

Efectos del Monascus sobre albúmina, creatinina, urea y ácido úrico en conejos

► Tânia Toledo de Oliveira¹, Tanus Jorge Nagem², Renato Matos Lopes³, Hussein Machado³, Vanessa Jôia de Mello³, Ednaldo Queiroga de Lima⁴, Eliene da Silva Martins³

-
1. Doutora. Professora Adjunta do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Viçosa, 36571-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.
 2. Doutor. Professor Titular Aposentado da Universidade Federal de Viçosa y Professor Adjunto ativo do Departamento de Química Universidade Federal de Ouro Preto, 35400000, Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil.
 3. Mestrando(a)s do Curso de Mestrado em Agroquímica da Universidade Federal de Viçosa, 36571-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.
 4. Professor da Universidade Federal da Paraíba e Doutorando do Curso de Pós-graduação em Bioquímica Agrícola da Universidade Federal de Viçosa y 36571-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

Resumen

El presente trabajo tiene como objeto verificar la acción de tres dosis del colorante Monascus sobre el metabolismo de la albúmina, urea, creatinina y ácido úrico en conejos de ambos sexos. Se usaron conejos de la raza Nueva Zelanda, obtenidos del Departamento de Cunicultura de la Universidad Federal de Viçosa (Brasil) de unos 55 días de edad y que pesaban cerca de 1700 g al momento del experimento. Los animales fueron divididos por sexo constituyéndose cuatro grupos de cinco animales cada uno, que recibieron el colorante Monascus en las dosis de 24, 48 y 60 mg/kg. El grupo control recibió solamente ración alimenticia. Los animales recibieron, diariamente, durante 28 días, las cápsulas que contenían el colorante Monascus en las respectivas dosis. Se recogieron muestras de sangre en dos oportunidades: tiempo cero, cuando se pesaron los animales después del periodo de adaptación de siete días y al tiempo final después del día 28. El dosaje de albúmina, creatinina, urea y ácido úrico fue realizado en el equipo multiparamétrico de análisis bioquímico de bioMérieux (Alizé). Las diferentes dosis del colorante no provocaron cambios en los niveles de albúmina. Las variaciones en los niveles de creatinina fueron relativamente bajas, y no promovieron efectos de toxicidad en los conejos de ambos sexos. Lo mismo se observó con relación a urea y ácido úrico. Los resultados obtenidos muestran que el colorante Monascus, en las dosis utilizadas, es inocuo para el hígado y riñón de esos animales.

Palabras clave: Monascus * albúmina sérica * creatinina * urea * ácido úrico

Summary

EFFECTS OF MONASCUS DYE ON THE BLOOD LEVELS OF ALBUMIN, CREATININE, UREA AND URIC ACID IN RABBITS

The present work evaluates the action of three different doses of Monascus dyes (24, 48 and 60 mg/Kg) on the metabolism of albumin, urea, creatinine and uric acid in male and female rabbits. New Zealand rabbits from the Department of Cuniculture of Universidade Federal de Viçosa (Brazil), were used. They were ca. 55 days old at the time of the experiment and they were divided by sex, into four groups of five animals each, receiving the Monascus dye in 24, 48 and 60 mg/Kg doses. Control group only

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

received a ration. Daily, the animals received the Monascus dye in the different doses, during 28 days. Blood was collected twice, being the first collection at time zero and the second one at the end of the experiment. Blood was obtained from retro-orbital venous plexus and further centrifuged at 3,500 x gr. during 15 minutes. Albumin, creatinine, urea and uric acid were quantified by using multiparametric biochemical analysis from bioMérieux (Alizé). The results showed that different doses of Monascus dye did not change the levels of albumin. Creatinine did not show too much variation and did not promote toxicity effects on rabbits, male or females. The same phenomenon was observed for urea and uric acid. Our results showed that, in the doses used, Monascus dye was innocuous for these animal's kidney and liver.

Key words: *Monascus * albumin * creatinine * urea * uric acid*

Introducción

Monascus es un colorante rojo obtenido por la fermentación del almidón del arroz por un microorganismo llamado *Monascus purpureus*. Tiene un sabor típico y es una mezcla muy usada para saborizar los alimentos. En la dosis de 0,5 – 1 g/kg no tiene objeción alguna para su utilización.

Los pueblos asiáticos usan un producto de la fermentación del arroz, por acción de hongos del género *Monascus* en la producción de alimentos, con la finalidad de colorear y brindar sabor sobre todo en carnes, pescados y aves (1).

Wang y col (2) investigaron los efectos hipocolesterolémicos de *Monascus purpureus* en la medicina tradicional china con muy buenos resultados.

Los hongos del género *Monascus* producen, además de gran cantidad de enzimas hidrolíticas como alfa-amilasa, beta-amilasa, glicamilasa, proteasa y lipasa, etc., los pigmentos de color rojo y/o amarillo-rojizo, entre los que se encuentran la monascorrubrina, rubropunctatina, monascina, ankaflavina, rubropunctamina y monascorrubramina (3).

La actividad antibacteriana de *Monascus purpureus* fue demostrada por Wong y Bau (4) quienes aislaron linajes de arroz-rojo que presentaron actividad antibiótica contra *Bacillus*, *Streptococcus* y *Pseudomonas*.

Fink-Gremmels y col (5) demostraron que los colorantes de Monascus pueden sustituir a los nitritos y nitratos en las salchichas. Estos autores midieron la actividad antibacteriana después de ese reemplazo y el resultado fue una acción inhibitoria de *Listeria monocytogenes*, *Salmonellae*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*.

Fink-Gremmels y Leistner (1) estudiaron en ratones los efectos tóxicos e hipocolesterolémicos de los pigmentos de *Monascus purpureus*, solubles en metanol, (extraídos de ang-kak). Estos autores llegaron a la conclusión que los animales con hiperlipidemia inducida presentaban reducción de los niveles de colesterol total, HDL-colesterol y de triacilglicéridos plasmá-

ticos. No se observaron efectos de toxicidad en los animales cuando se usaron dosis del extracto de los pigmentos de 5 y 10 g/kg de peso corporal.

Según Endo y col (6), la monacolina K, también llamada mevinolina, un compuesto con actividad hipocolesterolémica que actúa específicamente en la inhibición de la 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima-A reductasa (HMG-Co-A reductasa) fue aislada de hongos *Monascus ruber* y *Aspergillus terreus*. Sin embargo, no se ha encontrado en la literatura información sobre la producción de este compuesto en *Monascus purpureus*. De acuerdo con Fink-Gremmels y Leistner(1), la monacolina K no presenta en su estructura un anillo tetrahidrofuránico, por consiguiente, no existe analogía estructural entre monacolina K y los pigmentos producidos por *Monascus*.

El objetivo del presente trabajo es evaluar los efectos de la administración de tres dosis del colorante Monascus (24, 48 y 60 mg/kg) sobre el metabolismo de albúmina, urea, creatinina y ácido úrico en conejos machos y hembras normales.

Materiales y Métodos

Fueron usados conejos de la raza Nueva Zelanda provenientes del Departamento de Cunicultura de la Universidade Federal de Viçosa (Brasil) de 55 días de edad y que pesaban cerca de 1700 g al momento del experimento. Los animales fueron divididos en machos y hembras, constituyéndose cuatro grupos de cada sexo, con cinco animales cada uno, que recibieron el colorante Monascus en las dosis de 24, 48 y 60 mg/kg, además del grupo control que simplemente recibió la ración alimenticia. Los animales fueron colocados en jaulas individuales con una temperatura de aproximadamente 22 ± 3 °C, y la proporción de humedad relativa del aire se mantuvo alrededor de 70%. El régimen alimentario consistió en agua *ad libitum* y ración "Socil", en una cantidad de 120 g/día/animal. Después de un tiempo de adaptación de siete

días, los animales recibieron, diariamente, durante 28 días, una cápsula que contenía el colorante Monascus en sus diferentes dosis. Los animales fueron pesados al principio y al final del experimento. La extracción de sangre y la verificación del peso fueron hechas dos veces, o sea al inicio y al final del experimento (a tiempo cero y a los 28 días). Las muestras de sangre fueron extraídas del plexo venoso retro-orbital, centrifugadas a 3500 *x g* durante 15 min y los análisis serológicos de albúmina, urea, creatinina y ácido úrico fueron realizados en el equipo Alizé (bioMérieux) de análisis multiparamétrico.

Resultados

Se evaluó el aumento de peso en todos los animales y se compararon los que recibieron las diferentes dosis del colorante Monascus. Los resultados están descritos en la Tabla I.

La Tabla I muestra que los aumentos de peso entre los grupos formados no presentaron variaciones que fuesen estadísticamente significativas ($P > 0,05$).

En base a los resultados presentados en la Tabla I se puede concluir que los tratamientos no afectaron las ganancias de peso en los animales.

Los valores de las concentraciones de albúmina y de creatinina en los conejos machos y hembras de los grupos que recibieron dosis diferentes del colorante Monascus se describen en la Tabla II.

La Tabla II muestra que el colorante Monascus no ha provocado variaciones en las dosis de 24 y 60 mg/kg, sin embargo, en la dosis de 48 mg/kg se observa un aumento de albúmina a los 28 días en los conejos machos, como puede observarse en el aumento del parámetro de 4,50 g/dL a 4,81 g/dL. Este mismo efecto no se observa en las hembras. Los valores de proteínas séricas en conejos adultos son similares a los observados en otras especies. Las cantidades relativas de albúmina son de 40-60% respecto de las proteínas (7).

Tabla I. Aumento de peso en conejos machos y hembras tratados con diferentes dosis del colorante Monascus.

Grupos	Tiempo (días)	Aumento de peso (g)	
		Machos	Hembras
1. Ración	28	660,00 A	670,00 A
2. Ración + 24 mg/kg de Monascus	28	746,00 A	692,00 A
3. Ración + 48 mg/kg de Monascus	28	537,00 A	560,80 A
4. Ración + 60 mg/kg de Monascus	28	604,00 A	566,00 A

En cada grupo la presencia solamente de "A" indica que los grupos formados no fueron estadísticamente significativos por el *test F* ($P < 0,05$).

Tabla II. Concentración de albúmina y creatinina en conejos machos y hembras tratados con diferentes dosis del colorante Monascus.

Grupos	Tiempo (días)	Albúmina (g/dL)		Creatinina (mg/dL)	
		Machos	Hembras	Machos	Hembras
1. Ración	0	4,65 Aa	4,33 Ba	1,18 Ab	1,24 Aa
	28	4,73 Aa	4,50 Aa	1,53 Aa	1,30 Ba
2. Ración + 24 mg/kg de Monascus	0	4,42 Aa	4,31 Aa	1,13 Aa	1,20 Ab
	28	4,52 Aa	4,43 Aa	1,29 Aa	1,47 Aa
3. Ración + 48 mg/kg de Monascus	0	4,50 Ab	4,53 Aa	1,08 Aa	1,22 Aa
	28	4,81 Aa	4,62 Aa	1,29 Aa	1,39 Aa
4. Ración +60 mg/kg de Monascus	0	4,43 Aa	4,52 Aa	1,07 Ab	1,03 Aa
	28	4,58 Aa	4,37 Aa	1,31 Aa	1,23 Aa

En cada grupo y cada tiempo "A" difiere de "B" por el *test F* ($P < 0,05$).
En cada grupo y cada sexo "a" difiere de "b" por el *test F* ($P < 0,05$).

La Tabla II muestra también que se encontraron variaciones estadísticamente significativas cuando se compararon conejos machos que recibieron sólo ración con conejos que recibieron ración + 60 mg/kg del colorante Monascus, y en las hembras, las que consumieron la ración + 24 mg/kg de Monascus.

Los valores en las concentraciones de urea y de ácido úrico séricos en los conejos machos y hembras, distribuidos en los grupos que recibieron dosis diferentes del colorante Monascus se describen en la Tabla III.

Los conejos machos y hembras no presentaron variaciones que fuesen estadísticamente significativas en los grupos que recibieron las diferentes dosis de Monascus (Tabla III). Los valores del grupo control fueron normales al compararlos con los valores encontrados en humanos y que varían de 20 a 40 mg/dL para los individuos normales.

La concentración de ácido úrico presentó variaciones estadísticamente significativas en los tratamientos con ración + 48 mg/kg de Monascus a los 28 días en los conejos machos. La Tabla III muestra un aumento de 0,11 mg/dL a 0,22 mg/dL en ese parámetro para ese grupo, después del último día de tratamiento cuando se compararon hembras y machos, respectivamente.

Los valores normales de ácido úrico en conejos machos y hembras fueron, al principio, del orden de 0,14 mg/dL en el grupo control (Grupo-1). Ya en humanos la proporción normal de ácido úrico en el suero varía de 2 a 6,5 mg/dL. Al considerar la poca variación en todos los grupos de ensayo de conejos para este parámetro, puede deducirse que no hubo efecto toxicológico en el metabolismo del ácido úrico.

Discusión

El hígado es el principal órgano de producción de albúmina, la cual está presente en la sangre y es capaz de transportar las medicinas, los nutrientes químicos y otros. Una hiperalbuminemia ocurre en la deshidratación. La reducción de los niveles de albúmina, sin embargo, se produce en varias situaciones, como en un síndrome nefrótico por pérdida a través de los riñones y por disminución de la capacidad de su síntesis por el organismo (8).

En los humanos, los valores normales de albúmina en plasma son de aproximadamente 3,5 a 5,0 g/dL. Estos valores fueron encontrados en los animales del grupo control (4,65 g/dL en los machos y 4,33 g/dL en las hembras, en el tiempo cero del experimento). Así también se ve en los análisis de los otros animales de acuerdo con el tratamiento empleado en este experimento.

Al realizar la correlación de los resultados obtenidos con la albúmina cuya disminución está asociada con las enfermedades renales y hepáticas, se llega a la conclusión que el uso de diferentes dosis del colorante Monascus no ha causado daño alguno en los órganos responsables del metabolismo de este analito.

Al considerar los valores normales de creatinina para conejos machos de 1,18 mg/dL y para las hembras de 1,24 mg/dL, las variaciones encontradas en los distintos tratamientos fueron mínimas como para establecer cualquier alteración fisiológica en los animales. En los humanos, los valores normales de creatinina oscilan entre 1 y 2 mg/dL. Es el elemento nitrogenado de la sangre menos variable, ya que los daños y perjuicios

Tabla III. Valores de las concentraciones de urea y ácido úrico en conejos machos y hembras, según las diferentes dosis de Monascus.

Grupos	Tiempo (días)	Urea (mg/dL)		Ácido úrico (mg/dL)	
		Machos	Hembras	Machos	Hembras
1. Ración	0	27,52 Aa	28,54 Ab	0,14 Aa	0,14 Aa
	28	27,96 Ba	36,58 Aa	0,13 Aa	0,15 Aa
2. Ración + 24 mg/kg de Monascus	0	28,38 Aa	29,46 Aa	0,15 Aa	0,13 Aa
	28	29,84 Aa	29,56 Aa	0,13 Aa	0,12 Aa
3. Ración + 48 mg/kg de Monascus	0	29,90 Aa	31,18 Aa	0,10 Ab	0,13 Aa
	28	29,78 Aa	31,28 Aa	0,22 Aa	0,11 Ba
4. Ración + 60 mg/kg de Monascus	0	28,28 Aa	29,76 Aa	0,12 Aa	0,15 Aa
	28	31,07 Aa	30,04 Aa	0,16 Aa	0,11 Aa

En cada grupo y cada tiempo "A" difiere de "B" por el test F (P < 0,05).
En cada grupo y cada sexo "a" difiere de "b" por el test F (P < 0,05).

pequeños que ocurren a nivel renal no son capaces de promover sus alteraciones séricas (9).

La creatinina se forma a partir de la fosfocreatina muscular, que tiene su origen en los aminoácidos arginina y glicina, siendo, por consiguiente, un producto endógeno del catabolismo de la creatina a nivel muscular. Se elimina por los riñones en cantidades constantes a través de la filtración glomerular. Sus valores son independientes de la ingestión de proteínas y no son afectados por el volumen urinario (8).

El aumento de la concentración sérica de creatinina ocurre por insuficiencia renal cuando se incrementa la cantidad de urea. En la nefritis incipiente los valores oscilan entre 2 y 4 mg/dL. En los humanos, en la glomerulonefritis crónica con uremia las proporciones suben hasta 35 mg/dL cuando puede ocurrir un problema letal. Valores superiores a 5 mg/dL evidencian ya una insuficiencia renal. Las obstrucciones urinarias, por afecciones en la próstata, vejiga o uretra, como también la oliguria refleja provocada por la nefrolitiasis, muestran índices muy altos de creatinina, y este cuadro es reversible cuando se retira la causa de la obstrucción (8).

Los resultados obtenidos indican que el colorante Monascus, en las dosis empleadas a lo largo del experimento, no promovió efectos tóxicos en los conejos machos y hembras cuando se midieron niveles de creatinina.

Los conejos eliminan el amoníaco como forma principal de excreción nitrogenada. Sin embargo, en los mamíferos, la urea es, en general, el producto principal del metabolismo final de las proteínas, siendo responsable de la excreción del 80% del nitrógeno no proteico que se excreta por orina (8). El dosaje de la urea sérica normalmente se usa para evaluar la función renal.

La producción de urea pasa por la desaminación de los aminoácidos o por la acción bacteriana en el intestino. El grupo amino de los aminoácidos que no son usados por el organismo se transforma en urea.

El aumento de la cantidad de urea en sangre es debido a la reducción de la eliminación renal, y también al aumento del catabolismo de proteínas, o a la combinación de esos dos procesos (8). Las causas patológicas también se insertan como responsables del aumento de la urea en sangre.

Los altos valores de urea ocurren en los sustos traumáticos, hemorrágicos, deshidratación o pérdida de electrolitos, problemas cardíacos, infección, toxemia y catabolismo proteico aumentado (8).

LIMA y col (8) observaron incremento de urea en la insuficiencia renal y en la glomerulonefritis, en las que sus concentraciones pueden alcanzar valores de 300 mg/dL. Eso también puede ocurrir en la nefroesclerosis, tuberculosis renal, riñón poliquístico, nefropatías, envenenamiento, necrosis tubular e hipogenesia renal.

La reducción de la urea en sangre puede ser causada por los esteroides anabólicos, por la disminución en la ingestión de dieta proteica y por insuficiencia hepática.

Mitruka y Rawnsley (10) observaron que las variaciones normales de urea en los conejos están en un rango similar al de aquellas encontradas en el hombre. De acuerdo con los resultados obtenidos las composiciones utilizadas no presentaron efectos toxicológicos en las dosis administradas.

El ácido úrico es el metabolito principal de las purinas en el organismo humano. El incremento de sus niveles muestra la insuficiencia renal y lleva al aumento de la urea sanguínea. Con niveles de 15 mg/dL puede producir obstrucción renal, o lesiones renales, hipogenesia renal, insuficiencia cardíaca congestiva, hipotiroidismo, hipertensión, psoriasis, y también hiperparatiroidismo (8).

Mitruka y Rawnsley(10) mostraron que los conejos presentaron valores inferiores de ácido úrico respecto a los humanos. Las hembras que recibieron diferentes dosis de Monascus no alteraron las concentraciones de ácido úrico, en comparación con el grupo control (Grupo 1).

Es importante verificar que los factores como linaje, edad, alimento y sexo de los animales, así como las condiciones ambientales y las variables del análisis, influyen en el resultado de estos parámetros sanguíneos. Es fundamental, por lo tanto, considerar los valores encontrados en el grupo control (Grupo 1), una vez que muchos de los valores normales en conejos cambian respecto a valores internacionales debido a los factores arriba expresados, como las condiciones ambientales en que están los animales en el momento del experimento.

El procedimiento usado para la obtención y preparación de las muestras también puede influir en el resultado final. Es importante señalar que las alteraciones de los parámetros bioquímicos pueden indicar estados patológicos y lesiones en los órganos relevantes para el buen funcionamiento del organismo, como el hígado, los riñones, el páncreas, entre otros. De esta manera, los estudios bioquímicos de albúmina, creatinina, urea y ácido úrico son buenos indicadores de efectos toxicológicos de fármacos u otras sustancias.

Conclusiones

El colorante Monascus, en las dosis utilizadas, no provocó variaciones en las concentraciones de albúmina, creatinina, urea y ácido úrico, no siendo, por eso, considerado tóxico en conejos. Los resultados muestran que, en las dosis utilizadas, esa sustancia fue inocua para el hígado y riñón de esos animales.

CORRESPONDENCIA

PROFESSOR TANUS JORGE NAGEM
Departamento de Química do
Instituto de Ciências Exatas e Biológicas da
Universidade Federal de Ouro Preto
Campus Morro do Cruzeiro
35400-000 - OURO PRETO - Minas Gerais - Brasil
E-mail: tjnagem.bh@terra.com.br

Referencias bibliográficas

1. Fink-Gremmels J, Leistner L. Biologische wirkung von *Monascus purpureus*. *Fleischwirtschaft* 1989; 69 (1): 115-22.
2. Wang J, Zongliang L, Chi J, Wang W, Su M, Kov W, et al. Multicenter clinical trial of the serum lipid-lowering effects of a *Monascus purpureus* (Red Yeast) rice preparation from traditional Chinese Medicine. *Curr Ther Res Clin Exp* 1997; 58 (12): 964-78.
3. Wong HC, Koehler PE. Production of red water-soluble *Monascus* pigments. *J Food Sci*, 1983; 48: 1200-3.
4. Wong HC, Bau YS. Pigmentation and antibacterial activity of fast neutron and X-ray induced strains of *Monascus purpureus* went. *Plant Physiol* 1977; 60: 578-81.
5. Fink-Gremmels J, Glenn E, Leistner L. *Monascus* extracts: an alternative to nitrite and nitrate in sausages? *Mitteilungsblatt der Bundesanstalt für Fleischforschung* 1989; 28: 325-9.
6. Endo A, Hasumi K, Negishi S. Monacolins J and L new inhibitors of cholesterol biosynthesis produced by *Monascus ruber*. *J Antibiot* 1985; 38 (3): 420-2.
7. Bortoloty A, Castelli D, Bonati M. Hematology and some chemistry values of adult pregnant and newborn New Zealand White rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) *Lab Anim Sci* 1989; 39: 437-9.
8. Lima AO, Soares BJ, Grego JB, Galizzi J, Cançado JR. Método de laboratório aplicado a clinica. Técnica e Interpretação. 6 ed. Rio de Janeiro: Koogan; 1985, p. 543.
9. Ragan HA. Markers of renal function and injury. In: Loebe, WF, Quimbly FW. (Eds). *The clinical chemistry of laboratory animals*. New York: Pergamon; 1989, p. 321-44.
10. Mitruka BM, Rawnsley HM. *Clinical biochemical and hematological reference values in normal experimental animals and normal humans*. 2nd Ed. New York: Masson; 1981.

Aceptado para su publicación el 26 de agosto de 2005