

Efecto protector endotelial vascular de un extracto estandarizado de *Monascus purpureus*

[Endothelium protector effect of *Monascus purpureus*, red yeast rice, standardized extract]

Miguel A. MORALES^{1,3*}, Natalia ÁLVAREZ¹, Andrés DÍAZ¹, Chung-Yang KUOHO¹,
María P. RODRÍGUEZ¹, Tomás SERÓN¹ & Doris HERNÁNDEZ²

¹Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

²Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello.

³Sociedad Chilena de Fitoterapia.

Santiago - Chile

Contactos / Contacts: Miguel A. MORALES - E-mail address: mmorales@med.uchile.cl

Abstract

It was examined the efficacy of *Monascus purpureus* standardized extract (Mp) on the endothelial dysfunction (ED) of rat aortic rings caused by oxidative stress as a consequence of their exposition to a high glucose concentration. Endothelial functionality was determined by eliciting aortic muscle contractions with phenylephrine 10^{-6} M and inducing an endothelium dependent relaxation with increasing acetylcholine concentration (1×10^{-8} to 1×10^{-4} M). The results show that Mp prevents 70%, and reverts 48% the ED induced by glucose and allows to propose, by the first time, that *Monascus purpureus* extract could partially protect the vascular endothelium from dysfunction caused by oxidative stress.

Keywords: *Monascus purpureus*, red yeast rice, hypolipemiant, endothelial dysfunction, oxidative stress, vascular endothelium protection.

Resumen

Se analizó la eficacia del extracto seco estandarizado de *Monascus purpureus* (Mp) sobre la disfunción endotelial (DE) de anillos aórticos de rata, provocada por estrés oxidativo como consecuencia de su exposición a una elevada concentración de glucosa. La determinación de la funcionalidad endotelial se realizó mediante contracciones con fenilefrina 10^{-6} M y provocando una relajación endotelio-dependiente con concentraciones crecientes (1×10^{-8} a 1×10^{-4} M) de acetilcolina con lo que se determinó el porcentaje de relajación máximo y el porcentaje de DE para cada grupo. Los resultados muestran que el extracto de *Monascus purpureus* previene en alrededor de 70%, y revierte en un 48% la DE inducida por glucosa y permiten proponer por primera vez que el extracto de *Monascus purpureus* protege al endotelio vascular de la disfunción causada por estrés oxidativo.

Palabras Clave: *Monascus purpureus*, hipolipemiente natural, disfunción endotelial, estrés oxidativo, protección endotelial vascular.

Recibido | Received: 24 de Abril de 2012.

Aceptado en versión corregida | Accepted in revised form: 20 de Julio de 2012.

Publicado en línea | Published online: 30 de Septiembre de 2012.

Este artículo puede ser citado como / This article must be cited as: Miguel A. Morales, Natalia Álvarez, Andrés Díaz, Chung-Yang Kuoho, María P. Rodríguez, Tomás Serón, Doris Hernández. 2012. Efecto protector endotelial vascular de un extracto estandarizado de *Monascus purpureus*. **Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat** 11(5): 464 – 473.

INTRODUCCIÓN

Como es sabido, los hongos y levaduras pertenecen al Reino Fungi y no al Reino Vegetal. La Fitoterapia no obstante, comprende el estudio y la utilización terapéutica de plantas medicinales, recursos homeopáticos (vegetales), fitofármacos y fungifármacos (Morales, 2011).

El género *Monascus* incluye cinco especies principales: *M. purpureus*, *M. ruber*, *M. aurantiacus*, *M. pilosus*, y *M. floridanus*, que pertenecen a la clase Ascomycetes y la familia *Monascaceae*.

Monascus purpureus (Mp) es una levadura que tradicionalmente se usa en varios países de Asia para fermentar arroz sin gluten cocido, también se emplea desde hace siglos como colorante, preservante de alimentos y también como medicamento natural (Mei, 1990).

Entre los componentes de Mp se encuentran diversos pigmentos y ácido γ -aminobutírico, GABA, (Chuang et al., 2011); lovastatina o monacolina k; ácidos grasos poliinsaturados; fitoesteroles como beta-sitosterol, campesterol y estigmasterol; e isoflavonas (Heber et al., 1999; Ma et al., 2000; Lin et al., 2008). Se ha observado que durante el proceso de fermentación del arroz rojo con Mp también se produce el metabolito citrinina que posee efectos hepato-nefrotóxicos, por lo que inicialmente se plantearon interrogantes acerca de su seguridad; sin embargo se han obtenido cepas con concentraciones inocuas mediante su selección y modificación de las condiciones de incubación e ingeniería genética (Lee et al., 2010).

Además de sus efectos antidepresivos (Chuang et al., 2011), *Monascus purpureus* también ha exhibido efectos hipoglicemiantes; se ha demostrado que el GABA activa el páncreas endocrino *in vivo* en modelos de ratas diabéticas, incrementa los niveles plasmáticos de insulina con la consecuente disminución de la glucosa sanguínea (Gómez et al., 1999).

Es sabido que la lovastatina tiene efectos hipolipemiantes y reductores de la síntesis de colesterol por ser inhibidora de la 3-Hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) y además porque estimula la expresión del receptor de LDL en los hepatocitos; también disminuye los niveles de triglicéridos y aumenta la HDL (Kreisberg y Oberman, 2003; Wang et al., 1997; Goldstein, 2000; Katan et al., 1994; Brown y Goldstein, 1986; Gheith et al., 2009).

Se ha sugerido que el extracto de *M. purpureus* podría ejercer efectos antihipertensivos debido a la vasodilatación que provoca producto de la liberación de NO desde el endotelio y por disminución del tono simpático (Rhyu et al., 2000; Wang et al., 2010). También se ha señalado que posee efectos antioxidantes (Aniya et al., 1998; Aniya et al., 1999; Aniya et al., 2000; Taira et al., 2002).

Otra alteración metabólica sobre la cual se ha estudiado el efecto del Mp es la diabetes, que corresponde a un estado de hiperglicemia que produce disfunción endotelial difusa, constituyendo un factor de riesgo de enfermedad cardiovascular y en etapas más avanzadas, de enfermedad renal (Rojas et al., 2008). Según la OMS, la diabetes tiene gran impacto en los países de ingresos bajos y medios, por lo que se hace perentorio trabajar en su prevención y control. Es sabido que la hiperglicemia puede mediar sus efectos a través de múltiples vías, como el aumento del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) y de la endotelina. (Ruderman et al., 1992; Sharma et al., 1999; Mayhan et al., 1999). Otro mecanismo es la activación de la Fosfoquinasas C (PKC), que induce el aumento en los niveles del diacilglicerol (DAG) (Avogaro et al., 2006). Hay evidencia cada vez mayor que la activación de la PKC es importante en el desencadenamiento de la disfunción endotelial, por disminución de la vasodilatación NO dependiente y por el aumento de ET-1. También se ha demostrado un aumento en la expresión del gen NADPH oxidasa en linfomonocitos circulantes de pacientes con diabetes mellitus, y que este aumento de la expresión génica es dependiente de control metabólico. De esta forma se induce el estrés oxidativo que juega un papel clave en la patogénesis de las complicaciones tardías de la diabetes (Donnini et al., 2003, Li and Shah, 2004).

Es ampliamente reconocido lo importante que resulta el control del estrés oxidativo y de los productos de glicosilación avanzada (AGEs) que surgen por la hiperglicemia, de manera de evitar alteraciones de los cardiomiocitos y del endotelio vascular (Rojas et al., 2006; Rojas et al., 2010). El efecto antihiperglicémico del Mp, ha sido estudiado en ratas en las que se indujo diabetes usando estreptozotocina. Al parecer, la administración oral de Mp podría disminuir la gluconeogénesis hepática y de esta manera reducir la glucosa plasmática en ratas diabéticas con deficiencia de insulina. También se ha observado que Mp induce un aumento en los niveles plasmáticos de insulina y péptido C al estimular la

liberación de acetilcolina en las sinapsis nerviosas, lo que a su vez estimularía a los receptores muscarínicos M_3 en las células del páncreas (Chang *et al.*, 2006; Chen y Liu, 2006). Todo estos antecedentes contribuyen sin duda a definir el extracto de *Monascus purpureus* como un ventajoso agente protector del sistema cardiovascular (Lin *et al.*, 2011).

Entre las múltiples causas de alteraciones cardiovasculares, la disfunción endotelial vascular es un factor muy importante y además juega un rol decisivo en la etiología de complicaciones de la diabetes tales como retinopatía, aterosclerosis acelerada, enfermedad microvascular, nefropatías, neuropatías, alteraciones de la cicatrización de heridas, entre otras (Rojas y Morales, 2004, Rojas *et al.*, 2008). Se considera disfunción endotelial como la pérdida parcial o total de la capacidad de relajación endotelio-dependiente de la célula muscular lisa, inducida por un agonista colinérgico resultando en una menor o nula producción de $\cdot NO$ en la célula endotelial (Egashira *et al.*, 1993; Anderson *et al.*, 2003).

En el presente trabajo se propone demostrar que *Monascus purpureus* tiene un efecto protector sobre el endotelio y que puede revertir el daño endotelial provocado por el estrés oxidativo causado por glucosa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención y preparación de los segmentos de aorta

Se extirpó la arteria aorta torácica a 11 ratas macho Sprague Dawley sacrificadas con sobredosis de halotano. Desde el segmento inmediatamente inferior al cayado aórtico se cortaron cuatro anillos de aproximadamente 2 a 3 mm de longitud, la muestra inicial fue de 32 anillos aórticos ($n = 32$), algunos de los cuales sufrieron daño durante el proceso de extracción y montaje. Se limpió de tejido graso, conectivo y restos de sangre coagulada sin dañar el tejido endotelial, se lavó en solución Krebs Hensseleit modificada (KHm) a $37^\circ C$. Se introducen a través del lumen de cada anillo aórtico dos ganchos de acero inoxidable atado cada uno a un hilo de seda de 20 cm de longitud que por el extremo libre son colocados en el interior de baños de vidrio de doble pared llenos con 10 ml de solución KHm, termorregulados a $37^\circ C$ mediante un baño de recirculación constantemente burbujeado con carbógeno (95% O_2 y 5% CO_2). Los anillos aórticos se fijan mediante el hilo de sus ganchos al fondo del baño, y el otro extremo a un transductor de fuerza Grass FT-03, conectados a

polígrafos Grass 7D para la determinación de la contracción isométrica. Los anillos aórticos son sometidos a una tensión basal de 1,5 g y se estabilizan en solución KHm por un período de una hora (estabilización), cambiando la solución cada 15 minutos para evitar la acumulación de metabolitos. Tanto las contracciones como las relajaciones inducidas en los anillos aórticos se expresan como porcentaje de relajación respecto de la contracción máxima inducida por fenilefrina (FE) estandarizado al peso seco de la aorta ensayada. Los valores absolutos de contracción se expresan en unidades mili Newton (mN).

Grupos experimentales

Después del período de estabilización los anillos aórticos fueron distribuidos aleatoriamente en cuatro grupos y tratados *in vitro*, como se describe a continuación: En todos los grupos se realizó una contracción inicial con $1 \times 10^{-6} M$ FE y una relajación con alícuotas crecientes de ACh (1×10^{-8} a $1 \times 10^{-4} M$) para determinar el correcto estado del anillo aórtico. En el grupo A (control), se realizó una segunda contracción pasados 100 min desde el término de la curva de contracción y relajación (curva C-R) inicial, para descartar el tiempo de incubación como inductor de DE. En el grupo B (glucosa elevada), una vez concluida la curva C-R inicial, los anillos aórticos fueron incubados con glucosa 46 mM (HG) durante 100 min, para luego realizar la segunda curva C-R y determinar % de DE. En el caso del grupo C (prevención de DE), al concluir la curva C-R inicial, los anillos aórticos fueron incubados con 0.25 mg/ml de extracto seco estandarizado de Mp durante 40 min, y luego se incubaron por 60 min con glucosa 46mM, para finalmente realizar la segunda curva C-R y determinar así la capacidad de protección endotelial. Finalmente, una vez lograda la curva C-R inicial del grupo D (reversión de DE), los anillos aórticos fueron incubados con glucosa 46 mM durante 60 min, y luego con 0.25 mg/ml de extracto seco estandarizado de Mp durante 40 min, para culminar con la segunda curva C-R que permite determinar la reversión de la DE. En la segunda curva siempre se realizó una contracción con FE $1 \times 10^{-6} M$ y se relajó con concentraciones crecientes de ACh (1×10^{-8} a $1 \times 10^{-4} M$). El procedimiento experimental fue realizado según lo descrito por Tesfamariam *et al.*, 1990 y Donnini *et al.*, 2003, con algunas modificaciones (Álvarez *et al.*, 2004; Álvarez *et al.*, 2005). (Ver también Figura 1).

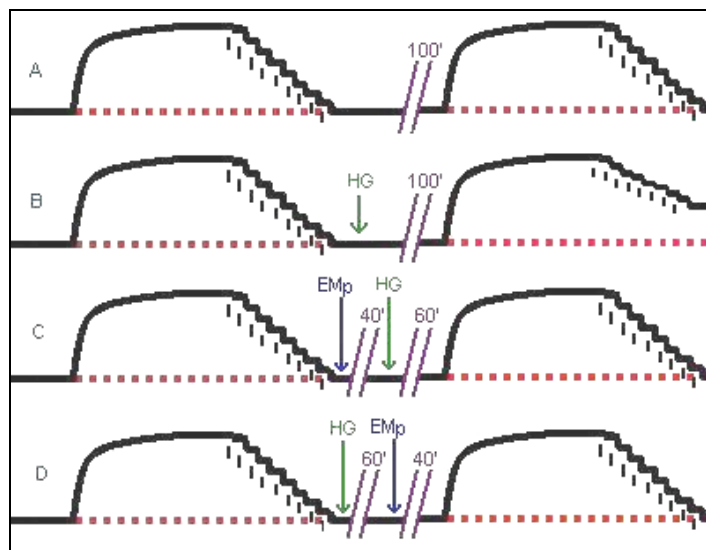


Figura 1
Protocolo realizado.

Con respecto a la contracción con $1 \times 10^{-6} \text{M}$ de FE ésta se realizó hasta alcanzar una contracción máxima estable (meseta), para luego relajarlos lavando el tejido con solución KHm a 37°C lo que se repitió de tres a seis veces hasta lograr una respuesta contráctil máxima estable, con un tiempo de recuperación de 20 a 30 minutos entre cada ciclo. Sólo los anillos aórticos con contracciones superiores al mínimo de resolución poligráfica (4.9 mN) se consideraron en el estudio. A los anillos aórticos precontraídos con FE $1 \mu\text{M}$, estabilizados en 10 mL de KHm, se les adicionó ACh en concentraciones crecientes ($1 \times 10^{-8} \text{M}$ a $1 \times 10^{-4} \text{M}$) cuyos resultados fueron expresados como gráficos concentración-respuesta. Las alícuotas fueron calculadas considerando la corrección de volumen necesaria para la obtención de la concentración de ACh deseada en el baño de órgano.

Soluciones y reactivos

La composición de la solución Krebs Hensseleit modificada (KHm) fue la siguiente (en mM): NaCl 122,0; KCl 4,7; $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ 2,0; $\text{MgCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ 1,2; KH_2PO_4 1,2; NaHCO_3 15,5; EDTA 0,021; Glucosa

11,5. La solución se prepara en agua destilada, equilibrada por 15 minutos con carbógeno (95% H_2O y 5% CO_2 (AGA, Gases Médicos Santiago, Chile) y ajustada a pH 7,40 con HCl al 10% (v/v) o con NaOH 0,1 N. Las sales necesarias para la preparación de la solución KHm y las soluciones requeridas para ajustar el pH, fueron de grado analítico con al menos 99,5% de pureza. Se usó (L) fenilefrina y acetilcolina Sigma.

Determinación del grado de disfunción endotelial

La relajación inducida por ACh en los anillos aórticos de los grupos B, C y D fue comparada con los valores de relajación obtenidos en los anillos aórticos del grupo Control A, expresados como porcentaje respecto de la contracción máxima alcanzada con FE ($1 \times 10^{-6} \text{M}$). La alteración significativa ($p < 0,001$) de la respuesta máxima control fue definida como disfunción endotelial. El grado de disfunción endotelial se determinó a la concentración de ACh que indujo la máxima relajación en los anillos aórticos del grupo control, y se expresaron como el valor porcentual de la diferencia entre la relajación máxima observada en el grupo tratado en relación al grupo control.

$$\Delta \text{Relajación} = \frac{\% \text{Relajación grupo control} - \% \text{Relajación grupo (B,C o D)}}{\% \text{relajación grupo control}} \times 100$$

Determinación del grado de prevención de disfunción endotelial

El grado de prevención corresponde al porcentaje de disfunción endotelial correspondiente al grupo

incubado previamente con Mp respecto al porcentaje de disfunción endotelial obtenido en el grupo sometido sólo a condiciones de hiperglicemia.

$$\% \text{ Prevención} = 100 - \frac{\% \text{ DE grupo B} \times 100}{\% \text{ DE grupo C}}$$

Donde DE: Disfunción Endotelial

Determinación de la reversión de disfunción endotelial

El grado de reversión de la disfunción endotelial corresponde al porcentaje de disfunción endotelial del

grupo sometido a posteriori con Mp respecto del porcentaje de disfunción endotelial en el grupo sometido sólo a condiciones de hiperglicemia.

$$\% \text{ Reversión} = 100 - \frac{\% \text{ DE grupo B} \times 100}{\% \text{ DE grupo D}}$$

Análisis estadístico

Los resultados fueron expresados como el promedio \pm el error estándar de la media (EEM) para las mediciones obtenidas de los 4 grupos experimentales. Se determinó la significancia estadística con el test estadístico de ANOVA, seguido de la prueba a posteriori de Bonferroni, para analizar las diferencias entre grupos experimentales. El nivel de significancia se estableció en al menos 99,9% ($p < 0,001$). Extracto seco de *Monascus purpureus*, estandarización: 0,4 %

de monacolinas. Gentileza de Laboratorios GardenHouse S.A. de Chile.

RESULTADOS

Del gráfico de relajación vascular se eligió 0,25 mg/ml como la concentración de *Monascus purpureus* que sería utilizada en el resto de los procedimientos experimentales, poniendo como límite la capacidad de inducir una relajación directa, no mediada por ACh o por endotelio, inferior al 10% (Figura 2).

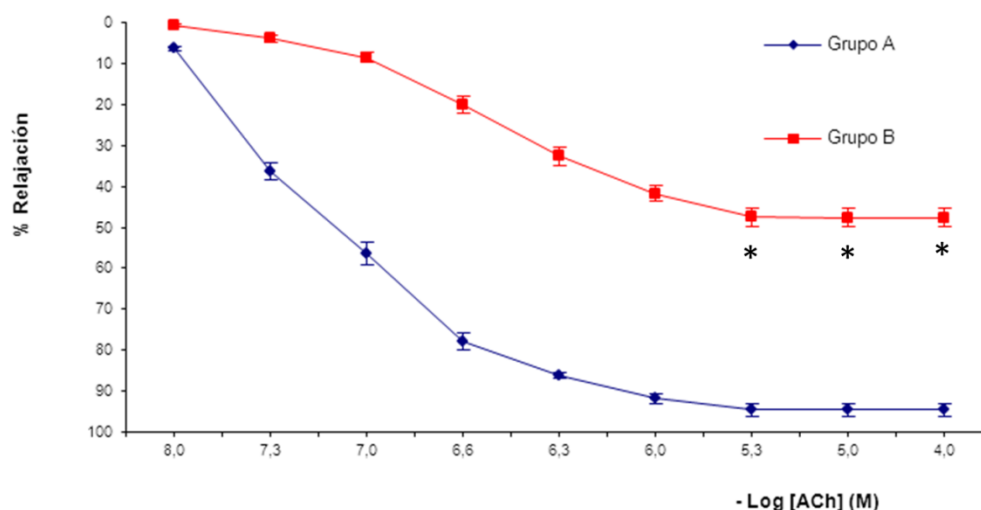


Figura 2

Relajación inducida por concentraciones crecientes de ACh en presencia de glucosa con respecto al grupo control. Concentración glucosa 46 mM. Los valores son expresados en porcentajes \pm EEM, ambos con $n = 8$. * $P < 0,001$, en relación al control.

En los anillos aórticos del grupo control, la relajación máxima inducida por ACh, mediada por endotelio, fue de $94,6 \pm 1,41\%$, respecto de la contracción máxima inducida por FE $1 \mu\text{M}$ (Curva A, Figura 2). Con glucosa 46mM se modificó de manera importante la relajación endotelio-dependiente gatillada por acetilcolina. El efecto alcanzó un $47,66 \pm 2,20\%$ del valor de relajación en condiciones

normoglicémicas, diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,001$) en comparación con el grupo control (Curva B, Figura 2), lo que significa una disminución aproximada de un 49% con respecto a la relajación máxima del grupo control y este valor correspondería a la magnitud de disfunción endotelial que induce la exposición a glucosa elevada.

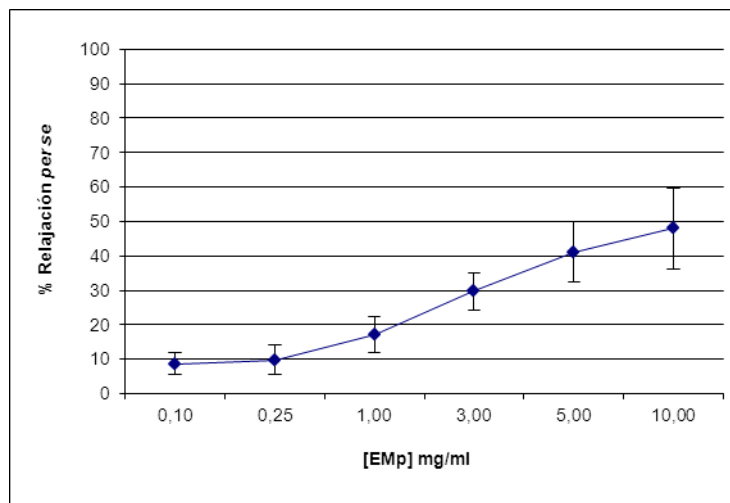


Figura 3

Porcentaje de relajación de anillos aórticos contraídos con Fenilefrina 10^{-6}M provocada por distintas concentraciones del extracto de *Monascus purpureus* ($n = 7$).

En anillos aórticos previamente tratados con glucosa 46 mM y luego incubados con extracto de Mp, se observó que la relajación inducida por ACh alcanzó hasta $81,01 \pm 0,69\%$ observándose diferencias significativas ($p < 0,001$) en los valores de relajación, tanto con el grupo A, como con el grupo B. La disfunción endotelial fue de sólo $14,37\%$, es decir, se logró prevención del $71,04\%$, en relación a la DE observada en anillos tratados con glucosa. En los anillos aórticos del grupo D la relajación máxima inducida por ACh fue de $70,26 \pm 1,82\%$. Esta relajación evidencia una diferencia significativa ($p < 0,001$) con respecto al grupo A y al grupo B, la disfunción endotelial llegó a un $25,74\%$, lográndose una reversión de un $48,13\%$ (Ver Figura 4).

DISCUSIÓN

En este estudio se reprodujo un modelo experimental de disfunción endotelial sometiendo anillos aórticos

con endotelio intacto a un tratamiento con una elevada concentración de glucosa generando estrés oxidativo (Tsfamariam *et al.*, 1990; Cosentino *et al.*, 2003). En trabajos previos ya se había demostrado que la exposición a glucosa 46mM induce una disfunción endotelial que alcanza valores máximos de alrededor de 50% tras una exposición de al menos 45 minutos (Álvarez *et al.*, 2004; Álvarez *et al.*, 2005).

Como se resume en la Tabla 1, el tratamiento preventivo con extracto estandarizado de *Monascus purpureus* redujo la disfunción endotelial provocada por la incubación con glucosa 46mM , en un $71,04\%$, denotando una clara prevención de los efectos observados en ausencia del extracto. En los anillos aórticos incubados previamente con glucosa 46mM , la adición del extracto revirtió en un $48,13\%$ la disfunción endotelial. *Monascus purpureus* exhibió estas potencialidades a la concentración de $0,25$

mg/ml, con la cual el efecto vasorrelajador directo resultó inferior al 10%.

El tratamiento preventivo de los anillos aórticos con extracto de *Monascus purpureus* redujo en un 71,04% la disfunción endotelial provocada por la incubación con glucosa 46 mM. Por otra parte, la

adición de Mp posterior a la incubación con glucosa 46 mM de los anillos aórticos revirtió en un 48,13% el daño endotelial con respecto al grupo en condiciones de hiperglicemia sin tratamiento con Mp (Tabla I) (Figura 5).

GRUPO	A	B	C	D
DE (%)	0	49,62	14,37	25,74
% Prevención DE	--	--	71,04	--
% Reversión DE	--	--	--	48,13

Tabla I
 Porcentaje de Disfunción endotelial, de prevención y de reversión alcanzada con el extracto de *Monascus purpureus*.

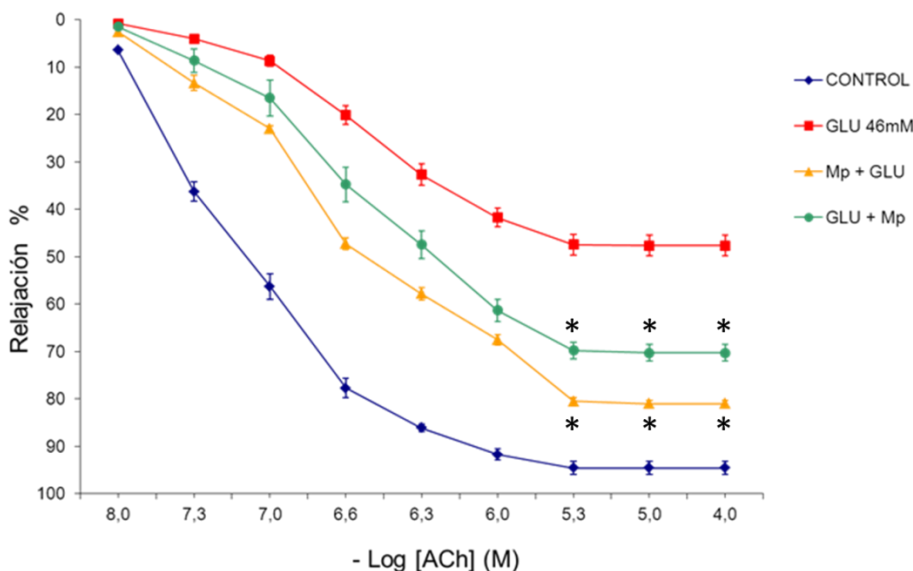


Figura 4

Relajación vascular aórtica dependiente de endotelio e inducida por ACh, en anillos aórticos controles (*Control*) y en anillos sometidos a: *Glu 46 mM*: Incubación previa con Glucosa 46 mM durante 100 minutos (ambos n = 8). *Mp+Glu*: Pretratamiento con Mp, 40 minutos, incubación con Glucosa 46 mM, 60 minutos. (n = 9) *Glu+Mp*: Incubación previa con Glucosa 46 mM, 60 minutos y adición de Mp 0.25 mg/ml, durante 40 minutos (n = 7). Los valores son expresados en porcentajes ± EEM. * P < 0,001, respecto de Glu 46 mM.

Estos resultados pueden ser reforzados por otros estudios en los que se ha analizado la relación entre hiperglicemia, estrés oxidativo y disfunción endotelial estableciendo que Mp genera una disminución en la expresión de moléculas de adhesión, como molécula de adhesión celular-1 (ICAM-1), molécula de adhesión celular vascular -1 (VCAM) y E-Selectina, en muestras de aorta humana sometidas al tratamiento con Factor de Necrosis Tumoral (TNF- α). Además, Mp disminuye la formación de especies reactivas del oxígeno (EROs) inducido por este factor, reduciendo

la inflamación y el estrés oxidativo que se provoca sobre el endotelio vascular (Lin *et al.*, 2011). Por otra parte, la colestina presente en Mp reduce la adhesividad endotelial estimulada por homocisteína y disminuye la activación del Factor Nuclear κ B (Lin *et al.*, 2008). Estos hallazgos constituyen diversas vías que pueden contribuir a explicar nuestra observación de protección y reversión del daño que ejerce el estrés oxidativo sobre el endotelio vascular y en último término en la pérdida de la respuesta vascular al estímulo colinérgico provocado sobre el endotelio.

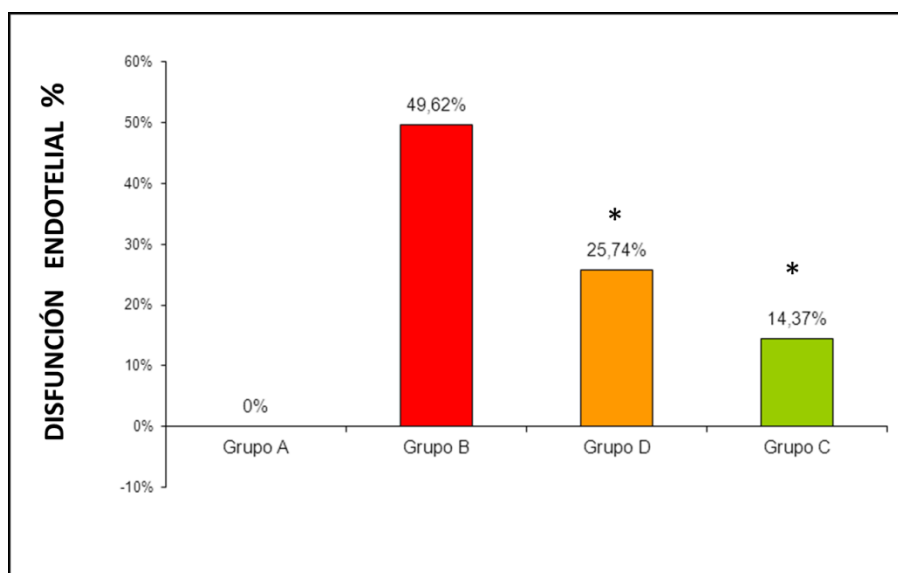


Figura 5

Porcentaje de disfunción endotelial alcanzado por los distintos grupos:

A = control; B = glucosa 46mM; C = glucosa 46 mM + Mp (prevención); D = glucosa 46 mM + Mp (reversión). * $P < 0,001$ respecto de Grupo B.

El extracto de *Monascus purpureus* posee entonces varias propiedades: control de la hiperglicemia, efectos antioxidantes, protección de las células β pancreáticas y efectos antiinflamatorios (Shi *et al.*, 2011). Todos estos blancos de acción del Mp unido a su amplio margen de seguridad, escasos efectos secundarios y su bajo costo en relación a otros fármacos de propiedades similares permiten proyectarlo como una opción interesante en la prevención de las complicaciones de la diabetes (Heber *et al.*, 1999; Man *et al.*, 2002; Lin *et al.*, 2005)

De nuestros resultados se puede además añadir que el extracto de *Monascus purpureus*, además de ser un hipolipemiante natural que reduce de modo

significativo el colesterol y triglicéridos sanguíneos, como se muestra ampliamente en la literatura (Heber *et al.*, 1999; Goldstein, 2000; Man *et al.*, 2002; Kreisberg y Oberman, 2003; Lin *et al.*, 2005), protegería la función endotelial frente al daño causado por especies reactivas derivadas del oxígeno y que probablemente afectan en la biodisponibilidad del óxido nítrico (Rojas *et al.*, 2006). Dicho de otro modo, el extracto estandarizado de *Monascus purpureus* protege o restablece el control que ejerce el endotelio sobre el tono del músculo liso vascular.

REFERENCIAS

- Álvarez N, Solís L, Morales MA. 2004. **Efecto del extracto estandarizado de *Vitis vinifera* en la disfunción endotelial vascular de ratas inducida por concentraciones altas en glucosa.** Tesis para optar al grado Profesional. Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
- Álvarez N, Cerda J, Gómez A, Guamán J, Lara N, Bustamante S, Morales M. 2005. **Rat aortic endothelial dysfunction induced by high glucose in vitro and its reversal by aproanthocyanidines-standardized *Vitis vinifera* seed extract.** 4th Virtual Congress of Cardiology, October 2005.
<http://www.fac.org.ar/ccvc/marcoesp/marcos.php>
(Consultada 23 de Agosto de 2012)
- Anderson T, Buchanan M, Verma S. 2003. Endothelial function testing as a biomarker of vascular disease. **Circulation** 108: 2054 - 2059.
- Aniya Y, Yokomakura T, Yonamine M, Nagamine T, Nakanishi H. 1998. Protective effect of the mold *Monascusanka* against acetaminophen-induced liver toxicity in rats. **Jpn J Pharmacol** 78: 79 - 82.
- Aniya Y, Yokomakura T, Yonamine M, Shimada K, Nagamine T, Shimabukuro M, Gibo H. 1999. Screening of antioxidant action of various molds and protection of *Monascusanka* against experimentally induced liver injuries of rats. **Gen Pharmacol** 32: 225 - 231.
- Aniya Y, Ohtani II, Higa T, Miyagi C, Gibo H, Shimabukuro M, Nakanishi H, Taira J. 2000. Dimerumic acid as an antioxidant of the mold *Monascusanka*. **Free Radic Biol Med** 28: 999 - 1004.
- Avogaro A, Fadini G, Gallo A, Pagnin E, de Kreutzenberg S. 2006. Endothelial dysfunction in type 2 diabetes mellitus. **Nut Metab Cardiovasc Dis** 16: 39 - 45.
- Brown MS, Goldstein JL. 1986. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. **Science** 232: 34 - 47.
- Chang JC, Wu MC, Liu IM, Cheng JT. 2006. Plasma glucose-lowering action of Hon-Chi in Streptozotocin-induced diabetic rats. **Horm Metab Res** 38: 76 - 81.
- Chen CC, Liu IM. 2006. Release of acetylcholine by Hon-Chi to raise insulin secretion in Wistar rats. **Neurosci Lett** 404: 117 - 121.
- Chuang C, Shi Y, You H, Lo Y, Pan T. 2011. Antidepressant Effect of GABA-rich *Monascus*-fermented product on forced swimming rat model. **Agric Food Chem** 59: 3027 -3034
- Cosentino F, Eto M, De Paolis P, van der Loo B, Bachschmid M, Ullrich V, Kouroedov A, Delli Gatti C, Joch H, Volpe M, Lüscher TF. 2003. High glucose causes upregulation of cyclooxygenase-2 and alters prostanoid profile in human endothelial cells: role of protein kinase C and reactive oxygen species. **Circulation** 107: 1017 - 1023.
- Donnini D, Del Terra E, Ambesi-Impiombato F, Curcio F. 2003. New in vitro model to study high glucose-dependent endothelial dysfunctions. **Biochimie** 85: 701 - 705.
- Egashira K, Inou T, Hirooka Y, Yamada A, Urabe Y, Takeshita A. 1993. Evidence of impaired endothelium-dependent coronary vasodilatation in patients with angina pectoris and normal coronary angiograms. **N Engl J Med** 328: 1659 - 1664.
- Gheith O, Sheashaa H, Abdelsalam M, Shoeir Z, Sobh M. 2009. Efficacy and safety of *Monascus purpureus* Went rice in children and young adults with secondary hyperlipidemia: A preliminary report. **Eur J Int Med** 20: 57 - 61.
- Goldstein MR. 2000. Effects of dietary phytosterols on cholesterol metabolism and atherosclerosis. **Am J Med** 109: 72 - 73.
- Gómez R, Asnis N, Tannhauser SL, Barros HM. 1999. GABA agonists differentially modify blood glucose levels of diabetic rats. **Jpn J Pharmacol** 80: 327 - 331
- Heber D, Yip I, Ashley JM, Elashoff DA, Elashoff RM, Go VL. 1999. Cholesterol-lowering effects of a proprietary Chinese red-yeast rice dietary supplement. **Am J Clin Nutr** 69: 231 - 236.
- Katan MB, Zock PL, Mensink RP. 1994. Effects of fats and fatty acids on blood lipids in humans: an overview. **Am J Clin Nutr** 60: 1017 - 1022.
- Kreisberg RA, Oberman A. 2003: Medical management of hyperlipidemia/dyslipidemia. **J Clin Endocrinol Metab** 88: 2445 - 2461.
- Lee C, Lee C, Pan T. 2010. A 90-D Toxicity study of *Monascus*-fermented products including high citrinin level. **J Food Sci** 75: 91 - 97.

- Li JM, Shah A. 2004. Endothelial cell superoxide generation: regulation and relevance for cardiovascular pathophysiology. **J Physiol Reg Integ Comp Physiol** 287: 1014 - 1030.
- Lin C, Li C, Lai M. 2005. Efficacy and safety of *Monascus purpureus* Went rice in subjects with hyperlipidemia. **Eur J Endocrinol** 153: 679 -686.
- Lin Y, Wang T, Lee M, Su N. 2008. Biologically active components and nutraceuticals in the *Monascus*-fermented rice: a review. **Appl Microbiol Biotechnol** 77: 965 - 973.
- Lin C, Chen Y, Chen J, Leu H, Liu T, Liu P, Huang S. 2008. Cholestin (*Monascus purpureus* rice) inhibits homocysteine-induced reactive oxygen species generation, nuclear factor-kB activation, and vascular cell adhesion molecule-1 expression in human aortic endothelial cells. **J Biomed Sci** 15: 183 - 196.
- Lin C, Lin C, Huang P, Tsaia H, Chenf Y. 2011. Inhibition of endothelial adhesion molecule expression by *Monascus purpureus*-fermented rice metabolites, monacolin K, ankaflavin, and monascin. **J Sci Food Agric** DOI 10.1002/jsfa.4371.
- Ma J, Li Y, Ye Q, Li J, Hua Y, Ju D, Zhang D, Cooper R, Chang M. 2000. Constituents of red yeast rice, a traditional Chinese food and medicine. **J Agric Food Chem** 48: 5220 - 5225.
- Man R, Lynn E, Cheung F, Tsang P, Karmin O. 2002. Cholestin™ inhibits cholesterol synthesis and secretion in hepatic cells (HepG2). **Mol Cel Biochem** 233: 153 - 158.
- Mayhan W, Irvin S, Sharpe G. 1999. Constrictor response of resistance arterioles during diabetes mellitus. **Diab Res Clin Pract** 44: 147 - 153.
- Mei F. 1990. **Red yeast flavored duck**. In Fang Mei's Illustrated Cookbook of Regional Chinese Cuisine. Guangxi, Peoples' Republic of China: Guangxi National Press.
- Morales M. 2011. Fungifármacos, extractos estandarizados de hongos o levaduras. <http://phytomedchile.blogspot.com/2011/06/fungifarmacos-extractos-estandarizados.html> (consultado el 23 de Agosto de 2012).
- Rhyu MR, Kim DK, Kim HY, Kim BK. 2000. Nitric oxide-mediated endothelium dependent relaxation of rat thoracic aorta induced by aqueous extract of red rice fermented with *Monascus ruber*. **J Ethnopharmacol** 70: 29 - 34.
- Rojas A, Morales M. 2004. Advanced glycation and endothelial functions: A link towards vascular complications in diabetes. **Life Sciences** 76: 715 - 730.
- Rojas A, Figueroa H, Re L, Morales M. 2006. Oxidative stress at the vascular wall. Mechanistic and pharmacological aspects. **Arch Med Res** 37: 436 - 448.
- Rojas A, Mercadal E, Figueroa H, Morales M. 2008. Advanced glycation and ROS: A link between diabetes and heart failure. **Curr Vasc Pharmacol** 6: 44 - 51.
- Ruderman N, Williamson J, Brownlee M. 1992. Glucose and diabetic vascular disease, **FASEB J** 6: 2905 - 2914.
- Sharma A, Fogelson B, Nawas S, Vigneswaran W, Sam II A, Alden K, Ferguson L, Law W. 1999. Elevated coronary endothelin-1 but not nitric oxide in diabetics during CABG. **Ann Thorac Surg** 67: 1659 - 1663.
- Shi Y, Liao J, Pan T. 2011. Antihypertriglyceridemia and anti-inflammatory activities of monascus-fermented *Dioscorea* in streptozotocin-induced. **Exp Diab Res** doi:10.1155/2011/710635.
- Taira J, Miyagi C, Aniya Y. 2002. Dimerumic acid as an antioxidant from the mold, *Monascusanka*: The inhibition mechanisms against lipid peroxidation and heme protein mediated oxidation. **Biochem Pharmacol** 63: 1019 - 1026.
- Tesfamariam B, Brown ML, Deykin D. 1990. Elevated glucose promotes generation of endothelium-derived vasoconstrictor prostanoids in rabbit aorta. **J Clin Invest** 85: 929 - 932.
- Wang J, Lu Z, Chi J, Wang W, Su M, Kou W, Yu P, Yu L, Chen L, Zhu JS, Chang J. 1997. Multicenter clinical trial of the serum lipid lowering effects of a *Monascus purpureus* (red yeast) rice preparation from traditional Chinese medicine. **Curr Therap Res** 58: 964 - 978.
- Wang J, Wang H, Shih C. 2010. Autonomic nervous system and nitric oxide in antihypertensive and cardiac inhibitory effects induced by red mold rice I spontaneously hypertensive rats. **J Agric Food Chem** 58: 7940 - 7948.