

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DE SAÚDE
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA

Avaliação nutricional de ratos Wistar de 21 dias de idade cujas mães foram alimentadas com dietas contendo farelo de arroz

Letícia Schmidt

Orientadora

Profa. Dra. Ana Maria Brusque

Co-orientador

Prof. Dr. Marcos Luiz Santos Perry

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, na área de Bioquímica, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas – Bioquímica.

Agradecimentos:

A minha orientadora Profa. Dra. Ana Maria Brusque pela oportunidade de ter desenvolvido esta pesquisa sob sua orientação, por sua dedicação, amizade e apoio que foram essenciais em todas etapas deste trabalho.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Marcos L. S. Perry também pela oportunidade em executar este trabalho em seu laboratório, pelo profissionalismo e ensinamentos.

A minha colega e amiga Kally J. Berleze que contribuiu muito para a realização deste trabalho, pelo seu conhecimento, amizade, apoio e estímulo, além de sempre estar presente em todas as etapas pertinentes a concretização deste trabalho.

A colega Kelly C. S. Dahm pela amizade e apoio.

A Liane N. Rotta pelo apoio, profissionalismo e colaboração.

A Ingrid e bolsistas do laboratório 27 pela amizade.

Ao prof. Dr. Diogo Souza pelo apoio técnico.

Ao demais professores do Departamento de Bioquímica da UFRGS pelos ensinamentos.

Aos funcionários do Departamento de Bioquímica.

A minha família pela paciência, apoio e compreensão.

A empresa Helmut Tessmann Ind.e Com.de óleos vegetais Ltda. Pela doação do farelo de arroz, e a engenheira agrônoma Ana Cláudia Dorin.

A empresa The Solae Company (Bungue) pela doação da proteína de soja.

Sumário:

Lista de Abreviaturas	I
Lista de Tabelas	II
Lista de Figuras	III
Resumo	IV
I. Introdução	01
I.1. Farelo de arroz	02
I.2. Proteína de soja	12
I.3. Deficiência protéica materna	15
I.4. Desenvolvimento do sistema nervoso central	17
I.5. Suplementação alimentar com farelo de arroz	19
II. Objetivos	22
II.1. Objetivo geral	23
II.2. Objetivo específico	23
III. Materiais e Métodos	24
III.1. Materiais (reagentes)	25
III.2. Composição da dieta	25
III.3. Macronutrientes das dietas	26
III.4. Animais experimentais	26
III.5. Preparação das amostras	27
III.6. Dosagens bioquímicas	27
III.6.1. Plasma sanguíneo	27
III.6.1.1. Colesterol total	27
III.6.1.2. HDL-colesterol	27
III.6.1.3. LDL-colesterol	27
III.6.1.4. Triglicerídeos	28
III.6.1.5. Lipídios totais	28
III.6.1.6. Proteína	28
III.6.1.7. Albumina	28
III.6.1.8. Glicemia	28

III.6.2. Tecido hepático e cerebelar	28
III.6.2.1. Concentração de Colesterol no fígado.....	28
III.6.2.2. Dosagem de Triglicerídeos no fígado	28
III.6.2.3. Concentração de glicogênio no fígado.....	28
III.6.2.4. Dosagem de proteína no fígado e cerebelo.....	28
III.6.2.5. Dosagem de DNA no fígado e cerebelo.....	28
III.7. Análise estatística	28
IV. Resultados	29
IV.1. Avaliação do desenvolvimento ponderal de ratos Wistar de 21 dias de idade, cujas mães foram alimentadas com dietas contendo farelo de arroz com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja	30
IV.2. Efeito da dieta com farelo de arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis plasmáticos de colesterol	33
IV.3. Efeito da dieta com farelo de arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis plasmáticos de HDL-colesterol	35
IV.4. Efeito da dieta com farelo de arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis plasmáticos de LDL-colesterol	37
IV.5. Efeito da dieta com farelo de arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis plasmáticos de triglicerídeos	39
IV.6. Efeito da dieta com farelo de arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis plasmáticos de lipídios totais	41
IV.7. Efeito da dieta com farelo de arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis plasmáticos de proteína	43
IV.8. Efeito da dieta com farelo de arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis plasmáticos de albumina	45
IV.9. Efeito da dieta com farelo de arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis plasmáticos de glicose	47
IV.10. Efeito da dieta com farelo de arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis de colesterol hepático	49
IV.11. Efeito da dieta com farelo de arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja sobre os níveis de triglicerídeos hepático	51
IV.12. Efeito da dieta com farelo de arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis de glicogênio hepático	53

V. Discussão	55
VI. Conclusões	63
VII. Referências Bibliográficas	66

Índice de Abreviaturas:

D.C.: Dieta Comercial

FA soja c/lis: Farelo de Arroz com soja e com lisina

FA soja s/lis: Farelo de Arroz com soja e sem lisina

FA c/lis: Farelo de Arroz com lisina

FA s/lis: Farelo de Arroz sem lisina

β -HMGCoA redutase: Beta-Hidroximetilglutaril Coenzima A redutase

AHA Step-1: American Heart Association Step-1 diet

TRF₂₅: Fração rica em tocotrienóis

mRNA: Ácido Ribonucléico Mensageiro

DNA: Ácido Desoxiribonucléico

LDL: Lipoproteína de baixa densidade

HDL: Lipoproteína de alta densidade

VLDL: Lipoproteína de muito baixa densidade

TG: Triglicerídeos

ApoE: Apolipoproteína E

ApoB100: Apolipoproteína B100

CIENTEC: Fundação de Ciências e Tecnologia

TBA: Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

Índice de Tabelas

Tabela 1: Composição da dieta	25
Tabela 2: Macronutrientes das dietas	26
Tabela 3: Avaliação do desenvolvimento ponderal de ratos Wistar de 21 dias de idade, cujas mães foram alimentadas com dietas contendo farelo de arroz com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja	32

Índice de Figuras

Figura 1:	Estrutura química e descrição dos subtipos de tocoferóis e tocotrienóis	07
Figura 2:	Estrutura química dos componentes do γ -orizanol	11
Figura 3:	Efeito da dieta com farelo de arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis plasmáticos de colesterol	34
Figura 4:	Efeito da dieta com farelo de arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis plasmáticos de HDL-colesterol	36
Figura 5:	Efeito da dieta com farelo de arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis plasmáticos de LDL-colesterol	38
Figura 6:	Efeito da dieta com farelo de arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis plasmáticos de triglicerídeos	40
Figura 7:	Efeito da dieta com farelo de arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis plasmáticos de lipídios totais	42
Figura 8:	Efeito da dieta com farelo de arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis plasmáticos de proteína	44
Figura 9:	Efeito da dieta com farelo de arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis plasmáticos de albumina	46
Figura 10:	Efeito da dieta com farelo de arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis plasmáticos de glicose	48
Figura 11:	Efeito da dieta com farelo de arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis de colesterol hepático	50
Figura 12:	Efeito da dieta com farelo de arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis triglicerídeos hepático	52
Figura 13:	Efeito da dieta com farelo de arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis de glicogênio hepático	54

Resumo

O farelo de arroz (FA) é constituído a partir do processo de beneficiamento do arroz, onde são extraídos do grão o germe, a película e a casca, ou seja, o maior conteúdo nutricional do grão se transforma em farelo. O farelo de arroz possui todos os aminoácidos essenciais, com exceção da lisina que se encontra em quantidade insuficiente. Também contém substâncias químicas com efeito hipocolesterolêmico, podendo se tornar um grande aliado contra as doenças cardiovasculares. Considerando a importância da nutrição no desenvolvimento e na organização do sistema nervoso central e seu reflexo nos processos de aprendizagem e memória faz-se necessários estudos sobre o efeito nutricional do farelo de arroz, pois o mesmo está sendo utilizado como suplemento alimentar na merenda escolar em escolas municipais da região centro-sul do estado (Camaquã, São Lourenço do Sul, Pelotas, e outros municípios adjacentes). Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito nutricional e hipocolesterolêmico do farelo de arroz sobre o desenvolvimento de ratos Wistar lactentes

Foram utilizados filhotes de ratas Wistar no período pós-natal, cujas mães receberam durante 21 dias as seguintes dietas: dieta comercial (dieta controle), dieta com FA soja c/lis, FA soja s/lis, FA c/lis e FA s/lis, ração e água ad libitum. As avaliações ponderais e bioquímicas foram realizada nos filhotes no 21º dia de vida e no final do período de lactação.

Os resultados obtidos a partir das dosagens bioquímicas e avaliação ponderal foi possível observar algumas alterações que provocaram um atraso no crescimento e desenvolvimento dos filhotes, devido à desnutrição em que eles se apresentaram, quando suas mães foram submetidas à dieta com 92% de farelo de arroz (FA s/lis). Quando adicionado lisina à dieta houve uma resposta positiva, melhorando o quadro nutricional dos animais, porém muito inferior ainda em relação à dieta comercial. A suplementação de proteína de soja (92% pureza) restabeleceu o crescimento e desenvolvimento físico dos filhotes. Sendo assim, as dietas influenciaram diretamente a composição do leite materno, refletindo no estado nutricional dos filhotes.

Nossos resultados também mostraram que o farelo de arroz combinado ou não com a proteína de soja e lisina contribuíram para uma redução nos níveis de LDL plasmático, confirmando seu efeito hipocolesterolêmico. Este efeito pode se tornar um grande aliado no tratamento dietoterápico de doenças cardiovasculares.

I. Introdução

I. 1. Farelo de Arroz

A origem do arroz ainda está sendo pesquisada por diversos historiadores e cientistas. O local mais provável para seu surgimento é no sudeste da Ásia, porém há indícios de que no Brasil, antes mesmo da imigração portuguesa já houvesse seu cultivo pelos índios. No Rio Grande do Sul o cereal mais cultivado é o arroz, entre as diversas espécies, o mais comum é o *Oryza sativa L.*. Na alimentação humana, estudos mostram que cerca de 21% do total de calorias consumidas pela população mundial provêm do arroz, entretanto para torná-lo próprio para consumo é necessário o processo de beneficiamento.

O grão de arroz é constituído de casca, película, germe e endosperma. As vitaminas e sais minerais estão concentrados na película e germe, enquanto o endosperma contém basicamente amido (CIENTEC/GO, 1994). No arroz integral há apenas a retirada da casca, permanecendo seu valor nutricional, mas quando cozido não agrada ao paladar da maioria dos consumidores. Durante o processo de beneficiamento do arroz a casca, película e germe são removidos, dando origem ao arroz polido (branco). O arroz parboilizado, antes de ser descascado e polido, é submetido a um tratamento hidrotérmico, possibilitando a passagem das vitaminas e minerais para a porção do endosperma. Entre estes tipos de processo de beneficiamento, o mais consumido mundialmente é o arroz branco. (CIENTEC/GO, 1994).

O farelo de arroz corresponde em aproximadamente 8% do volume do grão, o qual é constituído pela película, germe e uma porção da casca, que são ricos em proteínas, lipídios, vitaminas e sais minerais (Saunders, 1990). Porém este subproduto do arroz é destinado apenas à ração animal, não sendo comercializado para consumo humano. Nos últimos anos tem-se oferecido como suplemento alimentar na merenda escolar, com o objetivo de aumentar o aporte de aminoácidos às crianças carentes. Entre suas aplicações, incluem-se: pães, biscoitos, bolos, panquecas e multimistura. Utilizada pela Pastoral da Criança e da Juventude, principalmente no norte e nordeste do Brasil.

No farelo de arroz a enzima lipase está muito ativa, a qual começa a agir após o beneficiamento do arroz, provocando a liberação de 1% dos ácidos graxos livres por hora, dando uma característica rançosa, que se torna inviável para o consumo (Houston, 1973). Por este motivo o farelo de arroz passa por um tratamento térmico (processo de estabilização) imediatamente após o processo de polimento do arroz, o qual o tornará próprio para o armazenamento e posterior consumo (seis meses), porque a lipase presente no farelo fica inativa (Vieira, 1990). A retirada do óleo do farelo estabilizado contribui muito para aumentar a durabilidade do produto (Alencar, 1991). Em 2004, Lakkakula e colaboradores (2004) descreveram um novo processo de estabilização do farelo de arroz (“ohmic heating”) a partir da extração do óleo, que vai desativar a ação da lipase. Este método ainda não havia sido descrito na literatura até o momento.

A proteína do farelo de arroz tem um coeficiente de eficiência protéica (PER) de 1,6 à 1,9. A digestibilidade da proteína do farelo encontra-se em torno de 70-75%. Quando as fibras e o ácido fólico são removidos sua digestibilidade alcança valores superiores a 90% (Vieira, 1999).

O valor nutritivo do farelo de arroz varia amplamente de uma região para a outra, dependendo da variedade do arroz, das condições ambientais e do processo de beneficiamento. Amostras de farelo de arroz desengordurado procedentes da empresa Helmut Tessmann Ind. Com de Óleos Vegetais Ltda (Camaquã/RS), foram analisadas pela Fundação de Ciências e Tecnologia de Porto Alegre (CIENTEC/RS, 2002), mostraram teores de 17,6 % de proteína bruta e 12,8% de fibra bruta em relação à matéria seca. Também se observou que o índice de digestibilidade protéica é de 79%. O valor calórico total é de 251 kcal/100 g de farelo de arroz, 43,4% de carboidrato e 0,8% de lipídios.

Ohara e colaboradores (2000) realizaram um estudo em ratos diabéticos (Spragne Dawley rats), induzidos por Streptozotocin, para verificar a ação do componente fibroso do farelo de arroz (biobran) sobre alguns parâmetros bioquímicos plasmático. Os autores observaram que a suplementação com o preparado do farelo de arroz (biobran) nos ratos diabéticos não diminuiu a glicemia e não aumentou a insulina quando comparados

com os ratos diabéticos não suplementados, ou seja, não houve nenhuma alteração. Entretanto houve um aumento nos níveis de proteína e uma diminuição nos níveis de triglicerídeos e colesterol quando adicionado biobran nos ratos diabéticos. A justificativa para o efeito hipolipidêmico do farelo de arroz foi que o composto interferiu na absorção intestinal de colesterol. A melhora dos níveis de proteína plasmática ajudaram o restabelecimento do metabolismo das proteínas em ratos diabéticos, que se encontram prejudicada nesta patologia.

Atualmente, algumas pesquisas estudam a ação hipolipidêmica, hipoglicêmica e antioxidante dos diversos componentes presente no farelo de arroz no organismo humano. Estes componentes fazem parte da porção insaponificável do farelo de arroz, que se encontram principalmente na porção oleaginosa do mesmo, que contém também os seguintes ácidos graxos insaturados: 38,4% ácido oléico, 34,4% ácido α -linoleico, e como ácido graxo saturado: 21,5% ácido palmítico e 2,9% de ácido esteárico. Aproximadamente 5% do óleo cru do farelo de arroz é composto pela fração insaponificável, contendo: 43% esterol, 28% álcool triterpeno, 10% de 4-metil-esterol e 19% de componentes polares. Os fitoesteróis incluem: β -sitosterol, campesterol, estigmasterol, escaleno e γ -orizanol. O γ -orizanol é uma mistura de éster de ácido ferúlico de álcool triterpeno como o cicloartenol e 24 metileno cicloartenil. Além destes compostos, o óleo de farelo de arroz também contém uma quantidade de tocotrienol e tocoferol (Cícero et al., 2001).

A partir da identificação dos componentes insaponificáveis do farelo de arroz, juntamente com a quantificação dos ácidos graxos saturados e insaturados foi possível realizar vários estudos para comprovar a ação do farelo de arroz na redução dos níveis de colesterol plasmático. Segundo Wilson e colaboradores (2000) o uso do óleo de farelo de arroz na dieta de macacos adultos machos (*Macaca fascicularis*), por um período de 28 dias alterou o perfil lipídico em relação ao grupo controle alimentados com dieta normal (Average American Diet), reduzindo em 24% os níveis de colesterol plasmático total, 31% os níveis de LDL e 25% os níveis de triglicerídeos.

Alguns autores verificaram que existe diferença no uso do farelo de arroz estabilizado (farelo de arroz integral que passa por um processo de inativação da lipase presente, sem precisar extrair o óleo) em relação ao farelo de arroz desengordurado. Houve uma redução nos níveis de colesterol plasmático do farelo de arroz estabilizado em relação ao grupo alimentado com farelo de arroz desengordurado (Hundemer et al, 1991; Kahlon et al, 1992; Newman et al, 1992 e Marsono et al, 1993). Este efeito pode estar relacionado com a redução dos níveis de γ -orizanol e outros componentes hipocolesterolêmicos pelo processo de extração lipídica na produção do farelo de arroz desengordurado (Seetharamarah e Chamdrasekhara, 1989).

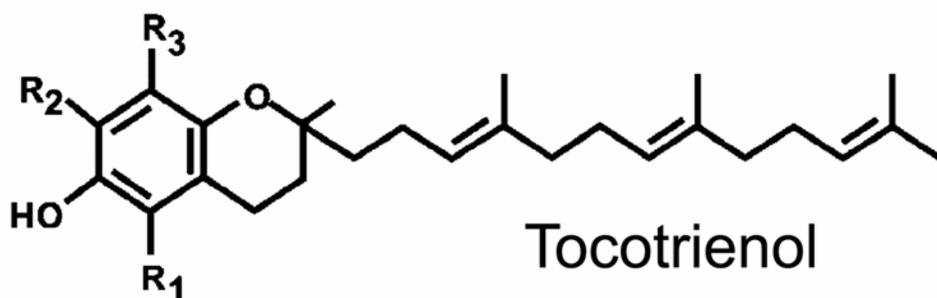
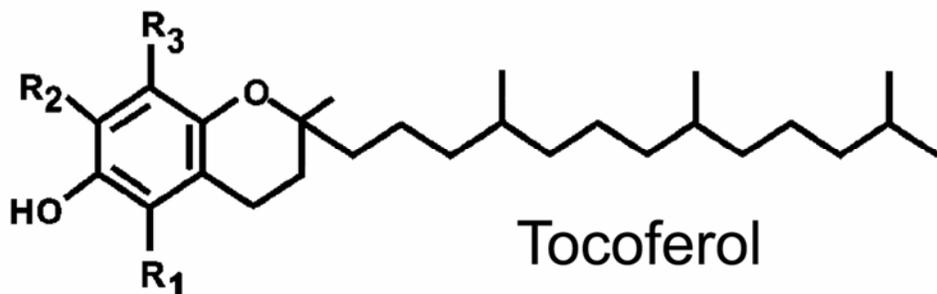
Em estudos com hamsters que foram suplementados com 20% de farelo de arroz desengordurado ou 20% de farelo de arroz integral estabilizado ou 20% de farelo de aveia, durante 10 semanas, apresentaram uma redução nos níveis de colesterol plasmático total, quando comparado com o grupo controle (sem suplemento). Na concentração de colesterol total do fígado verificou-se uma redução de 28% no grupo suplementado com farelo de arroz integral estabilizado, não havendo alteração significativa entre os demais grupos. Houve um aumento de 46% e 37% na excreção fecal de colesterol nos grupos alimentados com farelo de arroz integral e desengordurado, respectivamente (Wilson et al., 2002)

Anderson e colaboradores (1990) mostraram em seus estudos que a inclusão de fibras solúveis na dieta têm um importante papel na redução do colesterol plasmático, porém as fibras insolúveis não mostram efeito na redução dos níveis de colesterol plasmático. Um dos mecanismos de ação das fibras sobre a redução do colesterol plasmático está relacionado com a propriedade em aumentar sua ligação aos ácidos biliares no lúmen intestinal, proporcionando uma diminuição na circulação entero-hepática de ácidos biliares e subsequente aumento na conversão hepática de colesterol em ácidos biliares. Outro mecanismo de ação seria o aumento da viscosidade do bolo alimentar no intestino delgado, pois as fibras solúveis levam a formação de uma camada de massa mais densa, adjacente à mucosa, formando uma barreira física que reduz a absorção de nutrientes

e ácidos biliares. (Edihara e Schneeman, 1989; Miettinen e Tarpila, 1989 Arjamandi et al., 1992; Qureshi et al., 2001 e Kerckhoffs et al., 2002).

A pesar de alguns autores descreverem que o efeito hipolipidêmico da fibra solúvel não pode ser atribuído ao consumo do farelo de arroz, por possuir baixo conteúdo de fibra solúvel, que não ultrapassa 14% (Gerhardt e Gallo, 1998), Hamid e colaboradores (1999) fizeram um estudo extraíndo a porção fibrosa do farelo de arroz desengordurado, e submetendo-a em um teste para verificar sua capacidade de ligação com a água e lipídios e, também do seu poder de emulsificação. Os resultados mostraram que a ligação fibra-lipídios e a capacidade de emulsificação é bem maior na fibra do farelo de arroz desengordurado quando comparado com a fibra comercial (FIBREX). Este efeito contribui muito para aumentar o volume do bolo fecal e diminuir a absorção do colesterol intestinal.

Entre os componentes com efeito hipolipidêmico do farelo de arroz estão o tocoferol e tocotrienol, que pertencem a dois subgrupos da família da vitamina E, diferenciando entre si através das ligações duplas da cadeia lateral aberta (figura 1). Os α -, β -, γ -, δ - tocoferol e seus correspondentes tocotrienóis são classificados conforme o número e posição dos grupos metil ligados ao anel aromático. Os tocoferóis são facilmente encontrados nos óleos vegetais, enquanto que os tocotrienóis estão presentes apenas no óleo de palma e no farelo de arroz (Kerckhoffs et al., 2002). Por esse motivo Qureshi e colaboradores (1991, 1995 e 1997) concluíram que o efeito dos tocotrienóis do óleo do farelo de arroz são mais eficientes na redução do colesterol plasmático do que os tocotrienóis extraído do óleo de palma. Os autores atribuem que este efeito pode estar relacionado desmetil e didesmetil tocotrienóis, descobertos recentemente (Qureshi et al., 1997, 2000 e 2001).



Estrutura	R1	R2	R3
α -tocopherol, α -tocotrienol	CH ₃	CH ₃	CH ₃
β -tocopherol, β -tocotrienol	CH ₃	H	CH ₃
γ -tocopherol, γ -tocotrienol	H	CH ₃	CH ₃
δ -tocopherol, δ -tocotrienol	H	H	CH ₃

Figura 1: Estrutura Química e descrição dos subtipos de tocoferóis e tocotrienóis.

(fonte: Kerckhoffs et al., 2002)

O efeito hipolipidêmico do tocotrienol está relacionado com um mecanismo de inibição da HMGCoA redutase, enzima chave na síntese endógena de colesterol, mediante duas ações pós-transcricional, uma que faz o aumento na degradação da HMGCoA redutase e a outra que diminui a eficiência da translocação do mRNA da enzima (Cícero et al., 2001). Existem duas formas de colesterol no fígado, o esterificado e o livre. A concentração de colesterol livre é a fonte para a síntese de ácidos biliares, forma pela

qual é excretada do organismo. Os mecanismos de regulação do colesterol livre estão relacionados com a HMGCoA redutase, que regula a síntese de novo do colesterol e, 7 α -hidroxilase que inicia a conversão de colesterol em ácidos biliares (Boll et al., 1999).

No ano de 2001, Qureshi e colaboradores publicaram um estudo revelando os efeitos do TRF₂₅ (α -, γ -, δ - tocotrienóis), desmetil e didesmetil tocotrienóis extraído do farelo de arroz em suínos (swine) hipercolesterolêmico e hiperlipidêmico, induzido por modificação na expressão gênica. Os animais foram divididos em cinco grupos e alimentados com dieta comercial (20% de proteína). O grupo controle (normolipidêmico) recebeu apenas a dieta comercial e nos demais grupos as dietas foram suplementadas com 50 μ g/dia de TRF₂₅ (α -, γ -, δ - tocotrienóis), γ -tocotrienol, desmetil e didesmetil. Após o 42º dia de tratamento houve uma redução significativa nos níveis de colesterol, LDL e triglicéridos plasmático entre os grupos suplementados com tocotrienóis e o controle, o mesmo não ocorreu aos 21 dias de tratamento. A atividade da HMGCoA redutase e da 7 α -hidroxilase foram testadas no fígado revelando que a suplementação de tocotrienóis reduziu significativamente a atividade da HMGCoA redutase, não havendo alteração sobre a atividade da 7 α -hidroxilase.

No mesmo ano (2001) Qureshi e colaboradores realizaram um estudo em humanos relacionando o efeito hipolipidêmico do farelo de arroz, da vitamina E e da lovastatina (droga que age inibindo competitivamente a síntese de ácido mevalônico, etapa limitante na síntese de colesterol endógena, e proporciona um aumento nos receptores de LDL). Os indivíduos foram submetidos a uma dieta contendo 300 mg/dia de colesterol (dieta AHA Step-1), por um período de 35 dias, após este período os voluntários foram divididos em dois grupos, o grupo A passou a receber 10 mg/dia de lovastatina e o grupo B 50 mg/dia de TRF₂₅, durante 35 dias, na fase III os dois grupos receberam lovastatina (10 mg/dia) e TRF₂₅ (50 mg/dia) por mais 35 dias e, por último, na fase V, o TRF₂₅ foi substituído por 50 mg/dia α -tocoferol, durante mais 35 dias. Após análise dos dados os autores verificaram uma redução no colesterol total plasmático de 14% e 13% e LDL de 18% e 15%, de TRF₂₅ e lovastatina isolados, respectivamente. A combinação da lovastatina com TRF₂₅ foi mais eficaz na redução do colesterol total plasmático, em aproximadamente 20% e o LDL em

25%. A substituição do TRF₂₅ por vitamina E (tocoferol) não mostrou alteração. Não foi constatada alterações significativas nos níveis de HDL e triglicerídeos em nenhuma fase do estudo, apesar dos triglicerídeos apresentarem uma redução de 10% e 15% com o uso de TRF₂₅ e lovastatina e, 16% na combinação deles.

Qureshi e colaboradores (2002) verificaram também em humanos que a fração rica em tocotrienol (TRF₂₅) extraída do farelo de arroz, quando administrada concomitantemente com a dieta AHA Step-1 (American Heart Association Step-1 diet) contendo 300 mg de colesterol e 30 % de lipídios resultou, além da perda de peso corporal, uma diminuição no colesterol total, LDL, Apo B e Triglicerídeos plasmático. No entanto, as alterações sangüíneas foram proporcionais à dose oferecida aos indivíduos (25 mg/d, 50 mg/d, 100 mg/d e 200 mg/d). A administração de 200 mg de TRF₂₅ não foi mais eficaz que a de 100 mg/dia, a justificativa pode ser dada pela composição centesimal de γ -tocotrienol, que quando administrada em alta concentração se biconverte em γ -tocoferol alterando o efeito de inibição da síntese de HMGCoA redutase, pelo aumento da transcrição do mRNA desta enzima.

Hood (1995) em seus experimentos com frangos verificou que as bactérias intestinais foram as responsáveis pela conversão de tocotrienol em tocoferol (conforme relatado por Qureshi et al., 2001). Os autores verificaram a composição real do TRF₂₅ utilizado em seus experimentos por intermédio de cromatografia (HPLC) e descreveram a presença de 8,7% de α -tocoferol, 5,5% α -tocotrienol, 1,6% β -tocotrienol, 39,4% γ -tocotrienol, 4,4% δ -tocoferol, 5,2% δ -tocotrienol, 20,9% D-desmetil/D-didesmetil tocotrienol e 4,3% tocotrienol indeterminado.

Qureshi e colaboradores (1996) verificaram em frangos que a ação do γ -tocotrienol, extraído do óleo de palma inibe o sistema pós-transcricional da HMGCoA redutase de forma dose-dependente, além de ser influenciada pela concentração de α -tocoferol, pois este ativa a transcrição da enzima, aumentando a síntese de colesterol. Os mesmos resultados foram obtidos nos experimentos em hamsters quando adicionados em sua dieta 30 μ g e 81 μ g de α -tocoferol/g de ração, extraídos do óleo de milho. Quando

comparamos estes estudos com os realizados em suínos, que receberam por seis dias consecutivos injeções intra-peritoneais de tocoferol, tocotrienol e sua combinação, mostraram que o tocoferol em baixa concentração (5 mg) inibiu 46% a atividade da HMGCoA redutase, porém quando a dose foi aumentada para 50 mg ocorreu uma estimulação na atividade da enzima em 90%. Em relação ao tocotrienol, uma dosagem de 10 mg foi suficiente para reduzir a atividade da HMGCoA redutase em 48%, em relação ao controle, porém ocorreu uma inibição de 13% quando administrado 10 mg de tocotrienol e 5 mg de tocoferol concomitantemente, quando comparado com o grupo com 10 mg de tocotrienol (Khor et al., 2000).

Entre os componentes presentes no farelo de arroz, analisados anteriormente, também se verificou a presença de um conjunto de dez componentes químicos (esteril ferulates) que foram denominados como γ -orizanol (figura 2) (Xu & Galber, 1999).

O orizanol encontrado no farelo de arroz pode auxiliar na redução de doenças cardiovasculares por reduzir os níveis de colesterol plasmáticos (Seetharamarah e Chandrasekhara, 1989, Rukmini e Rayhuran, 1991 e Cicero et al., 2001), além de ter função antioxidante (Duve e White, 1991).

Vissers e colaboradores (2000) realizaram um estudo em humanos e verificaram a ação hipocolesterolêmica dos fitoesteróis presente em uma pequena porção da fração insaponificável do farelo de arroz. Os fitoesteróis são sintetizados a partir do escaleno, que é o primeiro intermediário do cicloartenol (4, 4'-dimetilesterol e 24-metileno cicloartenol) que faz parte do complexo do γ -orizanol. Em adição, a mistura de éster de ácido ferulico do γ -orizanol presente no farelo de arroz, como β -sistosterol e campesterol, são produtos finais dos fitoesteróis sintetizados a partir do escaleno. O experimento foi realizado a partir do consumo de 29 g/dia de margarina por 3 semanas. Em um grupo foi acrescentado 2,1 g/dia de óleo de farelo de arroz na margarina, fitoesteróis e o grupo controle somente o conteúdo da margarina. Nos resultados foi possível verificar uma redução no colesterol total plasmático de aproximadamente 5%, uma redução de 8% no

LDL, enquanto permaneceram inalterados os níveis de HDL e de triglicérides plasmáticos em relação ao grupo controle.

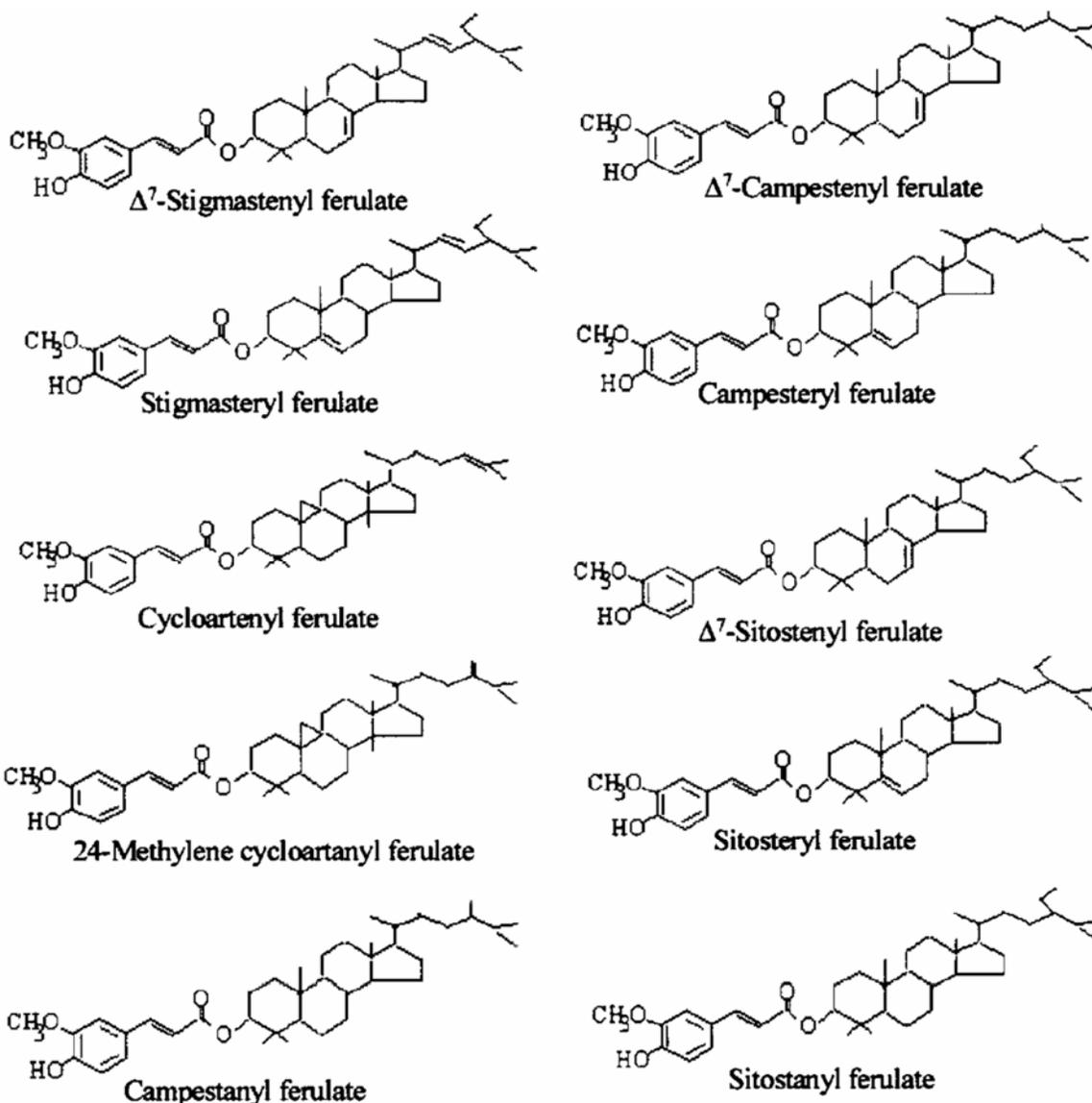


Figura 2: Estrutura química dos componentes do γ -orizanol (Fonte: Xu & Godber, 1999)

Conforme estudos realizados por Mattson et al. (1982) verificaram-se que os fitoesteróis provavelmente diminuem a concentração do colesterol plasmático por um processo de inibição da absorção de colesterol no intestino delgado. Esta hipótese pode ser

comprovada por um experimento realizado em hamsters que foram alimentados com fitoesteróis derivados da proteína de soja (99% de 4-desmetilesteróis) e derivados do farelo de arroz (70% de 4,4' dimetilesterol). Os fitoesteróis extraído da proteína de soja diminuiu 23 % a absorção intestinal de colesterol, obtendo também uma redução nos níveis de colesterol plasmático de 11% e os fitoesteróis do farelo de arroz diminuiu 7% a absorção e 5% do colesterol plasmático (Meijer et al., 2003).

A ação antioxidante do farelo de arroz está relacionada com a presença de ácido ferúlico que faz parte da molécula de γ -orizanol, que ajuda a diminuir a oxidação plasmática de colesterol, a peroxidação lipídica e o stress oxidativo. Em cérebro de ratos Wistar foi possível mensurar a capacidade antioxidante da porção γ -orizanol do farelo de arroz, verificando que o poder antioxidante é dose-dependente, tanto com o uso de extrato do farelo de arroz como do trolox (antioxidante controle), apesar do extrato do farelo de arroz ser menos ativo, pois o uso de 250 μ g/ μ l de extrato inibiu 98% a oxidação, enquanto que apenas 10 μ g/ μ l de trolox inibiu 95% (Parrado et al., 2003).

I.2. Proteína de Soja

A influência da proteína da dieta tem originado diversos estudos em relação ao metabolismo do colesterol. O uso de proteína de soja, quando comparada com a caseína, tem mostrado auxiliar na redução da concentração de colesterol plasmático. Porém, são os componentes não-protéicos, denominados fitoesteróis, encontrados na proteína de soja, os responsáveis por esta redução (Park et. al,1987; Nagata et al.,1982; Tasker et al.,1993 e Madani, 2000). Os fitoesteróis agem inibindo a absorção de colesterol no trato gastro-intestinal (Delaney et al., 2004).

A má nutrição protéica (baixa concentração de proteína na dieta) reduz os níveis plasmático de triglicerídeos favorecendo um acúmulo destes no fígado, devido a

síntese diminuída de apolipoproteína B-100, prejudicando a formação de VLDL, que é responsável pela retirada dos triglicerídeos hepático (Meghelli-Bouchemak et al, 1987 , Bouziane et al, 1994 e Madani, 2000).

Em estudos realizados por Madani et al. (2000) utilizando uma dieta hipoprotéica (10% de proteína), normoprotéica (20%) e hiperprotéica (30%) com caseína ou proteína de soja purificada (98%, sem os componentes não protéicos), durante 28 dias, apresentaram um aumento no ganho de peso corporal e hepático proporcional ao aumento da concentração protéica da dieta. Enquanto que a concentração plasmática de colesterol não foi afetada pela origem da proteína (caseína ou soja), mas a concentração de VLDL e triglicerídeos foram significativamente menores no grupo alimentado com 20% de proteína de soja quando comparado com a caseína (20%)

Estudos posteriores realizados por Madani et al. (2004) mostraram que o uso de proteína de soja purificada (98%) na dieta de ratos Wistar durante 2 meses não alteram os níveis de colesterol, triglicerídeos e fosfolípidios plasmático quando comparado com a caseína.

No final da década de 90, estudo em ratos com diversos tipos de proteínas na dieta (soja, batata e arroz) foram comparados com caseína, por um período de 14 dias, e mostraram ter um efeito hipocolesterolêmico. Entre as dietas, os animais que receberam proteína de soja apresentaram uma redução significativa no colesterol total e também no HDL plasmático, quando comparados com o grupo controle alimentado com caseína. Não houve alteração nos lipídios e colesterol hepático, porém a atividade específica da enzima 7α -hidroxilase mostrou-se aumentada. Em outra fase do estudo, ao adicionar asparagina e glutamina foi observado uma redução no colesterol total e HDL plasmático, tendo um aumento significativo na concentração de lipídios e colesterol hepático, sem alteração na atividade específica da enzima 7α -hidroxilase (Morita et al., 1997).

LeBlanc e colaboradores (2003) mostraram que adição de lecitina de soja à dieta de ratos, durante 14 dias, aumentaram as concentrações de colesterol total, livre,

esterificado e LDL plasmático, no entanto houve uma redução significativa na VLDL em relação a dieta controle. Houve uma redução nos triglicerídeos plasmático, mas não foi considerada significativa.

Estudos realizados Giroux e colaboradores (1999a e 1999b) em coelhos mostraram que a composição de aminoácidos da dieta influencia a concentração de colesterol plasmático. O aumento do fornecimento de aminoácidos essenciais na dieta, principalmente lisina e metionina, proporcionaram um aumento na concentração de colesterol plasmático, mas a adição de arginina reduziu este efeito. A lisina e a metionina isoladas tiveram uma menor ação, não sofrendo alteração com a suplementação de arginina (lisina + arginina e metionina + arginina).

Segundo Gibney (1983) a proteína de soja possui uma baixa relação lisina/arginina e uma menor concentração de metionina quando comparada com a caseína, estes fatores podem justificar o efeito hipocolesterolêmico da proteína de soja. Estudos controversos realizados por Moundras e colaboradores (1995) mostraram que a proteína de soja semipurificada sem a adição de metionina aumentou a concentração de colesterol e reduziu os níveis de triglicerídeos plasmáticos, quando comparados com o uso de caseína na dieta de ratos Wistar, durante 21 dias. No mesmo estudo, quando a dieta de proteína de soja foi suplementada com 0,4% de metionina se constatou uma redução no colesterol total e um aumento nos triglicerídeos plasmático em relação aos ratos que não receberam suplementação de metionina.

A ação hipolipidêmica e antioxidante da soja também pode ser atribuída à presença de isoflavonas em sua composição. Uma pesquisa realizada em ratos alimentados com 0,2% de isoflavonas isoladas da soja por 5 semanas, ocasionaram uma redução na atividade da HMGCoA redutase, um aumento na α -hidroxilase, além de reduzir o colesterol e triglicerídeos plasmático, quando comparado com o grupo controle. A atividade antioxidante foi detectada a partir da redução dos níveis das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA) plasmático do grupo suplementado com isoflavonas (Kawakani et al., 2004).

Entre todos os efeitos relacionados com os ingredientes que compõem as dietas utilizadas na parte experimental desta dissertação, já citadas, não se pode deixar de considerar que o efeito da composição de aminoácidos das dietas com farelo de arroz (com ou sem adição de proteína de soja e lisina) pode influenciar o estado nutricional do animal quando comparado com a dieta comercial, podendo refletir no perfil lipídico dos mesmos.

I.3. Deficiência Protéica Materna

A dieta materna durante o período de lactação deve ser nutricionalmente adequada a este estado fisiológico, para assim garantir uma boa produção de leite e proporcionar o crescimento e desenvolvimento dos filhotes. A adequação dos nutrientes na lactação são determinados pela demanda da produção do leite pela sucção dos filhotes. O organismo das mães tem a habilidade de mobilizar a energia estocada no seu organismo para suprir a lactação. Estudos realizados em suínos mostraram que o consumo de quantidades inadequadas de aminoácidos, reduzem substancialmente o peso materno, reduzindo o ganho de peso corporal dos filhotes (Jones et al., 1999).

Jones e colaboradores (1999) realizaram outro estudo também em suínos, no período de lactação, e verificaram a influência da restrição de lisina na dieta materna sobre a produção do leite. Um grupo recebeu na dieta 100% das necessidades diárias de lisina (o equivalente a 1,2 g/100g de dieta) e outro grupo com apenas 30% (0,37 g/100 g de dieta). O valor calórico total não foi alterado, permanecendo dentro das necessidades diárias para o período de lactação, em ambos os grupos, porém a concentração de proteína total corresponderam à 20,66% (com 2,1% de lisina) e 8,33% (com 0,37% de lisina). Os autores mostraram que houve uma redução no ganho de peso corporal dos filhotes e também no conteúdo protéico e energético do leite materno nos grupos alimentados com dieta contendo baixa concentração de lisina, em relação ao grupo controle (100% de lisina). Sendo que os

grupos que receberam 0,37% de lisina consumiram menos ração em comparação ao grupo controle. Logo, a própria diferença da ingestão de lisina pela dieta, proporcionou também uma maior perda de peso materna, ocasionada pela mobilização dos estoques corporais com o intuito de garantir a produção de leite, apesar do conteúdo de nutrientes no leite materno estarem diminuído em relação ao grupo controle.

Com o objetivo de verificar o efeito da dieta com baixa (0,4%), média (1%) e alta (1,6%) concentração de lisina, durante o período de lactação em suínos, Yang e colaboradores (2000) mostraram que a produção de leite na dieta com baixa concentração de lisina em relação a média concentração de lisina aumentou a perda de peso materno. Isto ocorreu porque houve uma mobilização das reservas do organismo da mãe para garantir a produção de leite, por intermédio do aumento da degradação de proteína muscular. Este efeito foi evitado com o aumento da concentração de lisina na dieta. Neste estudo a concentração de proteína total foi de 11,9% (0,4% de lisina), 20,26% (1% de lisina) e 28,82% (1,6% de lisina).

Mejia-Guadarrama e colaboradores (2002) em seus estudos com suínos, durante o período de lactação, mostraram que a dieta com 10% de proteína total e 0,6% de lisina não alterou o consumo de ração e a ingestão energética, quando comparada com a dieta controle (20% de proteína total e 1,08% de lisina). O requerimento energético para manter a produção de leite foi o mesmo, em ambas as dietas. Em contraste, a concentração de lisina ingerida e plasmática foi duas vezes superior no grupo controle, em relação à dieta hipoprotéica. Os autores mostraram também que houve um aumento da mobilização da proteína corporal do grupo alimentado com a dieta hipoprotéica, pois as concentrações de alanina e glutamina estavam aumentadas. Estes resultados indicaram que a utilização das reservas protéicas auxiliaram a produção de leite durante a lactação, porém com uma redução na composição química do leite, o qual também foi verificado em estudos realizados por Jones e Stahly (1999).

Segundo estudos realizados por Dourmad e colaboradores (1998), a adição de 0,66% (15,5% de proteína total), 0,77% (15,5% e 17,1% de proteína total) e 0,87%

(17,1% de proteína total) de lisina na dieta de suínos, durante o período de lactação, não alterou o peso corporal dos filhotes e a produção de leite.

A partir destes estudos podemos observar que as alterações na concentração de proteína total, bem como de lisina, podem alterar a produção de leite, o peso corporal materno e dos filhotes. No entanto, os resultados obtidos pelos autores descritos anteriormente devem ser avaliados isoladamente, conforme a concentração de proteína de cada dieta.

I.4. Desenvolvimento do Sistema Nervoso Central

A má nutrição (proporções inadequadas ou a falta de um nutrientes) e a desnutrição (quantidades insuficientes de todos os nutrientes requeridos por uma espécie) são condições prevalentes que afetam crianças no mundo todo, principalmente de regiões subdesenvolvidas.

A nutrição desempenha um importante papel no desenvolvimento e na organização estrutural e funcional do sistema nervoso central. A inadequação de nutrientes priva o cérebro de obter um aporte mínimo de nutrientes para o seu desenvolvimento, podendo alterar a atividade de enzimas, neurotransmissores e interferir na síntese de componentes celulares, como os ácidos nucleicos e proteínas, bem como incorporação inadequada de lipídios nas várias estruturas cerebrais (Morgane et al., 2002).

O sistema nervoso central contém muitos lipídios em sua estrutura, que são essenciais para a atividade fisiológica, na interação com os receptores, com a neurotransmissão e na sua neuromodulação. Um bom requerimento de ácidos graxos garante um desenvolvimento cerebral adequado no período de rápido crescimento cerebral, onde qualquer alteração na disponibilidade de lipídios pode prejudicar a estrutura e função

do sistema nervoso ainda em formação (Lutz et al., 1994 e Srinivasarao et al., 1997). Além disto, muitos estudos mostram a relação entre a deficiência de nutrientes na dieta com as alterações da biodisponibilidade dos precursores de neurotransmissores. Quando ocorre uma redução significativa no aporte de ácidos graxos na dieta, ocorre uma redução do perfil lipídico em determinadas regiões cerebrais, ocasionando uma redução nos neurotransmissores e na capacidade de aprendizagem e memória (Yehuda, S., 1987).

O crescimento de um órgão, incluindo o cérebro, ocorre em três fases: inicialmente há um aumento na síntese de DNA, refletindo um aumento do número de células (hiperplasia), apesar do tamanho permanecer o mesmo, depois ocorre um aumento no número e tamanho das células (hiperplasia e hipertrofia) e por último, as células só aumentam de tamanho, ou, como no caso do sistema nervoso central, ocorre ainda diferenciação celular. Entretanto, o cérebro não é um órgão homogêneo e a duração destas três fases diferem dependendo da região (Winick, 1972). Portanto, o desenvolvimento na maturação do cérebro envolve uma série de fases que se sobrepõe temporalmente, em seqüência precisa, as quais, são diferentes nas várias regiões cerebrais e dentro de uma região particular, além de variar de uma espécie animal para outra. A má nutrição pode interferir nas fases do desenvolvimento cerebral (Morgane et al., 2002).

O “período de rápido crescimento cerebral”, no rato, compreende as três primeiras semanas de vida (período lactacional), caracterizando-se por rápidas mudanças morfológicas, bioquímicas e fisiológicas no cérebro, sendo um período vulnerável, onde qualquer alteração nutricional pode influenciar o desenvolvimento cerebral (Morgane et al., 1993)

Além da massa, o crescimento de um órgão, por exemplo do cerebelo, pode ser acompanhado pela relação proteína/DNA, a qual pode estimar o tamanho de suas células constituintes, bem como a quantidade de DNA, refletindo no número de células do órgão. Winick e Noble (1965) observaram que a desnutrição precoce em ratos, levava a uma redução permanente no número de células do cérebro (conteúdo de DNA), embora o seu tamanho (relação proteína/DNA) não seja afetado. Com a desnutrição imposta após o

desmame, o número de células (DNA) permanecia inalterado, porém o tamanho (proteína) das mesmas, diminuído. Em 1991, Azzolin e colaboradores verificaram que a concentração de DNA foi maior em cerebelo de ratos normonutridos (25% de caseína) de 7 à 15 dias de idade, em relação aos desnutridos. Porém, aos 21 dias de idade este parâmetro foi maior nos desnutridos, indicando um atraso na velocidade de divisão celular cerebral.

Qualquer deficiência nutricional pré-natal ou pós-natal afetará a maturação e o desenvolvimento cerebral, no período de rápido crescimento cerebral, influenciando diretamente o processo cognitivo e a memória, os quais dependem de três fatores: (1) fator genético; (2) estimulação e (3) adequada nutrição. Alterações em um ou na combinação destes fatores podem resultar em graus variados de disfunção cerebral, sob vários aspectos: neuroanatômico, neuroquímico, comportamental e bioquímico.

Estudos em humanos mostraram que a má nutrição parece estar associada a diferentes graus de distúrbios intelectuais, como exemplo o déficit cognitivo e de atenção, devido a alteração no desenvolvimento neuronal e glial do cérebro (Morgane et al., 2002).

Dietas com baixas concentrações de proteínas proporcionam alterações nos níveis de aminoácidos plasmático e, como consequência, uma síntese protéica diminuída, alterando o desenvolvimento do sistema nervoso central.

I.5. Suplementação alimentar com farelo de arroz

No combate a desnutrição, instituições não governamentais, como por exemplo a Pastoral da Criança, vêm estabelecendo parcerias para a utilização de multimisturas. Trata-se de um tipo de alimentação alternativa, na qual sua base é constituída de farelo de arroz ou trigo (80%), pó de casca de ovo (10%), pó de folhas verdes escuras (5%) e pó de semente (5%) (Brandão, 1988). Porém, esta prática tem sido

alvo de polêmica, visto não haver comprovação científica da eficácia desta multimistura como suplemento nutricional para crianças desnutridas.

Em decorrência da expansão do uso dessa multimistura como medida de combate à desnutrição infantil, várias pesquisas passaram a desenvolver estudos que pudessem respaldar cientificamente seu uso.

Estudos realizados por Glória e colaboradores (2004) mostraram que em ratos Wistar recém-desmamados, alimentados com multimistura tradicional contendo farelo de arroz, farinha de trigo e milho, pó de folha de mandioca e casca de ovo, apresentam valores significativamente menores no ganho de peso, peso final e quantidade de dieta ingerida quando comparados com o grupo que foi adicionado multimisturas lácteas. No entanto, quando se comparou o grupo alimentado com caseína e com multimistura tradicional não foram encontradas alterações nestes parâmetros.

Oliveira e colaboradores (2001) realizaram estudo em ratas Wistar que no período de gestação e lactação receberam farinha de mandioca enriquecida com bioproteínas (*Saccharomyces cerevisiae*), que contém alto teor protéico. Em seus resultados foi possível verificar que a ingestão protéica e alimentar das lactantes foi significativamente menor no grupo alimentado com farinha de mandioca sem adição de bioproteínas (dieta com 13,02 g de proteína total) do que o grupo controle (caseína, 17,01 g de proteína). No entanto, ao adicionar bioproteína (16,6 g de proteína) houve uma melhora na ingestão protéica e alimentar. Quanto ao ganho de peso dos filhotes, verificou-se um aumento significativamente maior para o grupo controle em relação aos demais, sendo proporcional à ingestão protéica. A partir destes resultados foi possível observar que a qualidade e a quantidade de proteína da dieta, oferecida as ratas no período de lactação, influencia diretamente o desenvolvimento dos filhotes, bem como seu estado nutricional, pois afeta a qualidade do leite materno.

Leite e colaboradores (2002) mostraram em seus estudos com ratas Wistar, no período de lactação, que a redução na quantidade e qualidade da proteína da dieta

influenciou diretamente a produção e composição do leite materno, afetando o desenvolvimento ponderal dos filhotes, dados idênticos aos encontrados por Oliveira et al. (2001). A partir dos resultados desta pesquisa foi possível verificar que os grupos submetidos às dietas com baixo conteúdo protéico (12%) e valor biológico inferior ao da caseína, apresentaram uma menor taxa de produção de leite, quando comparados com o grupo controle (20% de caseína). No entanto, quando a dieta com 12% de proteína foi suplementada com 2% de multimistura (80% de farelo de trigo e arroz, 5% de pó de folhas verdes escuras, 5% de pó de sementes e 10% de casca de ovo em pó) houve uma redução significativa na produção de leite materno em relação aos demais grupos descritos anteriormente (dietas com 12% e 20% de proteína). Este dado sugere que a utilização da multimistura como suplemento alimentar, mesmo que em pequenas quantidades, pode acentuar os efeitos negativos de uma dieta hipoprotéica. A adição de 2% de multimistura na dieta contendo 12% de proteína interferiu também na qualidade do leite materno, pois foi verificado uma redução do conteúdo energético, mediado pela diminuição da concentração de proteína, lipídeos e lactose, quando comparado com o grupo controle (12% e 20% de caseína) e com a dieta hipoprotéica (12% de proteína de baixo valor biológico).

II. Objetivos

II.1. Objetivo Geral

Este estudo teve por objetivo avaliar o estado nutricional de ratos Wistar após o período de lactação, cujas mães foram alimentadas com dietas contendo farelo de arroz suplementadas ou não com proteína de soja e lisina, bem como o efeito das diferentes dietas sobre o perfil lipídico do plasma e do fígado dos ratos.

II.2. Objetivo Específico

1º. Avaliar o desenvolvimento ponderal dos filhotes mediante os seguintes parâmetros: peso corporal, peso do fígado e cerebelo.

2º. Avaliar a glicemia e o perfil lipídico a partir das dosagens de colesterol total, HDL, LDL e triglicerídeos plasmáticos dos filhotes.

3º. Avaliar os efeitos das diferentes dietas sobre os seguintes parâmetros bioquímicos dos filhotes: DNA e proteína hepática e cerebelar; glicogênio, colesterol total e triglicerídeos hepático.

III. Materiais e Métodos

III.1. Materiais (reagentes e equipamentos):

- NaCl da marca Synth
- Agitador de tubos da marca Phoenix
- Balanças de precisão da marcas Núcleo equipamentos e Kern 430-21
- Centrífuga de tubo de ensaio e eppensorf da marca Bio Eng BE-4004
- Banho Maria da marca Soc. Fabbel Ltda
- Espectrofotômetro da marca Beckaman 1409
- Freezer -70°C da marca Prosdócimo
- Homogeneizador elétrico da marca VEB Profgerate-Werk 12/0481
- Máquina de gelo triturado da marca Scotsman
- Pipetas automáticas da marca Labsystems
- Material cirúrgico (tesoura, bisturi e espátula)

III.2. Tabela 1: Composição das dietas

Composição	Farelo de Arroz soja c/lis (g %)	Farelo de Arroz soja s/lis (g %)	Farelo de Arroz c/lis (g %)	Farelo de Arroz s/lis (g %)
Farelo de Arroz (*)	55,8	56,8	91,18	92,18
Amido	23,1	23,1	--	--
Protein de Soja (**)	12	12	--	--
Óleo de Arroz	4,2	4,2	3,86	3,86
Lisina	1	--	1	--
Sais Minerais (+)	3,6	3,6	3,68	3,68
Mistura Vitamínica(++)	0,3	0,3	0,28	0,28

Dieta Comercial: 22 % de proteína, 41,3 % de carboidrato, 4 % de lipídeos, 8 % de fibras, carbonato de cálcio, farelo de milho, farelo de soja, farelo de trigo, fosfato bicálcico, cloreto de sódio, premix mineral vitamínico e aminoácido (300,00 mg de DL-metionina e 100,00 mg de lisina) (Nuvilab CR1 – alimento equilibrado para ratos de laboratório)

baseado nas recomendações do National Research Council e National Institute of Health - USA)

(*) **Farelo de arroz** desengordurado do Helmut Tessmann ind. e com. de óleos vegetais Ltda (Rod. Br 116, Km 388, Camaquã/RS - Brasil).

(**) **Proteína de soja**: Samprosoy 92% de pureza (The Solae Company, Esteio/RS - Brasil).

(+) **Mistura de Sais Minerais** (mg/100 de dieta): 557 NaCl; 3,2 KI; 1556 KH₂PO₄; 229 MgSO₄; 1526 CaCO₃; 108 FeSO₄.7H₂O; 16 MnSO₄.H₂O; 2,2 ZnSO₄.H₂O; 1,9 CuSO₄.5 H₂O e 0,09 CoCl₂.6 H₂O (de acordo com A.O.A.C.; Horwitz, 1980).

(++) **Mistura Vitamínica** (Roche, São Paulo, Brasil; mg/100 g de dieta): 4 Vitamina A; 0,5 Vitamina D; 10 Vitamina E; 0,5 Menadiona; 200 Colina; 10 PABA, 10 Inositol; 4 Niacina; 4 Ácido Pantotênico; 0,8 Riboflavina; 0,5 Tiamina; 0,5 Piridoxina; 0,2 Ácido fólico; 0,04 Biotina e 0,003 Vitamina B12 (de acordo com A.O.A.C.; Horwitz 1980).

III.3. Tabela 2: Macronutrientes das dietas (g/100 g)

Composição	Dieta Comercial	Farelo de Arroz soja c/lis	Farelo de Arroz soja s/lis	Farelo de Arroz c/lis	Farelo de Arroz s/lis
Carboidrato	41,3	44,30	44,69	39,57	40
Lipídeos	4	4,31	4,31	4,28	4,29
Proteína	22	21,04	21,04	17,05	16,22

III.4. Animais Experimentais

Utilizamos ratas Wistar (4 meses de idade) provenientes do Biotério do Departamento de Bioquímica da Universidade Federal de Rio Grande do Sul. Foram acasaladas e mantidas em caixas separada até o parto. Após o parto a ninhada foi padronizada em oito filhotes por mãe. Todas foram mantidas em ambiente climatizado com temperatura controlada de 21 a 23°C, com ciclo de luminosidade claro-escuro de 12 horas. O protocolo utilizado na pesquisa foi usado de acordo com as normas do Comitê de

Cuidados e Uso em Pesquisa de Animal Experimental, Escola de Medicina Veterinária e Ciência Animal da Universidade de São Paulo, Brasil.

As dietas foram oferecidas para as mães a partir do primeiro dia pós-natal, durante todo o período lactacional (21 dias), com água e dieta ad libitum.

III.5. Preparação das amostras:

Aos vinte e um dias de idade, os filhotes foram pesados e sacrificados por decapitação. Foram coletados sangue e realizado a dissecação das estruturas (fígado e cerebelo). O fígado e cerebelo foram pesados e homogeneizado em solução salina 0,9%, nas seguintes diluições: 1g para 5 ml de salina e 1g para 10 ml de salina, respectivamente.

III.6. Dosagens Bioquímicas:

III.6.1. Plasma Sangüíneo:

As amostra de sangue foram centrifugadas imediatamente após coleta em 2000 rpm, durante 10 minutos, os sobrenadantes foram utilizados na realização das determinações bioquímicas, segundo análise de múltiplo teste (das marcas Mega, Merck, Darmstadt, Germany) específico para cada Kit:

1. Determinação de colesterol total segundo método de Huang modificado: kit CHOD-PAP MS 1.19738.0001

2. Determinação de HDL segundo método de DiaSys (Diagnostic Systems International, Holzheim, Germany)

3. Determinação de LDL pelo método enzimático Bioclin: kit CHOD-PAP MS 1.14992.0001

4. Determinação de triglicerídeos pelo método Soloni modificado: kit GPO-PAP MS 1.19706.0001
5. Determinação de lipídios totais: somatório de toda fração lipídica plasmática
6. Determinação de proteína pelo método de biureto (SMT 1.19703.0001)
7. Determinação de albumina pelo método verde de Bromo-Crezol: kit MS 1.19722.0001
8. Determinação de glicose pelo método enzimático GOD/POD MS1357/79-318/00

III.6.2. Tecido hepático e cerebelar:

1. Determinação da concentração de colesterol total no fígado pelo kit COD-ANA 60-2/100 MS 10009010002- Labtest.
2. Determinação da concentração de triglicerídeos no fígado pelo kit GPO-ANA 59 MS 10009010021- Labtest.
3. Determinação da concentração glicogênio no fígado segundo o método de Krisman, 1962.
4. Determinação da dosagem de proteína no fígado e cerebelo segundo o método de Lowry, 1951.
5. Determinação da dosagem de DNA no fígado e cerebelo segundo o método de Burton, 1966.

III.7. Análises Estatísticas:

Os dados foram analisados pelo teste da ANOVA, seguida do teste de raios múltiplos de Tukey HSD (Post Hoc) quando o F foi significativo e o $p < 0,05$. Todas as análises foram feitas através do programa SPSS (versão 8.0).

IV. Resultados

IV.1. Avaliação do desenvolvimento ponderal de ratos Wistar de 21 dias de idade, cujas mães foram alimentadas com dietas contendo farelo de arroz com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja.

Analisando o desenvolvimento ponderal dos filhotes, cujas mães receberam diferentes dietas contendo farelo de arroz, observamos alterações significativas em relação ao peso corporal quando comparados ao grupo controle alimentado com dieta comercial. O grupo que recebeu farelo de arroz sem a adição de lisina apresentou uma redução no peso corporal, quando comparado com os demais grupos. Observamos também, que os grupos que receberam adição de proteína de soja apresentaram um aumento no peso corporal. A análise estatística mostra um $[F(4,40) = 75,95; p < 0,01]$ pelo teste de ANOVA. Segundo o teste de Tukey HSD (Post Hoc) encontrou-se um $p = 0,05$ para o grupo alimentado com farelo de arroz sem lisina e um $p = 0,001$ para os grupos alimentados com a adição de proteína de soja, em relação ao grupo da dieta comercial.

Em relação ao peso do fígado observou-se uma redução no grupo alimentado com farelo de arroz sem lisina e um aumento nas dietas que foram adicionada proteína de soja, quando comparados com os demais grupos. A análise estatística mostra um $[F(4,40) = 75,95; p < 0,01]$ pelo teste de ANOVA. Segundo o teste de Tukey HSD (Post Hoc) encontrou-se um $p = 0,035$ para o grupo alimentado com farelo de arroz sem lisina e um $p = 0,001$ para os grupos que foram adicionados proteína de soja, em relação ao grupo alimentado com a dieta comercial.

Observamos uma redução significativa no peso cerebelar nos grupos alimentados com farelo de arroz sem a adição de proteína de soja em relação à dieta comercial $[F(4,46) = 19,35; p < 0,01]$ pelo teste de ANOVA. Segundo o teste de Tukey HSD (Post Hoc) encontrou-se um $p = 0,00$ na dieta com farelo de arroz sem lisina e um $p = 0,024$ na dieta farelo de arroz com lisina, em relação a dieta comercial.

Quanto à concentração de proteína do fígado não foram encontradas diferenças significativas. Porém, observou-se que a concentração de proteína cerebelar foi significativamente inferior em todos os grupos quando comparados ao grupo alimentado com

dieta comercial [$F(4,42) = 5,32$; $p < 0,01$] pelo teste de ANOVA. Segundo o teste de Tukey HSD (Post Hoc) encontrou-se um $p = 0,01$ para todos os grupos.

Na concentração de DNA do fígado observou-se uma redução significativa nos grupos alimentados com farelo de arroz sem a adição de proteína de soja [$F(4,42) = 3,972$; $p < 0,01$] pelo teste de ANOVA. Segundo teste de Tukey HSD (Post Hoc) encontrou-se um $p = 0,062$ e $p = 0,037$ nas dietas com farelo de arroz com lisina e sem lisina, respectivamente, em comparação à dieta comercial.

Em relação a concentração de DNA cerebelar observou-se uma redução significativa nos grupos alimentados com farelo de arroz sem a adição de proteína de soja [$F(4,42) = 34,41$; $p < 0,01$] pelo teste de ANOVA. Segundo o teste de Tukey (Post Hoc) encontrou-se um $p = 0,01$ para os grupos alimentados com farelo de arroz em relação à dieta comercial.

Tabela 3: Avaliação do desenvolvimento ponderal de ratos Wistar de 21 dias de idade, cujas mães foram alimentadas com dietas contendo farelo de arroz (FA) com e sem adição de 1% de lisina (lis) e 5 % de proteína de soja (soja).

Dietas	Peso Corporal (g)	Peso do Fígado (g)	Proteína do fígado (mg %)	DNA do Fígado (mg %)	Peso do Cerebelo (mg)	Proteína do Cerebelo (mg %)	DNA do Cerebelo (mg %)
Comercial	31,09 ± 0,88	1,06 ± 0,01	20,62 ± 0,52	354,22 ± 6,76	207 ± 4	13,57 ± 0,32	863,53 ± 19,87
FA soja c/lis	39,15 ± 0,37 (**)	1,24 ± 0,03 (**)	20,98 ± 0,27	346,94 ± 12,07	215 ± 4	11,42 ± 0,26 (**)	869,9 ± 25,72
FA soja s/lis	39,41 ± 0,45 (**)	1,38 ± 0,03 (**)	18,73 ± 0,07	346,88 ± 10,8	213 ± 5	11,09 ± 0,20 (**)	913,7 ± 21,58
FA c/lis	32,42 ± 0,38	1,11 ± 0,02	20,25 ± 0,43	309,84 ± 16,02 (*)	189 ± 1 (*)	11,43 ± 0,68 (**)	638,42 ± 45,20 (**)
FA s/lis	27,42 ± 0,63 (*)	0,97 ± 0,02 (*)	20,43 ± 1,11	306,40 ± 7,71 (*)	174 ± 4 (**)	11,43 ± 0,76 (**)	536,17 ± 24,04 (**)

Os dados representam a média ± EPM (erro padrão da média) de 8 a 12 ratos. Os símbolos (*) p<0,05 e (**) p<0,01 representam uma diferença estatística significativa do valor da média do grupo controle (dieta comercial) pelo teste de ANOVA - seguida do teste de Tukey HSD (Post Hoc).

IV.2. Efeito da dieta com farelo de arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis plasmáticos de colesterol

Na concentração de colesterol total plasmático observou-se uma redução significativa nos grupos alimentados com farelo de arroz sem a adição de proteína de soja [F(4,55) = 7,44; $p < 0,01$] pelo teste da ANOVA. Segundo o teste de Tukey HSD (Post Hoc) encontrou-se um $p = 0,05$ e $p = 0,01$ nas dietas farelo de arroz com lisina e sem lisina, respectivamente, quando comparados à dieta comercial. (Figura 3)

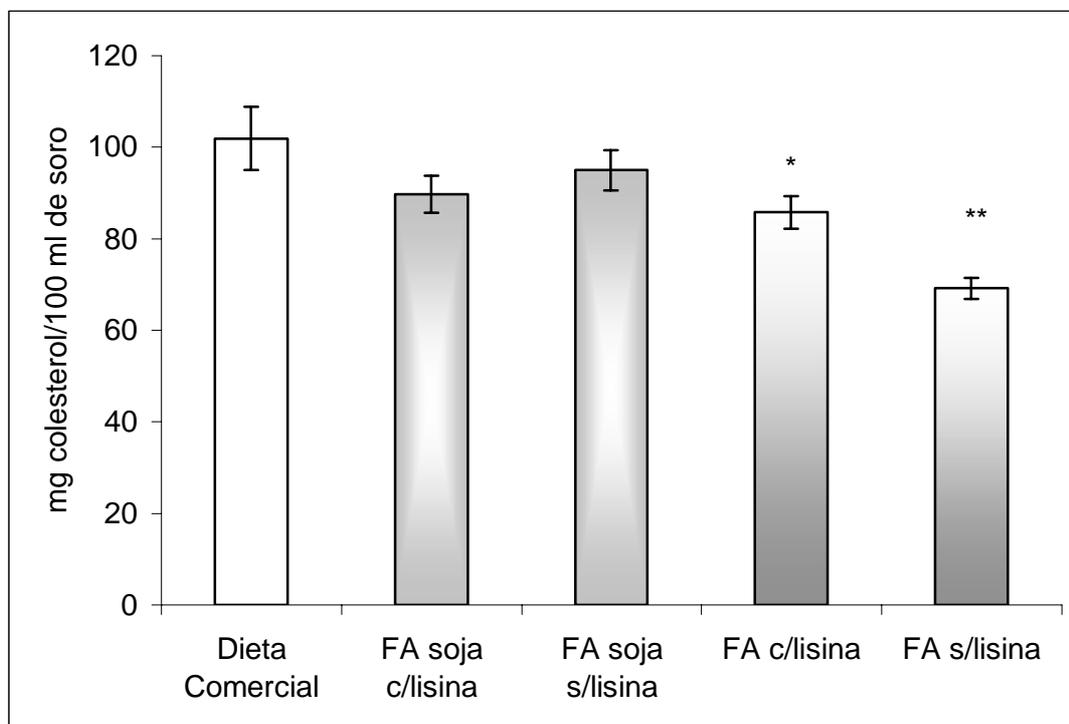


Figura 3: Efeito da dieta com Farelo de Arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis plasmáticos de colesterol total.

Os dados representam a média \pm EPM (erro padrão da média) de 8 à 12 ratos. Os símbolos (*) $p < 0,05$ e (**) $p < 0,01$ representam uma diferença estatística significativa do valor da média do grupo controle (dieta comercial) pelo teste ANOVA – seguido do teste de Tukey HSD (Post Hoc).

IV.3. Efeito da dieta com farelo de arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis plasmáticos de HDL

Na concentração de HDL plasmático observou-se uma redução significativa nos grupos alimentados com farelo de arroz sem a adição de lisina [$F(4,55) = 23,58; p < 0,01$] pelo teste da ANOVA. Segundo o teste de Tukey HSD (Post Hoc) encontrou-se um $p = 0,01$ nas dietas farelo de arroz sem lisina, quando comparados à dieta comercial. (Figura 4)

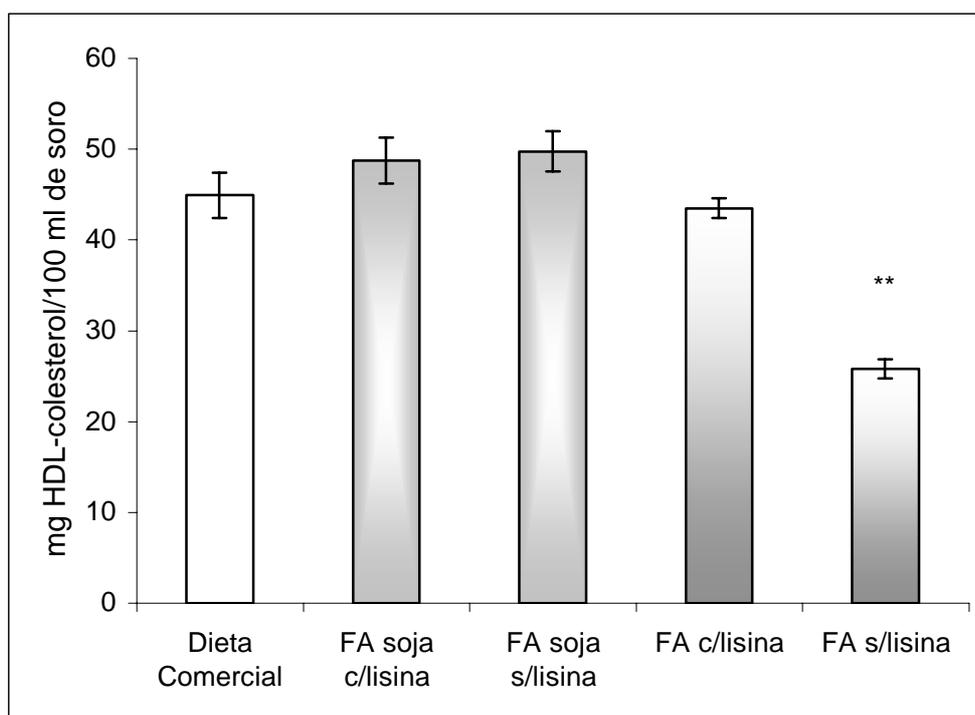


Figura 4: Efeito da dieta com Farelo de Arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis plasmáticos de HDL.

Os dados representam a média \pm EPM (erro padrão da média) de 8 à 12 ratos. O símbolo (**) $p < 0,01$ representa uma diferença estatística significativa do valor da média do grupo controle (dieta comercial) pelo teste ANOVA – seguido do teste de Tukey HSD (Post Hoc).

IV.4. Efeito da dieta com farelo de arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis plasmáticos LDL

Na concentração de LDL plasmático observou-se uma redução significativa em todos os grupos alimentados com farelo de arroz com e sem a adição de lisina e proteína de soja [$F(4,55) = 13,79$; $p < 0,01$] pelo teste da ANOVA. Segundo o teste de Tukey HSD (Post Hoc) encontrou-se um $p = 0,01$ nas dietas farelo de arroz com e sem lisina e com adição de proteína de soja e lisina e $p = 0,05$ nas dietas farelo de arroz sem lisina e com adição de proteína de soja, quando comparados à dieta comercial. (Figura 5)

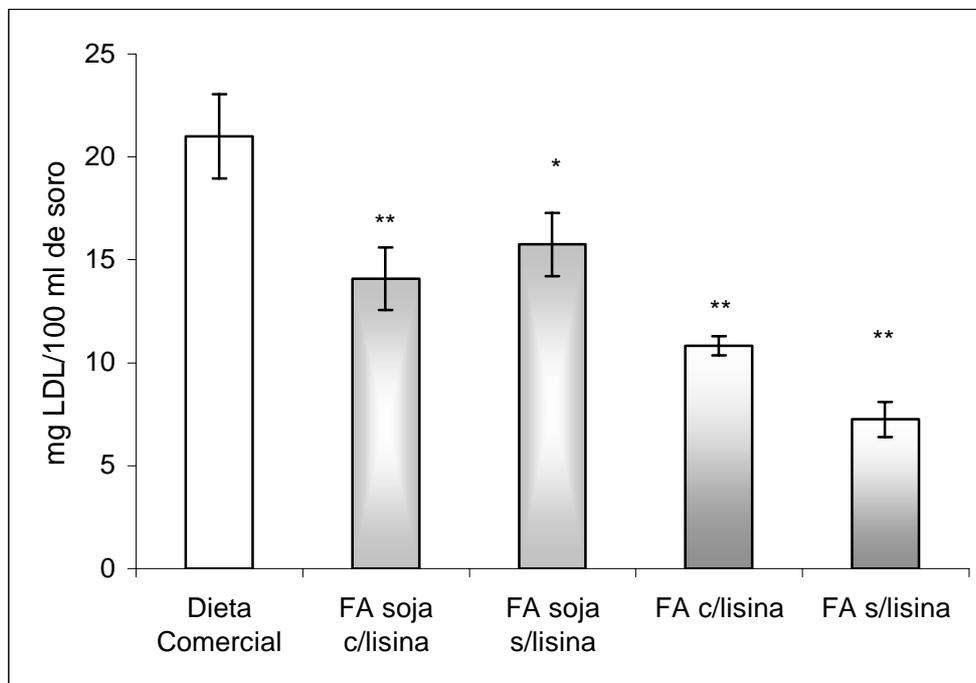


Figura 5: Efeito da dieta com Farelo de Arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis plasmáticos de LDL.

Os dados representam a média \pm EPM (erro padrão da média) de 8 à 12 ratos. Os símbolos (*) $p < 0,05$ e (**) $p < 0,01$ representam uma diferença estatística significativa do valor da média do grupo controle (dieta comercial) pelo teste da ANOVA – seguido do teste de Tukey HSD (Post Hoc).

IV.5. Efeito da dieta com farelo de arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis plasmáticos de triglicerídeos

Na concentração de triglicerídeos plasmáticos observou-se um aumento significativo no grupo alimentado com farelo de arroz sem a adição de lisina [$F(4,55) = 7,65$; $p < 0,01$] pelo teste da ANOVA. Segundo o teste de Tukey HSD (Post Hoc) encontrou-se um $p = 0,05$ na dieta farelo de arroz sem lisina, quando comparados à dieta comercial. (Figura 6)

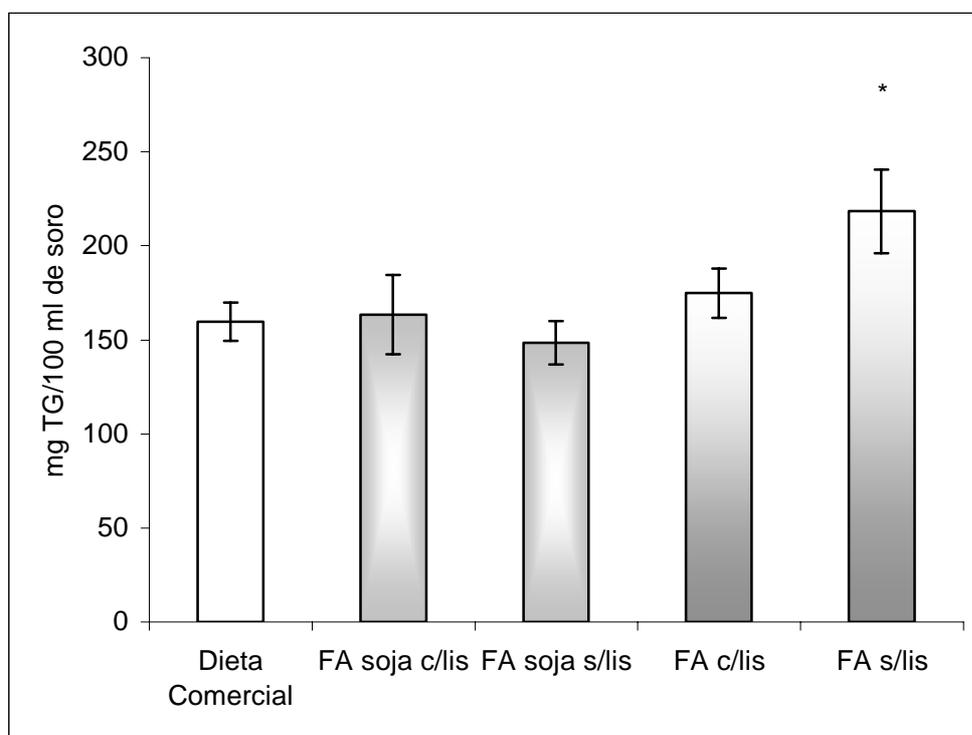


Figura 6: Efeito da dieta com Farelo de Arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis plasmáticos de triglicerídeos.

Os dados representam a média \pm EPM (erro padrão da média) de 8 à 12 ratos. O símbolo (*) $p < 0,05$ representa uma diferença estatística significativa do valor da média do grupo controle (dieta comercial) pelo teste da ANOVA – seguida do teste de Tukey HSD (Post Hoc).

IV.6. Efeito da dieta com farelo de arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja sobre os níveis plasmáticos de lipídeos totais

Observamos que não houve alterações nas concentrações de lipídios totais no plasma dos animais alimentados com as diferentes dietas. (Figura 7)

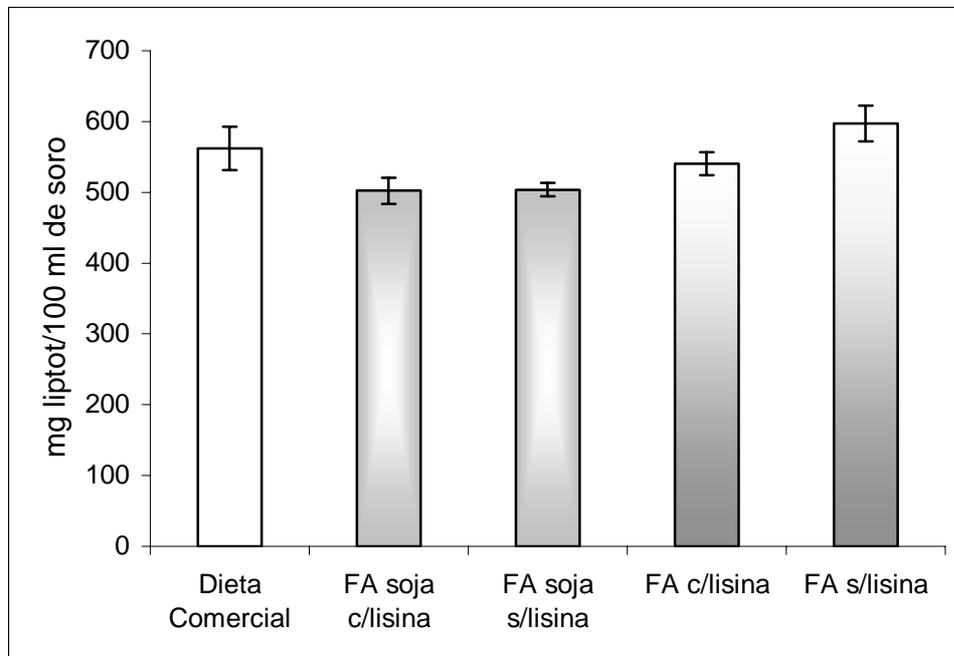


Figura 7: Efeito da dieta com Farelo de Arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis plasmáticos de lipídeos totais.

Os dados representam a média \pm EPM (erro padrão da média) de 8 à 12 ratos. As médias foram analisadas pelo teste da ANOVA – seguido do teste de Tukey HSD (Post Hoc), não apresentando diferenças significativa.

IV.7. Efeito da dieta com farelo de arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis plasmáticos de proteína

Na concentração de proteína plasmática observou-se uma redução significativa nos grupos alimentados com farelo de arroz sem lisina [$F(4,55) = 42,48$; $p < 0,01$] pelo teste da ANOVA. Segundo o teste de Tukey HSD (Post Hoc) encontrou-se um $p = 0,01$ na dieta farelo de arroz sem lisina, quando comparados à dieta comercial. (Figura 8)

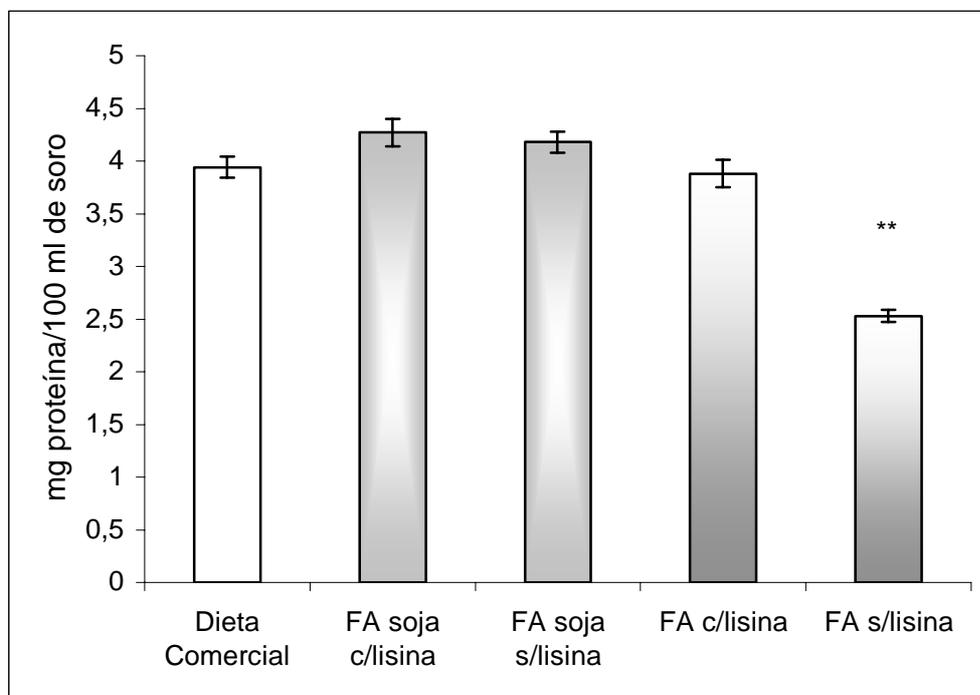


Figura 8: Efeito da dieta com Farelo de Arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis plasmáticos de proteína.

Os dados representam a média \pm EPM (erro padrão da média) de 8 à 12 ratos. O símbolo (**) $p < 0,01$ representa uma diferença estatística significativa do valor da média do grupo controle (dieta comercial) pelo teste da ANOVA – seguido do teste de Tukey HSD (Post Hoc).

IV.8. Efeito da dieta com farelo de arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis plasmáticos de albumina

Na concentração de albumina plasmática observou-se uma redução significativa nos grupos alimentados com farelo de arroz sem lisina [$F(4,55) = 23,96$; $p < 0,01$] pelo teste da ANOVA. Segundo o teste de Tukey HSD (Post Hoc) encontrou-se um $p = 0,01$ na dieta farelo de arroz sem lisina, quando comparados à dieta comercial. (Figura 9)

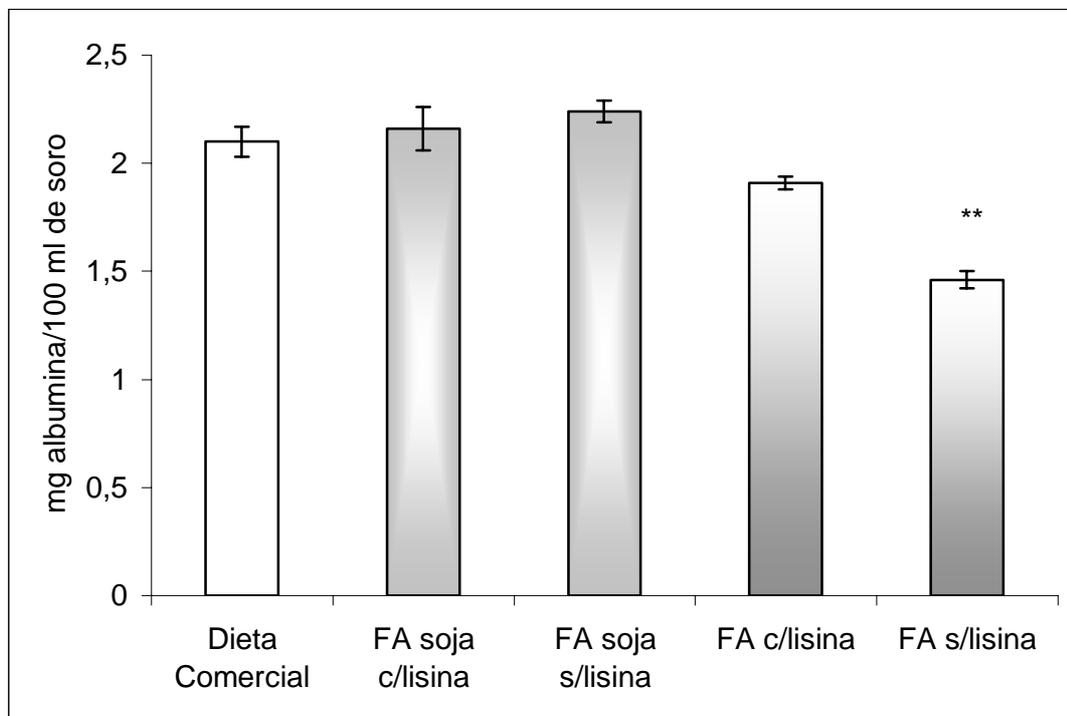


Figura 9: Efeito da dieta com Farelo de Arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis plasmáticos de albumina.

Os dados representam a média \pm EPM (erro padrão da média) de 8 à 12 ratos. O símbolo (**) $p < 0,01$ representa uma diferença estatística significativa do valor da média do grupo controle (dieta comercial) pelo teste da ANOVA – seguido do teste de Tukey HSD (Post Hoc).

IV.9. Efeito da dieta com farelo de arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja. sobre os níveis plasmáticos de glicose

Na concentração de glicose plasmática observou-se uma redução significativa nos grupos alimentados com farelo de arroz sem lisina [$F(4,55) = 18,45$; $p < 0,01$] pelo teste da ANOVA. Segundo o teste de Tukey HSD (Post Hoc) encontrou-se um $p = 0,01$ na dieta farelo de arroz sem lisina, quando comparados à dieta comercial. (Figura 10)

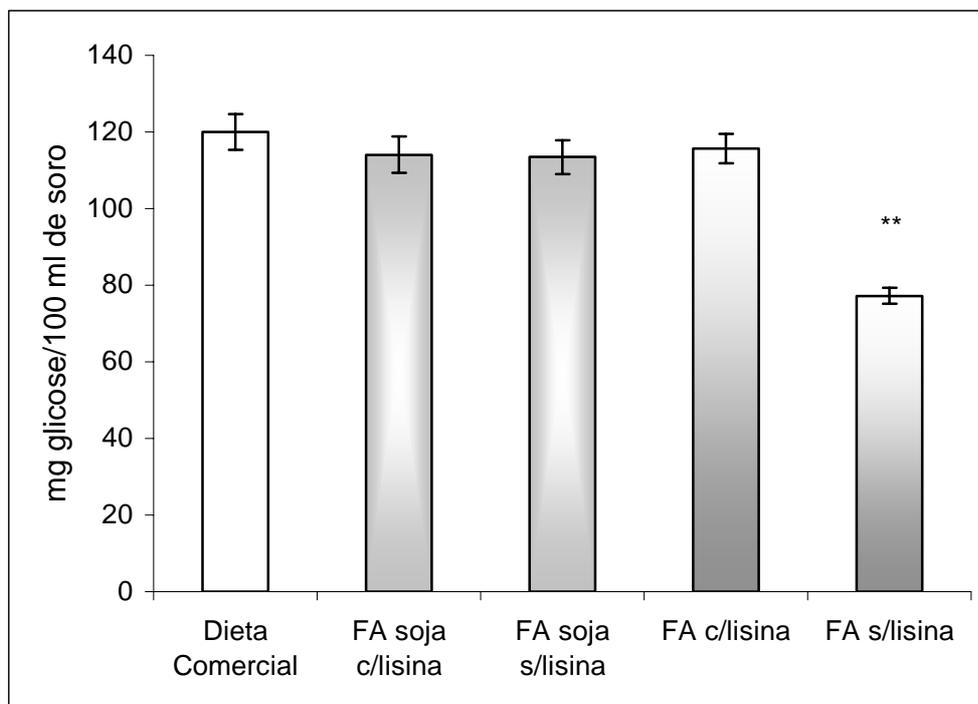


Figura 10: Efeito da dieta com Farelo de Arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis plasmáticos de glicose.

Os dados representam a média \pm EPM (erro padrão da média) de 8 à 12 ratos. O símbolo (**) $p < 0,01$ representa uma diferença estatística significativa do valor da média do grupo controle (dieta comercial) pelo teste da ANOVA – seguido do teste de Tukey HSD (Post Hoc).

IV.10. Efeito da dieta com farelo de arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis de colesterol hepático

Observamos que não houve alterações nas concentrações de colesterol hepático nos animais alimentados com as diferentes dietas. (Figura 11)

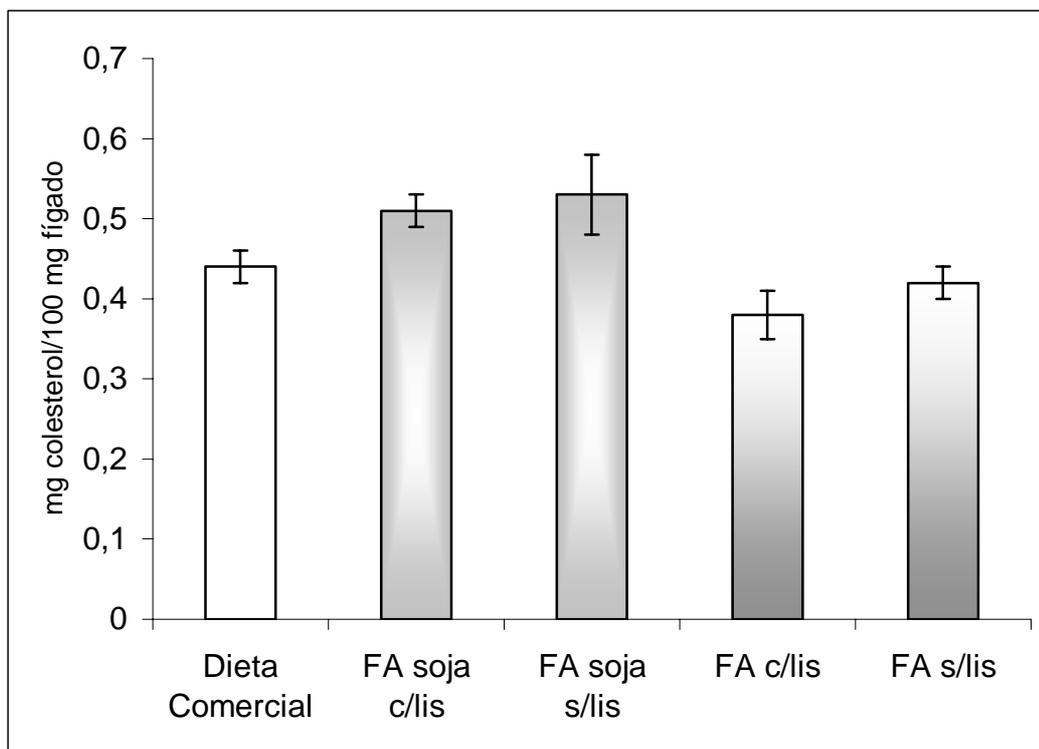


Figura 11: Efeito da dieta com Farelo de Arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis de colesterol hepático.

Os dados representam a média \pm EPM (erro padrão da média) de 8 à 12 ratos. As médias foram analisadas pelo teste da ANOVA – seguido do teste de Tukey HSD (Post Hoc), não apresentando diferenças significativa.

IV.11. Efeito da dieta com farelo de arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis de triglicerídeos hepático

Na concentração de triglicerídeos hepático observou-se uma redução significativa nos grupos alimentados com farelo de arroz sem lisina [$F(4,55) = 5,12; p < 0,01$] pelo teste da ANOVA. Segundo o teste de Tukey HSD (Post Hoc) encontrou-se um $p = 0,01$ na dieta farelo de arroz sem lisina, quando comparados à dieta comercial. (Figura 12)

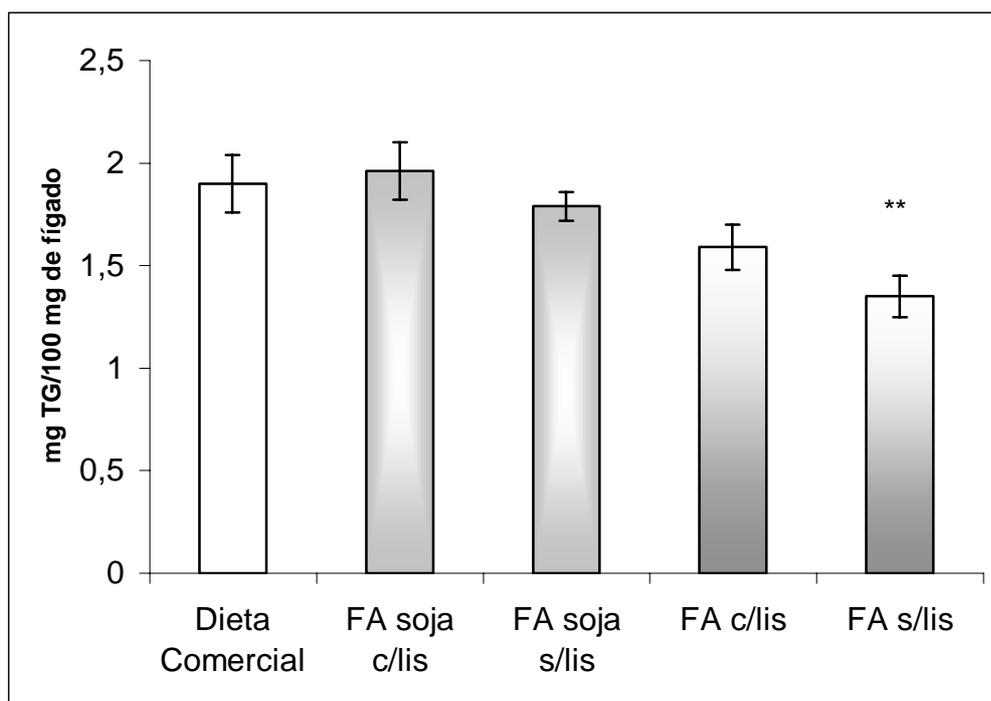


Figura 12: Efeito da dieta com Farelo de Arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis de triglicerídeo hepático.

Os dados representam a média \pm EPM (erro padrão da média) de 8 à 12 ratos. O símbolo (**) $p < 0,01$ representa uma diferença estatística significativa do valor da média do grupo controle (dieta comercial) pelo teste da ANOVA – seguido do teste de Tukey HSD (Post Hoc).

IV.12. Efeito da dieta com farelo de arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis de glicogênio hepático

Na concentração de glicogênio hepático observou-se um aumento significativo nos grupos alimentados com farelo de arroz com lisina e com e sem proteína de soja [F(4,55) = 14,73; p<0,01] pelo teste da ANOVA. Segundo o teste de Tukey HSD (Post Hoc) encontrou-se um p = 0,01 na dieta farelo de arroz com lisina e com e sem proteína de soja, quando comparados à dieta comercial. (Figura 13)

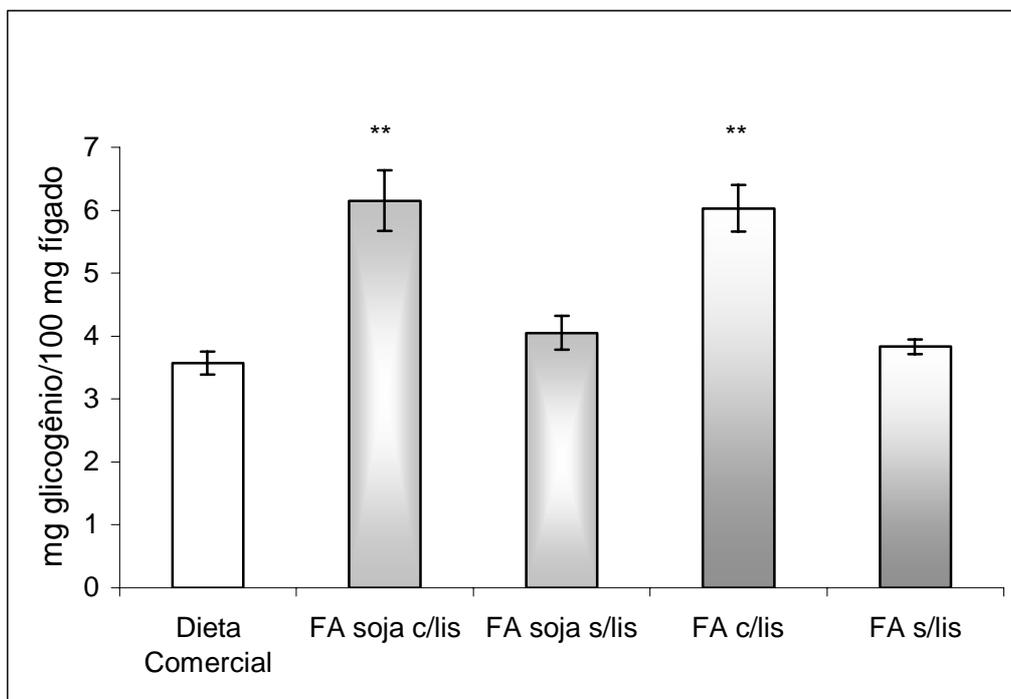


Figura 13: Efeito da dieta com Farelo de Arroz, com e sem adição de 1% de lisina e 5% de proteína de soja, sobre os níveis de glicogênio hepático.

Os dados representam a média \pm EPM (erro padrão da média) de 8 à 12 ratos. O símbolo (**) $p < 0,01$ representa uma diferença estatística significativa do valor da média do grupo controle (dieta comercial) pelo teste da ANOVA – seguido do teste de Tukey HSD (Post Hoc).

V. Discussão

A utilização do farelo de arroz como suplemento na alimentação das crianças desnutridas, em várias localidades do país, nos incentivou a executar este trabalho experimental. O argumento, das entidades de apoio de assistência nutricional, para esta conduta é de que o farelo de arroz possui todos os aminoácidos essenciais, exceto lisina, que ao adicionar na merenda das crianças pode contribuir para reduzir a desnutrição.

A dieta com farelo de arroz oferecida às ratas mães influenciou diretamente o estado nutricional dos filhotes. Durante o período de lactação qualquer alteração na dieta influencia diretamente a composição do leite materno e o volume de leite produzido, afetando o desenvolvimento dos filhotes (Jones et al., 1999).

No presente trabalho a avaliação do crescimento e desenvolvimento dos filhotes foram medidos pelos seguintes parâmetros: peso corporal, peso do fígado, proteína e DNA do fígado (que mostram o tamanho e o número de células hepáticas), peso do cerebelo, proteína e DNA (que nos mostram o desenvolvimento do sistema nervoso central) (Winick e Noble, 1965 e Morgane et al., 2002).

Podemos observar que o peso corporal e hepático dos filhotes cujas mães foram alimentadas com FA s/lis tiveram uma redução significativa (de 12%), quando comparados com o grupo controle (DC). No entanto, os grupos que receberam adição de lisina (1%) não apresentaram alterações significativas nos pesos. Ao incluir na dieta a proteína de soja (92% de pureza) se obteve um aumento de aproximadamente 25% em ambos os pesos.

Com estes resultados, podemos considerar que o farelo de arroz foi prejudicial para o desenvolvimento do animal, tanto em relação ao peso corporal, como ao tecido hepático. Podemos sugerir que o farelo de arroz puro, sem adição de qualquer outra fonte de proteína, provoca um atraso no crescimento.

Jones e colaboradores (1999), descreveram em seus estudos que a restrição de aminoácidos, na dieta de suínos durante o período de lactação, reduziu a composição

deste nutriente no leite materno, prejudicando o aporte protéico necessário para o crescimento e desenvolvimento dos filhotes.

Uma dieta com baixa concentração de lisina (0,4%) também alterou o desenvolvimento dos filhotes, além da perda de peso materno. Isto ocorreu porque há um aumento na degradação de proteína muscular, para garantir a produção de leite, mesmo que quantitativamente e qualitativamente prejudicada (Yang et al., 2000). O mesmo efeito não ocorreu quando utilizado a suplementação de 0,66% de lisina na dieta, pois não causou nenhuma alteração no peso dos filhotes e das mães, além de não ter afetado a produção de leite materno (Dourmad et al., 1998).

Ao avaliar o peso do cerebelo, cujo desenvolvimento e crescimento ocorre nas primeiras semanas de vida pós-natal, foi possível verificar uma redução significativamente de 16% no peso do cerebelo dos animais cujas mães receberam dieta com FA s/lis, em relação ao grupo controle (DC). A suplementação de 1% de lisina na dieta não foi o suficiente para recuperar o peso total, o tamanho e número das células do cerebelo. Com isto pode-se dizer que o farelo de arroz prejudica o desenvolvimento do sistema nervoso central dos filhotes. A adição da protéica de soja (com ou sem lisina) proporcionou o mesmo desenvolvimento cerebelar que o grupo controle.

O crescimento do cerebelo ocorre por aumento do número de células (hiperplasia) e tamanho (hipertrofia) (Morgane et al., 2002). Além da massa, o crescimento pode ser avaliado através da relação proteína/DNA, a qual pode estimar o tamanho de suas células constituintes, bem como a quantidade de DNA, que pode refletir o número de células do órgão. A inadequação de nutrientes priva o cérebro de obter um aporte mínimo de nutrientes para o seu desenvolvimento, podendo alterar a atividade de enzimas e interferir com a síntese e estrutura de proteínas, bem como incorporação de lipídios em várias estruturas cerebrais. Em animais desnutridos precocemente, observou-se uma redução no número de células do cérebro, mediante uma redução na concentração de DNA, embora seu tamanho (relação proteína/DNA) não seja afetado (Winick e Noble, 1965).

Os animais, cujas mães foram alimentadas com FA s/lis, tiveram uma deficiência nutricional, pois os seus níveis de proteína total e albumina plasmática encontraram-se diminuídas, quando comparada com o grupo controle. Entretanto, a adição de soja e/ou lisina foi capaz de restabelecer o estado nutricional causado pela restrição protéica ou até mesmo pela má digestibilidade do próprio farelo de arroz.

Nos últimos anos, além do estudo sobre os efeitos do farelo de arroz como suplemento alimentar, se pesquisam muito, também, a ação de alguns componentes químicos presentes no farelo (γ -orizanol, tocotrienol, esterol, entre outros), pois são potentes redutores dos níveis de colesterol plasmático, na glicemia, além de ter efeito antioxidante.

O equilíbrio na composição da dieta contribui muito para a redução dos níveis de colesterol e lipídios plasmáticos, que são os principais fatores de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (Kerckhoffs et al., 2002).

Em nosso estudo, podemos observar que o colesterol total plasmático do grupo alimentado com FA s/lis e c/lis foi significativamente menor que o grupo controle (DC), a fração de LDL foi a que expressou uma maior redução, de 66% e 49%, respectivamente. A dieta com FA s/lis reduziu em 43% o HDL plasmático. Com estes resultados podemos considerar que a suplementação de farelo de arroz na dieta pode auxiliar no tratamento dietoterápico de pacientes com doenças cardiovasculares.

A adição de proteína de soja não alterou os níveis de colesterol total e HDL plasmático, no entanto houve uma redução de 32% e 57%, respectivamente, na dieta com FA s/lis quando comparados com o grupo controle.

Nas últimas décadas, uma atenção especial está sendo dada às fibras solúveis presentes na dieta, devido ao seu efeito hipocolesterolêmico. As fibras atuam reduzindo a absorção de colesterol pelo intestino delgado, aumentando a ligação dos ácidos biliares, diminuindo a circulação e estimulando a conversão hepática de colesterol em ácidos

biliares. Outra ação poderia ser pelo aumento da viscosidade do bolo alimentar, que forma uma barreira reduzindo a absorção de nutrientes e ácidos biliares, reduzindo a absorção intestinal de glicose e a concentração de insulina, que pode refletir na redução da síntese de colesterol hepática (Kerkhoffs et al., 2002).

Apesar de alguns pesquisadores não atribuírem o efeito hipocolesterolêmico às fibras presente no farelo de arroz, devido à sua baixa concentração (inferior a 14%) (Gerhardt et al., 1998), há comprovação de que sua capacidade de ligação a água e lipídios, bem como seu poder de emulsificação, é maior até mesmo que as fibras comercializada no mercado (FIBREX), utilizado para a mesma finalidade (Hamid et al., 1999).

Um estudo paralelo realizado neste trabalho revelou que a oferta contínua de dieta com farelo de arroz (FA c/lis e FA s/lis) após o desmame (21 dias), quando os filhotes foram separados das mães, ocasionou distensão abdominal e retardo no esvaziamento do trato gastro-intestinal dos ratos. A partir desta observação avaliamos as condições do aparelho digestivo das mães, e verificamos que as mesmas apresentavam dilatações e retenção do bolo alimentar. No entanto, no momento em que foi adicionado proteína de soja na dieta dos ratos, imediatamente após o desmame, os mesmos não apresentaram distensão abdominal ou outros sinais clínicos anormais. Contudo, verificamos que a suplementação de proteína de soja foi capaz de restabelecer a função gastro-intestinal após alguns dias e dieta, mesmo após o aparecimento de distensão abdominal.

Apesar de não ter sido mensurado a quantidade de fitoquímicos no FA desengordurado, utilizado em nossos experimentos, não podemos deixar de citá-los, pois com certeza contribuem em parte para a redução do colesterol plasmático. A ação do α -orizanol se dá pelo aumento da excreção fecal de ácidos biliares que é formado a partir do colesterol do organismo e, como consequência reduz o colesterol total plasmático.

A presença de fitoesteróis, no farelo de arroz e na proteína de soja, têm o mesmo efeito (Cícero et al., 2001 e Delaney et al., 2004). Entretanto, atribuem-se a eles o efeito de reduzir o LDL plasmático, mediante o aumento de seus receptores no fígado. As

isoflavonas presentes na proteína de soja, também têm ação hipocolesterolêmica, pois atua aumentando os receptores de LDL, diminuindo a absorção de colesterol e aumentando a síntese de colesterol endógeno na produção de ácidos biliares (Kerckhoffs et al., 2002).

A presença de tocotrienóis no farelo de arroz tem sido bem estudado, pois mostraram ser redutores dos níveis de colesterol plasmático. Os tocotrienóis atuam inibindo a transcrição do mRNA da enzima HMGCoA redutase, que é a enzima chave da primeira etapa da síntese de colesterol (Cícero et al., 2001). A eficácia do tocotrienol depende muito da concentração administrada, pois em altas doses tem o poder de se bioconverter em tocoferol, que atua estimulando a síntese de colesterol. Isto foi sugerido a partir de estudos realizados em frangos, o qual se identificou que as bactérias intestinais são as responsáveis por esta conversão de tocotrienol em tocoferol (Qureshi et al., 2001).

Diversos estudos mostraram que a composição de aminoácidos tem um papel importante no metabolismo do colesterol, principalmente a relação lisina/arginina (Gibney, 1983), pois foi possível encontrar um aumento os níveis de colesterol quando há aumento no fornecimento de alguns aminoácidos essenciais, como por exemplo, lisina e metionina. Como a proteína de soja (98% de pureza) possui baixos níveis de lisina e metionina, pode ocorrer uma redução nos níveis de colesterol plasmático. Alguns autores não encontraram diferença significativa nos níveis de colesterol plasmático (Gibney et al., 1983, Moundras et al., 1985, Giroux et al., 1999a, Giroux et al., 1999b, Madani et al., 2000 e Madani et al, 2004).

Nossos estudos mostram que a concentração de colesterol hepático não foram alterados em nenhuma das dietas com farelo de arroz, quando comparada com a dieta controle.

A avaliação dos triglicerídeos no perfil lipídico dos ratos, cujas mães foram alimentadas com dieta FA s/lis, se encontraram depletados quando avaliados sua concentração no fígado e aumentados no plasma, em relação ao grupo controle. Vários autores, Meghelli-Bouchenak et al. (1987), Bouziane et al. (1994) e Madani et al. (2000),

relacionam que a baixa concentração de proteína na dieta influencia o metabolismo lipídico, aumentando os níveis de triglicerídeos no fígado e diminuindo no plasma. Devido a uma deficiência na síntese de apolipoproteína hepática da VLDL, que é responsável por transportar triglicerídeos do fígado para a corrente sanguínea.

A própria deficiência protéica do leite materno, em consequência à restrição de aminoácidos materna, pode ter prejudicado a formação de apolipoproteínas responsáveis pelo transporte e utilização de lipoproteínas e triglicerídeos no organismo dos filhotes, porém não foi possível identificá-las apenas com estes dados bioquímicos. A avaliação da interferência de outros componentes não protéicos encontrado no farelo de arroz podem contribuir no esclarecimento dos efeitos encontrados.

Como já mencionado anteriormente, as fibras presentes no farelo de arroz podem auxiliar na redução da glicemia, mediante uma inibição na absorção intestinal (Kerckhoffs et al., 2004). Porém, esse efeito só pode ter reflexo nas mães, porque nos filhotes a redução da glicemia está relacionado com o quadro de desnutrição em que eles se apresentaram. Em nossos estudos se observou uma redução na glicemia apenas nos grupos alimentados com FA s/lis, quando comparado com o grupo controle, os quais apresentaram uma redução no crescimento e desenvolvimento característico de desnutrição. Entretanto, nas demais dietas (FA soja c/lis, FA soja s/lis e FA c/lis) não houveram alterações na concentração de glicose plasmática em relação ao grupo controle.

Estudos anteriores realizados por Ohara et al. (2000) em ratos diabéticos, com e sem o composto de farelo de arroz, que compreende somente a porção fibrosa do farelo comercialmente denominado de Biobran (Daiwa Pharmaceutical Co., Tokyo, Japan), não foi verificado nenhuma alteração na glicose sanguínea quando administrado na dose de 0,5 g/kg de peso.

Algumas investigações tem reportado também que os tocoferóis, tocotrienóis e γ -orizanol são capazes de controlarem os níveis de glicose sanguínea em

concentrações normais, por exercer um efeito sobre a absorção, utilização e excreção de glicose (Qureshi et al., 2002).

O níveis de glicogênio hepático nos ratos que receberam suplementação de lisina, na dieta materna, apresentaram concentrações significativamente superiores ao grupo controle . Entretanto, nossos dados sugerem uma interferência da suplementação de 1% de lisina na concentração de glicogênio hepático, porém outros estudos são necessários esclarecer seu efeito sobre o mecanismo de síntese de glicogênio hepático.

Nosso estudo evidencia a importância dietoterápica do farelo de arroz na prevenção de doenças cardiovasculares, mediado pelo seu efeito hipocolesterolêmico. Porém, o uso contínuo do farelo de arroz como suplemento alimentar, principalmente na infância, poderá acarretar uma diminuição nos níveis de lipídios plasmático, que são importantes constituintes da estrutura da membrana celular, principalmente do sistema nervoso central. Esta alteração terá reflexo no aspecto cognitivo (aprendizagem e memória), bem como no poder de concentração da criança, pois nesta fase ainda está ocorrendo desenvolvimento cerebral (Morgane et al., 1993 e 2002).

A partir dos resultados deste trabalho foi possível verificar a necessidade da realização de estudos complementares para investigar a dosagem adequada de suplemento com farelo de arroz nas crianças desnutridas em idade escolar. Com isso, será possível garantir o efeito do farelo de arroz como suplemento alimentar, para enriquecer a dieta, evitando assim uma alteração indesejada no perfil lipídico destas crianças, cujo organismo exige concentrações adequadas de nutrientes, que são essenciais para garantir seu crescimento e desenvolvimento.

VI. Conclusões

A partir dos resultados obtidos podemos observar que houve uma redução no crescimento e desenvolvimento dos filhotes das ratas alimentadas com FA s/lis, os quais apresentaram um quadro característico de desnutrição. Apesar da dieta ter sido oferecido às mães houve uma repercussão significativa na composição do leite materno, influenciando diretamente o aporte nutricional dos filhotes.

A qualidade da composição do leite materno está relacionada com o estado nutricional e a dieta materna. Porém, nesse estudo podemos considerar que a dieta materna refletiu diretamente na qualidade do leite, afinal o farelo de arroz contém vários componentes químicos que são capazes de alterar o metabolismo das mães, prejudicando a disponibilidade de nutrientes para a produção do próprio leite. Acredita-se que alguns destes componentes, como o γ -orizanol, tocotrienóis, tocoferóis entre outros, possam estar presentes no leite materno, já que também se observou uma redução nos níveis de colesterol plasmático nos filhotes.

A suplementação de 1% de lisina na dieta com farelo de arroz contribuiu em parte para o restabelecimento de alguns parâmetros bioquímicos (HDL, triglicerídeos, proteína total, albumina e glicemia plasmática e triglicerídeo hepático) e físicos (peso corporal, hepático e cerebelar). Isto nos leva a acreditar que a composição de aminoácidos da dieta materna influencia a disponibilidade deles no leite, refletindo uma resposta metabólica nos filhotes.

A proteína de soja (92% de pureza) utilizada com o intuito de melhorar o aporte protéico da dieta, também contribuiu para restabelecer o quadro nutricional dos animais (filhotes), bem como a normalização do perfil lipídico. Porém, a adição de lisina aumentou a concentração de glicogênio hepático, inclusive na dieta com farelo de arroz sem a proteína de soja.

A redução dos níveis de glicose plasmática foi atribuída principalmente ao estado de desnutrição dos filhotes, cujas mães foram alimentadas com dieta FA s/lis. Provavelmente esta dieta ocasionou uma redução do aporte energético do leite materno. No entanto, o efeito das fibras solúveis presentes no farelo de arroz poderiam ter influenciado a digestibilidade protéica e a redução na absorção de glicose apenas nas mães.

Estudos complementares são necessários para investigar as alterações metabólicas produzidas pela adição de diferentes aminoácidos na dieta sobre o metabolismo das lipoproteínas, triglicerídeos hepático e glicogênio hepático.

De modo geral, nossos estudos sugerem que o farelo de arroz realmente possui um efeito hipocolesterolêmico, porém mais estudos são necessários para viabilizar sua utilização na prevenção de doenças cardiovasculares.

VII. Referências Bibliográficas

- Alencar**, M.L.C.B.B. & Alvarenga, M.G. (1991). Rice bran: chemical composition and its potential as food. *Arq. Biol. Tecnol.* 34(1):95-108.
- Anderson**, J.W., Deakins, D.A., Floore, T.L., Smith, B.M. & Whitis, S.E. (1990). Dietary fiber and coronary heart disease. *Crit. Ver. Food Sci. Nutr.* 29: 95-147.
- Arjamandi**, B.H., Jounjwa, A., Nathani, S. & Reeve, R.D. (1992). Dietary soluble fiber and cholesterol affect serum cholesterol concentration, hepatic portal venous short-chain fatty acid concentrations and fecal sterol excretion in rats. *J. Nutr.* 122:246-253.
- Azzolin**, I.R., Bernard, E.A., Trindade, V.M.T., Gamallo, J.L. & Perry, M.L.S. (1991) Effect of protein malnutrition on Glycoprotein, protein and lipid synthesis in the rat cerebellum during the period of brain growth spurt. *Annals of Nutrition and Metabolism* 35: 82 - 88.
- Boll**, M., Weber, L.W.D., Plana, J. & Stampfl^a, A. (1999). *In vivo* and *in vitro* studies on the regulatory link between 3-hydroxy-3-methylglutaryl Coenzima A reductase and cholesterol 7 α -hydroxylase in rat liver. *Z. Naturforsch* 54:371-382.
- Bouziane**, M., Prost, J. & Belleville, J. (1994) Changes in fatty acid compositions of total serum and lipoprotein particles in growing rats given protein-deficiente diets with hydrogenated coconut or salmon oils as fat sources. *Br. J. Nutr.* 71: 375-587.
- Brandão**, C.T.T. (1988) Alternativas alimentares. Goiânia: CNBB/Pastoral da Criança 67 p.
- Burton**, K. (1966) Isolation of certain oligonucleotides obtained by degradation of deoxyribonucleic acid. *Biochem. J.* 98: 68-9.
- Cícero**, A.F.G. & Gaddi, A. (2001). Rice bran oil and γ -oryzanol in the treatment of hyperlipoproteinaemias and other conditions. *Phytotherapy research* 15:277-289.

CIENTEC - Fundação de Ciências e Tecnologia (1994). Arroz Parboilizado. 241: 02-08.

Delaney, B. Stevens, L.A., Schmelzer, W., Haworth, J., McCurry, G. & Kritchevsky, D. (2004) Oral absorption of phytosterols and emulsified phytosterols by Sprague-Dawley rats. *Journal of Nutritional Biochemistry* 15: 289-295.

Dourmad, J.Y., Noblet, J. & Étienne, M. (1998) Effect of protein and lysine supply on performance, nitrogen balance, and body composition changes of sows during lactation. *J. Anim. Sci.* 76: 542-550.

Ebihara, K. & Schneeman, B.O (1989). Interaction of bile acids, phospholipids, cholesterol and triglyceride with dietary fibers in the small intestine of rats. *J. Nutr.* 119: 1100-1106.

Gerhardt, A L. & Gallo, N.(1998). Full-fat rice bran and oat bran similarly reduce hypercholesterolemia in humans. *J. Nutr.* 128: 865-869.

Gibney, M.J. (1983) The effect of dietary lysine to arginine ratio on cholesterol kinetics in rabbits. *Atherosclerosis* 47: 263-270.

Giroux, I., Kurowska, E.M. & Carroll, K.K. (1999) Role of dietary lysine, methionine and arginine in the regulation of hypercholesterolemia in rabbits. *J. Nutr. Biochem.* 10: 166-171.

Giroux, I., Kurowska, E.M., Freeman, D.J. & Carroll, K.K. (1999) Addition on of arginine but not glycine to lysine plus methionine-enriched diets modulates serum cholesterol and liver phospholipids in rabbits. *J. Nutr.* 129: 1807-1813.

Glória, E.C.S., Almeida, N.A.V., Costa, A.S. V., Júnior, E.H., Martins, S.L., Paula, H., Silva, R.C. & Malaquias, L.C.C. (2004) Avaliação protéica de uma nova multimistura com base no milho QPM BR 473. *Ver. Nutr. Campinas* 17: 379-385.

- Hamid**, A.A. & Luan, Y.S. (1999). Functional properties of dietary fibre prepared from defatted rice bran. *Food Chemistry* 68:15-19.
- Hood**, R.L. (1995) Tocotrienols and cholesterol metabolism. In *Nutrition, Lipids, Health, and Diseases* (Ong, A.S.H., Niki, E. & packer, L.) 96-103.
- Houston**, D.F. (1973). Recovery and utilization of rice bran and polish. Washington, DC.: League for international food education - LIFE, 4p.
- Hundemer**, J.K., Nabar, S.P., Shriver, B.J. & Forman, L.P. (1991). Dietary fiber sources lower blood cholesterol in C57BL/6 mice. *J. Nutr.* 121: 1360-1365.
- Jones**, D.B. & Stahly, T.S. (1999) Impact of amino acid nutrition during lactation on body nutrient mobilization and milk nutrient output in primiparous sows. *J. Anim. Sci.* 77: 1513-1522.
- Kahion**, T.S., Chow, F.I., Sayre, R.N. & Betschart, A.A (1992) Cholesterol lowering in hamsters fed rice bran at various levels, defatted rice bran and rice bran oil. *J.Nutr.* 122: 513-519.
- Kawakami**, Y., Tsurugasaki, W., Yushida, Y., Igarashi, Y., Nakamura, S. & Osada, K. (2004). Regulative actions of dietary soy isoflavone on biological antioxidative system and lipid metabolism in rats. *J. Agric. Food Chem.* 52:1764-1768.
- Kerckhoffs**, D.A.J.M., Brouns, F., Hornstra, G. & Mensink, R.P. (2002). Effect on the human serum lipoprotein profile of β -glucan, soy protein and isoflavonas, plant sterols and stanols, galic and tocotrienols. *Journal Nutrition* 132:2494-2505.
- Khor**, H.T. & Ng, T.T. (200). Effects of administration of α -tocopherol and tocotrienols on serum lipids and liver HMGCoA reductase activity. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 51 Suppl: S3-11.

- King, R.H., Toner, M.S., Dove, H., Atwood, C.S. & Brown, W.G. (1993b)** The response of first-litter sows to dietary protein level during lactation. *Anim. Prod.* 38: 249-256.
- Krisman, C. R.** A method for the colorimetric estimation of glycogen with iodine. *Analyt. Biochem.*, vol. 4, p. 17 - 23, 1962.
- Lakkakula, N.R., Lima, M. & Walker, T. (2004).** Rice bran stabilization and rice bran oil extraction using ohmic heating. *Bioresource Technology* 92: 157-161.
- LeBlanc, M.J., Brunet, S., Bouchard, G., Lamireau, T., Yousef, I.M., Gavino, V., Lévy, E. & Tuchweber, B. (2003)** Effects of dietary soybean lecithin on plasma lipid transport and hepatic cholesterol metabolism in rats. *Journal of Nutritional Biochemistry* 14: 40-48.
- Leite, M.S., Azevedo, V.B., Carmo, M.G.T. & Boaventura, G.T. (2002)** Use of multimixture during lactation and its effects on production and composition of rat milk. *Rev. Nutr. (Campinas)* 15(2): 211-221.
- Lowry, H.O., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L. & Randall, R.J. (1951)** Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
- Lutz, M. & Durand, G. (1994)** Influence of dietary lipids of fatty acid composition of nervous membranes (myelin and synaptosomes in rats). *Nutrition Research* 14: 1365-1373.
- Madani, S., Frenoux, J.M., Prost, J. & Belleville, J. (2004)** Changes in serum lipoprotein lipids and their fatty acid composition and lipid peroxidation in growing rats fed soybean protein versus casein with or without cholesterol. *Nutrition* 20: 554-563.

- Madani, S., Prost, J. & Belleville, J. (2000)** Dietary protein level and origin (casein and highly purified soybean protein) affect hepatic storage, plasma lipid transport, and antioxidative defense status in the rat. *Nutrition* 16: 368-375.
- Marsono, Y., Illman, R.J., Clarke, J.M., Tribble, R.P. & Topping, D.L. (1993).** Plasma lipids and large bowel volatile fatty acids in pigs fed on white rice, brown rice and rice bran. *Br. J. Nutr.* 70: 503-513.
- Mattson, F.I.I., Grundy, S.M. & Crouse, J.R. (1982)** Optimizing the effect of plant sterols on cholesterol absorption in man. *Am. J. Clin. Nutr.* 35: 697-700.
- Meghelli-Bouchenak, M., Boquillon, M. & Belleville, J. (1987)** Time-course of changes in rat serum apolipoproteins during the consumption of different low protein diets followed by a balanced diet. *J. Nutr.* 117: 641- 648.
- Mejia-Guadarrama, C.A., Parquer, A., Dourmed, J.Y., Prunier, A.& Quesnel, H. (2002)** Protein (lysine) restriction in primiparous lactating sows: Effects on metabolic state, somatotropic axis, and reproductive performance after weaning. *J. Anim. Sci.* 80: 3286-3300.
- Meijer, G.W., Bressers, M.A., de Groot, W.A. & Rudrum, M. (2003)** Effect of structure and form on the ability of plant sterols to cholesterol absorption in hamsters.
- Miettinen, T.A & Tarpila, S. (1989).** Serum lipids and cholesterol metabolism during guar gum, plantago ovata and high fibre treatment. *Clin. Chim. Acta.* 183: 253-262.
- Morgane, P.J., Austur-LaFrance, R., Bronzino, J., Tonkiss, J., Diaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T. & Galler, J.R. (1993)** Prenatal malnutrition and development of the brain. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 17(1): 91-128.

- Morgane, P.J., Mokler, D.J. & Galler, J.R. (2002)** Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation. *Neuroscience and biobehavioral review* 26: 471-483.
- Morita, T., Oh-hashii, A., Takei, K., Ikai, M., Kassaoka, S. & Kiriyama, S. (1997)** Cholesterol-lowering effects of soybean, potato and rice proteins depend on their methionine contents in rats fed a cholesterol-free purified diet. *J. Nutr.* 127: 470-477.
- Moundras, C., Remesy, C., Levrat, M.A. & Demigne, C. (1995)** Methionine deficiency in rats fed soy protein induces hypercholesterolemia and potentiates lipoprotein susceptibility to peroxidation. *Metabolism* 44 (9): 1146-1152.
- Nagata, Y., Ishiwaki, N. & Sugano, M. (1982)** Studies on the mechanism of antihypercholesterolemic action of soy protein and soy protein-type amino acid mixture in relation to casein counterparts in rats. *J. Nutr.* 112: 1614-1625.
- Newman, R.K., Betschart, A A, Newman, C.W. & Hofer, P.J. (1992).** Effect of full-fat or de-fatted rice bran on serum cholesterol. *Plant Foods Hum. Nutr.* 42: 37-43.
- Ohara, I., Tabuchi, R. & Onai, K. (2000).** Effects of modified rice bran on serum lipids and taste preference in streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutrition Research*. Vol. 20, n° 1: 59-68.
- Oliveira, S.R.P., Bion, F.M., Lopes, S.M.L. & Metri, A.C. (2001)** Uso de uma mistura alimentar contendo bioproteínas (*Saccharomyces cerevisiae*): efeitos sobre a gestação, a lactação e o crescimento de ratos. *ALAN (Caracas)* 51 (1).
- Park, M.S.C., Kudchodkas, B.J., Liepa & G.V. (1987)** Effects of dietary animal and plant protein on the cholesterol metabolism in immature and mature rats. *Journal Nutrition* 117 (1): 30-35.

- Parrado, J., Miramontes, E., Jover, M. Márquez, J.C., Mejjias, M.A., Teran, L.C., Absi, E. & Bautista, J. (2003)** Prevention of brain protein and lipid oxidation elicited by a water-soluble oryzanol enzymatic extract derived from rice bran. *Eur. J. Nutr.* 42: 307-314.
- Qureshi, A.A, Peterson, D.M., Hasler-Rapacz, J. & Rapacz, J. (2001).** Novel tocotrienols of rice bran suppress cholesterologenesis in hereditary hypercholesterolemic swine. *J. Nutr.* 131: 223-230.
- Qureshi, A.A, Sami, S.A., Salser, W.A. & Khan, F.A. (2001).** Synergic effect of tocotrienol-rich fraction (TRF₂₅) fo rice bran lovastatin on lipid parameters in hypercholesterolemia humans. *Journal of Nutritional Biochemistry* 12: 318-329.
- Qureshi, A.A, Sami, S.A., Salser, W.A. & Khan, F.A. (2002).** Dose-dependent suppression of serum cholesterol by tocotrienol-rich fraction (TRF₂₅) of rice bran in hypercholesterolemic humans. *Atherosclerosis* 161: 199-207.
- Qureshi, A.A., Bradlow, B.A., Brace, L., Manganello, J., Peterson, D.M., Pearce, B.C., Wright, J.J., Gapor, A. & Elson, C.E. (1995)** Response of hypercholesterolemic subjects to administration of tocotrienols. *Lipids* 30:1171-1177.
- Qureshi, A.A., Bradlow, B.A., Salser, W.A. & Brace, L.D. (1997)** Novel tocotrienols of rice bran modulate cardiovascular disease risk parameters of hypercholesterolemic humans. *J. Nutr. Biochem.* 8:290-298.
- Qureshi, A.A., Mo, H., Packer, L. & Peterson, D.M. (2000)** Isolation and identification of novel tocotrienols from rice bran with hypocholesterolemic, antioxidant and antitumor properties. *J. Agric. Food. Chem.* 48:3130-3140.

- Qureshi**, A.A., Pearce, B.C., Nor, R.M., Gapor, A., Peterson, O.M. & Elson, C.E. (1996). Dietary α -tocopherol attenuates the impact of γ -tocotrienol on hepatic 3-hydroxy-3-methylglutaryl Coenzima A reductase activity in chickens. *J. Nutr.* 126(2):389-394.
- Qureshi**, A.A., Qureshi, N., Wright, J.Y., Shen, Z., Kramer, G., Gapor, A., Chong, Y.H., Dewitt, G., Ong, A.S., Peterson, D.M. & Brandlow, B.A. (1991) Lowering of serum cholesterol in hypercholesterolemic humans by tocotrienols (palmvitee). *Am. J. Clin. Nutr.* 53: 1021S-1026S.
- Qureshi**, A.A., Sami, S.A. & Khan, F.A. (2001). Effects of stabilized rice bran, its soluble and fiber fractions on blood glucose levels and serum lipid parameters in humans with diabetes mellitus Type I and II. *Journal of Nutritional Biochemistry* 13:175-187.
- Rukmini**, C. & Raghuram, T.C. (1991) Nutritional and biochemical aspects of the hypolipidemic action of rice bran oil: a review. *J. Am. Coll. Nutr.* 10: 593-601.
- Sauders**, R.M. (1990). The properties of rice bran as a foodstuff. *Cereal foods world*, St. Paul, 35(7): 632-636.
- Schwab**, U.S., Vogel, S., Lammi-Keefe, C.J., Ordovas, J.M., Schaefer, E.J., Li, Z., Ausman, L.M., Gualtieri, L., Goldin, B.R., Furr, H.C. & Lichtenstein, A.H. (1998). Varying dietary fat type of reduced diets has little on the susceptibility of LDL to oxidative modification in moderately hypercholesterolemic subjects. *J. Nutr.* 128: 1703-1709.
- Seetharamaiah**, G.S. & Chandrasekhara, N. (1989). Studies on hypocholesterolemic activity of rice bran oil. *Atherosclerosis.* 78:219-223.

- Shaw, H.M. & Huang, C.J. (2000).** Secretion of α -tocopherol in VLDL is decreased by dietary protein insufficiency in young growing rats. *J. Nutr.* 130: 3050-3054.
- Srinivasarao, P., Vajreswari, A., Suryaprakash, P., Narayahareddy, R. & Narayahareddy, K. (1997)** Lipid composition and fatty acid profiles of myelin and synaptosomal membranes of rat brain in response to the consumption of different fats. *J. Nutr. Biochem.* 8: 527-534.
- Sugano, M. & Tsuji, E. (1997).** Rice bran oil and cholesterol metabolism. *J. Nutr.* 127: 521S-524S.
- Soloni, F.G. (1971)** Standard methods in clinical chemistry 17: 529-534.
- Tasker, T.E. & Potter, S.M. (1993)** Effects of dietary protein source on plasma lipids, HMGCoA reductase activity, and hepatic glutathione levels in gerbils. *J. Nutr. Biochem.* 4: 458-464.
- Tonks, D.B. (1970)** Quality control in clinical laboratories, diagnostic reagents division, Ontario.
- Vieira, N.R.A. et al (1999).** A cultura do arroz no Brasil. Editora EMBRAPA, Santo Antônio de Goiás, GO, p. 609-621.
- Vissers, M.N., Zock, P.L., Meijer, G.W. & Katan, M.B. (2000)** Effect of plant sterols from rice bran oil and triterpene alcohols from sheanut oil on serum lipoprotein concentrations in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 72: 1510-1515.
- Wilson, T.A., Ausman, L.M., Lawton, C.W., Hegsted, D.M. & Nicolosi, R.J. (2000).** Comparative cholesterol lowering properties of vegetable oils: beyond fatty acids. *Journal of the American College of Nutrition* 9(5): 601-607.

- Wilson, T.A., Idreis, H.M., Taulor, C.M. & Nicolosi, R.J. (2002).** Whole fat rice bran reduces the development of early aortic atherosclerosis in hypercholesterolemia hamsters compared with wheat bran. *Nutrition Research* 22: 1319-1332.
- Winick, M. & Noble, A. (1965)** Quantitative changes in DNA, RNA and protein during prenatal and postnatal growth in rat. *Dev. Biol.* 12: 451-466.
- Winick, M., Rosso, P. & Brasel, J.A. (1972)** Malnutrition and cellular growth in the brain. *Nutr. Dev.* John Wiley, New York: 47-97.
- Xu, Z. & Godber, J.S. (1999)** Purification and identification of components of γ -oryzanol in rice bran oil. *J. Agric. Food Chem.* 47: 2724-8.
- Yang, H., Pettigrew, J.E., Johnston, L.J., Shurson, G.C., Wheaton, J.E., White, M.E., Koketsu, Y., Sower, A.F. & Rathmacher, J.A. (2000)** Effects of dietary lysine intake during lactation on blood metabolites, hormones, and reproductive performance in primiparous sows. *J. Anim. Sci.* 78: 1001-1009.
- Yehuda, S. (1987)** Nutrients, brain biochemistry, and behavior: a possible role for the neuronal membrane. *Int. J. Neurosci.* 35: 21-36.
- Yokochi, K. (1974).** Rice bran processing for the production of rice bran oil and characteristics and uses of oil and deoiled bran. In: Rice by-products utilization international conference Valencia, Spain. Proceedings. Valencia: Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos 3: 1-38.