Efeitos de corantes naturais nos níveis séricos de colesterol e colesterol-HDL em ratos hiperlipidêmicos

Effects of natural dyes on seric levels of cholesterol and HDL-cholesterol in hyperlipidemic rats

Silva1, R. C .; Valente[1], S. T. X.; 1.; Oliveira[1], T. T.; Nagem[2], T. J.; Pinto[3], A. S. & Costa[4], N. M. B.

RESUMO - Distúrbios no metabolismo lipídico tem levado a uma série de desordens do organismo, dentre elas as hiperlipidemias primárias, defeitos na via exógena, alterações no metabolismo de LDL, etc. O presente trabalho avaliou a ação de cúrcuma, antocianina, carmin e monascus nas doses de quarenta e oitenta miligramas misturados à ração Nuvilab e fornecidos a ratos Wistar hiperlipidêmicos induzidos por Triton. Os resultados indicaram uma percentagem de redução nos níveis de colesterol total sérico de 22,1, 31,6, 32,1 e 22,7% respectivamente para os corantes cúrcuma, antocianina, carmin e monascus e de 20,1, 17,9, 12,6 e 18,1% para a mesma seqüência de corantes em relação ao colesterol – HDL.

PALAVRAS-CHAVE - Colesterol; cúrcuma; antocianina.

SUMMARY - *Disturbances in the lipidic metabolism produce a series of disorders in the organism, including the primary hyperlipidemies, defects in the exogenous route, changing in the LDL-metabolism. This work evaluates the action of curcumin, anthocyanin, carmin and monascus natural dyes in the dosis of forty and eighty milligrams mixed to the ration Nuvilab and supplied to male hyperlipidaemic rats Wistar induced by Triton. The results showed a reduction in the cholesterol seric levels of 22.1, 31.6, 32.1 and 22.7% for curcuma, anthocyanin, carmin and monascus respectively and 20.1, 17.9, 12.6 and 18.1% for the same sequence of natural dyes in relation to the HDL-cholesterol.*

KEY WORDS - *Cholesterol; curcuma; anticynin; carmine; monascus.*

INTRODUÇÃO

Distúrbios no metabolismo lipídico tem levado a uma série de desordens do organismo tais como hiperlipidemias primárias, defeitos na via exógena (produção da apoliproteína B, deficiência familiar de lipase e de apoliprotéina C-II), aumento no nível da apoliproteína C-III, inibição da lipase lipoproteica, etc e na via endógena alterações no metabolismo de VLDL, alterações no metabolismo de LDL, dislipidemias secundárias, hipertrigliceridemia. Todas elas são consideradas fatores de risco para a aterosclerose, processo em que IDL e VLDL se infiltram através da parede endotelial e depositam-se na íntima das paredes vasculares. Este processo parece ser facilitado por algumas lesões preexistentes. Embora algumas lipoproteínas que atravessam o endotélio possam ser reabsorvidas, voltando novamente para a circulação através das artérias, uma grande quantidade se deposita na íntima e ali permanece, em virtude de sua afinidade pelos mucopolissacarídeos e pelo colágeno, componentes essenciais do tecido conjuntivo das diversas camadas das paredes vasculares. A aderência de monócitos que circundam o endotélio vascular é um dos primeiros passos detectados na aterosclerose induzida de modo experimental. Logo em seguida, a camada íntima das paredes vascular, as lipoproteínas aterogênicas sofrem uma série de modificações que lhes permitem continuar o processo aterogênico, sendo uma das principais a oxidação. A oxidação de LDL produz maior atração e inibição da migração dos macrófagos e, sendo citotóxico, lesa a camada endotelial vascular predispondo a um novo e maior depósito de LDL, assim como, de macrófagos. A terceira fase da aterogênese, representada pela placa aterosclerótica complicada, manifesta-se por sua calcificação, hemorragia e fissura, consequentemente com trombose local, obstrução da luz do vaso sangüíneo e aparecimento de isquemia e pos-

Recebido em 20/3/2000
Aprovado em 12/4/2000
[1]Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa, 36571-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.
[2]Departamento de Química da Universidade Federal de Ouro Preto, 35400-000, Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil.
[3]Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, 36571-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.
[4]Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Viçosa, 36571-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

terior necrose do tecido irrigado por tais artérias (Bostom *et al*, 1996).

Estudos experimentais envolvendo corantes naturais, têm mostrado que, além de conferirem cor aos alimentos, alguns deles não se apresentam como substâncias totalmente inócuas ao organismo. Estudos feitos com diferentes doses, com a segurança de quantidades para sua utilização, de suas propriedades fisiológicas e farmacológicas atribuem suas ações aos seus princípios ativos (Srinavasan *et al*, 1991, Ramaprasad *et al*, 1956 , Marmion *et al*, 1991).

Hoje se sabe que os efeitos dos corantes naturais no metabolismo lipídico, principalmente na redução dos níveis de colesterol na corrente sangüínea de animais experimentais é uma verdade apesar das poucas publicações disponíveis.

A curcumina, princípio corante da cúrcuma é obtido a partir dos rizomas da planta *Curcuma longa* L. e possui propriedades farmacológicas como antiinflamatória e hipocolesterolêmica no organismo animal, além de provocar o aumento da secreção biliar e da excreção biliar e da excreção de sais biliares, colesterol e bilirrubina (Ammon e Whal, 1991).

As antocianinas, juntamente com outros flavonóides, amplamente encontradas em vegetais, são substâncias ativas como antioxidantes e antiinflamatórias, que atuam também no metabolismo lipídico em animais experimentais (Igarashi *et al*, 1990; Tamura e Yamagami, 1994).

Tradicionalmente utilizado pelos povos asiáticos, o corante monascus, produzido pela fermentação do arroz por fungos do gênero *Monascus*, encontra aplicação em alimentos devido às suas propriedades corantes, organolépticas e antimicrobianas, embora Fink-Gremmels e Leistner, 1989, tenham demonstrado efeito na redução dos níveis de lipídeos séricos, em animais experimentais, com o uso de um extrato metanólico dos pigmentos produzidos por *Monascus purpureus.*

Considerando, portanto a maior utilização destes corantes, principalmente através de produtos industrializados, e a necessidade do melhor conhecimento de seus efeitos no organismo humano, este trabalho procurou avaliar os corantes cúrcuma, antocianina (de cascas de uva), carmim e monascus quanto ao potencial efeito de redução dos níveis de colesterol e colesterol-HDL sangüíneos, em ratos hiperlipidêmicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios biológicos foram realizados utilizando-se ratos machos albinos da raça Wistar, com 60 dias de vida, provenientes do Departamento de Nutrição e Saúde da Universidade Federal de Viçosa. No período pré-experimental os animais foram mantidos em gaiolas coletivas, à temperatura ambiente, ciclo de claro-escuro de 12 horas e tiveram livre acesso ração Nuvilab CR1 e água à vontade . Os corantes utilizados foram fornecidos pela Christian Hansen Ind. E Comércio Ltda, com as seguintes especificações:

• *Corante natural de cúrcuma em pó* - É um óleo solúvel, produzido a partir da extração da oleoresina das raízes de *Curcuma longa* L. com uso de solventes aprovados pela *Food and Agriculture Organization* (FAO) e *World Heath Organization* (WHO), e purificado por cristalização, possuindo um teor total de curcumina de, no mínimo, 94%. Conferem diferentes tonalidades de cor que vão do amarelo-brilhante ao amarelo-esverdeado.

• Já a *antocianina* é um pó hidrossolúvel, produzido a partir da extração aquosa da casca da uva. O extrato é concentrado por evaporação a vácuo, durante a qual as impurezas são removidas. Em valores de pH abaixo de 5, fornecem tonalidades que variam de rosa-claro a vermelho framboesa. Em valores de pH maiores, variam de vermelho-azulado a azul. Os maiores princípios ativos são peonidina, malvidina, delfinidina e petunidina. Sua força corante é -1125-1375 unidades/g.

• *Carmim* é um pó, solúvel em soluções alcalinas e dispersível em água, gordura e óleos, constituindo-se numa laca da alumínio do ácido carmínico. Fornece tonalidades vermelho-claro ou escuras, dependendo do produto alimentício onde é aplicado e da quantidade empregada. Sua força corante é -47,5 unidades/g a 52,5% de ácido carmínico.

• *Monascus* é um pó fino usado na preparação de alimentos asiáticos. O produto fornece uma coloração vermelha, resultado da fermentação do amido de arroz pelo microorganismo *Monascus purpureus*. De flavour típico, constitui-se num preparado para ser usado no tempero de alimentos, na dosagem de 0,5-1g/Kg.

A substância utilizada para induzir a hiperlipidemia nos ratos foi o Triton WR 1339, ou tyloxapol (Sigma), um detergente não aniônico, de estrutura polimérica muito utilizado pelos pesquisadores neste tipo de experimento (Mathur *et al*, 1964, Siddiqui *et al*, 1996, Sharma, 1979, Choi *et al*, 1991).

Neste trabalho, foram realizados dois experimentos, utilizando-se setenta e dois ratos sendo sessenta deles hiperlipidêmicos. Destes, quarenta e oito receberam os corantes isoladamente nas doses de 40 mg e 80 mg. A substância indutora da hiperlipidemia Triton WR-1339 foi injetada intraperitonealmente nos animais, na dose de 300mg/kg de peso corporal, dissolvido em solução salina (NaCl 0,15M), de modo a obter-se uma solução com concentração de 78 mg/mL. De acordo com o peso dos animais, foram aplicados diferentes quantidades dessa solução, utilizando-se seringas descartáveis com capacidade de 1mL. Vinte e quatro horas após a injeção de Triton WR-1339 nos 60 ratos, estes foram divididos em grupos de 6 animais, com peso médio inicial de 225 g e distribuídos conforme os seguintes tratamentos:

Grupo 1 - (Ração)
Grupo 2 - (Ração + Triton)
Grupo 3 - (Ração + Triton + Cúrcuma)
Grupo 4 - (Ração + Triton + Antocianina)
Grupo 5 - (Ração + Triton + Carmim)
Grupo 6 - (Ração + Triton + Monascus).

No experimento I estes corantes foram administrados na forma de pó na dose única de 40 mg, mistura-

QUADRO I
Valores médios de colesterol total sérico (± erro padrão) de soros de ratos Wistar nos experimentos I e II e suas respectivas médias

Grupos	Doses		Médias
	40 mg	80 mg	
1-Ração	66,80 ± 2,34	67,69 ± 2,08	67,25 ± 1,50
2- Ração + Triton	119,06 ± 3,62	117,90 ± 1.32	118,48 ± 1,95 A
3- Ração + Triton + Cúrcuma	94,03 ± 1,83	88,24 ± 1,96	91,14 ± 1,55 B
4- Ração + Triton + Antocianina	81,57 ± 1,94	78,41 ± 1,64	79,99 ± 1,30 B
5-Ração + Triton + Carmim	82,40 ± 0,98	76,33 ± 1,25	79,37 ± 1,19 B
6-Ração + Triton + Monascus	96,14 ± 2,65	84,53 ± 1,27	90,34 ± 2,24 B
Média	94,64 A	88,46 B	

Na linha A> B, pelo teste F • Na coluna, b difere de a, pelo teste de Dunnett (P<0,05).

QUADRO II
Valores médios de colesterol-HDL sérico (± erro padrão) de soros de ratos Wistar nos experimentos I e II e suas respectivas médias

Grupos	Doses		Médias
	40 mg	80 mg	
1-Ração	47,87 ± 2,16	49,47 ± 2,51	48,67 ± 1,60
2- Ração + Triton	78,16 ± 2,97	72,57 ± 2,79	75,37 ± 2,12 A
3- Ração + Triton + Cúrcuma	65,89 ± 1,41	54,51 ± 2,87	60,20 ± 2,30 B
4- Ração + Triton + Antocianina	66,50 ± 2,50	57,29 ± 3,75	61,90 ± 2,56 B
5-Ração + Triton + Carmim	69,81 ± 2,24	61,88 ± 6,60	65,85 ± 3,53 B
6-Ração + Triton + Monascus	68,50 ± 1,19	54,98 ± 2,56	61,74 ± 2,44 B
Média	69,77 A	60,25 B	

Na linha A> B, pelo teste F • Na coluna, b difere de a, pelo teste de Dunnett (P<0,05).

dos à 10g de ração comercial Nuvilab e no experimento II na dose única de 80 mg, nas mesmas condições anteriores. Quarenta e oito horas após a aplicação do Triton WR-1339, todos os animais foram anestesiados por inalação com éter etílico e por punção cardíaca foram retiradas as amostras de sangue. Estas foram centrifugadas a 7100 x G, por 15 minutos, para separação do soro, e mantidas a 8^0C até o momento das análises. As dosagens de colesterol e colesterol-HDL foram realizadas segundo metodologia proposta por Allain *et al*, 1974, utilizando-se o método enzimático da marca Analisa. A análise estatística foi realizada com o delineamento experimental inteiramente casualizado com cinco tratamentos (Ração + Triton, Ração + Triton + Cúrcuma, Ração + Triton + Antocianina, Ração + Triton + Carmim, Ração + Triton + Monascus) e seis repetições, em que foram empregadas 40 mg e 80 mg de substâncias. Os dados foram analisados por meio de análise de variância individual, para as duas variáveis em estudo (Colesterol e Colesterol-HDL). O teste de Dunnet, adotando-se um nível de 5% de colesterol total, colesterol-HDL foram obtidos dos grupos tratados com os corantes, com o valor médio do grupo-controle. A dispersão das médias foi expressa pelo erro padrão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios de colesterol total e colesterol-HDL séricos encontram-se descritos nos Quadros I e II, expressos em mg/dL, com suas respectivas médias entre os dois experimentos.

Os resultados indicam uma percentagem de redução dos níveis de colesterol total sérico de 22,1, 31,6, 32,1 e 22,7% respectivamente para os grupos 3,4,5,6.

A redução de 22,1% do nível de colesterol total sérico apresentado pelo grupo 3 (cúrcuma), é concordante com os dados da literatura sobre o efeito apresentado por extratos da planta *Curcuma longa* L. (Valente, 1998) e por estudos com curcumina, capsaicina, gengibre, mostarda, pimenta do reino, cominho e seus efeitos sobre a atividade da enzima 7-a-hidroxilase e sobre os níveis de colesterol em ratos (Srinivasan *et al*, 1991). O autor sugere que, por ativar a enzima de conversão de colesterol para ácidos biliares, este deve ser um possível mecanismo de ação para estes compostos na eliminação do colesterol do corpo e, portanto, uma das possíveis explicações para a redução de colesterol pelo tratamento com curcumina.

Quanto ao corante carmim, um aditivo corante com longa história de uso em alimentos, não se conhece ainda seu possível mecanismo de ação.

Já as antocianinas juntamente com outros flavonói-

des têm comprovados efeitos no metabolismo lipídico. Constitui uma classe de substâncias que tem mostrado suas ações como antioxidantes (Tsuda *et al*, 1994), ação antitrombótica, (Gryglewski *et al*, 1987), efeitos antiinflamatórios (Pelzer *et al*, 1998), inibição da modificação oxidativa de lipoproteínas LDL (Whalley *et al*, 1990) , e, com certeza se constituirá no futuro num dos possíveis fármacos no tratamento do colesterol e na prevenção de doenças cardíacas.

Os resultados obtidos neste trabalho com o corante monascus, não constitui surpresa pois resultados semelhantes também foram encontrados por Fink -Gremmels & Leistner, 1989, utilizando extrato metanóico dos pigmentos produzidos por *Monascus purpureus*, testado em ratos com dieta induzindo hiperlipidemia.

Este corante é utilizado pelos povos asiáticos como condimento e corante, assim como para estabilidade microbiológica de produtos de carne e peixe. Sabe-se hoje que uma espécie deste fungo do gênero monascus, *Monascus ruber*, produz, como resultado do seu metabolismo, monacolina K, um composto com ação hipocolesterolêmica que inibe a enzima HMG-CoA redutase. A literatura não registra a produção deste metabólito por *Monascus purpureus*.

Os resultados apresentados no Quadro II para colesterol–HDL mostram efeitos similares aos obtidos nos níveis de colesterol total. Todos os corantes testados apresentaram efeito de redução significativo dos valores de HDL-colesterol quando comparados ao grupo-controle, com redução de 20,1 % para o grupo 3, 17,9% para o grupo 4, 12,6% para o grupo 5 e 18,1% para o grupo 6. A maior dose, 80 mg, apresentou também maior efeito de redução em relação à dose de 40 mg, sendo esta redução em torno de 13,6%.

Reduzir os níveis elevados de colesterol sanguíneo é considerado de extrema importância no organismo humano. Hoje já está estabelecida relação entre níveis elevados de colesterol e aterosclerose, levando ao surgimento de doenças vasculares cardíacas, encefálicas e periféricas, de grande incidência em nossa população.

REFERÊNCIAS BIBLOGRÁFICAS

1. **Allain, C. C.; Poon, L. S.; Chan, C. S.; Richmond, W. Fu, P. C** Enzimatic determination of total serum cholesterol. *Clin. Chem.* Washington, 20:4, 470-475, 1974.
2. **Ammon, H. P. T.; Wahl, M. A.** Pharmacology of *Curcuma longa -Review Plant Med.* Sttuttgart, 57: 1-7, 1991.
3. **Bostom, A G.** Elevated plasma lipoprotein (a) and coronary heart disease in men aged 55 years and younger. *JAMA,* 276: 544-548, 1996.
4. **Choi, J. S.; Yokosawa, T.; Oura, H**. Antihyperlipidemic effect of flavonoids from *Prunus davidiana*. J. *Natural Products*, 54:1, 218-224, 1991.
5. **Fink-Gremmels, J., Leistner, L.** Biological effects of *Monascus purpureus. Fleischwirtesch*, Frankfurt, 69:1, 115- 122, 1989.
6. **Gryglewski, R. J.; Korbut, R.; Robak, J.; Swies, J.** On the mechanism of antithrombotic action of flavonoids. *Biochemical Pharmacology* 36:3, 17-322, 1987.
7. **Igarashi, K.; Abe, S.; Satoh, J.** Effects of Atsumi-kabu (Red Turnip, Brassica campestris L.) anthocyanin on serum cholesterol levels in cholesterol-fed rats. *Agric. Biol. Chem. Tokyo*, 54:1, 171-175, 1990.
8. **Marmion, D. M.** *Handbook of U. S. colorants foods, drugs, cosmetics and medical devices.* 3 ed, Ed John Wiley & Sons, Inc, 573p., 1991.
9. **Mathur, K. S.; Singhal, S. S.; Sharma, R. D**. Effect of Bengal gram on Experimentally induced high levels of cholesterol in tissues and serum in Albino rats. *J. Nutrition*,84: 201-204, 1964.
10. **Pelzer, L. E.; Guardia, T.; Juarez, A.O.; Guerreiro, E**. Acute and chronic antiinflammatory effects of plant flavonoids. *Il farmaco,* 53: 421-424, 1998.
11. **Ramaprasad, C And Sirsi, M.** Studies on Indian Medicinal plants: *Curcuma longa* Linn. Effect of curcumin and the essential oils of *Curcuma longa* on bile secretion. *J. Sci. Ind. Res.* 15C: 262 - 266, 1956.
12. **Siddiqui, M. T.; Siddiqui, M**. Hypolipidemic principles of *Cicer arietanum*: Biochanin A and Formonetin. *Lipids*, 11: 3, 1975- 1978, 1996.
13. **Sharma, R. D.** Effect of various isoflavones on lipid levels in triton treated rats. *Atherosclerosis,* 33: 371-375, 1979.
14. **Srinavasan, K And Sambaiah, K**. The effect of spices on cholesterol 7a-hydroxylsase activity and on serum and hepatic cholesterol levels in the rat. *Intern. J. Vit. Nutr. Res*. 61: 364-369, 1991.
15. **Tamura, H.; Yamagami, A.** Antioxidative acticity of monacylated anthocyanins isolated from *Muscat bailey* a grape. *J. Agric. Food Che*m. Washington, 42:8, 1612-1614, 1994.
16. **Tsuda, T.; Watanabe, M.; Katsumi, O. Norinobu, S.; Choi, S.; Kawakischi, S.; Osawa, T.** Antioxidative activity of the anthocyanin pigments cyanidin 3-O-b-Glucoside and cyanidin. *J. Agric. Food Chem.* 42:11, 2407-2410, 1994.
17. **Whalley, C. V.; Rankin, S. M.; Robin, J.; Hoult, S.; Wendy, J.; Leake, D. S.** Flavonoids inhibit the oxidative modification of low density lipoproteins by macrophages. *Biochemical Pharmacology*, 39:11, 1743-1750, 1990.

Saiba o que é preciso para ter o seu

Título de Especialista em Análises Clínicas pela SBAC

As provas para a concessão do Título de Especialista em Análises Clínicas, outorgado pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, são aplicadas durante a realização dos congressos realizados pela entidade.

Entre em contato através dos tel/fax (0xx21)264-4449 e (0xx21)204-0245 ou pelo e-mail: geral@sbac.org.br, e conheça as normas do regulamento para a concessão desse título.