

## REDUCCIÓN DEL COLESTEROL Y AUMENTO DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE POR EL CONSUMO CRÓNICO DE MAÍZ MORADO (*Zea mays* L) EN RATAS HIPERCOLESTEROLÉMICAS

Jorge Arroyo<sup>1a</sup>, Ernesto Raez<sup>1b</sup>, Miguel Rodríguez<sup>2c</sup>, Víctor Chumpitaz<sup>2c</sup>, Jonny Burga<sup>2c</sup>, Walter De la Cruz<sup>3d</sup>, José Valencia<sup>3a</sup>

### RESUMEN

**Objetivos:** Determinar la actividad hipocolesterolémica y antioxidante del consumo crónico del extracto hidroalcohólico atomizado del maíz morado (*Zea mays* L) en ratas hipercolesterolémicas. **Materiales y métodos:** Se utilizaron cinco grupos de seis ratas Holtzmann cada uno, uno sin hipercolesterolemia (control negativo), y cuatro con hipercolesterolemia inducida por consumo de colesterol puro vía oral durante 60 días: control positivo y tres para las dosis de 250, 500 y 1000 mg/kg, respectivamente. En el día 60 se determinaron los niveles séricos de colesterol total, triglicéridos y colesterol HDL (mg/dL), así como de malondialdehído (mmol/L) para determinar la actividad antioxidante. Se comparó la diferencias de medias con ANOVA y test de Tukey. **Resultados:** Se observó una disminución del colesterol total en las ratas hipercolesterolémicas que consumieron dosis de 250 y 500 mg/kg en relación con el grupo control positivo (reducción de 21,5 y 11,2% respectivamente,  $p < 0,01$ ). No se observaron diferencias significativas sobre los niveles de triglicéridos y colesterol HDL. A mayor dosis se maíz morado se encontró una mayor reducción de radicales libres, con la dosis de 1000 mg/kg se redujo en 56,4% los niveles de malondialdehído ( $p < 0,01$ ). **Conclusiones:** En condiciones experimentales, el consumo crónico del extracto hidroalcohólico atomizado de maíz morado disminuye los niveles de colesterol total y aumenta la capacidad antioxidante.

**Palabras clave:** Plantas medicinales; Agentes hipolipemiantes; Antioxidantes, Alimentos funcionales (fuente: DeCS BIREME).

## CHOLESTEROL REDUCTION AND INCREASE OF ANTIOXIDANT CAPACITY BY CHRONIC CONSUMPTION OF ANDEAN PURPLE CORN (*Zea mays* L) IN HYPERCHOLESTEROLEMIC RATS

### ABSTRACT

**Objetives:** To determine the hypocholesterolemic antioxidant activity of the Andean purple corn (*Zea mays* L) hydroalcoholic extract atomized chronic consumption in hypercholesterolemic rats. **Material and methods:** Five groups of six Holtzmann rats each were used, one without hypercholesterolemia (negative control), and four with induced hypercholesterolemia by oral intake of pure cholesterol by 60 days: positive control and three for doses of 250, 500 y 1000 mg/kg, respectively. In 60 day were determin the seric levels of total cholesterol, triglycerides and HDL cholesterol (mg/dL), as well as malondialdehyde (mmol/L) to determine the antioxidant activity. We compared the mean differneces with ANOVA and Tukey test. **Results:** We observed a decrease in total cholesterol in hypercholesterolemic rats that consumed Andean purple corn doses of 250 and 500 mg/kg in compared whit positive control group (reduction of 21,5 y 11,2% respectively,  $p < 0,01$ ). No significant differences in levels of triglycerides and HDL cholesterol were observed. A higher dose is purple corn was a further reduction of free radicals, with a dose of 1000 mg/kg decreased by 56.4%, levels of malondialdehyde ( $p < 0,01$ ). **Conclusions:** In experimental conditions, the chronic consumption of the hydroalcoholic atomized extract of Andean purple corn decreased total cholesterol and increased the antioxidant capacity.

**Key words:** Plants, medicinal; Hypolipidemic agents; Antioxidants; Functional foods (source: DeCS BIREME).

<sup>1</sup> Facultad de Medicina Humana, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

<sup>2</sup> Facultad Odontología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

<sup>3</sup> Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

<sup>a</sup> Químico Farmacéutico; <sup>b</sup> Médico Patólogo; <sup>c</sup> Odontólogo; <sup>d</sup> Médico.

Este trabajo fue financiado por el Consejo Superior de Investigación de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, código: 050103085.

Ha sido presentado en la IV Jornadas Científicas Sanfernandinas y VII Jornadas de Investigación en Salud organizado por la Facultad de Medicina de la UNMSM, el resumen fue publicado en An Fac Med 2005; 66(Supl 1): S20.

## INTRODUCCIÓN

*Zea mays* L variedad morado (maíz morado) es una planta oriunda de América, constituyó uno de los principales alimentos de las numerosas tribus indígenas en la época precolombina y se le atribuyen diversas propiedades medicinales<sup>1,2</sup>. En el Perú su consumo es popular y masivo en forma de chicha morada y mazamorra morada<sup>3</sup>. Los componentes químicos presentes en el maíz morado son esencias, ácido salicílico, grasas, resinas, saponinas, sales de potasio y sodio, azufre y fósforo, pero ante todo compuestos fenólicos<sup>4</sup>. Además, se ha informado sobre la existencia de cianidina 3-glucósido en la semilla del *Zea mays* L variedad morado, como la principal antocianina (flavonoide) contenida en este fruto<sup>5-7</sup>.

Diversos estudios epidemiológicos apoyan la relación entre el consumo de alimentos ricos en compuestos fenólicos, como el *Zea mays* L, y una baja incidencia de enfermedad cardíaca coronaria, aterosclerosis y ciertas formas de infarto y cáncer<sup>8-11</sup>. Recientemente, se ha reportado que estos alimentos tienen actividad antioxidante y pueden mejorar los perfiles lipídicos en modelos experimentales<sup>12,13</sup>.

Así, los objetivos de este estudio fueron determinar la influencia sobre el perfil lipídico (colesterol total, HDL y triglicéridos) y el nivel de lipoperoxidación al administrar por vía oral durante 60 días el extracto hidroalcohólico atomizado de *Zea mays* L en ratas con inducción de hipercolesterolemia por colesterol.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### PREPARACIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Zea mays* L

Se separaron los granos de la coronta. La coronta se llevó a sequedad a temperatura menor de 40 °C; se la pulverizó en molino, luego fue sometida a maceración en una solución hidroalcohólica y, después de ocho días, se filtró y el producto de este proceso se sometió a una operación de atomización, resultando un polvo fino denominado extracto hidroalcohólico atomizado de *Zea mays* L, el que se mezcló con maltodextrina para su mejor estabilidad, este proceso ha sido desarrollado por Laboratorios Fitofarma EIRL.

### ESTUDIO FITOQUÍMICO

La detección de metabolitos secundarios se realizó mediante pruebas químicas de caracterización (reacción de Dragendorf, reacción de Shinoda, prueba de la

espuma, reacción del tricloruro férrico, reacción de la gelatina, reacción de Lieberman-Burchard, reacción de la Ninhidrina y reacción de Molish), según Lock<sup>14</sup>.

### MODELO EXPERIMENTAL

Se utilizaron 30 ratas albinas machos cepa Holtzmann con peso promedio de 180 ± 20 gramos procedentes del Instituto Nacional de Salud (Lima, Perú), con condicionamiento previo de 48 horas, con agua y alimento a libertad.

La hipercolesterolemia fue inducida considerando el método seguido por Ruiz-Roso *et al.*<sup>15</sup> con modificación en la forma de administración del colesterol (colesterol al 97% Sigma), que fue por vía oral en dosis de 62,5 mg/kg suspendido en goma tragacanto al 2%.

Se trabajó con cinco grupos de seis ratas cada uno, al grupo control negativo no se le indujo hipercolesterolemia y a los otros cuatro sí; tres de ellos recibieron tratamiento con diferentes dosis del extracto hidroalcohólico atomizado de *Zea mays* L (250, 500 y 1000mg/kg) administrado por vía oral durante dos meses.

### MEDICIÓN DE ACTIVIDAD HIPOLIPEMIANTE Y ANTIOXIDANTE

Luego de los dos meses, se extrajeron muestras de sangre para evaluar el nivel de colesterol total, HDL, triglicéridos, según el método enzimático utilizado por el laboratorio clínico. Adicionalmente, se realizaron cortes histológicos de arteria aorta para observar los efectos del extracto hidroalcohólico atomizado de *Zea mays* L sobre este tejido.

La actividad antioxidante fue determinada en suero siguiendo la técnica de Buege *et al.*<sup>17</sup>, se tuvo en cuenta la prueba de lipoperoxidación, que implica la conversión oxidativa de ácidos grasos insaturados, como hidroperóxidos lipídicos o lipoperoxidos; los que fueron medidos mediante la producción de malondialdehído que al reaccionar con el ácido tiobarbitúrico formaron un complejo coloreado que fue leído a 535 nm; siendo expresados en número de moles de malondialdehído X 10<sup>-6</sup>.

### ANÁLISIS DE DATOS

Los datos de hipercolesterolemia y lipoperoxidación fueron sometidos a un análisis de varianza, seguidos de una prueba de Tukey, para buscar diferencias significativas entre los grupos. Se consideró que existe diferencias significativas cuando p < 0,05. Los resultados de los experimentos son presentados como la media ± el error estándar.

**Tabla 1.** Estudio fitoquímico preliminar del extracto hidroalcohólico atomizado de *Zea mays* L.

Prueba de caracterización	Metabolito secundario	Resultado
Reacción de Dragendorff	Alcaloides	-
Reacción de Shinoda	Flavonoides	+++
Prueba de la espuma	Saponinas	-
Reacción del tricloruro férrico	Compuestos fenólicos	+++
Reacción de la gelatina	Taninos	+
Reacción de Lieberman-Burchard	Esteroides o terpenoides	-
Reacción de la Ninhidrina	Aminoácidos libres	-
Reacción de Molish	Glicósidos	+++

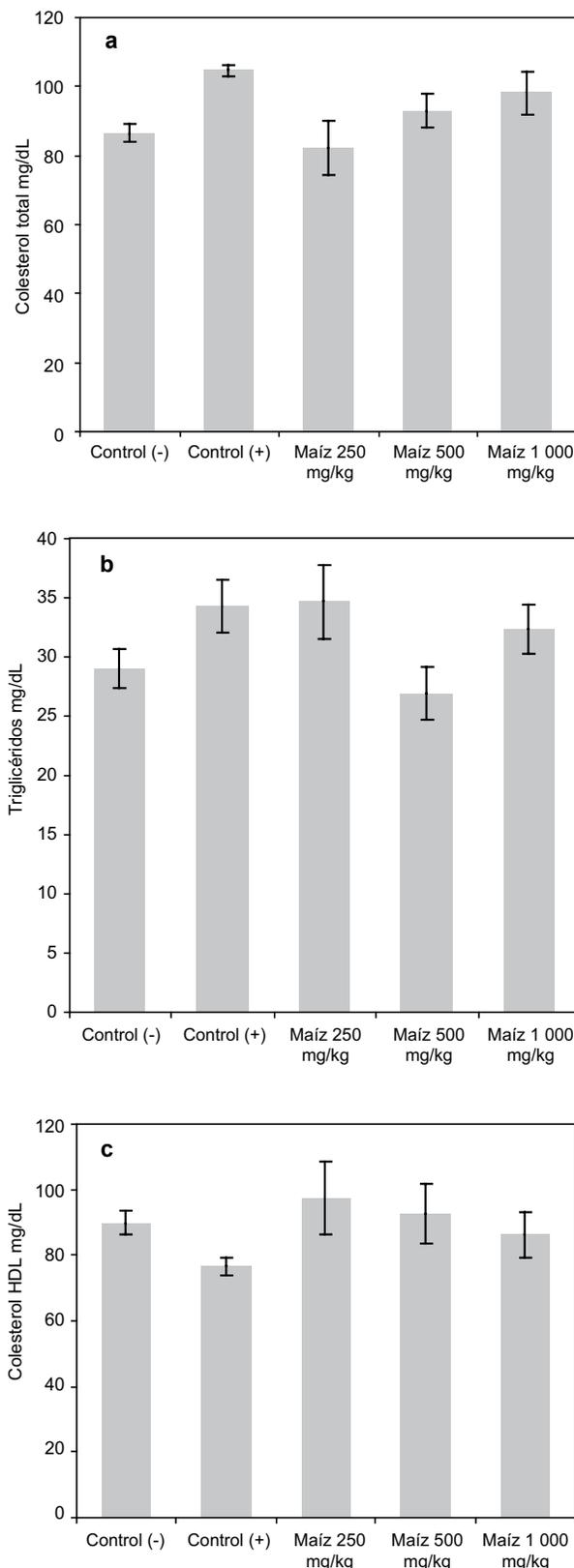
**RESULTADOS**

Los hallazgos del estudio fitoquímico preliminar muestran una gran cantidad de compuestos fenólicos, flavonoides y glicósidos caracterizados mediante las pruebas de tricloruro férrico, de Shinoda y de Molish respectivamente, en el extracto hidroalcohólico atomizado del maíz morado (Tabla 1).

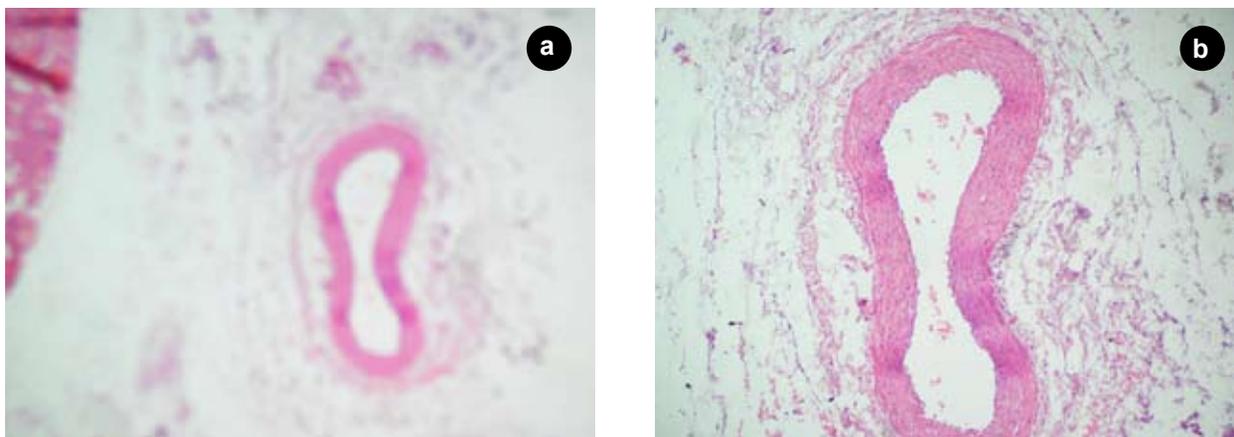
El modelo experimental (control positivo) indujo un aumento del colesterol total (17,4%) y triglicéridos (18,4%), así como una disminución del colesterol HDL (14,6%) en relación con el grupo no inducido (control negativo). Se observó que el tratamiento con el extracto hidroalcohólico atomizado de maíz morado, redujo los niveles de colesterol total (ANOVA,  $p < 0,05$ ), la dosis de 1000 mg/kg no tuvo efecto sobre el nivel de colesterol ( $p > 0,05$ , test de Tukey), pero sí las de 250 y 500 mg/kg que fueron menores que el grupo control positivo (reducción de 21,5 y 11,2% respectivamente,  $p < 0,01$ , test de Tukey) aunque no se evidenció diferencias entre estos (Figura 1a).

Para el caso de los triglicéridos (Figura 1b), si bien se evidencia una reducción de 7,3 mg/dL en el grupo de maíz morado de 500mg/kg en relación con el control positivo, no fue significativo (ANOVA,  $p > 0,05$ ). Similar situación se evidencia para el colesterol HDL (ANOVA,  $p > 0,05$ ) debido a una gran variabilidad de los resultados y un pequeño tamaño muestral (Figura 1c).

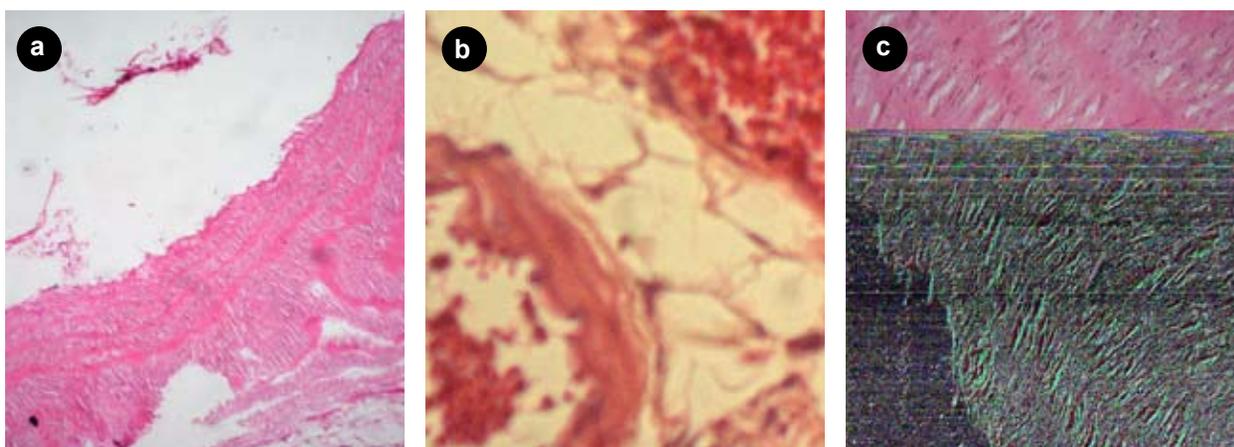
El grupo control positivo desarrolló ateromas en la aorta, que no se presentaron en el control negativo (Figura 2). Se observó una disminución notable de formaciones ateromatosas en los grupos tratados con



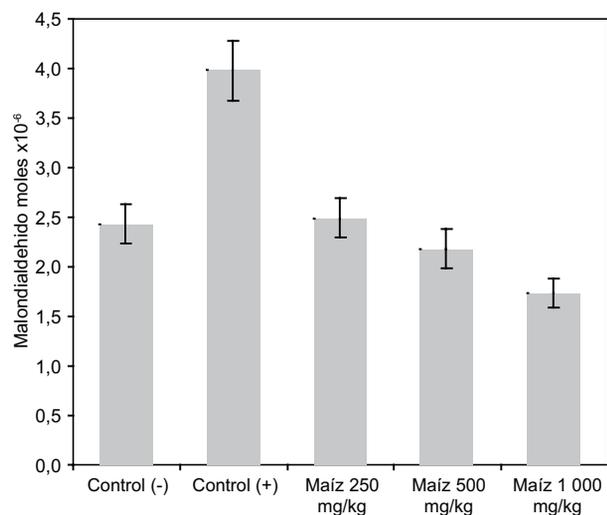
**Figura 1.** Efecto del consumo crónico de maíz morado sobre los niveles de colesterol total (a), triglicéridos (b) y colesterol HDL (c) en ratas hipercolesterolémicas inducidas.



**Figura 2.** (a) Estructura de un corte transversal de una arteria aorta normal. (b) Nótese la infiltración y presencia de ateroma, así como la falta de continuidad de la capa íntima, depósito de grasa en la subíntima; no se observa presencia de banda elástica.



**Figura 3.** (a) Remodelación del endotelio arterial con presencia de lipófagos en el subendotelio. (b) Capa muscular con ausencia de lipófagos, se observa un endotelio conservado. (c) Presencia de lipófagos que no han llegado a proliferar ni formar ateroma; nótese una estructura muscular lisa conservada.



**Figura 4.** Actividad antioxidante del consumo crónico del extracto hidroalcohólico atomizado de maíz morado en ratas hipercolesterolémicas inducidas (ANOVA,  $p < 0,01$ ).

dosis incrementales del extracto hidroalcohólico de *Zea mays* L, como se muestran en las figuras 3a y 3b (250 mg/kg y 500 mg/kg respectivamente); existiendo una ausencia total de ateromas en las arterias de muestras tratadas con una dosis de 1000 mg/kg (Figura 3c).

El modelo experimental (control positivo) provocó un aumento del 38,5% de los niveles de radicales libres (en relación con el control negativo). Se registró una notable disminución de los niveles de radicales libres en las ratas que fueron sometidas a inducción de hipercolesterolemia y que recibieron el extracto hidroalcohólico de *Zea mays* L, siendo esta disminución mayor con el aumento de la dosis (ANOVA,  $p < 0,03$ ), mostrando una mayor reducción (56,4%,  $p < 0,01$ ) en relación con el control positivo con la dosis de 1000 mg/kg (Figura 4).

## DISCUSIÓN

Se demostró que el consumo crónico de maíz morado en la forma de extracto hidroalcohólico atomizado produjo una reducción de los niveles de colesterol total y aunque no se demostró en forma evidente su efecto positivo sobre los triglicéridos y el colesterol HDL, esto se pudo deber al limitado tamaño de la muestra y a la variabilidad de los resultados, por lo que en experimentos con mayor número de animales posibilitaría confirmar estos hallazgos.

La actividad hipocolesterolemica observada podría explicarse con lo reportado por Ravi *et al.*<sup>18</sup> quienes demostraron la actividad hipolipemiente del extracto *Eugenia jambolana* y lo relacionan con su alto contenido en flavonoides, glicósidos y compuestos fenólicos; metabolitos secundarios encontrados en el extracto de *Zea mays* L (Tabla 1).

Asimismo, porque los taninos conllevan a una inhibición de la absorción intestinal de colesterol e incremento de la excreción de ácidos biliares, como lo explica Nakamura & Tonogai<sup>19</sup> en sus hallazgos de hipocolesterolemia para el extracto vegetal evaluado; y, posiblemente los taninos presentes en *Zea mays* L hayan contribuido en la reducción del colesterol; así como la consecuente disminución en la formación de placas ateromatosas (Figura 3). Adicionalmente, Xu J *et al.*<sup>20</sup> demostraron que la cianida-3-glucósido (principal antocianina hallada en el *Zea mays* L.<sup>5,6</sup>) produce un *upregulation* de la expresión de oxido nítrico sintasa, por lo que a través de este mecanismo, se sugiere una prevención de arteriosclerosis como efecto benéfico a largo plazo de los flavonoides.

Se observó una notable acción antioxidante dosis dependiente (Figura 4), estos resultados concuerdan con los reportes de *in vitro* realizados por Cisneros-Zevallos *et al.*<sup>21,22</sup> que demostraron la actividad antioxidante - y también anticancerígena- de la fracción fenólica del extracto de maíz morado. Diversos estudios atribuyen a estos productos ricos en compuestos fenólicos como los responsables de su actividad antioxidante<sup>23,24</sup>.

Gorinstein<sup>25</sup> encontró disminución de los niveles de lípidos plasmáticos y un incremento de la actividad antioxidante del plasma en ratas que recibieron compuestos fenólicos, resultados muy semejantes a los obtenidos en este estudio con *Zea mays* L. Por otro lado, Tsuda *et al.*<sup>26</sup> en un experimento de 12 semanas no encontraron efecto sobre los niveles de colesterol y triglicéridos en una dieta rica en maíz morado; sin embargo, demostraron una reducción del peso corporal y acumulación de triglicéridos en hígado y en grasa blanca del epidídimo de ratas.

En conclusión, se demuestra la actividad hipocolesterolemica y antioxidante del consumo crónico de maíz morado en un modelo experimental; estos resultados proveen las primeras evidencias para el uso y consumo del maíz morado como alimento funcional, para mejorar los niveles de antioxidantes y reducir el colesterol total; sin embargo, es necesario continuar con esta línea de investigación que permita dilucidar los beneficios del consumo humano, de un producto tradicional en la cocina peruana, como lo es el maíz morado.

## AGRADECIMIENTO

A laboratorios Fitofarma EIRL y Peruvian Nature S&S SAC por haber brindado el extracto hidroalcohólico atomizado de *Zea mays* L (maíz morado) y contribuido con los materiales (animales de experimentación y su alimento) y el colesterol químicamente puro; así como subvencionar el procesamiento de las muestras de laboratorio clínico.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Palacios V.** Plantas medicinales nativas del Perú. Lima: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología; 1997.
2. **Fernández Pola J.** Recetario de plantas medicinales. Barcelon: Ediciones Omega SA; 1992.
3. **Cabieses F.** Cien siglos de pan: 10,000 años de alimentación en el Perú. Lima: Universidad de San Martín de Porres; 2004.
4. **Salgado J, Menguan E.** Determinación de compuestos fenólicos en estilos, estigmas, estambres y bracteas en la especie vegetal *Zea mays* L. variedad morada. [Tesis de Bachiller]. Lima: Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2000.
5. **Aoki H, Kuze N, Kato Y.** Anthocyanins isolated from purple corn (*Zea mays* L.). *Foods Food Ingred Jap* 2002; 199: 41-45.
6. **Nakatani N, Fukuda H, Fuwa H.** Major anthocyanin of Bolivian purple corn (*Zea mays* L.). *Agric Biol Chem Tokyo*. 1979; 43: 389-91.
7. **Pedreschi R, Cisneros-Zevallos L.** Phenolic profiles of Andean purple corn (*Zea mays* L.). *Food Chem*. 2007; 100(3): 956-63.
8. **Cooke D, Steward WP, Gescher AJ, Marczylo T.** Anthocyanins from fruits and vegetables – does bright colour signal cancer chemopreventive activity? *Eur J Cancer*. 2005; 41(13): 1931-40.
9. **Reed J.** Cranberry flavonoids, atherosclerosis and cardiovascular health. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2002; 42(3 Suppl): 301-16.
10. **Hertog MG, Feskens EJ, Hollman PC, Katan MB, Kromhout D.** Dietary antioxidants flavonoids and risk

- of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet*. 1993; 342: 1007-11.
11. **Knekt P, Jarvinen R, Reunanen A, Maatela J.** Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. *BMJ*. 1996; 312: 478-81.
  12. **Xia X, Ling W, Ma J, Xia M, Hou M, Wang Q, et al.** An anthocyanin-rich extract from black rice enhances atherosclerotic plaque stabilization in apolipoprotein E-deficient mice. *J Nutr*. 2006; 136(8): 2220-25.
  13. **Aviram M, Rosenblat M, Gaitini D, Nitecki S, Hoffman A, Dornfeld L, et al.** Pomegranate juice consumption for 3 years by patients with carotid artery stenosis reduces common carotid intima-media thickness, blood pressure and LDL oxidation. *Clin Nutr*. 2004; 23(3): 423-33.
  14. **García-Alonso M, Rimbach G, Rivas-Gonzalo JC, De Pascual TS.** Antioxidant and cellular activities of anthocyanins and their corresponding visitins. A studies in platelets, monocytes, and human endothelial cells. *J Agric Food Chem*. 2004; 52(11): 3378-84.
  15. **Lock O.** Investigación Fotoquímica; métodos en el estudio de productos naturales. 2<sup>da</sup> ed. Lima: Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994.
  16. **Ruiz-Roso B, Pérez-Olleros L, Requejo A.** El Exxenterol®, un extracto de fibra vegetal con un potente efecto reductor del colesterol. *Schironia*. 2003; 2: 5-9.
  17. **Buege JA, Aust SD.** Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*. 1978; 52: 302-10.
  18. **Ravi K, Rajasekaran S, Subramanian S.** Antihyperlipidemic effect of *Eugenia jambolana* seed kernel on streptozotocin-induced diabetes in rats. *Food Chem Toxicol*. 2005; 43(9): 1433-39.
  19. **Nakamura Y, Tonogai Y.** Effects of grape seed polyphenols on serum and hepatic lipid contents and fecal steroid excretion in normal and hypercholesterolemic rats. *J Health Sci*. 2002; 48(6): 570-78.
  20. **Xu J, Ikeda K, Yamori Y.** Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by cyanidin-3-glucoside, a typical anthocyanin pigment. *Hypertension*. 2004; 44(2): 217-22.
  21. **Pedreschi R, Cisneros-Zevallos L.** Antimutagenic and antioxidant properties of phenolic fractions from Andean purple corn (*Zea mays* L.). *J Agric Food Chem*. 2006; 54(13): 4557-67.
  22. **Cevallos-Casals BA, Cisneros-Zevallos L.** Stoichiometric and kinetic studies of phenolic antioxidants from Andean purple corn and red-fleshed sweetpotato. *J Agric Food Chem*. 2003; 51(11): 3313-19.
  23. **Parejo I, Caprai E, Bastida J, Viladomat F, Jauregui O, Codina C.** Investigation of *Lepechinia graveolens* for its antioxidant activity and phenolic composition. *J Ethnopharmacol*. 2004; 94(1): 175-84.
  24. **Exarchou V, Nenadis N, Tsimidou M, Geronthanassis IP, Troganis A, Boskou D.** Antioxidant activities and phenolic composition of extracts from Greek oregano, Greek sage, and summer savory. *J Agric Food Chem*. 2002; 50(19): 5294-99.
  25. **Gorinstein S, Leontowicz H, Leontowicz M, Drzewiecki J, Jastrzebski Z, Tapia MS, et al.** Red Star Ruby (Sunrise) and blond qualities of Jaffa grapefruits and their influence on plasma lipid levels and plasma antioxidant activity in rats fed with cholesterol-containing and cholesterol-free diets. *Life Sci*. 2005; 77(19): 2384-97.
  26. **Tsuda T, Horio F, Uchida K, Aoki H, Osawa T.** Dietary cyanidin 3-O-beta-D-glucoside-rich purple corn color prevents obesity and ameliorates hyperglycaemia in mice. *J Nut*. 2003; 133(7): 2125-30.
- 
- Correspondencia:** Dr. Jorge Arroyo Acevedo. Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.  
 Dirección: Calle Acuaris 104, Urbanización Naval. Ventanilla, Callao  
 Teléfono: (511) 553-4736  
 Correo electrónico: jorgeluis\_arroyoacevedo@yahoo.es