



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE
UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE
CURSO DE BACHARELADO EM NUTRIÇÃO

RITA DE CÁSSIA DE ARAÚJO BIDÔ

SUPLEMENTAÇÃO COM SPIRULINA (*Arthrospira platensis*) EM RATAS LACTANTES E MANIPULAÇÃO DO TAMANHO DA NINHADA: uma avaliação dos efeitos físicos e bioquímicos da prole

Orientadora: Profa Dra Juliana Késsia Barbosa Soares

Período de Defesa: 2015.1

Cuité/PB
2015

RITA DE CÁSSIA DE ARAÚJO BIDÔ

**SUPLEMENTAÇÃO COM SPIRULINA (*Arthrospira platensis*) EM RATAS
LACTANTES E MANIPULAÇÃO DO TAMANHO DA NINHADA: uma avaliação
dos efeitos físicos e bioquímicos da prole**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Unidade Acadêmica de Saúde da Universidade
Federal de Campina Grande, como requisito
obrigatório para obtenção de título de Bacharel em
Nutrição, com linha específica em Nutrição
Experimental.

Orientador (a): Prof^a Dr^a Juliana Késsia Barbosa
Soares

Cuité/PB

2015

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE
Responsabilidade Msc. Jesiel Ferreira Gomes – CRB 15 – 256

B584s Bidô, Rita de Cássia de Araújo.

Suplementação com spirulina (*Arthrospira platensis*) em ratas lactantes e manipulação do tamanho da ninhada: uma avaliação dos efeitos físicos e bioquímicos da prole. / Rita de Cássia de Araújo Bidô. – Cuité: CES, 2015.

50 fl.

Monografia (Curso de Graduação em Nutrição) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2015.

Orientadora: Dr^a. Juliana Késsia Barbosa Soares.

Coorientadora: Marília Ferreira Frazão Tavares de Melo.

1. Má nutrição. 2. Lactação. 3. Proteína. I. Título.

Biblioteca do CES - UFCG

CDU 615.874.2

RITA DE CÁSSIA DE ARAÚJO BIDÔ

SUPLEMENTAÇÃO COM SPIRULINA (*Arthrospira platensis*) EM RATAS
LACTANTES E MANIPULAÇÃO DO TAMANHO DA NINHADA: uma avaliação dos
efeitos físicos e bioquímicos da prole

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Unidade Acadêmica de Saúde da Universidade
Federal de Campina Grande, como requisito
obrigatório para obtenção de título de Bacharel em
Nutrição, com linha específica em Nutrição
Experimental.

Aprovado em _____ de _____ de _____.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Juliana Késsia Barbosa Soares

Universidade Federal de Campina Grande/Centro de Educação e Saúde
Orientador

Prof^a. M.^a Marília Ferreira Frazão Tavares de Melo

Universidade Federal de Campina Grande/Centro de Educação e Saúde
Examinador

Prof^a. Dr^a. Nilcimelly Rodrigues Donato

Universidade Federal de Campina Grande/Centro de Educação e Saúde
Examinador

Cuité/PB

2015

**Dedico este trabalho, ao Responsável pela
existência de todas as coisas e
consequentemente dos materiais, pessoas e
meios utilizados para a realização deste
trabalho, *Deus*, e às pessoas escolhidas por
Ele para darem-me a vida e guiarem meus
primeiros passos aqui na Terra, *meus pais*,
José Severino de Araújo e Maria do Socorro,
bem como aos meus quatro irmãos,
Gutenberg, Gilquemberg, Gildenberg e
Aleksandro. Dedico também aos que, como eu,
têm encanto pela ciência e pelos deslumbrantes
mistérios que ela nos revela.**

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, meu melhor amigo, por tudo que Ele tem feito, por tudo que Ele é, e por tudo que ainda irá fazer. Por ter-me sustentado até aqui, pelos livramentos e por ter suprido todas as minhas necessidades.

Sou grata a Deus por meus pais e toda minha família, responsáveis pelo manejo dos primeiros tijolos que firmaram o alicerce do meu ser e, que, desde cedo me tem ensinado a ser humano, através do exemplo e das lutas de vida. Pelo amor, pelo cuidado, pelos ensinamentos, pelos sermões e apoio.

Sou grata a Deus por todas as pessoas que já passaram em minha vida, por aquelas, que antes mesmo de eu vim ao mundo, já estavam contribuindo para a minha jornada de vida.

Sou grata a Deus por minhas primeiras professoras e aos meus coleguinhas de classe por ter contribuído com a edificação do alicerce da minha educação.

Sou grata a Deus por ter-me trago á Cuité, pelas pessoas que aqui encontrei, pelos meus professores e por todo quadro de funcionários do CES.

Sou grata à Coordenação de Nutrição pelo acolhimento e orientação nos primeiros passos dentro da Universidade.

Sou grata a Deus por meus irmãos em Cristo que aqui em Cuité encontrei, pelos meus amados irmãos da Igreja Evangélica Congregacional de Cuité, pelo grupo ABU (Aliança Bíblica Universitária), pelo acolhimento, carinho, amor, ensinamentos, pelos momentos únicos juntos, por ser uma família, estando eu longe de casa.

Sou grata a Deus pela vaga na Residência Universitária da UFCG, *Campus* de Cuité, na qual vivi momentos mais que especiais com pessoas, especiais, de diferentes cursos e lugares, além de subsidiar minha permanência na cidade de Cuité, bem como, na Universidade.

Sou grata à minha orientadora, Juliana Késsia B. Soares, por me acolher, por ceder espaço no laboratório, pelo apoio, pelos concelhos e orientações importantes.

Sou grata às minhas companheiras de pesquisa, Iohrana Braz do Nascimento e Cristiane Cosmo da Silva, pela dedicação, preocupação, responsabilidade e companheirismo no cumprimento desta pesquisa. A todos os pesquisadores que, pelo LANEX passou e, igualmente contribuíram para realização deste trabalho. A Jaciel Galdino Melo que, sendo mais que um auxiliar de Laboratório, foi peça fundamental para o andamento dessa pesquisa.

Também sou grata a Deus pelos momentos difíceis que, em meu caminho surgiram e, tanto me ensinaram e, da mesma forma, contribuíram para que eu chegasse até aqui. Pois me tiraram da zona de conforto e mostraram-me que somos todos iguais e o quanto somos dependentes uns dos outros e dessa forma ensinando-me a ser humilde.

Os que desprezam os pequenos
acontecimentos nunca farão grandes
descobertas.

Augusto Cury

RESUMO

BIDÔ, R. C. A. **Suplementação com spirulina (*Arthrospira platensis*) em ratas lactantes e manipulação do tamanho da ninhada: uma avaliação dos efeitos físicos e bioquímicos da prole.** 2015. 54f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) - Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, 2015.

A desnutrição infantil está dentro dos problemas de saúde enfrentados pelos países em desenvolvimento, com prejuízos na vida adulta. Sabendo que uma boa fonte de proteína é essencial nessa condição clínica, objetivou-se avaliar o efeito da suplementação de *Spirulina platensis* em ratas lactantes, com ninhadas de tamanho aumentado, sobre os parâmetros físicos e bioquímicos da prole. Para tanto, fêmeas primíparas da linhagem Wistar foram divididas em quatro grupos: CN (controle normal), formado por ninhada padrão; CG (controle grande), formado por ninhada de 12 filhotes; SN (spirulina normal), formado por ninhada padrão, cujas mães foram suplementadas com solução de 8% de spirulina durante o período de lactação; SG (spirulina grande), formado com ninhada de 12 filhotes, cujas mães foram suplementadas com solução de 8% de spirulina durante o período de lactação. Após o desmame os filhotes de todos os grupos receberam dieta padrão e água *ad libitum* até o fim do experimento. O peso corporal e o consumo de ração, para todos os grupos, foram aferidos semanalmente, dos 21º e 27º até aos 60 dias de vida, respectivamente. As medidas murinométricas (circunferência torácica, circunferência abdominal, comprimento naso-anal e IMC) e análises bioquímicas (colesterol total, HDL-colesterol, triglicérido e glicose sanguínea) foram aferidas na fase da adolescência. O teste estatístico utilizado foi o ANOVA *One way* seguido de *Tukey*. O peso corporal foi maior no grupo SG comparado ao CG, do desmame até os 49 dias de vida, e aos 60 dias de vida o peso corporal dos quatro grupos foram semelhantes. O consumo do grupo SN foi menor dos 35 aos 49 dias de vida. SG consumiu mais ração dos 35 aos 42 dias de vida, aos 49 dias o SN consumiu menos que o CN e CG. O grupo SG, aos 42 dias, consumiu menos que o CN. Com relação aos parâmetros murinométricos, apenas o IMC apresentou diferença estatística entre os grupos, aos 60 dias de vida, CG e SG apresentaram menor valor quando comparado ao CN e SN. Os grupos tratados com spirulina apresentaram menor peso de gordura epididimal em relação ao CN, e o SN apresentou maior valor do que os dois grupos de ninhadas grandes. A gordura abdominal total não apresentou diferença estatística entre os grupos. O colesterol total foi menor no grupo SG comparado ao CN e SN. O HDL-c foi menor nos grupos CG, SN e SG em relação ao CN e os triglicéridos foi significativamente menor no grupo CG em relação ao CN enquanto os grupos SN e SG foram maiores do que o grupo CG e equivalente ao CN ($p < 0,05$). A glicemia plasmática foi menor nos grupos SN e SG em relação ao CG e equivalente ao CN. A suplementação com spirulina em lactantes com filhotes submetidos à restrição alimentar foi eficiente em reverter na adolescência danos no peso corporal, diminuir o colesterol total e glicemia, sem alteração nos triglicéridos plasmáticos. E apesar de ter reduzido o HDL-colesterol, a gordura abdominal não foi aumentada, o que diminui os riscos de doenças cardiovasculares nesses animais.

Palavras chaves: Má nutrição. Lactação. Proteína.

ABSTRACT

BIDÔ, R. C. A. **Spirulina (*Arthrospira platensis*) supplementation in lactating rats and manipulation of litter size: an evaluation of the physical and biochemical effects of offspring**. 2015. 54f. Final Term Paper (Nutrition Degree) – Federal University of Campina Grande, Cuité, 2015.

Child malnutrition is within the health problems facing developing countries, with losses in adulthood. A good source of protein is essential to keep clinical condition. We aimed to evaluate the effect of *Spirulina platensis* supplementation in pups rats, with increased size of litters, on physical and biochemical parameters. Primiparous female Wistar were divided into four groups: CN (normal control), formed by standard litter; CG (big control), formed by litter of 12 puppies; SN (normal spirulina), formed by standard litter, whose mothers were supplemented with 8% spirulina solution during the lactation period; SG (big spirulina), formed with litter of 12 pups whose mothers were supplemented with % spirulina solution during the lactation period. After weaning the puppies of all groups received standard diet and water *ad libitum* until the end of the experiment. Body weight and feed intake for all groups were measured weekly from 27 up to 21 and 60 days, respectively. The murinométricas measures (thoracic circumference, abdominal circumference, naso-anal length and BMI), biochemical analysis (total cholesterol, HDL-cholesterol, triglyceride and blood glucose) were measured during adolescence. The statistical test used was ANOVA followed by Tukey One way. Body weight was higher in the GC group compared SG from weaning until 49 days old, and after 60 days of life the body weight of the four experimental groups were similar. The SN group consumption was lower from 35 to 49 days of life, SG consumed more ration from 35 to 42 days of life, after 49 days SN consumed unless CN and CG. The SG group consumed less than the CN. Regarding murinométricos parameters, only BMI statistical difference between the groups at 60 days old, CG and SG showed less value when compared to CN and SN. The treated groups showed lower spirulina epididymal fat weight in relation to the CN, and SN showed a higher value than the two groups of large litters. A total abdominal fat showed no statistical difference between the groups. Total cholesterol was lower in SG group compared to CN and SN. HDL-C was lower in the GC group, SN and SG relative to the CN and triglycerides were significantly lower in the GC group compared to the CN while the SN and SG groups were higher than the GC group is equivalent to CN ($p < 0.05$). The plasma glucose was lower in SN and SG groups in relation to CG and equivalent to CN. Spirulina supplementation in puppies submitted to food restriction has been effective in reversing teenage damage in body weight, lower total cholesterol and glucose levels with no change in plasma triglycerides. And despite it reduced HDL cholesterol, abdominal fat is not increased, which decreases the risk of cardiovascular disease in these animals.

Key words: Malnutrition. Lactation. Protein.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 – Desenho dos grupos experimentais.....	26
Figura 1 – Preparação de solução de <i>Spirulina platensis</i> a 8% e gavagem em rata lactante (2mL/100g de peso do animal).....	27
Figura 2 – Aferição do peso corporal e consumo de ração da prole, do desmame e da 4 ^a semana de vida, respectivamente, até os 60 dias de vida.....	27
Figura 3 – Aferição das medidas murinométricas da prole aos 60 dias de vida.....	28
Figura 4 – Coleta e obtenção do soro plasmático da prole aos 60 dias de vida.....	29
Figura 5 – Análise bioquímica em espectrofotômetro.....	29
Figura 6 - Ganho de peso corporal (g) por semana da prole, do desmame até 60 dias de vida, de mães suplementadas ou não durante a lactação com solução de 8% de spirulina e com tamanho de ninhadas manipuladas.....	31
Figura 7 – Consumo de ração (g) por semana da prole, da quinta à oitava semana de vida, de mães suplementadas ou não durante a lactação com solução de 8% de spirulina e com tamanho de ninhadas manipuladas.....	32
Figura 8 – Gordura epididimal e abdominal total (g) dos animais, na fase de adolescência, cujas mães receberam suplementação ou não durante a lactação com solução de 8% de spirulina e tiveram o tamanho da ninhada manipulada.....	33
Figura 9 – Parâmetros bioquímicos da prole, na fase de adolescência, de ratas que tiveram tamanho da ninhada manipulada e que receberam ou não solução de 8% de spirulina durante o período de lactação.....	34
Figura 10 – Médias da glicemia plasmática de animais, na fase de adolescência, tratados ou não durante a lactação com solução de 8% de spirulina e com tamanho de ninhadas manipuladas.....	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros murinométricos da prole com 60 dias de vida de ratas tratadas ou não com spirulina durante a lactação e que tiveram o tamanho de ninhada manipulada.....	33
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ANOVA	<i>Analysis of Variance</i>
apud	Com; em; junto a
CES	Centro de Educação e Saúde
CG	CONTROLE GRANDE
cm ²	Centímetro quadrado
CN	CONTROLE NORMAL
CNPJ	Cadastro Nacional de Pessoas Jurídicas
cm ²	Centímetro quadrado
CN	CONTROLE NORMAL
DH	Dieta Hipoproteica
et al	E outros
g	Gramma
GC	Grupo controle
GD	Grupo desnutrido
GN4	Grupo com ninhada de quatro filhotes
GN10	Grupo com ninhada de dez filhotes
HDL-c	<i>Hight Density Lipoproteins</i> – lipoproteínas de alta densidade
IMC	Índice de Massa Corporal
Kcal	Quilocaloria
Kg	Quilogramas
LDL-c	<i>Low Density Lipoprotein</i> – lipoproteína de baixa densidade
mL	Mililitro
PB	Paraíba
pH;	Potencial Hidrogeniônico
RE	Restrição energética
RP	Restrição protéica
rpm;	Rotações por minuto
SN	SPIRULINA NORMAL
SG	SPIRULINA GRANDE
UFCG	Universidade Federal de Campina Grande
USA	<i>United States of América</i> - Estados Unidos da América
Vit. B1	Vitamina B1 - Tiamina
Vit. B2	Vitamina B2 - Riboflavina
Vit. B3	Vitamina B3 - Nicotinamida
Vit. B6	Vitamina B6 - Piridoxina
Vit. B9	Vitamina B9 - Ácido fólico
Vit. B12	Vitamina B12 - Cianocobalamina
Vit. C	Vitamina C - Ácido ascórbico
Vit. D	Vitamina D
Vit. E	Vitamina E
VLDL-c	<i>Very Low Density Lipoprotein</i> - lipoproteína de muito baixa densidade
WHO	<i>World Health Organization</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

*	Versus o grupo CONTROLE N
#	Versus grupo CONTROLE G
\$	Versus o grupo SPIRULINA N
H ₂ O	Água
%	Porcentagem
°C	Grau célsius
β	<i>Beta</i>
5-HT	5-hidroxitriptamina
α	<i>Alfa</i>
γ	<i>Gama</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo geral	15
2.2 Objetivos específicos	15
3 REFERENCIAL TEÓRICO	16
3.1 Alimentos funcionais e seu contexto na sociedade atual	16
3.2 <i>Spirulina platensis</i>	16
3.3 Desnutrição e seu impacto nutricional	20
3.4 Lactação e desenvolvimento	21
4 METODOLOGIA	23
4.1 Materiais.....	23
4.2 Animais	23
4.3 Grupos experimentais	23
4.5 Peso corporal e consumo de ração.....	25
4.6 Avaliação murinométrica	25
4.9 Análises estatísticas	27
5.0 Procedimentos éticos.....	27
5 RESULTADOS	28
5.1 Peso corporal.....	28
5.2 Consumo de ração	29
5.3 Murinometria	29
5.4 Gordura epididimal e abdominal total.....	30
5.5 Bioquímica	31
5.6 Glicemia	32
6 DISCUSSÃO	34
7 CONCLUSÃO	40
REFERÊNCIAS	41
Anexo A - Protocolo experimental aprovado pelo Comitê de Ética	50

1 INTRODUÇÃO

A procura por alimentos funcionais tem crescido de maneira significativa. Essa explosão de interesse dos consumidores em alimentos específicos ou componentes alimentares fisiologicamente ativos é justificada pela necessidade de melhoria da saúde, bem como pela promessa de que tais alimentos exercem efeitos benéficos sobre a saúde, além de seu poder de atuar na prevenção de doenças. Obviamente, todos os alimentos são funcionais, visto que proporcionam sabor, aroma e valor nutritivo. Durante a última década, o termo funcional, aplicado aos alimentos, tem assumido diferente conotação que é a de proporcionar um benefício fisiológico adicional, além daquele de satisfazer as necessidades nutricionais básicas. (HASLER, 1998; ALMEIDA; SALGADO, [s.d], p.1; CARDOZO et al., 2010).

Não há um acordo universal para a designação de alimentos funcionais. No entanto, no Brasil, tais alimentos são regulados pela Resolução nº 18/1999, publicada no ano de 1999 pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), vinculada ao Ministério da Saúde. A resolução define alimento funcional como "[...] um alimento ou ingrediente que além das funções nutricionais básicas, quando consumido como parte da dieta usual, produz efeitos metabólicos e/ou efeitos benéficos à saúde". (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA, 1999).

Um alimento que possui propriedades que a configuram como um alimento funcional é a biomassa de spirulina, uma microalga incluída no gênero *Arthrospira*, pertencente à família *Oscillatoriaceae* (AMBROSI et al., 2008; BARROS, 2010; GUARIENTI; BERTOLIN; COSTA, 2010). Isso se deve às suas propriedades nutricionais e terapêuticas na capacidade de prevenir e diminuir os agravos causados pela hiperlipidemia, bem como sua atividade antioxidante (BELAY, 2002; GUARIENTI; BERTOLIN; COSTA, 2010). Normalmente a spirulina é consumida pela população como suplemento alimentar devido as suas vantagens nutritivas. Ela contém elevado teor de proteína (em torno de 60-70%) abrangendo aminoácidos essenciais, incluindo leucina, isoleucina e valina, com reduzidas quantidades de metionina, cisteína e lisina, bem como de outros componentes como vitaminas, minerais e ácidos graxos essenciais entre eles o ácido γ -linolênico, e o β -caroteno (BELAY et al., 1993; BABADZHANOV et al., 2004).

Estudo verificou que a suplementação com spirulina durante a gestação diminuiu a má formação fetal de camundongos tratados com droga teratogênica (VAZQUEZ-SANCHEZ

et al., 2009). Outro estudo avaliando recuperação de ratos desnutridos tratados com spirulina constatou uma melhor recuperação nutricional nesses animais (DONATO et al., 2010).

Porém, pouco se sabe como esta alga pode interferir no desenvolvimento de animais submetidos à restrição de alimentos, e tratados, durante a lactação. Por se tratar de um alimento rico em proteína, cogitou-se investigar se a suplementação com este alimento poderia reverter danos causados pela má nutrição em ratos lactentes tendo em vista que a desnutrição infantil está dentro dos problemas de saúde enfrentados nos países em desenvolvimento e que existem evidências exaustivas de que déficits de crescimento na infância estão associados a maior mortalidade, excesso de doenças infecciosas, prejuízo para o desenvolvimento psicomotor, menor aproveitamento escolar e menor capacidade produtiva na idade adulta (BLACK et al., 2008).

As consequências clínicas da desnutrição dependem de vários fatores, incluindo o grau de severidade e a duração das deficiências nutricionais (MORGANE et al., 1993). Da mesma forma, a incompatibilidade entre a desnutrição durante o período perinatal e a nutrição ao longo da vida pode estar relacionada ao aparecimento de doenças metabólicas (BATESON et al., 2004). A desnutrição perinatal além de influenciar negativamente o desenvolvimento do sistema nervoso, causa atraso na ontogênese reflexa em ratos lactentes e altera o comportamento alimentar na vida adulta (BARROS et al., 2006; SOUZA et al., 2008).

Verificou-se que o aumento do tamanho da ninhada durante a lactação pode induzir danos ao sistema nervoso (ROCHA-DE-MELO et al. 2006) similares a outros estudos que induziram desnutrição proteica (ROCHA-DE-MELO; GUEDES, 1997). Tendo em vista que a lactação é um período de grande relevância para o desenvolvimento da prole e crítico na determinação do seu estado nutricional futuro e que a restrição proteica neste período está associada a uma alteração permanente no controle hipotalâmico da seleção de nutrientes da prole (MORGANE et al., 1993; PASSOS e al., 2001), objetivou-se avaliar, com o presente trabalho, se a suplementação de lactantes com spirulina com ninhadas de tamanhos aumentados, poderia alterar parâmetros bioquímicos e físicos da prole na fase da adolescência.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos da suplementação de spirulina e manipulação do tamanho da ninhada sobre parâmetros físicos e bioquímicos da prole de ratas lactantes.

2.2 Objetivos específicos

- Acompanhar a evolução ponderal da prole durante 5 semanas, a partir do desmame até os 60 dias de vida;
- Avaliar o comportamento alimentar da prole durante 4 semanas, a partir do 28º dia de vida até os 60 dias de vida;
- Avaliar o Índice de Massa Corporal (IMC), Circunferência Torácica, Circunferência Abdominal e Comprimento da prole, ao final do experimento;
- Quantificar a gordura epididimal e abdominal total da prole ao atingirem a adolescência;
- Verificar a glicemia plasmática, colesterol total, triglicerídeos e HDL-c da prole aos 60 dias de vida.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Alimentos funcionais e seu contexto na sociedade atual

Devido à ampla divulgação pela imprensa em geral da relação entre alimentação e saúde, a preocupação da sociedade ocidental com os alimentos tem crescido de forma exponencial. Em decorrência disto, uma grande quantidade de novos produtos que supostamente proporcionam saúde tem sido apresentada pela indústria alimentícia diariamente (ANJO, 2004).

Há muito tempo o efeito benéfico de determinados tipos de alimentos sobre a saúde do hospedeiro é conhecido. Porém, o estudo desses alimentos, atualmente denominados de alimentos funcionais, e de seus componentes responsáveis por tal efeito, tornou-se intenso, apenas nos últimos anos. Os alimentos funcionais constituem hoje prioridade de pesquisa em todo mundo com a finalidade de elucidar as propriedades e os efeitos que estes produtos podem apresentar na promoção da saúde (OLIVEIRA et al., 2002).

São considerados alimentos funcionais aqueles que, além de fornecerem a nutrição básica, promovem a saúde. Esses alimentos possuem potencial para promover a saúde por meio de mecanismos não previstos pela nutrição convencional, devendo ser salientado que esse efeito restringe-se à promoção da saúde e não à cura de patologias. (SANDERS, 1998). E por esse motivo os alimentos funcionais são a nova tendência do poderoso mercado alimentício neste início do século XXI (RAUD, 2008).

A partir de estudos e dados analisados, conclui-se que a cianobactéria spirulina possui propriedades que a configuram como um alimento funcional e um nutracêutico, tornando-se um recurso potencial no tratamento de diversas enfermidades. Diante do aprovado potencial de spirulina para o tratamento de morbidades que se sobressaem como problemas tão significativos para a saúde pública mundial, devem ser implementadas estratégias de divulgação (AMBROSIL et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2013).

3.2 *Spirulina platensis*

A *Spirulina platensis*, tem sua existência na Terra há cerca de 3,5 bilhões de anos (DUNLOP et al., 1978; YADA et al., 2005), podendo ser encontrada em lagos tropicais e subtropicais da África, Ásia, América do Sul e Central (VONSHAK, 1997). Estas regiões são caracterizadas pelos seus climas quentes e ensolarados, tornando-se favoráveis ao crescimento e desenvolvimento da spirulina. Como exemplos dessas regiões estão o México, Chade, Etiópia, Quênia, Zâmbia e Zaire. Na época da colonização espanhola, Tenochtitlán, uma cidade do México, era fortemente povoada, contendo praças e mercados, na qual a biomassa seca de spirulina era vendida com o nome de tecuitlatl. A população asteca que residam próximos ao Lago Texcoco também consumia essa biomassa. O Chade é outro lago onde a spirulina tem sido muito estudada e há muito tempo tem sido usado como alimento (ABDIN EL SHERIF; CLÉMENT, 1982; LACAZ-RUIZ, 2003 apud MATSUDO, 2006). Ela é consumida a milhares de anos por Astecas e Maias como fonte de alimentação primária (GUARIENTI, C; BERTOLIN, T. E; COSTA, J. A. V, 2010).

A microalga spirulina apresenta-se como uma alternativa na produção de biomassa alimentar em regiões áridas e com escassez de água, devido ao fato de ela responder bem à radiação solar intensa e as altas temperaturas entre 35 e 40 °C, sendo que a temperatura mínima na qual o seu crescimento se realiza, está entre 15 e 18 °C durante o dia, no entanto a noite ela pode tolerar temperaturas relativamente baixas. Ela ainda pode crescer em águas alcalinas e com alta salinidade (8,5 a 200g.L-1) (COZZA; COSTA, 2000; RICHMOND; SOEDER, 1986).

O interesse no cultivo destes organismos fundamenta-se em suas diversas e possíveis aplicações, dentre elas está a alimentação além da produção de energia química, extração de pigmentos entre outras substâncias celulares de interesse industrial e no tratamento de águas residuais (BURJA et al., 2001).

A microalga *Spirulina platensis* tem se tornado fonte de pesquisas devido as evidências de seu potencial terapêutico nas diversas áreas, bem como, o de seu potencial terapêutico na prevenção e diminuição dos danos causados por dislipidemias e sua atuação como antioxidante (BERTOLIN et al., 2009; GUARIENTI, C; BERTOLIN, T. E; COSTA, J. A. V, 2010).

O gênero spirulina pertence à família *Oscillatoriaceae*, porém Matsudo menciona que, segundo Tomaselli (1997), essa espécie foi desconsiderada como componente do gênero spirulina e abarcada no gênero *Arthrospira* (da mesma ordem *Oscillatoriales*). Mas que, mesmo assim, a designação “spirulina” tem se mantido. Esse

gênero compreende o grupo das cianobactérias filamentosas em forma de espiral, ou seja, microalgas verdes azuladas, formados por cadeias de células, denominado tricoma. O principal pigmento fotossintético da spirulina é a ficocianina, que é de cor azul, além de conter clorofila e carotenoides. Essas cianobactérias são multicelulares e simbióticas. A simbiose é uma relação interespecífica, harmônica e estável, em geral de longa duração, frequentemente encontrada nas comunidades terrestres e aquáticas, com papel fundamental no surgimento das principais formas de vida na Terra e na geração de diversidade biológica (MORAN, 2006; CONTI; GUIMARÃES; PUPO, 2012).

Os tricomas são formados por células cilíndricas, curtas e largas, revestidas por uma fina membrana. Seu diâmetro pode variar de 6 a 12 μm , e as estruturas helicoidais formadas por este filamento podem apresentar diâmetros que variam de 30 a 70 μm . Dependendo da espécie, as dimensões celulares, o grau de ondulação e o comprimento dos filamentos podem variar (CIFERRI; TIBONI, 1985; HENRIKSON, 1989; TOMASELLI, 1997; PELOS et al., 1982 apud MATSUDO, 2006; CIFERRI, 1983; HABIB, 2008).

Por ser uma cianobactéria, a spirulina, pertence ao reino Monera e constitui-se um ser procarionte tendo, por tanto, o material genético disperso na célula (DERNER et al., 2006). As cianobactérias são micro-organismos fotossintéticos, os quais crescem em meio líquido e se reproduzem rapidamente, podendo multiplicar sua biomassa em períodos de 24h, gerando compostos biologicamente ativos, como proteínas.

Ela vive em meios líquidos peculiares ricos em sais minerais, tendo o bicarbonato e carbonato de sódio como o principal elemento nessa composição, requerendo um pH de 8 a 11 para seu desenvolvimento (ABDIN EL SHERIF; CLÉMENT, 1982 apud MATSUDO, 2006).

O envoltório celular da spirulina segundo Tomaselli In: Doumenge et al. (1993) é mais parecido com uma bactéria do que com uma alga tendo, portanto, suas paredes celulares mais digeríveis uma vez que são formadas por mucopolissacarídeos e não por celulose, isso constitui uma vantagem do ponto de vista de preservação da integridade de componentes, como vitaminas e ácidos graxos poli-insaturados.

A spirulina é essencialmente foto autotrófica, isto é, tem a capacidade de, através da fotossíntese, obter energia da luz para a fixação de carbono necessário à construção de biomassa, ou seja, converter os nutrientes do meio em material celular, liberando como subproduto da reação oxigênio na atmosfera (CHRONAKIS et al., 2001; COLLA, 2002).

A cianobactéria *Spirulina platensis* por mais de 15 anos foi tomada como um alimento suplementar sem quaisquer efeitos colaterais indesejáveis. Estudos toxicológicos ratificaram a sua segurança para o consumo humano (AKAO et al., 2009). Esta cianobactéria demonstra-se diferente de outras microalgas por apresentar baixa susceptibilidade de contaminação em seu cultivo por outros microrganismos pelo fato de a mesma necessitar para o seu desenvolvimento um alto pH, estando inicialmente em torno de 8,0 e podendo atingir pH 11,0 (BARROS, 2010; VONSHAK, 1997).

Com relação às suas propriedades nutricionais, pesquisas comprovam que esta cianobactéria contém altas concentrações de pró-vitamina A, Vit. B12, B1 (tiamina), B2 (riboflavina), B3 (nicotinamida), B6 (piridoxina), B9 (ácido fólico), C, D e E. Ela possui cerca de 20% de carboidrato e 4-7% de lipídeos. Composto está concentração de lipídeos, estão os ácidos graxos essenciais, ômega 3 e 6, ácidos graxos poli-insaturados, abrangendo o ácido α -linolênico, ácido γ -linolênico, ácido eicosapentanóico, ácido docosahexanóico e ácido araquidônico. Além disso, a spirulina é uma rica fonte de minerais, estando entre eles: o potássio (0,64 a 1,54 %), o cálcio (0,13 a 0,14 %), o fósforo (0,67 a 0,9 %), sendo estes os principais presentes em sua composição, além destes também estão presentes o cromo, o cobre, o ferro, o magnésio, o manganês, o selênio, o sódio e o zinco. Entre os pigmentos que constitui a spirulina, estão a ficocianina com 20% da sua composição e os carotenoides com 0,37% da sua composição (BELAY et al., 1993; VON DER WEID; DILLON; FALQUET, 2000).

Phang et al. (2000) afirma que, a importância nutricional da spirulina é determinada pela variedade dos nutrientes que a mesma contém, sendo que, alguns dos quais não são sintetizados pelo organismo humano, e que em decorrência dessa variedade ela torna-se um alimento completo, com diferentes nutrientes por unidade de peso. Matsudo (2006) cita que ela é comercializada como um alimento seguro, desde a década de 1970, bem como, estimada para a nutrição humana, por vários órgãos governamentais, agências de saúde e outras associações em mais de 80 países.

Devido às propriedades e a capacidade da spirulina em combater vírus, câncer, desnutrição, hipercolesterolemia, diabetes e outras enfermidades, além de contribuir para melhorias na saúde como um todo, vem destacando-se sua utilização como nutracêuticos e é despertado o interesse no seu emprego como uma fonte farmacêutica em potencial (AMBROSI et al., 2008). Porém as pesquisas realizadas com essa microalga, segundo o mesmo autor, encontram-se dispersas e as informações encontradas muitas das vezes não

são confiáveis tornando-se necessários mais estudos para se melhor descobrir as conveniências pertencentes à spirulina.

Experimentos realizados em diversos modelos animais demonstraram que uma dieta suplementada com spirulina pode promover uma redução no plasma e no fígado, de colesterol total, LDL (*Low Density Lipoprotein* – lipoproteína de baixa densidade), triglicerídeos e fosfolípidios, além de aumentar o HDL (*Hight Density Lipoproteins* – lipoproteínas de alta densidade). Nos seres humanos, os estudos indicaram uma redução significativa do colesterol total, LDL, VLDL (*Very Low Density Lipoprotein* - lipoproteína de muito baixa densidade), e triglicérides; elevação do colesterol HDL, e redução do efeito aterogênico (IWATA et al., 1990; HOSOYAMADA et al., 1991; RAMAMOORTHY; PREMAKURI, 1996; NAKAYA et al., 1988; RIVERA et al., 1993 apud BERTOLIN, 2009).

3.3 Desnutrição e seu impacto nutricional

Etiologicamente, a desnutrição pode ser dita como primária ou secundária. A desnutrição primária, associada à falta de recursos financeiros para a aquisição de aporte calórico proteico adequado, somado à ausência de utensílios básicos para a conservação e preparação adequada dos alimentos, destaca-se como fator de risco. A desnutrição secundária ocorre como consequência de situações/morbididades que elevam as necessidades energéticas e proteicas do indivíduo ou interferem na utilização adequada de nutrientes, caracterizando um desequilíbrio metabólico (CALIXTO-LIMA; REIS, 2012).

A desnutrição constitui um problema de saúde pública em todo o mundo e peculiarmente nos países em desenvolvimento (ONUSIDA/OMS, 2000; SIMPORE et al., 2006). Ela é comumente resultado da insuficiência de alimentos, bem como, de maus hábitos alimentares, designando-se uma causa comum de problema de saúde (GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2010). Segundo a Organização Mundial da Saúde e a Organização Pan-Americana de Saúde, aproximadamente 174 milhões de crianças com idade abaixo de cinco anos são desnutridas e em muitos países, como na África e no Sul da Ásia, existe alta prevalência de desnutrição em mulheres em idade reprodutiva. E a desnutrição materna é um fator que contribui significativamente para os elevados índices de mortalidade perinatal e infantil (WHO, 2002).

.Os riscos associados com a insegurança alimentar, a fome e a desnutrição ainda dominam a saúde das nações mais pobres do mundo. A maioria das mortes de crianças nos países em desenvolvimento a cada ano é associada à desnutrição. No Brasil, estima-se que o número de desnutridos seja maior em áreas rurais, principalmente na Região Nordeste (WHO, 2002).

A desnutrição é reconhecida como um importante fator de risco para a aumentada prevalência e severidade de infecções, maior gravidade de doenças e mortalidade. O quadro clínico típico de formas leves e moderadas são as alterações de crescimento, visíveis através da desaceleração da curva de crescimento e redução de tecido adiposo, anemia leve a moderada, ressecamento de pele e cabelos e alterações de desenvolvimento psicomotor. Crianças com desnutrição grave, frequentemente, estão seriamente doentes, e a anorexia e as infecções são comuns (LACERDA; FARIA, 2002).

Em função, segundo Passos et al. (2001), da alta prevalência de desnutrição nos países em desenvolvimento é necessário a realização de trabalhos experimentais a fim de avaliar suas consequências nos distintos sistemas orgânicos.

3.4 Lactação e desenvolvimento

Muitos estudos foram desenvolvidos sugerindo que um ou mais fatores que acontecem no ambiente perinatal, caracterizado pelo período de gestação e lactação, podem estar relacionados com nutrição materna e/ou fetal e são responsáveis pelo maior risco de desenvolver doenças cardiovasculares na vida adulta dos indivíduos. Porém os mecanismos envolvidos com esta associação ainda não são totalmente conhecidos (MIRANDOLA, 2007).

A relação entre a nutrição no período perinatal e repercussões na vida adulta tem sido documentada por diversos pesquisadores. Nery e Nascimento (2009) menciona que em 1960, Widdowson e McCance demonstraram que o tamanho de ratos adultos estava relacionado ao seu estado nutricional no período de lactação. Estudos demonstram que há inversa relação entre o tamanho da ninhada e a média de peso corporal ao desmame. Um dos modelos experimentais proposto para induzir superalimentação, subsequente aumento do peso e hiperfagia na vida adulta é a redução do tamanho da ninhada ao nascer (WURTMAN; MILLER, 1976; PLAGEMANN et al., 2009).

Após término do seu estudo, Nery et al. (2011) concluíram que a redução do número de filhotes na lactação não ocasionou sobrepeso persistente na prole nem alterou

a ingestão alimentar e o acúmulo de gordura central no animal adulto jovem. Porém, a indução de superalimentação na fase de lactação parece causar uma alteração do crescimento no período pós-desmame em sentido oposto ao observado em animais que sofrem desnutrição perinatal. Os autores reforçam que esse achado é importante quando observamos que o maior período de crescimento do animal ocorre antes da idade de 60 dias e que até os 30 dias esta velocidade é bem acentuada (ANDREOLLO et al., 2012).

A nutrição adequada é especialmente importante durante a gestação e a lactação, tendo em vista que os requerimentos de energia e nutrientes estão aumentados em virtude dos acelerados processos celulares e do intenso anabolismo. Desta forma, a inadequação energética ocorrida nestes períodos é capaz de comprometer o crescimento e o desenvolvimento dos organismos, repercutindo na saúde (LIRA, 2012). Além de que, alteração na disponibilidade da quantidade e/ou qualidade da alimentação no aleitamento merecem maiores investigações tendo em vista a vulnerabilidade desse período e influências ambientais e nutricionais que podem predispor ao aumento de tecido adiposo, bem como alterações metabólicas permanentes (NERY et al., 2011).

4 METODOLOGIA

4.1 Materiais

A spirulina utilizada foi a *Spirulina platensis* fornecida pela Fazenda Tamanduá, CNPJ: 48762892000194 Agroindústria - Empresa do Setor Privado, Patos-PB.

4.2 Animais

Foram utilizadas fêmeas primíparas da linhagem Wistar, provenientes do Biotério de criação do Laboratório de Nutrição Experimental da Universidade Federal de Campina Grande do Centro de Educação e Saúde – campus Cuité, com idade entre 90 e 120 dias e peso médio de 250 ± 50 g, para obtenção dos ratos lactentes. Foram utilizados um total de 8 mães, as quais foram divididas em quatro grupos posteriormente, com um número final de animais por grupo de 12 filhotes machos, totalizando um número de 56 animais.

Para o acasalamento foram mantidas duas fêmeas para cada macho; os animais foram alojados no Laboratório de Nutrição Experimental do Centro de Educação e Saúde (CES) da UFCG – campus Cuité, até confirmação da prenhez. Posteriormente, as ratas prenhas foram acomodadas em gaiolas-maternidade individuais de polipropileno, em condições-padrão: temperatura de $22 \pm 1^\circ\text{C}$, com ciclo claro-escuro (12 h; início da fase clara às 6:00 h), umidade de $\pm 65\%$, recebendo ração e água *ad libitum* (COUTO, 2002). O desmame foi realizado aos 21 dias pós-natal.

4.3 Grupos experimentais

Foram constituídos quatro grupos (Quadro 1), sendo dois controles: grupo CN (controle normal), formado com ninhada padrão (6 filhotes por nutriz) e grupo CG (controle grande), formado com grande ninhada (12 filhotes por nutriz), nos quais as mães receberam ração padrão e gavagem com água destilada durante todo o período de lactação; e dois experimentais, tratados com *spirulina platensis*: grupo SN (spirulina normal), formado com ninhada padrão (6 filhotes por nutriz) e grupo SG (spirulina grande), formado com grande ninhada (12 filhotes por nutriz), nos quais as mães

receberam ração padrão e gavagem com solução de spirulina a 8% (Figura 1) durante o período de lactação (MOREIRA et al., 2013).

Apenas as lactentes receberam os tratamentos por gavagem diariamente (2mL de solução/100g de peso do animal) durante os 21 dias de amamentação. Após o desmame a prole permaneceu com dieta padrão e consumo de água *ad libitum* e foi mantida em biotério de experimentação em condições padronizadas de temperatura de $22 \pm 1^\circ\text{C}$ e iluminação clara das 18:00 às 6:00h (COUTO, 2002).

Quadro 1 – Desenho dos grupos experimentais.

Grupos	Tamanho da ninhada	Dieta por período		
		Gestação	Lactação	Pós-desmame
CN	6 filhotes	Presence®	Presence® + gavagem de H ₂ O destilada (2mL/100g)	Presence®
CG	12 filhotes	Presence®	Presence® + gavagem de H ₂ O destilada (2mL/100g)	Presence®
SN	6 filhotes	Presence®	Presence® + gavagem de spirulina (8%) (2mL/100g)	Presence®
SG	12 filhotes	Presence®	Presence® + gavagem de spirulina (8%) (2mL/100g)	Presence®

Todas as dietas em todos os períodos foram oferecidas *ad libitum*. CN = controle normal (ninhada padrão); CG = controle grande (ninhada de 12 filhotes); SN = spirulina normal (ninhada padrão, cujas mães receberam suplementação de spirulina a 8%); SG = spirulina grande (ninhada de 12 filhotes, cujas mães receberam suplementação de spirulina a 8%). As dietas correspondentes ao período da lactação referem-se às dietas que foram ofertadas às mães.

Figura 1 – Preparação de solução de *Spirulina platensis* a 8% e gavagem em rata lactante (2mL/100g de peso do animal).





Fonte: Arquivo próprio (2015).

4.5 Peso corporal e consumo de ração

O peso dos filhotes foi aferido semanalmente durante 5 semanas, a partir do desmame, até a oitava semana de vida. O consumo (figura 2) de ração foi registrado da 4ª semana de vida até a 8ª semana de vida, fase de adolescência (NERY et al., 2011).

Figura 2 – Aferição do consumo de ração da prole da 4ª semana de vida até os 60 dias de vida.



Fonte: Arquivo próprio (2015).

4.6 Avaliação murinométrica

Para aferição dos parâmetros murinométricos, os animais foram anestesiados utilizando Cloridrato de Ketamina e Cloridrato de Xilazina (1mL/Kg de peso), sendo eutanasiados mediante punção cardíaca. Dispondo de balança eletrônica digital, os animais foram pesados, e, dispondo de fita métrica não extensiva foi aferida a circunferência torácica e abdominal, bem como, o comprimento naso-anal (figura 3). Utilizando os valores de comprimento juntamente com o peso, foi calculado o Índice de Massa Corporal através da formula: $IMC (g/cm^2) = \text{Peso corporal}(g)/\text{Comprimento}(cm^2)$ (NOVELLI et al., 2007). A gordura abdominal total e epididimal foram retiradas e pesadas separadamente (CINTI, 2005).

Figura 3 – Aferição das medidas murinométricas da prole aos 60 dias de vida.



Fonte: Arquivo próprio (2015).

4.7 Análises bioquímicas

Ao completarem 60 dias de vida, sob anaúgesia, o sangue foi coletado e alocado em tubos de ensaio (5mL em cada tubo). Aproximadamente 20 minutos após cada coleta, as amostras foram centrifugadas a 3.500 rpm por 15 minutos e o sobrenadante foi recolhido em tubos eppendorfs e refrigerados a -20 °C até a análise (figura 4).

A concentração de glicose sanguínea foi identificada através da leitura do glicosímetro (Accu Chek Performa®, Roche Diagnostics).

O conteúdo plasmático de colesterol total, HDL-colesterol e triglicerídeos foram determinados utilizando kit enzimático Labtest em espectrofotômetro (figura 5).

Figura 4 – Coleta de sangue e obtenção do soro plasmático da prole aos 60 dias de vida.



Fonte: Arquivo próprio (2015).

Figura 5 – Análise bioquímica em espectrofotômetro



Fonte: Arquivo próprio (2015).

4.9 Análises estatísticas

Para a análise dos dados do ensaio biológico foi aplicada a análise de variância ANOVA *One way* seguido de *Tukey* nas comparações entre os diversos parâmetros avaliados dos diferentes grupos. Em todos os casos, o nível de significância para rejeição da hipótese nula foi de 5%. Para o cálculo dos dados, utilizou-se o programa – Sigma Stat (3.1).

5.0 Procedimentos éticos

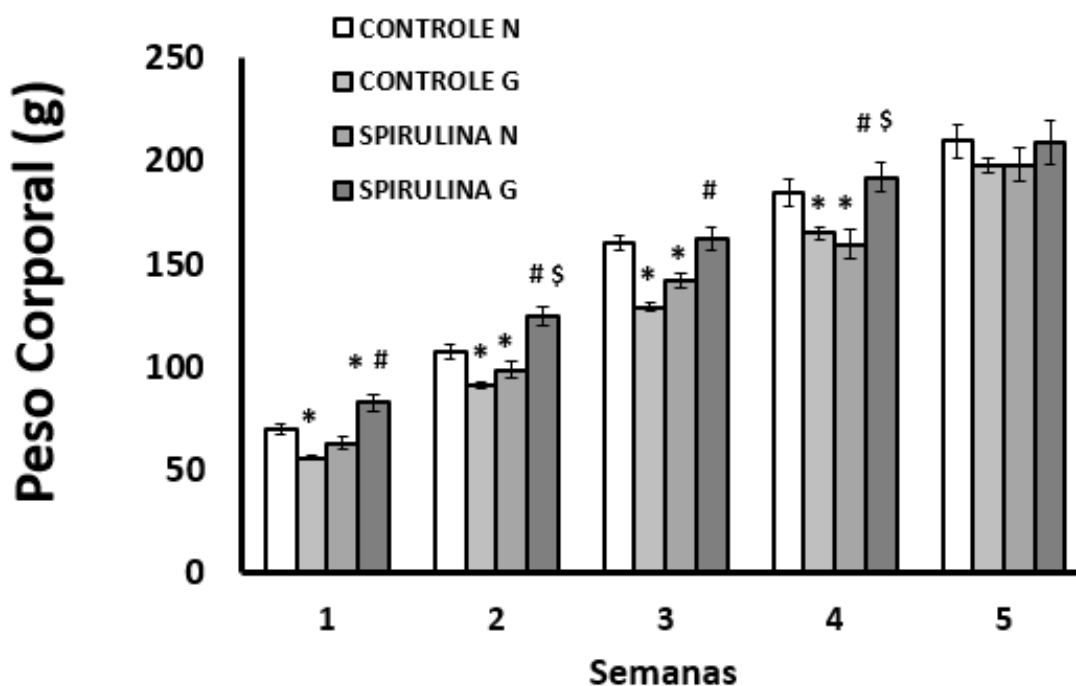
O protocolo experimental nº 241-2015 (ANEXO A) foi aprovado pelo Comitê de Ética e seguiu as recomendações éticas do *National Institute of Health* (Bethesda, USA), com relação aos cuidados e procedimentos para com os animais.

5 RESULTADOS

5.1 Peso corporal

Na Figura 6, durante as quatro primeiras semanas de avaliação, o CG apresentou menor peso corporal, quando comparado ao CN. O grupo SG, nas quatro primeiras semanas de avaliação, teve peso corporal maior quando comparado ao grupo CG e na segunda e quarta semanas teve peso corporal maior quando comparado o grupo SN. Os grupos CG e SN tiveram peso corporal menor comparado ao grupo CN na 2^a, 3^a e 4^a semana de avaliação ($p < 0,05$). Na quinta semana os grupos não apresentaram diferenças estatísticas.

Figura 6 - Ganho de peso corporal (g) por semana a partir do desmame da prole de mães suplementadas ou não durante a lactação com solução de 8% de spirulina e com tamanho de ninhadas manipuladas.

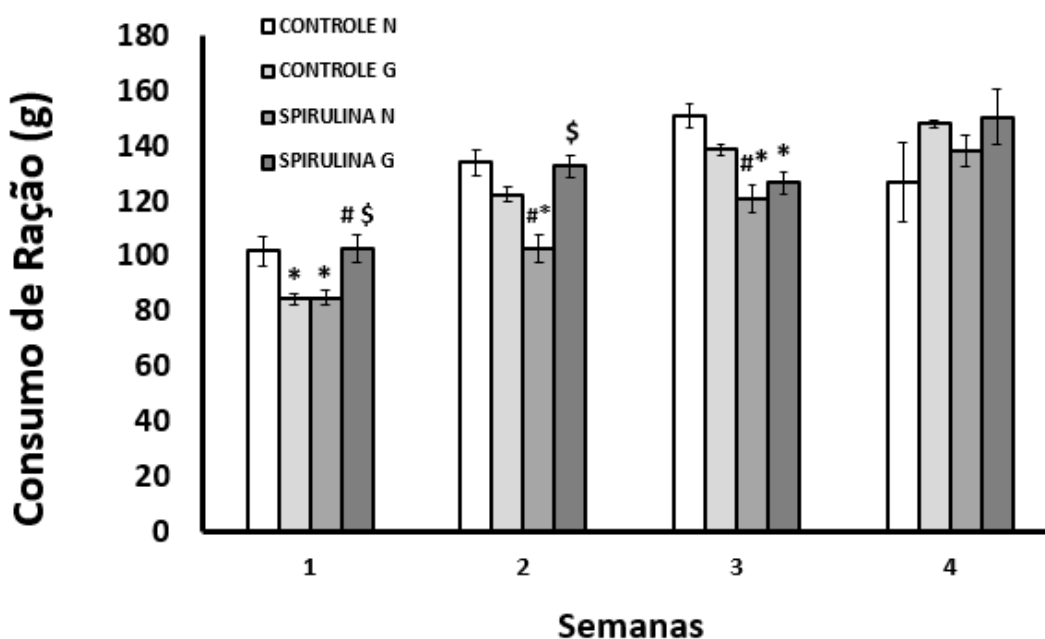


CONTROLE N (CN) (ninhada com 6 filhotes de mães que receberam gavagem com água destilada); CONTROLE G (CG) (ninhada com 12 filhotes de mães que receberam gavagem com água destilada); SPIRULINA N (SN) (ninhada com 6 filhotes de mães suplementadas com spirulina); SPIRULINA G (SG) (ninhada com 12 filhotes de mães suplementadas com spirulina). $n=12$ animais para todos os grupos. Os valores estão expressos em média \pm erro médio padrão. *versus o grupo CONTROLE N; #versus grupo CONTROLE G; \$versus o grupo SPIRULINA N. Teste estatístico utilizado foi o Anova *One way* seguido de *Tukey* com nível de significância ($p < 0,05$).

5.2 Consumo de ração

Examinando a Figura 7, percebe-se que os grupos CG e SN na primeira semana revelou um consumo de ração menor quando comparado ao grupo CN. Durante a segunda e terceira semana o consumo do grupo SN foi menor do que os dois grupos controle. Percebe-se também na primeira semana que o grupo SG teve um consumo de ração maior quando comparado com os grupos CN e SN, durante a segunda semana essa diferença aconteceu apenas com o SN e durante a terceira semana o consumo deste grupo foi menor comparado ao CN ($p < 0,05$). Na quarta semana não houve diferença estatística entre os grupos.

Figura 7 – Consumo de ração (g) por semana da prole, da quinta à oitava semana de vida, de mães suplementadas ou não durante a lactação com solução de 8% de spirulina e com tamanho de ninhadas manipuladas.



CONTROLE N (ninhada com 6 filhotes de mães que receberam gavagem com água destilada); CONTROLE G (ninhada com 12 filhotes de mães que receberam gavagem com água destilada); SPIRULINA N (ninhada com 6 filhotes de mães suplementadas com spirulina); SPIRULINA G (ninhada grande com 12 filhotes de mães suplementadas com spirulina). $n=12$ animais para todos os grupos. Os valores estão expressos em média \pm erro médio padrão. *versus o grupo CONTROLE N; #versus grupo CONTROLE G; \$versus o grupo SPIRULINA N. Teste estatístico utilizado foi o Anova *One way* seguido de *Tukey* com nível de significância ($p < 0,05$).

5.3 Murinometria

Avaliando o IMC (g/cm^2), verifica-se que os grupos CG e SG apresentaram menor valor quando comparado ao CN, enquanto o SN obteve maior valor comparado ao CG e SG ($p < 0,05$) (Tabela 1).

Tabela 1 - Parâmetros murinométricos da prole, com 60 dias de vida, de ratas tratadas ou não com spirulina durante a lactação e que tiveram o tamanho de ninhada manipulada.

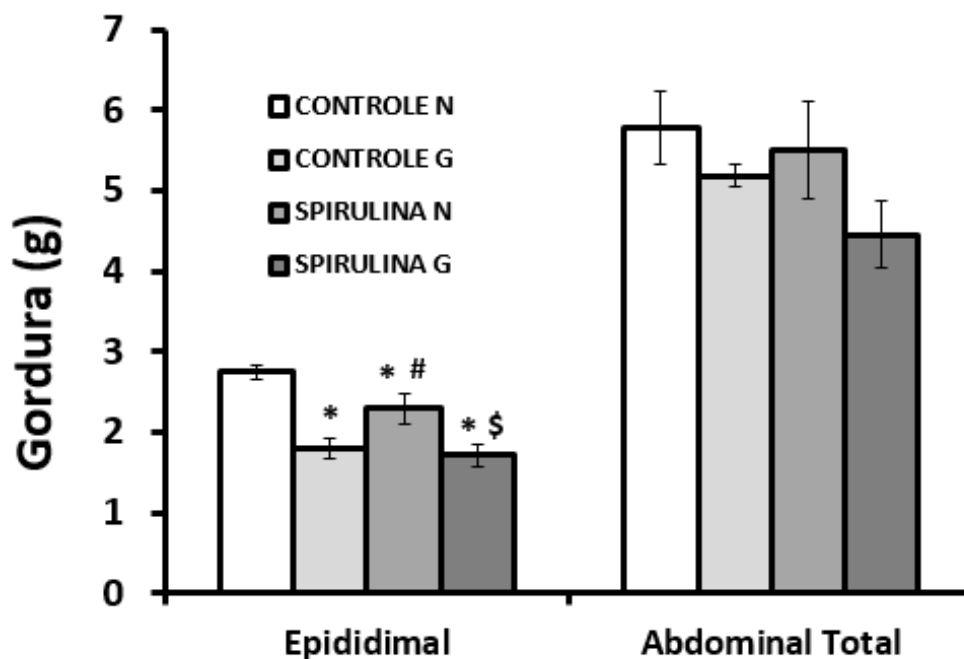
Grupos	Circunferência Torácica (cm)	Circunferência Abdominal (cm)	Comprimento (cm)	IMC (g/cm^2)
CONTROLE N	12,46±0,43	14,83±0,47	18,50±0,36	0,64±0,07
CONTROLE G	12,50±0,11	14,78±0,14	19,69±0,17	0,56±0,01*
SPIRULINA N	12,27±0,40	14,75±0,47	18,71±0,33	0,60±0,01#
SPIRULINA G	12,95±0,28	15,32±0,37	19,41±0,36	0,56±0,06*\$

Dados expressos em média e erro médio padrão. IMC= Índice de Massa Corporal. *versus o grupo CONTROLE N; #versus o grupo CONTROLE G; \$versus o SPIRULINA N Teste estatístico utilizado foi o Anova *One way* seguido de *Tukey* com nível de significância ($p < 0,05$).

5.4 Gordura epididimal e abdominal total

Com relação à gordura epididimal, tanto o CG como os tratados com spirulina apresentaram menores valores, quando comparado ao CN. Além disso, o grupo SN apresentou valor maior que os grupos formados com ninhadas de 12 filhotes (CG e SG) ($p < 0,05$). A gordura abdominal total não apresentou diferença estatística entre os grupos analisados (Figura 8).

Figura 8 – Gordura epididimal e abdominal total (g) dos animais na fase de adolescência, cujas mães receberam suplementação ou não durante a lactação com solução de 8% de spirulina e tiveram o tamanho da ninhada manipulada.

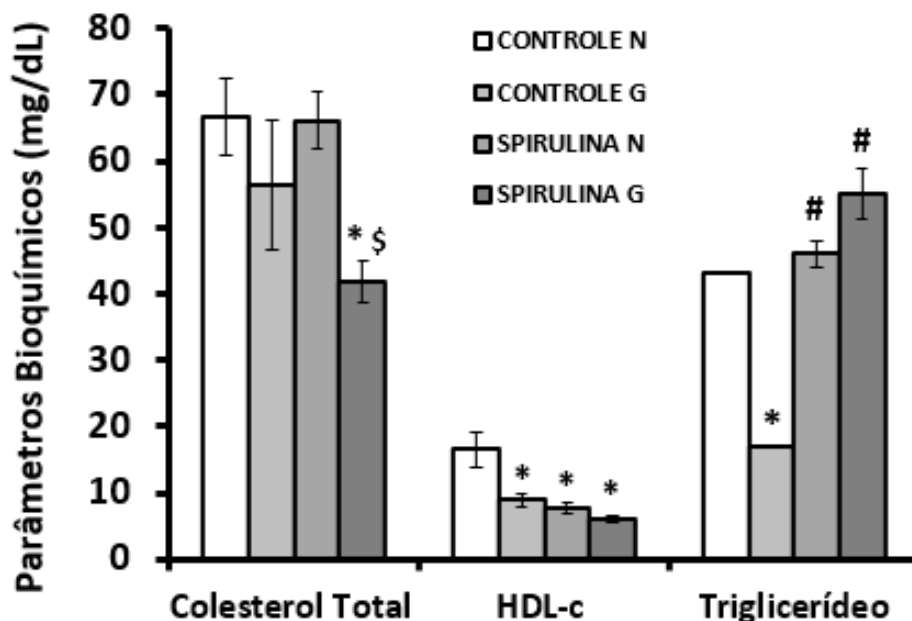


N: ninhada com 6 filhotes; G: ninhada com 12 filhotes. Os valores estão expressos em média \pm erro médio padrão. *versus o grupo CONTROLE N; #versus grupo CONTROLE G; \$versus o grupo SPIRULINA N. Teste estatístico utilizado foi o Anova *One way* seguido de *Tukey* com nível de significância ($p < 0,05$).

5.5 Bioquímica

Avaliando o colesterol total da prole dos animais tratados ou/não com spirulina observou-se que o SG obteve menor valor comparado aos dois grupos com ninhadas de tamanho normal. O colesterol HDL foi menor nos grupos CG, SN e SG quando relacionados ao grupo CN. Os triglicerídeos plasmáticos no grupo CG foi significativamente menor em relação ao grupo CN, enquanto que os grupos SN e SG apresentaram valores maiores do que o grupo CG e equivalentes ao grupo CN ($p < 0,05$).

Figura 9 – Parâmetros bioquímicos da prole, na fase de adolescência, de ratas que tiveram tamanho da ninhada aumentada e que receberam ou não solução de 8% de spirulina durante a lactação.

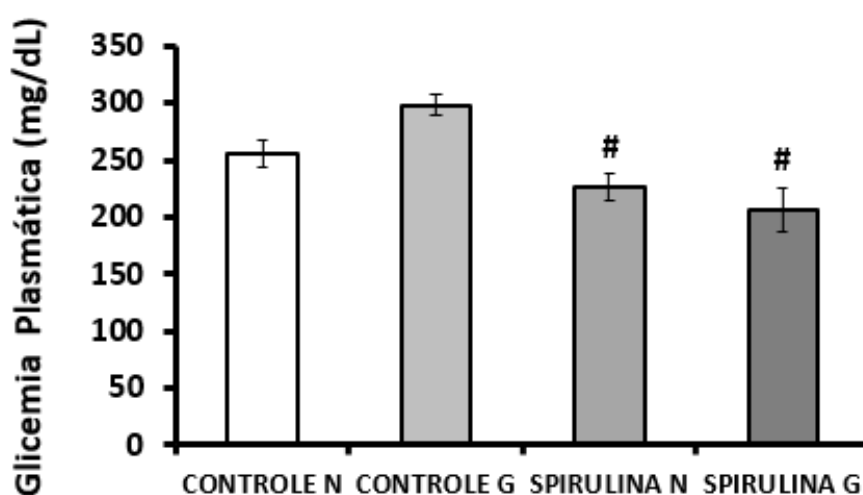


CONTROLE N (ninhada com 6 filhotes de mães que receberam gavagem com água destilada); CONTROLE G (ninhada com 12 filhotes de mães que receberam gavagem com água destilada); SPIRULINA N (ninhada com 6 filhotes de mães suplementadas com spirulina); SPIRULINA G (ninhada grande com 12 filhotes de mães suplementadas com spirulina). n=12 animais para todos os grupos. Os valores estão expressos em média \pm erro médio padrão. HDL (*Hight Density Lipoproteins* – lipoproteínas de alta densidade). *versus o grupo CONTROLE N; #versus grupo CONTROLE G; \$versus o grupo SPIRULINA N. Teste estatístico utilizado foi o Anova *One way* seguido de *Tukey* com nível de significância ($p < 0,05$).

5.6 Glicemia

Analisando os valores da glicemia plasmática, na Figura 10, de ambos os grupos tratados com spirulina observa-se que houve uma diminuição neste parâmetro comparado ao grupo CG ($p < 0,05$).

Figura 10 – Médias da glicemia plasmática de animais, na fase de adolescência, tratados ou não durante a lactação com solução de 8% de spirulina e com tamanho de ninhadas manipuladas.



CONTROLE N (ninhada com 6 filhotes de mães que receberam gavagem com água destilada); CONTROLE G (ninhada com 12 filhotes de mães que receberam gavagem com água destilada); SPIRULINA N (ninhada com 6 filhotes de mães que receberam suplementação de spirulina); CONTROLE G (ninhada grande com 12 filhotes de mães que receberam suplementação de spirulina). Os valores estão expressos em média \pm erro médio padrão; #versus grupo CONTROLE G; Teste estatístico utilizado foi o Anova *One way* seguido de *Tukey* com nível de significância ($p < 0,05$).

6 DISCUSSÃO

Na presente pesquisa o grupo CG (grande ninhada) apresentou menor peso corporal durante as quatro primeiras semanas de avaliação, após o desmame quando comparado ao CN (ninhada padrão). Essa diminuição ocorreu devido à competição de alimento e cuidados maternos, como afirma Oliveira (2012) que encontrou resultado semelhante no seu estudo realizado com *Rattus norvegicus* e observando redução de 30% no peso dos filhotes oriundos das ninhadas grandes (12 filhotes por nutriz).

Outro estudo também verificou menor peso corporal do GD (grupo desnutrido) em relação ao GC (grupo controle). Essa diferença foi aproximadamente três vezes maior na idade de 28 dias, demonstrando acentuação dos efeitos deletérios sobre o crescimento da prole à medida que aumenta o tempo de desnutrição (ALVES; DAMASO; PAI, 2008). O estudo de Silva e Almeida (2006), também, revelou que os animais desnutridos pesaram significativamente menos que os animais-controle até à idade de 91 dias de vida. Souza et al. (2008) encontraram, ao nascer, pesos de filhotes cujas mães receberam dieta com restrição de proteína (8%) durante a gestação e lactação, 15% menor do que os do grupo controle e este crescimento tardio persistiu durante a lactação e após o desmame. Passos et al. (2001) observaram que, tanto os filhotes de ratas RP (dieta com restrição protéica) quanto RE (dieta com restrição energética, com acesso restrito à ração normal) apresentaram peso corporal menor que os controles até 40 dias, resultado semelhante ao encontrado no presente trabalho, no qual o grupo CG apresentou menor peso corporal até 49 dias de vida.

O grupo SG (filhotes de grande ninhada, cujas mães foram suplementadas com spirulina durante todo o período de aleitamento), nas quatro primeiras semanas de avaliação, mesmo submetidos à desnutrição, os filhotes apresentaram peso médio corporal maior quando comparado ao grupo controle CG (filhotes de grande ninhada, cujas mães não receberam suplementação de spirulina durante o período de aleitamento) e na segunda e quarta semanas teve peso corporal maior quando comparado ao grupo SN. Resultado semelhante foi encontrado por Moreira et al. (2013) em seu estudo, no qual, foi avaliado os efeitos da spirulina (*Arthrospira*) como fonte de proteína na recuperação nutricional de ratos submetidos à desnutrição proteica. Os resultados encontrados pelos autores mostraram que a dieta com a concentração de spirulina (8,8%) foi a mais

eficiente na recuperação do estado nutricional dos animais, com resposta superior aos outros tratamentos com concentrações mais elevadas de spirulina.

O resultado de maior peso corporal médio do grupo SG encontrado no presente trabalho corrobora com os resultados encontrados no trabalho de Simpure et al. (2006) no qual foi avaliado o impacto da *Spirulina platensis*, e Misola (milho-60%, soja-20%, amendoim-10%, açúcar-9% e sal-1%), como um integrador elementar, sobre o estado nutricional de crianças desnutridas. Os resultados mostraram que as crianças que receberam Misola mais spirulina alcançaram maiores ganhos em termos de peso do que o Misola ou spirulina sozinho. Os autores explicam que este resultado é claramente devido à maior energia de admissão e a uma maior assunção de proteínas, o que favorece sinergicamente a reabilitação nutricional.

Outro fator que explica o maior peso corporal apresentado pelo grupo SG é o fato de que esse grupo durante a 1ª e 2ª semana de avaliação apresentou o maior consumo de ração dentre os quatro grupos experimentais. Em contrapartida o SN apresentou peso corporal menor, comparado ao grupo CN corroborado pelo menor consumo de ração desse grupo.

O menor consumo de ração apresentado pelo grupo CG, aos 35 dias de vida, pode ser explicado pelo fato desse grupo ter sido submetido à desnutrição por competição de alimentos na fase de amamentação. E como o organismo do animal está adaptado com a ingestão reduzida de alimentos, dessa forma, tende a continuar ingerindo reduzida quantidade de alimento, em curto prazo. No trabalho de Passos et al. (2001) foi observado que após o desmame, os filhotes de mães que receberam dieta com restrição protéica, com livre acesso a dieta com 8% de proteína e isoenergética consumiram menor quantidade de ração até 57 dias, enquanto os filhotes de mães que receberam dieta com restrição energética, com acesso restrito à ração normal normalizaram a ingestão aos 37 dias de idade quando comparados ao grupo controle. Além de que, ratos submetidos à restrição proteica ou calórica durante o início da vida apresentam níveis mais elevados de serotonina cerebral (5-HT), quando comparados a animais bem nutridos e estes níveis persistem através do desenvolvimento. O 5-HT (5-hidroxitriptamina) é um neurotransmissor que possui papel fundamental na regulação do comportamento alimentar e do peso corporal, pois desempenha importante papel no sistema nervoso, com diversas funções, como a liberação de alguns hormônios, regulação do sono, temperatura corporal, humor, atividade motora, funções cognitivas e apetite. Com relação ao apetite, o 5-HT exerce efeitos anoréxicos. Maiores níveis de serotonina diminui a ingestão

energética total, por promoverem maior sensação de saciedade ((RESNICK; MORGANE, 1984; SOUZA et al., 2008; FEIJÓ; BERTOLUCI; REIS, 2011).

O grupo SN também apresentou menor consumo de ração, durante a 1^a, 2^a e 3^a semana de avaliação. Paiva, Alfenas e Bressan (2007) realizaram uma revisão bibliográfica buscando informações que expliquem os efeitos da alta ingestão diária de proteínas no metabolismo, os resultados encontrados por eles mostram que as proteínas possuem efeito sacietógeno devido ao seu maior potencial termogênico, além de que, a alta concentração de aminoácidos na corrente sanguínea observada após a ingestão das proteínas estimula a liberação de hormônios anorexígenos e insulina que agem na saciedade. Essa é uma explicação plausível para o resultado encontrado no presente trabalho, tendo em vista que a spirulina uma boa fonte de proteína (60-70%) (KIM et al., 2010). Outro trabalho, que avaliou o consumo de alimento, também encontrou menor consumo de alimento por parte dos animais, do grupo que foi suplementado com concentração de spirulina correspondente à 8,8% (MOREIRA et al., 2013).

O grupo SG, durante a primeira semana apresentou um consumo de ração maior quando comprado aos grupos CN e SN, durante a segunda semana esse consumo continuou maior quando comparado ao grupo SN e durante terceira semana o consumo desse grupo foi menor quando comparado ao grupo CN. Esse comportamento alimentar também foi encontrado por Lima (2003) no seu trabalho, no qual, os animais do grupo que foram submetidos à desnutrição durante a gestação e lactação através de uma dieta hipoproteica, apresentaram uma maior ingestão de alimentos (60,18%), quando comparado aos animais do grupo controle (43,50%). O autor observou um aumento na ingestão de alimento do grupo DH (dieta hipoprotéica), na segunda semana e em seguida uma diminuição na terceira semana. Esse aumento pode ser explicado, segundo o autor, pelo fato da dieta DH conter apenas 4% de proteínas e essa diminuição proteica pode ter levado o animal a uma maior ingestão na tentativa de compensar a falta destes nutrientes assim como ocorreu no presente trabalho. Com o passar do tempo, possivelmente, o organismo iniciou um processo de adaptação, exigindo com isso, um menor aporte proteico, o que provocou uma menor ingestão de dieta por parte dos animais.

A avaliação antropométrica é um dos parâmetros utilizados para a realização da avaliação nutricional e subsequente diagnóstico nutricional. Trata-se de um método objetivo que envolve a obtenção de medidas físicas como o peso corporal, estatura, espessura das dobras cutâneas, circunferências e diâmetros ósseos (CALIXTO; GONZALEZ, 2013).

Segundo Lacerda, Faria (2002), o baixo conteúdo energético de dietas e a baixa frequência de oferta alimentar, são alguns dos fatores que contribuem para desnutrição energético-protéica em crianças menores de 5 anos de idade. Observações visuais obtidas por comparações entre grupos experimentais (grupo desnutrido e controle) indicam que animais submetidos à desnutrição apresentaram queda de pelos, menor comprimento e quantidade de tecido adiposo reduzida. Essas alterações são compatíveis com a adaptação que o organismo promove para se ajustar às condições nutricionais adversas (AMARAL 2005). Malafaia, Martins e Silva (2009), observaram uma diminuição estatisticamente significativa da massa corpórea dos animais submetidos à deficiência proteica, quando comparada à animais alimentados com dieta controle. E essa diminuição acontece devido à ingestão de dietas deficientes em proteínas sendo esse um fenômeno amplamente relatado na literatura, como afirmam os próprios autores.

Os resultados pertinentes aos parâmetros murinométricos (circunferência abdominal, circunferência torácica e comprimento naso-anal) encontrados no presente estudo não apresentaram diferenças estatísticas, indicando que o tipo de desnutrição adotada no presente trabalho não foi capaz de interferir nesses parâmetros. Tal achado pode ser explicado pelo fato de que as ninhadas, logo após o período de restrição alimentar (durante a lactação), tenham recebido dieta padrão *ad libitum* até o fim do experimento. Malta e Pedrosa-Furlan (2010) também observaram que o grupo que foi submetido à restrição alimentar na lactação por expansão da ninhada para doze filhotes e alimentação livre desde o desmame, diferente do peso corporal apresentou o comprimento naso-anal semelhante ou maior ao grupo controle depois do desmame.

Diferente de nosso estudo, Falcão-Tebas et al, (2012) encontraram valores médios de circunferência abdominal relativa ao peso corporal dos filhotes de mães desnutridas maiores, quando comparados ao controle. Entretanto, Nery et al. (2011) não observaram diferenças estatísticas para os parâmetros de IMC (g/cm^2) e comprimento nasoanal (cm) entre grupos de ninhadas com 4 e 10 filhotes na fase adulto jovem.

Lima (2003) no seu estudo encontrou uma discrepância nos valores referentes à estatura dos animais tanto ao nascimento quanto na sua fase adulta. Analisando o comprimento, aferido no primeiro dia de vida, viu que os filhotes oriundos dos animais do grupo de mães que receberam dieta hipoprotéica durante gestação e lactação nasceram com menor comprimento.

Os resultados do parâmetro estatura diferentes aos encontrados no nosso trabalho para a fase de adulto jovem, pode ser explicado pelo fato que o tipo de desnutrição que

filhotes foram submetidos no estudo de Lima (2003), foi iniciado na mãe com dieta hipoproteica contendo 4% de proteína, no período de gestação e lactação enquanto que no nosso o tipo de desnutrição foi por competição de alimentos devido ao aumento do tamanho da ninhada durante o período de lactação. A competição de alimentos durante a lactação induzida em nosso estudo, não foi capaz de interferir no comprimento nem na circunferência abdominal e circunferência torácica na fase de adolescência. Que pode ser explicado pelo tempo de injúria que foi menor no trabalho por nós realizado.

O menor IMC apresentado pelos dois grupos de ninhadas formadas por 12 filhotes (CG e SG) pode ser explicado pela ocorrência do menor peso corporal apresentado pelos dois grupos do desmame até os 49 dias de vida.

Observamos que ao final do experimento, a gordura epididimal foi reduzida em todos os grupos experimentais em relação ao controle. Nos grupos de grandes ninhadas, os depósitos de desse tipo de gordura apresentaram-se menores em relação aos grupos formados por ninhada padrão resultado semelhante foi verificado por estudo utilizando também grandes ninhadas (Malta e Pedrosa-Furlan 2010). Em um estudo comparativo de dietas com diferentes conteúdos de proteínas, foram verificadas modificações favoráveis na composição corporal, expressa pela diminuição do teor da gordura e aumento da massa magra ao utilizar dietas com proteínas de alto valor biológico; partes dessas alterações foram atribuídas ao aumento da disponibilidade de aminoácidos de cadeia curta (LAYMAN et al., 2003; WYSZYNSKI et al., 2003).

Em relação à gordura total não houve diferença entre os quatro grupos. Sabendo que crianças que consomem dietas muito inferiores às necessidades mobilizam energia a partir de tecido adiposo e muscular estimulando a gliconeogênese hepática, como consequência há uma redução de massa adiposa subcutânea e uma emaciação muscular (LACERDA; FARIA, 2002), fazendo mais uma vez acreditar que a restrição alimentar no período de lactação tenha sido controlada pela dieta *ad libitum* ofertada logo após o período de restrição alimentar, tendo em vista que a composição de gordura abdominal total não diferiam entre os quatro grupos experimentais, indicando não ter havido mobilização do tecido adiposo para produção de energia.

No que diz respeito às frações de colesterol HDL e LDL, Donato et al, (2010) observaram que os grupos alimentados com *Spirulina platensis* apresentaram concentrações inferiores destes componentes, efeito também encontrado em nosso trabalho, no qual observamos que os grupos tratados com spirulina apresentaram concentrações de colesterol HDL inferiores ao grupo controle (CN), o grupo CG também

comportou-se dessa forma. Na pesquisa de Nagaoka et al, (2005), as concentrações de colesterol total foram inferiores no grupo que consumiu spirulina em relação ao grupo controle, bem como na pesquisa de Donato et al, (2010) na qual o valor de colesterol total nos grupos tratados com spirulina apresentaram-se inferiores estatisticamente. Este resultado foi semelhante ao da presente pesquisa, na qual o grupo tratado com spirulina cuja ninhada foi aumentada obteve menor valor comparado aos dois grupos com ninhadas de tamanho normal, embora a manipulação dos animais utilizados no estudo supracitado tenha ocorrido no período pós desmame.

Os teores de triglicérides dos grupos tratados com spirulina foram semelhantes ao do grupo controle e superiores ao grupo CG. Esses dados demonstram que a suplementação do grupo SG foi eficiente em reverter essa diminuição no grupo desnutrido. Este resultado é corroborado pelos resultados encontrados por Almeida et al. (2013) que em pesquisa semelhante à nossa, avaliando os efeitos da spirulina como fonte de proteína na recuperação nutricional de ratos submetidos à desnutrição proteica, observaram que os grupos tratados com 8,8%, 17,6% e 26,4% de spirulina apresentaram concentração de triglicéride equivalente ao grupo controle.

Os menores valores de glicemia apresentado pelos grupos tratados com spirulina mostra que a produção e liberação de insulina ocorrem de maneira mais efetiva nestes grupos quando comparado aos grupos que não receberam suplementação de spirulina. Esse resultado vem corroborar com a hipótese de que o acréscimo do nível de aminoácidos plasmáticos estimula a secreção de insulina e, em associação com a glicose, mostra um efeito sinérgico, resultando na diminuição ou manutenção dos níveis sanguíneos de glicose (PAIVA; ALFENAS; BRESSAN, 2007). Em outro estudo a glicemia e a colesterolemia dos filhotes na idade adulta que foram submetidos à desnutrição perinatal foram maiores em comparação ao grupo controle (FALCÃO-TEBAS et al., 2012).

7 CONCLUSÃO

A suplementação com spirulina em lactantes com filhotes submetidos à restrição alimentar por competição de alimentos foi eficiente em reverter na adolescência danos no peso corporal. Além disso, esses animais apresentaram diminuição de colesterol total e glicemia e nenhuma alteração nos triglicerídeos plasmáticos.

E apesar de ter reduzido o HDL colesterol, a gordura abdominal no foi aumentada, o que diminui os riscos do aparecimento de doenças cardiovasculares nesses animais.

Desta forma, os achados encontrados neste estudo poderão ser utilizados para auxiliar profissionais que buscam alimentos acessíveis e presentes no mercado com o objetivo de reverter ou controlar os danos causados por uma subnutrição ou desnutrição durante a fase inicial da vida. E a *Spirulina platensis* baseado nos dados aqui obtidos, mostrou-se uma excelente alternativa para lactantes que se enquadram nessas condições.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. **Resolução nº 18, 30 de abril de 1999**. Regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para avaliação de risco e segurança dos alimentos. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/815ada0047458a7293e3d73fbc4c6735/RESOLUCAO_18_1999.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 30 nov. 2015.

AKAO, Y.; EBIHARA, T.; MASUDA, H.; SAEKI, Y.; AKAZAWA, T.; HAZEKI, K.; HAZEKI, O.; MATSUMOTO, M.; SEYA, T. Enhancement of antitumor natural killer cell activation by orally administered spirulina extract in mice. **Cancer Science**. v.100, n.8, p. 1494–1501, 2009.

ALMEIDA, M.A; SALGADO, J.M. **Mercado de Alimentos Funcionais Desafios e Tendências. Clínica de Nutrição**. Disponível em:<<http://www.clinicadenutricao.com.br/nutricaoesaudefinal.php?id=907>>. Acesso em: 01 dez. 2015.

ALVES, A. P.; DAMASO, A. R.; PAI, V. D. The effects of prenatal and postnatal malnutrition on the morphology, differentiation, and metabolism of skeletal striated muscle tissue in rats. **Jornal de Pediatria**. Rio de Janeiro. 2008; v.84, n.3, p. 264-271.

AMARAL, D. A. **Avaliação bioquímica, nutricional e cardiopulmonar de ratos recuperados de uma desnutrição protéica**. 2005. 74 f. Dissertação (Mestrado) - Ciências Exatas e Biológicas. Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas. Área de concentração: Bioquímica estrutural e fisiológica, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2005.

AMBROSI. M. A.; REINEHR. C. O.; BERTOLIN. T. E.; COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M. Propriedades de saúde da microalga Spirulina. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v. 29, n.2, p. 115-123, 2008.

ANDREOLLO, N. A.; SANTOS, E. F.; ARAÚJO, M. R.; LOPES, L. R. Idade dos ratos versus idade humana: qual é a relação?. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**. v. 25, n. 1, p. 49-51, 2012.

ANJO, D. F. C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **Jornal Vascular Brasileiro**. v. 3, n. 2, p.145-54, 2004.

BABADZHANOV, A. S.; ABDUSAMATOVA, N.; YUSUPOVA, F. M.; FAIZULLAEVA, N.; MEZHLUMYAN, L. G.; MALIKOVA, M. K. H. Chemical composition of *Spirulina platensis* cultivated in Uzbekistan. **Chemistry of Natural Compounds**. v. 40, n. 3, p. 276-279, 2004.

BARROS, K. K. S. **Produção de biomassa *Arthrospira platensis* (*Spirulina platensis*) para alimentação humana**. 2010. 112f Dissertação (Mestrado) - Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal da Paraíba, 2010.

BARROS, K. M. F. T.; MANHAES-DE-CASTRO, R.; LOPES-DE-SOUZA, S.; MATOS, R. J. B.; DEIRO, T. C. B. J.; CABRAL-FILHO, J. E.; CANON, F. A regional model (Northeastern Brazil) of induced mal-nutrition delays ontogeny of reflexes and locomotor activity in rats. **Nutritional Neuroscience**. v. 9, n. 1-2, p. 99-104, 2006.

BATESON, P.; BARKER, D.; CLUTTON-BROCK, T.; DEB, D.; D'UDINE, B.; FOLEY, R.; GLUCKMAN, P.; GODFREY, K.; KIRKWOOD, T.; LAHR, M.; MCNAMARA, J.; METCALFE, N.; MONAGHAN, P.; SPENCER, H.; SULTAN, S. E. **Developmental plasticity and human health**. **Nature**. v. 6998, n. 430, p. 419-21, 2004.

BELAY, A. The potential application of *Spirulina* (*Arthrospira*) as a nutritional and therapeutic supplement in health management. **The Journal of the American Nutraceutical Association**. vol. 5, n. 2, 27-48, 2002.

BELAY, A.; OTA, Y.; MIYAKAWA, K.; SHIMAMATSU, H. Current knowledge on potential health benefits of *Spirulina*. **Journal of Applied Phycology**. v. 5, n. 2, p. 235-41, 1993.

BERTOLIN, T. E.; PILATTI, D.; GIACOMINI, A. C. V. V.; BAVARESCO, C. S.; COLLA, L. M.; COSTA, J. A. V. Effect of Microalga *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*) on Hippocampus Lipoperoxidation and Lipid Profile in Rats with Induced Hypercholesterolemia. **Brazilian Archives of Biology and Technology Journal Impact Factor & Information**. v. 52 n. 5; p. 1253-1259, 2009.

BLACK, R. E.; ALLEN, L. H.; BHUTTA, Z. A.; CAULFIELD, L. E.; ONIS, M.; EZZATI, M.; MATHERS, C.; RIVERA, J. Maternal and child undernutrition - Maternal and child undernutrition: global and regional exposures and health consequences: global and regional exposures and health consequences. **The Lancet**. London. v. 371, n. 9608, p. 243-60, 2008.

BURJA, A. M.; BANAIGS, B.; ABOU-MANSOUR, E.; GRANT BURGESS, J. WRITGHT, P. C. Marine cianobactérias-aprofilicsource of natural products. **Tetrahedron**. v. 57, n. 46, p. 9347-9377, 2001.

CALIXTO-LIMA, L.; GONZALEZ, M. C. **Nutrição Clínica no dia a dia**. Rio de Janeiro: Rubio, 204 p. 2013.

CALIXTO-LIMA, L.; REIS, N. T. **Interpretação de exames laboratoriais plicadas à nutrição clínica**. Rio de Janeiro: Editora Rubia, 2012.

CARDOZO, L. F. M. F.; SOARES, L. L.; CHAGAS, M. A.; BOAVENTURA, G. T. Maternal consumption of flaxseed during lactation affects weight and emoglobin level of offspring in rats. **Jornal de Pediatria**. Rio de Janeiro. v. 86, n. 2, p.126-130, 2010.

CHRONAKIS, I. S. Gelation of edible blue-green alga protein isolate (*Spirulina platensis* strain pacifica): thermal transitions, rheological properties, and molecular forces involved. **Journal Agricultural and Food Chemistry**. v. 49, n. 2, p. 888-898, 2001.

CIFERRI, O. Spirulina, the Edible Microorganism. **Microbiological Reviews**. v. 47, n. 4, p. 551-578, 1983.

CINTI, S. The adipose organ. **Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids**. v. 73, n. 1, p. 9-15, 2005.

COLLA, L. M. **Influência das condições de crescimento sobre o potencial antioxidantes da microalga *S. platensis* e seu potencial na redução da hipercolesterolemia**. 2002. 128p. Dissertação (Mestrado) Engenharia e Ciência de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande. 2002.

CONTI, R.; GUIMARAES, D. O.; PUPO, M. T. Aprendendo com as interações da natureza: microrganismos simbiotes como fontes de produtos naturais bioativos. **Ciência e Cultura**. v. 64, n.3, p. 43-47, 2012.

COUTO, S. E. R. Instalações e Barreiras Sanitárias. In: ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. **Animais de Laboratório: criação e experimentação**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz. 2002, 388 p.

COZZA, K.L.; COSTA, J.A.V. Lipídios em Spirulina. **Vetor, Revista de Ciências Exatas e Engenharias**. v. 10, n. 1, p. 69-80, 2000.

DERNER, R. B.; OHSE, S.; VILLELA, M.; CARVALHO, S. M. de; FETT, R. Microalgas, produtos e aplicações. **Ciência Rural**. v. 36, n. 6, p. 1959 – 1967, 2006.

DONATO, N. R.; SILVA, J. A.; COSTA, M. J. C.; BARBOSA, M. Q.; BION, F. M.; CARVALHO FILHO, E. V.; VERAS, R. C.; MEDEIROS, I. A. Uso da *Spirulina platensis* na recuperação de ratos submetidos à dieta de restrição proteica.

Revista do Instituto Adolfo Lutz. São Paulo, v. 69, n. 1, p. 69-77, 2010.

DUNLOP, J. S. R.; MUIR, M.D.; MILNE, V. A.; GROVES, D. I. A new microfossil assemblage from the Archaean of Western Australia. **Nature.** v. 274, p. 676–678, 1978.

FALCÃO-TEBAS, F.; TOBIAS, A. T.; BENTO-SANTOS, A.; SANTOS, J. A.; VASCONCELOS, D. A. A.; FIDALGO, M. A.; MANHÃES-DE-CASTRO, R.; LEANDRO, C. G. Efeitos do treinamento físico durante a gestação sobre a evolução ponderal, glicemia e colesterolemia de ratos adultos submetidos à desnutrição perinatal. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte.** v. 18, n. 1, 2012.

FEIJÓ, F. M.; BERTOLUCI, M. C.; REIS, C. Serotonina e controle hipotalâmico da fome: uma revisão. **Revista da Associação Médica Brasileira.** v. 57, n. 1, p. 74-77, 2011.

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO. Secretaria dos Direitos da Pessoa com Deficiência. Reabilitação Baseada na Comunidade - Diretrizes RBC. São Paulo. **Organização Mundial da Saúde,** 2010.

GUARIENTI, C.; BERTOLIN, T. E.; COSTA, J. A. V. Capacidade antioxidante da microalga *Spirulina platensis* em células da levedura *Saccharomyces cerevisiae* submetidas ao estressor paraquat. **Revista do Instituto Adolfo Lutz.** São Paulo. v. 69, n. 1, p 107, 2010.

HABIB, M. A. B.; PARVIN, M.; HUNTINGTON, T. C.; HASAN, M. R. A Review on Culture, Production and use of *Spirulina* as Food for Humans and feeds for Domestic Animals and Fish. **FAO Fisheries and Aquaculture Circular.** n. 1034, 33p, 2008.

HASLER C. M. Functional Foods: Their role in disease prevention and health promotion. **Food Technology.** v. 52, n. 11, p. 63-70, 1998.

KIM, M. Y.; CHEONG, S. H.; LEE, J. H.; KIM, M.J.; SOK, D.; KIM, M. R. *Spirulina* Improves Antioxidant Status by Reducing Oxidative Stress in Rabbits Fed a High-Cholesterol Diet. **Journal of Medicinal Food.** v. 13, n. 2, p. 420–426, 2010.

LACERDA, E. M. A.; FARIA, I. G. Desnutrição Energético-Protéica na Infância. In: ACCIOLY, E.; SAUNDERS, C.; LACERDA, E. M. A. Nutrição em obstretrícia e pediatria. 1ª ed. Rio de Janeiro/RJ: **Cultura Médica**. 444p, 2002.

LAYMAN, D. K.; BOILEAU, R. A.; ERICKSON, D. J.; PAINTER, J. E.; SHIUE, H.; SATHER, C.; CHRISTOU, D. D. A Reduced Ratio of Dietary Carbohydrate to Protein Improves Body Composition and Blood Lipid Profiles during Weight Loss in Adult Women. **Journal of Nutrition**. v. 133, n. 2, p. 411-7, 2003.

LIMA, H. C. S. M. **Efeitos da dieta hipoprotéica na formação e composição de estruturas dentárias. Estudo experimental em ratos Wistar**. 2003. 89f. Dissertação (Mestrado) - Universidade do Rio Grande do Norte. centro de Biociências. Departamento de Bioquímica, Natal/RN, 2003.

LIRA, M. C. A. **Dieta hipocalórica durante a gestação e /ou lactação: repercunssões murinométricas e o perfil bioquímico de ratos**. 2012. 62 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Programa de Pós-Graduação e Nutrição do Centro de Ciências da Saúde, Recife/PE, 2012.

MALAFAIA, G.; MARTINS, R. F.; SILVA, M. E. Avaliação dos efeitos, em curto prazo, da deficiência protéica nos parâmetros físicos e bioquímicos de camundongos swiss. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**. Campo Mourão. v. 4, n.2, p.21-33, 2009.

MALTA, A.; PEDROSA-FURLAN, M. M. Desenvolvimento corporal e adiposidade de ratos Wistar submetidos a diferentes regimes alimentares. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**. Umuarama, v. 14, n. 1, p. 55-61, 2010.

MATSUDO, M. C. **Cultivo de *Spirulina platensis* por processo descontínuo alimentado repetitivo utilizando uréia como fonte de nitrogênio**. 2006. 103f. Dissertação (Mestrado) - Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica – Área de Tecnologia de Fermentações, Universidade de São Paulo – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Pulo, 2006.

MIRANDOLA, D. A. **Resistência à insulina durante a gestação e lactação de ratas Wistar: influências sobre o metabolismo de glicose e da insulina na prole adulta**. Tese (Doutorado em Ciências – Área de Concentração: Nefrologia) Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

MORAN, N. A. Symbiosis, **Current Biology**, v. 16, n. 20, p. 866–871, 2006.

MOREIRA, L. M.; BEHLING, B. S.; RODRIGUES, R. S.; COSTA, J. A. V.; SOARES, L. A. S. Spirulina as a protein source in the nutritional recovery of Wistar rats. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v. 56, n. 3: p. 447-456, 2013.

MORGANE, P. J.; AUSTIN-LAFRANCE, R.; BRONZINO, J.; TONKISS J.; DÍAZ-CINTRA, S.; CINTRA, L.; KEMPER, T.; GALLER, J. Prenatal malnutrition and development of the brain. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**. v. 17, n. 1, p. 91-128, 1993.

NAGAOKA, S.; SHIMIZU, K.; KANEKO, H.; SHIBAYAMA, F.; MORIKAWA, K.; KANAMARU, Y.; OTSUKA, A.; HIRAHASHI, T.; KATO, T. A Novel Protein C-Phycocyanin Plays a Crucial Role in the Hypocholesterolemic Action of *Spirulina platensis* Concentrate in Rats. **Journal of Nutrition**. v. 135, n. 10, p. 2425-30, 2005.

NERY, C. S.; NASCIMENTO, E. **Efeitos da natação crônica sobre o depósito de gordura epididimal e a imunocompetência em ratos jovens provenientes de pequenas e grandes ninhadas durante o aleitamento**. I Congresso de Iniciação em Desenvolvimento Tecnológico e Inovação/XVII Congresso de Iniciação Científica, UFPE, 2009.

NERY, C. S.; PINHEIRO, I. L.; MUNIZ, G. S.; VASCONCELOS, D. A. A.; FRANCA, S. P.; NASCIMENTO, E. Murinometric evaluations and feed efficiency in rats from reduced litter during lactation and submitted or not to swimming exercise. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**. v. 17, n. 1, p. 49-55, 2011.

NOVELLI, E. L. B.; FERNANDES, A.; GALHARDI, M. C.; CICOGNA, A. C.; DINIZ, Y.; RODRIGUES, G. H. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. **Laboratory Animals**, v.41, p.111-119, 2007.

OLIVEIRA, C. A.; CAMPOS, A. A. O.; RIBEIRO, S. M. R.; OLIVEIRA, W. C.; NASCIMENTO, A. G. Potencial nutricional, funcional e terapêutico da cianobactéria spirulina. **Revista da Associação Brasileira de Nutrição**. São Paulo/SP, ano 5, n. 1, p. 52-59, 2013.

OLIVEIRA, M. A. **Influência do tamanho da ninhada sobre o declínio cognitivo e a morfologia microglial da camada molecular do giro denteado em *Rattus norvegicus***. 2012. 59 p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Neurociências, Universidade Federal do Pará, Belém-Pará, 2012.

OLIVEIRA, M. N.; SIVIERI, K.; ALEGRO, J. H. A.; SAAD, S. M. I. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 38, n. 1, 2002.

ONUSIDA/OMS: Le point de l'épidémie de SIDA. 2000.

PAIVA, A. C.; ALFENAS, R. C. G.; BRESSAN, J. Efeitos da alta ingestão diária de proteínas no metabolismo. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**. v. 22, n. 1, p. 83-8, 2007.

PASSOS, M. C. F.; RAMOS, C. F.; TEIXEIRA, C. V.; MOURA, E. G. Comportamento Alimentar de Ratos Adultos Submetidos à Restrição Protéica cujas Mães Sofreram Desnutrição Durante a Lactação. **Revista de Nutrição. Rio de Janeiro**. v. 14, p. 7-11, 2001.

PHANG, S. M.; MIAH, M. S.; CHUU, W. L.; HASHIM, M. Spirulina culture in digested starch factory waste water. **Journal of Applied Phycology**. v. 12, n. 5, p. 395-400, 2000.

PLAGEMANN, A.; HARDER, T.; BRUNN, M.; HARDER, A.; ROEPKE, K.; WITTROCK-STAAAR, M.; ZISKA, T.; SCHELLONG, K.; RODEKAMP, E.; MELCHIOR, K.; W. DUDENHAUSEN, J. W. Hypothalamic proopiomelanocortin promoter methylation becomes altered by early overfeeding: an epigenetic model of obesity and the metabolic syndrome. **The Journal of Physiology**. v. 587, n. 20, p. 4963–4976, 2009.

RAUD, C. Os alimentos funcionais: a nova fronteira da indústria alimentar análise das estratégias da danone e da nestlé no mercado Brasileiro de iogurtes. **Revista de Sociologia e Política**. Curitiba, v. 16, n. 31, p. 85-100, 2008.

RESNICK, O.; MORGANE, P. J.. Ontogeny of the Levels of Serotonin in Various Parts of the Brain in Severely Protein Malnourished Rats. **Brain Research**. v. 303, n. 1, p. 163-70, 1984.

RICHMOND, A. E; SOEDER, C. J. Microalgae. **Critical Reviews in Biotechnology**. v. 4, n. 4, p. 349–438, 1986.

ROCHA-DE-MELO, A. P.; GUEDES, R. C. A. Spreading depression is facilitated in adult rats previously submitted to short episodes of malnutrition during the lactation period. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v. 30, n. 5, p. 663-669, 1997.

ROCHA-DE-MELO, A. P.; CAVALCANTI, J. B.; BARROS, A. S.; GUEDES, R. C. A. Manipulation of rat litter size during suckling influences cortical spreading depression after weaning and at adulthood. **Nutritional Neuroscience**. v. 9, n. 3-4, p. 155–160, 2006.

SANDERS, M. E. Overview of functional foods: emphasis on probiotic bacteria. *International Dairy Journal*. **Amsterdam**. v.8, p.341- 347, 1998.

SILVA, V. C.; ALMEIDA, S. S. Desnutrição protéica no início da vida prejudica memória social em ratos adultos. **Revista de Nutrição**. Campinas, v. 19, n. 2, p. 195-201, 2006.

SIMPORE, J.; KABORE, F.; ZONGO, F.; DANSOU, D.; BERE, A.; PIGNATELLI, S.; BIONDI, D. M.; RUBERTO, G.; MUSUMECI, S. Nutrition rehabilitation of undernourished children utilizing *Spirulina* and Misola. **Nutrition Journal**. v. 3, n. 3, 2006.

SOUZA, S. L.; OROZCO-SOLIS, R.; GRIT, I.; CASTRO, R. M.; BOLAÑOS-JIMÉNEZ, F. Perinatal protein restriction reduces the inhibitory action of serotonin on food intake. **European Journal of Neuroscience**. v. 27, p. 1400-8, 2008.

STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, T. T.; GOMES, R. C.; AMARAI, M. P. H.; CARVALHO, A. F.; VILELA, M. A. P. Políticas de saúde e alegações de propriedades funcionais e de saúde para alimentos no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 43, n. 2, 2007.

TOMASELLI, L.; GIOVANNETTI, L.; TORZILLO, G. Physiology of stress response in *Spirulina* spp. In: DOUMENGE, F.; DURAND- CHASTEL, H.; TOULEMONT, A. *Spirulina* Algae de Vie. **Bulletin de L'Institut Océanographique**. Monaco. v. 12, p. 65-75, 1993.

VÁZQUEZ-SÁNCHEZ, J.; RAMÓN-GALLEGOS, E.; MOJICA-VILLEGAS, A.; MADRIGAL-BUJADAR, E.; PÉREZ-PASTÉN-BORJA, R.; CHAMORRO-CEVALLOS, G. *Spirulina maxima* and its protein extract protect against hydroxyurea-teratogenic insult in mice. **Food and Chemical Toxicology**. v. 47, p. 2785–2789, 2009.

VON DER WEID, D.; DILLON, J. C.; FALQUET, J. **Malnutrition: a silent massacre**. Geneve. 1ª Edição. Geneve. Antenna Technology. p.13. 2000.

VONSHAK, A. (Ed.), *Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, cell-biology and biotechnology*. Taylor and Francis, London, p. 131–158. 1997.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. The world health report: childhood and maternal undernutrition. 2002. Disponível em: <<http://whqlibdoc.who.int/publications/2002/9241562072.pdf>>. Acesso em 16 de junho de 2015.

WURTMAN, J. J.; MILLER, S. A. Effect of litter size on weight gain in rats. **Journal of Nutrition**. v. 106, n. 5, p. 697-701, 1976.

WYSZYNSKI, D. F; PERMAN, M.; CRIVELLI, A. Prevalence of Hospital Malnutrition in Argentina: Preliminary Results of a Population-Based Study. **Nutrition**. v. 19, p. 115–9, 2003.

YADA, E.; NAGATA, H.; NOGUCHI, Y.; KODERA, Y.; NISHIMURA, H.; INADA, Y.; MATSUSHIMA, A. An arginine specific protease from *Spirulina platensis*. **Marine Biotechnology**. v. 7, n. 5, p. 474- 480, 2005.

Anexo A - Protocolo experimental aprovado pelo Comitê de Ética



Universidade Federal de Campina Grande
Centro de Saúde e Tecnologia Rural
Comissão de Ética em Pesquisa
Av. Sta Cecilia, s/n, Bairro Jatobá, Rodovia Patos,
CEP: 58700-970, Cx postal 64, Tel. (83) 3511-3045



A: Sra. Prof^a. Dra. Juliana Késsia Barbosa Soares (Coordenadora)

Protocolo CEP nº241-2015

CERTIDÃO

ASSUNTO: Solicitação de aprovação do projeto de pesquisa intitulado "Efeitos da spirulina sobre parâmetros físicos, comportamentais e bioquímicos em ratos tratados durante a fase inicial da vida".

Certificamos a V.Sa. que seu projeto teve parecer consubstanciado orientado pelo regulamento interno deste comitê e foi Aprovado, em reunião Ordinária nº 02/2014, em 16 de Julho de 2014, estando à luz das normas e regulamentos vigentes no país atendidas as especificações para a pesquisa científica.

Patos, 14 de julho de 2015.

Maria de Fátima de Araujo Lucena

Coordenadora do CEP