

## Uso da *Spirulina platensis* na recuperação de ratos submetidos à dieta de restrição proteica

### Use of *Spirulina platensis* for recovering rats under protein restriction diet feeding

RIALA6/1258

Nilcimelly Rodrigues DONATO<sup>1\*</sup>, João Andrade da SILVA<sup>2</sup>, Maria José de Carvalho COSTA<sup>3</sup>, Mayara Queiroga BARBOSA<sup>2</sup>, Francisca Martins BION<sup>3</sup>, Edvaldo Vasconcelos de CARVALHO FILHO<sup>4</sup>, Robson Cavalcante VERAS<sup>5</sup>, Isac Almeida de MEDEIROS<sup>5</sup>

\*<sup>1</sup>Endereço para correspondência: Curso de Nutrição, Centro de Educação e Saúde - CES, Universidade Federal de Campina Grande, Campus Cuité Olho D'Água da Bica S/N -58175-000, Cuité, PB, Brasil. Fone: (83) 33721900/33721809. e-mail: mellydonato@ufcg.edu.br

<sup>2</sup>Laboratório de Nutrição Experimental, Departamento de Nutrição, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brasil

<sup>3</sup>Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil

<sup>4</sup>Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Trairi, Santa Cruz, RN, Brasil

<sup>5</sup>Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Departamento de Farmácia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil

Recebido: 30.09.2009 – Aceito para publicação: 22.03.2010

#### RESUMO

O presente estudo avaliou a ação da espirulina como fonte proteica na recuperação do estado nutricional de ratos machos adultos. Foram estudados 48 animais, divididos em quatro grupos de acordo com a dieta: grupo controle de caseína (CC) e grupo controle de espirulina (CE), que receberam dieta equilibrada durante todo o experimento; grupo recuperado de caseína (RC) e grupo recuperado de espirulina (RE), que consumiram dieta com restrição proteica durante 60 dias e, a seguir, receberam a dieta equilibrada à base de caseína e espirulina, respectivamente, durante 90 dias. Foram analisadas a composição centesimal e a microbiológica da *Spirulina platensis*, bem como o ganho em peso dos animais. Após o sacrifício dos animais, foram realizadas as análises para determinação do peso do fígado e do aspecto histopatológico, da gordura corporal e dos constituintes sanguíneos. A espirulina utilizada continha 59,65% de proteína, 3,72% de lipídios, 17,53% de resíduo mineral fixo e 7,81% de umidade, e não apresentou contaminação por microrganismos. Não houve diferenças significativas quanto à gordura corporal e constituintes proteicos séricos entre os quatro grupos de animais. Em relação ao ganho de peso, não foi constatada diferença entre os grupos CC e CE, nas diferentes semanas de números 1, 5, 6, 7 e de 10 a 18, contudo esta ocorrência não foi observada nos grupos RC e RE. O peso relativo do fígado diminuiu nos animais com restrição proteica, principalmente no grupo RC, porém sem alterações histopatológicas, e os constituintes lipídios tiveram valores diminuídos. Conclui-se que o uso da *Spirulina platensis* na recuperação de ratos com dieta de restrição proteica reduz a lipemia.

**Palavras-chave.** Cianobactérias, lipemia, histopatologia, hemoparâmetros, desnutrição proteico-calórica.

#### ABSTRACT

This investigation aims at evaluating the effects of spirulin as a protein source for recovering the nutritional status of adult male rats. Forty-eight animals were studied and divided by four groups according to the feed diet: casein control (CC) group and spirulin control (SC) group, which received balanced diet during the whole experiment; recovered casein (RC) group and recovered spirulin (RS) group, which received a protein-restriction diet for 60 days and, afterwards, they were fed with balanced diet based on casein and spirulin, respectively, for 90 days. The centesimal and microbiological composition of *Spirulina platensis* and animals weight gains could be evaluated. After being euthanized the animal's liver weight and its histopathologic aspects were analyzed, besides the body fat and blood components. The spirulin used contained 59.65% of protein, 3.72% of lipids, 17.53 of fixed mineral residue and 7.81% of humidity, and showed no microorganism contamination. Significant differences on body fat and serum protein contents could not be observed among the four animal groups. Regarding the weight gains, there was no difference among the animals of groups CC and SC in different weeks of experiments numbers 1, 5, 6, 7 and from 10 to 18, but these findings were not observed among the RC and RS groups. The relative liver weight decreased in animals under protein restriction, mainly in the group RC, but no histopathological alterations could be observed, and lipid contents decreased. In conclusion, the use of *Spirulina platensis* for recovering rat on protein restriction diet induces a reduction of lipemia.

**Key words.** cyanobacterium, lipemia, histopathology, hemoparameter protein-calorie malnutrition.

## INTRODUÇÃO

Os resultados das pesquisas realizadas pela FAO<sup>1</sup>, em ciências da Nutrição, em todos os continentes, demonstram que, embora em termos percentuais tenha havido decréscimo na incidência de desnutrição entre 1990 e 1999, em números absolutos, 623,7 milhões de pessoas ainda são acometidas por essa carência nutricional.

De acordo com Correia e Campos<sup>2</sup>, Pablo et al<sup>3</sup>, Pirlich et al<sup>4</sup> e Wyszynski et al<sup>5</sup>, a prevalência da desnutrição proteico-calórica a nível hospitalar, como também em idosos<sup>6,7</sup>, é um problema atual que interfere na qualidade de vida dos indivíduos acometidos. Em relação ao idoso, sabe-se que são mais vulneráveis ao desenvolvimento desta carência que, assim, constitui um fator de risco nesta faixa etária<sup>8-10</sup>. Segundo Fabre et al<sup>11</sup> a desnutrição é frequente em pacientes idosos hospitalizados, com doenças agudas ou crônicas associadas ao estado de hipermetabolismo das concentrações de proteínas viscerais. Além disso, idosos desnutridos apresentam um maior risco de morbidade, portanto, necessita ser diagnosticada e tratada rapidamente para evitar essas consequências negativas.

O planejamento de estratégias para tratar esta doença está atrelado a díade custo-benefício, o que reforça a necessidade de descoberta de novas fontes proteicas para melhorar a recuperação de indivíduos desnutridos.

Além da agricultura e da pecuária convencional, outras fontes proteicas têm sido pesquisadas com este propósito. Neste sentido, microrganismos têm recebido atenção especial como fonte alternativa de proteína na dieta. A expressão biomassa ou single cell protein (scp) foi proposta por Tannenbaum<sup>12</sup>, como um termo genérico para indicar fontes de proteínas brutas ou refinadas, originárias de microrganismos. Cianobactérias, incluindo a *Spirulina platensis*, existem na terra há 3,5 bilhões de anos<sup>13</sup>. *Arthrospira platensis*, ou espirulina (SP), é uma cianobactéria microscópica e filamentosa (alga verde-azulada) que tem longa história no uso como alimento<sup>14</sup>. A *Spirulina platensis* é conhecida por sua qualidade nutricional, índice de proteína de alto valor biológico, bem como de outros componentes como vitaminas, minerais e ácidos graxos essenciais com destaque para o ácido  $\gamma$ -linolênico e o  $\beta$ -caroteno<sup>15</sup>. Recentemente, os pesquisadores têm dado mais atenção ao estudo dos efeitos terapêuticos da *Spirulina platensis*. Além de sua eficácia na redução da hiperlipidemia, o diabetes e a pressão arterial elevada, nos seres humanos e nos animais, também foram relatados os efeitos anti-viral e cancerígeno da *S. platensis* administrada via oral<sup>16</sup>. De

acordo com Babadzhyanov et al<sup>17</sup>, a *S. platensis* contém em média 65% de proteína, enquanto que a carne e os peixes contêm 15-20%; a soja, 35%; o leite desidratado, 35%; os amendoins, 25%; os ovos, 12%; e os grãos, 8-14%.

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<sup>5,18</sup>.

O fígado é considerado o órgão central do metabolismo do organismo, desempenhando funções importantes para a manutenção do corpo<sup>18</sup>. Em caso de desnutrição proteica, para a manutenção da homeostase, do fígado o organismo prioriza a perda da massa hepática, com hipoplasia e atrofia, em vez de alterar sua função<sup>14</sup>.

Considerando a alta prevalência de desnutrição na população idosa e hospitalar, o alto índice proteico da *Spirulina platensis* e sua facilidade de cultivo, a pesquisa teve como objetivo estudar o valor nutricional desta alga em rato, suplementando dieta desequilibrada em proteína, como também verificar o consumo da *Spirulina platensis* como fonte proteica em consumo de dieta equilibrada por meio de testes biológicos e parâmetros bioquímicos. A pesquisa traz uma sugestão de uma nova fonte proteica, alternativa, para a produção de produtos alimentícios enriquecidos com proteína, por exemplo, dietas enterais, uma vez que a desnutrição atualmente atinge pessoas idosas e pacientes hospitalizados que necessitam de uma alimentação concentrada, e é importante por contribuir com o esclarecimento dos efeitos da adição ou substituição de proteína na dieta por *Spirulina platensis*.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material

A espirulina utilizada foi a *Spirulina platensis* fornecida pela Mocó Agropecuária Ltda desidratada em estufa de circulação forçada de ar a  $55 \pm 3^\circ\text{C}$  por 12h. Os animais foram provenientes da UFPE e as análises foram realizadas na UFPB.

### Métodos

#### Análises físico-químicas

As determinações de: umidade, resíduo mineral fixo, teor de nitrogênio e lipídeos foram realizadas pelos métodos da AOAC<sup>19</sup>.

### Análises microbiológicas

Foram realizadas as Contagens Padrão em Placas (CPP) de bactérias aeróbias mesófilas e bolores e leveduras, determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e fecais (termotolerantes) empregando as diluições de  $10^{-1}$  a  $10^{-3}$  <sup>20</sup>.

### Composição das dietas experimentais

A dieta CC (controle caseína) e RC (recuperação com caseína) foram à base de caseína comercial com 12 % de proteína, a dieta de restrição proteica foi à base de caseína com 7% de proteína e a de *Spirulina platensis* CE (controle espirulina) e RE (recuperação com espirulina) em concentrações de 12% de proteína, assim os grupos controles receberam durante todo o experimento dieta equilibrada com 12% de proteína e os grupos que sofreram restrição, receberam inicialmente uma dieta com 7% de proteína, derivada da caseína para posteriormente serem recuperados de acordo com as dietas dos grupos controle.

As dietas foram oferecidas diariamente em quantidade suficiente para garantir o consumo ad libitum, em forma de pallets, o coeficiente de eficácia alimentar foi analisado e não apresentou alterações entre os grupos. Os teores dos nutrientes foram equilibrados segundo as recomendações de Reeves Nielsen e Fahey do American Institute of Nutrition – AIN<sup>21</sup> (Tabela 1).

**Tabela 1.** Composição das dietas à base de caseína e *Spirulina platensis*

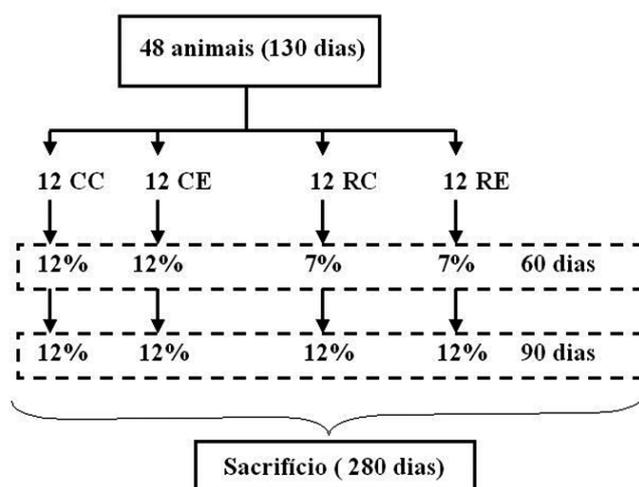
Componentes (g)	CC / RC	CE / RE	Dieta de desequilíbrio proteico
Caseína	16	-	9,34
Espirulina	-	17,91	-
Óleo vegetal	4	2,61	7
Celulose	5	3,66	5
Mistura de Minerais	3,5	3,5	3,5
Mistura Vitamínica	1	1	1
DL Metionina	0,18	0,18	0,18
B. Colina	0,25	0,25	0,25
Amido	70,07	70,89	73,73

### Ensaio biológico

Foram utilizados machos adultos com 130 dias de idade, albinos, da linhagem Wistar, mantidos em gaiolas individuais, sob condições-padrão de iluminação (ciclo

claro/escuro de 12/12 horas), com temperatura em torno de  $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ <sup>22</sup>, divididos em 4 grupos de 12 animais.

Aos grupos CC (controle caseína) e CE (controle espirulina) foi administrada dieta à base de caseína e espirulina, respectivamente, com a concentração proteica de 12%, durante todo o experimento. Os grupos RC (recuperado caseína) e RE (recuperado espirulina) receberam dieta desequilibrada, com 7% de proteína (caseína) durante 60 dias e posteriormente foram recuperados com dietas contendo caseína (12%) e espirulina (12%) durante 90 dias, perfazendo um total de 150 dias do estudo, segundo o esquema (Figura 1).



**Figura 1.** Distribuição dos animais segundo o esquema experimental. Grupos: CC = Controle Caseína, CE = Controle Espirulina, RC = Recuperado Caseína e RE = Recuperado Espirulina

Aos 280 dias de idade os animais foram submetidos ao jejum de 12 horas, anestesiados com Cloridrato de Xilazina e, após a retirada do material necessário foram sacrificados com uma dose maior do anestésico. O sangue foi retirado por técnica de punção cardíaca, para a realização das dosagens bioquímicas, o fígado para calcular o peso relativo e a carcaça para determinação da gordura corporal.

O projeto foi analisado e aprovado para execução pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (Cepa) do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal da Paraíba, registro nº 0105/07.

### Avaliação do ganho de peso

Os animais foram pesados semanalmente do início ao final do experimento em balança (Ohaus – Galaxy-400), para construção de um gráfico de ganho de peso.

### Peso relativo do fígado

O peso do fígado foi determinado em balança analítica (AND-HR-120) e o peso relativo foi determinado pela sua quantificação, em relação ao peso do animal.

### Percentual de gordura Corporal

Após o sacrifício dos animais, foi retirado todo o trato gastrointestinal e a carcaça foi congelada (-25°C). Individualmente foram triturados em moinho - Bemmar: BM/23, homogeneizado, pela técnica de quarteamento, segundo recomendações de Cecchi<sup>23</sup>. O percentual de gordura corporal foi determinado por extração contínua utilizando o método de Soxhlet<sup>19</sup>.

### Histopatológico

Foram retirados fragmentos do lóbulo direito do fígado para realização da avaliação histopatológica. As peças retiradas foram lavadas em solução salina (0,9%) e fixadas em solução de formol tamponado (10%) por um período de 48 horas. Em seguida, as peças foram submetidas a um processo de desidratação em série crescente de álcoois e diafanização em xilol, em tempo previamente padronizado para todos os grupos, e então incluídas em parafina. Após inclusão, foram seccionados com 5µm de espessura e corados pelo método da Hematoxilina-Eosina para o exame histológico em microscópio de luz. Durante o exame foram observadas se haviam alterações histológicas.

### Exames bioquímicos

As concentrações séricas foram determinadas em espectrofotômetro, em sistema automatizado A-25 Biosystems (Barcelona, Espanha), usando kits Biosystems. Os valores de LDL-colesterol foram calculados segundo Friedewald et al<sup>24</sup>, e os valores de globulinas foram obtidos subtraindo o valor de proteínas totais pelo de albumina.

### Análise estatística

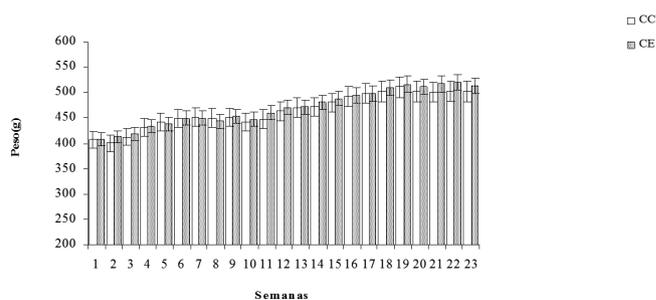
Foi empregado o Teste t de Student com nível de significância ( $p < 0,05$ ) para análise da composição da *Spirulina platensis* (expresso em média  $\pm$  erro padrão da média). Para a análise dos dados do ensaio biológico foi aplicada a Análise de Variância (ANOVA) para comparações entre os diferentes grupos. Quando a ANOVA constava a existência de diferença, foi utilizado o Teste de Tukey, com a finalidade de identificar quais grupos diferiram entre si. Quando não foi possível aplicar o teste paramétrico, foi utilizado o não paramétrico de Kruskal-

Wallis, seguido do Teste de Mann-Whitney. Todos os testes foram feitos com significância estatística em nível crítico de 5%. Para a realização dos testes estatísticos foi utilizado o pacote estatístico Sigma Stat versão 3.1.

## RESULTADOS

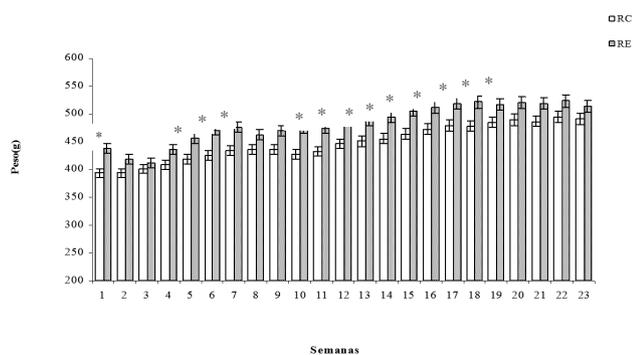
Os resultados das análises da composição centesimal da *Spirulina platensis* utilizada nas dietas experimentais: 59,65% de proteína e 3,29% de lipídios. Em relação à umidade, o valor percentual foi de 7,81% e a média para resíduo mineral fixo foi 7,53%. Nas análises microbiológicas não foi encontrado nenhum tipo de microrganismo que comprometesse a qualidade higiênica da biomassa.

O gráfico da Figura 2 expressa o ganho de peso semanal dos grupos CC e CE. Percebe-se que não há diferença estatística entre os grupos controle durante todo o experimento, mas na maioria das semanas o grupo CE teve maior ganho de peso.



**Figura 2.** Ganho de peso dos grupos Controle Caseína e Controle Espirulina. Os valores estão expressos em média  $\pm$  desvio padrão. Teste t de Student,  $p < 0,05$

Durante a desnutrição proteica (dieta com 7% de proteína) houve diferenças estatísticas entre os grupos RC e RE e, posteriormente o grupo RC teve perda de peso significativamente superior ao RE. No período de recuperação, durante o qual os grupos receberam dieta com 12% de proteína, o ganho de peso foi significativamente maior no grupo recuperado com a fonte proteica proveniente da *Spirulina platensis* (grupo - RE), entre o intervalo da 10ª a 18ª semanas, posteriormente não apresentou diferença estatística em relação ao grupo RC, porém este apresentou um ganho de peso inferior em todo o período de recuperação (Figura 3).



**Figura 3.** Ganho de peso (g) dos grupos Recuperado Caseína e Recuperado Espirulina durante a depleção (semanas 1 – 9) e recuperação (semanas 10 – 23). Os valores estão expressos em média  $\pm$  desvio padrão. O símbolo (\*) indica diferenças (Teste t de Student,  $p < 0,05$ )

Na Tabela 2 encontra-se o peso do fígado dos animais. Verifica-se que o maior peso foi do grupo CC.

**Tabela 2.** Peso relativo do fígado

Grupos	Peso de Fígado (g/100g)
Controle Caseína	3,11 $\pm$ 0,51 <sup>a</sup>
Controle Espirulina	2,51 $\pm$ 0,18 <sup>b</sup>
Desnutrido Recuperado com Caseína	2,63 $\pm$ 0,35 <sup>cb</sup>
Desnutrido Recuperado com Espirulina	2,73 $\pm$ 0,21 <sup>ab</sup>

Os valores estão expressos em média  $\pm$  desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indica diferenças (Kruskal Wallis, seguido de Mann-Whitney  $p < 0,05$ )

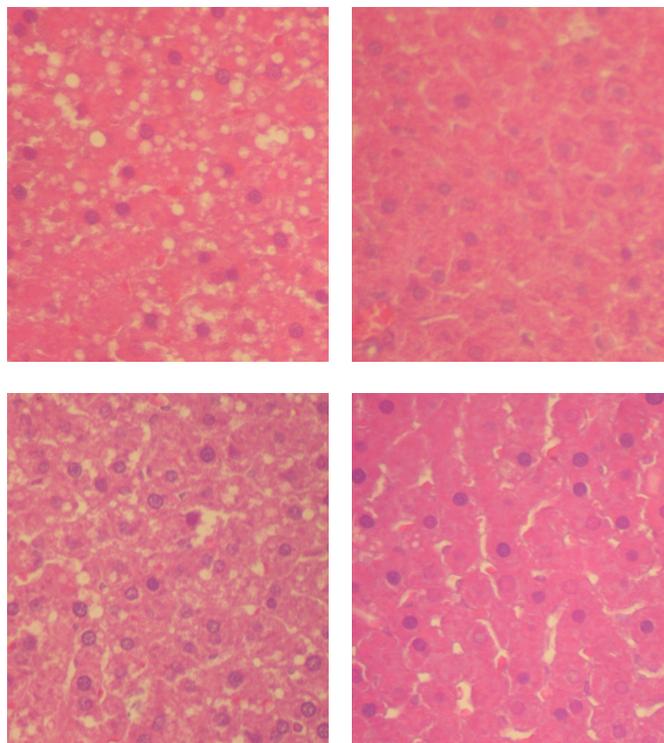
Na Figura 4 observa-se a lâmina histológica do lóbulo direito do fígado, onde pode ser observado que não apresenta nenhuma anormalidade histopatológica e em nenhum dos grupos foi verificada a presença de células desconhecidas, apenas uma compatibilidade nas lâminas A e C com uma esteatose microvesicular.

Na Tabela 3 observam-se os valores de gordura corporal de todos os grupos, não havendo diferença entre os grupos, embora os grupos recuperados apresentem menor quantidade de gordura visceral.

Na Tabela 4 estão dispostas as concentrações séricas de proteínas totais, albumina, globulina, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL e triglicerídios de todos os grupos nas condições de repouso e jejum de 12h.

Foi observado que em relação às proteínas totais, albumina e globulina não houve diferença estatística entre os grupos.

Nos componentes lipídicos não foi observada diferença significativa entre os grupos, no que diz respeito às frações de colesterol HDL e LDL. Os grupos alimentados com *Spirulina platensis* apresentaram concentrações inferiores. Os níveis séricos de colesterol total e triglicerídios apresentaram uma redução nos grupos que consumiram as dietas proteicas à base da *Spirulina platensis*.



**Figura 4.** Histopatologia do fígado aumento da lente óptica de 40x. A = Grupo Controle Caseína; B = Grupo Controle Espirulina; C = Grupo Recuperado Caseína; D = Grupo Recuperado Espirulina

**Tabela 3.** Percentual de gordura corpórea dos animais

Grupos	Gordura corporal (g/100g)
Controle Caseína	32,95 $\pm$ 7,48 <sup>a</sup>
Controle Espirulina	31,91 $\pm$ 6,17 <sup>a</sup>
Desnutrido Recuperado com Caseína	30,68 $\pm$ 8,78 <sup>a</sup>
Desnutrido Recuperado com Espirulina	30,95 $\pm$ 9,62 <sup>a</sup>

Os valores estão expressos em média  $\pm$  Desvio padrão. Letras minúsculas distintas na mesma coluna caracterizam diferença estatística (ANOVA, seguida de Tukey,  $p < 0,05$ ) entre os grupos

**Tabela 4.** Teores médios dos parâmetros hematológicos de ratos submetidos a dietas à base de caseína e *Spirulina platensis*

Constituintes	Grupos			
	CC	CE	RC	RE
Proteínas Totais (mg/dL)	6,99 ± 0,51 <sup>a</sup>	6,90 ± 0,74 <sup>a</sup>	6,91 ± 0,30 <sup>a</sup>	7,15 ± 0,40 <sup>a</sup>
Albumina (mg/dL)	3,34 ± 0,41 <sup>a</sup>	3,14 ± 0,37 <sup>a</sup>	3,26 ± 0,35 <sup>a</sup>	3,30 ± 0,28 <sup>a</sup>
Globulina (mg/dL)	3,64 ± 0,26 <sup>a</sup>	3,75 ± 0,43 <sup>a</sup>	3,65 ± 0,23 <sup>a</sup>	3,85 ± 0,30 <sup>a</sup>
Colesterol Total (mg/dL)	82,22 ± 21,79 <sup>abc</sup>	68,52 ± 13,62 <sup>b</sup>	95,41 ± 31,10 <sup>a</sup>	68,85 ± 7,10 <sup>c</sup>
HDL - Colesterol (mg/dL)	33,68 ± 8,85 <sup>a</sup>	27,10 ± 6,30 <sup>a</sup>	32,20 ± 9,66 <sup>a</sup>	27,13 ± 4,98 <sup>a</sup>
LDL - Colesterol (mg/dL)	22,52 ± 14,61 <sup>a</sup>	22,48 ± 19,78 <sup>a</sup>	22,32 ± 13,82 <sup>a</sup>	21,06 ± 8,79 <sup>a</sup>
Triglicerídeos (mg/dL)	140,60 ± 58,77 <sup>ab</sup>	127,15 ± 43,20 <sup>ab</sup>	190,89 ± 89,26 <sup>a</sup>	104,00 ± 40,16 <sup>b</sup>

Os valores estão expressos em média ± desvio padrão. Letras minúsculas distintas na mesma linha caracterizam diferença estatística (ANOVA, seguida de Tukey,  $p < 0,05$ ) entre os grupos. Grupos: CC = Controle Caseína, CE = Controle Espirulina, RC = Recuperado Caseína e RE = Recuperado Espirulina

## DISCUSSÃO

Na busca de uma fonte proteica de rápida reprodução e boa qualidade, a alga *Spirulina platensis* surge como uma alternativa deste nutriente atendendo essas exigências, sendo, no entanto, necessário compará-la com uma proteína de alto valor biológico como a caseína.

A *Spirulina platensis* utilizada neste experimento apresentou a média do extrato etéreo de 3,29% diferindo de pesquisas anteriores em que a concentração de lipídios foi de 14,3%<sup>17</sup>, como também os valores entre 14,2 e 16,3%<sup>25</sup>, e aproximando-se do valor encontrado por Nagoaka et al<sup>26</sup> de 7,8%. O percentual de proteína da *Spirulina platensis* encontrado foi de 59,65%, valor aproximado dos percentuais encontrados por Babadzhanov et al<sup>17</sup> como também na pesquisa de Nagoaka et al<sup>26</sup> e de Pelizer et al<sup>27</sup>, em que afirma que este valor pode variar de 55 à 63,2% dependendo das condições de cultivo. Condições de cultivo como temperatura, pH, iluminação, meio de cultura, monitoramento do crescimento e a cultura iniciadora, influenciam em qualidade e em quantidade do perfil aminoacídico da *Spirulina platensis*<sup>17</sup>. Em condições adequadas produz quantidades significativas de aminoácidos essenciais como valina, isoleucina e leucina, comparada a caseína<sup>26</sup>.

Na pesquisa de Araújo et al<sup>28</sup>, onde foram comparadas biomassas de espirulina originadas do México, China e Cuba, em diferentes concentrações na

dieta, o ganho de peso dos grupos que consumiram dietas com biomassas de espirulina de origens diferentes, em nenhum momento diferiu do grupo controle. Em outra pesquisa, realizada por Nagoaka et al<sup>26</sup>, onde também foram comparados animais que receberam dietas à base de espirulina comparadas com animais que receberam dieta à base de caseína, não houve diferença entre os grupos experimentais e controle em relação ao ganho de peso, comprovando a eficiência da espirulina como fonte alimentar. Em uma pesquisa realizada por Kern et al<sup>29</sup>, comparando a proteína da soja com a caseína, também não houve diferença em relação ao ganho de peso. Na pesquisa realizada por Prazeres et al<sup>25</sup>, foi observado que a desnutrição a partir da dieta básica regional (DBR) e a recuperação com dieta equilibrada segundo a AIN-93, obtiveram-se diferença do ganho de peso entre grupo desnutrido e grupo recuperado.

As alterações anatômicas na deficiência proteico-energética podem ser generalizadas, como hipoplasia e atrofia dos tecidos e, conseqüentemente, diminuição do tamanho corporal e dos órgãos<sup>30</sup>. Portanto, a análise do peso de diversos órgãos permite verificar o comprometimento de sua massa e de sua estrutura, em detrimento do desequilíbrio proteico<sup>14</sup>. De acordo com Boza et al<sup>31</sup>, em casos de restrição alimentar, pode ocorrer redução de 30% no peso do fígado e que essa perda é proporcionalmente maior quando comparada à perda de massa corporal.

Em vários estudos foram relatados o efeito anticancerígeno e hipolipidêmico que a espirulina exerce sobre o fígado<sup>32-34</sup>. Na pesquisa de Nagaoka et al<sup>26</sup>, o peso do fígado de grupos não submetidos à restrição proteica, consumindo caseína e espirulina, não apresentou diferenças estatísticas. Nessa pesquisa observaram-se diferenças entre os grupos CC e CE, como também entre os grupos recuperados, onde o peso do fígado do grupo RE foi superior ao grupo RC, no entanto, não atingiu estatisticamente o peso do grupo CC. Este aumento do peso do fígado no grupo RE pode ser elucidado pelas características fisiológicas de regeneração deste órgão, uma vez que a resposta a metabolização a substâncias incomuns estimula as reações de proteção do fígado<sup>32-34</sup>. Podendo a espirulina ser incluída como opção na recuperação de ratos que foram submetidos à restrição proteica.

Foi verificada por Nagaoka et al<sup>35</sup> a diferença do peso do fígado entre o grupo controle e o grupo experimental com dieta à base de soja; neste último, o peso relativo do fígado foi inferior ao do grupo controle. Na presente pesquisa não foi observada morte celular ou anormalidades histológicas nas células hepáticas, apenas redução do peso relativo do fígado em grupos submetidos à restrição proteica coerentes com os dados da pesquisa de Kouda et al<sup>36</sup>, onde foi verificado o efeito da restrição dietética, em curto prazo, no metabolismo das proteínas e na morte e proliferação de células do fígado, chegando a conclusão que o grupo experimental que passou por jejum teve o peso do fígado reduzido, justificado pela morte de células hepáticas e redução do glicogênio armazenado no fígado, porém os resultados da pesquisa não foram suficientes para detectar que em curto prazo o jejum proporciona anormalidades no metabolismo das proteínas no fígado.

Ugochukwu et al<sup>37</sup>, em pesquisa sobre a modificação da resposta inflamatória durante a restrição calórica em fígados de ratos diabéticos, observou que a restrição de calorias reduziu o peso do fígado do grupo não diabético também. Na pesquisa de Machado et al<sup>38</sup> observou-se o efeito de probiótico na hipercolesterolemia em ratos e verificou que o peso do fígado dos animais com dieta hipercolesterolemia suplementada ou não com probiótico foram superiores a dos animais que receberam dieta sem colesterol, concluindo que o colesterol é que proporciona o aumento do volume do fígado.

O percentual de gordura corporal e sua distribuição são relevantes e, especificamente, a gordura visceral parece ser um dos fatores responsáveis pelo aparecimento de doenças crônicas degenerativas<sup>39</sup>. Apesar de não ter havido

diferença entre os grupos em se tratando da gordura corporal, pode-se perceber que os maiores valores são aqueles dos grupos CC e CE, que receberam dieta equilibrada durante todo o experimento. Em relação aos parâmetros bioquímicos proteicos (proteínas totais, albumina e globulina), nessa pesquisa não foi encontrada diferença estatística entre os quatro grupos. Provavelmente, após a recuperação houve uma normalização da concentração de proteínas totais sanguíneas. Resultados semelhantes foram encontrados por Nagaoka et al<sup>35</sup> e Torres-Dúran et al<sup>33</sup> entre os grupos de animais controle e alimentados com outras fontes proteicas. Na pesquisa de Kouda et al<sup>36</sup> houve diferença em relação às proteínas totais entre o grupo controle e em animais submetidos à dieta de restrição que consistia em jejum de 48 horas, o segundo grupo apresentou concentrações inferiores, o que não aconteceu como teor de albumina e colesterol total.

Na pesquisa de Nagaoka et al<sup>26</sup> as concentrações de colesterol total foram inferiores no grupo que consumiu espirulina em relação ao grupo controle; este resultado é semelhante ao da presente pesquisa, no qual o valor do colesterol total nos grupos CE e RE apresentaram-se inferior estatisticamente.

Na comparação da dieta à base de soja com a dieta à base de caseína, Nagaoka et al<sup>35</sup>, observou-se que o colesterol total e os triglicerídios não apresentaram diferença, porém, os valores das frações HDL e LDL foram diferentes, este resultado divergiu dos resultados encontrados por Kern et al<sup>29</sup> dos efeitos da soja nas frações lipídicas sanguíneas, que encontrou diferença apenas no colesterol total.

Brandsch et al<sup>40</sup>, pesquisaram os efeitos das proteínas das carnes bovina, suína e de peru na concentração sanguínea de lipídios em ratos, com dietas à base de soja e caseína, e perceberam que os valores de colesterol total e frações HDL e LDL não diferiu entre os grupos, porém, os valores de triglicerídios ficaram menores no grupo alimentado com a proteína da soja.

Considerando as variáveis pesquisadas, o uso da *Spirulina platensis* pode ser recomendado como substituto da caseína em modelos de pesquisas com animais consumindo dieta equilibrada segundo a AIN-93, com relação às variáveis: peso, constituintes bioquímicos e gordura de carcaça. No entanto, quanto ao uso desta para recuperar ratos que consumiram dieta com restrição proteica, pode-se concluir que, embora os valores de colesterol total e triglicerídios se apresentassem menores e todas as outras variáveis bioquímicas se apresentassem semelhantes, o peso do fígado foi maior. Sugere-se, então,

que sejam realizadas outras pesquisas mais prolongadas para se observar as diferenças entre grupos recuperados com as diversas dietas no que diz ao peso do fígado e à composição aminoacídica da *Spirulina platensis*.

#### AGRADECIMENTO

Os autores agradecem à Fazenda Tamanduá pela doação da *Spirulina platensis*, à Prof<sup>fa</sup>. Maria Lúcia da Conceição por disponibilizar o Laboratório de físico-química e microbiologia dos alimentos da UFPB, à Prof<sup>fa</sup> Rita de Cássia por dispor o Laboratório de Bromatologia da UFPB, à Equipe do Laboratório de Nutrição Experimental da UFPE, a toda a equipe do Laboratório de Nutrição Experimental da UFPB e ao Programa de Pós Graduação em Ciências da Nutrição da UFPB.

#### REFERÊNCIAS

1. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Assessment of the World Food Security Situation. Committee on World Food Security Twenty-Seventh Session, Rome, May 28, June 1, 2001.
2. Correia MI, Campos AC. Prevalence of hospital malnutrition in Latin America: the multicenter ELAN study. *Nutrition*. 2003;19: 823-5.
3. Pablo AM, Izaga MA, Alday LA. Assessment of nutritional status on hospital admission: nutritional scores. *Eur J Clin Nutr*. 2003; 57:824-31.
4. Pirlich M, Schütz T, Norman K, Gastell S, Lübke HJ, Bischoff SC et al. The German hospital malnutrition study. *Clin Nutr*. 2006; 25:563-72.
5. Wyszynski DF, Perman M, Crivelli A. Prevalence of hospital malnutrition in Argentina: preliminary results of a population-based study. *Nutrition*. 2003; 19:115-9.
6. D'Souza AL. Ageing and gut. *Postgrad Med J*. 2007; 83:44-53.
7. Moynihan PJ. The relationship between nutrition and systemic and oral well-being in older people. *J Am Dental Assoc*. 2007;138:493-497.
8. Kyle UG, Unger P, Mensi N, Genton L, Pichard C. Nutrition status in patients younger and older than 60 y at hospital admission: a controlled population study in 995 subjects. *Nutrition*. 2002; 18:463-9.
9. Volkert D, Hubsch S, Oster P, Schlierf G. Nutritional support and functional status in undernourished geriatric patients during hospitalization and 6 month follow up. *Aging Clin Exp Res*. 1996; 8:386-95.
10. Waitzberg DL, Caiaffa WT, Correia I TD. Hospital Malnutrition: The Brazilian National Survey (IBRANUTRI): a Study of 4000 Patients. *Nutrition*. 2001; 17: 573-80.
11. Fabre EE, Raynaud-Simon A, Golmard JL, Hebert M, Dulcire X, Succari M et al. Gene polymorphisms of oxidative stress enzymes: prediction of elderly renutrition. *Am J Clin Nutr*. 2008; 87:1504-12.
12. Tannenbaum SR. Single cell protein. Massachusetts: MIT; 1975. v.2.
13. Yada E, Nagata H, Noguchi Y, Kodera Y, Nishimura H, Inada Y et al. An Arginine Specific from *Spirulina platensis*. *Mari Biothec*. 2005;7: 474-80.
14. Loh SP, Omar H, Abdullah SA, Ismail M. Effects of calcium supplementation on iron bioavailability from spirulina. *Nutr Food Sci*. 2006; 36:429-37.
15. Belay A, Ota Y, Miyakawa K, Shimatsu H. Current knowledge on potential health benefits of spiruline. *J Appl Physic*. 1993; 5:235-41.
16. Belay A. The potential application of *Spirulina (Arthorspira)* as a nutritional and therapeutic supplement in health management. *J Am Nutraceutic*. 2002; 5:27-48.
17. Babadzhanyan AS, Abdusamatova N, Yusupova FM, Faizullaeva N, Mezhlumyan LG, Malikova MKh. Chemical Composition of *Spirulina platensis* cultivated in Uzbekistan. *Chem Nat Comp*. 2004; 40:276-9.
18. Layman DK, Boileau RA, Erickson DJ, Painter JE, Shiue H, Sather C et al. A reduced ratio of dietary carbohydrate to protein improves body composition and blood lipid profiles during weight loss in adult women. *J Nutr*. 2003; 7:133-411.
19. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 1975.
20. Vanderzant C, Splittstoesser DF. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3<sup>a</sup> ed. Washington: APHA; 1992.
21. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93. Purified diets for laboratory rodents; final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of AIN-76A Rodent Diet. *J Nutri*. 1993; 123:1939-51.
22. Merusse JLB, Lapichik VBV. Instalações e equipamentos. In: De Luca RR, Alexandre SR, Marques T, Souza NL, Merusse JLB, Neves SP (Eds.). Manual para técnicos em bioterismo. 2.ed. São Paulo: Winner Graph. 1996. p. 15-25.
23. Cecchi HM. Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos. 2<sup>a</sup> ed. Campinas: Unicamp; 2003. p. 22.
24. Friedewald WT, Levi RI, Fredrickson, DS. Estimation of the concentration of low density lipoproteins cholesterol in plasma without use of the ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972; 18:499-502.
25. Prazeres FG, Pessoa DCNP, Bion FM, Arnauld TMS. Exercício físico, crescimento e desenvolvimento: estudo em ratos jovens desnutridos pela dieta básica regional (DBR) e recuperados nutricionalmente. *Rev Bras Educ Fís*. 2004; 18:7-16.
26. Nagoaka S, Shimizu K, Kaneko H, Shibayama F, Morikawa K, Kanamaru Y et al. A novel protein C-phycoerythrin plays a crucial role in the hypocholesterolemic action of *spirulina platensis* concentrate in rats. *J Nutr*. 2005; 2425-30.
27. Pelizer LH, Danesi EDG, Rangel OC, Sassano CEN, Carvalho JCN, Sato S et al. Influence of inoculum age and concentration in *Spirulina platensis* cultivation. *J Food Engin*. 2003; 56:371-5.

28. Araújo KGL, Facchinetti AD, Santos CP. Influência da ingestão e biomassas de *Spirulina* (*Arthrospira sp.*) sobre o peso corporal e consumo de ração em ratos. *Ciênc Tecnol Alimen*. 2003; 23:6-9.
29. Kern M, Ellison D, Marroquin Y, Ambrose M, Mosier K. Effects of soy protein supplemented with methionine on blood lipids and adiposity of rats. *Nutrition*. 2002; 18:654.
30. Nunes ML, Batista BB, Micheli F, Batistella V. Efeitos da desnutrição precoce e reabilitação nutricional em ratos. *J Pediatr*. 2002; 1:39-44.
31. Boza JJ, Moënoz D, Vuichoud J, Jarret AR, Gaudard-de-Weck D, Fritsché R, et al. Food deprivation and refeeding influence growth, nutrient retention and functional recovery of rats. *J Nutr*. 1999; 129:1340-6.
32. Ismail MF, Ali DA, Fernando A, Abdraboh ME, Gaur RL, Ibrahim WM et al. Chemoprevention of rat liver toxicity and carcinogenesis by *Spirulina*. *Int J Biol Sci*. 2009; 5(4):377-87.
33. Torres-Durán PV, Miranda-Zamora R, Paredes-Carbajal MC, Mascher D, Blé-Castillo J, Díaz-Zagoya JC et al. Studies on the preventive effect of *Spirulina maxima* on fatty liver development induced by carbon tetrachloride, in the rat. *J Ethnopharmacol*. 1999; 64(2):141-7.
34. Torres-Durán PV, Miranda-Zamora R, Paredes-Carbajal MC, Mascher D, Díaz-Zagoya JC, Juárez-Oropeza MA. *Spirulina maxima* prevents induction of fatty liver by carbon tetrachloride in the rat. *Biochem Mol Biol Int*. 1998; 44(4):787-93.
35. Nagaoka S, Miwa K, Eto M, Kuzuya Y, Hori G, Yamamoto K. Soy protein peptic hydrolysate with bound phospholipids decreases micellar solubility and cholesterol absorption in rats and caco-2 cells. *J Nutr*. 1999; 129:1725-30.
36. Kouda K, Nakamura H, Kogno H, Ha-Kawa SK, Tokunaga R, Sawada S. Dietary restriction: effects of short-term fasting on protein uptake and cell death/proliferation in the rat liver. *Mech Ageing Develop*. 2004; 125:375-80.
37. Ugochukwu NH, Figgers CL. Dietary caloric restriction modifies inflammatory responses in the livers of streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutr Res*. 2006; 26:221-6.
38. Machado DE, Ferreira CLLE, Costa NMB, Oliveira TT. Efeito probiótico na modulação dos níveis de colesterol sérico no peso do fígado de ratos alimentados com dieta rica em colesterol e ácido cólico. *Ciênc Tecnol Alim*. 2003; 23:270-5.
39. Ribeiro Filho FF, Mariosa LS, Ferreira SRG, Zanella MT. Gordura visceral e Síndrome metabólica: mais que uma simples associação. *Arq Bras Endocr Metabol*. 2006; 50:230-8.
40. Brandsch C, Shukla A, Hirche F, Stangl GI, Eder K. Effect of proteins from beef, pork, and turkey meat on plasma and liver lipids of rats compared with casein and soy protein. *Nutrition*. 2006; 22:1162-70.