03	- 2,77
	G4 = R + C + AV (1%)	12,36 ± 1,46 a	- 51,32*	- 51,32*
	G5 = R + C +AV (5%)	17,05 ± 2,44 a	- 32,85	- 30,52
	G6 = R +C +AV (10%)	17,92 ± 4,23 a	-29,42	- 29,42
30	G1 = Ração	21,15± 1,86 B	-	-
	G2 = R +C	46,03 ± 7,36 A	+ 117,64*	-
	G3 = R + C +AB (10%)	43,73 ± 12,60 a	+ 106,76*	- 4,99
	G4 = R + C + AV (1%)	24,35 ± 7,42 ab	+ 15,13	- 47,10*
	G5 = R + C +AV (5%)	24,62 ± 2,87 ab	+ 16,41	- 46,51*
	G6 = R +C +AV (10%)	22,35 ± 1,69 ab	+ 5,67	- 51,44*

Em cada tempo, A difere de B pelo teste F.

Em cada tempo, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo Teste de Tuckey ($p > 0,05$).

* Estatisticamente diferente do grupo controle pelo Teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

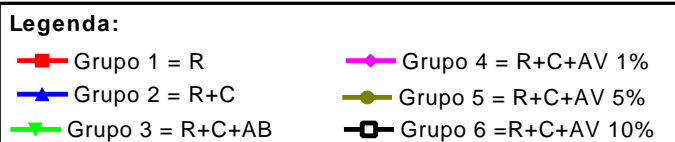
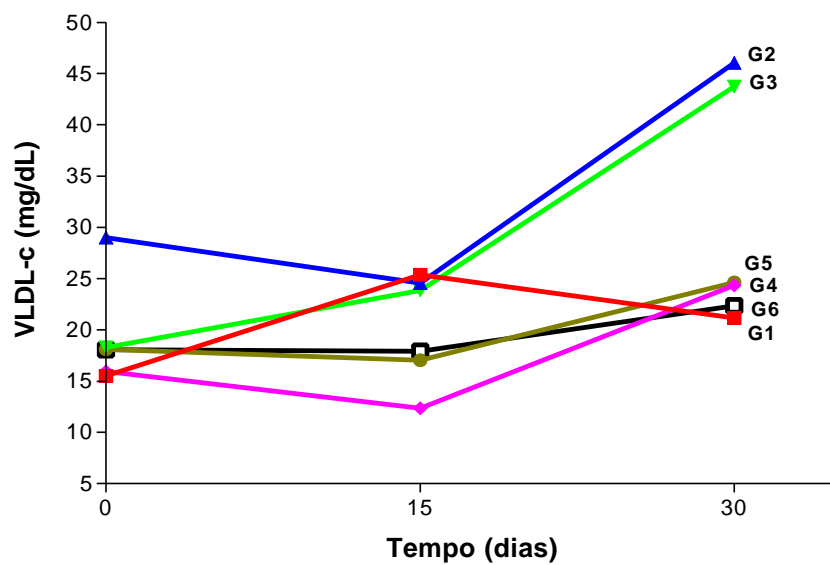


Figura 15 - Variação dos valores médios obtidos para VLDL-c (mg/dL) em coelhos submetidos a diferentes tratamentos e avaliados durante 30 dias.

4.2.6 - Efeitos do arroz fermentado no peso médio dos animais

Pela figura 16 observou-se uma tendência dos animais que receberam colesterol em ganhar mais peso do que o grupo que recebeu somente ração. No início, G1, apresentava maior peso.

De acordo com a tabela 10, o arroz fermentado pelo fungo *Monascus ruber* não interferiu no peso dos animais. No início do tratamento os animais pertencentes aos grupos-controle (G1 e G2) não possuíam diferenças significativas de acordo com o teste F. A análise pelo teste de Tuckey para comparar os grupos tratados (G3, G4, G5, G6) mostra também que os mesmos não possuíam diferenças significativas entre si. Ao analisar o último dia do experimento, concluiu-se que os grupos controles e tratados não apresentam diferenças significativas quanto ao peso.

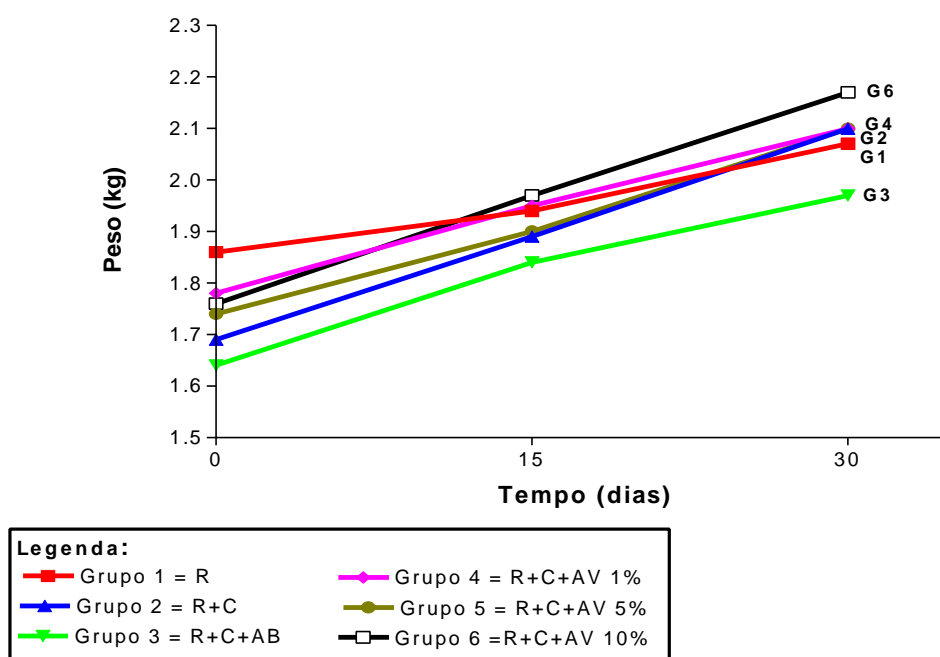


Figura 16 - Variação dos valores médios obtidos para peso (kg) em coelhos submetidos a diferentes tratamentos e avaliados durante 30 dias.

Tabela 10– Peso médio e percentual de variação em relação aos grupos-controles de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 30 dias.

Tempo	Tratamento	Peso (Kg)	% de variação	
			G1	G2
0	G1 = Ração	1,86 ± 0,11 A	-	-
	G2 = Ração	1,69 ± 0,08 A	- 9,14	-
	G3 = Ração	1,64 ± 0,06 a	- 11,83*	- 2,96
	G4 = Ração	1,78 ± 0,05 a	- 4,30	+ 5,32
	G5 = Ração	1,74 ± 0,05 a	- 6,45	+ 2,96
	G6 = Ração	1,76 ± 0,06 a	- 5,38	+ 4,14
15	G1 = Ração	1,94 ± 0,10 A	-	-
	G2 = R +C	1,89 ± 0,09 A	- 2,58	-
	G3 = R + C +AB (10%)	1,84 ± 0,06 a	- 5,15	- 2,65
	G4 = R + C + AV (1%)	1,95 ± 0,07 a	+ 0,52	+ 3,17
	G5 = R + C +AV (5%)	1,90 ± 0,07 a	- 2,06	+ 0,53
	G6 = R +C +AV (10%)	1,97 ± 0,06 a	+ 1,55	+ 4,23
30	G1 = Ração	2,07 ± 0,11 A	-	-
	G2 = R +C	2,10 ± 0,13 A	+ 1,45	-
	G3 = R + C +AB (10%)	1,97 ± 0,06 a	- 4,83	- 6,19
	G4 = R + C + AV (1%)	2,10 ± 0,10 a	+ 1,45	0,00
	G5 = R + C +AV (5%)	2,10 ± 0,08 a	+ 1,45	0,00
	G6 = R +C +AV (10%)	2,17 ± 0,07 a	+ 4,83	+ 3,33

Em cada tempo, A difere de B pelo teste F.

Em cada tempo, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo Teste de Tuckey ($p > 0,05$).

* Estatisticamente diferente do grupo controle pelo Teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

4.2.7 - Efeitos do arroz fermentado nos níveis de glicose

De acordo com a tabela 11, o arroz fermentado pelo fungo *Monascus ruber* não interferiu no nível de glicose dos animais. Os animais não diferiram quanto aos níveis de glicose no início e no decorrer do experimento.

O arroz vermelho não interferiu na glicemia dos animais, embora tenha sido observada uma tendência de diminuição dos níveis de glicose ao longo do tempo para todos os grupos (Figura 17)

LOPES, 2001, ao realizar um estudo utilizando 40 a 100mg/dia de corante *Monascus*, concluiu que as doses empregadas ao longo do tratamento não alteraram significativamente os níveis de glicose em coelhos, sendo encontrados valores médios de glicose para os animais tratados entre 149-157mg/dL.

Deve-se ressaltar que o modelo experimental utilizado não tinha como objetivo alterar a glicemia dos animais. Desta forma, os resultados encontrados estão em conformidade com o planejado.

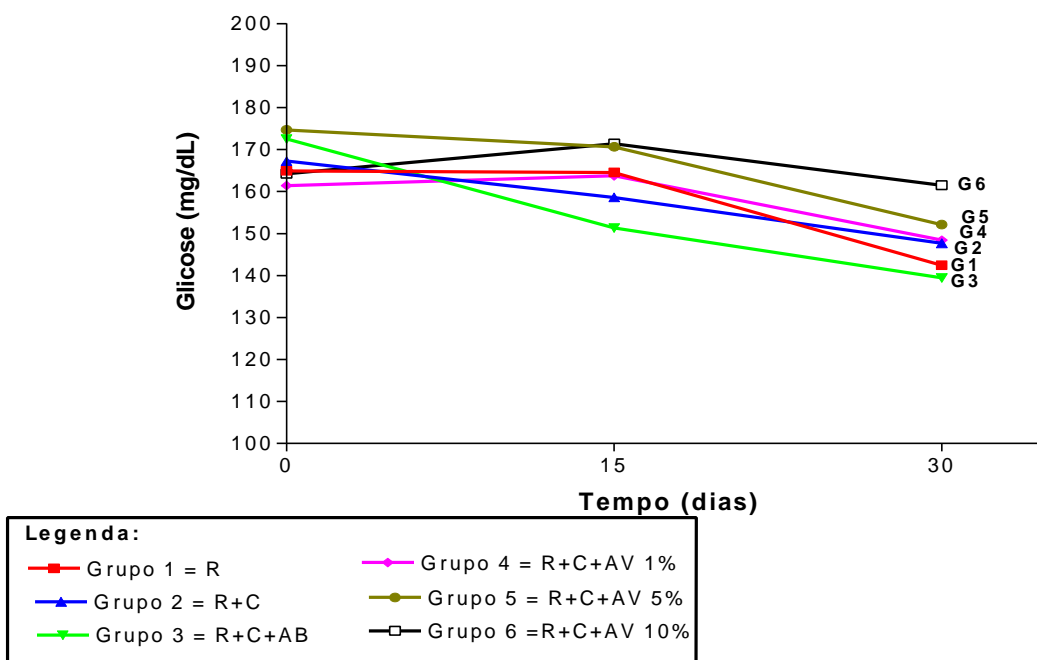


Figura 17 - Variação dos valores médios obtidos para glicose (mg/dL) em coelhos submetidos a diferentes tratamentos e avaliados durante 30 dias.

Tabela 11 – Níveis médios de glicose percentual de variação em relação aos grupos-controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 30 dias.

Tempo	Tratamento	Glicose (mg/dL)	% de variação	
			G1	G2
0	G1= Ração	164,93 ± 5,41 A	-	-
	G2 = Ração	167,21 ± 4,15 A	+ 1,38	-
	G3 = Ração	172,50 ± 8,98 a	+ 4,59	+ 3,16
	G4 = Ração	161,40 ± 3,99 a	- 2,14	- 3,47
	G5 = Ração	174,70 ± 7,31 a	+ 5,93	+ 4,48
	G6 = Ração	164,25 ± 6,69 a	- 0,41	- 1,77
15	G1 = Ração	164,52 ± 5,10 A	-	-
	G2 = R +C	158,58 ± 6,18 A	- 3,61	-
	G3 = R + C +AB (10%)	151,32 ± 4,19 a	- 8,02	- 4,75
	G4 = R + C + AV (1%)	163,70 ± 5,79 a	- 0,50	+ 3,22
	G5 = R + C +AV (5%)	170,65 ± 16,06 a	+ 3,73	+ 7,61
	G6 = R +C +AV (10%)	171,40 ± 2,56 a	+ 4,18	+ 8,08
30	G1 = Ração	142,39 ± 3,31 A	-	-
	G2 = R +C	147,64 ± 3,31 A	+ 3,69	-
	G3 = R + C +AB (10%)	139,38 ± 10,63 a	- 2,11	- 5,59
	G4 = R + C + AV (1%)	148,43 ± 5,58 a	+ 4,24	+ 0,54
	G5 = R + C +AV (5%)	152,12 ± 7,01 a	+ 6,83	+ 3,03
	G6 = R +C +AV (10%)	161,48 ± 11,96 a	+13,41	+ 9,37

Em cada tempo, A difere de B pelo teste F.

Em cada tempo, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo Teste de Tuckey ($p > 0,05$).

* Estatisticamente diferente do grupo controle pelo Teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

4.3– Avaliação dos efeitos toxicológicos do arroz fermentado por *Monascus ruber* sobre parâmetros bioquímicos

Pesquisas com a toxicologia envolvem testes em diferentes espécies animais, com “screening” de doses, testes por diferentes vias, avaliando os efeitos tóxicos ou não das substâncias testes. Nessa pesquisa avalia-se os parâmetros sanguíneos, hematologia, histopatologia, efeitos mutagênicos, carcinogênicos e teratogênicos.

4.3.1 Efeitos do arroz fermentado nos níveis de creatinina

No início do experimento o grupo 3 apresentou níveis de creatinina ligeiramente superiores aos demais grupos (Tabela 11). Essa diferença não mudou ao longo do experimento mostrando que o arroz fermentado por *Monascus* aparentemente não influenciou esse parâmetro.

Tabela 12 – Níveis médios de creatinina e percentual de variação em relação aos grupos-controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 30 dias.

Tempo	Tratamento	Creatinina (mg/dL)	% de variação	
			T1	T2
0	T 1 = Ração	1,20 ± 0,08	-	-
	T 2 = Ração	1,20 ± 0,10	0	-
	T 3 = Ração	1,34 ± 0,06	+ 11,67 ns	+ 11,67 ns
15	T 1 = Ração	1,52 ± 0,06	-	-
	T 2 = R+AB (10%)	1,37 ± 0,09	- 9,86 ns	-
	T 3 = R+AV (10%)	1,56 ± 0,06	+ 2,63 ns	+ 13,87 ns
30	T 1 = Ração	1,58 ± 0,12	-	-
	T 2 = R+AB (10%)	1,53 ± 0,08	- 3,16 ns	-
	T 3 = R+AV (10%)	1,76 ± 0,06	+ 11,40 ns	+ 15,03 ns

ns - F não significativo a 5% de probabilidade.

Observa-se que os animais possuem uma tendência ao longo do experimento de elevação dos níveis de creatinina (Figura 18).

A taxa normal de creatinina no soro ou plasma de coelhos varia de 0,8 a 2,57 mg/dL (KANEKO, 1989). Assim, nesse experimento, conclui-se que os animais possuem seus níveis de creatinina dentro do intervalo considerado normal.

A creatinina é formada nos animais a partir da arginina. Pode acumular no músculo e é reservatório de grupos fosfatos. Seus níveis são alterados

principalmente em razão de insuficiência renal e obstrução urinária (LIMA et al., 1985). A creatinina sérica não é marcadamente influenciada pela dieta ou por hemorragias intestinais. Uma severa perda muscular poderá reduzir a quantidade de creatinina formada (MEYER et al., 1995).

LOPES (2001), ao realizar um estudo utilizando o corante *Monascus* nos níveis de 40 a 100 mg/dia, concluiu que as doses empregadas ao longo do experimento não alteraram a concentração de creatinina em coelhos machos e fêmeas, sendo que nesse estudo, os valores médios de creatinina ficaram dentro do intervalo de 1,18 a 1,32 mg/dL para os animais em tratamento.

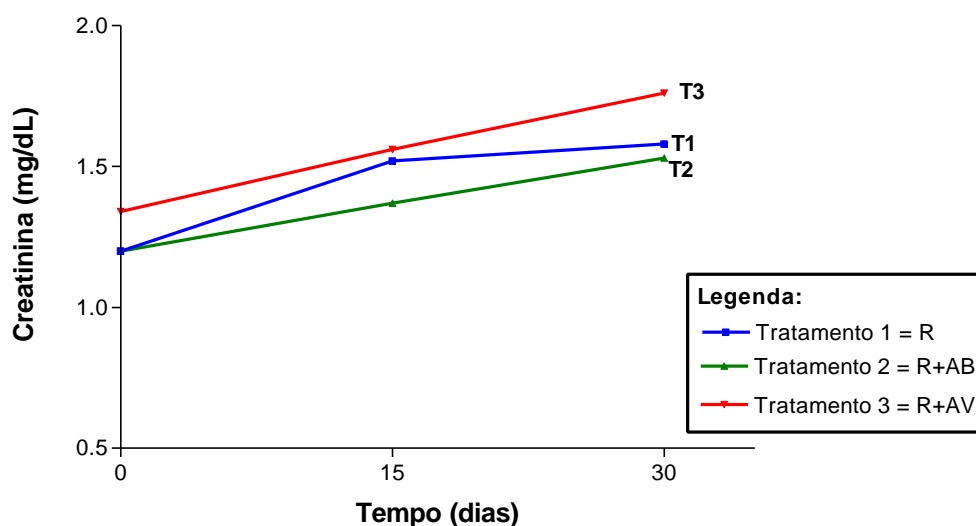


Figura 18 - Variação dos valores médios obtidos para creatinina (mg/dL) em coelhos submetidos a diferentes tratamentos e avaliados durante 30 dias.

4.3.2 - Efeitos do arroz fermentado nos níveis de ácido úrico

Observando a Tabela 13, concluiu-se que nas concentrações de ácido úrico do soro dos animais não houve uma diferença estatisticamente significativa. Assim, o arroz fermentado pelo *Monascus ruber* não alterou de forma significativa as concentrações de ácido úrico.

Tabela 13 – Níveis médios de ácido úrico e percentual de variação em relação aos grupos-controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 15 dias.

Tempo	Tratamento	Ácido úrico (mg/dL)	% de variação	
			T1	T2
0	T1= Ração	0,12 ± 0,04	-	-
	T2= Ração	0,18 ± 0,01	+ 50,0 ns	-
	T3= Ração	0,19 ± 0,07	+ 58,33 ns	+ 5,56 ns
15	T1 = Ração	0,17 ± 0,04	-	-
	T2 = R+AB (10%)	0,27 ± 0,09	+ 58,82 ns	-
	T3 = R+AV (10%)	0,24 ± 0,04	+ 41,17 ns	- 11,11 ns

ns - F não significativo a 5% de probabilidade.

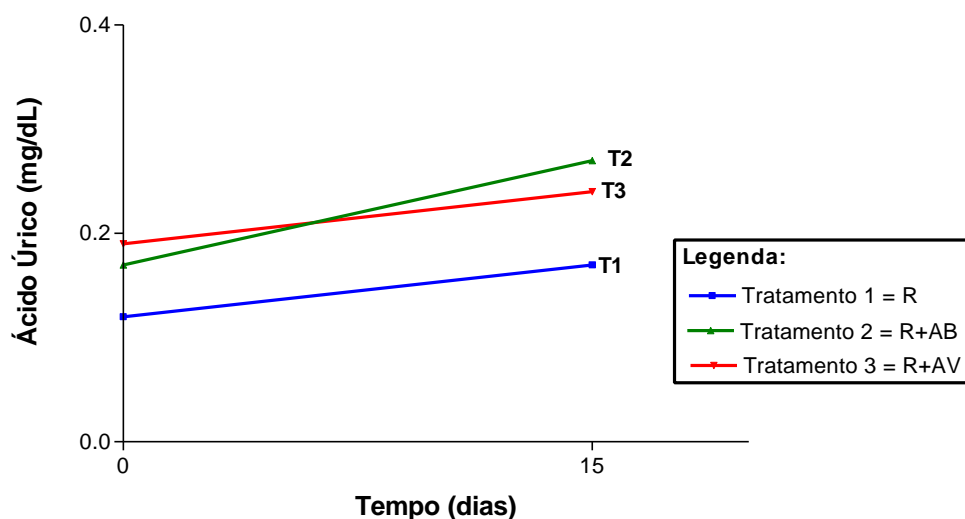


Figura 19 - Variação dos valores médios obtidos para ácido úrico (mg/dL) em coelhos submetidos a diferentes tratamentos e avaliados por 30 dias.

O ácido úrico nos animais é obtido por transformações das bases púricas contida nos ácidos nucleicos. A guanina é precursora da xantina e a adenina da hipoxantina. Tanto a xantina quanto a hipoxantina dão origem ao ácido úrico pela ação da xantina oxidase (BACILA, 1980).

A taxa normal de ácido úrico no soro ou plasma de coelhos varia de $1,18 \pm 0,28$ mg/dL (KANEKO, 1989), porém, observa-se valores inferiores a este para os animais deste experimento. MELLO (2001), ao realizar estudo com coelhos, encontrou valores para ácido úrico entre 0,18 e 0,21 mg/dL.

Ao realizar um estudo para avaliar os efeitos toxicológicos do corante *Monascus*, LOPES (2001), encontrou valores médios de ácido úrico para os coelhos tratados entre 0,12 e 0,14 mg/dL, concluindo que não ocorreram efeitos tóxicos em coelhos tratados com *Monascus*, no que diz respeito a esse parâmetro.

4.3.3 - Efeitos do arroz fermentado nos níveis de TGP

A análise da Tabela 14 revela que no início do experimento o grupo 3 (T3) possuía diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo 2 (T2). Isto demonstra que há uma grande variabilidade individual deste parâmetro, pois nesse tempo não havia diferença de tratamento entre os grupos.

Aos 15 dias observou-se uma redução estatisticamente significativa nas concentrações de TGP do grupo 2 (T2) em relação ao grupo 1 (T1) pelo teste F. Porém comparando o grupo T3 com o grupo T2 não houve uma diferença significativa como no início do experimento.

Aos 30 dias, concluiu-se que os grupos T1, T2, T3 não possuíam diferenças significativas.

As transaminases são enzimas que promovem a transferência dos grupos amina dos aminoácidos para os cetoácidos. A enzima TGP é considerada específica para o fígado e seus níveis séricos são ótimos indicadores de injúrias hepáticas. Em coelhos concentrações elevadas de TGP também estão presentes no músculo cardíaco (HOFFMANN et al., 1989). Qualquer destruição significativa do tecido dá origem a níveis elevados de transaminases sérica (BHAGAVAN, 1977).

MITRUKA E RAWSNLEY (1981) relatam que em coelhos os valores médios de TGP são 65,70 U/l para coelhos machos e 62,50 U/L para coelhos fêmeas. Os valores de TGP medidos nesse trabalho são superiores aqueles relatados por MITRUKA E RAWSNLEY (1981). Como se observa na tabela 13 o desvio padrão da média é alto, reforçando a tese de que as diferenças encontradas não são devidas aos tratamentos, mas a variabilidade individual. MELLO (2001), encontrou valores médios de TGP entre 120 e 133 UI ao realizar estudos com coelhos machos.

Segundo LOPES (2001), o corante *Monascus* nas doses de 40 a 100mg não alterou significativamente a atividade da enzima TGP, encontrando valores entre 71-88 UI.

Tabela 14 – Níveis médios de TGP e percentual de variação em relação aos grupos-controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 30 dias.

Tempo	Tratamento	TGP (U.I)	% de variação	
			T1	T2
0	T1= Ração	94,28 ± 12,25	-	-
	T2= Ração	60,53 ± 9,15	- 35,79 ns	-
	T3= Ração	108,80 ± 14,27	+ 15,40 ns	+ 79,75*
15	T1 = Ração	198,00 ± 24,55	-	-
	T2 = R+AB (10%)	118,40 ± 8,39	- 40,20*	-
	T3 = R+AV (10%)	142,20 ± 19,74	- 28,18 ns	+ 20,10 ns
30	T1 = Ração	123,33 ± 20,35	-	-
	T2 = R+AB (10%)	94,25 ± 5,27	- 23,58 ns	-
	T3 = R+AV (10%)	137,80 ± 14,90	+ 11,73 ns	+ 46,20 ns

ns - F não significativo a 5% de probabilidade.

* F significativo a 5% de probabilidade.

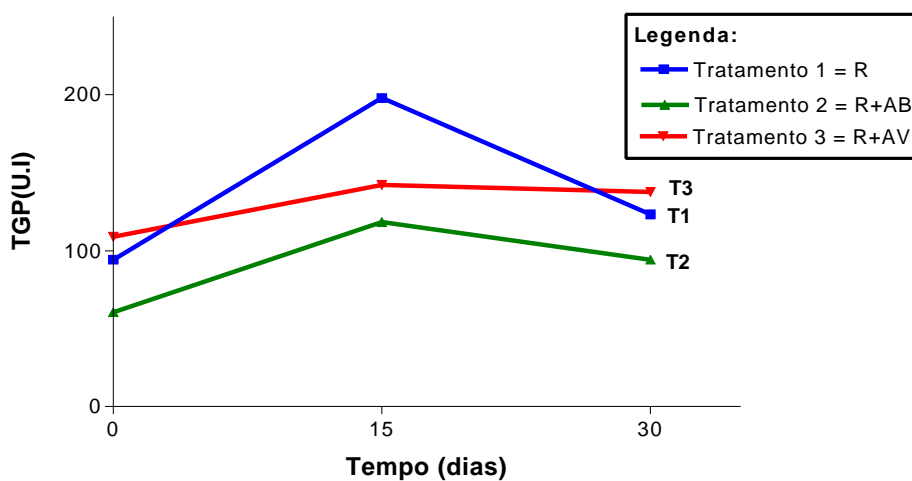


Figura 20 - Variação dos valores médios obtido para TGP (U.I) em coelhos submetidos a diferentes tratamentos e avaliados durante 30 dias

4.3.4 - Efeitos do arroz fermentado nos níveis de TGO

Quando analisou a Tabela 15, verificou-se que os animais constituintes do grupo 3 (T3) possuíam os níveis mais elevados de TGO no início do experimento, sendo que, quando comparados com o grupo 1 (T1), houve uma diferença de 102,33% e pelo teste F esta foi uma diferença significativa. Quando comparou os animais do grupo 3 (T3) com o grupo 2 (T2), que foi tratado com arroz branco, esta diferença foi de 123,38%.

Aos 15 dias, observou-se que o grupo T3 deixou de possuir diferença significativa em relação ao grupo T1, porém em relação ao grupo T2 a diferença de 174,74% foi estatisticamente significativa. O mesmo ocorreu aos 30 dias, onde a diferença nos níveis de TGO do grupo T3 em relação ao grupo T2 foi de 117,42%.

Tabela 15 – Níveis médios de TGO e percentual de variação em relação aos grupos-controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 30 dias.

Tempo	Tratamento	TGO (U.I.)	% de variação	
			G1	G2
0	T1= Ração	67,71 ± 9,39	-	-
	T2= Ração	61,33 ± 11,27	- 9,42 ns	-
	T3= Ração	137,00 ± 23,83	+ 102,33*	+ 123,38*
16	T1 = Ração	121,80 ± 18,37	-	-
	T2 = R+AB (10%)	54,75 ± 5,21	- 55,05 ns	-
	T3 = R+AV (10%)	150,50 ± 39,07	+ 23,56 ns	+ 174,74*
31	T1 = Ração	121,31 ± 28,95	-	-
	T2 = R+AB (10%)	75,20 ± 18,18	- 38,00 ns	-
	T3 = R+AV (10%)	163,50 ± 16,33	+ 34,78 ns	+ 117,42*

ns - F não significativo a 5% de probabilidade.

*F significativo a 5% de probabilidade.

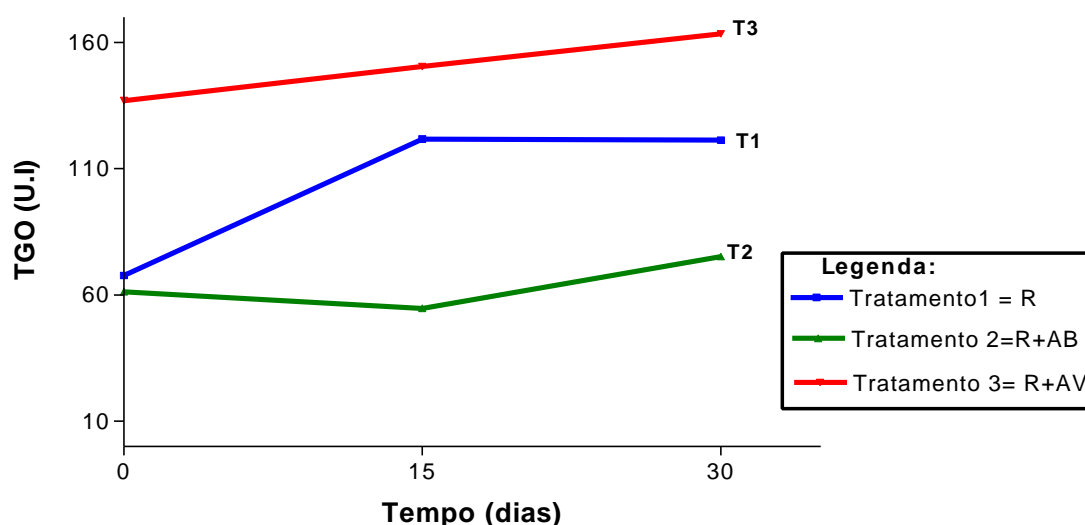


Figura 21 - Variação dos valores médios obtido de TGO (U.I) em coelhos submetidos a diferentes tratamentos e avaliados por 30 dias

Embora possa parecer que o arroz fermentado pelo *Monascus ruber* influenciou a atividade da TGO, deve-se considerar o fato de que os grupos T3 e T2 já apresentavam níveis estatisticamente diferentes, em relação ao grupo T1, antes mesmo de iniciar o tratamento (figura 21).

A determinação da transaminase glutâmico oxaloacética (TGO) fornece elementos de grande significação para a determinação do diagnóstico a partir da diferenciação entre enfarte do miocárdio e insuficiência coronária, bem como a confirmação do enfarte do miocárdio quando as alterações do ecocardiograma não são bem definidas, podendo avaliar assim a extensão do enfarte. Na anemia aguda, na necrose renal e no cateterismo cardíaco, são observados aumentos nos níveis de TGO são observados (LIMA, 1985).

MITRUKA e RAWNSLEY (1981) demonstraram que em coelhos os valores de TGO apresentam-se entre 72,3 U/L para machos e 68,1 U/L para fêmeas. Podendo observar que nesse trabalho, esses valores encontram-se mais elevados. Em outro estudo, MELLO (2001) demonstrou valores médios de TGO entre 102 e 123 UI para coelhos machos normais, estando estes valores mais próximos aos encontrados neste experimento.

4.3.5 - Efeitos do arroz fermentado nos níveis de albumina

Pela análise da Tabela 16, observou-se que os grupos não diferiram estatisticamente, em teor médio de albumina, durante todo o ensaio de toxicologia e que o arroz fermentado pelo fungo *Monascus ruber* não causou alterações significativas nos níveis dessa proteína.

Tabela 16- Níveis médios de albumina e percentual de variação em relação aos grupos-controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 30 dias.

Tempo	Tratamento	Albumina (g/dL)	% de variação	
			T1	T2
0	T1= Ração	4,83 ± 0,20	-	-
	T2= Ração	4,57 ± 0,18	- 5,38 ns	-
	T3= Ração	4,51 ± 0,16	- 6,62 ns	- 6,63 ns
15	T1 = Ração	5,61 ± 0,18	-	-
	T2 = R+AB (10%)	5,45 ± 0,15	- 2,85 ns	-
	T3 = R+AV (10%)	5,31 ± 0,29	- 5,35 ns	- 2,57 ns
30	T1 = Ração	4,52 ± 0,07	-	-
	T2 = R+AB (10%)	4,48 ± 0,07	- 0,88 ns	-
	T3 = R+AV (10%)	4,71 ± 0,10	+ 4,20 ns	+ 5,13 ns

ns - F não significativo a 5% de probabilidade

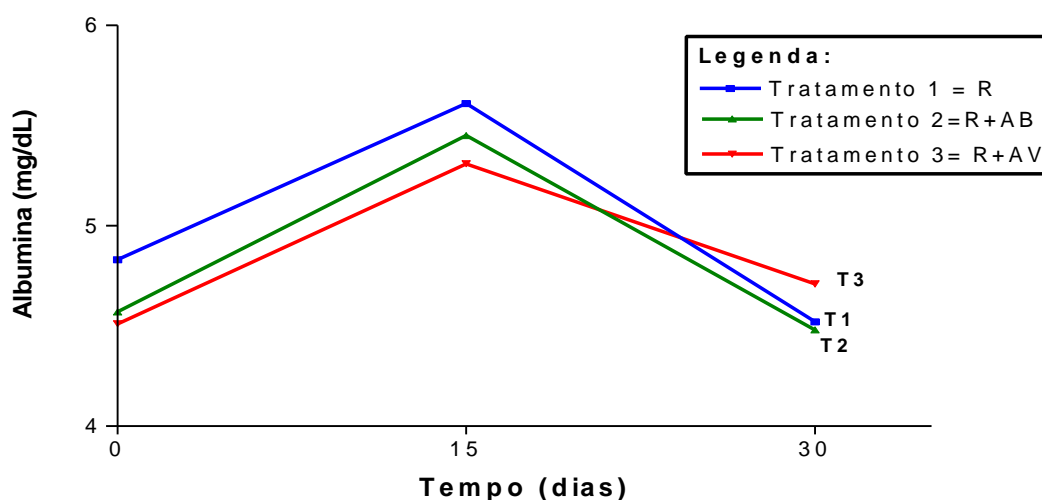


Figura 22 – Variação dos valores médios obtidos para albumina (mg/dL) em coelhos submetidos a diferentes tratamentos e avaliados durante 30 dias.

A albumina é a mais importante proteína plasmática e corresponde à cerca de 60% das proteínas plasmáticas totais. A síntese de albumina é afetada em uma série de moléstias, particularmente aquelas do fígado (MURRAY et al., 1994). O fígado é o principal órgão de produção da albumina. Esta proteína tem como função promover o transporte de nutrientes e outros constituintes químicos. A hiperalbuminemia ocorre na desidratação. A redução da concentração desta proteína é observada em diversas situações, como na síndrome nefrótica pela perda maciça do constituinte pelos rins e a diminuição da capacidade de síntese pelo organismo, na insuficiência hepática avançada (cirrose, colangite, fígado cardíaco, hepatites crônicas, neoplasia), no catabolismo exaltado que acompanha o diabetes, a tireotoxicose, os estados febris prolongados e nas hemorragias maciças (LIMA, 1985).

LOPES (2001), em um experimento utilizando coelhos e testando o efeito toxicológico do corante *Monascus*, verificou que os níveis de albumina encontravam-se entre 4,65 e 5,68 mg/dL, tanto para os coelhos tratados quanto os normais.

Assim, aparentemente o arroz fermentado não afetou essa função hepática e os níveis de albumina medidos nesse trabalho são próximos daqueles relatados na literatura.

4.3.6 - Efeitos do arroz fermentado nos níveis de gama GT

Apesar das diferenças significativas dos níveis de gama GT entre os grupos não se observa regularidade nos resultados obtidos (Figura 23), o que pode ser devido as variabilidades individuais.

Aos 15 dias, o grupo T2, tratado com ração + arroz branco, apresentou uma queda em relação ao grupo T1, sendo estatisticamente significativa pelo teste F. Observou-se ainda um aumento significativo na atividade desta enzima quando comparou o grupo T3 com T2 (Tabela 17).

Porém aos 30 dias, comparando o grupo T3 (ração + arroz vermelho) com o grupo T2 (ração + arroz branco), observou um aumento de 19,67%, não significativo.

Tabela 17 – Níveis médios de gama GT e percentual de variação em relação aos grupos-controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 30 dias.

Tempo	Tratamento	Gama GT (U.I.)	% de variação	
			T1	T2
0	T1= Ração	9,57 ± 1,44	-	-
	T2= Ração	8,67 ± 0,84	- 9,40 ns	-
	T3= Ração	12,40 ± 4,23	+ 29,57 ns	+ 43,02 ns
15	T1 = Ração	22,00 ± 2,08	-	-
	T2 = R+AB (10%)	10,00 ± 2,06	- 54,55*	-
	T3 = R+AV (10%)	17,17 ± 6,37	- 21,95 ns	+ 71,4*
30	T1 = Ração	21,57 ± 2,93	-	-
	T2 = R+AB (10%)	12,20 ± 1,33	- 43,44*	-
	T3 = R+AV (10%)	14,60 ± 2,79	- 32,31 ns	+ 19,67 ns

ns - F não significativo a 5% de probabilidade.

* F significativo a 5% de probabilidade.

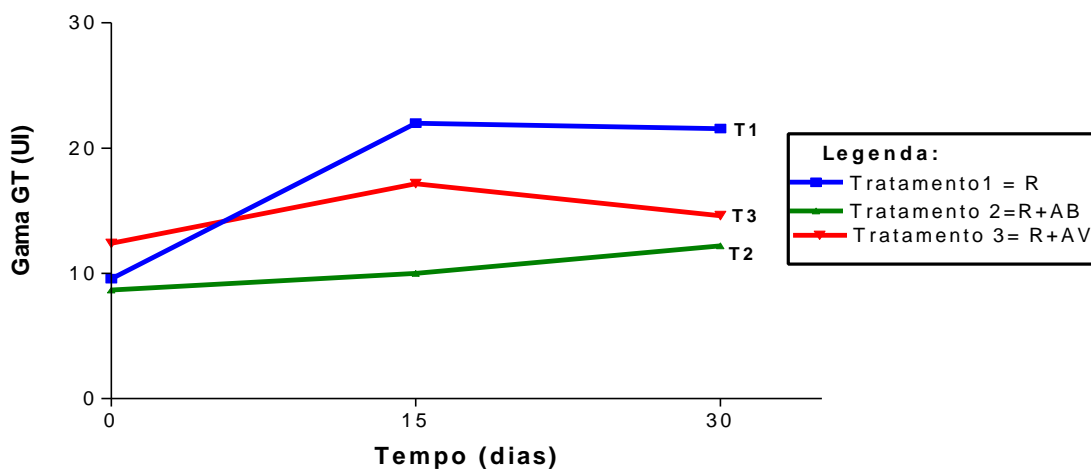


Figura 23 - Variação dos valores médios obtidos para gama GT (UI) em coelhos submetidos a diferentes tratamentos e avaliados durante 30 dias.

A gama glutamil transferase (E.C 2322) está relacionada com a catálise efetuada por enzimas que atuam sobre a gama cistenilglicina, produzindo gama glutamil aminoácido e cisteinil glicina que resulta na transferência de resíduo de glutamil do glutation para o aminoácido que está penetrando no citoplasma celular. Esta reação é um exemplo de translocação de grupos no qual o substrato transportado representa uma forma de entrada dos aminoácidos para o interior da célula (LEHNINGER, 1995). Uma alteração acentuada na concentração desta enzima pode afetar o transporte de aminoácidos para o interior das células. Desta forma, poderia haver alterações da síntese protéica em nível de retículo endoplasmático rugoso e, ou polirribossomo.

Ao realizar um estudo para avaliar os efeitos toxicológicos do corante *Monascus* em coelhos, LOPES, 2001, concluiu que não ocorreram efeitos tóxicos em coelhos tratados com o *Monascus* no que se diz a atividade da enzima gama GT. Foram encontrados valores médios da atividade desta enzima, entre 13,60-17,10 UI para os coelhos machos que receberam apenas ração.

No presente trabalho os valores oscilam entre 8,67 e 22,0 UI, mostrando uma grande variabilidade deste parâmetro.

4.3.7 - Efeitos do arroz fermentado nos níveis de proteínas totais

A figura 24 mostra que não houve variação nos níveis plasmáticos de proteínas totais dos animais tratados ao longo do experimento.

Aos 15 dias, o grupo tratado com arroz fermentado por *Monascus ruber* (T3) apresentou redução de 1,43% em relação ao grupo tratado com ração (T1).

Aos 30 dias, o mesmo grupo T3 apresentou um aumento de 7,74% em relação ao grupo T1 (Tabela 18). Essas alterações não foram consideradas relevantes do ponto de vista estatístico, concluindo que o arroz fermentado não alterou significativamente a concentração de proteína total.

Tabela 18 – Níveis médios de proteínas totais e percentuais de variação em relação aos grupos-controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 30 dias.

Tempo	Tratamento	Proteínas totais (mg/dL)	% de variação	
			T1	T2
0	T1 = Ração	57,06 ± 2,32	-	-
	T2 = Ração	56,64 ± 2,82	- 0,77 ns	-
	T3 = Ração	58,53 ± 1,78	+ 2,58 ns	+ 3,34 ns
15	T1 = Ração	63,54 ± 0,42	-	-
	T2 = R+AB (10%)	61,36 ± 2,14	- 3,43 ns	-
	T3 = R+AV (10%)	60,48 ± 3,07	- 4,81 ns	- 1,43 ns
30	T1 = Ração	58,83 ± 1,54	-	-
	T2 = R+AB (10%)	57,53 ± 1,74	- 2,21 ns	-
	T3 = R+AV (10%)	61,98 ± 1,57	+ 5,35 ns	+ 7,74 ns

ns - F não significativo a 5% de probabilidade.

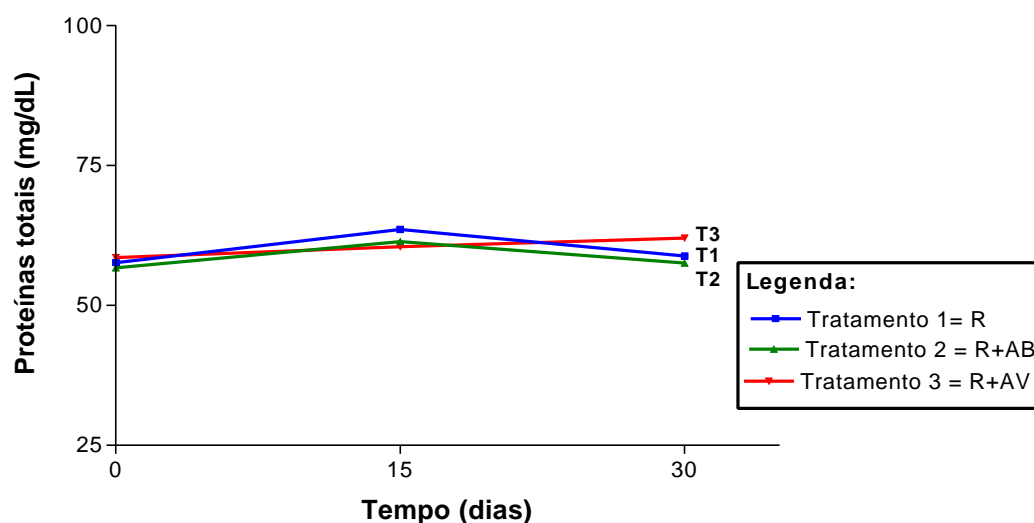


Figura 24 - Variação dos valores médios obtidos para proteínas totais (mg/dL) em coelhos submetidos a diferentes tratamentos e avaliados durante 30 dias.

A concentração de proteína total sérica em coelhos é similar a outras espécies. Um coelho adulto possui em torno de 60 a 70mg/dL de proteína total sérica. (BARTOLOTTI et al., 1989). Observa-se nesse experimento que os valores médios de proteínas totais para os coelhos encontra-se na faixa de 57 a 63,54 mg/dL, não estando, assim, distante da faixa de normalidade.

A redução da concentração de proteínas totais, de modo geral está associada a desordens renais e do fígado. O aumento da concentração de proteínas totais ocorre em desidratação (FOX, 1989).

Em um estudo toxicológico, com o objetivo de avaliar os efeitos do corante *Monascus* sobre o metabolismo de coelhos, LOPES (2001), encontrou valores de proteínas totais na faixa de 56 a 70 mg/dL para os coelhos pertencentes ao grupo controle. Foi constatado que este corante não interferiu nos valores normais deste parâmetro analisado, já que foi encontrado valor médio entre 58 e 65 mg/dL para os coelhos tratados com 100mg/dia de corante *Monascus*. Observa-se nesse experimento (Tabela 18), que os coelhos tratados com arroz fermentado na concentração de 10%, os níveis médios de proteínas totais ficou em média 61,98 mg/dL.

4.3.8 - Efeitos do arroz fermentado nos níveis de fosfatase alcalina

De acordo com a Tabela 19, não houve diferença entre os valores encontrados para os níveis de fosfatase alcalina no soro sanguíneo dos animais.

Observa-se uma leve tendência de diminuição para todos os grupos (figura 15). Entretanto como o acompanhamento foi feito somente por 15 dias devido a problemas laboratoriais, não se pode concluir que houve qualquer efeito do arroz fermentado sobre os níveis de fosfatase alcalina.

Tabela 19 – Níveis médios de fosfatase alcalina e percentual de variação em relação aos grupos-controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 15 dias.

Tempo	Tratamento	Fosfatase alcalina (mg/dL)	% de variação	
			T1	T2
0	T1= Ração	396,57 ± 67,44	-	-
	T2= Ração	417,75 ± 27,85	+ 5,34 ns	-
	T3= Ração	443,66 ± 30,28	+ 11,87 ns	+ 6,20 ns
15	T1 = Ração	361,66 ± 37,99	-	-
	T2 = R+AB (10%)	394,33 ± 19,86	+ 9,03 ns	-
	T3 = R+AV (10%)	417,00 ± 28,48	+ 15,30 ns	+ 5,75 ns

ns - F não significativo a 5% de probabilidade.

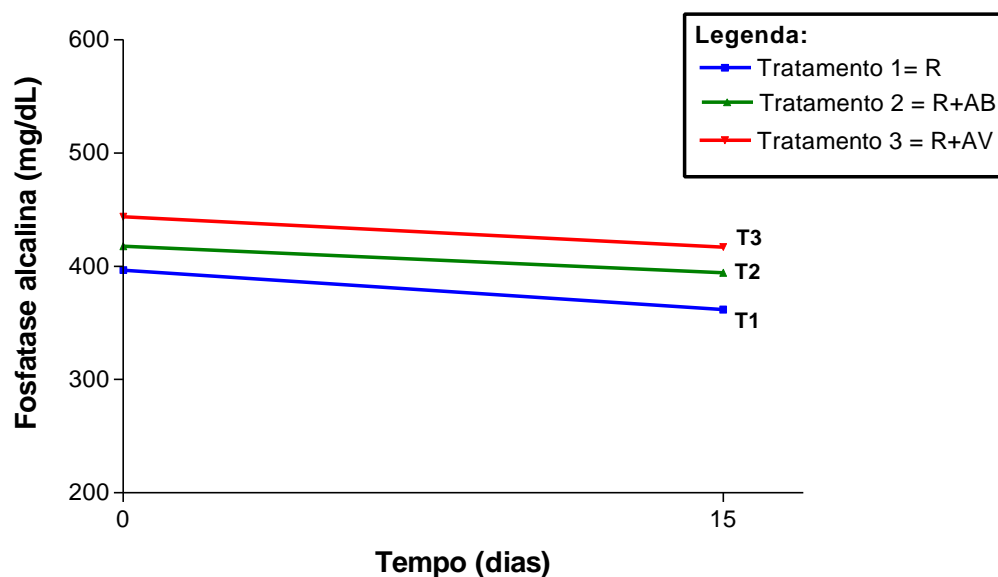


Figura 25 - Variação dos valores médios obtidos para fosfatase alcalina (mg/dL) em coelhos submetidos a diferentes tratamentos e avaliados durante 15 dias.

A fosfatase alcalina é uma enzima membrana-associada, localizada em vários tecidos, mas somente dois são importantes para o diagnóstico; tecido ósseo e hepatobiliar. Com exceção dos animais em crescimento, ou pacientes com doenças ósseas, a elevada atividade sérica da fosfatase alcalina tem normalmente origem hepatobiliar (MEYER et al., 1995).

KANEKO (1989) relata valores médios de fosfatase alcalina para coelhos na faixa de $120 \pm 13,8$ UI. Observa-se nesse experimento que os valores de fosfatase alcalina estão mais elevados, e como mostra a Tabela 19, o desvio padrão da média é alto, assim, as diferenças encontradas não são devidas ao tratamento, mas a variabilidade individual.

4.3.9 - Efeitos do arroz fermentado nos níveis de bilirrubina total

Ao observar a Tabela 20, concluiu-se que no início do experimento os animais do grupo T3, possuíam uma diferença de 26,67% nos níveis de bilirrubina total comparado aos animais do grupo T1. Também o grupo T3 estava com os níveis mais elevados em 35,71% em comparação com o grupo tratado com o arroz branco (T2). Porém, do ponto de vista estatístico estas diferença não foi significativa.

Aos 15 dias, os níveis de bilirrubina total do grupo T3 tiveram uma redução de 5,56% em relação ao grupo tratado com ração (T1) e redução de 10,53% em relação ao grupo T2 (ração + arroz branco).

Tabela 20 - Níveis médios de bilirrubina total e percentual de variação em relação aos grupos-controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 30 dias.

Tempo	Tratamento	Bilirrubina total (mg/dL)	% de variação	
			T1	T2
0	T1= Ração	0,15 ± 0,02	-	-
	T2= Ração	0,14 ± 0,01	- 6,67 ns	-
	T3= Ração	0,19 ± 0,02	+ 26,67 ns	+ 35,71 ns
15	T1 = Ração	0,18 ± 0,03	-	-
	T2 = R+AB (10%)	0,19 ± 0,02	+ 5,56 ns	-
	T3 = R+AV (10%)	0,17 ± 0,03	- 5,56 ns	- 10,53 ns
30	T1 = Ração	0,068 ± 0,02	-	-
	T2 = R+AB (10%)	0,083 ± 0,02	+ 22,06 ns	-
	T3 = R+AV (10%)	0,11 ± 0,01	+ 61,76 ns	+ 32,53 ns

ns - F não significativo a 5% de probabilidade.

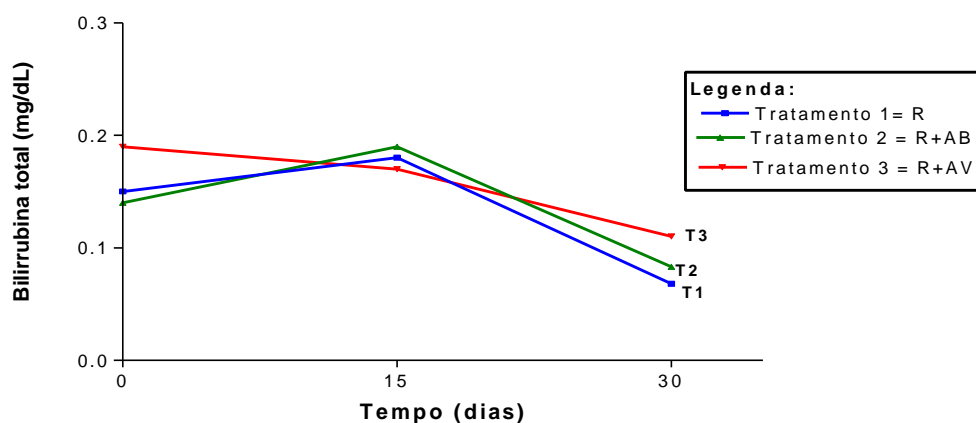


Figura 26 - Variação dos valores médio obtidos para bilirrubina total (mg/dL) em coelhos submetidos a diferentes tratamentos e avaliados durante 30 dias.

Ao analisar aos 30 dias, verificou-se um aumento novamente nos níveis de bilirrubina total dos animais do grupo T3 em comparação com os animais do grupo T1 (61,76%) e T2 (32,53%). Porém estatisticamente estas variações não foram significativas, concluindo assim que o arroz fermentado por *Monascus ruber* não alterou significativamente os níveis de bilirrubina total.

A concentração normal de bilirrubina total em coelhos é aceitável até a faixa de 0,1 a 0,40 mg/dL. Em coelhos, praticamente toda bilirrubina plasmática é conjugada. Biliverdina é aparentemente ausente do sangue de coelhos normais. Não são encontradas diferenças significativas da concentração de bilirrubina total quando se associa a fatores como raça ou sexo (FOX et al., 1974). A administração de glicose para coelhos em jejum leva ao aumento de excreção de bilirrubina, e um decréscimo da concentração de bilirrubina não-conjugada no fígado. Isto se deve ao aumento da atividade das enzimas envolvidas na conjugação de bilirrubina, e muitos autores sugerem que glicose exógena modifica o processo de conjugação hepática de bilirrubina (MUÑOZ et al., 1987).

Nesse experimento os valores médios para os coelhos normais (Tabela 20) encontram-se dentro da faixa de normalidade, segundo FOX et al. (1974). Quando analisou os coelhos tratados com arroz fermentado, os valores médios ficaram na faixa de 0,11 a 0,17 mg/dL, aproximando dos valores encontrados por LOPES, 2001.

4.3.10 - Efeitos do arroz fermentado nos níveis de bilirrubina direta

A Figura 27 mostra uma tendência geral de aumento da bilirrubina direta ao longo dos 30 dias. Segundo GORINA (1996), podem ocorrer casos de hiperbilirrubinemia nas anemias ferroprivas intensas ou aplásicas.

No entanto, após trinta dias de tratamento verifica-se que não houve diferença significativa nos níveis de bilirrubina direta entre os animais tratados com arroz fermentado e os controles (Tabela 21). Aos 15 dias foi observada uma diferença de 52,86% nos níveis de bilirrubina direta entre o grupo que recebeu ração e o grupo que recebeu arroz fermentado. Essa diferença se mostra significativa pelo tratamento estatístico aplicado. No entanto, a diferença é próxima daquela observada no tempo zero, que foi de 50%. Dessa forma, pode-se concluir que a ingestão de arroz fermentado não induz modificação nos níveis deste parâmetro quando comparado com grupos que recebem somente ração ou ração mais arroz branco.

Tabela 21 – Níveis médios de bilirrubina direta e percentual de variação em relação aos grupos-controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 30 dias.

Tempo	Tratamento	Bilirrubina direta (mg/dL)	% de variação	
			T1	T2
0	T1 = Ração	0,044 ± 0,089	-	-
	T2 = Ração	0,048 ± 0,015	+ 9,09 ns	-
	T3 = Ração	0,022 ± 0,065	- 50,0	- 54,17ns
15	T1 = Ração	0,07 ± 0,075	-	-
	T2 = R+AB (10%)	0,065 ± 0,089	- 7,14 ns	-
	T3 = R+AV (10%)	0,033 ± 0,020	- 52,86*	- 49,23*
30	T1 = Ração	0,076 ± 0,010	-	-
	T2 = R+AB (10%)	0,082 ± 0,089	+ 7,89 ns	-
	T3 = R+AV (10%)	0,063 ± 0,013	- 17,10 ns	- 23,17 ns

ns - F não significativo a 5% de probabilidade.

* F significativo a 5% de probabilidade.

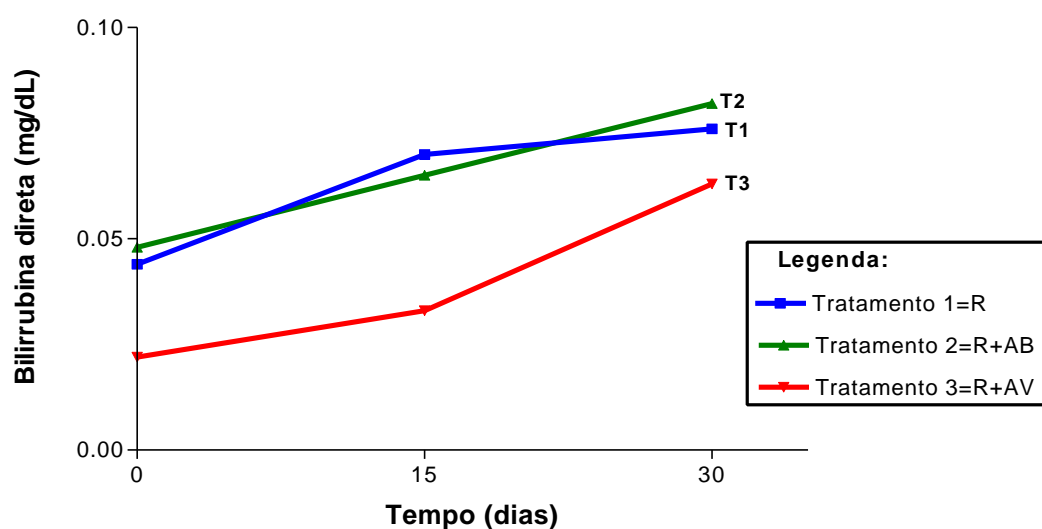


Figura 27 - Variação dos valores médio obtidos para bilirrubina direta (mg/dL) em coelhos submetidos a diferentes tratamentos e avaliados durante 30 dias.

Observa-se nesse experimento que os valores médios para os coelhos normais encontra-se na faixa de 0,04 a 0,07 mg/dL (Tabela 21) que são muito próximos àqueles relatados por LOPES (2001).

4.3.11 - Efeitos do arroz fermentado nos níveis de fósforo

No tempo zero, antes do início do tratamento (Tabela 22), os níveis de fósforo do grupo T2 eram significativamente superiores ao grupo T1. Essa diferença se acentuou levemente após 30 dias. Na Figura 28 pode-se observar que os níveis de fósforo dos grupos T1 e T2 são ligeiramente superiores do início ao final do tratamento.

A figura 18 mostra uma tendência de diminuição dos níveis de fosfato para todos os grupos ao longo do tratamento. Contudo, ao final de trinta dias o menor valor apresentado pelo grupo que recebeu somente ração de 5,5 mg/dL, ainda é superior aos níveis médios ($4,16 \pm 0,46$ mg/dL) descritos na literatura (KANEKO, 1989).

LOPES (2001), relata valores da ordem de 7 a 8 mg/dL de fósforo para coelhos em condições semelhantes aqueles utilizados nesse trabalho.

Tabela 22 – Níveis médios de fósforo e percentual de variação em relação aos grupos-controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 30 dias.

Tempo	Tratamento	Fósforo (mg/dL)	% de variação	
			T1	T2
0	T1 = Ração	7,05 ± 0,21	-	-
	T2 = Ração	7,64 ± 0,16	+ 8,36*	-
	T3 = Ração	7,43 ± 0,18	+ 5,39 ns	- 2,75 ns
15	T1 = Ração	6,46 ± 0,53	-	-
	T2 = R+AB (10%)	7,48 ± 0,19	+ 15,79 ns	-
	T3 = R+AV (10%)	7,22 ± 0,55	+ 11,76 ns	- 3,48 ns
30	T1 = Ração	5,51 ± 0,40	-	-
	T2 = R+AB (10%)	6,73 ± 0,32	+ 22,14*	-
	T3 = R+AV (10%)	6,05 ± 0,40	+ 9,80 ns	- 10,10 ns

ns - F não significativo a 5% de probabilidade.

* F significativo a 5% de probabilidade.

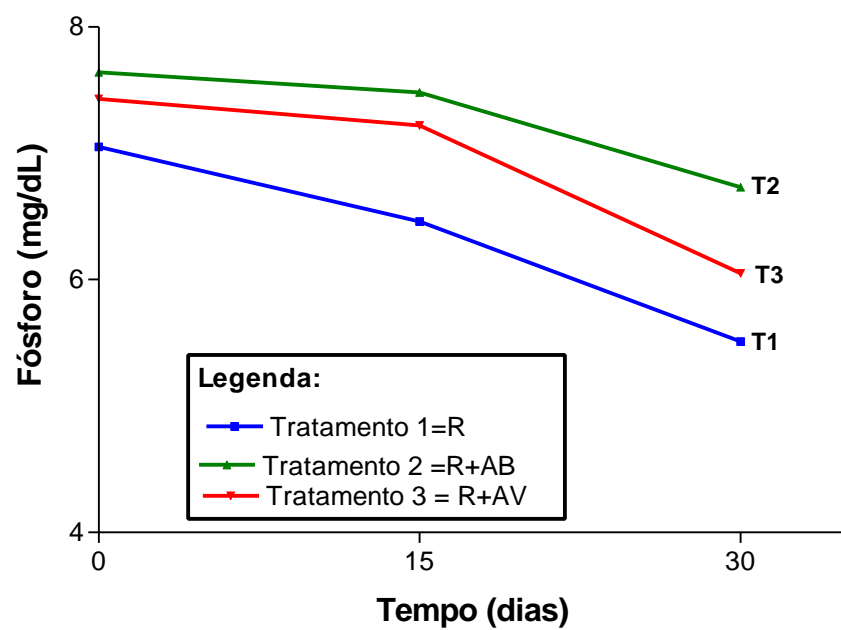


Figura 28 - Variação dos valores médios obtidos para fósforo (mg/dL) em coelhos submetidos a diferentes tratamentos e avaliados durante 30 dias.

4.3.12 - Efeitos do arroz fermentado nos níveis de cálcio

De acordo com a Tabela 23, antes de iniciar o tratamento, os níveis de cálcio dos grupos T2 e T3 se mostraram estatisticamente diferentes daqueles do grupo 1.

Aos 15 dias, observou-se que a diferença existente entre os grupos não era estatisticamente significativa de acordo com o teste F, o mesmo ocorrendo aos 30 dias.

Tabela 23 – Níveis médios de cálcio e percentual de variação em relação aos grupos-controle e coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 30 dias.

Tempo	Tratamento	Cálcio (mg/dL)	% de variação	
			T1	T2
0	T1= Ração	12,68 ± 0,54	-	-
	T2= Ração	13,96 ± 0,30	+ 10,09*	-
	T3= Ração	14,52 ± 0,15	+ 14,51*	+ 4,01
15	T1 = Ração	16,04 ± 0,59	-	-
	T2 = R+AB (10%)	15,28 ± 0,33	- 4,78	-
	T3 = R+AV (10%)	15,60 ± 0,58	- 2,74	+ 2,09
30	T1 = Ração	14,57 ± 0,23	-	-
	T2 = R+AB (10%)	14,03 ± 0,22	- 3,84	-
	T3 = R+AV (10%)	14,43 ± 0,16	- 0,96	+ 2,85

*F significativo a 5% de probabilidade.

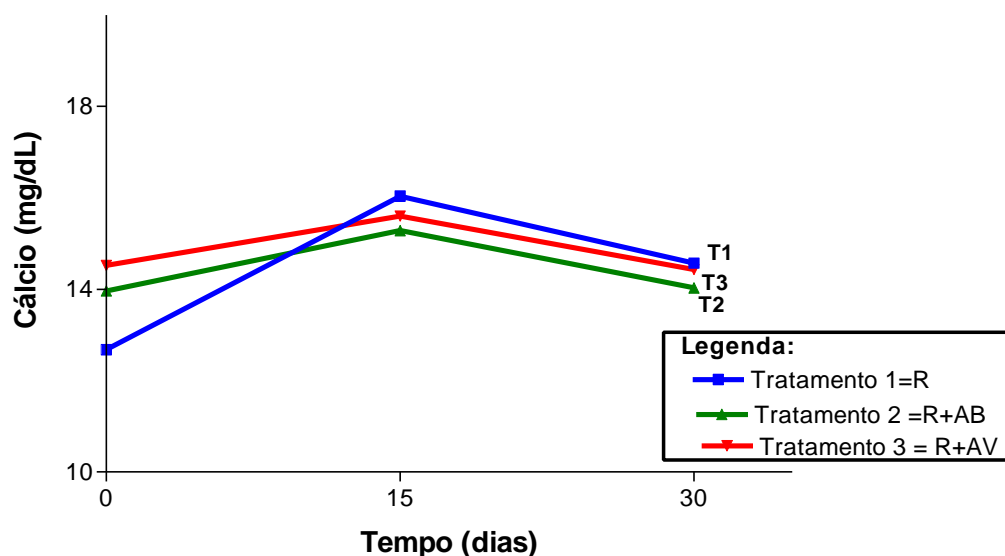


Figura 29 - Variação dos valores médios obtidos para cálcio (mg/dL) em coelhos submetidos a diferentes tratamentos e avaliados durante 30 dias.

O arroz fermentado por *Monascus ruber* não provocou alterações significativas nas concentrações normais desse elemento no sangue dos animais.

Os valores médios de cálcio para coelhos machos encontram-se na faixa de 5,84 a 14,4 mg/dL (KANEKO, 1989).

O cálcio exerce várias funções no organismo, como componente do tecido ósseo, influi no transporte através das membranas celulares, afeta a transferência dos íons através das organelas, facilita na liberação dos neurotransmissores, atua na liberação e ativação de enzimas, dentre outras funções (BACILA, 1980).

Os seus níveis podem ser alterados principalmente no hiperparatireoidismo, hipervitaminose D, neoplasias pelo uso de diuréticos, síndrome nefrótica e pancreatite aguda (LIMA, 1985)

Segundo ZHU et al., 1992, a média dos níveis de cálcio não variaram em um experimento de 10 semanas, onde ele testou o efeito da lovastatina na supressão e regressão da aterosclerose de coelhos com dieta rica em lipídios.

4.3.13 - Efeitos do arroz fermentado nos níveis de cloreto

A heterogenicidade dos animais quanto aos níveis de cloreto pode ser visualizada na Tabela 24. Efetivamente, no tempo zero, antes de iniciar os tratamentos, os animais do grupo T3 mostram diferenças estatisticamente significativas quando comparados com os demais grupos. Estas diferenças, no entanto, desaparecem ao final do tratamento.

Na Figura 30, pode-se visualizar os níveis médios de cloreto dos animais do grupo e foram decaindo ao longo do tempo e aqueles dos grupos 1 e 2 praticamente não variaram durante 30 dias de experimento.

Tabela 24 – Níveis médios de cloreto e percentual de variação em relação aos grupos-controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos e avaliados durante 30 dias.

Tempo	Tratamento	Cloreto (mmol/L)	% de variação	
			T1	T2
0	T1= Ração	93,78 ± 6,44	-	-
	T2= Ração	95,97 ± 7,90	+ 2,33	-
	T3= Ração	132,28 ± 3,27	+ 41,05*	+ 37,83*
15	T1 = Ração	91,93 ± 5,54	-	-
	T2 = R+AB (10%)	91,77 ± 5,59	- 0,17	-
	T3 = R+AV (10%)	110,82 ± 3,48	+ 20,55*	+ 20,76*
30	T1 = Ração	83,47 ± 3,43	-	-
	T2 = R+AB (10%)	77,42 ± 5,35	- 7,25	-
	T3 = R+AV (10%)	88,95 ± 5,82	+ 6,56	+ 14,89

* F significativo a 5% de probabilidade.

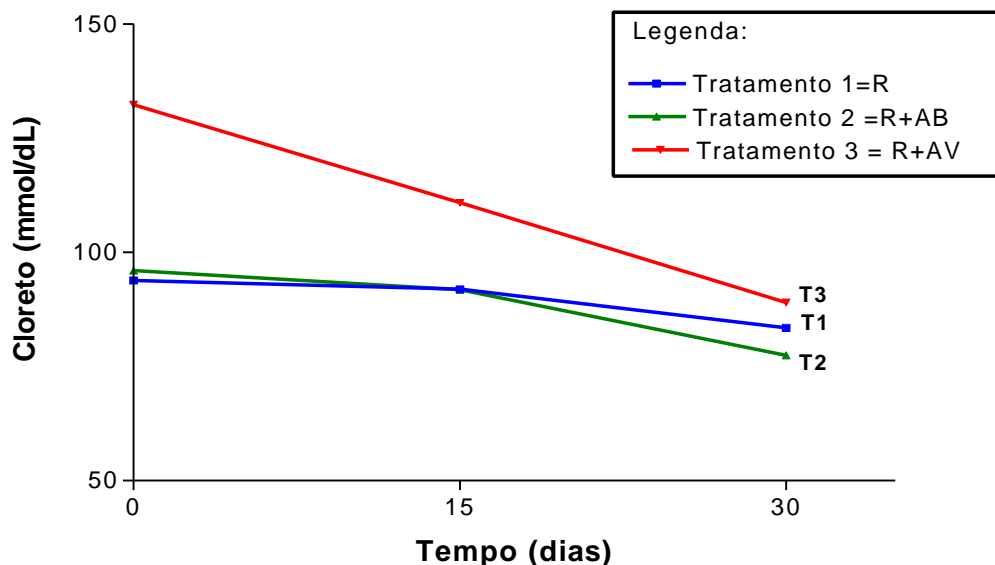


Figura 30 - Variação dos valores médios obtidos para cloretos (mg/dL) em coelhos submetidos a diferentes tratamentos e avaliados durante 30 dias.

Nesse caso poderia se inferir que o tratamento com o arroz fermentado fez diminuir os níveis de cloreto. Entretanto, aos trinta dias, não se observa diferença significativa deste parâmetro entre os grupos. Assim, consideramos que o experimento não foi suficiente para se afirmar que o arroz fermentado influi de maneira significativa nos níveis de cloreto no sangue dos animais.

O cloro é indispensável a todos os animais. Ele é o principal íon inorgânico do fluido extracelular. Juntamente com o sódio, age no organismo controlando a pressão osmótica, o balanço hídrico, a ação cardíaca e a condução do impulso e transmissões neurais. Seus níveis elevados podem ser decorrentes de insuficiência renal (quando a ingestão de cloretos excede a excreção), acidose dos túbulos renais, ureterossigmóide (reabsorção de urina no intestino)etc. e seus níveis reduzidos podem ser devidos a doenças gastrintestinais (vômitos, diarreia), acidose respiratória crônica, insuficiência adrenal (perda de NaCl) (MURRAY et al., 1994)

4.3.14 - Efeitos do arroz fermentado nos níveis de ferro

Os níveis médios de ferro no soro dos coelhos foram estatisticamente iguais entre os três grupos, ao longo dos 30 dias de tratamento (Tabela 25). Esses resultados mostram que o arroz branco e o arroz fermentado não alteram os níveis sanguíneos deste elemento nos animais estudados.

A Figura 31 mostra uma tendência de aumento dos níveis sanguíneos de ferro durante o período testado. Essa tendência, no entanto, não pode ser atribuída aos tratamentos, uma vez que ela foi semelhante para todos os grupos. Uma queda nos níveis séricos de ferro ocorre nas infecções agudas, na cirrose, na síndrome nefrótica, nas anemias hipocrômicas em geral. Já um aumento nos níveis séricos de ferro ocorre na icterícia parenquimatosa e hepatites graves (GORINA, 1996).

Tabela 25 – Níveis médios de ferro e percentual de variação em relação aos grupos-controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 30 dias.

Tempo	Tratamento	Ferro (mg/dL)	% de variação	
			T1	t2
0	T1= Ração	2,83 ± 0,33	-	-
	T2= Ração	3,07 ± 0,40	+ 8,48 ns	-
	T3= Ração	3,13 ± 0,20	+ 10,60 ns	+ 1,95 ns
15	T1 = Ração	3,54± 0,44	-	-
	T2 = R+AB (10%)	3,44 ± 0,33	- 2,82 ns	-
	T3 = R+AV (10%)	3,91 ± 0,22	+ 10,45 ns	+ 13,66 ns
30	T1 = Ração	4,35 ± 0,12	-	-
	T2 = R+AB (10%)	4,58 ± 0,30	+ 5,29 ns	-
	T3 = R+AV (10%)	4,97 ± 0,30	+ 14,25 ns	+ 8,52 ns

ns - F não significativo a 5% de probabilidade.

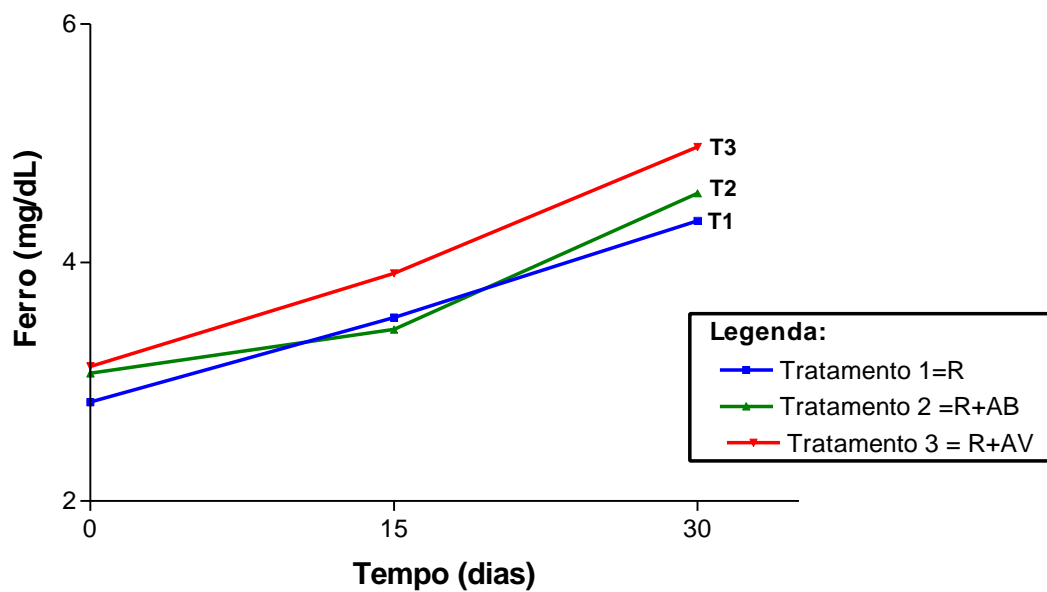


Figura 31 - Variação dos valores médios obtidos para ferro (mg/dL) em coelhos submetidos a diferentes tratamentos e avaliados durante 30 dias.

4.3.15 - Efeitos do arroz fermentado nos níveis de magnésio

Antes de se iniciar os tratamentos, foi observado que os níveis de magnésio do grupo 3 eram estatisticamente diferentes do grupo 1 (Tabela 26).

Aos 15 e 30 dias, no entanto, não foi observada diferença estatisticamente significativa, nos níveis sanguíneos deste elemento entre os diferentes grupos. Na Figura 32 pode-se visualizar que o tratamento por 30 dias não afetou este parâmetro. Desta forma, pode-se inferir que o arroz fermentado não afeta os níveis plasmáticos de magnésio.

KANEKO (1989) relata que os níveis médios de magnésio em coelhos encontram-se na faixa de $2,25 \pm 0,16$ mg/dL.

A hipomagnesemia pode manifestar-se por tremores, tetania e convulsões, ansiedade e alucinações. O excesso de magnésio ocasiona astenia, paresias, arreflexa, bradicardia e hipotensão (GORINA, 1996).

Tabela 26 – Níveis médios de magnésio e percentual de variação em relação aos grupos-controles de coelhos submetidos a diferentes tratamentos e avaliados durante 30 dias.

Tempo	Tratamento	Magnésio (mg/dL)	% de variação	
			T1	T2
0	T1= Ração	2,64 ± 0,09	-	-
	T2= Ração	2,82 ± 0,17	+ 6,81 ns	-
	T3= Ração	3,12 ± 0,06	+ 18,18*	+ 10,64 ns
15	T1 = Ração	2,82 ± 0,16	-	-
	T2 = R+AB (10%)	3,02 ± 0,20	+ 7,09 ns	-
	T3 = R+AV (10%)	3,16 ± 0,14	+ 12,06 ns	+ 4,64 ns
30	T1 = Ração	2,67 ± 0,06	-	-
	T2 = R+AB (10%)	2,63 ± 0,12	- 1,50 ns	-
	T3 = R+AV (10%)	2,75 ± 0,07	+ 2,99 ns	+ 4,56 ns

ns - F não significativo a 5% de probabilidade.

*F significativo a 5% de probabilidade

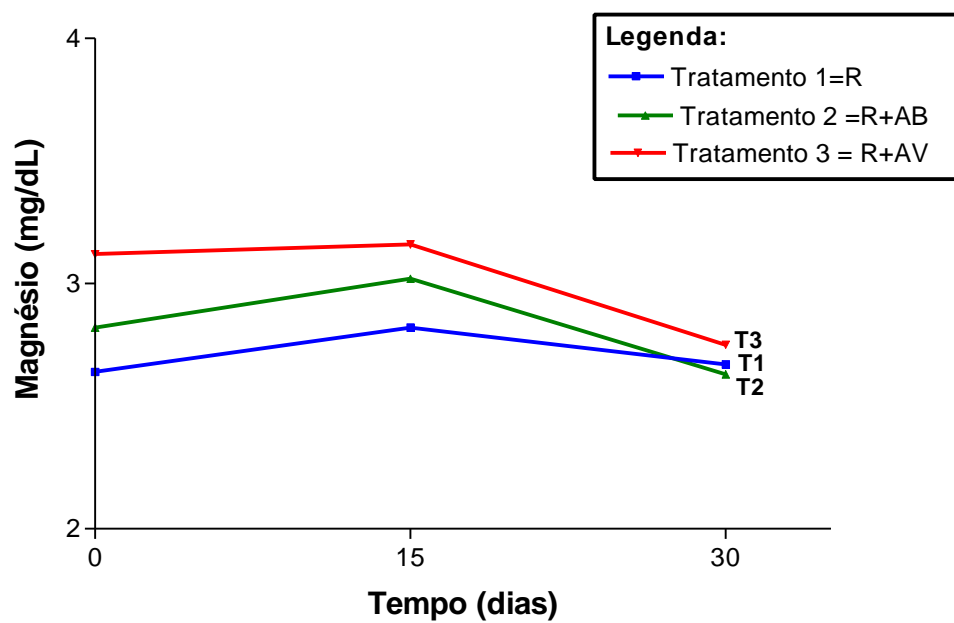


Figura 32 - Variação dos valores médios obtidos para magnésio (mg/dL) em coelhos submetidos a diferentes tratamentos e avaliados durante 30 dias.

4.4 – Análise histopatológica

Na Figura 33, observam-se cortes de coração animais pertencentes aos grupos tratados com ração (33A) e tratados com ração e arroz fermentado (33B). Pode-se observar que a adição de arroz fermentado na dieta dos coelhos não ocasionou alterações morfológicas nesse órgão, no que se diz a formação de células espumosas.

Na análise da aorta (Figura 34) de animais tratados com ração e colesterol (Figura 34A) e tratados com ração, colesterol e arroz fermentado (Figura 34B), observa-se que a lesão tecidual é mais extensa nos animais tratados com colesterol comparado àqueles tratados com colesterol e arroz fermentado, sugerindo assim, uma tendência de diminuição de lesões teciduais nesses animais.

A ocorrência de células espumosas fica bem evidenciada na Figura 35, observando que os animais que receberam ração e colesterol (Figura 35A) possuem maior área ocupada por essas células comparadas aos animais tratados com ração, colesterol e arroz fermentado (Figura 35B).

Ao comparar cortes de tecidos de coração de animais tratados com ração (Figura 36A), ração e arroz fermentado (Figura 36B) e ração, colesterol e arroz fermentado (Figura 36C), observa-se que esses animais possuem uma extensa área que não foi alterada pelo colesterol. Assim a adição do arroz fermentado preveniu o aparecimento de grandes lesões cardíacas nos animais tratados.

LI et al. (1998) realizou um estudo com coelhos, onde adicionou 0,8g/kg/dia de arroz fermentado na dieta dos animais. Após um período de 60 dias, os animais foram sacrificados e realizou-se uma análise hitopatológica da aorta, concluindo que a adição do arroz fermentado reduziu as placas ateroscleróticas formadas nos animais hiperlipidêmicos, o que está em concordância com o presente trabalho.

Os coelhos são considerados um bom modelo animal para indução da hipercolesterolemia e obtenção de placas ateromatosas, o que pode ser bem visualizado nos animais que receberam colesterol em sua dieta. Observa-se o

miocárdio comprometido com fibras musculares em degeneração (figura 37A) e invasão da lesão na camada da túnica média de vasos cardíacos (figura 37B).

Ao realizar histopatologia do fígado dos animais, observa-se que devido as características inerentes ao fígado do coelho, não se pode fazer descrições de alterações de tecido (Figuras 38 e 39). Por isso sugere-se que para analisar este órgão, sejam realizados estudos com outros modelos animais, como por exemplo o rato e cobaias, e que outras técnicas de coloração sejam efetuadas, como a histoquímica de polissacarídeos e para elastina.

FIGURA 33 - A - Corte da parede arterial em coração de animal tratado com ração, onde observa-se a túnica íntima (↓↓), túnica média (*) e célula muscular lisa da túnica média (↓). 560x

B - Corte da parede arterial em coração de animal tratado com ração e arroz fermentado (10%), onde observa-se a túnica íntima (↓↓), túnica média (*) e célula muscular lisa da túnica média (↓). 560x

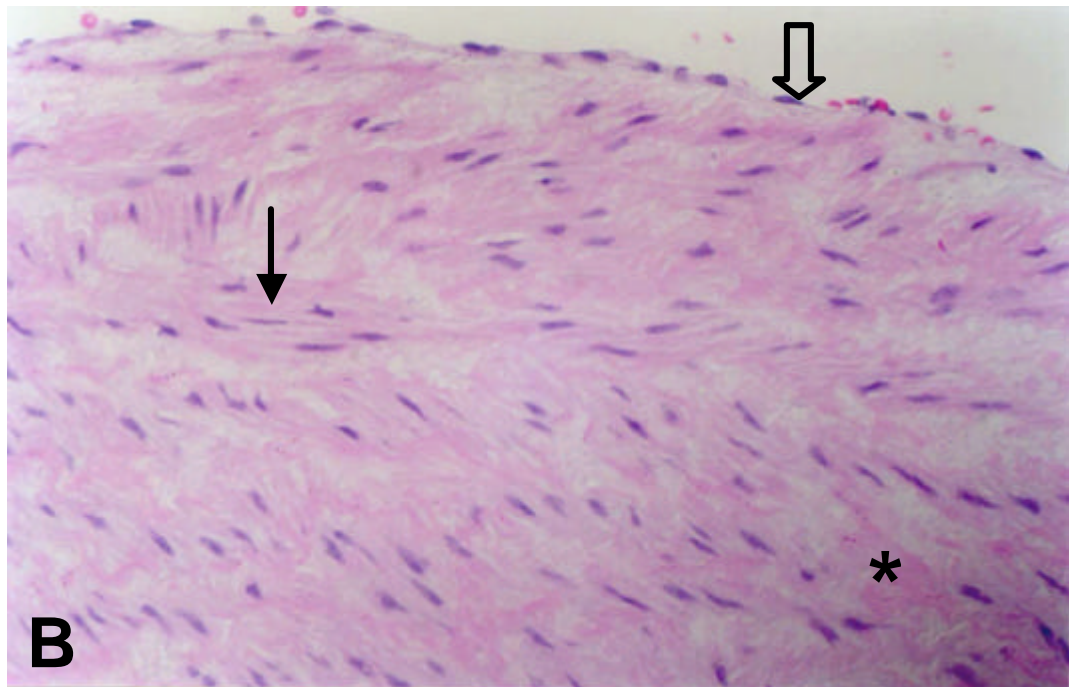
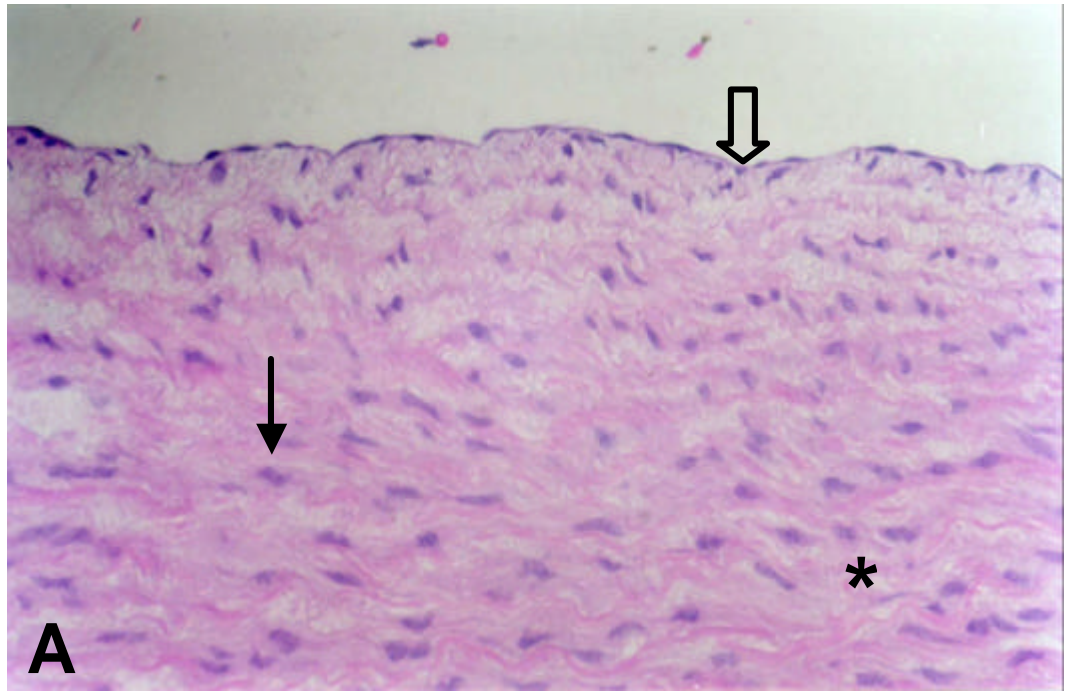


Figura 33

FIGURA 34 – A – Corte de aorta de animal tratado com ração e colesterol (1%), onde observa-se a túnica íntima (↓), túnica média (*) e célula muscular lisa da túnica média (↓), limite da lesão tecidual (↔) e células espumosas (Δ). 280x

B – Corte de aorta de animal tratado com ração, colesterol (1%) e arroz fermentado (10%) onde observa-se a túnica íntima (↓), túnica média (*) e célula muscular lisa da túnica média (↓), limite da lesão tecidual (↔) e células espumosas (Δ). 280x

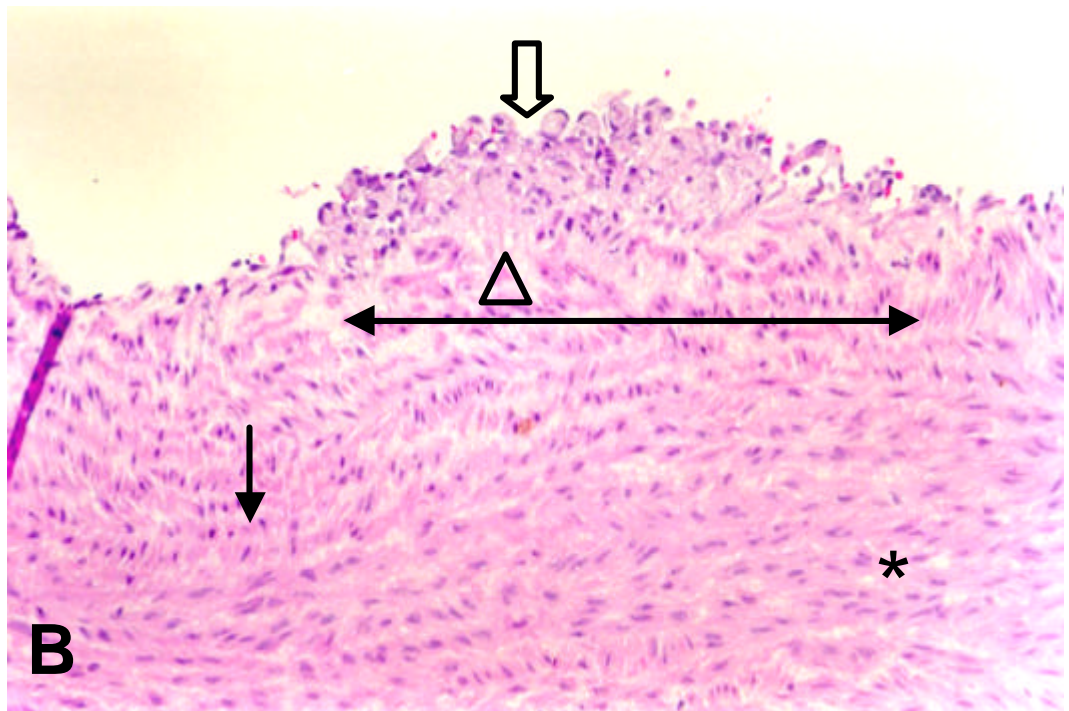
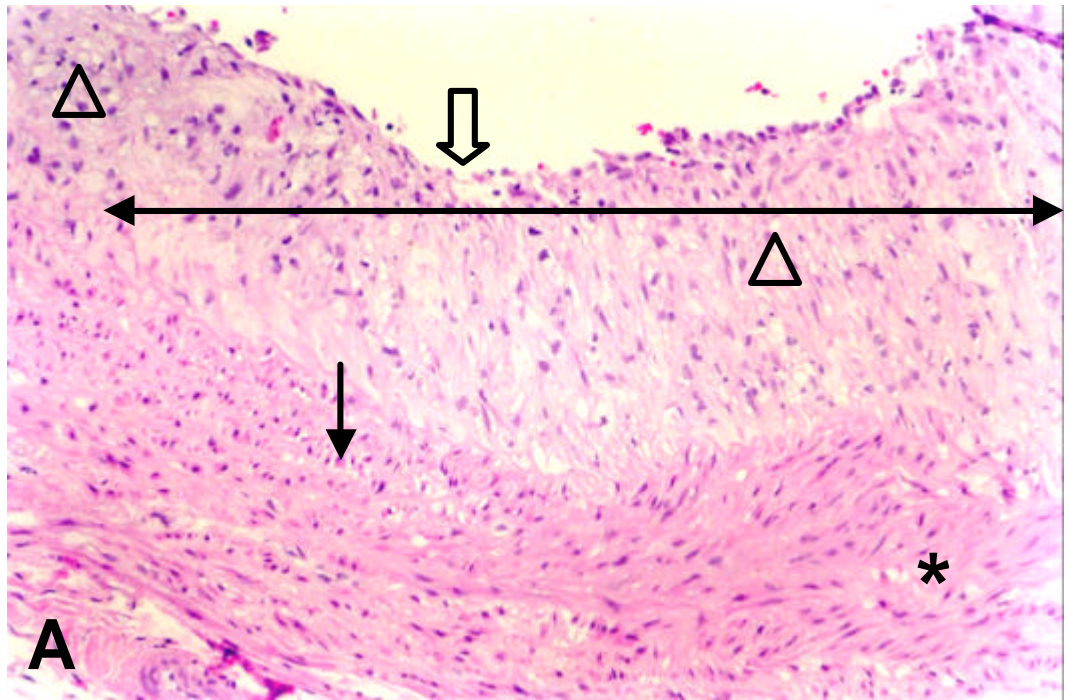


Figura 34

FIGURA 35 – A - Corte da parede arterial em coração de animal tratado com ração, colesterol (1%) onde observa-se a túnica íntima (↓), limite da lesão tecidual (↔) e células espumosas (Δ). 560x

B - Corte da parede arterial em coração de animal tratado com ração, colesterol (1%) e arroz fermentado (10%) onde observa-se a túnica íntima (↓), limite da lesão tecidual (↔) e células espumosas (Δ). 560x

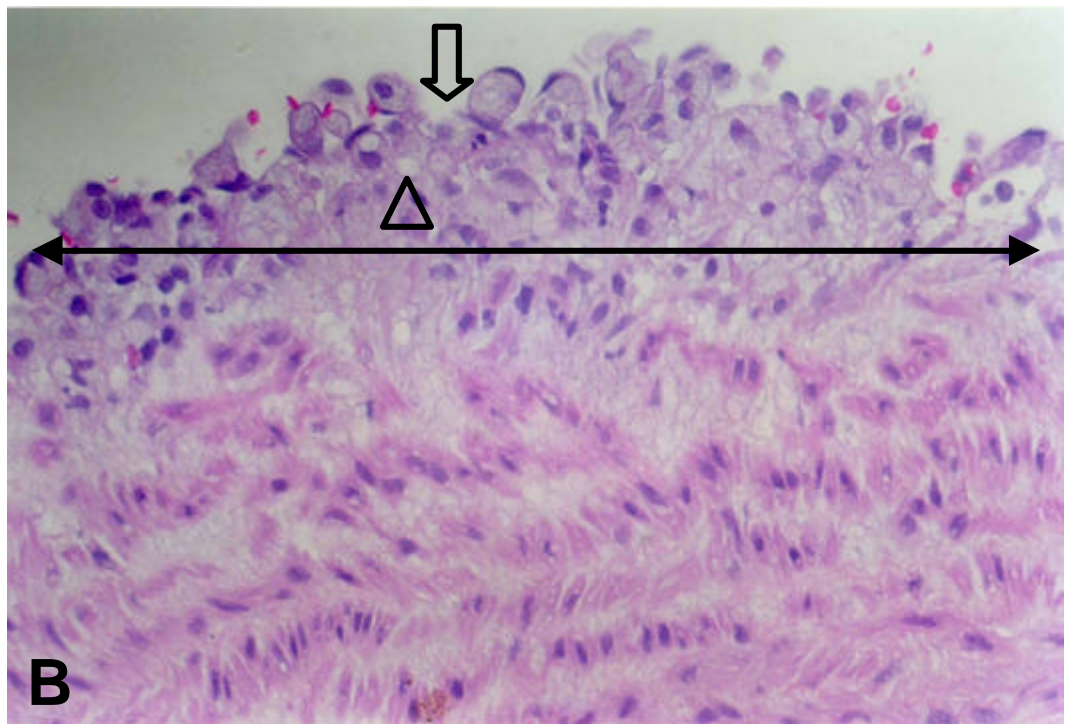
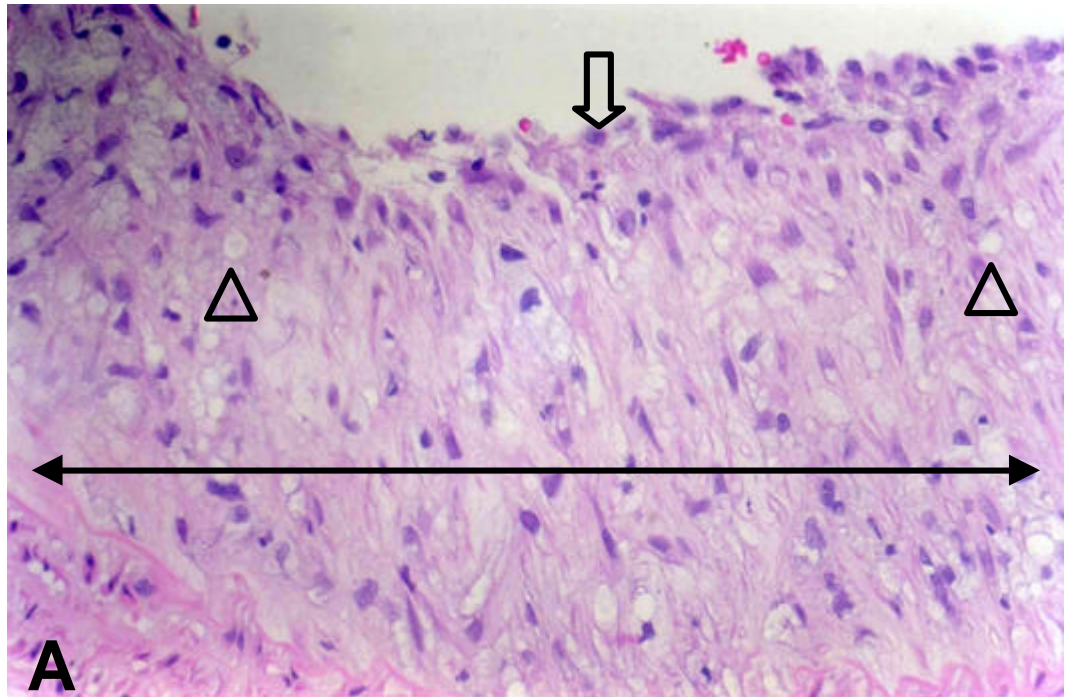


Figura 35

FIGURA 36 – A – Corte da parede arterial em coração de animal tratado com ração, onde observa-se a túnica íntima (↓↓), túnica média (*) e célula muscular lisa da túnica média (↓). 560x

B – Corte da parede arterial em coração de animal tratado com ração e arroz fermentado (10%), onde observa-se a túnica íntima (↓↓), túnica média (*) e célula muscular lisa da túnica média (↓). 560x

C – Corte da parede arterial em coração de animal tratado com ração, colesterol (1%) e arroz fermentado (10%), onde observa-se a túnica íntima (↓↓), túnica média (*) e célula muscular lisa da túnica média (↓). 560x

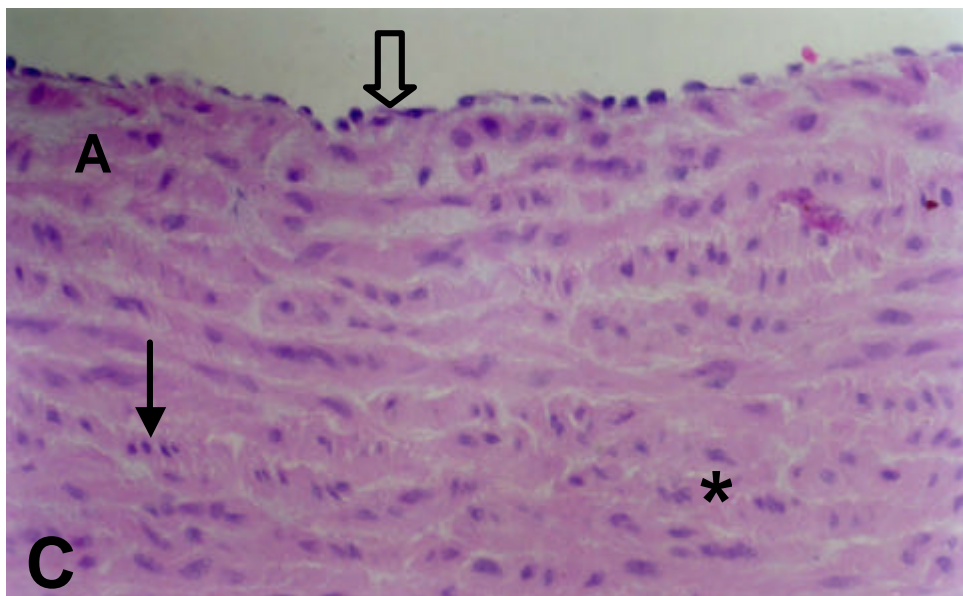
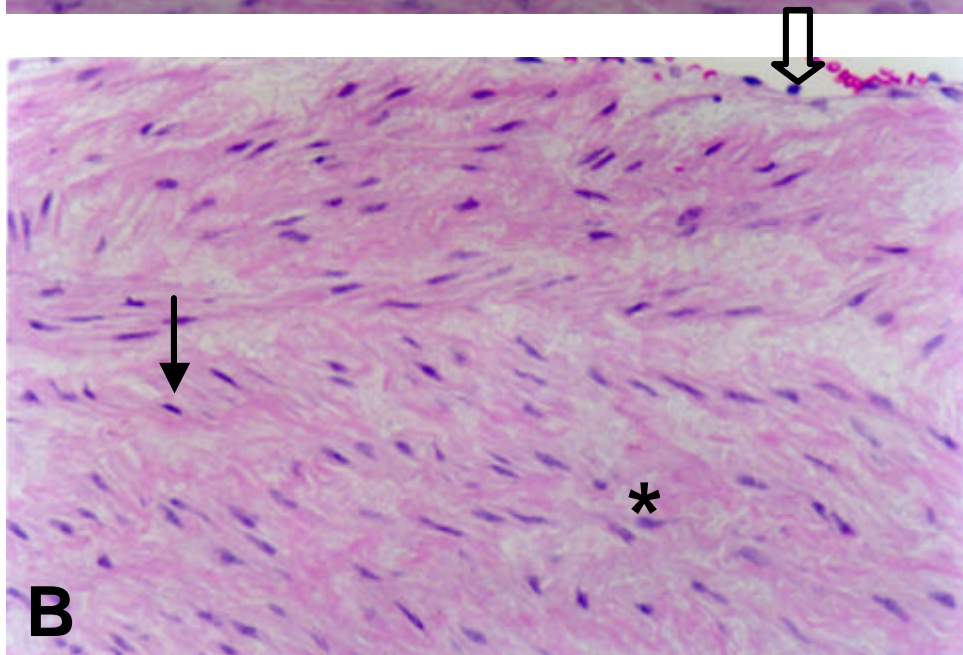
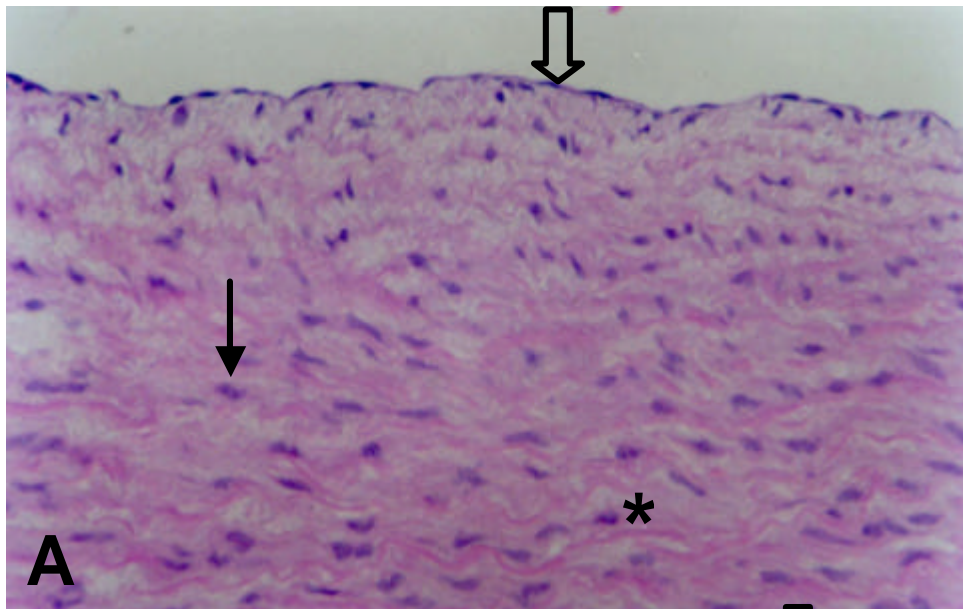


Figura 36

FIGURA 37 – A – Corte de tecido muscular cardíaco de animal tratado com ração e colesterol (1%), onde observa-se miocárdio normal (☆) e miocárdio comprometido com fibras musculares cardíacas em degeneração (▣→). 280x

B – Corte da parede arterial em coração de animal tratado com ração e colesterol (1%), onde observa-se miocárdio normal (☆), miocárdio comprometido com fibras musculares cardíacas em degeneração (▣→) e da lesão na túnica íntima de artéria que encontra-se espessada (Σ→). 140x

C – Corte da parede arterial em coração de animal tratado com ração e colesterol (1%), onde observa-se túnica íntima espessada (↓) e invasão da lesão na túnica média (→→). 280x

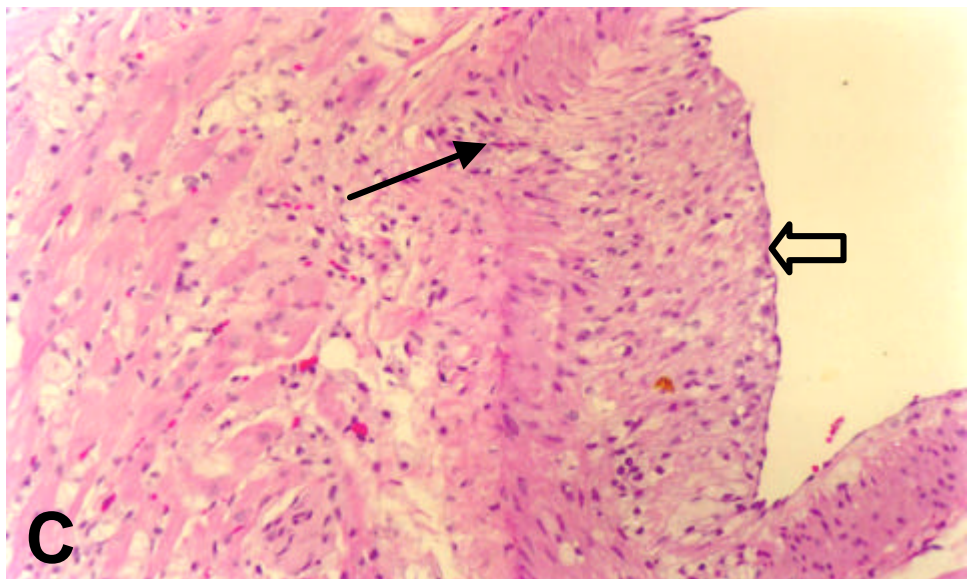
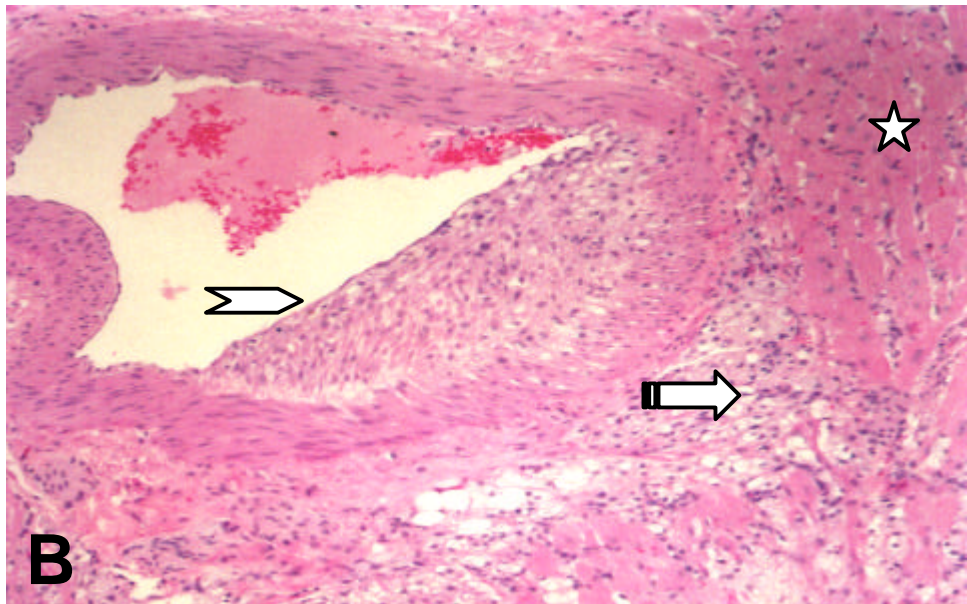
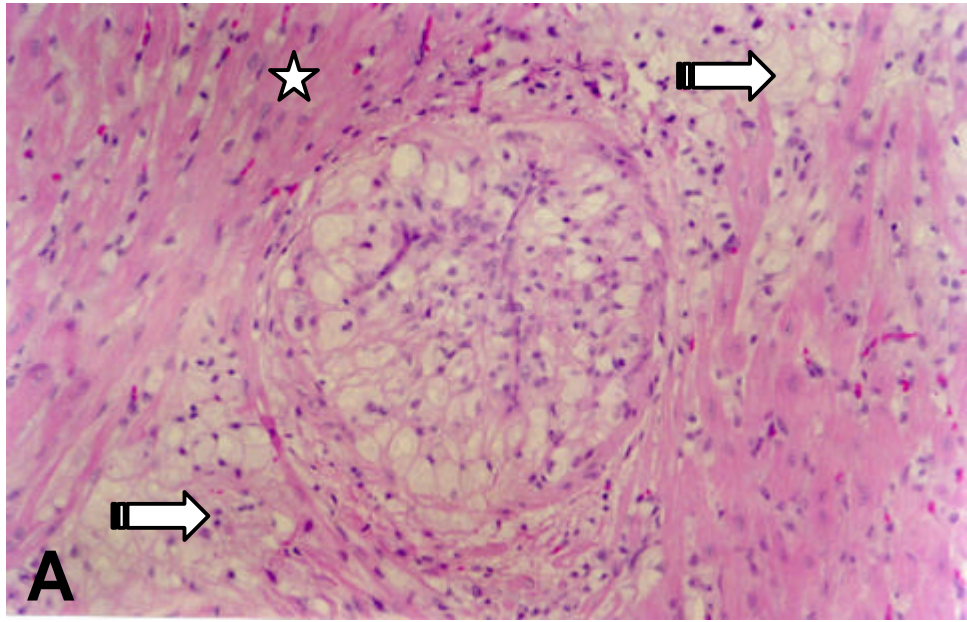


Figura 37

FIGURA 38 – A – Corte de tecido hepático de animal tratado com ração, onde observa-se a veia centro lobular (**VCL**), capilar sinusoide (\longrightarrow) e hepatócito (\Downarrow). 560x

B – Corte de tecido hepático de animal tratado com ração e arroz fermentado (10%), onde observa-se a veia centro lobular (**VCL**), capilar sinusoide (\longrightarrow) e hepatócito (\Downarrow). 560x

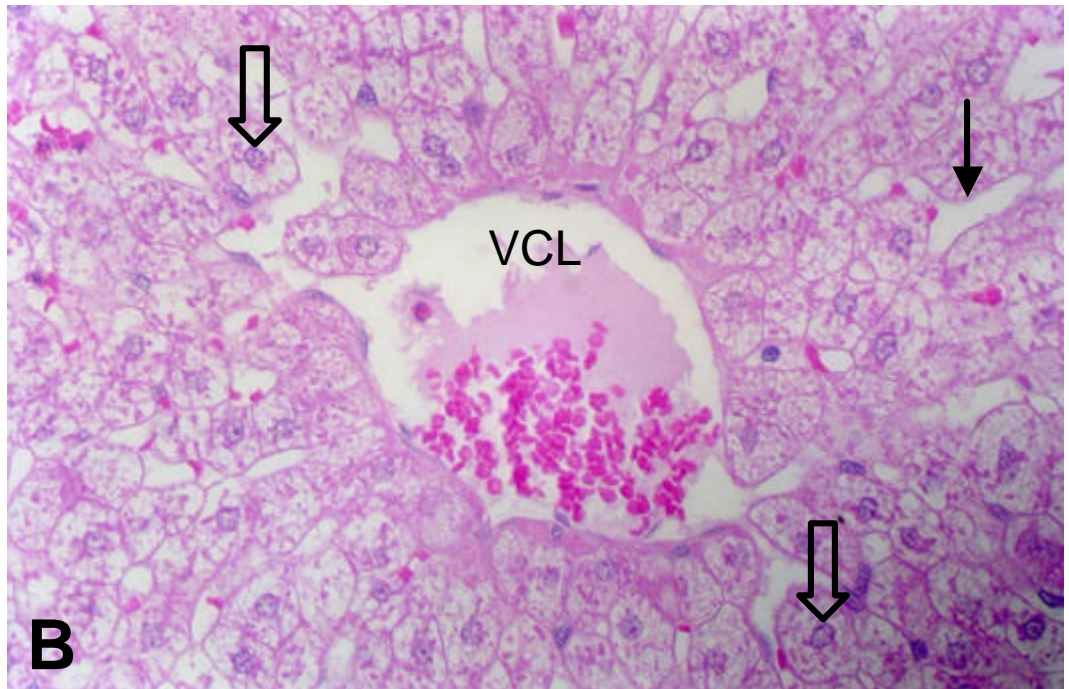
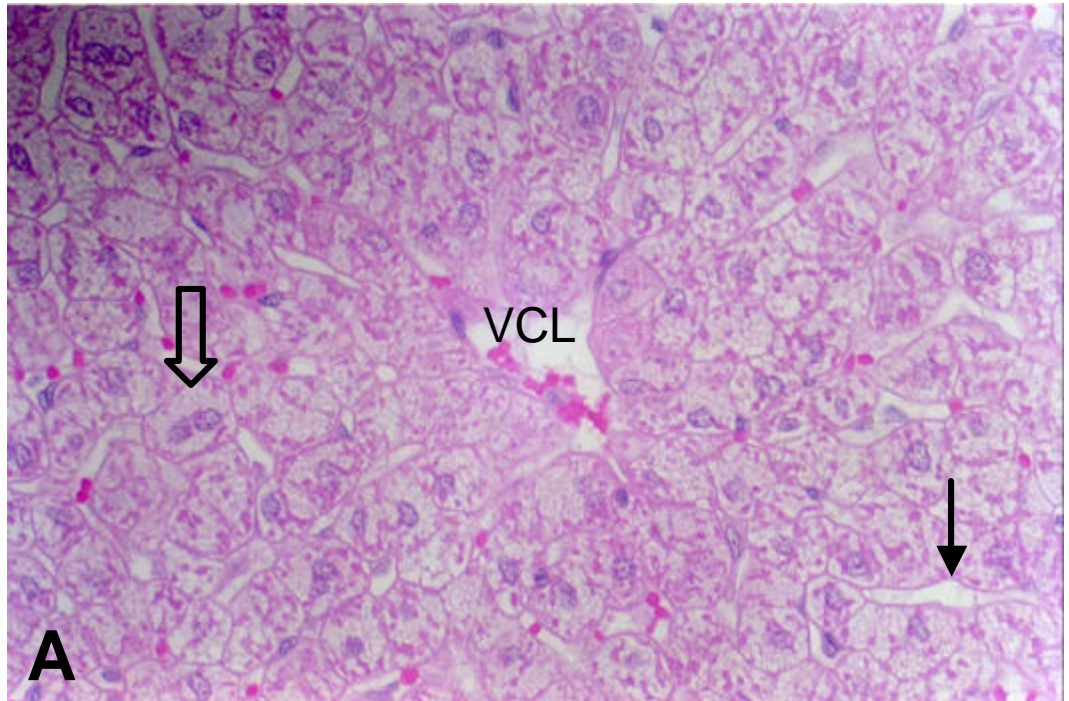


Figura 38

FIGURA 39 – A – Corte de tecido hepático de animal tratado com ração e colesterol (1%), onde observa-se a veia centro lobular (**VCL**), capilar sinusoide (→) e hepatócito (↓). 560x

B – Corte de tecido hepático de animal tratado com ração e colesterol (1%) e arroz fermentado (10%), onde observa-se a veia centro lobular (**VCL**), capilar sinusoide (→) e hepatócito (↓). 560x

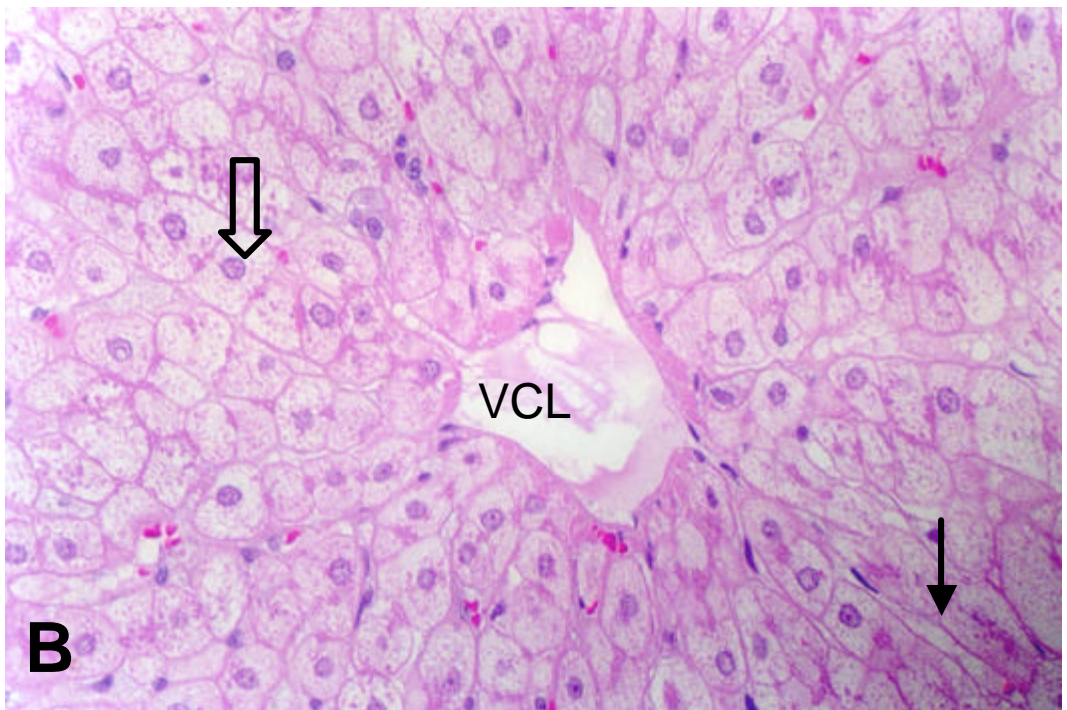
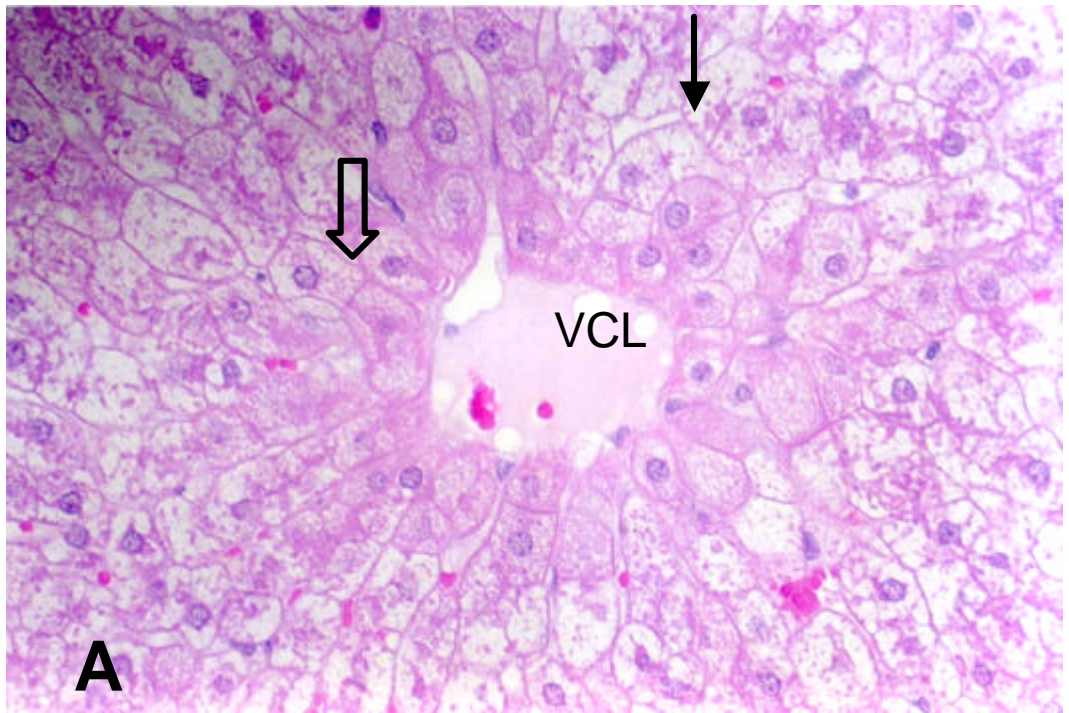


Figura 39

V – CONCLUSÕES

Foi feita a caracterização do arroz fermentado e posteriormente realizaram-se dois ensaios biológicos, a fim de se avaliar os efeitos do fungo *Monascus ruber* nos parâmetros sanguíneos de coelhos.

A fermentação do arroz promoveu um aumento no conteúdo de proteínas (de 9,4% no arroz não fermentado para 23,16% no arroz fermentado) e lipídios (de 0,47% no arroz não fermentado para 4,25% no arroz fermentado) e uma redução na concentração de carboidrato (de 89,28% no arroz não fermentado para 71,52% no arroz fermentado). O arroz fermentado mostrou ser uma fonte de proteínas e lipídios.

O arroz fermentado foi eficiente na redução do colesterol total, sendo mais eficiente na concentração de 10%, onde provocou uma redução de 37,14% nos níveis desse constituinte. O arroz fermentado na concentração de 10% promoveu o maior aumento da HDL, o que implica num possível efeito cardioprotetor. Neste caso também, o arroz fermentado a 10% foi o mais eficiente na redução de LDL-c (37,73%), como também ocorreu na redução de VLDL-c e triacilgliceróis (51,44%). Os níveis de glicose não foram afetados.

No segundo ensaio biológico foram avaliados os efeitos tóxicos do arroz fermentado por *Monascus ruber*. Os constituintes creatinina, proteínas totais, albumina, bilirrubina total, bilirrubina direta, ácido úrico, fosfato, ferro, cloro, cálcio, gama glutamil-transferase (gama-GT), transaminase glutâmico-pirúvica

(TGP), transaminase glutâmico-oxaloacética (TGO) e fosfatase alcalina foram dosados nesse ensaio biológico. A utilização de arroz fermentado nas concentrações de 10% durante 30 dias, aparentemente não afeta nenhum desses parâmetros avaliados.

Ao realizar a histopatologia do coração e fígado constatou-se que a adição de arroz fermentado na dieta dos animais não alterou a morfologia das células do coração, quando adicionou-se o arroz fermentado juntamente com o colesterol, constatou-se que esse arroz diminuiu as lesões ocorridas decorrente da adição de colesterol. Quanto ao fígado, devido às características inerentes desse órgão dos coelhos, os resultados obtidos pela adição de arroz fermentado na dieta dos animais não são conclusivos.

É importante ressaltar que testes feitos em animais são considerados pré-clínicos. Assim, sugere-se estudos clínicos em outras espécies animais e humanos para certificar os resultados encontrados nesse estudo, viabilizando, dessa forma, o emprego deste arroz fermentado por *Monascus ruber*, como um alimento funcional hipocolesterolemiantes.

BIBLIOGRAFIA

AIR ET AL., 2000. (<http://www.monascus.net>)

ALBERTS, A.W., Lovastatin and sinvastatin – Inhibitors of HMG-CoA reductase and cholesterol biosynthesis. **Cardiology**, v.77, supplement 4, p.14-21, 1990.

BACILA, M. **Bioquímica Veterinária**. São Paulo, SP: Varela, 1980.

BATES, E.R.; Raising high-density lipoprotein cholesterol and lowering low-density lipoprotein cholesterol as adjunctive therapy to coronary artery revascularization. **Am. J. Cardiol.**, v. 86, n. 12, supplement 1. p 28-34, 21 december 2000.

BHAGAVAN, N.V. **Bioquímica**. Rio de Janeiro, RJ:Interamericana, 1977.

BLANC, P.J., LAUSSAC, P.J., BARS, J., BARS, P., LORET, M.O., PAREILLEUX, A., PROMÉ, P., PROMÉ, J.C., SANTERRE, A.L., GOMA, G. Characterizations of Monascidin A from *Monascus as citrinin*. **Int. J. Food Microb.** .v. 27, p.201-213, 1995.

BLAS, C., WISEMAN, J. **The Nutrition of the Rabbit**. Cabi Publishing., 1998, 344p.

BORTOLOTTI, A., CASTELLI, P., BONATI, M. Hematology and chemistry values of adult, pregnant and new born new Zealand white rabbits. **Lab Anim. Sci.** v.39, p. 437-439, 1989.

BRODY, T. **Nutritional Biochemistry.** San Diego: Academic Press. 1994.658p.

BROWN, M.S., FAUST, J.K., GOLDSTEIN, L. Induction of 3-hidroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity in human fibroblasts incubated with compactin (ML-236B), a competitive inhibitor of the reductase. **J. Biol. Chem.** v.253, p.1121-1128, 1978.

CAMPBELL, M.K. **Bioquímica.** 3 ed. Porto Alegre. Artes Médicas, 2000. 751p.

CARVALHO, M.R. Identificação de produtos da fermentação por fungos (*Monascus ruber* e *Aspergillus versicolor*) e seus efeitos no metabolismo lipídico Viçosa, MG:UFV, 1999. 72p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica). Universidade Federal de Viçosa, 2001.

CERVATO, A.M.; MAZZILLI, R.N.; MARTINS, I.S.; MARUCCI, M.F. Dieta habitual e fatores de risco para doenças cardiovasculares. **Rev Saúde Públ.**, v 31, n 3, p227-35, 1997.

CHAMPE, P.C., HARVEY, R.A. **Bioquímica Ilustrada.** 2 ed. Porto Alegre. Artes Médicas. 1996.446p.

CHARLES, M. SHEPHERD, D. The effect of different nitrogen sources on pigment production and sporulation of *Monascus* species in submerged shaken culture. **Can J. Microbiol**, v.23, n.10, p.1360-1372, 1977.

CHEEKE, P.R. **Alimentación y nutrición del conejo.** Zaragoza, Espanha: Ascribia, 1995, 465p.

COSTA, R.P.; MARTINEZ, T.L.R. Terapia Nutricional da Hipercolesterolemia. . **Rev Soc. Cardiol. Estado de São Paulo**, vol 7, n.4, p 475-84, 1997.

DAVIDSON, S. et al. Diseases of the cardiovascular system. In: **Human Nutrition and Dietetics**. Edinburgh, London, New York, 7 ed. Churchill Livingstone, 1979. p 331-44.

ENDO, A., HASUMI, K., YAMADA, A., SHIMODA, R., TAKESHIMA, H.; The synthesis of compactin (ML-236B) and monacolin K in fungi. **J. Antibiotics**, v 39, n.11, p.1609-1610. 1986.

ENDO, A., HASUMI, K., NEHGISHI, S. Monacolin J and L, new inhibitors of cholesterol biosynthesis produced by *monascus ruber*. **J. Antibiotics**, v. 38, n.3, p. 420-422. 1985.

ENDO, A., HASUMI, K., Dihydromonacolin L and monacolin X, new metabolites those inhibit cholesterol biosynthesis. **J. Antibiotics**. V. 38, n.3, p.321-327, 1985.

ENDO, A., KOMATA, D., SHIMADA, H., Monacolin K, a new inhibitors of cholesterol biosynthesis. **J. Antibiotics**., v.39, n.12, 1980.

ENDO, A., Monacolin k a new hypocholesterolemic agent that specifically inhibits 3-hidroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase. **J. Antibiotics**, v.32, n.8, p. 852-854,1979.

FIELDING, B.C., HOLKER, J.S.E., JONES,D.F., POWELL, A.D.G., RICHMOND, K.W., ROBERTSON, A., WALLEY, W.B. The chemistry of fungi. Part 39. The structure of monascin. **J. Chem. Soc.**, Cambrige, v. 61, p. 4579, 1961.

FINK-GREMMELS, J. HENING, A., LEISTNER, L. Studies on citotoxicity and genotoxicity of a monascus extract. **Mitteilungsbl. Bundesanst. Fleischforsch. Kulmb.**, n.11, p.38-44, 1991.

FINK-GREMMELS, J., LEISTNER, L. Biological effects of *Monascus purpureus*. **Fleischwertsch** ,v.69, n.1, p.115-122, 1989.

FOX, R.R. The rabbit. In: LOEB, W.F., QUIMBY, F.W. (eds) **Clin. Chem. Labor. Animals**. New York: Pergamon. 1989,p.41-48,.

FRANCIS, F.J. Lesser-known food colorants. **Food Technol**, v.3, p.62-68, 1987.

GARCIA, R.C.; OLIVEIRA, H.C.F. Fisiologia das Lipoproteínas. In: QUINTÃO, E (Ed). **Colesterol e aterosclerose**. Rio de Janeiro: Qualitymark, 1992. p.1-30

GARRETT, R.H.; GRISHAN, C.M. **Biochemistry**. New York, Hartcourt Brace College Publishers, 1999. 1127p

GORINA, A.B., **A clínica e o laboratório**. Editora Medsi, 16^a edição, 556p, 1996.

GOTTO, M.A. Alterações nos lipídios e lipoproteínas. **Comp. Cardiol. Preventiva**, Fascículo 2, 1997. p 107-129.

GOLDBERG, A.N., SCHONFELD, G. Effects of diet on lipoprotein metabolism. **Annu. Rev. Nutr.**, v.5, p.195-212. 1985

GOODMAN, J.G.; GILMAN,A.G.; LIMBIRD, L.E. **Pharm. basis therap.**, 9 ed. London: Mac Graw – Hill Company, 1996. 1436p.

GRUNDY, S.M. Absorption and Metabolism of Dietary Cholesterol. **Annu. Rev. Nutr.** Palo Alto, v.3, p.71-96, 1983.

GUYTON, A.C., HALL, J.E. **Tratado de Fisiologia Médica.** 9 ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. 1014p.

HARPER, H.A.; RODWELL, V.W.; MAYES, P.A. **Manual de Química Fisiológica.** São Paulo: Atheneu, 1982. 736p.

HOFFMANN, W.E., KRAMMER, J. MAIN, A.R., TORRES, J.L. Clinical enzymology. In: LOEB, W.F., QUIMBY, F.W. (eds) **Clin. Chem. Labor. Animals.** New York: Pergamon. p.237-278, 1989.

ILLINGWORTH, D.R. An overview of lipid; lowering drugs. **Drugs**, v.36, n.3, p.63-71, 1988. Supplement.

JAHN, A. evaluation of genotoxicity of Monascus extract by three in vitro tests. **Mitteilungsbl. Bundesanst. Fleischforsch. Kulmb.**, Bonn, n.114, p.379-387 1991.

JUSLOVÁ, O. MARTÍNKOVÁ, L. KREN, V. Secondary metabolites of the fungus Monascus: a review. **J. Ind. Microb.** V.16, p.163-170, 1996.

KANEKO, J.J. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals.** California, academic press, 1989. 773p

KOROLKOVAAS, A., BURCKHALTER, J.H. **Química Farmacêutica.** Guanabara Koogan, 1988. 783p.

KRAUSE, M.V., MAHAN, L.K., ESCOTT-STUMP, S. **Alimentos, Nutrição de Dietoterapia.** 9ed. São Paulo: roca, 1998, 1189p.

KRYTCHEVSKY, D. TEPPER, S., KLURFELD, D. Influence of mevinolin on experimental atherosclerosis in rabbits. **Pharm. Res. Commun.**, v.13, n.10, p.921-926, 1981.

KROON, P.A., HAND, K.M., HUFF, J.W., ALBERTS, A.W. The effects of mevinolin on serum cholesterol levels of rabbits with endogenous hypercholesterolemia. **Atherosclerosis**, v.44, p. 41-48, 1982.

KUMAGAI, H., TOMODA, H., OMURA, S. Method of search for microbial inhibitors of mevalonate biosynthesis using animal cells. **J. Antibiotics**, v. 43, n.4, p. 397-402, 1990.

KUNZ, B. OBER, P. Wachstums und Stoffwechseluntersuchungen von *Monascus purpureus*. **BioEngineering**, v.3, p.18-26, 1987.

KURONO, M., NAKANISHI, K., SHINDO, K., TADA, M. Biosynthesis of monascorubrin and monascoflavin. **Chem. Pharm. Bull.**, v.11, p.358-362, 1963.

KWITEROVICHJR, P.O. The metabolic pathways of high-density lipoprotein, low-density lipoprotein and triglycerides: a current review. **Am. J. Cardiol.** . v.86, n. 12, supplement 1, p 5-10, 21 december 2000.

LABRUNIE, M.C.L.; MATOS, M.S.R.; BRAGA, L.C.F.; LABRUNIE, A. Controle Dietoterápico Ambulatorial. **Rev Soc. Cardiol. Estado de São Paulo**, vol 7, n.4, p 465-74, 1997.

LEITE, F.P. **Risco cardiovascular: fatores metabólicos e nutricionais: diagnóstico e tratamento.** São Paulo: Loyola, 1994.

LI, C., ZHU, Y., ZHU, J.S., CHANG, J. KRITCHEVSKY, D. Monascus purpureus-fermented rice (red yeast rice): a natural food product that lowers blood cholesterol in animal models of hypercholesterolemia. **Nut. Research**, v.18, n1, p.71-81, 1998

LIMA, A.O, SOARES, B.J., GREGO, J.B., GALIZZI, J., CANÇADO, J.R. **Métodos de laboratório aplicados a clínica. Técnica e interpretação.** 6 ed. Rio de Janeiro: KOOGAN, 1985, 543p.

LIN, C.F. Isolation and cultural conditions of Monascus sp for the production of pigment in a submerged culture. **J. Ferment. Technol.** Amsterdam, v.51, n.6, p.407-414, 1973.

LOPES, R.M. **Efeitos (hipolipidêmicos) de naringenina e chitosan e toxicologia de monascus e rutina sobre o metabolismo de coelhos.** Viçosa: MG, UFV, 2001. Dissertação (Mestrado em Agroquímica). Universidade Federal de Viçosa, 2001.

LOPES, L. M.; SOARES, J.A.C.; LOPES, I.E.L.; PINTO, L.E.S.A.; MARTINEZ, T.L.R., Metabolismo das lipoproteínas. In: MARTINEZ, T.L.R.; LOURENÇO, D.M. (Eds) **Avaliação e conduta nos riscos trombo e aterogênico.** São Paulo. Art Plus, 1996. p 61-69.

MARINETTI, G.V. **Disorders of lipid metabolism.** New York: Plenum Press, 1990. 226p.

MARTÍNKOVÁ, L., JUZLOVÁ, P., VESELY, D. Biological activity of polycetide pigments produced by the fungus Monascus. **J. Appl. Bacteriology.** V.79, p.609-616, 1995.

MARZZOCO, A. ; TORRES, B.B. **Bioquímica Básica**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1999.360p.

MATHEWS, C.K.; Van HOLDE, K.E. **Biochemistry**. Redwood: Benjamin/Cummings Publishing Company, 1990. 1129p.

MATOS, M.S., MATOS, P.F. **Laboratório Clínico Médico-veterinário**. Editora Ateneu, 1995, 238p.

MAYES, P.A. Colesterol: síntese, transporte, e excreção. In: MURRAY, R.K; GRANNER, D.K., MAYES, P.A. (Eds.) **Harper: bioquímica**, 6 ed. São Paulo; Atheneu, 1990. p.247-258

MELLO, V.J. Efeitos hipolipidêmicos e toxicológicos de complexos de rutina com organoestânicos. Viçosa, MG:UFV, 2001. 164p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica). Universidade Federal de Viçosa, 2001.

MEYER, O.J., COLES, E.H., RICH, L.J. **Medicina de laboratório veterinária. Interpretação e Diagnóstico**. Editora Roca, São Paulo, 1995, 308p.

MILLER, O., GONÇALVES, R.R. **Laboratório para o clínico**. Editora Atheneu, 8ª. edição, 1999, 607p,

MITRUKA, B.M. RAWNSLEY, H.M. **Clinical biochemistry and hematological references value in normal experimental animals and normal humans**. 2 ed. New York: Masson, 1981.

MONTEIRO, J.B.R., ROSADO, L.E.F.P.L. **Nutrição e doenças cardiovasculares**. Viçosa, MG:UFV, 1993, 52p.

MUÑOZ, M.E., GONZÁLES, J., ESTELLER, A. Effect of glucose administration on bilirubin excretion in rabbit. **Experientia**, v.43, p.166-168, 1987.

MURRAY, R.K., GRANNER, D., MAYES, P.A., RODWELL, V.W. Harper: Bioquímica. 7 ed. Sao Paulo: Atheneu Editora, 1994, 763p.

NAKAMURA, T., KOMAGATA, D., MURAKAWA, S., SAKAI, K., ENDO, A. Isolation and biosynthesis of 3-hidroxy-3,5-dihydromonacolin L. **J. Antibiotics**. v.43, n.12, p.1597-1600, 1990.

NAKAMURA, C.E., ABELES, R.H., Mode of interaction of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase with strong binding inhibitors: compactin and related compounds. **Biochemistry**. V.24, p. 1364-1376, 1985.

NELSON, D.L.; COX, M.M. **Principles of Biochemistry**. 3 ed. New York, Worth Publishers, 2000. 1200p.

NEVES, N.M.S. **Nutrição e Doença Cardiovascular**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. 114p.

Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. São Paulo. 1985. 3^a. edição.

OLIVEIRA, T.T, SANTOS, K.F.R., NAGEM, T.J., PINTO, A.S., COSTA, M.M.B., Efecto de los flavonoides y comuestos colorantes naturales em la reduccion de los nivele de los lipdos séricos. **Rev. Soc. Argentina de Sanid. Fuerzas Armadas**, v.2, n.1, p.48-55, 2000.

PALO, M.A., ADEVA, L.V., MACEDA, L.M. A study on ang-kak and its production. **Phillipp J. Sci.**, Manila, v.89, n.1, p.1-9, 1960.

PASQUALUCCI, C.A.; UINT, L; LAGE, S.G. Aterosclerose – parte I: Fenômenos celulares na aterosclerose. **Ver. Brás. Cardiol.**, Ano 1, numero 1, junho 1999.

PASQUALUCCI, C.A.;; UINT, L; LAGE, S.G. Aterosclerose – parte II: Fenômenos celulares na aterosclerose. **Rev. Brás. Cardiol.**, Ano 1, numero 2, agosto 1999.

PETERSDORF, R.G.; ADAMS, R.D.; BRAUNWALD, E.; ISSELBACHER, K.J.; MARTINS, J.B.; WILSON, J.D. **Harrison. Medicina Interna.** V.1, 1984. 1407p. PEARSON, T.A.; Primary and secondary prevention of coronary artery disease: trials of lipid lowering with statins. **Am. J. Cardiol.**, vol 82, issue 9, supplement 2, p 28S –30S, 19 November 1998.

QUINTÃO, E.; NAKANDARE, E. R. **Manual de referência em dislipidemias.** São Paulo, 1992. 106p

QUINTÃO, E.C.R.. **Colesterol e Aterosclerose.** Rio de janeiro: Qualitymark, 1992. 276p.

RICARDO, K.F.S. Efeitos hipolipidêmico e sinérgico de flavonóides, corantes naturais e fármacos. Viçosa, MG: UFV, 1999. 127p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica). Universidade Federal de Viçosa, 1999.

RUBISTEIN, A., LURINE, Y., GROSKO, I. Cholesterol-lowering effects of lovastatin in patients wit initial total cholesterol levels 200 to 240 mg/dL. **Am. J. Cardiol.**, v.68, n.11, p. 1123-1126, 1991.

RUDNEY, H.; SEXTON, R.C. Regulation of Cholesterol biosynthesis. **Annu.Rev.Nutr.** Palo Alto, v.6, p 245-272, 1986.

SANTOS, R.D., III Diretrizes brasileiras sobre dislipidemias e diretriz de prevenção da aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de cardiologia. 23 de agosto de 2001.

SCHETMAN, G., HIATT, J., HARTZ, A. Evaluation of the effectiveness of lipids-lowering therapy (bile acids sequestrants, niacin, phylum and lovastatin) for treating hypercholesterolemia in veterans. **Am. J. Cardiol.**, v.71, p.759, 1993.

SILVA, D.J., **Análise de Alimentos**. Imprensa da UFV, Viçosa, 1981.

SMITH, D.A., BANKS, S.W. Biosynthesis, elicitation and biological activity of isoflavonoid phytoalexins. **Phytochemistry**, v.25, n.5, p.979-995, 1986.

SMITH, E.L., HILL, R.L., LEHMAN, I.R., LEFKOWITZ, R.J., HANDLER, P., WHITE, A. **Bioquímica de mamíferos**. 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. 620p.

STRYER, L. **Biochemistry**. 4 ed. New York: WH. Freeman and Company, 1995. 1064p.

UNIVERSITY OF ALBERTA. **Lipid and lipoprotein research group**. Admonton, Alberta, CA:1999. (<http://www.lipidgroup.ualberta.ca/index.html>)

WANG, J, LU, Z., CHI, J., WANG, W., SU, M. KOU, W., YU, P., YU, L., CHEN, L., ZHU, J., CHANG, J. Multicenter clinical trial of the serum lipid-lowering effects of a *Monascus purpureus* (red yeast) rice preparation from traditional Chinese medicine. **Curr. Therap. Research**. V.58, n.12, p.964-978, 1997

WANG, .K., SHIAU, S.Y.L., CHEN, P.C., LIN, J.K. Hypotriglyceridemic effect of Anka (a fermented rice product of *Monascus* sp) in rats. **J. Agric. Food Chem.** v.48, p.3183-3189, 2000.

WONG, H.C.; BAU, Y.S., Pigmentation and antibacterial activity of fast neutron and X-ray induced strains of *Monascus purpureus* went. **Plant Physiology**, v.60, p 578-81, 1997.

WONG, H.C., KOEHLER, P.E., Production of red water-soluble Monascus pigments. **J. Food Sci**, Chicago, v.48, p.1200-1203, 1983.

WONG, H.C., KOEHLER, P.E., Production and isolation of an antibiotic from *Monascus purpureus* and its relationship to pigment production. **J. Food Sci**, Chicago, v.46, p.589-592, 1981.

WYNGAARDEN, J.B.; SMITH, L.H. JR.; BENNET, J.C. **Cecil-Tratado de Medicina Interna**. V.2, 19ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 1338p.

YOSHIZAWA, Y., WITTER, D., LIU, Y., VEDERAS, J. Revision of the biosynthetic origin of oxygen in mevinoлин (lovastatin) a hypocholesterolemic drug from *Aspergillus terreus* MF 4845. **J. Am. Chem. Society**. v.116, p. 2693-2649, 1994.

ZANINI, A.C., OGA, S. **Farmacología Aplicada**. Atheneu Editora, 1994, 739p.

ZHU, B., SIEVERS, R.E., SUN, Y. P., ISENBERG, W., PARMLEY, W. Effect of lovastatin and suppression and regression of atherosclerosis in lipid-fed rabbits. **J. Cardio. Pharm.** v.19, p.246-255, 1992.

ANEXOS

Quadro 1 A – Resumo da análise de variância de triacilgliceróis de coelhos submetidos a diferentes tratamentos.

FV	GL	Quadrado Médio		
		0	16	31
Tratamentos	(5)	3.844,30*	5.289,13*	16.520,41 ns
(C) Controles	1	4.978,86 ns	9.522,55*	45.124,03*
Tratados (T)	3	184,23 ns	3.569,37 ns	12.469,83 ns
C vs T	1	3.698,95 ns	10.448,41*	68,53 ns
Resíduo	31	1.332,57	1.810,41	6.734,76
CV (%)		38,27	41,64	52,73

** F significativo a 1% de probabilidade.
 * F significativo a 5% de probabilidade.
 ns – F não significativo a 5% de probabilidade.

Quadro 2 A – Resumo da análise de variância de LDL-colesterol de coelhos submetidos a diferentes tratamentos.

FV	GL	Quadrado Médio		
		0	16	31
Tratamentos	(5)	1.840,66**	7.341.484,0**	10.274.530,0**
(C) Controles	1	18,65ns	25.000.000,0**	35.000.000**
Tratados (T)	3	3.059,66**	313.957,7 ns	1.945.069,0**
C vs T	1	14,67 ns	10.765.56,9**	10.537.443,0**
Resíduo	31	194,23	142.989,2	258.909,2
CV (%)		30,99	51,34	22,64

** F significativo a 1% de probabilidade.
 * F significativo a 5% de probabilidade.
 ns - F não significativo a 5% de probabilidade.

Quadro 3 A – Resumo da análise de variância de glicose de coelhos submetidos a diferentes tratamentos.

FV	GL	Quadrado Médio		
		0	16	31
Tratamentos	(5)	161,16 ns	344,81 ns	370,76 ns
Controles (C)	1	3,26 ns	113,83 ns	80,52 ns
Tratados (T)	3	245,16 ns	519,31 ns	502,07 ns
C vs T	1	67,06 ns	52,29 ns	267,07 ns
Resíduo	31	249,46	377,50	359,19
CV (%)		9,45	11,89	12,77

** F significativo a 1% de probabilidade.
 * F significativo a 5% de probabilidade.
 ns - F não significativo a 5% de probabilidade.

Quadro 4 A – Resumo da análise de variância de peso de coelhos submetidos a diferentes tratamentos.

FV	GL	Quadrado Médio		
		0	16	31
Tratamentos	(5)	0,038 ns	0,013 ns	0,026 ns
Controles (C)	1	0,11 ns	0,012 ns	0,0016 ns
Tratados (T)	3	0,023 ns	0,018 ns	0,042 ns
C vs T	1	0,011 ns	0,001 ns	0,024 ns
Resíduo	31	0,039	0,045	0,055
CV (%)		11,39	11,03	11,26

ns - F não significativo a 5% de probabilidade.

Quadro 5 A – Resumo da análise de variância de VLDL-colesterol de coelhos submetidos a diferentes tratamentos.

FV	GL	Quadrado Médio		
		0	16	31
Tratamentos	(5)	153,77*	168,35 ns	735,11*
(C) Controles	1	599,15**	2,36 ns	1.804,96*
Tratados (T)	3	7,25 ns	134,02 ns	603,30 ns
C vs T	1	148,1 ns	437,33*	428,19 ns
Resíduo	31	53,30	94,91	266,08
CV (%)		38,27	47,92	54,96

** F significativo a 1% de probabilidade.
 * F significativo a 5% de probabilidade.
 ns - F não significativo a 5% de probabilidade.

Quadro 6 A – Resumo da análise de variância de HDL-colesterol de coelhos submetidos a diferentes tratamentos

FV	GL	Quadrado Médio		
		0	16	31
Tratamentos	(5)	316,58**	317.969,30**	638.487,90**
(C) Controles	1	527,75*	737.103,00**	1306.352,00**
Tratados (T)	3	260,95 ns	20.076,46 ns	200.496,2**
C vs T	1	272,3 ns	792.514,12**	1.284.598,9**
Resíduo	31	90,05	11.746,48	41.602,04
CV (%)		29,58	23,96	34,49

** F significativo a 1% de probabilidade.
 * F significativo a 5% de probabilidade.
 ns - não significativo a 5% de probabilidade.

Quadro 7 A – Resumo da análise de variância de colesterol total de coelhos submetidos a diferentes tratamentos.

FV	GL	Quadrado Médio		
		0	16	31
Tratamentos	(5)	3.273,90*	10.256.560,0**	16.019.670,0**
(C)				
Controles	1	527,75 ns	35.252.870,0**	56.330.340,0**
Tratados (T)	3	3.819,58*	374.550,0 ns	1.987.283,0**
C vs T	1	4.383,01 ns	14.906.280,0**	17.806.161,0**
Resíduo	31	1.162,45	192.847,0	237.333,6
CV (%)		32,64	17,67	16,69

** F significativo a 1% de probabilidade.

* F significativo a 5% de probabilidade.

ns - F não significativo a 5% de probabilidade.

Quadro 8 A – Estimativa da variância e teste F para a creatinina quantificada nos grupos G1 (ração), G2 (ração + AB), G3 (ração + AV) de coelhos submetidos ao tratamento aos 0, 16, 31 dias.

FV	GL	Quadrado Médio		
		0	16	31
G1 vs G2	1	0,2637x10 ⁻⁴ ns	0,8026x10 ⁻¹ ns	0,8466x10 ⁻² ns
G1 vs G3	1	0,6440x10 ⁻¹ ns	0,3745x10 ⁻² ns	0,1052 ns
G2 vs G3	1	0,5741x10 ⁻¹ ns	0,1102 ns	0,1610 ns
Resíduo	16	0,4079x10 ⁻¹ ns	0,3859x10 ⁻¹ ns	0,5657x10 ⁻¹ ns
CV (%)		16,25	13,23	14,65

ns - F não significativo a 5% de probabilidade.

Quadro 9 A – Estimativa da variância e teste F para o ferro quantificado nos grupos G1 (ração), G2 (ração + AB), G3 (ração + AV) de coelhos submetidos ao tratamento aos 0, 16, 31 dias.

FV	GL	Quadrado Médio		
		0	16	31
G1 vs G2	1	0,1913 ns	0,0353 ns	0,1734 ns
G1 vs G3	1	0,2973 ns	0,4474 ns	1,3096 ns
G2 vs G3	1	0,0108 ns	0,6816 ns	0,4921 ns
Resíduo	16	0,6629	0,7948	0,3768
CV (%)		27,12	24,58	13,28

ns - F não significativo a 5% de probabilidade.

Quadro 10 A – Estimativa da variância e teste F para o cloreto quantificado nos grupos G1 (ração), G2 (ração + AB), G3 (ração + AV) de coelhos submetidos ao tratamento aos 0, 16, 31 dias.

FV	GL	Quadrado Médio		
		0	16	31
G1 vs G2	1	15,3673 ns	0,0847 ns	118,3752 ns
G1 vs G3	1	4788,2140**	1152,6100*	96,9707 ns
G2 vs G3	1	3956,7010**	1088,7080*	398,9380 ns
Resíduo	16	246,0706	162,0585	148,0956
CV (%)		14,71	13,01	14,61

** F significativo a 1% de probabilidade.

* F significativo a 5% de probabilidade.

ns F não significativo a 5% de probabilidade.

Quadro 12 A – Estimativa da variância e teste F para a bilirrubina total quantificada nos grupos G1 (ração), G2 (ração + AB), G3 (ração + AV) de coelhos submetidos ao tratamento aos 0, 16, 31 dias.

FV	GL	Quadrado Médio		
		0	16	31
G1 vs G2	1	0,1994x10 ⁻³ ns	0,7040x10 ⁻³ ns	0,7040x10 ⁻³ ns
G1 vs G3	1	0,4866x10 ⁻² ns	0,2374x10 ⁻³ ns	0,6000x10 ⁻² ns
G2 vs G3	1	0,6533x10 ⁻² ns	0,1633x10 ⁻² ns	0,2408x10 ⁻² ns
Resíduo	16	0,3286x10 ⁻²	0,4038x10 ⁻²	0,2156x10 ⁻²
CV (%)		35,25	35,20	53,47

ns - F não significativo a 5% de probabilidade.

Quadro 11 A – Estimativa da variância e teste F para a bilirrubina direta quantificada nos grupos G1 (ração), G2 (ração + AB), G3 (ração + AV) de coelhos submetidos ao tratamento aos 0, 16, 31 dias.

FV	GL	Quadrado Médio		
		0	16	31
G1 vs G2	1	0,5293x10 ⁻⁴ ns	0,8077x10 ⁻⁴ ns	0,1145x10 ⁻³ ns
G1 vs G3	1	0,1653x10 ⁻² ns	0,4344x10 ⁻² **	0,4953x10 ⁻³ ns
G2 vs G3	1	0,2133x10 ⁻² ns	0,3008x10 ⁻² **	0,1008x10 ⁻² ns
Resíduo	16	0,7336x10 ⁻³	0,3302x10 ⁻³	0,8492x10 ⁻³
CV (%)		70,50	31,97	39,55

** F significativo a 1% de probabilidade.

* F significativo a 5% de probabilidade.

ns - F não significativo a 5% de probabilidade.

Quadro 13 A – Estimativa da variância e teste F para a gama GT quantificada nos grupos G1 (ração), G2 (ração + AB), G3 (ração + AV) de coelhos submetidos ao tratamento aos 0, 16, 31 dias.

FV	GL	Quadrado Médio		
		0	16	31
G1 vs G2	1	2,6447 ns	465,2308*	283,7381*
G1 vs G3	1	25,8488 ns	75,4744 ns	157,0180 ns
G2 vs G3	1	41,8133 ns	154,0833 ns	17,2800 ns
Resíduo	16	20,7655	95,6771	40,4821
CV (%)		44,77	58,63	38,77

** F significativo a 1% de probabilidade.

* F significativo a 5% de probabilidade.

ns F não significativo a 5% de probabilidade.

Quadro 14 A – Estimativa da variância e teste F para a albumina uantificada nos grupos G1 (ração), G2 (ração + AB), G3 (ração + AV) de coelhos submetidos ao tratamento aos 0, 16, 31 dias.

FV	GL	Quadrado Médio		
		0	16	31
G1 vs G2	1	0,2204 ns	0,0839 ns	0,0063 ns
G1 vs G3	1	0,3196 ns	0,3028 ns	0,1175 ns
G2 vs G3	1	0,0085 ns	0,0631 ns	0,1657 ns
Resíduo	16	0,2163	0,2897	0,0416
CV (%)		10,00	9,85	4,46

ns - F não significativo a 5% de probabilidade.

Quadro 15 A – Estimativa da variância e teste F para a TGP quantificada nos grupos G1 (ração), G2 (ração + AB), G3 (ração +AV) de coelhos submetidos ao tratamento aos 0, 16, 31 dias.

FV	GL	Quadrado Médio		
		0	16	31
G1 vs G2	1	3680,5680 ns	20470,6700*	2731,8200 ns
G1 vs G3	1	680,6085 ns	10059,4500 ns	676,5950 ns
G2 vs G3	1	6989,0150*	1699,3200 ns	5689,8080 ns
Resíduo	16	932,8975	2446,0000	1555,8050
CV (%)		34,63	31,86	33,23

** F significativo a 1% de probabilidade.

* F significativo a 5% de probabilidade.

ns - F não significativo a 5% de probabilidade.

Quadro 16 A – Estimativa da variância e teste F para a TGO quantificada nos grupos G1 (ração), G2 (ração + AB), G3 (ração + AV) de coelhos submetidos ao tratamento aos 0, 16, 31 dias.

FV	GL	Quadrado Médio		
		0	16	31
G1 vs G2	1	131,5458 ns	14524,5800 ns	6867,7660 ns
G1 vs G3	1	15509,3400**	2661,1520 ns	5751,9260 ns
G2 vs G3	1	17176,3400**	27540,1900*	23390,6700*
Resíduo	16	1534,6720	3798,3150	3320,3100
CV (%)		44,73	56,19	47,99

** F significativo a 1% de probabilidade.

* F significativo a 5% de probabilidade.

ns F não significativo a 5% de probabilidade.

Quadro 17 A – Estimativa da variância e teste F para o fósforo quantificado nos grupos G1 (ração), G2 (ração + AB), G3 (ração + AV) de coelhos submetidos ao tratamento aos 0, 16, 31 dias.

FV	GL	Quadrado Médio		
		0	16	31
G1 vs G2	1	1,1192*	3,3441 ns	4,8049*
G1 vs G3	1	0,4753 ns	1,8451 ns	0,9521 ns
G2 vs G3	1	0,1261 ns	0,2054 ns	1,3736 ns
Resíduo	16	0,2382	1,3785	0,9163
CV (%)		6,63	16,72	15,79

** F significativo a 1% de probabilidade.

* F significativo a 5% de probabilidade.

ns F não significativo a 5% de probabilidade.

Quadro 18 A – Estimativa da variância e teste F para o magnésio quantificado nos grupos G1 (ração), G2 (ração + AB), G3 (ração + AV) de coelhos submetidos ao tratamento aos 0, 16, 31 dias.

FV	GL	Quadrado Médio		
		0	16	31
G1 vs G2	1	0,1069 ns	0,1342 ns	0,0068 ns
G1 vs G3	1	0,7555**	0,3600 ns	0,0186 ns
G2 vs G3	1	0,2730 ns	0,0507 ns	0,0444 ns
Resíduo	16	0,0857	0,1805	0,0474
CV (%)		10,27	14,20	8,11

** F significativo a 1% de probabilidade.

* F significativo a 5% de probabilidade.

ns - F não significativo a 5% de probabilidade.

Quadro 19 A – Estimativa da variância e teste F para o cálcio quantificado nos grupos G1 (ração), G2 (ração + AB), G3 (ração + AV) de coelhos submetidos ao tratamento aos 0, 16, 31 dias.

FV	GL	Quadrado Médio		
		0	16	31
G1 vs G2	1	5,2697*	1,8638 ns	2,8432**
G1 vs G3	1	10,8646**	0,6336 ns	0,0616 ns
G2 vs G3	1	0,9296 ns	0,3009 ns	1,9199*
Resíduo	16	0,9805	1,7666	0,2813
CV (%)		7,25	8,49	3,73

** F significativo a 1% de probabilidade.

* F significativo a 5% de probabilidade.

ns - F não significativo a 5% de probabilidade.

Quadro 20 A – Estimativa da variância e teste F para as proteínas totais quantificada nos grupos G1 (ração), G2 (ração + AB), G3 (ração + AV) de coelhos submetidos ao tratamento aos 0, 16, 31 dias.

FV	GL	Quadrado Médio		
		0	16	31
G1 vs G2	1	0,5622 ns	15,2601 ns	5,4201 ns
G1 vs G3	1	7,0403 ns	30,2516 ns	32,1543 ns
G2 vs G3	1	10,7542 ns	2,3585 ns	59,4075 ns
Resíduo	16	35,0289	16,3146	16,6110
CV (%)		10,31	8,38	6,86

** F significativo a 1% de probabilidade.

* F significativo a 5% de probabilidade.

ns - F não significativo a 5% de probabilidade.

Quadro 21 A – Estimativa da variância e teste F para o ácido úrico quantificado nos grupos G1 (ração), G2 (ração + AB), G3 (ração + AV) de coelhos submetidos ao tratamento aos 0, 16, 31 dias.

FV	GL	Quadrado Médio	
		0	16
G1 vs G2	1	0,1487x10 ⁻¹ ns	0,2857x10 ⁻¹ ns
G1 vs G3	1	0,1794x10 ⁻¹ ns	0,1467x10 ⁻¹ ns
G2 vs G3	1	0,1333x10 ⁻³ ns	0,2133x10 ⁻² ns
Resíduo	16	0,1374x10 ⁻¹	0,2482x10 ⁻¹
CV (%)		72,30	69,94

ns- F não significativo a 5% de probabilidade.

Quadro 22 A – Estimativa da variância e teste F para a fosfatase alcalina quantificada nos grupos G1 (ração), G2 (ração + AB), G3 (ração + AV) de coelhos submetidos ao tratamento aos 0, 16, 31 dias.

FV	GL	Quadrado Médio	
		0	16
G1 vs G2	1	1450,2430 ns	3447,7910
G1 vs G3	1	7165,7230 ns	9892,2380
G2 vs G3	1	2013,7260 ns	1541,3330
Resíduo	16	15114,4600	6051,6670
CV (%)		29,40	19,98

ns - F não significativo a 5% de probabilidade.