

Agnes Veridiana Mori

**EFEITO DA ADIÇÃO DE DROGAS
HIPOLIPEMIZANTES À RAÇÃO SOBRE AS
CONCENTRAÇÕES DE LÍPIDES PLASMÁTICOS E DE
COLESTEROL NA GEMA DO OVO DE GALINHAS**

DEDALUS - Acervo - FMVZ



11300025226

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre, junto à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Departamento:
Clínica Médica

Área de Concentração:
Clínica Veterinária

Orientador:
Prof. Dr. Cássio Xavier de Mendonça Júnior

São Paulo
1998

SERVIÇO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
E ZOOTECNIA DA USP

1075346

N.º CLASSIFICAÇÃO
T. 731
FMVZ
e. 1
N.º TOMBO
019459



Sigmo: 1075346

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca da

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Mori, Agnes Veridiana

Efeito da adição de drogas hipolipemizantes à ração sobre as concentrações de lípidos plasmáticos e de colesterol na gema do ovo de galinhas / Agnes Veridiana Mori -- São Paulo, 1998.

Dissertação (mestrado) -- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

Departamento de Clínica Médica.

Área de concentração: Clínica Médica.

Orientador: Prof. Dr. Cássio Xavier de Mendonça Júnior.

Unitermos: 1.Colesterol 2.Gema do ovo 3.Drogas hipolipemizantes 4.Lípides 5.Galinhas

Ao meu pai (in memoriam),
as lembranças do seu amor conservarei
gravadas no coração e me fazem forte nessa
luta por dias melhores

À minha mãe,
seus princípios rígidos, determinação e
inestimável sacrifício me conduziram até aqui

À minha irmã,
pela perseverança que juntas construímos

Ao Prof. Dr. Cássio Xavier Mendonça Júnior,

sua preciosa orientação e franca amizade guiaram com segurança meus primeiros passos na pesquisa e direcionaram minhas escolhas diante da vida. Deixo aqui meu reconhecimento e profunda admiração por sua dedicação ao trabalho, sabedoria, paciência e espírito solidário

***Dedico este modesto trabalho, fruto de seus esforços
Tenham a certeza da minha eterna e sincera gratidão***

AGRADECIMENTOS

O mais profundo e especial agradecimento é dedicado ao Eduardo Ken Tsuzuki e a seus pais, Dr. Seigo e D. Áurea, por me mostrarem com ternura no coração onde sempre encontrar apoio, alento e carinho.

Ao Prof. Dr. Flávio Prada, pelos conhecimentos transmitidos, sábios conselhos e observações relevantes ao desenvolvimento do trabalho.

Ao Prof. Dr. Enrico Lippi Ortolani, pelas valiosas sugestões à elaboração da dissertação e por todo o desprendimento e amizade demonstrada.

Aos demais professores e amigos do Departamento de Clínica Médica: Prof. Dr. Wanderley Pereira de Araújo, Prof. José Luiz D' Angelino e Prof. Dr. Masao Iwasaki, pelos ensinamentos e momentos agradáveis que compartilhamos.

À Clara Satsuki Mori, química responsável pelo Laboratório de Doenças Nutricionais e Metabólicas, e aos companheiros da pós-graduação, Christiane Oliveira Fraga Santos e Claudio Watanabe, pelos momentos divertidos que dividimos e pela amizade que cultivamos durante esses anos em todos os estudos e análises intermináveis de colesterol que juntos realizamos.

Aos colegas da pós-graduação, Celso Akio Maruta, Aulus Cavalieri Carciofi, Luís Augusto Batista Brito, Carlos Henrique Machado e aos colegas da graduação, Cristiana Ribeiro Mariano de Almeida, Ricardo Masahiro Suzaki (Jiban) e Thais Inglez de Almeida (Xica), pelo constante estímulo, companheirismo e alegrias compartilhadas.

À sra. Márcia Maria Mani, pelas correções gramaticais e carinhosa atenção dispendida.

Ao colega Daniel Mendes Netto, pela assistência na confecção dos gráficos.

À Magali Bianchi de Souza, pela cumplicidade, apoio incondicional e forte laço de amizade que nos une.

Aos funcionários do Departamento de Clínica Médica, Abelardo Cecílio de Souza (Dinho), Maria Gracilúcia de Menezes, Edna Santana dos Santos (Dinha), pelo auxílio e agradável convivência.

Às secretárias Maria Izabel Barbosa (*in memoriam*), Regiane Fascina Prado Jacinto e Harumi Doi Shiraishi, pelas inúmeras gentilezas prestadas.

À Dra. Regina Mieko Sakata Mirandola do Laboratório Clínico do VCM e HOVET, sempre tão atenciosa, alicerce de todas as pesquisas conduzidas no Departamento, por todo o auxílio competente nas análises de sangue.

Aos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, pelo cordial atendimento, organização e dedicação.

O agradecimento é também extensivo aos laboratórios farmacêuticos colaboradores na viabilização técnica e científica deste trabalho: Merrel Lepetit Farmacêutica Ltda.; Warner Lambert Indústria e Comércio Ltda.; Bristol-Myers Squibb Brasil S.A. e Merck S.A. Indústrias Químicas.

Ao Prof. Dr. Jorge Mancini Filho, do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, pelo auxílio no desenvolvimento da metodologia de determinação do colesterol.

Ao Prof. Dr. Éder Carlos Rocha Quintão à sua equipe, representada pela química Jussara Cordeiro Rocha, do Laboratório de Lípidos da Faculdade de Medicina da USP, pela colaboração nos primeiros estudos relacionados à determinação do colesterol.

À FAPESP, pela concessão do financiamento do projeto de pesquisa, e ao CNPq, pela bolsa recebida durante o período do curso.

À Universidade de São Paulo, por oferecer a oportunidade do mestrado.

A todos os animais que dão a vida para nos alimentar e ensinar.

LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 1 - Proporções dos principais lípides no plasma de galinhas poedeiras (%)	07
TABELA 2 - Concentração de lípides (mg/100 mL de plasma) e composição lipídica relativa (%) das lipoproteínas plasmáticas de galinhas poedeiras	09
TABELA 3 - Proporções dos principais lípides da gema (%)	21
TABELA 4 - Níveis de garantia da ração basal (Experimento 1)	47
TABELA 5 - Esquema dos tratamentos adotados no Experimento 1	47
TABELA 6 - Composição da ração basal (Experimento 2)	48
TABELA 7 - Esquema dos tratamentos utilizados no Experimento 2	49
TABELA 8 - Peso médio do ovo (g), índice de postura (%), consumo (g/ave/dia) e conversão alimentar, e seus respectivos erros da média, de acordo com os tratamentos estudados (Experimento 1)	55
TABELA 9 - Variáveis que expressam a qualidade do ovo e seus respectivos erros da média, de acordo com os tratamentos estudados (Experimento 1)	57
TABELA 10 - Concentrações médias de triglicérides, colesterol total e HDL-colesterol no plasma sanguíneo, seus respectivos erros da média e percentuais de alteração em relação ao controle, conforme os tratamentos estudados (Experimento 1)	58
TABELA 11 - Níveis médios de colesterol na gema (total e por g), percentuais de alteração em relação ao controle e peso médio da gema (g) e do ovo (g), com seus respectivos erros da média, conforme os tratamentos estudados (Experimento 1)	62

TABELA 12 - Peso médio do ovo (g), índice de postura (%), consumo (g/ave/dia) e conversão alimentar, e seus respectivos erros da média, de acordo com os tratamentos estudados (Experimento 2)	67
TABELA 13 - Variáveis que expressam a qualidade do ovo, e seus respectivos erros da média, conforme os tratamentos estudados (Experimento 2)	69
TABELA 14 - Concentrações médias de triglicérides, colesterol total e HDL-colesterol no plasma, respectivos erros da média e percentuais de alteração em relação ao controle, conforme os tratamentos estudados (Experimento 2)	70
TABELA 15 - Níveis médios de colesterol na gema (total e por g), percentuais de alteração em relação ao controle e peso médio da gema (g) e do ovo (g), com seus respectivos erros da média, conforme os tratamentos estudados (Experimento 2)	73

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1 - Fórmula estrutural do colesterol	11
FIGURA 2 - Via metabólica para biossíntese do colesterol e dos ácidos biliares	13
FIGURA 3 - Fórmula estrutural do Probucof	29
FIGURA 4 - Fórmula estrutural do Gemfibrozil	32
FIGURA 5 - Fórmula estrutural da Colestiramina	35
FIGURA 6 - Fórmula estrutural da Lovastatina	42
FIGURA 7 - Níveis médios de triglicérides (mg/dL) no plasma de galinhas poedeiras conforme os tratamentos estudados (Experimento 1)	60
FIGURA 8 - Níveis médios de colesterol total (mg/dL) plasmático de galinhas poedeiras submetidas aos tratamentos estudados (Experimento 1)	60
FIGURA 9 - Níveis médios de HDL-colesterol (mg/dL) no plasma de galinhas poedeiras de acordo com os tratamentos estudados (Experimento 1)	61
FIGURA 10 - Teores médios de colesterol na gema (mg/gema) de acordo com os tratamentos estudados (Experimento 1)	64
FIGURA 11 - Concentrações médias de colesterol na gema (mg/g de gema) nos diferentes tratamentos estudados (Experimento 1)	64
FIGURA 12 - Relação entre peso do ovo (g) e peso da gema (g) no Experimento 1	65
FIGURA 13 - Relação entre peso da gema (g) e seu teor de colesterol (mg/gema) no Experimento 1	66
FIGURA 14 - Níveis médios de triglicérides (mg/dL) plasmáticos de galinhas poedeiras submetidas aos tratamentos estudados (Experimento 2)	71

FIGURA 15 - Níveis médios de colesterol total (mg/dL) plasmáticos de galinhas poedeiras submetidas aos tratamentos estudados (Experimento 2)	71
FIGURA 16 - Níveis médios de HDL-colesterol (mg/dL) plasmáticos de galinhas poedeiras submetidas aos tratamentos estudados (Experimento 2)	72
FIGURA 17 - Teores médios de colesterol na gema (mg/gema) de acordo com os tratamentos estudados (Experimento 2)	75
FIGURA 18 - Concentrações médias de colesterol na gema (mg/g de gema) nos diferentes tratamentos estudados (Experimento 2)	75
FIGURA 19 - Relação entre peso do ovo (g) e peso da gema (g) no Experimento 2	76
FIGURA 20 - Relação entre peso da gema (g) e seu teor de colesterol (mg/gema) no Experimento 2	77

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

acetil-CoA	acetilcoenzima A
°C	graus Celsius
μL	microlitro
μm	micrômetro
CLAE	cromatografia líquida de alta eficiência
COL1	Colestiramina a 0,2% na ração
COL2	Colestiramina a 0,3% na ração
colesterol não-HDL	colesterol total menos a sua fração HDL
CON1	controle do experimento 1
CON2	controle do experimento 2
dL	decilitro
g	grama
G	força centrífuga relativa - gravidade
GEMF	Gemfibrozil a 0,025% na ração
HDL	lipoproteína de densidade alta
HDL-colesterol	colesterol da lipoproteína de densidade alta
HMG-CoA	3-hidróxi-3-metilglutaril coenzima A
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia Estatística
IDL	lipoproteína de densidade intermediária
kcal	quilocaloria
kg	quilograma
LDL	lipoproteína de densidade baixa
LDL-colesterol	colesterol da lipoproteína de densidade baixa
LOV1	Lovastatina a 0,0005% na ração
LOV2	Lovastatina a 0,001% na ração
LOV3	Lovastatina a 0,0015% na ração
LOV4	Lovastatina a 0,005% na ração
m	metro
mg	miligrama
min	minuto
mL	mililitro
mm	milímetro
nm	nanômetro
NRC	National Research Council
PROB	Probucol a 0,1% na ração
r	coeficiente de correlação
triglicérides-VLDL	triglicérides da VLDL
UI	unidade internacional
USDA	United States Department of Agriculture
VLDL	lipoproteína de densidade muito baixa

RESUMO

MORI, A.V. Efeito da adição de drogas hipolipemizantes à ração sobre as concentrações de lípides plasmáticos e de colesterol na gema do ovo de galinhas. [Effect of dietary lipid-lowering drugs upon plasma lipids and egg yolk cholesterol of laying hens]. São Paulo, 1998. 108p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

Para se verificar o efeito de drogas hipolipemizantes sobre a qualidade do ovo, desempenho das aves, níveis de lípides plasmáticos e colesterol na gema do ovo, foram realizados dois experimentos utilizando-se galinhas poedeiras *Shaver*. No experimento 1, 240 aves com 30 semanas de idade, foram alimentadas durante 12 semanas com dieta comercial (CON1) acrescida de Probulcol a 0,1% (PROB), Gemfibrozil a 0,025% (GEMF) e Lovastatina em três concentrações: 0,0005% (LOV1), 0,001% (LOV2) e 0,0015% (LOV3), totalizando seis tratamentos. No experimento 2, 128 aves com 26 semanas de idade, receberam como alimentação, durante seis semanas, dieta formulada sem ingredientes de origem animal (CON2), acrescida de Colestiramina a 0,2% (COL1) e 0,3% (COL2) e Lovastatina a 0,005% (LOV4), perfazendo um total de quatro tratamentos. Em ambos os experimentos, a adição das drogas não prejudicou a qualidade da casca e do albúmen dos ovos e, de um modo geral, não determinou efeitos indesejáveis sobre o desempenho produtivo das aves, com exceção da redução observada no peso médio dos ovos no experimento 2. No experimento 1, em relação aos lípides plasmáticos, a adição de drogas à ração determinou reduções de significado estatístico ($p < 0,05$), nos triglicérides, apenas no LOV2 (38,5%), e no colesterol total, nos grupos LOV2 (36,0%), LOV3 (36,8%), PROB (29,6%) e GEMF (30,4%). Não foram consignadas alterações significativas nos níveis de HDL-colesterol em relação ao CON1, observando-se, com exceção do GEMF, tendência a elevação de seus valores com o uso das diferentes drogas. Verificou-se redução significativa ($p < 0,05$) do colesterol na gema (mg/g) nos grupos LOV1 (7,4%) e LOV3 (12,1%). No experimento 2, os lípides plasmáticos não sofreram alterações de significado estatístico em relação ao CON2, sendo que os triglicérides e o colesterol total mostraram tendência a diminuição no LOV4. A concentração de colesterol na gema (mg/g) permaneceu inalterada, em cotejo com o CON2, mediante a adição das drogas utilizadas no experimento 2. Os efeitos da Lovastatina sobre as concentrações de lípides sanguíneos e de colesterol do ovo foram menos evidentes no experimento 2, onde as aves apresentavam níveis de lípides plasmáticos mais reduzidos. Os coeficientes de correlação e as equações de regressão calculados mostraram que o peso da gema aumenta conforme o peso do ovo se eleva ($p < 0,05$), e que um aumento do peso da gema corresponde a um incremento de seu teor de colesterol, indicando que as variações dos níveis de colesterol por gema podem ser, em parte, justificadas pelas diferenças entre os pesos dos ovos.

SUMMARY

MORI, A.V. **Effect of dietary lipid-lowering drugs upon plasma lipids and egg yolk cholesterol levels of laying hens.** [Efeito da adição de drogas hipolipemizantes à ração sobre as concentrações de lípidos plasmáticos e de colesterol na gema do ovo de galinhas]. São Paulo, 1998. 108p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

Two experiments were carried out to evaluate the effect of lipid-lowering agents upon egg quality, reproductive performance, plasma lipids and egg yolk cholesterol levels of *Shaver* laying hens. In the first trial, two hundred and forty 30-week-old hens were fed basal diet (commercial ration - CON1) supplemented with 0.1% Probucol (PROB), 0.025% Gemfibrozil (GEMF), or Lovastatin at 0.0005% (LOV1), 0.001% (LOV2) and 0.015% (LOV3) for a 12-week experimental period. In experiment 2, one hundred and twenty-eight 26-week-old hens were fed basal diet without animal products (CON2) containing either 0.2% Cholestyramine (COL1), 0.3% Cholestyramine (COL2) or 0.005% Lovastatin (LOV4) for a period of six weeks. At the termination of both experiments, it was observed that the supplement of the drugs did not impair albumen and shell quality. In addition, hen performance was not adversely affected, with the exception of the significant reduction ($p < 0.05$) in egg weights observed in experiment 2. In experiment 1, with regard to the plasma lipids, the depression in triglyceride concentrations approached statistical significance ($p < 0.05$) only in LOV2 (38.5%), and total cholesterol was significantly depressed ($p < 0.05$) in LOV2 (36.0%), LOV3 (36.8%), PROB (29.6%) and GEMF (30.4%) groups. HDL-cholesterol levels were not significantly altered by drug treatments; but with the exception of GEMF, there was a trend towards the elevation by the use of other drugs. Egg cholesterol content, expressed per gram of yolk was significantly lowered ($p < 0.05$) in LOV1 (7.4%) and LOV3 (12.1%). In experiment 2, no significant changes were observed on plasma lipids due to the addition of the drugs, but cholesterol and triglyceride levels tend to reduction in LOV4 group. Egg yolk cholesterol remained unchanged in experiment 2 with the supplement of the drugs. The effect of Lovastatin on plasma lipid and egg yolk cholesterol concentration was less remarkable in experiment 2, when hens presented lower plasma lipid levels. When correlation coefficients and regression equations were calculated, it was found that yolk weight increased linearly ($p < 0.05$) as egg weight raised, and the higher the yolk weight, the higher the yolk cholesterol content, indicating that yolk cholesterol content changes may be partially explained by differences among egg weights.

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	01
1.1 Objetivos	05
2 REVISÃO DE LITERATURA	06
2.1 Lípidos do plasma de galinhas poedeiras	06
2.2 Importância do colesterol	10
2.3 Síntese e metabolismo do colesterol	12
2.3.1 Balanço do colesterol na espécie humana	15
2.3.2 Balanço do colesterol na galinha	15
2.4 Composição lipídica e formação da gema do ovo	17
2.5 Fatores que alteram os níveis de colesterol no ovo	22
2.5.1 Componente genético	24
2.5.2 Manobras dietéticas	25
2.5.3 Drogas hipolipemizantes	26
2.5.3.1 Dextrotiroxina	27
2.5.3.2 Triparanol	27
2.5.3.3 Candicidina	28
2.5.3.4 Probucof	29
2.5.3.5 Fibratos	32
2.5.3.6 Resinas sequestradoras de ácidos biliares	35
2.5.3.7 Inibidores da HMG-CoA-redutase: estatinas	39
3 MATERIAL E MÉTODO	44
3.1 Aves, instalações e equipamentos	44
3.2 Rações	46
3.3 Avaliação do desempenho das aves	49
3.4 Determinação da qualidade do ovo	49
3.5 Determinação dos lípidos plasmáticos	50
3.6 Determinação do colesterol na gema do ovo	51
3.7 Análise estatística	53

4 RESULTADOS	54
4.1 Experimento 1	54
4.1.1 Desempenho das aves	54
4.1.2. Qualidade do ovo	56
4.1.3. Níveis de lípidos plasmáticos	58
4.1.4 Teores de colesterol no ovo	62
4.1.4.1 Relação entre peso do ovo e da gema	65
4.1.4.2 Relação entre peso da gema e seu teor de colesterol	66
4.2 Experimento 2	67
4.2.1 Desempenho das aves	67
4.2.2. Qualidade do ovo	68
4.2.3 Níveis de lípidos plasmáticos	69
4.2.4. Teores de colesterol no ovo	73
4.2.4.1 Relação entre peso do ovo e da gema	76
4.2.4.2 Relação entre peso da gema e seu teor de colesterol	77
5 DISCUSSÃO	78
5.1 Desempenho das aves	78
5.2 Qualidade do ovo	82
5.3 Lípidos plasmáticos	83
5.4 Colesterol no ovo	89
6 CONCLUSÕES	99
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	101

1 INTRODUÇÃO

Os componentes nutricionais da dieta e seus efeitos na saúde humana constituem atualmente prioridades da pesquisa médica, sendo também assuntos de crescente interesse dos consumidores. O ovo é considerado um alimento importante na dieta humana por conter proteína de alto valor biológico, lípidos, vitaminas, minerais, fosfolípidos e outros nutrientes.

Apesar de o Brasil estar situado entre os seis maiores produtores mundiais de ovos, o seu consumo per capita é relativamente baixo, da ordem de 83 ovos/ano (USDA, 1997 *apud* GUIA AVES E OVOS, 1998). Em um país em desenvolvimento como o Brasil, onde elevada parcela da população ainda não tem acesso a alimentos de alto valor nutricional e

15,4% das crianças, cerca de 2,5 milhões com menos de cinco anos, apresentam retardo de crescimento (FUNDAÇÃO IBGE, 1990; MONTEIRO, 1995), o ovo é uma importante alternativa alimentar que deve ter seu consumo estimulado.

Os lípides presentes na gema são os principais componentes nutricionais do ovo, constituindo importante fonte energética na dieta humana. Entretanto, devido às extensas discussões que relacionam a gordura dietética com a incidência de doenças cardiovasculares, recomendações têm sido feitas no sentido de reduzir o consumo de gordura animal. O ovo, em virtude de sua elevada concentração de gordura, e principalmente devido aos seus altos níveis de colesterol, está incluído nesta categoria alimentar. Apesar de a gordura saturada da dieta ser apontada como grande responsável pelo aumento da colesterolemia (GRUNDY, 1997), e o ovo conter baixa proporção desse tipo de gordura (BRIZ, 1997), o elevado teor de colesterol presente na gema tem sido destacado nas últimas décadas e proporcionado restrições ao seu consumo. Assim, organizações de saúde mundiais têm recomendado a diminuição da ingestão de colesterol com o intuito de reduzir a ocorrência de doenças cardiovasculares (DIREÇÃO GERAL DOS CUIDADOS DE SAÚDE PRIMÁRIOS, 1989; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1990; BRASIL, 1993).

Determinar a extensão da importância do colesterol dietético no aparecimento dessas doenças é difícil, pois além da influência alimentar na colesterolemia, existem outros fatores de risco envolvidos, como

hipertensão arterial, tabagismo, sedentarismo e diabetes, dentre outros, que devem ser considerados (BLACKBURN, 1994). Entretanto, ainda que todos esses fatores sejam importantes, a hipercolesterolemia é o único fator de risco que, por si mesmo, pode determinar a aterosclerose (St. CLAIR, 1994).

Evidências correlacionando os níveis de colesterol do plasma com a incidência de doenças cardiovasculares foram constatadas desde observações pioneiras, que revelavam ser o colesterol o maior componente das placas ateromatosas em humanos e animais experimentais, sendo a indução da hipercolesterolemia um pré-requisito para a produção da aterosclerose em uma grande variedade de espécies animais (HARGIS, 1988).

No Brasil, as doenças cardiovasculares são responsáveis por cerca de 34% de todos os óbitos registrados (BRASIL, 1993). Nas últimas décadas, a população brasileira sofreu alterações do seu padrão nutricional, expressas pela redução da desnutrição em crianças e pelo aumento da obesidade em adultos (MONDINI, 1996). Esta última está associada ao crescimento da mortalidade por doença cardiovascular e ao aumento da prevalência de seus fatores de risco, como a hipertensão e as hiperlipidemias (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1995).

Apesar de o ovo ter participado da evolução do padrão das dietas humanas através dos tempos, seu consumo vem sendo condenado nesses últimos anos por uma sociedade que avidamente procura por uma solução imediata para a diminuição da incidência de uma das principais

doenças da vida moderna. Assim, ovos com teor reduzido de colesterol teriam grande procura na parcela da população preocupada com o consumo diário de colesterol.

Inúmeras tentativas para se diminuir o nível de colesterol no ovo têm sido realizadas nas últimas décadas através da seleção de linhagens, alterações na dieta ou remoção do colesterol do ovo por métodos físicos e químicos. Fatores nutricionais, como a quantidade e tipo de gordura e fibra dietéticas podem afetar a composição lipídica da gema do ovo (NABER, 1976; HARGIS, 1988). Entretanto, é extremamente difícil reduzir os níveis de colesterol a valores significativos apenas através de manobras dietéticas. Dessa forma, tem sido dada muita atenção à utilização de agentes farmacológicos na tentativa de se diminuir os níveis de colesterol dos ovos.

Inúmeros compostos utilizados no passado com esta finalidade, e que mostraram alguma eficácia, acabaram causando também queda, ou até mesmo parada da produção de ovos, ou acúmulo indesejável de metabólitos no ovo. Entretanto, mais recentemente, algumas drogas empregadas com sucesso no tratamento da hipercolesterolemia em seres humanos oferecem uma nova esperança na redução dos níveis de colesterol do ovo. Assim, estudos que pudessem verificar e comparar os efeitos de alguns dos principais agentes redutores de colesterol no teor desse componente nos ovos produzidos por galinhas poedeiras seriam de grande interesse para pesquisadores, avicultores e consumidores.

1.1 Objetivos

A presente pesquisa tem como objetivo o estudo do efeito de agentes farmacológicos, usualmente utilizados na espécie humana no tratamento da hipercolesterolemia, adicionados à ração, comercial e formulada de modo a não conter ingredientes de origem animal, sobre os níveis de colesterol na gema do ovo e no plasma sanguíneo de galinhas poedeiras, bem como nas características interna e externa do ovo e desempenho das aves.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Lípidos do plasma de galinhas poedeiras

As proporções de lípidos no plasma das aves (Tab.1) são similares às dos outros vertebrados, com exceção do fato de estarem extremamente elevados nas fêmeas adultas durante os períodos de formação dos ovos. Isto é causado, em parte, pelos complexos lipoprotéicos que transportam os lípidos sintetizados no fígado até o ovário para deposição nos folículos. As concentrações dos lípidos plasmáticos são influenciadas por fatores como espécie, idade, sexo, estágio reprodutivo, estado de saúde e nutrição e demanda energética (GRIMINGER, 1986; NOBLE, 1987).

TABELA 1 - Proporções dos principais lípides no plasma de galinhas poedeiras (%)

Lípides	%
Colesterol-ésteres	3,9
Triglicérides	62,9
Ácidos graxos livres	1,0
Colesterol livre	6,8
Fosfolípidos	25,4

NOBLE, 1987

Nas aves, os ácidos graxos são absorvidos pelo sistema portal, ao invés de seguirem pelo sistema linfático, como nos mamíferos. Assim, utiliza-se o termo “portomícrons” em analogia ao termo “quilomícrons”, escolhido há mais de meio século para denominar partículas ricas em lípidos exógenos, absorvidos pelos mamíferos via capilares linfáticos (BENSADOUN e ROTHFELDI, 1972). Na circulação, os portomícrons sofrem rápida lipólise, havendo posterior depuração pelo fígado (GRIFFIN, 1985).

As lipoproteínas podem ser definidas como unidades funcionais de transporte de gordura no plasma e têm a função de suprir os tecidos com lípidos provenientes da dieta ou sintetizados pelo próprio organismo (GARCIA e OLIVEIRA, 1992). Como nas outras espécies animais, três classes de lipoproteínas plasmáticas, definidas pelas suas proporções entre proteínas e lípidos e pela densidade, podem ser identificadas nas aves: a VLDL, a LDL e a HDL (GRIFFIN 1982; NOBLE, 1987). A vitelogenina é

considerada uma lipoproteína específica para galinhas poedeiras, presente no plasma a uma concentração de 0,8 a 1,2 mg/mL (CHRISTMANN *et al.*, 1977), sendo clivada enzimaticamente para dar origem a lipovitelina e fosfovitelina durante a passagem para o oócito (YAMAMURA *et al.*, 1995).

Nos mamíferos, a VLDL é secretada pelo fígado e rapidamente sofre lipólise pela ação da enzima lipase-lipoproteína, resultando em IDL e finalmente em LDL. Ao contrário, nas galinhas poedeiras, a VLDL não passa por nenhuma lipólise considerável na sua rota do fígado aos oócitos, sendo provavelmente produzida com a finalidade de ser armazenada e posteriormente utilizada pelo embrião em crescimento, ao invés de ser degradada como nas células somáticas dos mamíferos. Apenas uma pequena quantidade de VLDL é convertida a LDL, sendo eventualmente captada pelas células somáticas através de endocitose mediada por um outro receptor que atua na homeostase do colesterol sistêmico (NIMPF e SCHNEIDER, 1991).

Os triglicérides predominam nos portomícrons (GRIFFIN, 1985) e na VLDL (NOBLE, 1987) e servem fundamentalmente como substrato de energia para o fígado e tecidos periféricos, particularmente os músculos (GRIMINGER, 1986). Com a chegada da idade de postura, alterações hormonais provocam mudanças profundas no metabolismo lipídico das aves. A concentração de lípidos do plasma chega a aumentar cerca de 8 vezes havendo, em particular, aumento do nível de triglicérides, associado ao crescimento brusco da concentração de VLDL, principal fração lipoprotéica do plasma das galinhas poedeiras, resultante da maior síntese

hepática (NOBLE, 1987). Alterações nas proporções das frações lipoprotéicas são acompanhadas por modificações da composição lipídica da LDL e HDL, permanecendo a VLDL inalterada. As mudanças na composição lipídica do plasma observadas na postura incluem o aumento da concentração de colesterol que, segundo SUTTON (1984), é causado pela maior demanda para a produção de ovos.

O colesterol predomina na LDL e principalmente na HDL (Tab.2), embora a VLDL também tenha potencial para transportá-lo em quantidades significativas, compondo cerca de 5,8% dos lípides da VLDL plasmática de aves adultas (NOBLE, 1987).

TABELA 2 - Concentração de lípides (mg/ 100 mL de plasma) e composição lipídica relativa (%) das lipoproteínas plasmáticas de galinhas poedeiras

Lipoproteína	VLDL	LDL	HDL
Lípides totais (mg/100 mL plasma)	1225	125	100
Colesterol livre e esterificado (% do total de lípides)	5,8	11,4	26,5
Triglicérides (% do total de lípides)	64,4	50,4	23,4
Fosfolípidos (% do total de lípides)	29,5	38,2	50,1

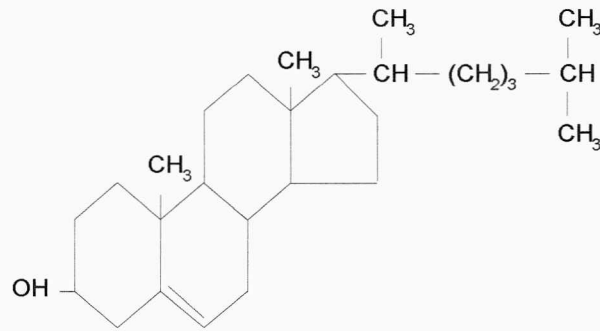
NOBLE, 1987

2.2 Importância do colesterol

O colesterol é uma substância orgânica complexa de natureza lipídica, encontrada em diversos alimentos e produzida no organismo a partir do acetilcoenzima A (acetil-CoA), uma molécula simples contendo dois átomos de carbono. O acetil-CoA pode ser originado da decarboxilação oxidativa do piruvato, um produto final da oxidação da glicose (glicólise); da quebra de ácidos graxos ingeridos ou previamente sintetizados; e ainda, do catabolismo de certos aminoácidos. O acetil-CoA possui muitos outros papéis metabólicos, sendo utilizado na síntese de ácidos graxos, além da formação do ácido cítrico e da acetilcolina (GRIMINGER, 1986).

Do ponto de vista químico, os ácidos graxos são componentes básicos dos triglicérides e dos fosfolípidos, compostos também pertencentes ao grupo dos lípidos. Apesar de o colesterol não conter ácido graxo, seu núcleo esterol é sintetizado a partir de produtos da degradação de moléculas de ácidos graxos, conferindo-lhe muitas das propriedades físicas e químicas dos lípidos (GUYTON, 1992)

FIGURA 1 - Fórmula estrutural do colesterol



GUYTON, 1992

A estrutura básica do colesterol (Fig.1) consiste de um núcleo esterol, inteiramente sintetizado a partir de múltiplas moléculas de acetil-CoA (GUYTON, 1992).

O colesterol é altamente solúvel em gordura, mas pouco solúvel em água, sendo capaz de formar ésteres com ácidos graxos. Assim, ele pode ser encontrado sob a forma livre ou combinada com ácidos graxos. Com efeito, cerca de 70% do colesterol das lipoproteínas do plasma humano encontra-se sob a forma de ésteres de colesterol (GUYTON, 1992), enquanto que nas galinhas poedeiras, cerca de 36% do colesterol plasmático está na forma esterificada (NOBLE, 1987). O colesterol esterificado é um dos componentes centrais das lipoproteínas sendo mais facilmente passível de manipulação que o colesterol livre (GRIFFIN, 1992).

O colesterol é um importante componente estrutural e funcional de todas as células orgânicas, influenciando na sua permeabilidade e atividade enzimática, sendo distribuído por todo o organismo, em especial no sistema nervoso. É precursor da vitamina D, ácidos biliares, além de hormônios

esteróides sexuais e adrenocorticóides. Assim, pelo fato de o colesterol ser tão necessário e vital para a manutenção e regulação da função corpórea, quase todos os organismos animais desenvolveram mecanismos químicos para produzir seu próprio suprimento dessa substância (NABER, 1990).

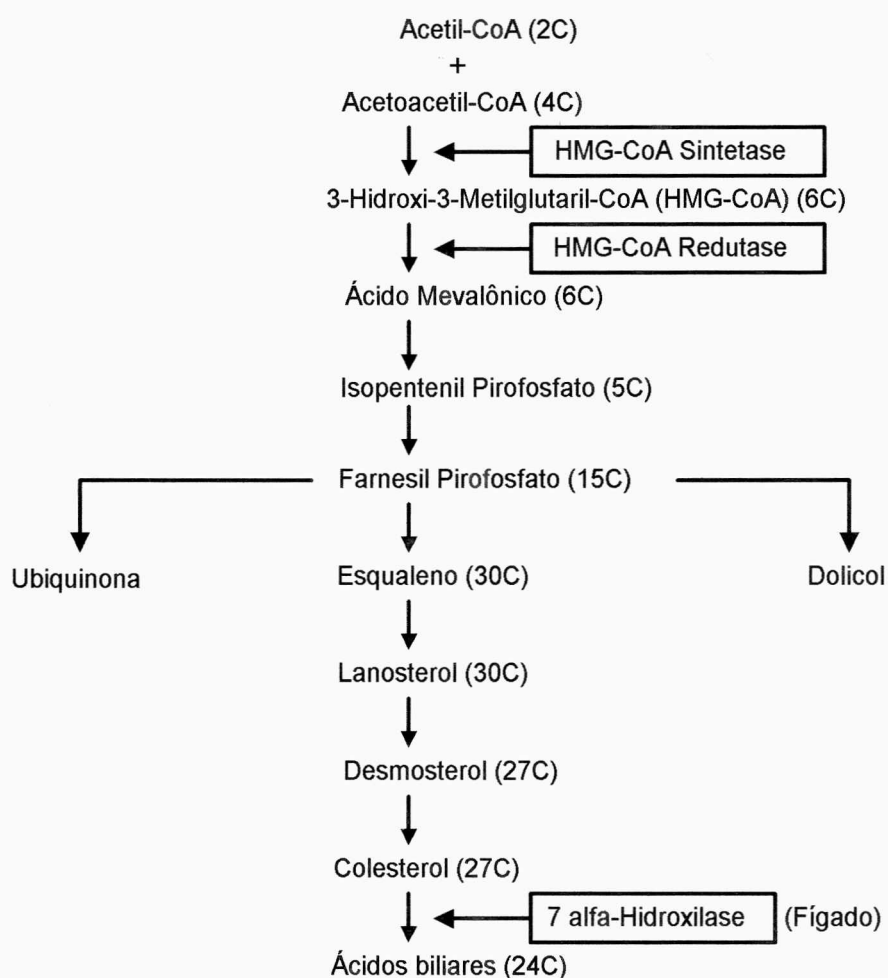
Sendo o colesterol fundamental para todas as células e tecidos do organismo, é de se esperar que seja encontrado nos alimentos de origem animal, como carnes e ovos. O colesterol do ovo é necessário para a sobrevivência e desenvolvimento do embrião, que não possui a habilidade de produzir esta substância durante as primeiras fases da vida embrionária. Assim, o colesterol tem função vital na reprodução das aves, onde todos os nutrientes necessários para manter o processo reprodutivo devem ser transferidos para o ovo antes do início do desenvolvimento embrionário (HARGIS, 1988; NABER, 1990).

2.3 Síntese e metabolismo do colesterol

Os primeiros passos para a formação do colesterol pelo acetil-CoA seguem o mesmo padrão de síntese de outros produtos metabólicos, como os corpos cetônicos e ácidos graxos. A síntese do colesterol ocorre em diversas fases (Fig.2). No final do primeiro estágio, é formado, via enzima 3-hidróxi-3-metilglutaril coenzima A redutase (HMG-CoA redutase), o ácido mevalônico, um composto com seis átomos de carbono. Quando o

ácido mevalônico é decarboxilado, são formadas unidades isoprenóides e, após a formação dos intermediários esteróis, o colesterol é formado (HARGIS, 1988; GUYTON, 1992; QUINTÃO, 1992).

FIGURA 2 - Via metabólica para biossíntese do colesterol e dos ácidos biliares



A síntese do colesterol é um processo altamente dinâmico e controlado por diversos fatores. O local primário do controle metabólico da biossíntese do colesterol é a formação do ácido mevalônico via enzima HMG-CoA redutase. Muitas variáveis têm demonstrado efeitos neste controle enzimático, incluindo o estado nutricional, níveis dietéticos de gordura e fatores hormonais. O excesso de acetato gerado no organismo, em consequência de um "superavit" energético, devido à grande ingestão de proteínas, carboidratos e gorduras, resulta em maior produção de ácidos graxos e colesterol. Este colesterol excedente atua como inibidor da síntese de colesterol hepático, mediante diminuição da atividade da HMG-CoA redutase (HARGIS, 1988). O próprio colesterol dietético exerce um controle de *feedback* na sua síntese, de forma que a concentração plasmática de colesterol geralmente não sofre alteração maior que 15% ao se modificar sua quantidade na dieta, embora as respostas exibam diferenças acentuadas (GUYTON, 1992). Dessa forma, a redução da ingestão de colesterol em um organismo possuidor de um controle enzimático normal de sua síntese pode resultar em estímulo da produção de colesterol endógeno (NABER, 1990).

2.3.1 Balanço do colesterol na espécie humana

Para melhor compreensão das variações dos níveis de colesterol no plasma e nos tecidos, é importante que se entenda o balanço do colesterol no organismo, ou seja seu aporte e sua excreção. A síntese hepática e intestinal contribuem para o total de colesterol do organismo com o dobro da quantidade proveniente de uma dieta normal, isto é, 800 e 400 mg/dia, respectivamente (NABER, 1990). Sob condições normais, mudanças da quantidade ingerida (colesterol exógeno) são compensadas com alterações na síntese (colesterol endógeno) para se manter o equilíbrio. No fígado, o colesterol é convertido em ácidos biliares e esteróis neutros que são secretados pelo intestino, ou ainda, reabsorvidos e reciclados (NABER, 1990; QUINTÃO, 1992).

Nos seres humanos, aproximadamente 50% do colesterol biliar e mais de 95% dos ácidos biliares são reabsorvidos na circulação êntero-hepática, sendo a maior parte do colesterol do organismo excretada pelas fezes (QUINTÃO, 1992).

2.3.2 Balanço do colesterol na galinha

A ingestão do colesterol pela galinha é mínima, pois as dietas convencionais são geralmente formuladas a base de produtos de origem

vegetal contendo, algumas vezes, pequenas porcentagens de farinha de carne como fonte protéica animal. Assim, a ave sintetiza a maior parte do colesterol que compõe o ovo, bem como componentes estruturais das membranas das células, precursores de hormônios sexuais e da adrenal, vitamina D e ácidos biliares (HARGIS, 1988).

O balanço do colesterol na galinha poedeira é consideravelmente diferente do encontrado no homem. A taxa de síntese do colesterol na galinha é muito alta quando comparada a de outros animais e a do homem. Uma galinha poedeira pesando cerca de 1,7 kg sintetiza aproximadamente 300 mg colesterol/ dia (NABER, 1983), enquanto que um homem de 70 kg sintetiza aproximadamente 800 mg colesterol/ dia (McNAMARA *et al.*, 1987). Na ave, a principal rota de eliminação do colesterol é via ovo, sendo a excreção de ácidos biliares e esteróis neutros pelas fezes outra forma, porém reduzida, de sua eliminação (NABER, 1983).

Cerca de 90% dos ácidos biliares secretados no duodeno são reabsorvidos. Os lípides biliares das aves domésticas diferem significativamente das outras espécies animais. Enquanto a maior parte dos lípides biliares dos mamíferos consiste de fosfolípidos e colesterol, a bile das aves domésticas contém grandes quantidades de ésteres de colesterol e triglicérides. A excreção desses lípidos provavelmente exerce um papel regulador do metabolismo da ave (GRIMINGER, 1986).

Em dietas comerciais com baixos níveis de gordura, a excreção de esteróides fecais é de apenas 10 mg/ave/dia, muito menor que a

quantidade excretada pelo ovo. Dessa forma, a principal via de eliminação do colesterol nas poedeiras é através do ovo. A excreção de esteróides neutros fecais é altamente variável e muito dependente da natureza e quantidade de gordura da dieta, sendo que dietas suplementadas com ácidos graxos poliinsaturados podem resultar em aumento marcante dessa excreção a níveis aproximados aos observados no ovo (SIM *et al.*, 1980).

O fornecimento de colesterol na alimentação de diversas espécies animais leva à substituição gradual de triglicérides da VLDL por colesterol esterificado, embora não provoque alteração no teor de colesterol livre. Mecanismos similares podem provavelmente explicar o grande aumento do colesterol da gema causado pela adição de colesterol na dieta de galinhas poedeiras (GRIFFIN, 1992).

2.4 Composição lipídica e formação da gema do ovo

Uma galinha poedeira alimentada com dieta comercial consumirá pouco mais que 3 g de gordura por dia. Um ovo médio de 60 g contém aproximadamente 6 g de gordura, quase que totalmente restrita à gema. Dessa forma, a galinha poedeira necessita de um sistema altamente organizado para a síntese e transporte de lípidos, para garantir a manutenção da postura e *turnover* de enormes quantidades de gordura, muito acima das absorvidas pela dieta (NOBLE *et al.*, 1990). Parte

apreciável dos lípidos da gema deve ser sintetizada a partir de constituintes não-lipídicos. Sob tais circunstâncias, carboidratos e, em menor quantidade, proteínas, servem como fontes para a lipogênese. Portanto, a absorção de gordura pelo trato intestinal e a sua síntese a partir de compostos não-lipídicos tornam-se duas fontes distintas de lípidos para os depósitos corporais e gema do ovo (GRIMINGER, 1986).

Os principais precursores da gema são a VLDL e a vitelogenina, uma lipofosfoglicoproteína que é hidrolisada, mediante a ação de proteases, em lipovitelina e fosfovítina. A VLDL, a lipovitelina e a fosfovítina compõem mais de 90% da matéria seca da gema. Os componentes menores incluem as imunoglobulinas, albumina sérica e proteínas ligadas a vitaminas (GRIFFIN *et al.*, 1985). Essas macromoléculas são sintetizadas sob o controle estrogênico no fígado (NIMPF e SCHNEIDER, 1991).

O estrógeno estimula o fígado das aves a sintetizar a vitelogenina e a VLDL que são transportadas, através do plasma, para o ovário onde devem atravessar as diversas camadas da parede do folículo ovariano na fase final de crescimento antes de serem incorporadas na gema. As partículas de portomícrons secretadas pelo intestino da ave são incapazes de atravessar a lâmina basal do folículo ovariano, excluindo portanto da gema a gordura de origem dietética recém-absorvida. Após a passagem pela lâmina basal, os precursores da gema passam pelas células granulosas que envolvem o oócito e se ligam à membrana plasmática do mesmo, havendo a formação de vesículas endocíticas que se incorporam

nesse oócito, permitindo que os precursores sejam depositados para a formação da gema (GRIFFIN, 1992).

A VLDL, a vitelogenina, algumas proteínas carreadoras de vitaminas e também algumas classes de imunoglobulinas, são ativas e especificamente captadas pelo oócito. A concentração de outros componentes, como por exemplo a albumina sérica, é semelhante à do plasma e são provavelmente incorporados através da fase fluida das vesículas endocíticas (NIMPF e SCHNEIDER, 1991).

A VLDL e a vitelogenina entram no oócito através de endocitose mediada por receptores presentes na sua membrana plasmática. A porção protéica (apoB) da VLDL e a vitelogenina se ligam ao mesmo tipo de receptor, denominado de receptor VLDL/VTG. *In vitro*, a VLDL desloca a vitelogenina, assim como a vitelogenina desloca a VLDL ligada à membrana plasmática do oócito (NIMPF e SCHNEIDER, 1991). Esses achados sugerem que a composição da gema deve ser influenciada pela proporção relativa entre vitelogenina e VLDL no sangue.

Mais de 95% do colesterol da gema está associado à VLDL presente na gema. Os outros 5% estão ligados à lipovitelina (complexo lipoprotéico que contém 20% de lípidos, dos quais apenas 4% é colesterol) (GRIFFIN, 1992). A incorporação da lipoproteína intacta ao oócito significa que o teor de colesterol da gema é determinado pelo teor de colesterol das partículas individuais de VLDL captadas pela gema, e não pela concentração de colesterol no plasma. Dessa forma, o teor de colesterol do ovo depende principalmente da composição da VLDL, e não de sua

concentração (GRIFFIN, 1992). Assim, apesar de o colesterol encontrado na gema ser sintetizado no fígado e transportado pelo sangue na forma de lipoproteínas, a concentração do colesterol plasmático não está intimamente associado à concentração do colesterol da gema (WEISS *et al.*, 1967a; SUTTON *et al.*, 1984; HARGIS, 1988). Flutuações do nível de colesterol plasmático na galinha não são refletidas nas concentrações de colesterol da gema, existindo pequena ou nenhuma correlação entre os níveis de colesterol do ovo e do plasma (BARTOV *et al.*, 1971; HARGIS, 1988). Isso porque a afinidade dos receptores presentes na membrana plasmática dos oócitos é alta, e as concentrações dos precursores da gema no plasma das galinhas poedeiras são muito elevadas, fazendo com que os receptores sejam sempre facilmente saturados (GRIFFIN, 1992).

Segundo GRIMINGER (1986), uma diminuição no nível de colesterol do plasma não indica necessariamente uma queda da taxa de síntese de colesterol, sendo o teor de colesterol do ovo determinado principalmente pela taxa de síntese de colesterol da ave (NABER, 1990). Além disso, galinhas com altas taxas de produção depositam menos colesterol por ovo, o que é controlado no ovário, onde o número e o tamanho do óvulo afetam a eliminação de colesterol pela gema (NABER, 1990).

A maior parte do colesterol da gema está sob a forma não esterificada ou livre, embora cerca de 21% esteja presente como ésteres de colesterol em galinhas alimentadas com dietas comerciais (NOBLE *et al.*,

1990). Os lípides representam cerca de 33% do peso total da gema e 65% de sua matéria seca (NOBLE *et al.*, 1990).

Como é de se esperar, devido à sua origem plasmática, a principal fração lipídica da gema é composta pelos triglicérides (63,2%), que são acompanhados por quantidades substanciais de fosfolípidos; outro componente importante é o colesterol livre (Tab.3). O colesterol esterificado e os ácidos graxos livres, que podem constituir uma porção significativa do conteúdo lipídico de tecidos animais, são somente pequenos componentes. Muitas outras substâncias semelhantes aos lípidos podem estar presentes na gema, como por exemplo, pigmentos e carotenóides, mas suas proporções gerais são desprezíveis (NOBLE *et al.*, 1990).

TABELA 3 - Proporções dos principais lípidos da gema (%)

Lípides	%
Colesterol ésteres	1,3
Triglicérides	63,2
Ácidos graxos livres	0,9
Colesterol livre	4,9
Fosfolípidos	29,7

NOBLE *et al.*, 1990

A composição da gordura dos ovos é bem balanceada, possuindo uma alta proporção de ácidos graxos poliinsaturados. A gema apresenta uma relação P/S (poliinsaturados/saturados) de 0,6-0,7, somente comparável à da carne de frango (BRIZ, 1997). O fígado de boi, por

exemplo, apresenta uma relação P/S de 0,24 (NOBLE *et al.*, 1990). Para uma alimentação mais saudável, recomenda-se um mínimo de 0,35 (BRIZ, 1997).

2.5 Fatores que alteram os níveis de colesterol no ovo

Além dos fatores inerentes à própria ave e às condições de produção dos ovos, os dados sobre os níveis de colesterol disponíveis publicados nas tabelas de composição dos alimentos mostram grande variabilidade, principalmente devido aos diferentes métodos analíticos utilizados na sua determinação (NABER, 1989). Segundo a tabela de composição de alimentos reportada pelo USDA (1998), o teor de colesterol em ovos comerciais grandes, contendo em média 16,6 g de gema, é de aproximadamente 212,6 mg.

Até o início da década, métodos colorimétricos (ZLTKIS *et al.*, 1953; ZAK e RESSLER, 1955) eram comumente utilizados para a determinação do colesterol. Tais procedimentos funcionam bem com amostras purificadas de colesterol, entretanto quando essas técnicas são empregadas para a determinação no ovo, há um aumento aparente do teor de colesterol devido a presença de substâncias interferentes, como ácidos graxos, triglicérides, proteínas, hemoglobina, carotenóides e vitamina A (BEYER e JENSEN, 1989b). Mesmo sofrendo prévia saponificação e

extração com hexano, onde interferentes deveriam ser eliminados, as gemas analisadas através de métodos colorimétricos apresentam teores de colesterol superestimados (JIANG *et al.*, 1991). Métodos enzimáticos (ALLAIN *et al.*, 1974; SIEDEL *et al.*, 1983) também apresentam aparente aumento do colesterol, pois estão sujeitos a interferência de diversos esteróides (JIANG *et al.*, 1991).

BEYER e JENSEN (1989a) demonstraram que métodos colorimétricos para a determinação do colesterol geralmente forneciam valores 26 a 46% mais elevados que os obtidos através do método da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Ao compararem o método colorimétrico com o da CLAE, os autores obtiveram valores médios de colesterol na gema de, respectivamente, 13,86 mg e 10,97 mg/g, para amostras submetidas previamente a saponificação e extração. MARSIGLIA *et al.* (1994), desenvolveram metodologia espectrofotométrica modificada, obtendo valores médios para ovos comerciais na ordem de 219 mg de colesterol/ ovo. JIANG *et al.* (1991) e BEYER e JENSEN (1989b), utilizando a CLAE, encontraram em ovos grandes níveis de 195 e 198 mg de colesterol, respectivamente. Os procedimentos da CLAE, que não requerem elevadas temperaturas, parecem ser mais adequados para as análises de colesterol (HAMILL e SOLIMAN, 1994).

No relativo aos fatores ligados à ave propriamente dita, os níveis de colesterol do ovo são influenciados pela nutrição (HARGIS, 1988), espécie, raça (TURK e BARNET, 1971), linhagem (SIMMONS e SOMES JR., 1985; WASHBURN, 1979), tamanho dos ovos (NICHOLS *et al.*, 1963;

BARTOV *et al.*, 1971), índice de postura (BARTOV *et al.*, 1971; CUNNINGHAM, *et al.*, 1974; NABER, 1990) e idade da aves (TURK e BARNET, 1971; HALL e MCKAY, 1994).

Segundo NOBLE *et al.* (1990), a quantidade de colesterol fornecida pela gema parece ser consideravelmente excessiva às necessidades do embrião. Assim, o teor de colesterol presente na gema tem se mostrado negativamente associado ao índice de postura (BARTOV *et al.*, 1971; CUNNINGHAM *et al.*, 1974), sendo essa relação provavelmente um reflexo da fisiologia da galinha poedeira, não estando ligada ao metabolismo lipídico do pinto em desenvolvimento (NOBLE *et al.*, 1990).

Apesar de uma série de tentativas para a redução do colesterol da gema, incluindo seleção genética, manobras nutricionais e utilização de agentes farmacológicos, os níveis de colesterol do ovo parecem ser muito resistentes a alterações. Isso parece ocorrer devido aos mecanismos particulares fisiológicos da galinha poedeira, envolvidos na formação da gema (GRIFFIN, 1992).

2.5.1 Componente genético

Tentativas de alterar o colesterol da gema através de seleção genética não têm trazido resultados muito vantajosos. As reduções do colesterol da gema, face à resposta genética, foram marginais e resultaram

em decréscimo da produção (WASHBURN e MARKS, 1977; ANSAH *et al.*, 1985). Apesar da obtenção de alterações significativas nos níveis de colesterol da gema, foi observada, em contrapartida, diminuição drástica na produção de ovos (WASHBURN e MARKS, 1971). A seleção de aves por concentração de colesterol na gema mostrou-se efetiva apenas para produzir ovos com altos teores de colesterol (WASHBURN e MARKS, 1971).

ANSAH *et al.* (1985), através da seleção, durante três gerações, de aves que produziam ovos com menor teor de colesterol, obtiveram postura aumentada na primeira, e ovos de peso reduzido nas três gerações. Na terceira geração encontrou-se correlação negativa para o peso da gema e a produção de ovos em relação ao teor de colesterol.

2.5.2 Manobras dietéticas

Segundo NABER (1979), o teor de colesterol nos ovos não poderia ser reduzido através da alimentação, mas diversas modificações da dieta têm sido sugeridas com esse objetivo. Estudos envolvendo manobras dietéticas, somadas ou não à utilização de ração isenta de ingredientes de origem animal, que incluem: alteração dos teores de fibra da ração com emprego de fibra de diferentes origens (alfafa, cevada, aveia e girassol, dentre outras); utilização de esteróis vegetais (beta-sitosterol, sitosterol); acréscimo de óleos com altos níveis de insaturação; adição de

micronutrientes (ácido ascórbico, niacina); e uso de extratos biológicos (culturas de *Trichoderma virida* e *Lactobacillus acidophilus*), têm obtido resultados muito divergentes. Em alguns casos, ocorre apenas redução nos níveis plasmáticos de colesterol, sendo que os teores de colesterol no ovo sofrem redução nula ou insignificante, observando-se em alguns casos até mesmo leve aumento (HARGIS, 1988; NABER, 1990; AUSTIC, 1992).

2.5.3 Drogas hipolipemizantes

Nas duas últimas décadas, grandes avanços têm sido alcançados no tratamento da hiperlipidemia no homem. Novas drogas foram desenvolvidas e os efeitos e indicações daquelas já existentes têm sido melhor definidos (BERTOLAMI, 1992). Diversas substâncias que provocam efeitos hipocolesterolêmicos através da redução da biossíntese do colesterol ou do aumento da excreção de ácidos biliares ou esteróis neutros têm sido testadas em galinhas poedeiras pela sua capacidade de limitar a deposição do colesterol na gema do ovo (NABER, 1990).

2.5.3.1 Dextrotiroxina

A Dextrotiroxina, fração dextrógera do hormônio tiroídiano, é um potente agente hipocolesterolêmico, indicado nos casos de hipercolesterolemia pura, ocasionando reduções do LDL-colesterol de 20%, sem alterar significativamente os níveis de HDL-colesterol e de triglicérides. Entretanto, o risco de seu uso é grande, sendo contra-indicado na presença de qualquer coronariopatia (BERTOLAMI, 1992). Quando fornecido a galinhas poedeiras através de aplicações diárias ou pela incorporação à dieta resultou em redução do colesterol plasmático e aumento de 30% do teor de colesterol do ovo, o que comprova os efeitos estimulantes do hormônio tiroídiano sobre o *turnover* do colesterol pelo aumento da síntese total de lípidos e aceleração da proporção de lípidos excretados. Como o ovo representa a maior rota de excreção de colesterol nas aves, ocasiona um acréscimo de seu nível depositado na gema (WEISS *et al.*, 1967b).

2.5.3.2 Triparanol

O Triparanol foi uma droga utilizada para combater a hipercolesterolemia por sua capacidade em atuar nas últimas etapas da biossíntese do colesterol. BURGESS *et al.* (1962), alimentando galinhas poedeiras com 0,5% de Triparanol, consignaram gradual substituição do

colesterol da gema pelo desmosterol, um precursor imediato do colesterol. Após duas semanas de tratamento, 85% do colesterol foi substituído pelo desmosterol resultando em completa inibição da produção de ovos. O triparanol atuaria impedindo o início da maturação dos oócitos no ovário. Segundo GRIFFIN (1992), pelo fato de o colesterol ser precursor insubstituível de hormônios esteróides controladores da reprodução, é de se esperar que sua gradual substituição em desmosterol nos tecidos das aves leve à cessação da produção de ovos. O Triparanol foi retirado do uso clínico em 1962, após relatos de séria toxicidade relacionada ao acúmulo de desmosterol, que não é convertido em colesterol (TOBERT, 1987).

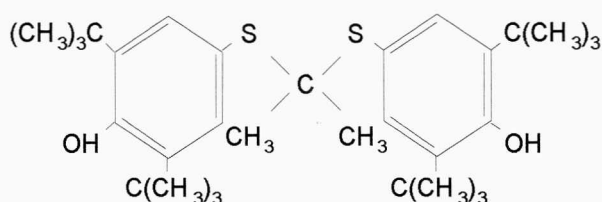
2.5.3.3 Candicidina

A Candicidina mostrou-se efetiva na redução do colesterol quando administrada oralmente em frangos. Suas propriedades anti-hipercolesterolêmicas são mediadas através do prejuízo da absorção de lípidos, particularmente de colesterol, e da reabsorção de bile. A Candicidina oral não é absorvida na passagem pelo intestino e exerce seus efeitos através da formação de complexos com esteróis no lúmen intestinal (HAUSHEER e FISHER, 1978). O efeito da Candicidina no colesterol do ovo ainda não foi investigado.

2.5.3.4 Probucof

O Probucof, 4,4-(isopropilidina ditio)-bis(2,6-di-*t*-butil-fenol), é um bifenol contendo radical sulfeto (Fig.3).

FIGURA 3 - Fórmula estrutural do Probucof



BERTOLAMI, 1992

Os efeitos hipocolesterolêmicos do Probucof foram estudados em 1970 por BARNHART *et al.*. A droga tem pouca absorção em ratos, quando administrada oralmente, sendo por esta razão considerada atóxica. Apesar de sua lipossolubilidade, menos de 10% de uma dose oral de Probucof é absorvida, depositando-se lentamente no tecido adiposo, de onde é liberada para a circulação sanguínea por seis meses ou mais. Suas principais vias de eliminação são bile e fezes, sendo a excreção renal desprezível (BERTOLAMI, 1992). Observou-se redução do colesterol plasmático em camundongos, ratos e macacos, sem o aparecimento de efeitos colaterais indesejáveis, sendo que a administração de 0,25% de Probucof em ratos causou diminuição acentuada dos níveis de colesterol sérico, sem efeitos no peso do fígado ou nos níveis de colesterol do fígado (BARNHART *et al.*, 1970).

O Probucol é indicado nos casos de hipercolesterolemia isolada, pois tem pouca ou nenhuma ação sobre os níveis de triglicérides. Reduz as concentrações de LDL-colesterol em cerca de 10 a 15%. A droga ainda inibe a auto-oxidação das partículas de LDL, levando à menor captação destas lipoproteínas pelos macrófagos da parede arterial, o que pode retardar o desenvolvimento da aterosclerose coronária independente de sua ação sobre os níveis plasmáticos (GRUNDY, 1990; BERTOLAMI, 1992).

O mecanismo de ação preciso pelo qual o Probucol atua para reduzir os níveis de LDL-colesterol ainda é um enigma, e um encadeamento lógico de suas atividades não foi ainda demonstrado. Há indícios de que promova mobilização de colesterol dos tecidos, incluindo xantomas, em contraposição ao seu modesto efeito hipocolesterolemizante e a despeito de reduzir os níveis de HDL-colesterol de 15 a 25% (QUINTÃO, 1992). Os receptores hepáticos de LDL são estimulados, porém são de baixa afinidade, pouco contribuindo para a redução do nível de LDL do plasma (QUINTÃO, 1992).

NABER *et al.* (1982) examinaram, em três experimentos, os efeitos do Probucol em galinhas poedeiras. A droga, administrada em níveis de 0,025 a 0,2% na ração, não prejudicou a produção de ovos ou o peso corpóreo das aves, havendo até mesmo aumento da produção. Observou-se redução da utilização do acetato na síntese lipídica, sendo que os efeitos mais marcantes foram consignados na incorporação em triglicérides no fígado. A incorporação relativa do acetato marcado (acetato ^{14}C) em colesterol no fígado foi aumentada apenas nos níveis mais elevados da

droga (acima de 0,025%), quando houve diminuição marcante da lipogênese total. O teor de colesterol na gema foi reduzido em cerca de 5% com o uso de 0,1% da droga. O nível de 0,025% na dieta não causou redução da concentração de colesterol durante 10 semanas, em aves com 40 semanas de idade, produzindo efeito somente após oito semanas em aves mais velhas (52 semanas).

WALDROUP *et al.* (1986), com a utilização de até 1,0% de Probucol na ração de galinhas poedeiras *Shaver*, de 40 semanas de idade, também verificaram redução significativa da concentração de colesterol do ovo sem prejuízo da produção. O peso do ovo, resistência da casca, qualidade do albúmen, consumo e conversão alimentares também não foram prejudicados. Após duas semanas do início da administração de 0,1% da droga, houve redução significativa da concentração de colesterol da gema, atingindo-se uma redução máxima de até 8,0% após seis semanas, sendo que concentrações mais elevadas da droga provocaram reduções similares às observadas com o uso de 0,1% de Probucol. O nível de 0,025% da droga não provocou redução significativa até quatro semanas.

2.5.3.5 Fibratos

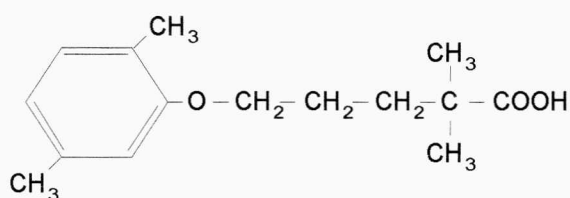
Os fibratos são drogas largamente utilizada na redução de lípidos na espécie humana, possuindo ações predominantemente sobre os triglicérides (BERTOLAMI, 1992).

O Clofibrato ou etil-éster de ácido para-clorofenoxiisobutírico é completamente absorvido pelo intestino e reduz os níveis de triglicérides plasmáticos pela diminuição das VLDL. Em alguns pacientes, os níveis de colesterol-LDL também caem, até 10 a 15% (BERTOLAMI, 1992).

Em galinhas poedeiras, quando fornecido a 0,1% na dieta, reduz o colesterol do sangue, mas aumenta o colesterol da gema. Níveis mais altos da droga resultam na cessação da produção de ovos (WEISS *et al.*, 1967b).

O Gemfibrozil (Fig.4) também está incluído no grupo de derivados do ácido fíbrico, embora seja estruturalmente diferente e possua ações biológicas distintas do Clofibrato. Provoca reduções dos lípidos plasmáticos semelhantes às do Clofibrato, produzindo aumento mais marcante do HDL-colesterol (TODD e WARD, 1988).

FIGURA 4 - Fórmula estrutural do Gemfibrozil



BERTOLAMI, 1992

O Gemfibrozil é indicado principalmente no tratamento das hipertrigliceridemias por aumento de VLDL. Em hipertrigliceridêmicos, reduz drasticamente os triglicérides séricos, em 40 a 55%, por redução de VLDL diminuindo também níveis de LDL-colesterol em pacientes sem hipertrigliceridemia (BERTOLAMI, 1992). Seus efeitos sobre os níveis de colesterol são variáveis, dependendo dos níveis iniciais de triglicérides plasmáticos (JONES, 1996).

O mecanismo de ação fundamental do Gemfibrozil não está muito bem esclarecido. Promove a lipólise de triglicérides-VLDL e de triglicérides do quilomícron, proporcionando um aumento marcante da lipólise e depuração de triglicérides do plasma (TODD e WARD; 1988). Essa diminuição dos triglicérides séricos tem sido atribuída a duas ações: interferência na síntese de triglicérides-VLDL no fígado e aumento da atividade da lipase-lipoproteína. O colesterol total plasmático geralmente não é afetado pelo Gemfibrozil em animais alimentados com ração normal, mas é reduzido com o fornecimento de dieta com alto teor de colesterol. A droga preveniu o acúmulo anormal de lipoproteínas, como o aumento de VLDL e queda de HDL, da dislipoproteinemia produzida em animais pelo fornecimento de elevado teor de colesterol na dieta resultando em um perfil sérico de lípidos e lipoproteínas semelhante ao de animais que receberam dieta normal (KRAUSE e NEWTON, 1985; TODD e WARD; 1988).

Em pacientes com hipercolesterolemia submetidos ao tratamento com Gemfibrozil, ocorrem normalmente decréscimos do LDL-colesterol na faixa de 10 a 15%. Por outro lado, em pacientes com hipertrigliceridemia, o

Gemfibrozil, em alguns casos, pode até aumentar a concentração de LDL-colesterol simultaneamente com a redução dos triglicérides séricos. Nestes pacientes, os níveis de colesterol total frequentemente não são alterados.

O Gemfibrozil causa ainda um aumento nas concentrações de HDL-colesterol, independente da dieta, na maioria dos pacientes. A elevação do HDL-colesterol sérico situa-se entre 20 e 25% tanto em hipertrigliceridêmicos como em hipercolesterolêmicos (GRUNDY, 1990; BERTOLAMI, 1992).

O estudo mais importante envolvendo o Gemfibrozil foi o de Helsinque (FRICK *et al.*, 1987), com cinco anos de duração, onde verificou-se aumento de 10% do nível sérico do HDL-colesterol e redução persistente de 8% nos níveis de colesterol total e do LDL-colesterol, de 12% nos valores de colesterol não-HDL e de 35% dos triglicérides, quando a droga foi administrada a homens com níveis elevados de colesterol, em diversos padrões. As respostas lipídicas tornaram-se óbvias a partir do terceiro mês experimental, chegando ao final do experimento a uma redução de 34% de incidência de doença coronariana em relação ao grupo que recebeu placebo. Concluiu-se que a modificação do HDL-colesterol e do LDL-colesterol através do tratamento medicamentoso levou à diminuição substancial nos problemas cardíacos. A maior alteração relativa dos níveis séricos dos lípides observada nesse estudo relacionou-se com os triglicérides séricos (cerca de 35% de redução). A hipertrigliceridemia parece relacionar-se com o risco de doença coronariana através da sua relação inversa com o nível de HDL-colesterol, sendo o papel dos

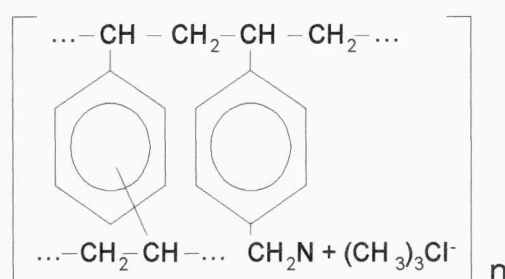
triglicérides, como fator de risco coronário, ainda assunto controverso (FRICK *et al.*, 1987).

2.5.3.6 Resinas sequestradoras de ácidos biliares

Outro grupo de drogas hipocolesterolemizantes largamente utilizado em seres humanos é o dos sequestradores de ácidos biliares. O efeito dessas drogas, que incluem o Colestipol e a Colestiramina, tem sido investigado *in vitro* e *in vivo* (SAEKI e KIRIYAMA, 1988; GRUNDY, 1990; UEDA *et al.*, 1995).

A Colestiramina (Fig.5) é o cloreto de uma resina de troca iônica fortemente básica. Trata-se de um co-polímero do estireno com divinilbenzeno ligado a grupos amônio quaternários, que se une, no trato intestinal, a ácidos biliares carregados negativamente, aumentando sua excreção fecal (GRUNDY, 1990; BERTOLAMI, 1992).

FIGURA 5 - Fórmula estrutural da Colestiramina



Estudos a longo prazo do uso da Colestiramina comprovaram sua segurança e eficácia na redução do risco de doenças cardiovasculares em seres humanos. Por isso, é considerada droga de primeira linha no tratamento da hipercolesterolemia. Como não é absorvida durante a passagem pelo trato gastrointestinal, suas ações sobre os níveis plasmáticos de colesterol são inteiramente secundárias aos seus efeitos no lúmen intestinal (GRUNDY, 1990).

Nos seres humanos, normalmente em torno de 98% dos ácidos biliares que passam pelo intestino são reabsorvidos no íleo (GRUNDY, 1990), sendo que a reabsorção em frangos adultos também alcança valores superiores a 90% (GRIMINGER, 1986). Os ácidos biliares retornam ao fígado através da circulação portal, sendo quase completamente removidos. São rapidamente reexcretados na bile para completar a circulação êntero-hepática, e inibir, no fígado, a conversão de colesterol em ácidos biliares por mecanismo inibitório de *feedback* (GRUNDY, 1990). A ação primária da Colestiramina é caracterizada pelo bloqueio da absorção intestinal de ácidos biliares (QUINTÃO, 1992), determinando queda de sua reabsorção de 85 a 90%. Como consequência, ocorre redução do fluxo de ácidos biliares de volta para o fígado cessando o mecanismo inibitório de *feedback* na conversão de colesterol em ácidos biliares, o que estimula a transformação em ácidos biliares no hepatócito. Com maior quantidade de colesterol transformada em ácidos biliares, diminui o teor de colesterol hepático (GRUNDY, 1990).

A redução do teor de colesterol nos hepatócitos resulta em aumento do número de receptores de alta afinidade que captam LDL e remanescentes de VLDL do plasma (QUINTÃO, 1992), diminuindo a conversão de VLDL a LDL, resultando, no final, em redução das concentrações de LDL-colesterol (GRUNDY, 1990). Decréscimos dos níveis de LDL-colesterol na faixa de 15 a 25% são típicos com o uso de sequestradores de ácidos biliares, sendo que em alguns pacientes respostas ainda maiores podem ocorrer (GRUNDY, 1990; BERTOLAMI, 1992).

Outra ação da Colestiramina é o aumento das concentrações séricas de triglicérides-VLDL, causado pela secreção aumentada de triglicérides-VLDL pelo fígado. Assim, em pacientes com leve hipertrigliceridemia, sequestradores de ácidos biliares podem causar um aumento exorbitante dos níveis de triglicérides (GRUNDY, 1990). Em ratos, a Colestiramina não alterou o nível de triglicérides plasmáticos (SUGANO *et al.*, 1980)

Níveis de 2% a 5% de Colestiramina na dieta contendo colesterol causaram aumento da excreção fecal de ácidos biliares em ratos, comprovando a eficácia da droga na redução da hipercolesterolemia induzida pela dieta (HUFF *et al.*, 1963; SUGANO *et al.*, 1980). A Colestiramina em nível de 5% reduziu prontamente o teor de ácidos biliares no intestino delgado de ratos, verificando-se o efeito inibitório desta resina na absorção do colesterol exógeno; entretanto, o aumento da excreção de esteróis neutros não foi observado (SUGANO *et al.*, 1980). Por outro lado, a

Colestiramina não exerceu efeito nos níveis de colesterol plasmático em ratos alimentados com dietas isentas de colesterol (HUFF *et al.*, 1963; SAEKI e KIRIYAMA, 1988), observando-se entretanto redução da colesterolemia em hâsters (SPADY *et al.*, 1985).

Em dietas isentas de colesterol, a adição de Colestiramina de 2% a 4% não exerceu efeito na concentração de lípides plasmáticos e do fígado de pintos (UEDA *et al.*, 1995). SINGH (1975), ao administrar 0,41%; 0,83% e 1,64% de Colestiramina na ração de poedeiras *White Leghorn* por três semanas, observou decréscimo da concentração de colesterol no ovo nos três níveis estudados e redução no colesterol plasmático com a utilização do nível mais elevado.

Segundo LUHMAN *et al.* (1990), a administração de 1,17% de colestipol, droga com o mesmo mecanismo de ação da Colestiramina, durante cinco semanas, não afetou a produção de ovos e a concentração de colesterol na gema, músculo ou fígado de galinhas poedeiras.

Em frangos, a Colestiramina fornecida a 1,5% na dieta, durante uma semana, elevou a síntese hepática de colesterol e a sua conversão a ácidos biliares, sem afetar o ganho de peso das aves (SKLAN e BUDOWSKY, 1979).

2.5.3.7 Inibidores da HMG-CoA-redutase: estatinas

Os inibidores da 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A redutase (HMG-CoA redutase), constituem a mais nova classe de drogas redutoras de colesterol. A HMG-CoA redutase é a enzima responsável pela conversão do hidroximetilglutaril coenzima A para ácido mevalônico (Fig.2), uma etapa importante nos estágios iniciais da biossíntese do colesterol. Essas drogas inibem parcialmente, por competição da HMG-CoA redutase, a síntese intracelular do colesterol, principalmente no hepatócito (GRUNDY, 1990; FORTI, 1994).

A Mevastatina, descoberta por ENDO *et al.* (1977), é um metabólito produzido pelo *Penicillium citrinum*, sendo a primeira droga desse grupo a ser utilizada. Posteriormente, foi isolada do *Aspergillus terreus*, a Lovastatina, que tem sido mais extensivamente estudada e empregada no tratamento da hipercolesterolemia. Inclui-se ainda nesse grupo de drogas a Sinvastatina, a Pravastatina e a Fluvastatina, esta última totalmente sintética. Esse grupo de substâncias capazes de inibir por competição a HMG-CoA redutase recebeu a denominação genérica de estatinas (BERTOLAMI, 1992; FORTI, 1994).

As estatinas são os mais potentes agentes hipocolesterolêmicos encontrados, apresentando poucos efeitos colaterais em seres humanos (TOBERT, 1987; GRUNDY, 1990). Como agem logo nas etapas iniciais da biossíntese, não causam o acúmulo indesejável de intermediários esteróis, como ocorre com o uso do triparanol (TOBERT, 1987). Teoricamente, os

inibidores da HMG-CoA redutase deveriam reduzir a formação de todos os produtos do ácido mevalônico, dentre eles, o colesterol; mas o grau da inibição da síntese de colesterol não é suficiente para provocar uma deficiência no organismo, não causando portanto prejuízo à formação hormonal e de ácidos biliares e nem à estabilidade da membrana celular. Não foram detectados efeitos da Lovastatina sobre a formação de esteróides da adrenal ou gonadais. Além disso, não existem evidências de que estas drogas reduzam significativamente outros produtos do ácido mevalônico (TOBERT, 1987; GRUNDY, 1990).

O mecanismo de ação primário deste grupo de drogas envolve a redução dos níveis séricos de LDL-colesterol. Como as estatinas competem com a HMG Co-A pela HMG Co-A redutase, o nível dessa enzima sobe consideravelmente no hepatócito. O estímulo da enzima está acoplado a um aumento da formação dos receptores de LDL, havendo aumento brusco de sua atividade na superfície da célula. Esse aumento da atividade dos receptores promove a captação direta de LDL circulante e aumento da remoção hepática de VLDL e remanescentes de VLDL, os precursores da LDL. Além disso, a menor disponibilidade de colesterol celular deve também contribuir para a diminuição da formação e secreção de VLDL. Assim, menor quantidade de VLDL é convertida a LDL, colaborando na redução de seus níveis (QUINTÃO, 1992).

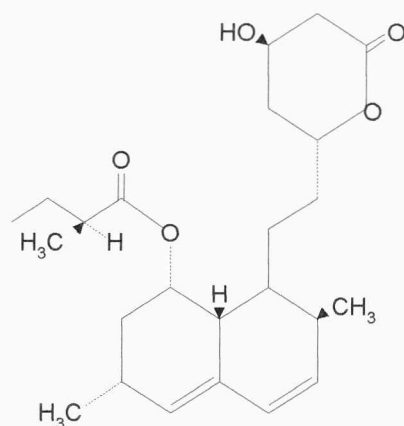
Em indivíduos normocolesterolêmicos sem restrições da dieta, os efeitos hipocolesterolêmicos da Lovastatina foram evidentes após três dias, sendo que, ao final de quatro semanas, reduções médias de 23 a 27% do

colesterol total plasmático foram alcançadas, atribuídas à queda entre 35 e 45% do LDL-colesterol (TOBERT *et al.*, 1982). Em seres humanos hipercolesterolêmicos, a Lovastatina oral reduziu os níveis de colesterol total em cerca de 25 a 40% (HENWOOD e HEEL, 1988; ILLINGWORTH e SEXTON, 1984; GRUNDY e VEGA, 1985).

Os inibidores da HMG-CoA redutase causam também modesta redução nos triglicérides-VLDL, provocando ainda aumento nos níveis séricos de HDL-colesterol em alguns pacientes (GRUNDY, 1990). Em indivíduos hipercolesterolêmicos, os níveis plasmáticos de triglicérides geralmente sofrem redução de 25% provocada pelos inibidores da HMG-CoA redutase (TOBERT, 1987), sendo o grau de aumento dos níveis de HDL geralmente pequeno (GRUNDY, 1990), em torno de 5 a 10% (TOBERT, 1987). Em normocolesterolêmicos, os níveis de triglicérides e HDL-colesterol não foram alterados (TOBERT *et al.*, 1982).

A fórmula estrutural da Lovastatina e de outras estatinas é semelhante à da HMG-CoA (Fig.6), sendo hidrolisada após sua absorção, para ácido mevinolínico, a sua forma ativa. O uso da Lovastatina a longo prazo produziu variações estáveis dos lípides plasmáticos, provocando redução da colesterolemia total, da fração LDL-colesterol e dos triglicérides e elevação discreta da fração HDL-colesterol, com incidência muito baixa de efeitos adversos (FORTI, 1994).

FIGURA 6 - Fórmula estrutural da Lovastatina



BERTOLAMI, 1992

Em galinhas poedeiras, ELKIN e ROGLER (1990) observaram redução crescente da concentração de colesterol na gema conforme a quantidade de Lovastatina era adicionada de 0,0059% a 0,0265% na ração durante 35 dias. Após o período experimental, atingiu-se uma redução máxima de 15,3% do nível de colesterol no ovo. Concomitantemente ocorreu redução significativa do peso médio da gema e do ovo, além do consumo alimentar, principalmente com o uso dos níveis mais elevados da droga. Os níveis de colesterol e triglicérides plasmáticos foram alterados, mas não obedecendo relação com os níveis da droga. Em um segundo experimento, utilizando-se doses mais elevadas (0,0290 a 0,2407%) nas mesmas aves, após um intervalo de 13 semanas do término do primeiro experimento, durante apenas nove dias, os mesmos autores verificaram reduções menos marcante dos teores de colesterol dos ovos.

LUHMAN *et al.* (1990), por outro lado, não registraram efeitos da Lovastatina sobre a concentração de colesterol na gema quando a droga

era fornecida na dose de 0,0035% na dieta de aves com 69 semanas de idade. O teor de lípides no fígado não foi alterado, indicando que a Lovastatina não predispõe ao fígado gordo nas aves, apesar de causar infiltração gordurosa e danos hepáticos em seres humanos.

Resíduos de Lovastatina foram detectados no fígado das aves que receberam a droga na dieta (LUHMAN *et al.*, 1990), mas não foram encontrados no músculo, clara e gema do ovo (LUHMAN *et al.*, 1990; ELKIN e ROGLER, 1990)

A inibição da síntese do colesterol pela Lovastatina mostrou pouco efeito sobre a composição da VLDL (KHAN *et al.*, 1989; ARAD *et al.*, 1990; BAGDADE *et al.*, 1990). Na maioria dos pacientes, o principal efeito da Lovastatina foi a redução do teor de colesterol esterificado que, ao contrário do não esterificado, permaneceu constante (KHAN *et al.*, 1989). Assim, alterações no teor de colesterol provocadas por drogas hipocolesterolemizantes, como a Lovastatina, foram causadas por reduções substanciais do teor de colesterol esterificado, sendo que o colesterol não esterificado da lipoproteína permaneceu inalterado (GRIFFIN, 1992).

A Lovastatina, assim como outros inibidores da HMG-CoA redutase, ainda reduz o teor de colesterol biliar e a síntese de ácidos biliares, sem provocar alteração nesta última com seu uso prolongado (MITCHELL *et al.*, 1991). A síntese reduzida de colesterol, causada por drogas como a Lovastatina, não altera a sensibilidade do mecanismo de *feedback* inibitório da síntese de ácidos biliares (HANSON e DUANE, 1994).

3 MATERIAL E MÉTODO

3.1 Aves, instalações e equipamentos

Os dois experimentos realizados foram conduzidos no galpão de aves da disciplina de Doenças Nutricionais e Metabólicas do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, *Campus* da Cidade Universitária.

No experimento 1 foram utilizadas 240 galinhas poedeiras da linhagem comercial *Shaver*, com idade de 30 semanas no início do experimento. As aves foram distribuídas em 120 gaiolas (0,45m x 0,25m x 0,45m), sendo alojadas duas por gaiola, constituindo seis tratamentos com cinco repetições de oito aves.

O experimento 2 foi conduzido utilizando-se 128 poedeiras *Shaver*, com 26 semanas de idade por ocasião do início do período experimental. As aves foram alojadas em 64 gaiolas (0,45m x 0,25m x 0,45m), sendo distribuídas duas por gaiola, de modo a serem constituídos quatro tratamentos com quatro repetições de oito aves.

Em ambos os experimentos, cada repetição foi constituída por um conjunto de quatro gaiolas e de um comedouro, sendo a água fornecida em bebedouro tipo *nipple*. As aves apresentavam, no início do período experimental, peso corporal, produção e peso dos ovos próximos entre si. O alimento e a água foram fornecidos *ad libitum* e as aves receberam um total de 16 horas diárias de luz. O experimento 1 teve duração de 12 semanas, abrangendo os meses de agosto, setembro e outubro de 1994 (inverno/primavera), enquanto que o experimento 2 se estendeu por seis semanas durante novembro e dezembro de 1995 (primavera/verão).

As drogas estudadas, em ambos os experimentos, foram incorporadas à ração como pré-misturas, utilizando-se misturador horizontal de capacidade de 200 kg da marca Denan[®] modelo MIST-200.

Para a avaliação da qualidade dos ovos produzidos empregou-se micrômetro Ames[®] S-8400, na determinação da qualidade do albúmen e, micrômetro Ames[®] 25M-5, para a obtenção da medida da espessura da casca.

Durante a realização das fases experimental e analítica, foram empregadas as seguintes balanças: Mettler[®] H 315, carga máxima 1 kg e sensibilidade de 0,1 mg; Micronal[®] modelo B 1600, carga máxima 1,6 kg e

sensibilidade de 0,01 g; Toledo[®] modelo Exata 2, carga máxima 5 kg e sensibilidade de 1 g; Toledo[®] modelo 2027-P2, carga máxima 50 kg e sensibilidade de 10 g.

A secagem das cascas dos ovos e determinação da matéria seca da gema foram realizadas mediante uso de estufa Fanem[®] modelo 315 SE.

Empregou-se centrífuga da marca Fanem[®] modelo Baby I para a separação do plasma sanguíneo.

A determinação dos teores de colesterol na gema foi realizada empregando-se técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), com o uso de cromatógrafo da marca Shimadzu[®], modelo LC-10AD, acoplado a um detector espectrofotométrico Shimadzu[®] modelo SPD-10A. Utilizou-se coluna Shim-Pack[®] 5 μ m CLC-ODS (250 X 4,6 mm) precedida por coluna de guarda Shim-pack[®] 5 μ m LC G-ODS (10 X 4 mm). Todos os solventes usados foram grau cromatográfico e degaseificados antes do uso.

3.2 Rações

No experimento 1 utilizou-se como grupo controle (CON1), poedeiras alimentadas com ração comercial, cujos níveis de garantia estão apresentados na Tab.4. A esta ração basal foram acrescentadas drogas hipolipemizantes, perfazendo um total de seis tratamentos, conforme mostra a Tab.5.

TABELA 4 - Níveis de garantia da ração basal
(Experimento 1)

Nutrientes	Níveis	%
Umidade	(Máximo)	12,00
Proteína bruta	(Mínimo)	18,00
Extrato etéreo	(Mínimo)	2,50
Matéria fibrosa	(Máximo)	6,50
Matéria mineral	(Máximo)	12,00
Cálcio	(Máximo)	4,50
Fósforo	(Mínimo)	0,60

Premix vitamínico fornece (por kg de dieta): vitamina A, 10000 UI; vitamina D3, 1500 UI; vitamina E, 10 mg; vitamina K3, 2 mg; riboflavina, 4 mg; vitamina B12, 8 mcg; ácido nicotínico, 20 mg; ácido pantotênico, 10 mg; antioxidante, 65 mg.

Premix mineral fornece (por kg de dieta): ferro, 60 mg; cobre 4 mg; zinco 40 mg; manganês, 65 mg; iodo, 0,8 mg; cobalto 0,2 mg; selênio, 0,1 mg.

TABELA 5 - Esquema dos tratamentos adotados
no Experimento 1

Tratamentos	Drogas
CON1	Controle
PROB	Probucof (0,1%)
GEMF	Gemfibrozil (0,025%)
LOV1	Lovastatina (0,0005%)
LOV2	Lovastatina (0,001%)
LOV3	Lovastatina (0,0015%)

No experimento 2 adotou-se como grupo controle (CON2), aves submetidas à ração basal isenta de ingredientes de origem animal (Tab.6), formulada de acordo com os padrões de exigências nutricionais do NRC (1994). Os demais tratamentos foram constituídos da ração basal acrescida

de drogas hipolipemizantes, totalizando quatro tratamentos, conforme esquema mostrado na Tab.7.

TABELA 6 - Composição da ração basal
(Experimento 2)

Ingredientes	%
Milho	58,20
Farelo de soja (46,5%)	21,00
Farelo de arroz	5,00
Farelo de glúten	3,00
Farelinho de trigo	3,00
DL-Metionina	0,07
Cloreto de colina (50%)	0,03
Sal	0,30
Calcário	7,50
Fosfato bicálcico	1,50
Premix vitamínico (*)	0,25
Premix mineral (**)	0,25
Análise calculada	
Energia metabolizável (kcal/kg)	2710
Proteína bruta (%)	17,8
Metionina (%)	0,33
Metionina + Cistina (%)	0,62
Cálcio (%)	3,35
Fósforo total (%)	0,62
Fósforo disponível (%)	0,41

(*) Premix vitamínico fornece (por kg de dieta): vitamina A, 10000 UI; vitamina D3, 1500 UI; vitamina E, 10 mg; vitamina K3, 2 mg; riboflavina, 4 mg; vitamina B12, 8 mcg; ácido nicotínico, 20 mg; ácido pantotênico, 10 mg; antioxidante, 65 mg.

(**) Premix mineral fornece (por kg de dieta): ferro, 60 mg; cobre 4 mg; zinco 40 mg; manganês, 65 mg; iodo, 0,8 mg; cobalto 0,2 mg; selênio, 0,1 mg.

TABELA 7 - Esquema dos tratamentos utilizados no Experimento 2

Tratamentos	Drogas
CON2	Controle
COL1	Colestiramina (0,2%)
COL2	Colestiramina (0,3%)
LOV4	Lovastatina (0,005%)

3.3. Avaliação do desempenho das aves

Diariamente, todos os ovos eram colhidos e pesados para se obter o registro da produção e o peso médio dos mesmos, por repetição.

Semanalmente, procedeu-se ao cálculo do consumo de ração, conversão alimentar, por dúzia e por kg de ovos produzidos, peso e produção de ovos.

3.4 Determinação da qualidade do ovo

Para a avaliação da qualidade da casca, ao término dos experimentos, foi determinada a gravidade específica de 15 ovos por tratamento (três por repetição) no experimento 1 e de 16 ovos por

tratamento (quatro por repetição) no experimento 2, empregando-se o método das soluções salinas preconizado com concentrações crescentes variando de 1,062 a 1,102, com 0,004 de incremento entre elas (HAMILTON, 1982).

Os mesmos ovos foram quebrados para avaliação da qualidade do albúmen em unidades Haugh, adotando-se a média de três medidas da altura do albúmen a uma distância intermediária entre a gema e a extremidade do mesmo.

As cascas dos ovos foram lavadas com água corrente, mantidas em estufa à 60°C por 24 horas para secagem e pesadas individualmente. A seguir, procedeu-se à medida da espessura das cascas, utilizando-se como resultado a média de três valores obtidos a partir de fragmentos retirados do “equador” da casca do ovo.

3.5 Determinação dos lípides plasmáticos

Ao término dos experimentos colheu-se, através de punção da veia axial, 5 mL de sangue de 10 aves por tratamento. As seringas e os tubos de vidro, providos de rolha de borracha, continham como anticoagulante solução de heparina (5000 UI/mL). A colheita foi realizada no período da manhã, imediatamente após a postura de cada ave, sendo cada amostra constituída por um “pool” de sangue colhido de duas aves. As

amostras de sangue heparinizado foram submetidas à centrifugação a 1400G durante 5 min, para separação do plasma.

Os triglicérides foram determinados pelo método enzimático colorimétrico descrito por FOSSATI e PRENCIPE (1982), utilizando-se *kit* comercial marca Bayer[®] n° 6684/6687.

Para a determinação do colesterol total adotou-se método enzimático colorimétrico, de acordo com técnica de SIEDEL *et al.* (1983), com uso de *kit* comercial marca Boehringer[®] n° 1 497 456.

A determinação do HDL-colesterol foi realizada mediante uso de *kit* comercial marca Bayer[®] n° 6671. Procedeu-se a separação das lipoproteínas de alta densidade do plasma pela adição de reagente precipitante (LOPEZ e VIRELLA, 1977) e, após centrifugação, o conteúdo de colesterol da fração HDL do sobrenadante foi determinado pelo método enzimático colorimétrico descrito por ALLAIN *et al.* (1974).

As análises foram processadas em analisador bioquímico automático modelo RA-100 da marca Technicon[®].

3.6 Determinação do colesterol na gema do ovo

Ao final do período experimental, procedeu-se a colheita de quatro ovos por repetição. Os ovos foram pesados individualmente e cozidos durante 5 min após o início da ebulição da água, sendo resfriados a

temperatura ambiente. As gemas foram separadas e pesadas individualmente e, em seguida, homogeneizadas empregando-se graal e pistilo, de modo a se obter, cinco e quatro amostras (cada uma constituída por um "pool" de quatro gemas) por tratamento, respectivamente, para os experimentos 1 e 2, e armazenadas em *freezer* a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Utilizou-se 0,1 g de gema para cada determinação. A saponificação direta dos lípidos e a extração da fração insaponificável foram realizadas segundo HAMIL e SOLIMAN (1994). As amostras foram processadas em duplicatas e determinou-se paralelamente a matéria seca das gemas deixando-as em estufa a 65°C durante 24 horas. Ao final do procedimento, rediluiu-se a fase orgânica com volume conhecido de etanol (JIANG *et al.*, 1991). Utilizou-se o padrão de colesterol da Merck como padrão externo.

Determinou-se o colesterol da gema através da CLAE. A fase móvel era composta por acetonitrila e 2-propanol (3:1) e o fluxo utilizado foi de 1,0 mL/min. Uma alíquota do etanol contendo a amostra foi filtrada em membrana de $0,45\text{ }\mu\text{m}$ de poro. As amostras foram injetadas com um *loop* de $20\text{ }\mu\text{L}$, sendo o detector de ultravioleta ajustado em 215 nm (JIANG *et al.*, 1991).

Ao término do período experimental, verificou-se ainda a relação entre o peso dos ovos e das gemas analisados, bem como a relação entre o peso das gemas e o seu teor de colesterol, abrangendo todos os tratamentos estudados em cada experimento.

3.7 Análise estatística

Para a interpretação estatística dos resultados foi utilizado delineamento tipo blocos casualizados, com cinco repetições por tratamento no experimento 1 e quatro no experimento 2, empregando-se análise de variância com um critério de classificação. O teste de Duncan foi aplicado para a realização do contraste entre médias. No estudo da relação entre peso do ovo e peso da gema, e peso da gema e seu teor de colesterol foi utilizado o coeficiente de correlação e suas respectivas equações de regressão. A análise estatística foi realizada mediante o uso do *software* "Statistical Analysis System" (SAS, 1985). O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 Experimento 1

4.1.1 Desempenho das aves

Os valores médios de peso e produção de ovos, consumo de ração e conversão alimentar, expressa em kg de alimento por dúzia e por kg de ovos, obtidos no experimento 1 e de acordo com os tratamentos preconizados, podem ser vistos na Tab.8.

TABELA 8 - Peso médio do ovo (g), índice de postura (%), consumo (g/ave/dia) e conversão alimentar, e seus respectivos erros da média, de acordo com os tratamentos estudados (Experimento 1)

Tratamentos	Peso do ovo (g)	Postura (%)	Consumo de ração (g/ave/dia)	Conversão alimentar kg de ração por	
				dúzia de ovos	kg de ovos
CON1	59,5 ^{a*} ± 0,2	85,9 ^a ± 1,2	121,4 ^a ± 1,2	1,71 ^a ± 0,02	2,40 ^a ± 0,03
PROB	59,1 ^a ± 0,2	87,2 ^{ab} ± 1,1	121,4 ^a ± 1,2	1,68 ^a ± 0,02	2,37 ^a ± 0,03
GEMF	60,2 ^b ± 0,1	89,0 ^{bc} ± 0,7	118,9 ^a ± 1,0	1,61 ^b ± 0,02	2,22 ^b ± 0,02
LOV1	59,1 ^a ± 0,2	91,5 ^c ± 0,7	120,4 ^a ± 0,8	1,58 ^b ± 0,01	2,23 ^b ± 0,02
LOV2	59,5 ^a ± 0,2	89,3 ^{bc} ± 0,5	118,8 ^a ± 1,2	1,60 ^b ± 0,02	2,24 ^b ± 0,02
LOV3	59,3 ^a ± 0,2	86,9 ^{ab} ± 0,9	134,0 ^b ± 2,5	1,86 ^c ± 0,04	2,61 ^c ± 0,05

* Médias com letras distintas nas colunas denotam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Duncan

A Tab.8 mostra que houve aumento de significado estatístico, no peso médio dos ovos produzidos pelas aves que receberam o Gemfibrozil a 0,025% (GEMF) na dieta (60,2 g) quando comparado com a média de 59,5 g auferida no grupo controle (CON1). Tais aves ainda alcançaram taxa de postura (89,0%) significativamente mais elevada em relação ao CON1 (85,9%). O Probulcol a 0,1% (PROB) e a Lovastatina, administrada nos 3 níveis (LOV1, LOV2, LOV3), não determinaram alterações significativas no peso médio dos ovos em comparação ao CON1. No grupo PROB também não foram assinaladas diferenças de significado estatístico na postura, consumo de ração e, conseqüentemente, na conversão alimentar. A Lovastatina, quando administrada a 0,0005% (LOV1) e 0,001% (LOV2) na dieta, também foi responsável por aumento significativo na taxa de postura,

revelando valores de, respectivamente, 91,5% e 89,3%, superiores ao valor de 85,9% consignado pelo CON1. As aves dos grupos GEMF, LOV1 e LOV2 também revelaram melhora nos valores de conversão alimentar, expressos em kg de ração consumida por dúzia de ovos e por kg de ovos produzidos. O consumo médio de ração foi maior nas aves do grupo LOV3 (134,0 g), que recebeu 0,0015% da droga, provocando piora na conversão alimentar. Com exceção do LOV3, os demais tratamentos registraram melhoras na conversão alimentar quando em comparação ao grupo CON1.

4.1.2. Qualidade do ovo

Os valores médios das variáveis que expressam a qualidade do ovo, como gravidade específica dos ovos, peso da casca (g e % do peso do ovo), espessura da casca (mm) e qualidade do albúmen (unidades Haugh), conforme os tratamentos estudados, são apresentados na Tab.9.

TABELA 9 - Variáveis que expressam a qualidade do ovo, e seus respectivos erros da média, de acordo com os tratamentos estudados (Experimento 1)

Tratamentos	Gravidade específica	Peso da casca		Espessura da casca (mm)	Unidades Haugh (%)
		(g)	(% do peso)		
CON1	1,0848 ^{a*} ± 0,0008	5,37 ^a ± 0,13	9,00 ^a ± 0,11	0,374 ^a ± 0,005	89,5 ^a ± 1,6
PROB	1,0832 ^a ± 0,0013	5,28 ^a ± 0,11	8,65 ^a ± 0,16	0,365 ^a ± 0,007	93,5 ^a ± 2,0
GEMF	1,0820 ^a ± 0,0012	4,98 ^a ± 0,16	8,61 ^a ± 0,21	0,354 ^a ± 0,010	93,4 ^a ± 1,0
LOV1	1,0848 ^a ± 0,0013	5,35 ^a ± 0,12	9,03 ^a ± 0,15	0,370 ^a ± 0,006	90,5 ^a ± 2,6
LOV2	1,0840 ^a ± 0,0015	5,10 ^a ± 0,15	8,67 ^a ± 0,23	0,365 ^a ± 0,010	91,6 ^a ± 1,7
LOV3	1,0828 ^a ± 0,0012	5,27 ^a ± 0,09	8,67 ^a ± 0,12	0,366 ^a ± 0,006	91,6 ^a ± 2,1

* Médias com mesmas letras nas colunas não denotam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Duncan

A Tab.9 mostra que não houve alteração nos valores de gravidade específica dos ovos, peso e espessura da casca, pela adição das drogas à ração das aves. Apenas a adição de Gemfibrozil (GEMF) provocou leve redução, sem significado estatístico, desses valores em relação ao CON1. A altura do albúmen, em unidades Haugh, também não sofreu alteração significativa, sendo que todos os agentes farmacológicos estudados mostraram tendência a melhorar a qualidade do albúmen.

4.1.3. Níveis de lípidos plasmáticos

Os valores médios de triglicérides, colesterol total e HDL-colesterol, expressos em mg/dL de plasma, ilustrados a seguir nas Fig.7, 8 e 9, e seus percentuais de alteração em relação ao grupo controle (CON1), conforme os tratamentos preconizados no presente experimento, são mostrados na Tab.10.

TABELA 10 - Concentrações médias de triglicérides, colesterol total e HDL-colesterol no plasma sanguíneo, seus respectivos erros da média e percentuais de alteração em relação ao controle, conforme os tratamentos estudados (Experimento 1)

Tratamentos	Triglicérides		Colesterol total		HDL-Colesterol	
	(mg/dL)	% de alteração **	(mg/dL)	% de alteração **	(mg/dL)	% de alteração **
CON1	2124 ^{a*} ± 236	—	144,6 ^a ± 16,8	—	9,6 ^a ± 2,7	—
PROB	1606 ^{ab} ± 217	-24,4	101,8 ^b ± 10,5	-29,6	10,8 ^a ± 0,7	+12,5
GEMF	1584 ^{ab} ± 360	-25,4	100,6 ^b ± 23,5	-30,4	7,9 ^a ± 2,0	-17,7
LOV1	1664 ^{ab} ± 137	-21,7	114,2 ^{ab} ± 7,3	-21,0	12,3 ^a ± 2,6	+28,1
LOV2	1306 ^b ± 195	-38,5	92,6 ^b ± 8,0	-36,0	11,0 ^a ± 2,0	+14,6
LOV3	1401 ^{ab} ± 141	-34,0	91,4 ^b ± 9,4	-36,8	10,3 ^a ± 1,9	+7,3

* Médias com letras distintas nas colunas denotam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Duncan

** Porcentagem de alteração em relação ao grupo controle (CON1)

Todas as drogas utilizadas determinaram redução na concentração média de triglicérides das aves em relação ao grupo CON1 (Tab.10), sendo que, no entanto, apenas o valor do grupo LOV2

(1306mg/dL) apresentou diferença estatística, consignando uma decréscimo de 38,5% do teor desse lípide no plasma (Tab.10 e Fig.7) em relação ao CON1 (2124 mg/dL). As mesmas drogas foram também responsáveis por reduções nos níveis de colesterol total plasmático em relação ao valor de 144,6 mg/dL auferido no CON1, sendo que apenas no grupo LOV1 não foi consignada significância (Tab.10 e Fig.8). As alterações mais marcantes nas concentrações de triglicérides e de colesterol total foram observadas nos grupos LOV2 e LOV3, que proporcionaram quedas de, respectivamente, 38,5% e 34,0% nos triglicérides e de 36,0% e 36,8% no colesterol em comparação com o CON1 (Tab.10). A adição de Probucol e de Gemfibrozil na dieta (PROB e GEMF) foi responsável também por reduções significativas, de 29,6% e 30,4%, respectivamente, nos teores de colesterol total no plasma das aves, quando cotejados com o grupo CON1. Quanto aos valores de HDL-colesterol, não foram detectadas diferenças de significado estatístico nos tratamentos em relação ao CON1 (Tab.10 e Fig.9). Pode-se observar ainda que decréscimos nos valores de triglicérides são acompanhados por reduções na concentração de colesterol total, seguindo essas alterações um paralelismo.

FIGURA 7 - Níveis médios de triglicérides (mg/dL) no plasma de galinhas poedeiras conforme os tratamentos estudados (Experimento 1)

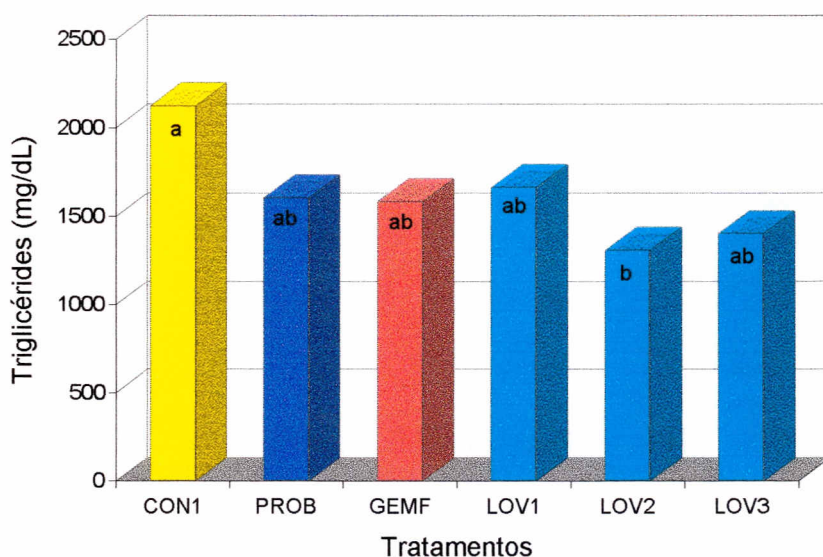


FIGURA 8 - Níveis médios de colesterol total (mg/dL) plasmático de galinhas poedeiras submetidas aos tratamentos estudados (Experimento 1)

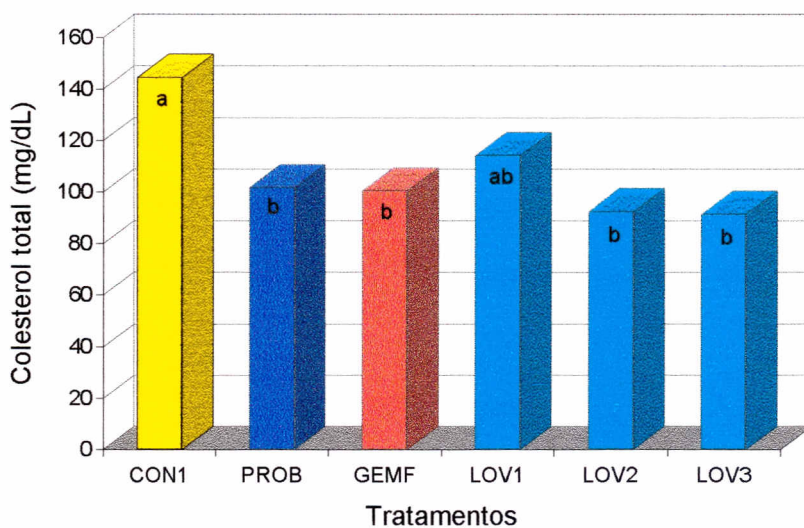
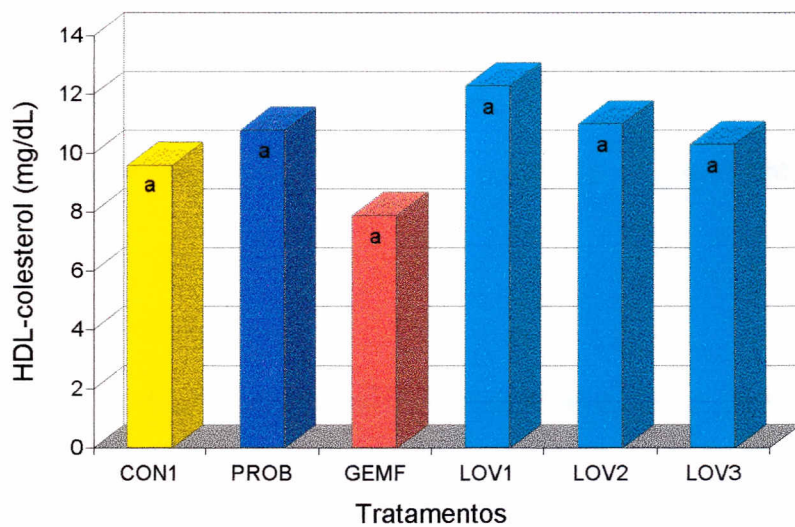


FIGURA 9 - Níveis médios de HDL-colesterol (mg/dL) no plasma de galinhas poedeiras de acordo com os tratamentos estudados (Experimento 1)



4.1.4 Teores de colesterol no ovo

Os valores médios de colesterol na gema, apresentados graficamente nas Fig.10 e 11, seus percentuais de alteração em relação ao grupo controle (CON1), e as médias dos pesos dos ovos (g) e gemas (g) analisados, conforme os tratamentos do presente experimento, estão contidos na Tab.11.

TABELA 11 - Níveis médios de colesterol na gema (total e por g), percentuais de alteração em relação ao controle e peso médio da gema (g) e do ovo (g), com seus respectivos erros da média, conforme os tratamentos estudados (Experimento 1)

Tratamentos	Colesterol na gema				Peso médio da gema (g)	Peso médio do ovo (g)
	(mg/gema)	% de alteração **	(mg/g)	% de alteração **		
CON1	227,2 ^{a*} ± 6,1	—	13,4 ^a ± 0,2	—	17,0 ^a ± 0,2	61,5 ^{abc} ± 0,7
PROB	230,9 ^a ± 4,4	+1,6	13,1 ^{ab} ± 0,3	-2,0	17,6 ^b ± 0,2	62,2 ^{ab} ± 0,6
GEMF	218,7 ^{ab} ± 5,9	-3,7	12,7 ^{ab} ± 0,3	-5,0	17,2 ^{ab} ± 0,1	62,3 ^a ± 0,2
LOV1	213,0 ^b ± 4,6	-6,3	12,4 ^{bc} ± 0,2	-7,4	17,2 ^{ab} ± 0,2	60,5 ^{abc} ± 0,2
LOV2	213,7 ^b ± 5,1	-6,9	12,7 ^{ab} ± 0,3	-5,3	17,0 ^a ± 0,1	60,1 ^{bc} ± 1,0
LOV3	190,7 ^c ± 3,0	-16,1	11,8 ^c ± 0,1	-12,1	16,2 ^c ± 0,1	59,5 ^c ± 0,9

* Médias com letras distintas nas colunas denotam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Duncan.

** Porcentagem de alteração em relação ao grupo controle (CON1)

No experimento 1 foi verificada redução significativa nos teores de colesterol do ovo (mg/gema) das aves que receberam Lovastatina nos três níveis estudados (LOV1, LOV2 e LOV3), em comparação com o grupo

CON1. A redução foi mais evidente (16,1%) com a utilização de 0,0015% (LOV3), nível mais elevado da droga (Tab.11 e Fig.10). Quando a concentração de colesterol foi expressa em mg/g de gema (Tab.11 e Fig.11), verificou-se diminuição significativa nos tratamentos LOV1 (7,4%) e LOV3 (12,1%) em relação ao CON1, podendo-se observar essa tendência também no LOV2 (5,3%). Com a utilização de Probucof (PROB) e Gemfibrozil (GEMF) não foram observadas diferenças significativas em relação aos níveis de colesterol na gema, tanto expressos em mg/gema como em mg/g de gema, quando em cotejo com o grupo controle (CON1).

O peso médio das gemas pertencentes ao grupo LOV3, analisadas ao final do experimento, mostrou-se significativamente menor que o do CON1, enquanto que no grupo PROB revelou-se significativamente maior. No tocante ao peso médio dos ovos, não houve diferenças de significado estatístico quando os valores obtidos pelos grupos que receberam as drogas foram comparados aos do CON1. Observou-se, entretanto, que os ovos do LOV3 mostraram-se significativamente menores em relação aos dos grupos PROB e GEMF.

FIGURA 10 - Teores médios de colesterol na gema (mg/gema) de acordo com os tratamentos estudados (Experimento 1)

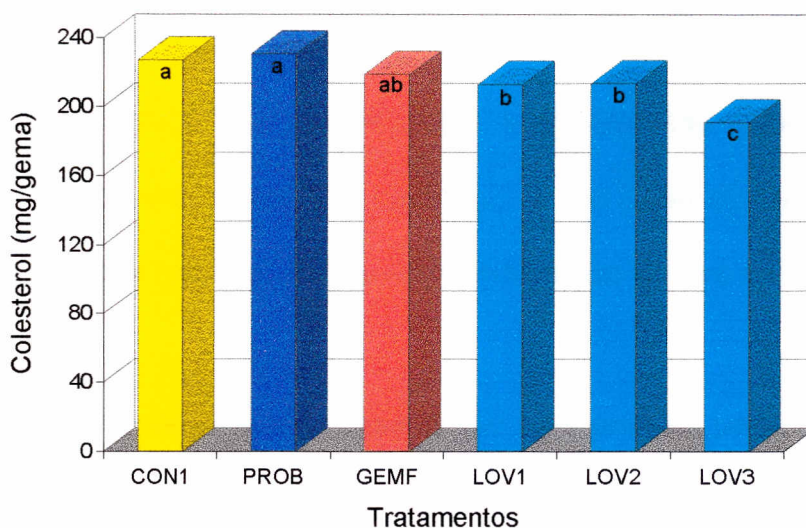
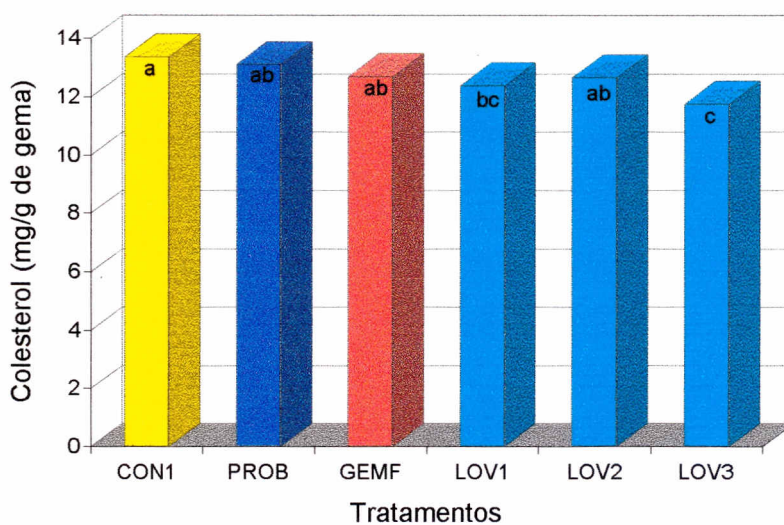


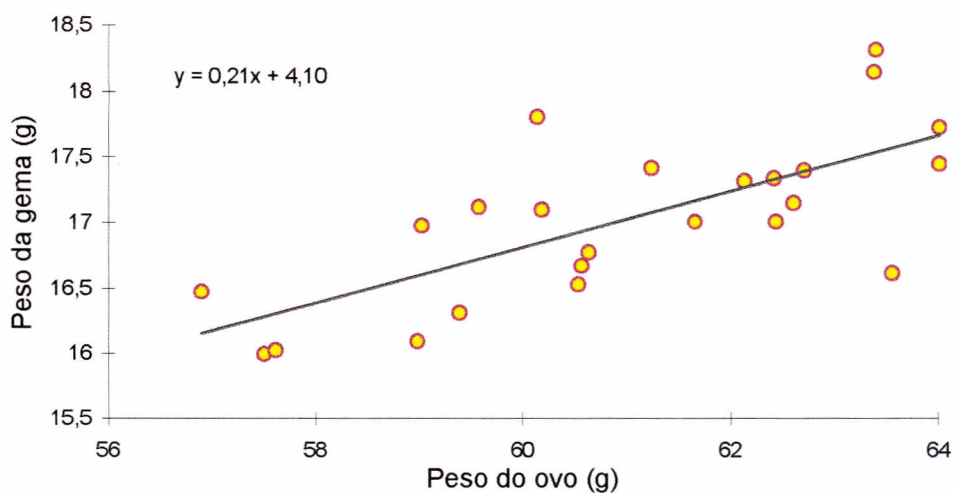
FIGURA 11 - Concentrações médias de colesterol na gema (mg/g de gema) nos diferentes tratamentos estudados (Experimento 1)



4.1.4.1 Relação entre peso do ovo e da gema

O coeficiente de correlação obtido entre o peso do ovo e o da gema foi significativo, com valor de $r=0,7136$. A equação de regressão, representada graficamente na Fig.12, expressa como: $y = 0,21x + 4,10$; onde y é o peso da gema (g), e x o peso do ovo (g), indica que o peso da gema aumenta conforme o peso do ovo se eleva.

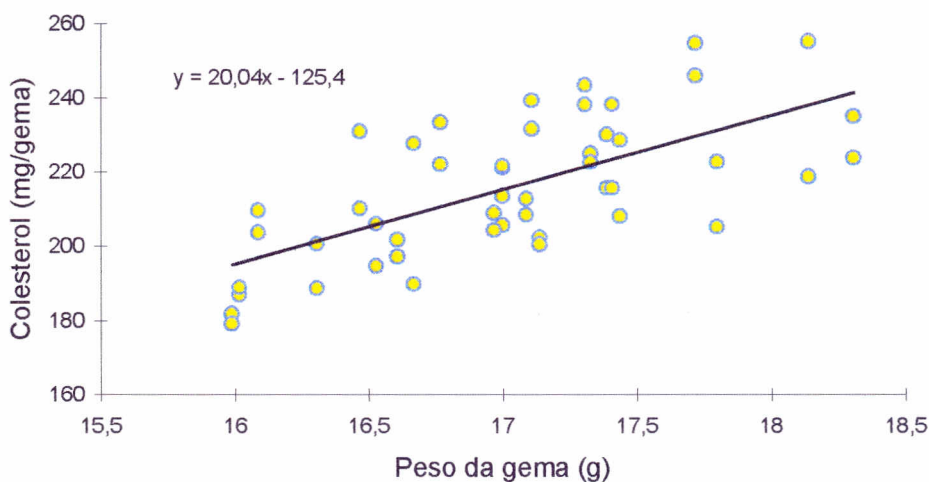
FIGURA 12 - Relação entre peso do ovo (g) e peso da gema (g) no Experimento 1



4.1.4.2 Relação entre peso da gema e seu teor de colesterol

A correlação calculada entre o peso da gema e o seu teor de colesterol mostrou-se significativa, com valor de $r=0,6676$, sendo essa relação, representada graficamente na Fig.13 e demonstrada pela seguinte equação de regressão: $y = 20,04x - 125,4$; onde y é o teor de colesterol da gema (mg/ gema), e x o peso da gema (g), indicando que um aumento no peso da gema corresponderia a um incremento nos seus níveis de colesterol.

FIGURA 13 - Relação entre peso da gema (g) e seu teor de colesterol (mg/gema) no Experimento 1



4.2 Experimento 2

4.2.1 Desempenho das aves

As médias de peso e produção de ovos, consumo de ração e conversão alimentar, em kg de alimento por dúzia e por kg de ovos, obtidas no experimento 2 são mostradas na Tab.12.

TABELA 12 - Peso médio do ovo (g), índice de postura (%), consumo (g/ave/dia) e conversão alimentar, e seus respectivos erros da média, de acordo com os tratamentos estudados (Experimento 2)

Tratamentos	Peso do ovo (g)	Postura (%)	Consumo de ração (g/ave/dia)	Conversão alimentar kg de ração por	
				dúzia de ovos	kg de ovos
CON2	53,8 ^{a*} ±0,2	88,0 ^a ±0,8	87,5 ^a ±1,2	1,20 ^a ±0,02	1,85 ^a ±0,03
COL1	53,1 ^b ±0,3	90,4 ^a ±1,0	90,7 ^{ab} ±1,4	1,21 ^a ±0,02	1,90 ^{ab} ±0,04
COL2	52,8 ^b ±0,2	89,5 ^a ±1,1	92,7 ^b ±1,5	1,25 ^a ±0,03	1,97 ^b ±0,04
LOV4	52,6 ^b ±0,2	90,9 ^a ±1,1	89,1 ^{ab} ±1,5	1,18 ^a ±0,03	1,87 ^{ab} ±0,04

* Médias com letras distintas nas colunas denotam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Duncan.

A adição de Colestiramina a 0,2% (COL1) e 0,3% (COL2) e de Lovastatina a 0,005% (LOV4) à ração determinou redução significativa no peso dos ovos produzidos, em relação ao controle (CON2). A taxa de postura não sofreu alteração de significado estatístico, sendo entretanto menor nas aves do CON2. De um modo geral, a adição das drogas à ração elevou o consumo alimentar, sendo a diferença com o CON2 (87,5%)

julgada de significado estatístico para o grupo COL2 (92,2 g). Os valores de conversão alimentar, expressos em kg de ração por dúzia de ovos, não apresentaram diferenças entre tratamentos; no entanto, quando expressos em kg de ração por kg de ovos, observou-se piora nos tratamento em relação ao CON2, com comportamento similar ao do consumo, ou seja, apenas o grupo COL2 (1,97) registrou diferença estatisticamente significativa.

4.2.2. Qualidade do ovo

Os valores médios da gravidade específica, peso da casca (g e % do peso do ovo), espessura da casca (mm) e qualidade do albúmen (unidades Haugh) de acordo com os tratamentos estudados no experimento 2, são apresentados na Tab.13.

TABELA 13 - Variáveis que expressam a qualidade do ovo e seus respectivos erros da média, conforme os tratamentos estudados (Experimento 2)

Tratamentos	Gravidade específica	Peso da casca		Espessura da casca (mm)	Unidades Haugh (%)
		(g)	(% do peso)		
CON2	1,0893 ^{a*} ± 0,0013	5,20 ^a ± 0,14	9,36 ^a ± 0,17	0,380 ^a ± 0,006	97,5 ^{ab} ± 1,3
COL1	1,0888 ^a ± 0,0012	5,01 ^a ± 0,12	9,30 ^a ± 0,20	0,374 ^a ± 0,007	96,0 ^b ± 1,2
COL2	1,0903 ^a ± 0,0012	5,10 ^a ± 0,11	9,46 ^a ± 0,17	0,383 ^a ± 0,007	96,5 ^{ab} ± 1,0
LOV4	1,0910 ^a ± 0,0009	5,13 ^a ± 0,11	9,51 ^a ± 0,11	0,385 ^a ± 0,006	99,6 ^a ± 1,0

* Médias com mesmas letras nas colunas não denotam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Duncan.

A Tab.13 mostra que não houve diferenças entre os tratamentos em relação à qualidade da casca, verificando-se que os valores das médias de gravidade específica dos ovos e peso e espessura da casca encontram-se muito próximos. No relativo à qualidade do albúmen, não foram assinaladas diferenças significativas dos resultados dos grupos COL1, COL2 e LOV4 em comparação com o CON2, sendo que a Colestiramina fornecida em nível de 0,1% (COL1) apresentou valor médio de unidade Haugh significativamente inferior ao grupo LOV4.

4.2.3 Níveis de lípides plasmáticos

Os níveis médios de triglicérides, colesterol total e HDL-colesterol, em mg/dL de plasma sanguíneo, e seus respectivos percentuais

em relação ao grupo controle (CON2), conforme os tratamentos estudados no presente experimento, são mostrados na Tab.14 e representados graficamente nas Fig.14, 15 e 16.

TABELA 14 - Concentrações médias de triglicérides, colesterol total e HDL-colesterol no plasma, respectivos erros da média e percentuais de alteração em relação ao controle, conforme os tratamentos estudados (Experimento 2)

Tratamentos	Triglicérides		Colesterol total		HDL-Colesterol	
	(mg/dL)	% de alteração **	(mg/dL)	% de alteração **	(mg/dL)	% de alteração **
CON2	1076 ^{a*} ± 103	—	86,2 ^a ± 6,7	—	3,4 ^a ± 0,3	—
COL1	1130 ^a ± 110	+5,1	85,5 ^a ± 6,7	-0,8	3,1 ^a ± 0,2	-8,8
COL2	1057 ^a ± 157	-1,7	84,6 ^a ± 10,0	-1,9	2,8 ^a ± 0,3	-17,6
LOV4	915 ^a ± 98	-14,9	77,5 ^a ± 5,0	-10,1	3,2 ^a ± 0,2	-5,9

* Médias com letras distintas nas colunas denotam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Duncan.

** Porcentagem de alteração em relação ao grupo controle (CON2)

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas nos níveis de lípides plasmáticos entre os tratamentos estudados, podendo-se notar que, em relação ao CON2, a Lovastatina (LOV4) mostrou tendência mais acentuada em reduzir os valores médios de triglicérides (14,9%) e de colesterol total (10,1%) (Tab.14, Fig.14 e 15) e a Colestiramina em nível de 0,3% (COL2) em diminuir o HDL-colesterol (17,6%) (Tab.14 e Fig.16).

FIGURA 14 - Níveis médios de triglicérides (mg/dL) plasmáticos de galinhas poedeiras submetidas aos tratamentos estudados (Experimento 2)

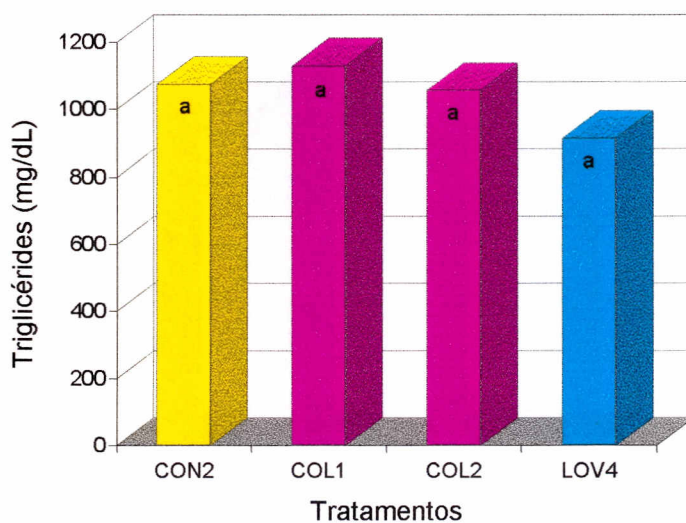


FIGURA 15 - Níveis médios de colesterol total (mg/dL) plasmáticos de galinhas poedeiras submetidas aos tratamentos estudados (Experimento 2)

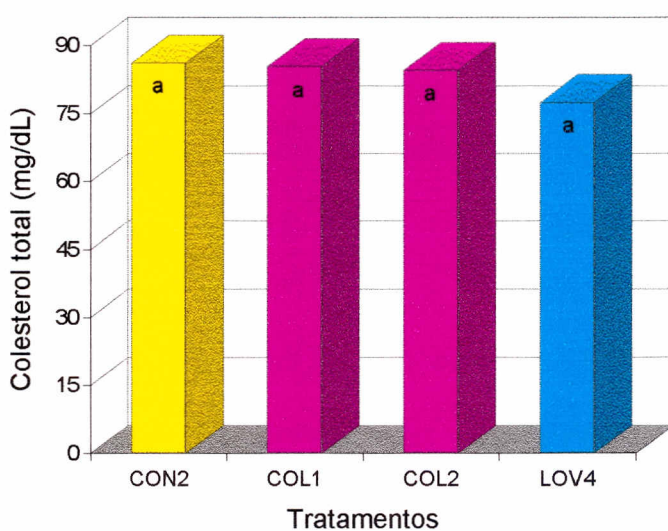
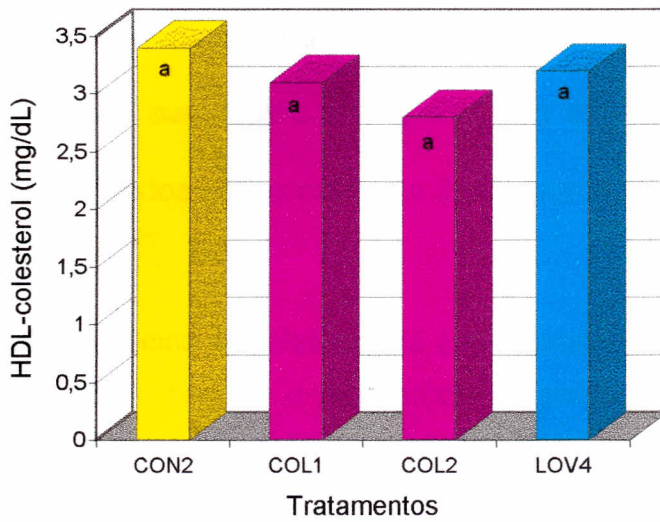


FIGURA 16 - Níveis médios de HDL-colesterol (mg/dL) plasmáticos de galinhas poedeiras submetidas aos tratamentos estudados (Experimento 2)



4.2.4. Teores de colesterol no ovo

Os níveis médios de colesterol na gema, ilustrados graficamente nas Fig.17 e 18, seus percentuais em relação ao controle (CON2), e as médias do peso dos ovos (g) e das gemas (g) estudados, conforme os tratamentos preconizados no experimento 2, são apresentados na Tab.15.

TABELA 15 - Níveis médios de colesterol na gema (total e por g), percentuais de alteração em relação ao controle e peso médio da gema (g) e do ovo (g), com seus respectivos erros da média, conforme os tratamentos estudados (Experimento 2)

Tratamentos	Colesterol na gema				Peso médio da gema (g)	Peso médio do ovo (g)
	(mg/gema)	% de alteração **	(mg/g)	% de alteração **		
CON2	164,2 ^{a*} ± 4,4	—	12,3 ^a ± 0,2	—	13,3 ^a ± 0,2	53,5 ^a ± 0,5
COL1	184,3 ^b ± 5,9	+12,2	12,8 ^a ± 0,3	+4,3	14,4 ^b ± 0,2	54,7 ^a ± 0,5
COL2	181,5 ^b ± 1,3	+10,5	12,9 ^a ± 0,1	+4,5	14,1 ^b ± 0,1	54,6 ^a ± 0,3
LOV4	168,1 ^a ± 5,3	+2,3	12,1 ^a ± 0,4	-1,8	13,9 ^b ± 0,2	54,3 ^a ± 0,4

* Médias com letras distintas nas colunas denotam diferenças significativas ($P < 0,05$) pelo teste de Duncan.

** Porcentagem de alteração em relação ao grupo controle (CON2)

Não foram observadas diferenças de significado estatístico entre os tratamentos em relação à concentração de colesterol, expressa em mg/g de gema, verificando-se tendência do grupo LOV4 a diminuir a concentração dessa substância (Fig.18). No entanto, em relação ao CON2, as gemas utilizadas para a determinação do colesterol dos demais grupos

registraram peso médio estatisticamente aumentado, colaborando com o crescimento significativo dos teores de colesterol (Fig.17), expressos em mg/gema, nos ovos dos grupos COL1 (12,23%) e COL2 (10,52%), sem produzir efeitos significativos no grupo LOV4. Não houve diferenças no relativo ao peso médio dos ovos analisados ao término do experimento.

FIGURA 17 - Teores médios de colesterol na gema (mg/gema) de acordo com os tratamentos estudados (Experimento 2)

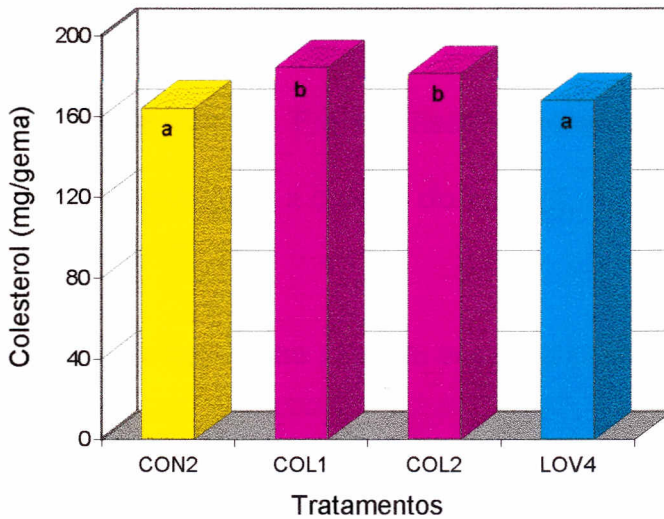
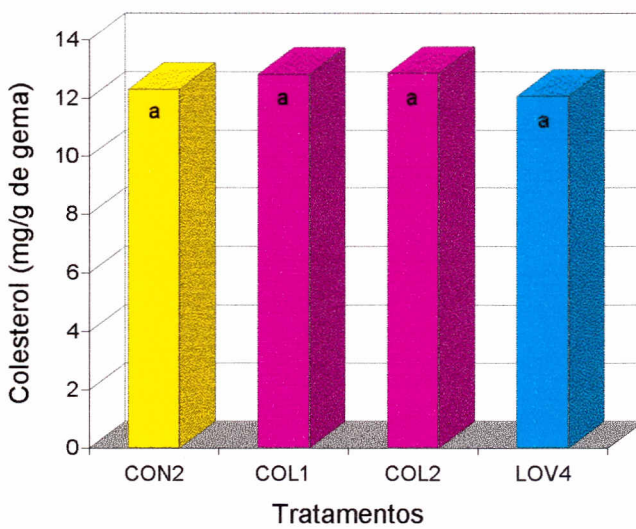


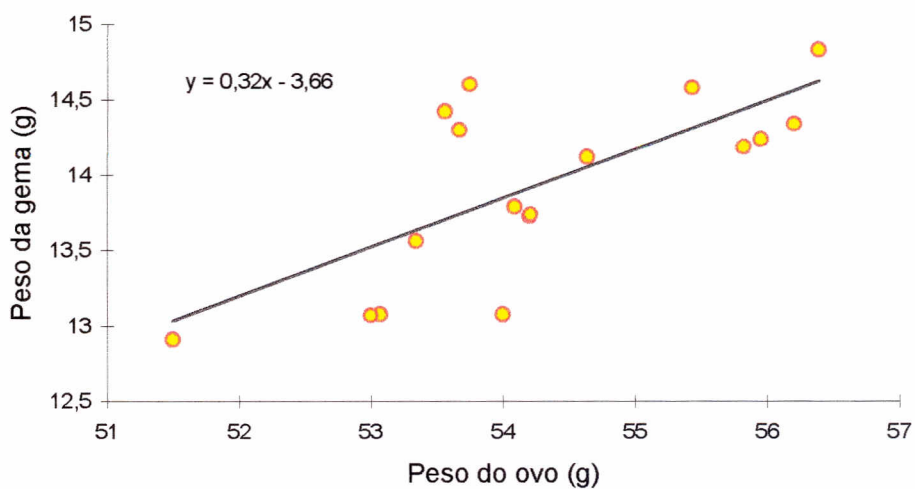
FIGURA 18 - Concentrações médias de colesterol na gema (mg/g de gema) nos diferentes tratamentos estudados (Experimento 2)



4.2.4.1 Relação entre peso do ovo e da gema

A correlação calculada entre o peso do ovo e da gema mostrou-se significativa, com valor de $r=0,7035$, sendo a equação de regressão, representada graficamente na Fig.19, assim expressa: $y = 0,32x - 3,66$; onde y é o peso da gema (g), e x o peso do ovo (g).

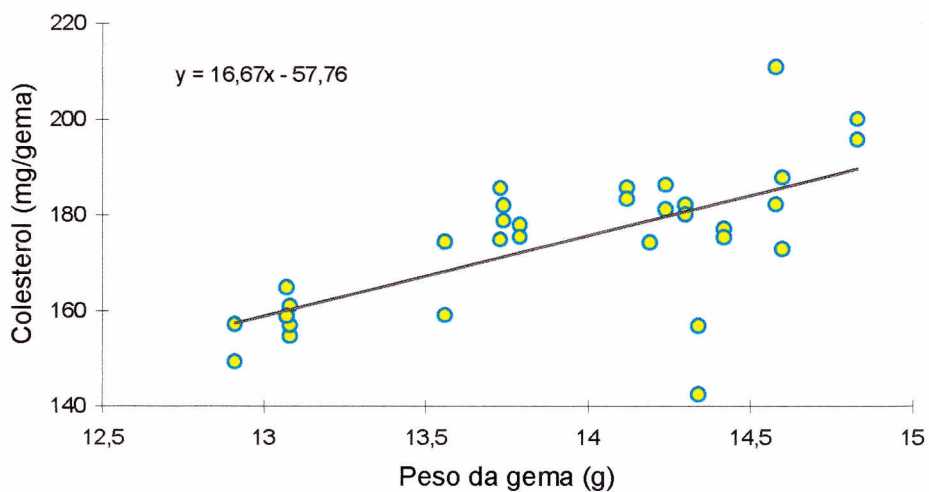
FIGURA 19 - Relação entre peso do ovo (g) e peso da gema (g) no Experimento 2



4.2.4.2 Relação entre peso da gema e seu teor de colesterol

Verificou-se ainda a existência de correlação significativa entre o peso da gema e o seu teor de colesterol, sendo $r=0,6563$. Tal relação, representada graficamente na Fig.20, pode ser demonstrada pela seguinte equação: $y = 16,67x - 57,76$; onde y é o teor de colesterol da gema (mg/gema), e x o peso da gema (g).

FIGURA 20 - Relação entre peso da gema (g) e seu teor de colesterol (mg/gema) no Experimento 2



5 DISCUSSÃO

5.1 Desempenho das aves

De um modo geral, o consumo médio de ração no experimento 1 foi maior que o consignado no experimento 2. Tais diferenças poderiam ser atribuídas, em parte, aos tipos de rações utilizadas e épocas do ano em que os experimentos foram conduzidos.

A adição de Probucol a 0,1% (PROB) na ração não causou prejuízo no desempenho das aves, avaliado pelo peso médio dos ovos, índice de postura, consumo de ração e conversão alimentar (Tab.8), concordando com os resultados de NABER *et al.* (1982) e WALDROUP *et al.* (1986). Na presente pesquisa, o Probucol revelou tendência para elevar

o índice de postura das aves (87,2%) quando comparado ao grupo controle (85,9%), aumento este também observado pelos autores anteriormente citados.

Quanto ao Gemfibrozil, não foram encontrados na literatura estudos que mostrem o efeito desta droga em galinhas. No entanto, WEISS *et al.* (1967b), ao utilizarem nessa espécie outro fibrato, o Colestipol, verificaram que a adição de 0,2% da droga à ração determinou grande prejuízo para a produção causando, após duas semanas, cessação da postura na metade das aves. Em níveis de 0,6% e 0,4%, o Colestipol foi responsável por completa inibição da produção de ovos após três e sete dias, respectivamente. Entretanto, no presente experimento, o Gemfibrozil fornecido a 0,025% na dieta (GEMF) causou até mesmo aumento no índice de postura e no peso médio dos ovos, sem alterar o consumo, o que provocou melhora na conversão alimentar (Tab.8). Apesar de ambas as drogas pertencerem ao grupo dos fibratos, as mesmas apresentam ações biológicas distintas, sendo o Gemfibrozil de toxicidade reduzida, confirmada por FRICK *et al.* (1987), que não consignaram efeitos adversos em seres humanos que receberam a droga por longos períodos.

No experimento 2, a Colestiramina em nível de 0,2% (COL1) não proporcionou alteração no consumo de ração em relação ao grupo CON2 (Tab.12), concordando com as observações de UEDA *et al.* (1995), que administraram níveis mais elevados da droga, de 2 a 4%, para pintos. Entretanto, quando fornecida a 0,3% (COL2), a Colestiramina foi responsável por aumento significativo do consumo alimentar em

comparação com o grupo CON2 (Tab.12). Ao contrário, no homem, BERTOLAMI (1992) relata queixas de pacientes quanto ao seu paladar desagradável, fato que poderia justificar uma diminuição da ingestão da droga nesta espécie. Em níveis de 0,2% (COL1) e 0,3% (COL2), a Colestiramina não determinou alterações nos índices de postura das aves, concordando com os achados de LUHMAN *et al.* (1990) ao utilizarem o Colestipol, droga pertencente ao mesmo grupo da Colestiramina.

No experimento 1, a adição de Lovastatina (LOV1, LOV2 e LOV3) não alterou o peso médio dos ovos durante o período experimental (Tab.8), estando de acordo com LUHMAN *et al.* (1990), que utilizaram 0,0035% de Lovastatina na dieta de galinhas *White Leghorn* durante cinco semanas. No experimento 2, onde se utilizou dose maior (0,005%) de Lovastatina (LOV4) em relação ao primeiro experimento, houve redução no peso médio dos ovos (Tab.12), concordando com ELKIN e ROGLER (1990), que registraram declínio no peso do ovo e da gema após adição de 0,0124% e 0,0265% de Lovastatina à ração. Entretanto, esses autores observaram redução no consumo alimentar, o que não foi verificado em ambos os experimentos desta pesquisa, sendo que, no experimento 1, apenas o uso de 0,0015% da droga (LOV3) proporcionou aumento estatisticamente significativo do consumo em relação ao grupo CON1, resultando em pior conversão alimentar (Tab.8). Por outro lado, no experimento 2, com a utilização de 0,005% de Lovastatina (LOV4), não foi consignada diferença de significado estatístico no consumo em relação ao CON2 (Tab.12), concordando com os achados de LUHMAN *et al.* (1990).

ELKIN e ROGLER (1990) e LUHMAN *et al.* (1990) verificaram ainda que a postura e a conversão alimentar, expressa em kg de ração por kg de ovos produzidos, não sofreram alterações com o uso da Lovastatina, estando de acordo com o verificado no experimento 2, mas divergindo do observado no experimento 1, onde ocorreu aumento significativo da produção de ovos e melhora na conversão alimentar nos tratamentos LOV1 e LOV2 em relação ao CON1 (Tab.8). Segundo NABER *et al.* (1982), drogas que limitam a lipogênese hepática não afetariam a produção de ovos em razão de o fígado possuir capacidade para síntese de lípidos muito maior que a necessária para a formação da gema. Em um segundo experimento de curta duração, ELKIN e ROGLER (1990), ao utilizarem doses maiores da Lovastatina (0,0290%; 0,1198% e 0,247%), não verificaram alterações no índice de postura, peso dos ovos e das gemas, assim como conversão alimentar, em aves de 44 semanas de idade. Os autores, além de terem empregado concentrações muito mais elevadas da droga, por volta de até 165 vezes maiores que as adotadas no experimento 1 aqui conduzido, utilizaram as mesmas aves nos dois experimentos, podendo ter havido algum efeito cumulativo da droga. Tais divergências nos resultados que avaliam o desempenho das aves podem ser, em parte, explicadas pela diferença na dose e no tempo de administração da Lovastatina, além da linhagem e idade das aves.

5.2 Qualidade do ovo

Em ambos os experimentos, a utilização dos diferentes agentes farmacológicos não determinou efeitos indesejáveis na qualidade do ovo. Assim, o emprego do Probucol a 0,1% (PROB) na dieta não provocou alterações da qualidade do albúmen (unidades Haugh) e da casca do ovo em relação ao grupo CON1 (Tab.9), corroborando os achados de WALDROUP *et al.* (1986). Apesar de os autores terem encontrado diferenças estatisticamente significativas da altura do albúmen e resistência da casca entre os níveis de Probucol utilizados (de 0,025% a 0,1%), não foi consignada significância em relação ao grupo controle.

Quanto à Lovastatina, em ambos os experimentos não foi observado prejuízo na qualidade da casca do ovo (Tab.9 e 13), concordando com LUHMAN *et al.* (1990), que estudaram o efeito da droga sobre a porcentagem do peso da casca. Os autores registraram valor médio de 8,7% de casca em ovos produzidos por poedeiras que receberam 0,0035% de Lovastatina na dieta, porcentagem semelhante às verificadas no experimento 1 (9,0% no LOV1 e 8,7% nos grupos LOV2 e LOV3) e superior à consignada no experimento 2 (9,5% no grupo LOV4).

5.3 Lípides plasmáticos

De um modo geral, ao se observar os níveis de lípides plasmáticos encontrados nos dois experimentos para os grupos controle, pode-se notar claramente que os mesmos são bem distintos (Tab.10 e 14). No experimento 1, o grupo CON1 apresentou valores médios de triglicérides e colesterol total de 2124 mg/dL e 144,6 mg/dL, respectivamente, bem superiores aos níveis encontrados no CON2, de respectivamente 1076 mg/dL e 86,2 mg/dL. GRIMINGER (1986) estabelece para galinhas poedeiras, valor médio de lípides totais de 2548 mg/dL, sendo 59,7% (1521 mg/dL) representados pelos triglicérides, valor este bem próximo à média auferida entre os dois experimentos (1600 mg/dL). O resultado de colesterol total no sangue, obtido pelo grupo controle, no experimento 1, concorda com aqueles auferidos por WEISS *et al.* (1967b) e LUHMAN *et al.* (1990). Por outro lado, os níveis plasmáticos de triglicérides e colesterol assinalados no experimento 2, para o grupo CON2, estão próximos aos consignados, em aves normais, por ELKIN e ROGLER (1990), de 1231 mg/dL e 89,5 mg/dL, respectivamente. Tais diferenças podem, em parte, ser justificadas pelos fatores: idade da ave (GRIMINGER, 1986; LUHMAN *et al.*, 1990), tipo de dieta (HARGIS, 1988), época do ano e condições ambientais como temperatura e umidade.

No experimento 1, o grupo PROB registrou redução, não significativa, de 24,4% no nível de triglicérides plasmáticos em relação ao CON1 (Tab.10 e Fig.7), concordando com BARNHART *et al.* (1970), que

não observaram efeitos consistentes do Probucol sobre os níveis de triglicérides séricos e hepáticos em ratos. Corroborando tais assertivas, GRUNDY (1990) sugere, em seres humanos, o uso do Probucol apenas na hipercolesterolemia isolada pelo fato de a droga possuir pouca ou nenhuma ação sobre os níveis de triglicérides. Entretanto, NABER *et al.* (1982), verificaram em galinhas poedeiras submetidas ao Probucol, depressão acentuada da lipogênese hepática, traduzida por redução na incorporação do acetato marcado em lípides totais, fosfolípides, colesterol e, principalmente, triglicérides.

O nível de colesterol total das aves submetidas ao tratamento PROB sofreu decréscimo, estatisticamente significativo, de 29,6% (Tab.10 e Fig.8), concordando com as observações de BARNHART *et al.* (1970) em camundongos, ratos e macacos.

Apesar de o Probucol ter elevado o valor médio de HDL-colesterol em 12,5% (Tab.10 e Fig.9) em relação ao CON1, este aumento não foi significativo, discordando de GRUNDY (1990), que assinalou, em seres humanos hipercolesterolêmicos tratados com Probucol, redução de 15 a 25% nesta fração do colesterol.

Ainda no experimento 1, observou-se diminuição de 25,4% nos níveis de triglicérides plasmáticos devido ao Gemfibrozil (GEMF) em comparação ao CON1 (Tab.10 e Fig.7), porém ausente de significado estatístico. Esta tendência é importante em seres humanos com dislipidemia, onde o principal efeito do Gemfibrozil seria a diminuição dos

triglicérides plasmáticos mediante redução de sua síntese hepática e aumento de sua depuração (TODD e WARD, 1988).

No grupo GEMF verificou-se redução significativa de 30,4% no teor de colesterol total plasmático em comparação ao CON1 (Tab.10 e Fig.8), concordando com as observações de WEISS *et al.* (1967b), que assinalaram, em galinhas poedeiras, redução no nível de colesterol total plasmático com o emprego do Colestípol, droga pertencente ao mesmo grupo do Gemfibrozil. Segundo KRAUSE e NEWTON (1985), em ratos e macacos, o colesterol total plasmático seria afetado pelo Gemfibrozil apenas quando as dietas apresentassem alto teor de colesterol, não produzindo redução quando submetidos à ração normal. Tais observações discordam dos resultados aqui obtidos em galinhas submetidas a rações comerciais que, segundo HARGIS (1988), geralmente contêm quantidades mínimas de colesterol. Considerando que, segundo GRIMINGER (1986), os níveis de lípides plasmáticos de galinhas em postura, incluindo portanto o colesterol, são normalmente elevados, o declínio da concentração de colesterol total observado pela adição de Gemfibrozil concorda com os resultados obtidos em indivíduos hipercolesterolêmicos do estudo populacional de Helsinque (FRICK *et al.*, 1987), onde foi observada diminuição persistente dos níveis de colesterol total em torno de 8%, sendo essa redução ainda mais pronunciada em pacientes com hipercolesterolemia severa. Apesar de o Gemfibrozil ser indicado no tratamento da hipertrigliceridemia, é recomendado também em pacientes

com acentuada hipercolesterolemia que não respondem às terapias usuais (TODD e WARD, 1988).

O Gemfibrozil a 0,025% (GEMF) causou ainda redução não significativa (17,7%) da concentração plasmática de HDL-colesterol, discordando de TODD e WARD (1988) e BERTOLAMI (1992) que evidenciaram, na espécie humana, aumento significativo desta fração.

No relativo à Colestiramina, levando-se em conta que as aves do experimento 2 apresentaram níveis plasmáticos de colesterol total e triglicérides abaixo do normal (GRIMINGER, 1986) e foram alimentadas com ração isenta de colesterol, a ausência de ação desta droga nos níveis estudados (COL1 e COL2) sobre as concentrações plasmáticas de triglicérides e colesterol das aves concorda com as observações de UEDA *et al.* (1995), em pintos, e de HUFF *et al.* (1963) e SUGANO *et al.* (1980) em ratos. Neste sentido, UEDA *et al.* (1995) consignaram, em pintos alimentados com dietas livres de colesterol, que a adição de 2 a 4% de Colestiramina, durante 10 dias, não afetou a concentração sérica de colesterol. No entanto, seus efeitos foram observados quando a droga foi utilizada para combater a hipercolesterolemia induzida pela dieta, registrando-se comportamento semelhante em relação aos triglicérides séricos. Essa ausência de efeito observada com o emprego da Colestiramina pode ser atribuída ao aumento compensatório da síntese de colesterol a partir do acetato ou do mevalonato (SPADY *et al.*, 1985; GRUNDY, 1990; GUYTON, 1992). Segundo NABER (1983), outro fator responsável pela ineficiência da Colestiramina seria o fato de a excreção

biliar não constituir uma forma significativa de eliminação de colesterol nesta espécie, onde a principal via de excreção seria representada pelo ovo.

Nossos resultados concordam também com aqueles obtidos em galinhas poedeiras por LUHMAN *et al.* (1990) que, utilizando outro agente sequestrador de ácidos biliares, o Colestipol, durante cinco semanas, não consignaram alteração significativa na concentração de colesterol plasmático.

No experimento 1, a Lovastatina reduziu os níveis de triglicérides plasmáticos em 21,7% (LOV1), 38,5% (LOV2) e 34,0% (LOV3), percentuais estes superiores aos obtidos por FORTI (1994) para a espécie humana, ao redor de 20%, sendo que no experimento 2 o declínio observado foi de 14,9%.

Quanto aos níveis médios de colesterol total plasmático no experimento 1, foram observadas reduções de 21,0% (LOV1), 36,0% (LOV2) e 36,8% (LOV3) em relação ao CON1 (Tab.10), percentuais estes superiores aos assinalados por ELKIN e ROGLER (1990). Os percentuais de redução observados nos triglicérides plasmáticos, em decorrência do uso da Lovastatina foram muito próximos àqueles verificados para as concentrações de colesterol total (Tab.10), concordando com as observações de ELKIN e ROGLER (1990), que consignaram paralelismo entre os citados lípidos, sem haver relação com a dose de Lovastatina utilizada.

A resposta mais acentuada da Lovastatina verificada no experimento 1 do presente estudo quando comparada com os resultados de ELKIN e ROGLER (1990) pode ser, em parte, explicada pelas diferenças entre as concentrações plasmáticas de lípides nas aves. Os autores registraram valores médios de triglicérides e colesterol total do grupo controle inferiores aos assinalados no experimento 1, porém próximos aos consignados no experimento 2, onde foram verificadas reduções, sem significado estatístico, nos lípides plasmáticos.

Nossos resultados discordam, ainda, dos auferidos por LUHMAN *et al.* (1990) que, ao administrarem 0,0035% de Lovastatina em aves *White Leghorn* mais velhas (69 semanas), durante cinco semanas, não verificaram alteração no nível de colesterol sanguíneo.

Sendo o colesterol esterificado mais facilmente passível de manipulação que o livre (GRIFFIN, 1992), e cerca de 70% do colesterol das lipoproteínas plasmáticas de humanos (GUYTON, 1992) e 36% do colesterol de galinhas (NOBLE, 1987) se apresentarem sob a forma de colesterol-éster, acredita-se que drogas redutoras de colesterol, sejam mais eficazes na espécie humana. Segundo BAGDADE *et al.* (1990), a porcentagem de colesterol esterificado plasmático em indivíduos hipercolesterolêmicos é levemente maior que a encontrada em normocolesterolêmicos, sofrendo decréscimo após a administração oral de Lovastatina, sendo tal alteração observada apenas com o uso da Lovastatina, não sendo registrada com a utilização de Probucol e óleos marinhos.

A concentração plasmática de HDL-colesterol não foi afetada com o uso da Lovastatina em ambos os experimentos (Tab.10 e 14), concordando com os resultados de TOBERT *et al.* (1982) na espécie humana. Considerando que as aves do experimento 1 apresentavam níveis plasmáticos de colesterol mais elevados que as do experimento 2, a tendência em elevar o HDL-colesterol proporcionada pela Lovastatina (LOV1, LOV2 e LOV3) nessas primeiras aves concorda com GRUNDY (1990) e FORTI (1994), que reportaram aumento em cerca de 5 a 10% da concentração de HDL-colesterol em indivíduos hipercolesterolêmicos tratados com Lovastatina.

5.4 Colesterol no ovo

Ao compararmos os teores médios de colesterol no ovo observados em ambos os experimentos aqui conduzidos, podemos verificar que esses valores são menores no experimento 2. O grupo controle do experimento 1 (CON1) apresentou valor médio de colesterol de 227,2 mg/gema, enquanto no experimento 2 (CON2) registrou-se média de 164,2 mg/gema. Essa discrepância pode ser, em parte, explicada pela diferença entre os pesos médios das gemas estudadas (17,0 g e 13,3 g nos grupos CON1 e CON2, respectivamente), visto que foi consignada correlação positiva entre o peso da gema e o seu teor de colesterol (Fig.13 e 20). Além

disso, a concentração de colesterol, expressa em mg/g de gema, foi inferior no CON2 (12,3 mg/g de gema) em comparação ao CON1 (13,4 mg/g de gema), podendo tal desigualdade, também observada nos lípidos plasmáticos ser, em parte, justificada por outros fatores como: a composição da ração (HARGIS, 1988; NABER, 1990), índice de postura (BARTOV *et al.*, 1971; CUNNINGHAM *et al.* 1974; NABER, 1990) e idade das aves (TURK e BARNET, 1971; LUHMAN *et al.*, 1990; HALL e McKAY, 1994). O valor de 212,6 mg/gema, reportado para ovos comerciais grandes pelo USDA (1998), se aproxima do obtido pelo CON1. JIANG *et al.* (1991) e BEYER e JENSEN (1989b), utilizando o método da cromatografia líquida, encontraram em ovos grandes níveis de 195 e 198 mg de colesterol, valores estes bem próximos à média auferida entre os grupos controle dos dois experimentos (195,7 mg/gema). Entretanto, apesar de o teor de colesterol no ovo ser usualmente expresso em mg/gema, ou mg/ovo, a utilização da unidade mg/g de gema elimina a influência tanto do peso da gema como do ovo, sendo portanto mais recomendada. Dessa forma, a concentração média de colesterol obtida pelo grupo CON2 se aproxima daquela encontrada por ELKIN e ROGLER (1990) que, ao empregarem a CLAE, reportaram para o grupo controle valor médio de 12,1 mg/g de gema. BEYER e JENSEN (1989) e JIANG *et al.* (1990), utilizando também cromatografia líquida, assinalaram teores de colesterol da ordem de 11,0 mg/g de gema e 11,7 mg/g de gema, respectivamente, valores estes abaixo dos consignados em ambos os experimentos aqui conduzidos. LUHMAN *et al.* (1990), adotando método enzimático, encontraram teor médio de 15,5 mg/g de gema para o grupo

controle, valor muito superior aos verificados no presente estudo. Na literatura, os dados encontrados para o colesterol no ovo são muito divergentes, devido aos diferentes métodos empregados na sua determinação, sendo o método da CLAE o mais indicado segundo ELKIN e ROGLER (1990) e HAMILL e SOLIMAN (1994).

Nos experimentos 1 e 2, os coeficientes de correlação entre o peso do ovo (g) e o da gema (g) (Fig.12 e 19) e entre o peso da gema (g) e o seu teor de colesterol (mg/gema) (Fig.13 e 20), indicam que gemas maiores são produzidas por ovos mais pesados e que, um aumento no peso da gema corresponde a um incremento no seu teor de colesterol. Nossos achados concordam com BARTOV *et al.* (1971) e MARK e WASHBURN (1977), que verificaram correlação positiva entre o teor de colesterol e o peso da gema. Assim, pesquisas realizadas com o intuito de se reduzir o colesterol do ovo, ao fornecerem valores de colesterol expressos em mg/gema, devem também levar em consideração os fatores peso da gema e do ovo.

No experimento 1, a redução na concentração de colesterol na gema com a administração de 0,1% de Probucol (PROB) na ração (2,0%) não foi julgada estatisticamente significativa em relação ao grupo CON1 (Tab.11 e Fig.11), discordando dos resultados encontrados por NABER *et al.* (1982) e WALDROUP *et al.* (1986) que, utilizando 0,1% da droga, reportaram decréscimos significativos no colesterol da gema de 4,6% e 7,2% respectivamente, reduções estas dependentes do período de utilização do Probucol.

WALDROUP *et al.* (1986) reportaram a possibilidade da existência de adaptação da ave ao Probucol após decorridas oito semanas de utilização da droga, ocasião em que não foi mais consignada redução significativa da concentração de colesterol em comparação com o grupo controle. Tais observações podem explicar a ausência de efeito da droga, no experimento 1, onde se utilizou o Probucol durante o período de 12 semanas, tempo necessário para proporcionar às aves adaptação aos efeitos da droga e conseqüente retorno do colesterol do ovo a níveis normais. Por outro lado, NABER *et al.* (1982), ao utilizarem 0,025% de Probucol em aves com 40 semanas de idade, não detectaram redução do colesterol na gema durante as 10 semanas experimentais. Como, no presente experimento, as aves apresentavam 30 semanas de idade, provavelmente a idade e linhagem das aves utilizadas, e o período de uso do Probucol possam ter interferido na eficácia da droga em reduzir a concentração de colesterol no ovo. Além disso, o peso médio das gemas do grupo PROB (17,6 g) analisadas ao final do experimento foi significativamente maior que o obtido no CON1 (17,0 g), contribuindo para elevar o seu teor de colesterol por ovo a 230,9 mg, valor muito próximo ao verificado no grupo CON1 (227,2 mg).

No relativo ao Gemfibrozil (GEMF), foram observadas reduções, sem significado estatístico, nos níveis de colesterol da gema em relação ao CON1, discordando de WEISS *et al.* (1967b), que registraram aumento do colesterol quando outro fibrato, o Colestipol, foi incluído na dieta.

A adição de Colestiramina à ração, em níveis de 0,2% (COL1) e 0,3% (COL2), não causou alterações significativas nas concentrações de colesterol na gema, expressas em mg/g de gema, podendo-se observar tendência a um aumento, discordando de SINGH (1975), que observou redução do teor de colesterol com o uso de 0,41%, 0,83% e 1,64% de Colestiramina na ração de poedeiras.

Por outro lado, nossos resultados concordam com LUHMAN *et al.* (1990) que, ao utilizarem na dieta o Colestipol, droga também pertencente ao grupo dos sequestradores de ácidos biliares, não obtiveram diminuição significativa da concentração de colesterol na gema.

A ineficácia da Colestiramina na redução do colesterol da gema consignada na presente pesquisa pode ser explicada pela capacidade que a galinha possui de sintetizar colesterol excedente ao necessário para a deposição no ovo (WEISS *et al.*, 1967), sendo apenas pequena quantidade desse colesterol secretado como ácidos biliares (NABER, 1983). A menor reabsorção intestinal de ácidos biliares provoca a redução de colesterol hepático que, por mecanismo regulatório de *feedback*, acaba proporcionando a elevação do colesterol endógeno (GRUNDY, 1992), o que poderia até mesmo determinar um aumento no teor de colesterol excretado pelo ovo, como o observado no presente estudo. Esses fatores fazem com que os sequestradores de ácidos biliares não sejam efetivos na redução dos teores de colesterol no ovo.

Apesar de, no presente estudo, terem sido utilizadas aves com idades próximas (30 e 26 semanas de idade nos experimentos 1 e 2,

respectivamente), as alterações nas concentrações de colesterol na gema, em resposta à utilização da Lovastatina, foram discrepantes. No experimento 1, as reduções dos níveis de colesterol na gema registradas com a administração de Lovastatina (LOV1, LOV2 e LOV3), após decorridas 12 semanas, concordam com os achados de ELKIN e ROGLER (1990) ao utilizarem doses mais elevadas da droga durante cinco semanas em aves com 26 semanas de idade. Os autores observaram decréscimos de 11,6% na concentração de colesterol na gema (mg/g) com a adição de 0,0265% de Lovastatina na dieta, valor muito próximo ao verificado (12,1%) com a utilização de 0,0015% da droga (LOV3). Entretanto, no experimento 2, onde se esperava uma redução semelhante ou até mais acentuada com o emprego de dose de Lovastatina bem mais elevada (0,005% - LOV4), não se observou redução significativa do colesterol na gema, tanto em mg/g de gema como em mg/gema (Tab.15, Fig.17 e 18). Quando o teor de colesterol foi expresso em mg/gema, no experimento 1, a redução mostrou-se mais elevada conseqüente ao peso reduzido das gemas estudadas no grupo LOV3, registrando-se queda de 16,1% (Tab.11, Fig.10) do colesterol em comparação ao CON1, decréscimo este semelhante ao encontrado por ELKIN e ROGLER (1990), de 15,3% com a inclusão de 0,0265% de Lovastatina. Pode-se observar na Tab.15 que, no experimento 2, o teor de colesterol no ovo, em mg/gema, parece sofrer aumento com a utilização da Lovastatina (LOV4) em relação ao CON2. No entanto, se o peso da gema do CON2 (13,3 g) fosse corrigido para o mesmo do grupo LOV4, ou seja, 13,9 g, o teor de colesterol do CON2 seria aumentado para 171,6 mg,

portanto maior que o consignado no LOV4 (168,1 mg), confirmando tendência da Lovastatina em reduzir o colesterol na gema. Mesmo assim, as alterações assinaladas nos teores de colesterol da gema, em decorrência da utilização da Lovastatina, foram mais acentuadas no experimento 1 devido, provavelmente, às diferenças nos níveis de lípides plasmáticos das aves dos experimentos 1 e 2.

Nossos resultados do experimento 1 discordam de LUHMAN *et al.* (1990) que, em poedeiras com 69 a 74 semanas de idade, não observaram efeitos da Lovastatina sobre o teor de colesterol no ovo. Por outro lado, as observações destes autores concordam com os achados do experimento 2. Segundo LUHMAN *et al.* (1990), as aves, à medida que vão se tornando mais velhas, tornam-se refratárias à Lovastatina necessitando de níveis mais elevados da droga. Os autores sugerem ainda a possibilidade de influência da idade sobre o metabolismo do colesterol e de seus níveis no ovo e, provavelmente, sobre a ação das drogas.

Segundo KHAN *et al.* (1989) e ARAD *et al.* (1990), decréscimos nos teores de colesterol do fígado e da VLDL, determinados pela Lovastatina, seriam consequência apenas da redução considerável do colesterol esterificado, não havendo efeito sobre os níveis de colesterol livre. Assim, é provável que a diminuição do colesterol da gema, obtida no presente estudo e nos experimentos de NABER *et al.* (1982), WALDROUP *et al.* (1986) e ELKIN e ROGLER (1990), possa ser atribuída a reduções apenas nos teores de colesterol esterificado. Por outro lado, sabe-se que cerca de 21% do colesterol da gema se encontra sob a forma de colesterol

esterificado (NOBLE,1987). Portanto, as possibilidades de redução de colesterol no ovo além deste limite são, provavelmente, muito remotas.

Segundo GRIMINGER (1986), as concentrações de colesterol no plasma e na gema não estão relacionadas, diferentemente do observado no presente estudo. Os níveis sanguíneos de colesterol total das aves do experimento 1 foram mais elevados que os do experimento 2, sendo esta tendência verificada no tocante às concentrações de colesterol na gema. Por outro lado, as reduções acentuadas na concentração de colesterol total plasmático observadas, no experimento 1, com o uso do Probucol a 0,1% (PROB), Gemfibrozil a 0,025% (GEMF) e Lovastatina a 0,001% (LOV2) não foram acompanhadas por decréscimos significativos desta substância no ovo. GRIMINGER (1986) reportou que uma diminuição do colesterol plasmático não é necessariamente um indicativo de redução da taxa de síntese de colesterol da galinha poedeira. Assim, a Lovastatina, que atua diretamente na biossíntese do colesterol, determinou reduções significativas tanto no plasma como no ovo apenas quando administrada a 0,0015% (LOV3).

Qualquer novo agente hipocolesterolemizante, independente de sua eficácia ou de sua aceitação para uso clínico, tem pouca probabilidade de causar reduções substanciais no colesterol do ovo, a não ser que possa alterar a composição das lipoproteínas sintetizadas pelo fígado (GRIFFIN, 1992).

Os estudos disponíveis sugerem que apenas pequenas reduções no teor de colesterol da gema são possíveis. Uma alternativa radical para

tentativas futuras nessa redução baseia-se nas evidências que indicam competição entre a vitelogenina e a VLDL pelos receptores da membrana plasmática do oócito (GRIFFIN, 1992). Alterações na relação plasmática entre essas lipoproteínas poderiam aumentar a captação da vitelogenina, às expensas de VLDL, diminuindo substancialmente o teor de colesterol e lípidos da gema (NIMPF e SCHNEIDER, 1991). Entretanto, os efeitos de tais alterações na fisiologia da galinha poedeira e no desenvolvimento embrionário e neonatal da ave são obviamente desconhecidos (GRIFFIN, 1992).

Um indivíduo consome normalmente cerca de 400 a 600 mg de colesterol por dia (NABER, 1990), sendo a contribuição do ovo, nesta dieta, de aproximadamente 50 mg, estimando-se um consumo médio no Brasil de cerca de 0,23 ovos/pessoa/dia (USDA, 1997 *apud* GUIA AVES E OVOS, 1998). Se, mediante o uso da Lovastatina, droga que apresentou o melhor resultado no presente estudo, obtivéssemos ovos com 16% a menos de colesterol, seu consumo diário seria reduzido em 8 mg, portanto uma quantidade insignificante comparada à ingestão total previamente reportada.

No Brasil, país onde elevada parcela da população sofre de desnutrição calórica decorrente da fome gerada da pobreza e impossibilidade de acesso a alimentos, campanhas assessoradas por comunidades científicas e de saúde pública deveriam ser conduzidas no sentido de esclarecer a população quanto ao real valor nutritivo do ovo e ao verdadeiro papel do colesterol dietético na incidência das doenças cardiovasculares. O ovo, pelo fato de ser considerado um dos alimentos

mais completos, pode e deve ser incluído na alimentação diária do brasileiro, desde que fazendo parte de uma dieta bem equilibrada em gorduras saturadas e insaturadas.

6 CONCLUSÕES

Nas condições da presente pesquisa, de acordo com os resultados obtidos, conclui-se que:

6.1. As drogas estudadas, nos diferentes níveis, não causaram, de um modo geral, efeitos indesejáveis sobre o desempenho produtivo das aves, com exceção da Lovastatina administrada a 0,005% (LOV4) e da Colestiramina a 0,2% (COL1) e 0,3% (COL2), que determinaram redução no peso médio dos ovos.

6.2. Não foram observados efeitos prejudiciais dos medicamentos sobre os parâmetros utilizados para avaliação da qualidade da casca e do albúmen do ovo.

6.3. O Probucol a 0,1% (PROB), o Gemfibrozil a 0,025% (GEMF) e a Lovastatina a 0,0005% (LOV1), 0,001% (LOV2), 0,0015% (LOV3) e 0,005% (LOV4) foram responsáveis por reduções nas concentrações sanguíneas de triglicérides, sendo que apenas o LOV2 mostrou-se significativo em relação ao grupo controle (CON1).

6.4. O Probucol a 0,1% (PROB), o Gemfibrozil a 0,025% (GEMF) e a Lovastatina a 0,001% (LOV2) e a 0,0015% (LOV3) determinaram reduções significativas no colesterol total plasmático sem, no entanto, causarem alterações significativas nos níveis de HDL-colesterol.

6.5. A Lovastatina a 0,0005% (LOV1) e a 0,005% (LOV4) produziram decréscimos, sem significado estatístico, no colesterol total do plasma sanguíneo.

6.6. Os efeitos da Lovastatina sobre as concentrações de lípides sanguíneos e de colesterol do ovo foram menos evidentes no experimento 2, onde as aves apresentavam níveis de lípides plasmáticos mais reduzidos.

6.7. A Lovastatina mostrou-se a droga mais efetiva na diminuição do teor de colesterol no ovo. Os mais acentuados percentuais de decréscimo da concentração de colesterol na gema, expressa em mg/g, foram registrados nos grupos LOV1 (7,4%) e LOV3 (12,1%).

6.8. O Probucol a 0,1% (PROB), o Gemfibrozil a 0,025% (GEMF) e a Lovastatina utilizada em níveis de 0,001% (LOV2) e 0,005% (LOV4) foram responsáveis por reduções no teor de colesterol do ovo, porém sem significado estatístico.

6.9. Os coeficientes de correlação e as equações de regressão obtidas indicam que gemas maiores são provenientes de ovos mais pesados, e que o teor de colesterol na gema aumenta conforme o seu peso se eleva.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLAIN, C.C.; POOL, L.S.; CHAN, C.S.G.; RICHMOND, W.; FU, P.C. Enzymatic determination of total serum cholesterol. **Clinical Chemistry**, v.20, p.470-475, 1974.
- ANSAH, G.A.; CHAN, C.W.; TOUCHBURN, S.P.; BUCKLAND, R.B. Selection for low yolk cholesterol in Leghorn-type chickens. **Poultry Science**, v.64, p.1-5, 1985.
- ARAD, Y.; RAMAKRISHNAN, R.; GINSBERG, H.N., Lovastatin therapy reduces low density lipoprotein apo-B levels in subjects with combined hyperlipidemia by reducing the production of apo-B containing lipoproteins: implications for the pathophysiology of apo-B production. **Journal of Lipid Research**, v.31, p.567-582, 1990.
- AUSTIC, R.E. Nutritional influences on positive product characteristics - Eggs. *In*: PROCEEDINGS OF THE XIX WORLD'S POULTRY CONGRESS, Amsterdam, 1992. **Anais**. p.93-98.
- BAGDADE, J.D.; LANE, J.T.; STONE, N.; RITTER, M.C.; SUBBAIAH, P.V. Persistent abnormalities in lipoprotein composition and cholesteryl ester following Lovastatin treatment. **Journal of Lipid Research**, v.31, p.1263-1269, 1990.
- BARNHART, J.W.; SEFRANKA, J.A.; McINTOSH, D.D. Hypocholesterolemic effect of 4,4'-(isopropylidenedithio)-bis(2,6-di-*t*-butylphenol) (Probucol). **The American Journal of Clinical Nutrition**, p.1229-1233, 1970.
- BARTOV, I.; BORNSTEIN, S.; BUDOWSKI, P. Variability of cholesterol concentration in plasma and egg yolks on hens and evaluation of the effect of some dietary oils. **Poultry Science**, v.50, p.1357-1364, 1971.
- BENSADOUN, A.; ROTHFELDI, A. The form of absorption of lipids in the chicken *Gallus domesticus*. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v.141, n.3, p.814-817, 1972.
- BERTOLAMI, M.C. Drogas nas hiperlipidemias. *In*: QUINTÃO, E.C.R. **Colesterol e aterosclerose**. Rio de Janeiro: Qualitymarck, 1992. p.195-224.
- BEYER, R.S.; JENSEN, L.S. Cholesterol content of eggs as determined by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). **Poultry Science**, v.68, p.171, 1989a, Supplement 1.
- BEYER, R.S.; JENSEN, L.S. Overestimation of the cholesterol content of eggs. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.37, p.917-920, 1989b.

- BLACKBURN, H. O conceito de risco. *In*: PEARSON, T.A.; CRIQUI H.M.; LUEPKER, R.V.; OBERMAN, A.; WINSTON, M. **Compêndio de cardiologia preventiva: fascículo 1.**, São Paulo: EPUC, 1997. (edição original publicada em Dallas pela American Heart Association, 1994). p.25-52.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Assistência à Saúde. Departamento de Programas de Saúde. Coordenação de Doenças Cardiovasculares. **Doenças cardiovasculares no Brasil**, Brasília, 1993, 36p.
- BRIZ, R.C. Ovos com teores mais elevados de ácidos graxos ômega 3. *In*: VII SIMPÓSIO TÉCNICO DE PRODUÇÃO DE OVOS. Associação Paulista de Avicultura (APA). São Paulo, 1997. **Anais**. p.153-193.
- BURGESS, T.L.; BURGESS, C.L.; WILSON, J.D. Effect of MER-29 on egg production in chickens. **Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine**, v.109, p.218-221, 1962.
- CHRISTMANN, J.L.; GRAYSON, M.J.; HUANG, R.C.C. Comparative study of hen yolk phosphatidylcholine and plasma vitellogenin. **Biochemistry**, v.16, n.14, p.3250-3256, 1977.
- CUNNINGHAM, D.L.; KRUEGER, W.F.; FANGUY, R.C.; BRADLEY, J.W. Preliminary results of bidirectional selection for yolk cholesterol level in laying hens. **Poultry Science**, v.53, p.384-391, 1974.
- DIRECÇÃO GERAL DOS CUIDADOS DE SAÚDE PRIMÁRIOS. Divisão de Saúde de Adultos. **Os lípidos e a prevenção das doenças cardiovasculares**, Lisboa, 1989, 36p.
- ELKIN, R.R.; ROGLER, J.C. Reduction of the cholesterol content of eggs by the oral administration of Lovastatin to laying hens. **Journal of Agriculture and Food Science**, v.38, p.1635-1641, 1990.
- ENDO A.; FUJITA, Y.; KURODA, M.; TANZAWA, K. Inhibition of cholesterol synthesis *in vitro* and *in vivo* by ML-236A and ML-236B, competitive inhibitors of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase. **European Journal of Biochemistry**, v.77, p.31, 1977.
- FORTI, N. **Lovastatina: cinco anos de experiência clínica**. São Paulo, [s.n.], [1994]. 32p.
- FOSSATI, P; PRENCIPE, L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. **Clinical Chemistry**, v.28, p.2077-2080, 1982.

- FRICK, M.H.; ELO, O.; HAAPA, K.; HEINONEN, O.P.; HEINSALMI, P.; HELO, P.; HUTTUNEN, J.K.; KAITANIEMI, P.; KOSKINEN, P.; MANNINEN, V.; MÄENPÄÄ, H.; MÄLKÖNEN, M.; MÄNTTÄRI, M.; NOROLA, S.; PASTERNAK, A.; PIKKARAINEN, J.; ROMO, M.; SJÖBLOM, T.; NIKKILÄ, E.A. Helsinki heart study: primary-prevention trial with Gemfibrozil in middle-aged men with dyslipidemia. **The New England Journal of Medicine**, v.317, p.1237-1245, 1987.
- FUNDAÇÃO IBGE. Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada. Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição. Secretaria de Projetos Especiais. **Pesquisa Nacional sobre Saúde e Nutrição (PNSN)**: 1989, arquivos dos dados de pesquisa. Brasília, 1990.
- GARCIA, R.D.; OLIVEIRA, H.C.F. Fisiologia das lipoproteínas. *In*: QUINTÃO, E.C.R. **Colesterol e aterosclerose**. Rio de Janeiro, Qualitymark, 1992, p.1-30.
- GRIFFIN, H.D.; GRANT, G.; PERRY; M. Hydrolysis of plasma triacylglycerol-rich lipoprotein from immature and laying hens (*Gallus domesticus*) by lipoprotein lipase *in vitro*. **Biochemical Journal**, v.206, p.647-654, 1982.
- GRIFFIN, H.D.; PERRY; M.M.; GILBERT, A.B. Yolk formation. *In*: BELL, D.J.; FREEMAN, B.M. **Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl**, London, Academic Press, 1985. p. 345-380.
- GRIFFIN, H.D. Manipulation of egg yolk cholesterol: a physiologist's review. **World's Poultry Science Journal**, v.48, n.2, p.101-112, 1992.
- GRIMINGER, P. Lipid metabolism. *In*: STURKIE, P.D. **Avian Physiology**, 4.ed., New York, Springer-Verlag, 1986. p.345-358.
- GRUNDY, S.M.; VEGA, G.L. Influence of Mevinolin on metabolism of low-density lipoproteins in primary moderate hypercholesterolemia. **Journal of Lipid Research**, v.26, p.1464, 1985.
- GRUNDY, S.M. **Atlas of lipid disorders - Drug therapy of hyperlipidemia**, New York, Gower Medical, 1990. cap.4, p.1-44: Drug therapy of hyperlipidemia.
- GRUNDY, S.M. What is the desirable ratio of saturated, polyunsaturated, and monounsaturated fatty acids in the diet? **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.66, n.4, p.988S-990S, 1997, Supplement.
- GUIA AVES E OVOS 1998. São Paulo, Associação Paulista de Avicultura, 1998. p.34; 36.
- GUYTON, A.C. **Tratado de fisiologia médica**, 8. ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1992. p.662-671: Metabolismo dos lipídeos.
- HALL, L.M.; McKAY, J.C. Variation in plasma cholesterol concentration over time in the domestic fowl. **British Poultry Science**, v.35, p.631-634, 1994.

- HAMILL, T.W.; SOLIMAN, A.M. Determination of cholesterol by p-nitrobenzoate derivatization and liquid chromatography, **Journal of AOAC International**, v.77, n.5, p.1190-1196, v.1994.
- HAMILTON, R.M.G. Methods and factors that affect the measurement of egg shell quality. **Poultry Science**, v.61, n.10, p.2022-2039, 1982.
- HANSON, D.S.; DUANE, W.C. Effects of Lovastatin and Chenodiol on bile acid synthesis, bile lipid composition, and biliary lipid secretion in healthy human subjects. **Journal of Lipid Research**, v.35, p.1462-1468, 1994.
- HARGIS, P.S. Modifying egg yolk cholesterol in the domestic fowl - a review. **World's Poultry Science Journal**, v.44, p.17-29, 1988.
- HAUSHEER, W.C.; FISCHER, H. The antihypercholesterolemic activity of Candicidin as a functional of dietary cholesterol in cockerels. **The Journal of Nutrition**, v.108, p.1054-1060, 1978.
- HENWOOD, J.M.; HEEL, R.C. Lovastatin: a preliminary review of its pharmacodynamic properties and therapeutic use in hyperlipidaemia. **Drugs**, v.36, p.429-454., 1988.
- HUFF, J.W.; GILFILLAN, J.L.; HUNT, V.M. Effect of Cholestyramine, a bile acid binding polymer on plasma cholesterol on fecal bile acid excretion in the rat. **Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine**, v.144, p.352-355, 1963.
- ILLINGWORTH, D.R.; SEXTON, G.J. Hypocholesterolemic effects of Mevinolin in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. **The Journal of Clinical Investigation**, v.74, p.1972-1978, 1984.
- JIANG, Z.; FENTON, M.; SIM, J.S. Comparison of four different methods for egg cholesterol determination. **Poultry Science**, v.70, p.1015-1019, 1991.
- JONES, P.H.; POWNALL, H.J.; PATSCH, W.; HERD, A.; FARMER, J.A.; PAYTON-ROSS, C.; KIMBALL, K.T.; GOTTO, A.M.; MORRISSETT, J.D. Effect of Gemfibrozil on levels of lipoprotein[a] in type II hyperlipoproteinemic subjects. **Journal of Lipid Research**, v.37, p.1298-1308, 1996.
- KHAN, B.; WILCOX, H.B.; HEIMBERG, M. Cholesterol is required for secretion of very low density lipoprotein by rat liver. **Biochemical Journal**, v.258, p.807-816, 1989.
- KRAUSE, B.R.; NEWTON, R.S. Apolipoprotein changes associated with the plasma lipid-regulating activity of Gemfibrozil in cholesterol-fed rats. **Journal of Lipid Research**, v.26, p.940-949, 1985.
- LOPES-VIRELLA, M.F.; STONE, P.; ELLIS, S.; COLWELL, J. Cholesterol determination in High-Density Lipoproteins separated by three different methods. **Clinical Chemistry**, v.23, p. 882-886, 1977.

- LUHMAN, C.M.; MILLER, B.G.; BEITZ, D.C. The effect of feeding Lovastatin and Colestipol on production and cholesterol egg content of eggs. **Poultry Science**, v.69, n.5, p.852-855, 1990.
- MARSIGLIA, D.A.P.; GARBELOTTI, M.L.; FLORA, C.; ZENEBON, O.; LEONARDO, M. V. Colesterol: modificações da metodologia oficial do Instituto Adolfo Lutz e sua quantificação em massas alimentícias. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.54, p.51-54, 1994.
- McNAMARA, D.J.; KOLB, R.; PARKER, T.S.; BATWIN, H.; SAMUEL, P.; BROWN, C. D.; AHRENS JR., E. H. Heterogeneity of cholesterol homeostasis in man: Response to changes in dietary fat quality and cholesterol quantity. **The Journal of Clinical Investigation**, v.79, p.1729-1739, 1987.
- MITCHELL, J.C.; LOGAN, G.M.; STONE, B.G.; DUANE, W.C. Effects of Lovastatin on biliary secretion and bile acid metabolism in humans. **Journal of Lipid Research**, v.29, p.839-845, 1991.
- MONDINI, L. **Desnutrição e obesidade no Brasil: relevância epidemiológica e padrões de distribuição intra-familiar em diferentes estratos econômicos e regionais**. São Paulo, 1996. 98p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo.
- MONTEIRO, C.A. Dimensão da pobreza, da fome e da desnutrição no Brasil, **Estudos Avançados**, v.9, n.24, p.195-207, 1995.
- NABER, E.C. The cholesterol problem, the egg and lipid metabolism in the laying hen. **Poultry Science**, v.55, p.14-30, 1976.
- NABER, E.C. The effect of nutrition on the composition of eggs. **Poultry Science**, v.58, p.518-528, 1979.
- NABER, E.C.; ELLIOT, J.F.; SMITH, T.L. Effect of Probucol on reproductive performance, egg yolk cholesterol content, and lipid metabolism in the laying hen. **Poultry Science**, v.61, n.6, p.1118-1124, 1982.
- NABER, E.C. Nutrient and drug effects cholesterol metabolism in the laying hen. **Federation Proceedings**, v.42, p.2486-2493, 1983.
- NABER, E.C. What is the real cholesterol content of an egg? **Poultry Science**, v.68, p.171, 1989, (Abstracts). Supplement 1.
- NABER, E.C. Cholesterol content of eggs: can and should the industry try to change it? **Feedstuffs**, v.62, n.5, p.46-52, 1990.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of poultry**, 9. ed. Washington, National Academy of Sciences, 1994. 155 p.
- NICHOLS, E.L.; MARION, W.W.; BALLOUN, S.L. Effect of egg size on yolk cholesterol concentration. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v.112, p.378-380, 1963.

- NIMPF, J.; SCHNEIDER, W.J. Receptor-mediated lipoprotein transport in laying hens. **The Journal of Nutrition**, v.121, p.1475-1485, 1991.
- NOBLE, R.C. Egg lipids. *In*: WELLS, R.G.; BELYAVIN, C.G. **Egg quality - current problems and recent advances**. London, Butterworths, 1987. p.159-177.
- NOBLE, R.C.; COCCHI, M.; TURCHETTO, E. Egg fat - a case for concern? **World's Poultry Science Journal**, v.446, p.109-118, 1990.
- QUINTÃO, E.C.R. **Colesterol e aterosclerose**. Rio de Janeiro, Qualitymark, 1992, p.225-244: Drogas: mecanismo de ação.
- SAEKI, S.; KIRIYAMA, S. Conservation of hyper and hypo-cholesterolemic activities of dietary casein and soybean protein isolate after the administration of Cholestyramine in the rat. **Nutrition Reports International**, v.37, p.565-572, 1988.
- SIEDEL, J.; HÄGELE, E.D.; ZIEGEHOM, J.; WAHLEFELD, A.W. Reagent for the enzymatic determination of serum total cholesterol with improved lipolytic efficiency. **Clinical Chemistry**, v.29, p. 1075-10, 1983.
- SIM, J.S.; KITTS, W.D.; BRAGG, D.B. Influence of dietary oil, cholesterol and soysterols on the faecal neutral and acidic steroid excretion in laying hens. **Poultry Science**, v.59, p.325-327, 1980.
- SIMMONS, R.A.; SOMES JR, R.G. Chemical characteristics of Araucana chicken eggs. **Poultry Science**, v.64, p.1264-1268, 1985.
- SINGH, R.A. A note on feeding of bile-acid sequestrants on cholesterol metabolism of laying hens: Ion exchange resin (Cholestyramine) and saponin. **Indian Journal of Animal Science**, v.45, p.163-165, 1975.
- SKLAN, D.; BUDOWSKY, P. Cholesterol metabolism in the liver and intestine of the chick: effect of dietary cholesterol, taurocholic acid and Cholestyramine. **Lipids**, v.14, p.386-390, 1979.
- SPADY, D.K.; TURLEY, S.D.; DIETSCHY, J.M. Rates of low density lipoprotein uptake and cholesterol synthesis are regulated independently in the liver. **Journal of Lipid Research**, v.26, p.465-472, 1985.
- St. CLAIR, R.W. Biologia da aterosclerose. *In*: PEARSON, T.A.; CRIQUI H.M.; LUEPKER, R.V.; OBERMAN, A.; WINSTON, M. **Compêndio de cardiologia preventiva: fascículo 1.**, São Paulo: EPUC, 1997. (edição original publicada em Dallas pela American Heart Association, 1994). p.11-24.
- SUGANO, M.; FUJIKAWA, T.; NAKASHIMA, K.; FUKUDA, N. A novel use of chitosan as a hypocholesterolemic agent in rats. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.33, p.787-793, 1980.

- SUTTON, C.D.; MUIR, W.M.; MITCHEL JR., G.E. Cholesterol metabolism in the laying hen as influenced by dietary cholesterol, caloric intake and genotype, **Poultry Science**, v.63, p.972-980, 1984.
- TOBERT, J.A.; BELL, G.D.; BIRTWELL, J.; JAMES, I.; KUKOVETZ, W.R.; PRYOR, J.S.; BUNTINX, A.; HOLMES, I.B.; CHAO, Y.S.; BOLOGNESE, J.A. Cholesterol-lowering effect of Mevinolin, an inhibitor of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase, in healthy volunteers. **The Journal of Clinical Investigation**, v.69, p.913, 1982.
- TOBERT, J.A. New developments in lipid-lowering therapy: the role of inhibitors of hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase. **Circulation**, v.76, p.534-538, 1987.
- TODD, P.A.; WARD, A. Gemfibrozil - A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use in dyslipidaemia. **Drugs**, v.36, p.314-339, 1988.
- TURK, D.E.; BARNET, B.D. Cholesterol content of market eggs. **Poultry Science**, v.50, p.1303-1306, 1971.
- UEDA, H.; FUKUMI, R.; KUMAI, S. The effects of sodium cholate and Cholestyramine on the lipid concentration of serum and liver in cholesterol-fed chicks. **Animal Science and Technology**, v.66, n.1, p.1007-1013, 1995.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 1997 *apud* GUIA AVES E OVOS 1998, n.4, Associação Paulista de Avicultura, 1998, p.34; 36.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Nutrient database for standard references, Release 12 (March, 1998). (On line, 27 de abril de 1998, Internet: http://www.nal.usda.gov/fnic/cgi-bin/nut_search.pl?egg).
- WALDROUP, P.W.; NDIFE, L.I.; HELLWIG, H.M. Influence of Probucol ((4,4'-isopropylidene dithio)-bis(2,6-di-*t*-butyl-phenol)) on egg yolk cholesterol content and performance of laying hens. **Poultry Science**, v.65, p.1949-1954, 1986.
- WASHBURN, K.W.; MARKS, H.L. Relationship of yolk and plasma cholesterol levels to position of egg in clutch. **Poultry Science**, v.56, p.1676-1678, 1977.
- WASHBURN, K.W. Genetic variation in the chemical composition of the egg. **Poultry Science**, v.58, p.529-535, 1979.
- WEISS, J.F.; NABER, E.C.; JOHNSON, R.M. Effects of dietary fat and cholesterol on the *in vitro* incorporation of acetate ¹⁴C into egg yolk lipids. **The Journal of Nutrition**, v.93, p.153-160, 1967a.
- WEISS, J.F.; JOHNSON, R.M.; NABER, E.C. Effect of some dietary factors and drugs on cholesterol concentration in the egg and plasma of the hen. **The Journal of Nutrition**, v.91, p.119-128, 1967b.

WORLD HEALTH ORGANIZATION Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases, **Technical Report Series**, n.797, Geneva, 1990, 203p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION Physical status: the use and interpretation of anthropometry, **Technical Report Series**, n.854, Geneva, 1995, 143p.

YAMAMURA, J.; ADACHI, T.; AOKI, N.; NAKAJIMA, H.; NAKAMURA, R.; MATSUDA, T. Precursor-product relationship between chicken vitellogenin and the yolk proteins: the 40 kDa yolk plasma glycoprotein is derived from the C-terminal cysteine-rich domain of vitellogenin II. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1244, p.384-394, 1995.

ZAK, B.; RESSLER, N. Methodology in determination of cholesterol: a review. **American Journal of Clinical Pathology**, v.25, p.433-446, 1955.

ZLTKIS, A.; ZAK, B.; BOYLE, A.J. A new method for the direct determination of serum cholesterol. **The Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v.41, p.486-492, 1953.

