

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

IOHRANA BRAZ DO NASCIMENTO

SUPLEMENTAÇÃO COM SPIRULINA (*Arthrospira platensis*)
EM RATAS LACTANTES E MANIPULAÇÃO DO
TAMANHO DA NINHADA : uma avaliação da maturação
reflexa e somática da prole

Cuité/PB

2015

IOHRANA BRAZ DO NASCIMENTO

**SUPLEMENTAÇÃO COM SPIRULINA (*Arthrospira platensis*) EM RATAS
LACTANTES E MANIPULAÇÃO DO TAMANHO DA NINHADA : uma avaliação
da maturação reflexa e somática da prole**

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

Orientador (a): Dr. Juliana Késsia Barbosa Soares

Co-orientador (a): Marília Ferreira Frazão Tavares de Melo

Cuité/PB

2015

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

N244s Nascimento, Iohrana Braz do.

Suplementação com Spirulina (*Arthrospira platensis*) em ratas lactantes e manipulação do tamanho da ninhada: uma avaliação da maturação reflexa e somática da prole. / Iohrana Braz do Nascimento. – Cuité: CES, 2015.

53 fl.

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

Orientadora: Juliana Késsia Barbosa Soares.

Coorientadora: Marília Ferreira Frazão Tavares de Melo.

1. Suplementação. 2. Spirulina (*Arthrospira platensis*). 3. Neurodesenvolvimento. I. Título.

CDU 615.874.2

IOHRANA BRAZ DO NASCIMENTO

SUPLEMENTAÇÃO COM SPIRULINA (*Arthrospira platensis*) EM RATAS
LACTANTES E MANIPULAÇÃO DO TAMANHO DA NINHADA : uma avaliação da
maturação reflexa e somática da prole

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

Aprovado em _____ de _____ de _____.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr. Juliana Késsia Barbosa Soares
Orientadora (Curso de Bacharelado em Nutrição - UAS/CES/UFCG)

Mestranda Mikaelle Albuquerque De Souza
Examinadora (Programa de Pós Graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos -
UFPB)

Mestranda Michelly Pires Queiroz
Examinadora (Programa de Pós Graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos -
UFPB)

Cuité/PB

2015

**Dedico este trabalho a minha mãe,
Claudione, meus avós maternos, Ione e Claudionor,
e a minha irmã Larissa, sem vocês nada disso seria
possível. Obrigada pelo apoio, carinho, amor,
compreensão e incentivo. Essa vitória não é só
minha, é nossa!**

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me possibilitado está firme, durante toda essa trajetória, caminho esse que irá me levar à realização dos meus sonhos.

A minha mãe e aos meus avós maternos que, com muito afeto e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida.

A toda a minha família, que é a melhor família do mundo! Minhas primas, primos, irmãs, pai, sobrinhos, tios, em especial minha tia Ildezia Braz, por me acompanhar mais de perto, obrigado por todo apoio, todo carinho, todo amor que vocês sempre me deram, pelas palavras de incentivo e por sempre acreditarem em mim. Amo muito vocês.

Aos meus amigos, Ana Cristina, Claudiana Nunes, Erick Bernard, Jonathan Figueredo e Izabela Cristina, companheiros de trabalho e irmãos na amizade que fizeram parte da minha formação e que vão continuar presentes em minha vida.

A minha orientadora, Juliana Késsia, por todo apoio, paciência, confiança e pelo empenho dedicado à elaboração deste trabalho.

As minhas colegas de pesquisa, Cristiane Cosmo e Rita de Cássia, que compartilharam alegrias, angústias, conhecimentos, ideias, nas infinitas manhãs, tardes e noites no Lanex e Labrom. Foi uma convivência maravilhosa e enriquecedora.

Ao auxiliar do Lanex, Jaciel, por todo apoio, incentivo, por sempre está presente durante toda a pesquisa e que fez o possível e o impossível para nos ajudar nos momentos mais difíceis da pesquisa, ele se tornou um grande amigo, que levarei para toda a vida.

A todos os professores do curso de Nutrição, por me proporcionar o conhecimento.

A Klailda e a todos da Biblioteca pela dedicação, presteza e principalmente pela vontade de ajudar.

A banca, pelas considerações que tanto engrandece o meu trabalho.

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

A equipe do laboratório de Nutrição Experimental da Universidade Federal de Campina Grande, campus - Cuité, pela colaboração no decorrer desta pesquisa.

E a todos que, de maneira direta ou indireta, contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho, meu muito obrigado.

Descobri como é bom chegar quando se tem paciência. E para se chegar, onde quer que seja, aprendi que não é preciso dominar a força, mas a razão. É preciso antes de qualquer coisa, querer.

(Amyr Klink)

RESUMO

NASCIMENTO, I. B. do. **Suplementação com Spirulina (*Arthrospira platensis*) em ratas lactantes e manipulação do tamanho da ninhada : uma avaliação da maturação reflexa e somática da prole.** 2015. 53 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) - Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, 2015.

A insuficiência protéica na nutrição humana é um dos problemas dos países subdesenvolvidos, por isso, faz-se necessário aumentar e diversificar as fontes de proteínas e desenvolver novas fontes convencionais. Nesse sentido a spirulina apresenta-se como alternativa no aporte desses nutrientes. Mesmo sendo o uso da spirulina amplamente relatado na alimentação humana, ainda existe uma lacuna científica a respeito do uso dessa microalga pelas mulheres no período gestacional. Objetivou-se com esta pesquisa avaliar os efeitos dietéticos da suplementação de spirulina em ratos com ninhadas manipuladas durante a lactação sobre a maturação reflexa, somática e parâmetros físicos da prole. Utilizou-se ratas primíparas, da linhagem *Wistar*, com idade de 90 dias e peso de 250 ± 50 g para obtenção dos ratos lactentes. Durante a lactação (21 dias), os grupos experimentais receberam suplementação com solução de 8% de spirulina e os grupos controle água destilada por meio de gavagem. Todos os grupos receberam as soluções na proporção de 2ml/100 g do peso do animal. Os animais utilizados receberam dieta padrão e água *ad libitum*. Foram formados dois grupos controle: CON N (formado por ninhadas de 6 filhotes); CON G (formado por ninhadas de 12 filhotes); SPI N (formado por ninhadas de 6 filhotes) e SPI G (formado por ninhadas de 12 filhotes). Para a avaliação do desenvolvimento dos neonatos observou-se os seguintes reflexos: Desaparecimento da Preensão Palmar (DPP), Recuperação Postural de Decúbito (RD), Aversão ao Precipício pelas Vibrissas (APV), Aversão ao Precipício (AP), Geotaxia Negativa (GN), Resposta ao Susto (RS) e Recuperação do Decúbito em Queda Livre (RPQL). O tempo máximo de observação para cada teste foi de 10 segundos. Os parâmetros somáticos mensurados foram: Abertura do Pavilhão Auricular (APA), Abertura do Conduto Auditivo (ACA), Erupção dos Dentes Incisivos Superiores (EIS) e Inferiores (EII), Abertura dos Olhos (AO), Aparecimento dos Pelos Epidérmicos (APE) e Comprimento da Cauda (CC). O grupo CON G apresentou menor peso corporal e menor comprimento de cauda comparado com o CON N. O SPI G no 14º dia apresentou menor

peso comparado ao CON N, no 21º dia maior peso comparado ao CON G, e maior comprimento de cauda durante as três últimas semanas também comparado com o CON G ($p<0,05$). O SPI N, apresentou maior comprimento de cauda no 7º dia comparado aos dois grupos controles, no 14º dia comparado a todos os grupos e no 21º dia comparado apenas ao CON G. Pode-se observar que o CON G apresentou retardo no DPP, RD, APV, GN e EIS comparado ao CON N. Com relação ao SPI N houve antecipação no DPP, APV, GN, APA, ACA, EIS, EII e AO comparado ao CON G e retardo na RS comparado ao CON N. No SPI G, observou-se antecipação na RD comparado a todos os grupos, aceleração no DPP e GN, retardo no APV comparado ao CON G, aceleração na APA comparado aos dois grupos controles, bem como da AO ($p<0,05$). Nesse mesmo grupo o ACA apresentou-se retardado comparado ao SPI N e antecipação na EIS comparado ao CON G. Além disso, a RS foi retardada neste mesmo grupo quando comparado ao CON N ($p<0,05$). Conclui-se que a suplementação com spirulina durante a lactação conseguiu reverter alguns danos sobre parâmetros físicos, maturação reflexa e somática, induzidos pela desnutrição provocada na prole pelo aumento no tamanho da ninhada.

Palavras chaves: Spirulina; Lactação; Neurodesenvolvimento.

ABSTRACT

NASCIMENTO, I. B. do. **Supplementation with Spirulina (*Arthrospira platensis*) in lactating rats and manipulation of litter size : an assessment of reflex and somatic maturation in the offspring.** 2015. 53 f. Final Paper (Nutrition Degree) - Federal University of Campina Grande, Cuité, 2015.

Protein failure in human nutrition is one of the problems of developing countries, so it is necessary to increase and diversify sources of protein and develop new conventional sources. Accordingly spirulina is presented as an alternative to supply those nutrients. Even though the use of widely reported spirulina for human consumption, there is still a scientific gap regarding the use of this microalgae by women during pregnancy. The objective of this research was to evaluate the effects of dietary spirulina supplementation in rats with litters manipulated during lactation on the reflex and somatic maturation and physical parameters of the offspring. We used primiparous rats Wistar, with 90 days old and weight 250 ± 50 g for obtaining lactating rats. During lactation (21 days) the experimental groups were supplemented with 8% of spirulina solution and control groups with distilled water by gavage. All groups received the solutions in the proportion of 2ml/100 g of animal weight. Experimental animals received standard diet and water *ad libitum*. Two control groups were formed: CON N (six puppies by litters); CON G (twelve puppies by litters); SPI N (six puppies by litters) and SPI G (twelve puppies by litters). For evaluating the development of newborns we observed the following reflexes: disappearance of palm grasp (PG), and appearances of the following responses: righting reflex (RR), cliff avoidance (CA), vibrissae placing (VP), negative geotaxis (NG), auditory startle (AS) and free-fall righting (FR). The maximum observation time was 10 seconds. The somatic parameters were measured: ear unfolding (EU), auditory conduit opening (ACO), eye opening (EO), eruption of superior incisors (ESI), eruption of inferior incisors (EII), fur appearance (FA) and tail length (CC). The CON G group had lower body weight and shorter tail compared to the CON N. SPI G on the 14th day showed less weight compared to the CON N, on the 21st day more weight compared to CON G, and longer length of tail during last three weeks also compared with CON G ($p < 0.05$). The SPI N, showed a greater length of the tail on day 7 compared to two control groups, at day 14 compared to all groups and at day 21 compared to only CON G. It may

be noted that the delay introduced CON G PG, RR, VP, NG and ESI compared to CON N. Regarding the SPI N there was anticipation in PG, VP, NG, EU, ESI, EII and ACO compared to CON G and delay in the AS compared to CON N. In SPI G , there was anticipation in the RR compared to all groups, accelerating the CA and NG, delayed VP compared to CON G, acceleration in EU compared to two control groups, as well as ACO ($p < 0.05$). In this same group introduced EU delayed compared to the SPI N and anticipation in the ESI compared to CON G. Furthermore, the AS in the same group was delayed when compared to CON N ($p < 0.05$). It was concluded that supplementation with spirulina during lactation was able to reverse damage to some physical parameters, and somatic reflex maturation induced by malnutrition caused by an increase in the offspring litter sizes.

Key words: Spirulina; Lactation; Neurodevelopment.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Medição do ganho de peso corporal.....	13
Figura 2 - Verificação do Desaparecimento da Preensão Palmar.....	14
Figura 3 - Verificação da Recuperação Postural de Decúbito.....	14
Figura 4 - Verificação da Aversão ao Precipício pelas Vibrissas.....	15
Figura 5 - Verificação da Aversão ao Precipício.....	15
Figura 6 - Verificação da Geotaxia Negativa.....	16
Figura 7 - Verificação da Resposta ao Susto.....	16
Figura 8 - Verificação da Recuperação do Decúbito em Queda Livre.....	17
Figura 9 - Verificação da Abertura do Pavilhão Auricular.....	18
Figura 10 - Verificação da Abertura do Conduto Auditivo.....	18
Figura 11 - Verificação da Erupção dos Dentes Incisivos Superiores.....	19
Figura 12 - Verificação da Erupção dos Dentes Incisivos Inferiores.....	19
Figura 13 - Verificação da Abertura dos olhos.....	20
Figura 14 - Verificação do Aparecimento dos Pelos Epidérmicos.....	20
Figura 15 - Verificação do Comprimento da Cauda	21
Gráfico 1 - Peso corporal dos ratos lactentes.....	23
Gráfico 2 - Comprimento de cauda dos ratos lactentes.....	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Maturação reflexa da prole.....	25
Tabela 2 - Maturação somática da prole.....	26

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA = One Way

ANVISA = Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ACA = Abertura do Conduto Auditivo

AO = Abertura dos Olhos

AP = Aversão ao Precipício

APA = Abertura do Pavilhão Auricular

APE = Aparecimento dos Pelos Epidérmicos

APV= Aversão ao Precipício pelas Vibrissas

CES = Centro de Educação e Saúde

CC = Comprimento da Cauda

CON N = Controle Normal

CON G = Controle Grande

DBR = Dieta Básica Regional

DNA = Ácido desoxirribonucléico

DPP = Desaparecimento da Preensão Palmar

EII = Erupção dos Dentes Incisivos Inferiores

EIS = Erupção dos Dentes Incisivos Superiores

SPI N = Spirulina Normal

SPI G = Spirulina Grande

FDA = Food And Drug Administration

GN = Geotaxia Negativa

GRAS = *Generally Recognized as Safe*

OMS = Organização Mundial de Saúde

RD= Recuperação Postural de Decúbito

RDQL= Recuperação do Decúbito em Queda Livre

RNA = Ácido Ribonucleico

RS = Resposta ao Susto

SNC = Sistema Nervoso Central

UFCG = Universidade Federal de Campina Grande

USA = Estados Unidos da América

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	OBJETIVOS	3
2.1	OBJETIVO GERAL.....	3
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	4
3.1	HISTÓRIA E IMPORTÂNCIA DAS MICROALGAS.....	4
3.2	A SPIRULINA.....	5
3.3	ASPECTOS NUTRICIONAIS DA SPIRULINA.....	6
3.4	ESTUDOS BIOLÓGICOS COM SPIRULINA.....	8
3.5	EFEITOS DA DESNUTRIÇÃO E SOBRE UM CÉREBRO EM DESENVOLVIMENTO.....	9
3.6	ONTOGÊNESE REFLEXA.....	10
4	METODOLOGIA	12
4.1	SPIRULINA.....	12
4.2	LOCAL DE EXECUÇÃO.....	12
4.3	DIETA EXPERIMENTAL.....	12
4.4	ANIMAIS.....	12
4.5	PESO CORPORAL.....	13
4.6	ONTOGENIA REFLEXA NOS FILHOTES RECÉM-NASCIDOS.....	13
4.7	INDICADORES DE MATURAÇÃO SOMÁTICA.....	17
4.8	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	21
4.9	PROCEDIMENTOS ÉTICOS.....	21
5	RESULTADOS	23
5.1	PESO CORPORAL.....	23
5.2	COMPRIMENTO DE CAUDA.....	23
5.3	ONTOGÊNESE REFLEXA.....	24
5.4	MATURAÇÃO SOMÁTICA.....	25
6	DISCUSSÃO	27
7	CONCLUSÃO	30
	REFERÊNCIAS	31
	ANEXO	37
	ANEXO A – Certificado de aprovação de Comitê de Ética.....	38

1 INTRODUÇÃO

Nos estados carenciais, sobretudo crônicos, a ausência de determinados substratos mais que outros, repercutem intensamente sobre o equilíbrio dinâmico normal, demonstrando com isso, uma hierarquia bioquímica, imperceptível quando o organismo se mantém em homeostase. Dentro dessa hierarquia, destacam-se as proteínas, que compõem órgãos e tecidos além de atuar quase na totalidade das reações metabólicas (SILVA et al., 1999).

As proteínas são as moléculas mais abundantes das células vivas, que contêm entre 30% e 70% do peso seco total da célula; são componentes celulares muito importantes, que se formam a partir da informação genética da célula e, posteriormente, dirigem a sua maquinaria metabólica (TOKUSOGLU; UNAL, 2003).

A proteína é essencial para a maturação do sistema nervoso, sua disponibilidade depende do seu consumo adequado. Sendo assim uma baixa ingestão de proteína afeta o desenvolvimento fetal durante a gravidez e conseqüentemente a nutrição durante a lactação (CARVALHO et al., 2013).

Uma nutrição materna deficiente durante a gestação leva ao retardo do crescimento intra-uterino fetal (RCIU) do organismo em desenvolvimento e está associada com resultados desfavoráveis para a prole. Além disso, estudo examinando os efeitos da desnutrição pré e pós-natal sobre anatomia e fisiologia do cérebro em humanos e em ratos mostram que a gestação é um período altamente vulnerável (PENNINGTON et al., 2001).

A deficiência nutricional materna no período crítico de crescimento e desenvolvimento da prole é capaz de interferir na função dos sistemas orgânicos em decorrência de alterações no padrão de eventos celulares, que levam a conseqüências deletérias tanto na aquisição de padrões fisiológicos maduros do organismo quanto na decorrência de reações metabólicas necessárias à manutenção da homeostase fisiológica. (BELLUSCIO et al., 2014).

Estudo investigando os efeitos da desnutrição induzida por uma Dieta Básica Regional (DBR) em ratos durante a lactação constatou nos ratos desnutridos atraso no desenvolvimento reflexo e na evolução da atividade locomotora da prole (BARROS et al., 2006).

A insuficiência protéica na nutrição humana é um dos problemas dos países subdesenvolvidos, por isso, é necessário aumentar e diversificar as fontes de proteínas e desenvolver novas fontes não convencionais (CHEL-GUERRERO et al., 2002). Nesse sentido, as microalgas, em especial a spirulina, apresentam-se como alternativa no aporte desses nutrientes (CARVAJAL, 2009).

Conforme a Food and Drug Administration (2003) a spirulina é classificada como GRAS (*Generally Recognized as Safe*), o que garante o seu uso como alimento sem risco à saúde. Esta classificação é devido a várias pesquisas que avaliaram as propriedades nutricionais dessa microalga, assim como a sua inocuidade (MOREIRA, 2010). Sendo assim, a ingestão diária de spirulina deva ser de acordo com o aporte físico do consumidor, podendo variar de 0,1 a 6g e a estimativa média de consumo é 3g/indivíduo/dia.

Mesmo sendo o uso da spirulina amplamente relatado na alimentação humana, tanto que a FDA e ANVISA liberam o seu consumo dentro das recomendações diárias, ainda existe uma lacuna científica a respeito do uso dessa microalga pelas mulheres em período gestacional, assim como a influência que a mesma exercerá tanto na mãe como no feto durante o desenvolvimento humano.

Diante desse contexto, com o presente trabalho objetiva-se investigar em ratos se o tratamento materno, com suplementação contendo spirulina, modificará o desenvolvimento reflexo, somático e parâmetros físicos da prole.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos dietéticos da suplementação de spirulina em ninhadas manipuladas durante a lactação sobre a maturação reflexa, somática e parâmetros físicos da prole.

2.2 Objetivos específicos

- Registrar a curva ponderal e o comprimento da cauda da prole como indicador dos efeitos da dieta sobre o crescimento do organismo;
- Avaliar a maturação somática e reflexa dos neonatos.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 HISTÓRIA E IMPORTÂNCIA DAS MICROALGAS

Muitas investigações indicam que a insuficiência protéica na nutrição humana é um dos problemas dos países subdesenvolvidos, por isso, é necessário aumentar e diversificar as fontes de proteínas e desenvolver novas fontes não convencionais (CHEL-GUERRERO et al., 2002). Nesse sentido, as microalgas se apresentaram como uma alternativa no aporte desses nutrientes.

Segundo Habib et al. (2008), no planeta terra, as algas formam uma imensa população de indivíduos de estrutura celular simples, das quais se conhecem, aproximadamente, 110 mil espécies, reunidas em quatro grandes grupos, que são: as cianofitas (*Cyanophyceae*) ou algas verde-azuladas; clorofitas (*Chlorophyceae*) ou algas verdes; feófitas (*Phaeophyceae*) ou algas pardas; rodofitas (*Rhodophyceae*) ou algas vermelhas.

As algas verde-azuladas e verdes encontram-se tanto em água marinha quanto doce, porém as algas dos outros grupos são exclusivas de ambientes marinhos. Seu tamanho é variável, algumas como a alga verde-azulada do gênero *spirulina platensis*, são microscópicas e formam filamentos que medem amstromg (milésimos de milímetros) (CARVAJAL, 2009). As algas verde-azuladas ocupam uma posição intermediária entre as bactérias fotossintetizantes e as algas eucarióticas. Não têm bacterioclorofila, porém contêm clorofila e outros pigmentos. Com sua estrutura celular procariótica (parede celular, ribossomos e ácido nucléico), classificam-se, taxonomicamente, dentro do grupo das bactérias (Reino *Procaryotae*), com a denominação de cianobactérias (STALEY et al., 1989).

Nesse contexto, as cianobactérias ou procarióticas têm sido consideradas tradicionalmente dentro das microalgas. De fato, algumas dessas cianobactérias, como é o caso da spirulina, que fornece uma das principais contribuições da biotecnologia das microalgas. Assim sendo, o termo microalga não tem sentido taxonômico algum e, dentro do mesmo, incluem-se organismos com dois tipos de células diferentes: as cianobactérias, que têm estrutura celular procariótica, e as outras microalgas, com estrutura celular eucariótica (RODRIGUEZ; GUERRERO, 1992).

As cianobactérias ou algas cianofíceas são organismos pertencentes ao reino Monera. São procariontes tendo, portanto, o material genético disperso na célula

(DERNER, 2006). 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. O interesse no cultivo destes organismos fundamenta-se em suas variadas e possíveis aplicações tais como alimentação, produção de energia química, extração de pigmentos entre outras substâncias celulares de interesse industrial e no tratamento de águas residuais (BURJA, 2001).

O interesse na exploração das cianobactérias para produção em larga escala para alimentação humana deve-se também à sua alta taxa de crescimento, resultando em elevada produção de nutrientes, particularmente proteínas, e à capacidade de utilizarem como substrato fontes energéticas de baixo custo, como resíduos agroindustriais. Estes aspectos determinam vantagens tecnológicas e comerciais em relação a técnicas convencionais de produção de proteína (ANUPAMA; RAVINDRA, 2000).

3.2 A SPIRULINA

Originariamente, trata-se de um organismo procedente de lagoas da África e da América tropical, que tem se estendido em outras zonas quentes do mundo, aproveitando a sua capacidade de adaptação em lugares onde não podem crescer outros organismos (HABIB et al., 2008).

A microalga spirulina é uma cianobactéria filamentosa que forma tricomas cilíndricos multicelulares com 1 a 12 μ m de diâmetro e se dispõem em forma espiralada, atingindo até 1mm de comprimento. Através da fotossíntese a spirulina converte os nutrientes do meio em material celular, liberando oxigênio (COLLA, 2002). A spirulina tem envoltório celular mais parecido com uma bactéria do que com uma alga, ou seja, suas paredes celulares são mais digeríveis uma vez que são formadas por mucopolissacarídeos e não por celulose, o que representa vantagem do ponto de vista de preservação da integridade de componentes, como vitaminas e ácidos graxos poliinsaturados (TOMASELLI; GIOVANNETTI; TORZILLO, 1993).

Essa microalga apresenta-se como uma alternativa na produção de biomassa alimentar em regiões áridas com escassez de água por responder bem à radiação solar intensa e altas temperaturas, crescem em águas alcalinas e com alta salinidade (8,5 a 200g.L-1). É essencialmente fotoautotrófica, isto é, através da fotossíntese, obtém

energia da luz para a fixação de carbono necessário à construção de biomassa. Como subproduto da reação, a microalga libera oxigênio na atmosfera (CHRONAKIS, 2001).

Essa microalga pode ser utilizada com diversas finalidades, entre elas, destacam-se: para se emagrecer e reduzir o apetite naturalmente, devido à sua alta porcentagem de fenilalanina; regular os níveis de glicose, porque contém cromo; como energético natural para crianças, adultos, convalescentes e desportistas, por causa do seu alto valor nutricional, baixo valor energético e baixo nível calórico (4 cal/gr.); para corrigir os desequilíbrios metabólicos e funcionais dos sistemas nervoso, cardiovascular e hormonal. Inclui cofatores da síntese de prostaglandinas. Em Biomedicina e Farmacologia, além da sua utilização em dietética, apresentam efeitos hipocolesterolêmicos, atividades antibacterianas, antifúngica e antitumorais (PESANDO,1990).

3.3 ASPECTOS NUTRICIONAIS DA SPIRULINA

A spirulina é um produto totalmente de origem biológica. Consiste na biomassa seca da cianobactéria *Arthrospira platensis*, podendo ser adicionada em alimentos preparados na quantidade de 0,5-3g/porção (FDA, 2003).

Através da comprovação da inocuidade da spirulina por diversas pesquisas, a FDA (*Food and Drug Administration*) certificou esta microalga como sendo GRAS (*Generally Recognized as Safe*). A base para esta determinação foram pesquisas científicas realizadas por *Cyanotech Corporation* (Havaí) e *Earthrise Nutritionals* (Califórnia). Nestes estudos, a spirulina foi adicionada a diversos alimentos e bebidas, consumida em quantidades de 0,1 a 6g/indivíduo/dia (FDA, 2003).

“Em maio de 2009 a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) incluiu a spirulina na lista de Novos Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos, estabelecendo como limite um consumo máximo de 1,6g microalga/indivíduo/dia, quantidade essa inferior às permitidas por outras nações. Para registro de novos ingredientes ou alimentos pela ANVISA é necessário seguir um protocolo, onde a avaliação da segurança de uso de novos ingredientes/alimentos é conduzida com base na documentação apresentada pela empresa interessada, conforme disposto no item 5 da Resolução n. 17/1999”.

O valor da spirulina é determinado pela variedade dos nutrientes que contém, alguns dos quais não são sintetizados pelo organismo humano. Tem muitos macronutrientes e micronutrientes e, devido à sua variedade, torna-se um alimento completo, qualitativamente e se consumida em doses elevadas também quantitativamente. Pode-se dizer que a spirulina é o alimento com maior número de elementos nutritivos diferentes por unidade de peso, e o organismo só necessita de 20 gramas diários dessa alga para satisfazer todas as suas necessidades nutritivas (PHANG et al., 2000).

Conforme a FDA (2003) esta microalga apresenta em sua constituição 53-62% de proteínas; 17-25% de carboidratos; 4-6% de lipídios; 8-13% de minerais e 3-6% de umidade.

De acordo com Carvajal (2009) as proteínas da spirulina contêm todos os aminoácidos essenciais. Relativamente a estes aminoácidos, contudo, apresentam maior valor quando comparadas a cereais. O perfil de aminoácidos da spirulina encontrado por Morais et al. (2009) é satisfatório, pois os 14 percentuais de aminoácidos presentes na cianobactéria estão próximos aos padrões estabelecidos pela FAO.

Esta cianobactéria possui vitaminas, especialmente a vitamina A na forma de betacaroteno, vitamina C e vitaminas do grupo B. É sabido da importância da vitamina A e da vitamina C como antioxidantes na prevenção de numerosas doenças degenerativas. A spirulina destaca-se, sobretudo, pelo seu conteúdo em cobalamina ou vitamina B12, difícil de encontrar em dietas vegetarianas, e em ácido fólico ou vitamina B9, que é necessário para a formação das células e o bom funcionamento do coração e do sistema nervoso. Outros autores indicam que a spirulina também contém uma elevada quantidade de vitaminas do complexo B (B1, B2, B6), β -caroteno e vitamina E, além de minerais como o zinco, o magnésio, o cromo, o selênio e o ferro, necessários para a manutenção do metabolismo, para a conservação da pele e das mucosas e para o desenvolvimento normal dos ossos e dos dentes, além de aminoácidos essenciais, que são necessários em nossa dieta e que contribuem para uma melhor nutrição humana (BROWN; JEFFREY; GARLAND, 1989; BECKER, 1994).

Para uma microalga ser consumida e digerida, o valor nutricional dependerá da sua composição bioquímica. Nesse contexto, não só a composição de macronutrientes como também a composição e a concentração de aminoácidos, além da composição dos lipídeos, são de primeira importância no valor nutricional das microalgas. Essa

composição bioquímica muda com as condições do cultivo (temperatura e iluminação) (WEBB; CHU, 1982).

Embora a spirulina apresente uma grande importância nutricional devido a sua variedade de macro e micronutrientes, por outro lado o elevado conteúdo de ácidos nucleicos (RNA e DNA) nesta microalga pode ser fator limitante para o seu uso como alimento, pois a degradação de parte de seus componentes termina na produção de ácido úrico, os quais podem precipitar e formar cristais de urato de sódio, resultando em extrema sensibilidade das articulações (gota) e depósito de pedras nos rins, como demonstrado ou evidenciado em algumas pesquisas (MOREIRA, 2010, p. 5).

3.4 ESTUDOS BIOLÓGICOS COM SPIRULINA

Após a liberação do consumo de spirulina por seres humanos, vários estudos científicos têm sido realizados para verificar efeitos biológicos sobre os mesmos. A partir deste ponto serão mostrados a seguir estudos relevantes nesta área:

De acordo com Hwang et al. (2011) investigaram o efeito da spirulina sobre disfunções de memória, estresse oxidativo e atividade antioxidante. Para o estudo eles utilizaram dois grupos de ratos machos. Um dos grupos foi alimentado com uma dieta controle, enquanto o outro foi alimentado com uma dieta suplementada com spirulina. Ao final do estudo foi observado que no grupo tratado com spirulina houve uma menor deposição de proteína β -amilóide no hipocampo. Houve um menor índice de peroxidação lipídica no hipocampo e no córtex cerebral. Foi observado um aumento na atividade de catalase, bem como da Glutathionperoxidase. Então, eles chegaram à conclusão que a *spirulina platensis* pode prevenir a perda de memória possivelmente pela diminuição do acúmulo de proteína β -amilóide, diminuição de danos oxidativos e pelo aumento de atividade de catalase.

No estudo desenvolvido por Grinstead et al. (2000) observaram que uma dieta suplementada com 2,8 gramas de spirulina 3 vezes ao dia ao longo de 4 semanas resultou em significativa redução do peso corporal de porcos obesos. A spirulina demonstrou eficácia, também, em atenuar a hipertensão arterial de ratos (HERNÁNDEZ et al., 2001). Além disso, outros trabalhos mostraram que a spirulina pode exercer efeitos benéficos no tratamento de algumas formas de câncer e de desnutrição (FICA; OLTEANU; OPRESCU, 1984).

3.5 EFEITOS DA DESNUTRIÇÃO E SOBRE UM CÉREBRO EM DESENVOLVIMENTO

Para o cérebro funcionar eficientemente na vida adulta, requer-se, como condição fundamental, que ele tenha se desenvolvido de forma adequada no início da vida. Nos mamíferos, o desenvolvimento do cérebro começa logo na embriogênese e continua durante uma fase relativamente pequena da vida pós natal. No rato albino, o mamífero mais usado para estudos experimentais sobre o tema, tal fase compreende as três primeiras semanas da vida pós-natal, ou seja, o período do aleitamento. Nessa fase, o cérebro é mais vulnerável as agressões do ambiente, inclusive as nutricionais, devido ao fato de que é nessa fase que os processos implicados no desenvolvimento cerebral ocorrem com muita rapidez (ONIS; AKRÉ; CLUGSTON, 1993).

A deficiência de um ou mais nutrientes na alimentação diária pode, sem dúvida, perturbar a organização estrutural (histológica) e bioquímica de um ou mais dos processos acima descritos, levando, geralmente, a repercussões sobre as suas funções. Isso é absolutamente verdadeiro para qualquer sistema orgânico, mas tem implicações importantes no caso do sistema nervoso e particularmente das funções do seu órgão principal, o cérebro (GUEDES; ROCHA-DE-MELO; TEODÓSIO, 2004).

As diferentes regiões cerebrais desenvolvem-se de forma heterogênea, de acordo com os tipos celulares, a duração e o período de tempo em que ocorre a divisão celular (MORGANE et al., 1993). Segundo Smart e Dobbing (1971), neste período a vulnerabilidade do sistema nervoso a um insulto é máxima. Portanto, alterações nos processos de desenvolvimento terão consequências variadas, dependendo do período de ocorrência, de sua duração e da evolução ontogenética da espécie animal (MORGANE et al., 1978).

A ontogênese do sistema nervoso central (SNC) ocorre nos períodos iniciais de vida dos seres vivos. Em ratos, este período corresponde ao período de lactação é marcado por eventos como estabelecimento e exclusão de conexões neurais, que afetam a formação definitiva do SNC adulto. Os estímulos ou insultos nesta fase podem resultar em distúrbios no plano de atividades da expressão de neurotransmissores, neuromoduladores com seus receptores e mudanças estruturais e funcionais em longo prazo (ALBUQUERQUE et al., 2006).

A atividade eletrofisiológica produzida pelo sistema nervoso pode ser bastante afetada, tanto ao nível periférico (nos nervos que levam informações do cérebro para os demais setores do organismo e vice-versa), quanto ao nível central (processamento de informações nas conexões intrínsecas, dentro do cérebro). Evidências experimentais indicam que animais desnutridos apresentam elevada susceptibilidade a processos relacionados à excitabilidade neural, tais como reatividade aumentada a estímulos aversivos e facilitação para se obter crises convulsivas induzidas experimentalmente (GUEDES; MONTEIRO; TEODÓSIO, 1996).

A desnutrição protéica é um problema de saúde pública que há muito tempo acomete grande parte da população mundial, principalmente nos países em desenvolvimento (ROGATTO et al., 2004).

O comprometimento do crescimento é uma consequência frequente observada em organismos em fase de desenvolvimento submetido a situações em que haja carência de nutrientes, principalmente de origem protéica (FRANK, 1986). Contudo, outros efeitos deletérios que aumentam a taxa de mortalidade infantil e comprometem o desenvolvimento mental e a maturação demonstra os riscos que a deficiência protéico-calórica pode gerar em crianças desnutridas (TORUN; CHEW, 1994).

O problema da desnutrição protéica vem preocupando as autoridades ligadas aos setores de saúde pública há várias décadas, especialmente a Organização Mundial de Saúde (WHO, 2011), cujos técnicos tem debatido novas fontes protéicas alimentares bem como normas a serem adotadas para o seu uso na alimentação humana. Nesse sentido, microorganismos têm recebido atenção especial como fonte alternativa de proteína na dieta.

Entre os vários microorganismos que vêm sendo estudados, a alga verde-azulada spirulina é considerada um microorganismo promissor, devido ao seu alto teor protéico (CONTRERAS et al., 1979).

3.6 ONTOGÊNESE REFLEXA

Para o estudo acerca do desenvolvimento do SNC é observada a ontogênese de reflexos. Os reflexos representam uma das expressões comportamentais da função cerebral. A maturação de reflexos específicos em ratos tem sido bem estabelecida (FOX, 1965). Smart e Dobbing (1971) verificaram alterações na ontogênese reflexa de ratos

submetidos à desnutrição no período crítico de desenvolvimento do SNC. Distúrbios apresentados sobre a maturação de reflexos podem apontar agressões sobre o crescimento e desenvolvimento do SNC (SMART; DOBBING, 1971). O padrão de atividade locomotora também é um importante dado de observação acerca do desenvolvimento do SNC (SMART; DOBBING, 1971; FOX, 1965). A evolução deste padrão é extremamente significativa para a preservação da espécie no que concerne a aspectos de busca pelo alimento e perpetuação da mesma (BARROS, 1999). Barros (1999) observou déficits na atividade locomotora e no comportamento exploratório de ratos submetidos à desnutrição no período crítico do desenvolvimento.

A maturação reflexa é um modelo experimental estabelecido por Smart e Dobbing (1971) que utilizou o modelo em camundongos. O reflexo de geotaxia negativa é estimulado pela posição anormal da cabeça e do corpo que estão sob o controle dos sistemas vestibular e postural (ADAMS et al., 1985). Foi demonstrado que uma restrição diária da ingestão de alimentos atrasa o desenvolvimento motor e comportamental associado ao desenvolvimento cerebelar perturbado da prole (GRAMSBERGEN, 2003).

Estudos mostram que a desnutrição durante o período pré e pós-natal acarreta um retardo na maturação reflexa e somática e esse retardo é mais severo em animais que sofrem desnutrição no período do aleitamento (SMART; DOBBING, 1971). Em modelos animais, um ponto de consenso a respeito das conseqüências funcionais da desnutrição é que os animais expostos precocemente a este insulto exibem mudanças duradouras no campo das emoções, motivações e/ou ansiedade, além de alterações morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e comportamentais (PICANÇO-DINIZ et al., 1998).

4 METODOLOGIA

4.1 SPIRULINA

Foi utilizada a *spirulina platensis* fornecida pela fazenda Tamanduá, CNPJ: 48762892000194. Agroindústria – Empresa do Setor Privado, Patos – PB.

4.2 LOCAL DE EXECUÇÃO

Este experimento foi realizado na Universidade Federal de Campina Grande, *campus* Cuité. A ontogenia reflexa e a maturação somática dos filhotes foram realizados no Laboratório de Nutrição Experimental (LANEX/CES/UFCG).

4.3 DIETA EXPERIMENTAL

Para o grupo experimental as ratas da linhagem *Wistar* receberam a dieta padrão, juntamente com a suplementação de spirulina por meio de gavagem, no período de 21 dias de lactação, com concentração de 8%. A gavagem foi administrada diariamente (2ml/100g do peso do animal) e o grupo controle recebeu água destilada. Os animais utilizados receberam dieta padrão e água *ad libitum*.

4.4 ANIMAIS

Fêmeas primíparas, da linhagem *Wistar*, provenientes do Biotério de criação do Curso de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco com idade de 90 dias e peso de 250 ± 50 g foram utilizadas para obtenção dos ratos lactentes.

Durante o acasalamento foram mantidas duas fêmeas para cada macho por um período de oito dias. Posteriormente, as ratas prenhas foram alojadas em gaiolas-maternidade individuais de polipropileno, em condições-padrão de temperatura de $22 \pm 1^\circ\text{C}$, com ciclo claro-escuro (12 h; início da fase clara às 6:00 h) e umidade de 65%.

O tamanho da ninhada foi manipulado de acordo com Rocha-de-Melo et al., (2006), onde foi mantida uma ninhada padrão (6 filhotes) e uma ninhada grande (12 filhotes), aumentando assim a competição por nutrientes. Foram formados 4 grupos:

CON N – contendo ninhada com 6 (seis) filhotes e tratadas gavagem com água destilada;
CON G – contendo ninhada com 12 (doze) filhotes e tratadas gavagem com água destilada;

SPI N – contendo ninhada com 6 (seis) filhotes e tratadas gavagem com 8% de spirulina;

SPI G – contendo ninhada com 12 (doze) filhotes e tratadas gavagem com 8% de spirulina;

4.5 PESO CORPORAL

A partir do 1º dia de vida, os neonatos foram pesados diariamente logo após a investigação da maturação reflexa e somática, sendo o dia do nascimento considerado o dia zero (Figura 1).

Figura 1 - Medição do ganho de peso corporal.



Fonte: A autoria própria (2015).

4.6 ONTOGENIA REFLEXA NOS FILHOTES RECÉM-NASCIDOS

A consolidação de respostas reflexas foi pesquisada diariamente, no horário entre 12 e 14 horas, do 1º ao 21º dia pós-natal. A resposta foi considerada consolidada quando a reação reflexa esperada se repetia por três dias consecutivos, sendo considerado o dia da consolidação o 1º dia do aparecimento. Os reflexos pesquisados, descritos a seguir, seguiram o modelo experimental estabelecido por Smart e Dobbing (1971) para o rato. Foram avaliados os seguintes reflexos: (1) Desaparecimento da Preensão Palmar (DPP), e (2) aparecimentos das seguintes respostas: a) Recuperação Postural de Decúbito (RD), b) Aversão ao Precipício pelas Vibrissas (APV), c) Aversão ao Precipício (AP), d) Geotaxia Negativa (GN), e) Resposta ao Susto (RS) e f) Recuperação do Decúbito em Queda Livre (RDQL). O tempo máximo de observação considerado foi de 10 segundos.

Procedimentos:

- a) Desaparecimento da Preensão Palmar (DPP) – utilizou-se um bastonete metálico com aproximadamente 5 cm de comprimento por 1mm de diâmetro, fez-se uma leve percussão na palma da pata dianteira esquerda ou direita de cada animal. Em resposta, ocorre flexão rápida dos artelhos. Com o desenvolvimento do recém-nascido, ocorre o desaparecimento dessa resposta (Figura 2).

Figura 2 - Verificação do Desaparecimento da Preensão Palmar.



Fonte : Autoria própria (2015).

- b) Recuperação Postural de Decúbito (RD) – O rato foi colocado em decúbito dorsal sobre uma superfície plana e lisa. Em resposta, observou o retorno ao decúbito ventral. A resposta foi considerada positiva quando o animal assumia o decúbito ventral, apoiado sobre as quatro patas (Figura 3).

Figura 3 - Verificação da Recuperação Postural de Decúbito.



Fonte : Autoria própria (2015).

- c) Aversão ao Precipício pelas Vibrissas (APV) – O filhote foi suspenso pela cauda, de tal forma que suas vibrissas tocavam levemente a borda de uma superfície plana. Em resposta, o animal colocava as duas patas anteriores sobre a mesa e realizava movimentos de marcha, associados com extensão de tronco (Figura 4).

Figura 4 - Verificação da Aversão ao Precipício pelas Vibrissas.



Fonte : Arquivo próprio (2015).

- d) Aversão ao Precipício (AP) – O animal foi colocado sobre uma superfície plana e alta (mesa), com as patas dianteiras na extremidade da mesa, de maneira que ele detectava o precipício. Em resposta o animal se deslocava para um dos lados e caminhava em sentido contrário à borda, caracterizando a aversão ao precipício (Figura 5).

Figura 5 - Verificação da Aversão ao Precipício.



Fonte : Autoria própria (2015).

- e) Geotaxia Negativa (GN) – O animal foi colocado no centro de uma rampa medindo 34 x 24 cm, revestida com papel antiderrapante (papel crepon), com inclinação aproximada de 45°, com a cabeça na parte mais baixa da rampa. Em resposta, o animal girava o corpo, num ângulo de 180°, posicionando a cabeça em sentido ascendente (Figura 6).

Figura 6 - Verificação da Geotaxia Negativa.



Fonte : Autoria própria (2015).

- f) Resposta ao Susto (RS) – O animal foi submetido a um estímulo sonoro intenso e súbito, produzido pela percussão de um bastão de ferro sobre um recipiente metálico, a uma distância aproximada de 10 cm da cabeça. Em resposta, ocorre uma retração das patas anteriores e posteriores, com imobilização rápida e involuntária do corpo do animal (Figura 7).

Figura 7 - Verificação da Resposta ao Susto.



Fonte : Autoria própria (2015).

- g) Recuperação do Decúbito em Queda Livre (RDQL) – O animal foi segurado pelas quatro patas, com o dorso voltado para baixo, a uma altura de 30 cm, e solto em queda livre sobre um leito de espuma sintética (30 x 12 cm). Em resposta, o animal recupera o decúbito durante a queda livre caindo na superfície apoiado sobre as quatro patas (Figura 8).

Figura 8 - Verificação da Recuperação do Decúbito em Queda Livre.



Fonte : Autoria própria (2015).

4.7 INDICADORES DE MATURAÇÃO SOMÁTICA

Os seguintes indicadores foram observados diariamente, até sua maturação, a partir do primeiro dia pós-natal:

- a) Abertura do Pavilhão Auricular (APA) – Normalmente, o animal nasce com o pavilhão auditivo dobrado; portanto, o pavilhão auricular aberto foi considerado no dia em que a dobra foi desfeita. Nesta avaliação, a maturação foi considerada positiva quando os dois pavilhões estiveram desdobrados (Figura 9).

Figura 9 - Recuperação da Abertura do Pavilhão Auricular.



Fonte : Autoria própria (2015).

- b)** Abertura do Conduto Auditivo (ACA) – Ao nascimento, o conduto auditivo encontra-se fechado. Foi considerada madura a ACA no dia em que o orifício auricular podia ser visualizado. Nesta avaliação a maturação foi considerada positiva quando os condutos, direito e esquerdo, encontraram-se abertos (Figura 10).

Figura 10 - Recuperação da Abertura do Conduto Auditivo.



Fonte : Autoria própria (2015).

- c)** Erupção dos Dentes Incisivos Superiores (EIS) – Foi registrado o dia em que houve a erupção dos dentes incisivos superiores. Foi considerada resposta positiva quando ambos os incisivos estiveram expostos (Figura 11).

Figura 11 - Verificação da Erupção dos Dentes Incisivos Superiores.



Fonte : Autoria própria (2015).

- d) Erupção dos Dentes Incisivos Inferiores (EII) – Foi registrado o dia em que houve a erupção dos dentes incisivos inferiores. Foi considerada resposta positiva quando ambos estiveram expostos (Figura 12).

Figura 12 - Verificação da Erupção dos Dentes Incisivos Inferiores.



Fonte: Autoria própria (2015).

- e) Abertura dos Olhos (AO) – No rato, os olhos encontram-se totalmente encobertos pelas pálpebras, durante alguns dias após o nascimento. A resposta foi considerada positiva quando os dois olhos estavam abertos, com presença de movimento reflexo das pálpebras (Figura 13).

Figura 13 – Verificação da Abertura dos Olhos.



Fonte : Autoria própria (2015).

- f) Aparecimento dos Pelos Epidérmicos - Os ratos nascem sem pelos, o seu aparecimento foi confirmado deslizando gentilmente os dedos sobre a epiderme do animal (Figura 14).

Figura 14 – Verificação do Aparecimento dos Pelos Epidérmicos.



Fonte : Autoriaprópria (2015).

Comprimento da Cauda (CC) – O animal foi colocado sobre uma régua milimetrada, sendo a cauda delicadamente mantida bem estendida, desde a base até a extremidade (Figura 15).

Figura 15 - Verificação do Comprimento da Cauda.



Fonte : Autoria própria (2015).

O foco principal da avaliação da dieta consumida pelas mães durante a lactação foi à influência que exerceu sobre os filhotes. Estes foram avaliados do primeiro dia até o 21º dia de lactação. Foram avaliados diariamente os reflexos de acordo com a metodologia de Smart e Dobbing, 1971. Foram pesados e medidos os comprimentos das caudas e também foram feitos os estudos somáticos.

4.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para as análises estatísticas da ontogenia reflexa, foi utilizado o teste Kruskal-Wallis para a comparação dos grupos, seguida do teste de Dunn e para comparação dos demais dados foi usado o teste ANOVA One Way seguido de Tukey. O erro alfa para rejeição da hipótese nula será de $p < 0,05$.

4.9 PROCEDIMENTOS ÉTICOS

Este estudo foi submetido e obteve parecer aprovado pelo Comitê de Ética de animais do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), *campus* Patos-PB, apresentando o seguinte protocolo CEP nº 241-2015

e seguiu com as recomendações éticas do National Institute of Health (Bethesda, USA), com relação aos procedimentos para o uso científico de animais, sendo levado em consideração o bem-estar dos animais no biotério, de maneira que o sofrimento e o estresse dos animais foram minimizados ao máximo. O certificado de aprovação encontra-se no anexo1.

5 RESULTADOS

5.1 PESO CORPORAL

Com relação ao peso corporal foi observado que no 7º dia o grupo CON G apresentou menor peso comparado com o grupo CON N ($p < 0,05$).

O grupo CON G no 14º e 21º dia obteve menor peso corporal comparado com o grupo CON N, o grupo SPI G no 14º dia apresentou menor valor comparado ao grupo CON N e no 21º dia maior valor comparado ao grupo CON G ($p < 0,05$).

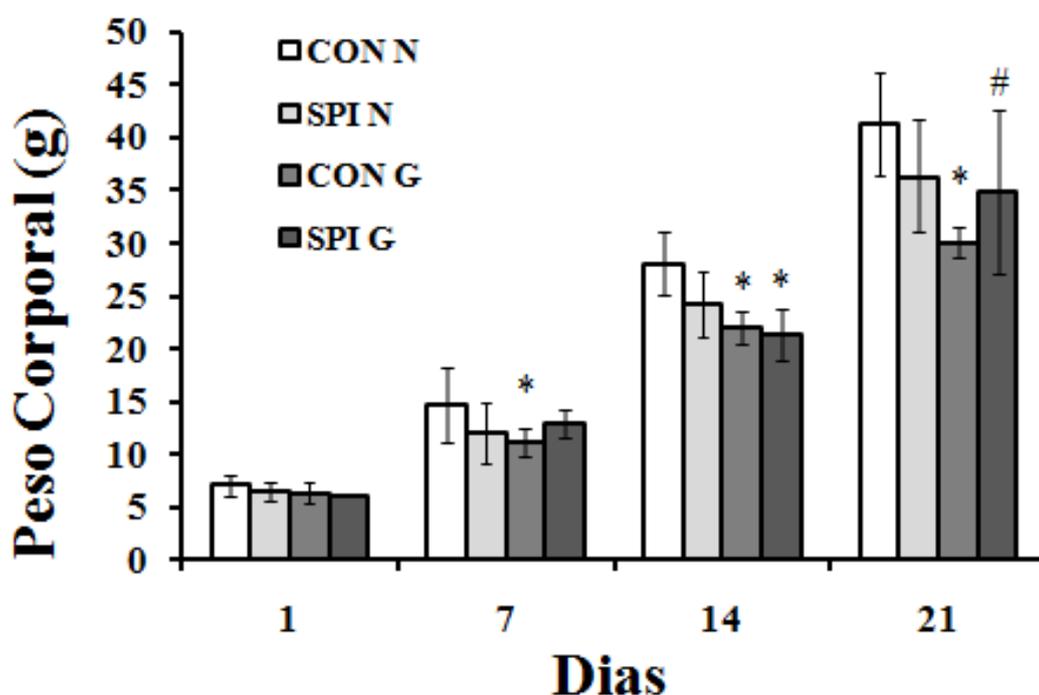


Gráfico 1. Peso corporal dos ratos lactentes cujas mães foram tratadas com suplementação de 8% de *spirulina platensis* durante a lactação. * significativamente diferente do grupo CON N; # significativamente diferente do grupo CON G ($p < 0,05$). Para comparação entre os grupos foi utilizado o teste estatístico ANOVA One Way seguido de Tukey.

5.2 COMPRIMENTO DE CAUDA

Com relação ao comprimento de cauda, o grupo SPI N, apresentou maior comprimento da cauda no 7º dia comparado aos grupos CON N e CON G, no 14º dia comparado a todos os grupos e no 21º dia comparado apenas ao CON G ($p < 0,05$).

Observou-se também no 7º, 14º e 21º dia que o grupo CON G, foi diferente do grupo CON N, apresentando um comprimento de cauda menor.

O grupo SPI G, apresentou maior comprimento da cauda durante as três últimas semanas diferença de experimento comparado com o grupo CON G ($p < 0,05$).

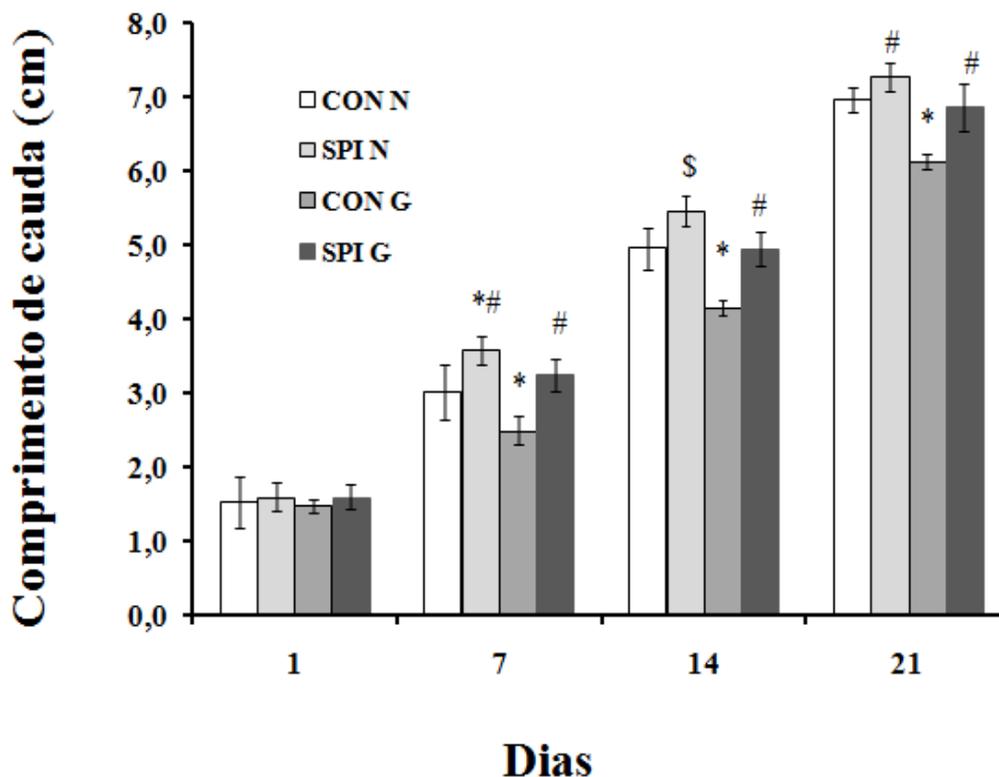


Gráfico 2. Comprimento de cauda dos ratos lactentes cujas mães foram tratadas com suplementação de 8% de *spirulina platensis* durante a lactação.*significativamente diferente do grupo CON N; # significativamente diferente do grupo CON G; \$ significativamente diferente de todos os grupos ($p < 0,05$). Para comparação entre os grupos foi utilizado o teste estatístico ANOVA One Way seguido de Tukey.

5.3 ONTOGÊNESE REFLEXA

No que se refere à maturação reflexa dos ratos neonatos, pode-se observar que o grupo CON G apresentou retardo no DPP, RD, APV e GN comparado ao CON N ($p < 0,05$). Com reação ao grupo SPI N houve antecipação no DPP, APV e GN comparado ao CON G e retardo na RS comparado ao CON N. No grupo SPI G, observou-se antecipação na RD comparado a todos os grupos, aceleração no DPP, GN e retardo no APV comparado ao CON G. Além disso, a RS foi retardada neste mesmo grupo quando comparado ao CON N ($p < 0,05$).

Tabela 1. Maturação reflexa da prole de ratas lactantes suplementadas com 8% de *Spirulina platensis* com tamanhos de ninhadas manipuladas.

GRUPOS EXPERIMENTAIS				
MATURAÇÃO REFLEXA	CON N	CON G	SPI N	SPI G
DPP^a	3 (2-5)	5 (3-6)*	3 (2-4)#	3,5 (3-4)#
RD^b	5,5 (3-9)	8 (7-9)*	6 (3-9)	4 (2-5)#*\$
APV^b	9 (8-12)	11 (11-13)*	8 (6-11)#	13,5 (5-15)#
AP^b	11,5 (7-14)	11 (11-14)	13 (5-16)	9,5 (4-16)
GN^b	15 (11-18)	17 (15-18)*	14 (11-16)#	13,5 (11-16)#
RS^b	12 (10-12)	12 (11-13)	13 (11-14)*	13,5(11-14)*
RDQL^b	16,5 (16-19)	18 (16-19)	17 (14-19)	16 (13-19)

Valores expressos em mediana do dia (mínimo e máximo); DPP: Desaparecimento da Preensão Palmar; RD: Recuperação Postural de Decúbito; APV: Aversão ao Precipício pelas Vibrissas; AP: Aversão ao Precipício; GN: Geotaxia Negativa; RS: Resposta ao Susto; RDQL: Recuperação do Decúbito em Queda Livre. *=versus CON N; #=versus CON G; \$=versus SPI N; a=desaparecimento; b= aparecimento. CON N: contendo ninhada com 6 (seis) filhotes e gavagem com água destilada; CON G: contendo ninhada com 12 (doze) filhotes e gavagem com água destilada; SPI N: contendo ninhada com 6 (seis) filhotes e gavagem com 8% de spirulina; SPI G: contendo ninhada com 12 (doze) filhotes e gavagem com 8% de spirulina.

5.4 MATURAÇÃO SOMÁTICA

Quanto à maturação somática dos ratos neonatos, pode-se observar que o grupo CON G apresentou retardo na EIS, comparado ao grupo CON N. Com relação ao grupo SPI N observou-se antecipação no APA, ACA, EIS, EII e AO comparado ao CON G. No grupo SPI G foi observado aceleração na APA comparado aos dois grupos controles, bem como da AO. Nesse mesmo grupo o ACA apresentou-se retardado comparado ao SPI N e antecipação na EIS comparado ao CON G ($p < 0,05$).

Tabela 2. Maturação somática da prole de ratas lactentes suplementadas com 8% de *Spirulina platensis* com tamanhos de ninhadas manipuladas.

MATURAÇÃO SOMÁTICA	GRUPOS EXPERIMENTAIS			
	CON N	CON G	SPI N	SPI G
APA	3 (3-4)	4 (3-4)	3 (2-3)#	2 (2-3)#*
ACA	12 (10-12)	12 (12-13)	11 (10-12)#	12 (11-13)\$
EIS	9,5 (8-10)	11 (11-12)*	9 (7-10)#	9 (8-11)#
EII	11 (9-12)	12 (11-13)	10 (9-11)#	11 (9-12)
AO	15 (14-15)	15 (14-16)	14 (13-15)#	13,5 (13-15)#*
APE	5 (5-6)	5,5 (5-6)	5 (5-6)	5 (5-6)

Valores expressos em mediana do dia (mínimo e máximo); APA: Abertura do Pavilhão Auricular; ACA: Abertura do Conduto Auditivo; EIS: Erupção dos Incisivos Superiores; EII: Erupção dos Incisivos Inferiores; AO: Abertura dos Olhos; APE: Aparecimento de Pelos Epidérmicos. *=versus CON N; #=versus CON G; \$=versus SPI N. CON N: contendo ninhada com 6 (seis) filhotes e gavagem com água destilada; CON G: contendo ninhada com 12 (doze) filhotes e gavagem com água destilada; SPI N: contendo ninhada com 6 (seis) filhotes e gavagem com 8% de spirulina; SPI G: contendo ninhada com 12 (doze) filhotes e gavagem com 8% de spirulina.

6 DISCUSSÃO

Os dados obtidos no presente trabalho demonstraram que a suplementação com spirulina no período pós-natal foi determinante para as alterações observadas no desenvolvimento reflexo, crescimento somático e parâmetros físicos da prole. Dessa forma pode-se observar que a suplementação com spirulina foi eficaz em induzir aumento do comprimento de cauda e recuperação do peso corporal da prole tratada. Além disso, esse tratamento foi capaz de antecipar a maturação reflexa e somática de animais tratados durante o aleitamento.

O presente trabalho baseou-se na metodologia adotada por Plagemann et al. (1998) e Rocha-de-Melo et al. (2006), onde as ninhadas foram padronizadas em pequenas (3 filhotes por ninhada), normais (6 filhotes por ninhada) e grandes (12 filhotes por ninhada). No presente estudo utilizamos ninhadas com tamanhos normais ou também chamadas de padrão e ninhadas grandes. Esse aumento induz uma competição de nutrientes entre os filhotes podendo causar danos similares à desnutrição protéica. Rocha-de-Melo et al., (2006) verificaram nos animais com ninhada aumentada aceleração na propagação da depressão alastrante indicando alteração no tecido do córtex frontal. Esse resultado se assemelha a estudos induzindo desnutrição protéica e avaliando a atividade elétrica cortical (ROCHA-DE-MELO et al., 2006; GUEDES, 1997). Os autores também encontraram diminuição no peso do cérebro e do peso corporal da prole.

Estudo induzindo desnutrição protéica em animais tratados durante a gestação e lactação também observou diminuição do peso corporal na prole (BELLUSCIO et al., 2014). Achado similar foi encontrado quando ratos foram alimentados durante a fase inicial da vida com a Dieta Básica Regional que provoca uma desnutrição multicarenal (BARROS et al., 2006). Esses achados corroboram com o do presente estudo, onde os animais com grandes ninhadas também apresentaram menor peso corporal comparado aos grupos com tamanhos normais de ninhada, porém, a suplementação com a spirulina no grupo SPI G conseguiu diminuir esse dano quando comparado ao CON G. Estudo verificou que a microalga spirulina mostrou-se eficaz na reversão de alterações induzidas pela restrição alimentar (ALVES; VONTARELLI; MELLO, 2005).

A suplementação com a spirulina também reverteu danos causados pela desnutrição quando se avaliou a maturação reflexa no presente trabalho. Os animais do grupo CON G apresentaram retardo na maturação dos reflexos pesquisados, confirmando

que o modelo adotado foi similar ao de outros estudos que induziram desnutrição protéica e observaram retardo nesta maturação (BELLUSCIO et al. 2014; ZHANG et al., 2010). Porém nos animais suplementados com a spirulina, tanto no grupo SPI N como no SPI G houve aceleração na maioria dos reflexos estudados, sendo a antecipação do grupo SPI G ainda mais relevante do que do grupo SPI N. O acompanhamento da maturação reflexa é frequentemente utilizado como ferramenta para demonstrar o nível de maturação do SNC durante o desenvolvimento (DEIRÓ et al., 2006; BARROS et al., 2006).

Fox (1965) registrou uma sequência definida para avaliação da maturação reflexa no rato. Usando este modelo, Smart e Dobbing (1971) demonstraram retardo na maturação reflexa causada por desnutrição induzida no período pré ou pós natal em ratos. Estudo utilizando metodologia semelhante evidenciou retardo na maturação reflexa em filhotes de mães submetidas a dietas restritivas durante a lactação (BARROS, 2006). Outro estudo realizado por Morganeet al., (1978) e (1993) mostram que a desnutrição neonatal induz deficiências no peso corporal, retardo na maturação do reflexo e atrasos na atividade locomotora. Reflexos como colocação pelas vibrissas e retificação postural exigem grande coordenação motora e estão relacionadas à maturação do cerebelo que acontece no período pós natal e está relacionado com proliferação de células neurais, sinapses e mielinização (ALTMAN; BAYER, 1997).

A ontogenia reflexa envolve a maturação do sistema visual, auditivo e motor (SMART; DOBBING, 1971), como a spirulina é considerada um alimento de alto valor biológico, devido ao seu alto teor protéico sendo de 53-62%, presença de ácidos graxos polinsaturados, pigmentos, minerais e vitaminas (LOURENÇO, 2006) ele proporcionou nutrientes suficientes para que os animais superassem a escassez de nutrientes e acelerassem o seu desenvolvimento.

Resultado similar foi encontrado observando a maturação somática onde o grupo CON G apresentou retardo na EIS e ambos os grupos tratados com spirulina apresentaram aceleração na maturação dos parâmetros analisados. Tanto a desnutrição protéica (BELLUSCIO et al., 2014) como a restrição alimentar (ZHANG et al., 2010) durante a fase inicial da vida podem retardar a maturação somática nesses animais. As proteínas participam da proliferação celular constituindo membranas plasmáticas (AOYAMA et al., 2003). Como a spirulina apresenta alto teor protéico possivelmente foi esse nutriente o responsável por essa aceleração desses parâmetros.

Sendo assim, nossos dados pela primeira vez na literatura, comprovam a eficácia da suplementação de spirulina sobre a maturação reflexa, somática e os parâmetros

físicos da prole em ratos desnutridos durante a lactação. Desta maneira, torna-se necessária a realização de mais pesquisas para comprovar os reais efeitos desta suplementação, em humanos nesse mesmo período.

7 CONCLUSÃO

A partir do que foi exposto, pode-se informar que os objetivos foram alcançados, uma vez que, buscou-se avaliar os efeitos dietéticos da suplementação de spirulina em ninhadas manipuladas durante a lactação sobre a maturação reflexa, somática e parâmetros físicos da prole. Contudo, observou-se que a suplementação com spirulina durante a lactação conseguiu reverter alguns danos induzidos pela desnutrição na prole sobre parâmetros físicos e maturação do sistema nervoso.

Sendo assim, os presentes achados servirão como parâmetro para investigar futuramente se a suplementação com a spirulina poderá ser uma alternativa para lactantes e lactentes com risco de desnutrição.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, J.; BUELKE-SAM, J.; KIMMEL, C. A.; NELSON, C. J.; REITER, L. W.; SOBOTKA, T. J.; TILSON, H. A.; NELSON, B. K. Collaborative Behavioral Teratology Study: protocol design procedures. **Behav. Toxicol. Teratol.**, v.7, n. 6, p. 579-586, 1985.
- ALBUQUERQUE, C. G. B. de; CASTRO, R. M. de; LIAL, D. S. de; TOMIYA, M. T. O. de; LIRA, L. O. de. Tratamento neonatal com inibidor da acetilcolinesterase: efeito sobre o desenvolvimento sensório-motor. Universidade Federal de Pernambuco, 2006.
- ALTMAN, J.; BAYER, S. A. **Development of the cerebellar system in relation to its evolution, structure and functions**. New York, 1997. 783 p.
- ALVES, C. R.; VOLTARELLI, F. A.; MELLO, M. A. R. de. *Spirulina* como fonte protéica na recuperação nutricional de ratos: efeitos sobre o músculo esquelético. **Lecturas: Ed. Fis. Dep.**, v.10, n. 86, p. 1-11, 2005.
- ANUPAMA, P.; RAVINDRA, L. Value-added food: Single cell protein. **Biot. Advances**, v.18, n.2, p. 459-479, 2000.
- AOYAMA, H.; SILVA, T. M. A.; MIRANDA, M. A.; FERREIRA, C. V. Proteínas tirosina fosfatases: propiedades e funções biológicas. **Quím. nova**, v.26, n. 6, p. 896-900, 2003.
- BARROS, K.M.F.T. **Efeitos da desnutrição neonatal e/ou do tratamento com agonista 5-HT 1A sobre o desenvolvimento sensório-motor e atividade exploratória em ratos**. 1999. 103f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 1999.
- 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 (NortheasternBrazil) of induced mal-nutrition delays ontogeny of reflexes and locomotor activity in rats. **Nutr. Neurosc.**, v.9, n. ½, p. 99-104, 2006.
- BELLUSCIO, L. M.; BERARDINO, B. G.; FERRONI, N. M.; CERUTI, J. M.; CÁNEPA, E. T. Early protein malnutrition negatively impacts physical growth and neurological reflexes and evokes anxiety and depressive-like behaviors. **Phys. Behav.**, v.129, p. 237-254, 2014.

BECKER, E. W. **Nutritional properties of microalgae: Potential and constraints.** En. Handbook of microalgal mass culture. Richmond, A. (ed). CRC Press Inc. Boca Raton, Florida. p. 339-419, 1994.

BURJA, A. Cianobactérias-a prolific source of natural products. **Tetrah.**, v. 590, p. 9347-9377, 2001.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos.** Lista dos novos ingredientes aprovados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária. ANVISA, 2009.

BROWN, M. R.; JEFFREY, S. W.; GARLAND, C. D. **Nutritional aspects as microalgae used in mariculture: a literature review.** CSIRO Marine reports, n° 206. 1989.

CARVALHO, M. F.; COSTA, M. K. M. E. da; MUNIZ, G. S. da; NASCIMENTO, E. do. Experimental diet based on the foods listed in the Family Budget Survey is more detrimental to growth than to the reflex development of rats. **Rev. Nut.**, Campinas, v. 26, n.2, p.177-193, 2013.

CARVAJAL, J. C. L. **Caracterização e modificações químicas da proteína da microalga spirulina (*Spirulina maxima*).** 2009. 129 f. Tese (Doutorado em Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2009.

COLLA, L. M. **Influência das condições de crescimento sobre o potencial antioxidantes da microalga *S. platensis* e seu potencial na redução da hipercolesterolemia.** 2002. 95f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos). Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2002.

CONTRERAS, A.; HERBERT, D.C.; GRUBBS, B.G.; CAMERON, I. L. Blue-green alga, spirulina, as the sole dietary source of protein in sexually maturing rats. **Nutr. Rep. Int.**, v.19, n.7, p. 49-63, 1979.

CHEL-GUERRERO, L.; PEREZ-FLORES, V.; BENTACUR-ANCONA, D.; DAVILAORTIZ, G. Functional properties of flours and protein isolates from *Phaseolus lunatus* and *Canavalia ensiformis* seeds. **J. of Agric. and Food Chem.**, p. 584-591, 2002.

CHRONAKIS, I. S. Gelation of edible blue-green algae protein isolate (*Spirulina platensis* strain pacifica): thermal transitions, rheological properties, and molecular forces involved. **J. Agric. and Food Chem.**, v. 49, n.1, p. 888-898, 2001.

DEIRÓ, T.C.B.J.; MANHÃES-DE-CASTRO, R.; CABRAL-FILHO, J. E.; BARRETO-MEDEIROS, J.M.; SOUZA, S.L.; MARINHO, S. M. O. C.; CASTRO, F. M. M.; TOSCANO, R. E.; JESUS-DEIRÓ, R. A.; BARROS, K. M. F. T. Sertraline delays the somatic growth and reflex ontogeny in neonate rats. **Phys. Behav.**, v. 87, p. 338-344, 2006.

DERNER, R. B. **Efeito de fontes de carbono no crescimento e na composição bioquímica das microalgas *Chaetoceros muellei* e *Thalassiosira fluviatilis*, com ênfase no teor de ácidos graxos poliinsaturados.** 2006. 140 p. Tese (Doutorado em Ciência dos alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

FICA, V.; OLTEANU, D.; OPRESCU, S. Use of spiruline as an adjuvant nutrient factor in the therapy of the diseases accompanying a nutritional deficiency. **Rev. Med.**, v. 36, p. 225- 238, 1984.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (2003). Disponível em: <http://www.fda.gov/Food/FoodIngredientsPackaging/GenerallyRecognizedasSafeGRAS/GRASListings/ucm153674.htm>. Acesso: julho de 2014.

FOX, W.M. Reflex-ontogeny and behavioural development of the mouse. **Anim. Behav.**, v.13, n.2, p.234-241, 1965.

FRANK, S. Metabolic adaptation in protein-energy malnutrition. **J. Am Coll Nutr.** v. 5, n.3, p. 71-81, 1986.

GRAMSBERGEN, A. Clumsiness and disturbed cerebellar development: insights from animal experiments. **Neur. Plast.**, v. 10, n. ½ , p. 129-40, 2003.

GRINSTEAD, G.S.; TOKACH, M. D.; DRITZ, S. S.; GOODBAND, R. D.; NELSEN, J. L. Effects of spirulina platesis on growth performance of weanling pigs. **Anim. Feed Sci. Techn.**, v. 83, p. 237- 247, 2000.

GUEDES, R. C. A.; ROCHA-DE-MELO, A. P., de; TEODÓSIO, N. R. Nutrição adequada: a base do funcionamento cerebral. **Ciênc. Cult.**, v.56, n.1, 2004.

GUEDES, R. C. A.; MONTEIRO, J. S.; TEODÓSIO, N. R. **Rev. Bras. Biol.**, v. 56, p. 293-301, 1996.

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 Fish. and Aquac. Circ.** Rome: FAO, nº 1034, p.33-45, 2008.

HERNÁNDEZ, A. R.; CASTILLO, J. L. B.; OROPEZA, M. A. J.; ZAGOYA, J. C. D. Spirulina máxima prevents fatty liver formation i CD-1 male and female mice with experimental diabetes. **Life Sci.**, v. 69, p. 1029-1037, 2001.

HWANG, J. H.; LEE, I. T.; JENG, K.C.; WANG, M. F.; HOU, R. C. W.; WU, S. M.; CHAN, W. C. *Spirulina* Prevents Memory Dysfunction, Reduces Oxidative Stress Damage and Augments Antioxidant Activity in Senescence- Accelerated Mice. **Nutr. Sci. Vitam.**, v.57, n.1, p. 186-191, 2011.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de Microalgas Marinhas: Princípios e aplicações.** 1 ed. São Paulo: Rima, 2006. 606 p.

MORAIS, M. G. ; RADMANN, E. M.; ANDRADE, M. R.; TEXEIRA, G. G.; BRUSH, L. R.F.; COSTA, J. A. V. Pilot scale semi continuous production of *Spirulina* biomass in southern Brazil. **Aquac.**, v. 294, p. 60-64, 2009.

MOREIRA, L. M. **Efeito de diferentes concentrações de spirulina nos perfis bioquímico, hematológico e nutricional de ratos wistar nutridos e desnutrido.** 2010. 103 f. Dissertação (Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2010.

MORGANE, P.J.; MILLER, M.; KEMPLER, T.; STERN, W.; FORBES W.; HAL, R.; BRONZINO, J.; KISSANE J. Prenatal malnutrition and development of the brain. **Neurosc. Behav. Rev.**, v.17, p.91-128, 1993.

MORGANE, P.J.; KEMPLER, T.; STERN, W.; HAWRYLEWICZ, E.; RESNICK, O.. The effects of protein malnutrition on the developing central nervous system in the rat. **Neurosc. Behav. Rev.**, v. 2, p. 137-230, 1978.

ONIS, M.M.; AKRÉ, C.; CLUGSTON, J. Bulletin of the World Health Organization, v. 71, p. 703-712, 1993.

PENNINGTON, S. N.; PENNINGTON, J. S.; ELLINGTON, L.D.; CARVER, F. M.; SHIBLEY, I. A.; JEANSONNE, N.; LYNCH, S. A.; ROBERSON, L. A.; MILES, D. S.; WORMINGTON, E. P.; MEANS, L. W. The effect of maternal malnutrition during pregnancy in the rat on the offspring's weight, glucose uptake, glucose transporter protein levels and behaviors. **Nutr. Res.**, v. 21, p.755-769, 2001.

PESANDO, D. **Antibacterial and antifungal activities of marine algae**. In: Introduction to Applied Phycology. Akatsuka, 1^a (ed). SPB Academic Publishing bv, The Hague. p. 3-26. 1990.

PICANÇO-DINIZ, C. W.; ARAÚJO, M. S.; BORBA, J. M. C.; GUEDES, R. C. A. NADPH-diaforase containing neurons and biocytin-labelled axon terminal in the visual cortex of adult rats malnourished during development. **Nutr. Neurosc.**, v. 01, p.35-48, 1998.

PHANG, S. M.; MIAH, M. S.; CHUU, W. L.; HASHIM, M. Spirulina culture in digested sago starch factory waste water. **J. Appl. Phycol.**, v. 12, p. 395-400, 2000.

PLAGEMANN, A.; RAKE, A.; HARDER, T.; MELCHIOR, K.; ROHDE, W.; DORNER, G. Reduction of cholecystinin-8S-neurons in the paraventricular hypothalamic nucleus of neonatally overfed weanling rats. **Neurosc. Lett**, v.11, p.13-16, 1998.

RODRIGUEZ, H.; GUERRERO, M. G. 1992. Products and used of Cyanobacteria (blue-green algae). In: **Profile on biotechnology**. Villa, T. G. and Abalde, J. (ed) Servicio de Publicaciones de la Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela. p. 247-260, 1992.

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

ROGATTO, G. P.; OLIVEIRA, C. A. M. de; SANTOS, J. W. dos; MANCHADO, F. B. de; NAKAMURA, F. Y.; MORAES, C. de; ZAGATTO, A. M. de; FARIA, M. C.; AFONSO, M.; MELLO, M. A. R. de. Influência da ingestão de spirulina sobre o metabolismo de ratos exercitados. **Rev. Bras. Med. Esp.**, v. 10, n. 4, 2004.

SMART, J.L.; DOBBING, J. Vulnerability of developing brain. II. Effects of early nutritional deprivation on reflex ontogeny and development of behavior in the rat. **Brain Res.**, v. 28, p. 85-95, 1971.

SILVA, M. P.; STEVANATO, E.; MOREIRA, V. M.; PORTO, M.; MELLO, M. A. R. de. Efeitos da desnutrição intra-uterina e da recuperação nutricional sobre respostas metabólicas ao exercício crônico em ratos jovens. **Mot.**, v. 5, n. 2, p. 152-159, 1999.

STALEY, J. T.; BRYANT, M. P., PFENNING, N.; HOLT, J. G. **Berg. Manual on system. Bact.** Williams and Wilkins, Baltimore, v. 3, n.1, p. 1710-1806, 1989.

TOKUSOGLU, O.; UNAL M. K. Biomass nutrient profiles of three Microalgae: *Spirulina platensis*, *Chlorella vulgaris*, and *Isochrysis galbana*. **J. of Food Sci.**, v.68, n.4, p.1144-1148, 2003.

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

TORUN, B.; CHEW, F. Protein energy malnutrition. In: Shils M, Olson JA, Shike M, editors. Modern nutrition in health and disease. Philadelphia: Lea & Febiger, p.950-976, 1994.

ZHANG, Y.; LI, N.; YANG, J.; ZHANG, T.; YANG, Z. Effects of maternal food restriction on physical growth and neurobehavior in Wistar rats. **Brain Res. Bull**, v. 83, p. 1-8, 2010.

WEBB, K. L.; CHU, F.L. E. Phytoplankton as a food source for bivalve larvae. In: **Proceeding of 2nd International Conference on Aquaculture Nutrition: Biochemical and physiological approach to shell fish nutrition.** Pruder, G. D. Langdon, C and Coklin, D. (eds). Louisiana State University, Baton Rouge, L. A. p. 272-291, 1982.

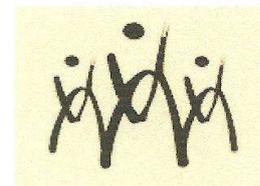
WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). [cited 2011 Oct. 19] . Available from: <http://www.who.int/en>.

ANEXO

ANEXO A – Certificado de aprovação de Comitê de Ética



Universidade Federal de Campina Grande
Centro de Saúde e Tecnologia Rural
Comissão de Ética em Pesquisa
Av. Sta Cecília, 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