

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
FACULDADE DE EDUCAÇÃO FÍSICA E FISIOTERAPIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENVELHECIMENTO HUMANO

Efeito da *Spirulina platensis* e do exercício aeróbico no processo
de envelhecimento em ratos.

Daiane Mazzola

Passo Fundo
2012

Daiane Mazzola

Efeito da *Spirulina platensis* e do exercício aeróbico no processo de envelhecimento em ratos.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Envelhecimento Humano da Faculdade de Educação Física e Fisioterapia da Universidade de Passo Fundo, como requisito parcial para obtenção de título de Mestre em Envelhecimento Humano.

Orientador:

Dra. Telma Elita Bertolin

Co-orientador:

Dr. Fernando Fornari

Passo Fundo

2012

CIP – Catalogação na Publicação

M477e Mazzola, Daiane

Efeito da spirulina platensis e do exercício aeróbico no processo de envelhecimento em ratos / Daiane Mazzola. – 2012.

88 f. : il. ; 30 cm.

Orientação: Prof^ª. Telma Elita Bertolin.

Co-orientação: Fernando Fornari.

Dissertação (Mestrado em Envelhecimento Humano) – Universidade de Passo Fundo, 2012.

1. Envelhecimento. 2. Envelhecimento – aspectos nutricionais. 3. Exercícios físicos. I. Bertolin, Telma Elita, orientadora. II. Fornari, Fernando, co-orientador. III. Título.

CDU: 613.98

Catalogação: Bibliotecária Ângela Saadi Machado - CRB 10/1857

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO



ATA DE DEFESA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DA ALUNA

Daiane Mazzola

Aos vinte e oito dias do mês de fevereiro do ano dois mil e onze, às quatorze horas, realizou-se, na Faculdade de Educação Física e Fisioterapia da Universidade de Passo Fundo, a sessão pública de defesa da Dissertação: "Efeito da *Spirulina platensis* e do Exercício aeróbico no processo de envelhecimento de ratos", apresentada pela mestranda Daiane Mazzola, que concluiu os créditos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Envelhecimento Humano. Segundo os encaminhamentos do Conselho de Pós-Graduação (CPG) do Mestrado em Envelhecimento Humano e dos registros existentes nos arquivos da Secretaria do Programa, a aluna preencheu todos os requisitos necessários para a defesa. A banca foi composta pelos professores doutores Telma Elita Bertolin - orientadora e presidente da banca examinadora (UPF), Hugo Tourinho Filho e Diogo Losch de Oliveira. Após a apresentação e a arguição da dissertação, a banca examinadora considerou a candidata APROVADA, em conformidade com o disposto na Resolução Consun N° 07/2010.

A banca recomenda a consideração dos pareceres, a realização dos ajustes sugeridos e a divulgação do trabalho em eventos científicos e em publicações.

Encerrados os trabalhos de defesa e proclamados os resultados, eu, Prof^a. Dr^a. Telma Elita Bertolin, presidente, dou por encerrada a sessão pela banca.

Passo Fundo, 28 de fevereiro de 2011.

Prof^a. Dr^a. Telma Elita Bertolin
Orientadora e Presidente da Banca Examinadora

Prof. Dr. Hugo Tourinho Filho
Universidade de Passo Fundo

Prof. Dr. Diogo Losch de Oliveira
Universidade Federal de Pelotas

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu pai e à minha mãe, pois me ensinaram a amar e a querer ser útil para os outros.

Isso serviu de combustível para os meus sonhos.

E aos meus irmãos, que acreditam nesses sonhos.

“Depois de um tempo você começa a aceitar suas derrotas de cabeça erguida e olhos adiante, com a graça de adulto e não com a tristeza de uma criança. E aprende a construir todas as suas estradas no hoje, porque o terreno do amanhã é incerto demais para os planos... Começa a aprender que não se deve comparar com os outros, mas com o melhor que pode ser... Descobre que se leva muito tempo para se tornar a pessoa que quer ser e que o tempo é curto. Aprende que não importa aonde já chegou, mas onde está indo, mas se não sabe onde está indo, todo lugar serve... Aprende que heróis são pessoas que fizeram o que era necessário fazer, enfrentando as consequências... Aprende que paciência requer muita prática... Aprende que maturidade tem mais a ver com os tipos de experiência que se teve e o que você aprendeu com elas do que com quantos aniversários celebrou. Aprende que há mais do seu país em você do que você supunha... ... E você aprende que realmente pode suportar, que realmente é forte e que pode ir muito mais longe depois de pensar que não se pode mais.”

(William Shakespeare)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por abençoar tanto minha vida, por me dar oportunidades mil, manifestadas através de alegrias e também dificuldades que me fizeram crescer. Obrigada Senhor por estar ao meu lado mesmo nos momentos que não estive ao Seu, por me dar colo quando precisei de colo e por me segurar pela mão todas as vezes que caí. Mas acima de tudo, obrigada por ter se manifestado através de pessoas, de seres humanos que são os meus presentes mais valiosos. Anjos que tornaram tudo isso possível:

Minha grande amiga, braço direito e orientadora, Telma Elita Bertolin, a qual chamo carinhosamente de “Chefinha”. Acolheu-me de braços abertos, acreditou que como Fisioterapeuta eu podia ser também Bioquímica. Sempre acreditou nos meus sonhos, muitas vezes malucos. Lutou e se doou com todas as forças para que tudo pudesse acontecer. Saiba que você foi base sólida para que tudo fosse um sucesso. Obrigada por acreditar em mim e no trabalho e por me ensinar que temos que ter a capacidade de se moldar conforme a situação: esse foi meu maior aprendizado no mestrado. Tenho muito orgulho de você, agradeço por passar a fazer parte do meu mundo e fazer a diferença na minha vida.

Meu co-orientador, Fernando Fornari, que apareceu no momento certo, pois acreditou no potencial de todas as pessoas que ajudaram nesta pesquisa. Você fez a

diferença durante esta etapa e foi uma honra trabalhar com uma pessoa tão competente. Muito obrigada.

Todos meus professores da UPF - faculdade, especialização e mestrado. Foi uma jornada incrível. Àqueles que me fizeram amar a Fisioterapia, os que me fizeram amar a pesquisa e os que acreditaram que através dela eu posso ser capaz de transformar ambientes. Dentre eles, Rodrigo Schmidt, por ter acreditado que “essas meninas serão pesquisadoras”; Lia Mara, por ter me oferecido tantas oportunidades; Sheila e Camila, por confiarem em mim como professora; Dindo Basi, pelas orientações e pela amizade, me guiando durante esta caminhada. A todos os professores do mestrado que me ofereceram a oportunidade de estudar o envelhecimento e por instigarem em mim a vontade de seguir nesta estrada semeando e colhendo os frutos que eu posso carregar.

Rodrigo Costa Schuster, que me ensinou a ser mais, a ser o diferencial. Obrigada por me ensinar a caminhar os primeiros passos em direção à docência e por me oferecer o entusiasmo de dirigir pela BR da Pesquisa em Fisioterapia. Quando crescer quero ser igual a você!

Alunos do curso de Fisioterapia e da Nutrição, que me oportunizaram trocar idéias em sala de aula e me receberam com muito carinho. Por causa de pessoas como vocês eu continuo esse trajeto, amando a docência e querendo cada vez mais ser Professora.

Funcionários da FEF, do ICB, do Biotério e da Faculdade de Engenharia de Alimentos, em especial Verinha, Marco, Cris, Marcinha e Diego, pela força, paciência e carinho durante meus oito anos de UPF. Também, Frã, Sirlei e Ledy por acompanharem todo o projeto desde que deu seu primeiro suspiro, e por dedicarem mais tempo do que realmente tinham para que eu chegasse até aqui. E como esquecer a querida

Amandinha, que foi a luz no fim do túnel muitas vezes no mestrado. Obrigada pelo carinho, pela amizade e dedicação nesses dois anos tão especiais da minha vida.

Gabizinha e Cris, por serem meus braços, minhas pernas, minha cabeça, tudo, quando eu não podia ser. Quero fazer uma declaração a vocês, que iniciaram como colaboradoras de um projeto e seguiram como grandes amigas do peito: saibam que, além desse trabalho não acontecer sem vocês, porque ele não aconteceria, eu sou uma pessoa muito realizada por dividir momentos tão especiais com vocês. Obrigada por fazer da minha vida muito mais feliz. Agradeço de coração também a Guarienti, que me ensinou muito sobre trabalhar com pesquisa experimental e fez muita falta depois que ficou famosa passando no concurso: você merece todo esse sucesso.

Meus colegas de mestrado da primeira e segunda turma, pessoas especiais como Marcele, Greici, Cleusa que me fazem dar valor aos momentos que passaram, para que eu siga adiante. Sinto saudades e tenho muito orgulho de ter convivido com pessoas tão incríveis.

Não poderia deixar de falar das minhas grandes amigas, o meu quarteto fantástico: Kátia Scapini, Roberta, Jaque e Grazi: vocês “causaram”. Se fomos capazes de organizar juntas um congresso internacional, imagina o que faríamos com o planeta. Obrigada de coração por serem tão especiais na minha vida. Levo vocês sempre comigo, dentro do coração.

Os irmãos que Deus me permitiu escolher: Jana, Diego (que tentaram me levar embora rumo à BH e Floripa), Dani, Fer Britto, Fer Sandri, Andri, Igor, Rô, Aline, Jose e Alana. Obrigada por acreditarem em mim, por não desistirem, por me socorrerem em dias difíceis e por comemorarem tantas alegrias. Essa é mais uma vitória e quero dividi-la com vocês. Eu amo vocês de coração!

Minha família: minhas cunhadas – Ane e Lusa – tios, tias, primos e primas e minha amada vó. Obrigada pelo carinho, pelo amor, pela paciência, principalmente quando não pude estar presente. Eu continuo, pois sei que tenho vocês como base forte nessa sustentação.

Meus irmãos, Leandro e Rogério, os homens mais lindos do Sul do Mundo e que tenho muito orgulho. Olho para vocês através de um espelho e vejo o que quero ser. Vocês me ensinam cada dia que passa a dar valor às coisas que realmente interessam na vida, como o amor, a humildade e a amizade. Ao lado de vocês posso sentir o que é uma família de verdade e, o mais importante, sonhar com isso para mim também, como vocês sonharam e conseguiram. Minha Antonellinha amada, que veio para iluminar a minha vida e dar mais vida para esta família, você é motivo para tantos sorrisos.

E meus pais.

Meu pai, um homem incrível, batalhador, sonhador. Um homem cheio de idéias e de ideais. Que me passou uma carga genética de criatividade para a pesquisa, como ele mesmo diz: “filha, você vai ser uma cientista?”. Graças a você pai, eu sempre quiz fazer a diferença e hoje estou aqui, completando mais esta etapa. Obrigada por colocar suas fichas em mim.

Minha mãe, mulher sonhadora, batalhadora, minha melhor amiga, que esteve ao meu lado todos os dias me dando o conforto de seu colo, me tirando de casa quando eu precisava, me colocando nos eixos, que acreditou em mim quando ninguém mais acreditava e que sonha os mesmos sonhos que eu. Graças a você quero ser professora, quero ensinar, quero passar adiante o que sei e quero aprender todos os dias com a vida.

Obrigada a vocês dois por me ensinarem principalmente a dar valor a tudo o que eu tenho e, também, a dar valor a todas essas pessoas que eu agradei aqui. Todo dia quando acordo, todos os planos, todos os sonhos são originados de vocês e

direcionados para vocês. Vocês são a forma presente de Deus em todos os momentos da minha vida e as pessoas que eu mais amo nesse mundo. Obrigada!

RESUMO

Mazzola, Daiane. **Efeito da spirulina platensis e do exercício aeróbico no processo de envelhecimento em ratos**. 2012. 88 f. Dissertação (Mestrado em Envelhecimento Humano) – Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2012.

O exercício físico moderado e o uso de moléculas antioxidantes vêm sendo relatados por prevenir o aparecimento de doenças crônicas ligadas ao envelhecimento e prolongarem vida em diferentes modelos experimentais. No entanto permanece a necessidade de elucidação dos mecanismos biológicos envolvidos e das condutas adequadas para o uso destas terapias antienvhecimento. Neste contexto objetivou-se verificar o efeito do exercício físico moderado e o uso da *Spirulina platensis* no envelhecimento em ratos. Para tal, 80 ratos Wistar machos foram divididos em grupo adulto (n = 40; 9 meses) e grupo jovem (n = 40; 5 meses), os quais foram submetidos aos tratamentos: Exercício (E) através do nado durante 30 minutos; *Spirulina platensis* (S) oferecida por gavagem em uma dose de 2,6 mg/Kg de peso corporal; Exercício + *Spirulina platensis* (ES) e Controle. Todos os animais receberam ração padrão e água *ad libitum* e os tratamentos ocorreram durante 10 semanas, três vezes por semana e uma vez ao dia. Para a análise da peroxidação lipídica foi analisado TBARS no tecido cerebral e no plasma sanguíneo e, para o perfil lipídico, foi analisado colesterol total (CT) e triacilgliceróis (TAG) no plasma sanguíneo. Os resultados apontam que o TBARS cerebral em jovens foi menor no ES que no controle ou no S (ambos $P < 0,0001$). Em adultos, o E teve maiores níveis que o controle ($P = 0,0064$). Jovens tratados com ES apresentaram uma diminuição do TBARS sérico ($P = 0,008$) e adultos aumentaram no controle ($P = 0,0003$), E, S ($P < 0,0001$) e ES ($P = 0,0012$). Em jovens, o CT aumentou no controle ($P < 0,0001$), E ($P = 0,0156$) e S ($P = 0,0026$). Os TAG diminuíram no controle ($P = 0,0003$), E, S ($P < 0,0001$) e ES ($P = 0,0012$). Estes achados permitem inferir que animais adultos possuem respostas bioquímicas e lipídicas diferentes quando comparadas aos jovens. Assim, sugere-se adequação de protocolos de exercício físico, nado e das dosagens da *Spirulina platensis* com o intuito da promoção saúde no processo de envelhecimento.

Palavras-chave: **1. Envelhecimento. 2. Exercício. 3. Perfil lipíco. 4. Estresse oxidativo. 5. *Spirulina platensis*.**

ABSTRACT

Mazzola, Daiane. **Efeito da spirulina platensis e do exercício aeróbico no processo de envelhecimento em ratos**. 2012. 88 f. Dissertação (Mestrado em Envelhecimento Humano) – Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2012.

The moderate exercise and antioxidants molecules have been reported to prevent ageing associated-chronic disease and also to prolong life in experimental models. However, are still under investigation the biological mechanisms involved and the appropriate conduct for the use of these therapies. In this context, the aim of the present study was to verify the effect of the moderate exercise and the use of the *Spirulina platensis* in aging in rats. For this, 80 male rats Wistar were divided in adult group (n = 40; 9 month) and young group (n = 40; 5 month), who underwent to treatments: Exercise (E) by swimming during 30 minutes; *Spirulina platensis* (S) offered by gavage at a dose of 2.6 mg/Kg bw; Exercise plus *Spirulina platensis* (ES) and Control. All animals received standard chow and water to *ad libitum* and the treatments occurred during ten weeks, three time a week and once a day. For analysis of lipid peroxidation was analyzed TBARS in brain and serum, and to lipid profile was analyzes total cholesterol (TC) and triglyceride (TG) in serum. The results indicate brain TBARS in young was less in ES than control or S (both, $P < 0.0001$) and E than control ($P = 0.0014$) or S ($P < 0.0001$). In adults, E was higher than control ($P = 0.0064$). Young treated with ES decreased serum TBARS ($P = 0.008$) and adults increased in control ($P = 0.0003$), E, S ($P < 0.0001$) and ES ($P = 0.0012$). In young, the cholesterol increased in control ($P < 0.0001$), E ($P = 0.0156$) and S ($P = 0.0026$). TG decreased in control ($P = 0.0003$), E, S ($P < 0.0001$) and ES ($P = 0.0012$). These findings support the conclusion that adult animals have different lipid and biochemical responses of young. From this, becomes necessary the appropriateness of physical exercise protocols and different dosages of *Spirulina platensis* for different age groups to promote health throughout the aging process.

Key words: 1. Ageing. 2. Exercise. 3. Lipid profile. 4. Oxidative stress. 5. *Spirulina platensis*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Formação de espécies reativas a partir da redução do oxigênio triplete.	24
Figura 2 - Distribuição dos animais entre os grupos experimentais para os diferentes tratamentos.	37
Figura 3 - No A, ratos fazendo exercício em uma piscina especialmente desenhada. No B, um rato recebendo Spirulina por gavagem.	39
Figura 4 - Peso dos animais do grupo jovem.	44
Figura 5 - Peso dos animais do grupo adulto.	45
Figura 6 - TBARS no tecido cerebral.	46
Figura 7 - TBARS sérico antes e depois dos tratamentos no grupo jovem.	47
Figura 8 - TBARS sérico antes e depois dos tratamentos no grupo adulto.	48
Figura 9 - Comparação do efeito dos diferentes tratamentos no TBARS sérico no grupo adulto.	49
Figura 10 - Colesterol sérico antes e depois dos tratamentos no grupo jovem.	50
Figura 11 - Comparação do efeito dos diferentes tratamentos no colesterol total sérico no grupo jovem.	51
Figura 12 - Triacilgliceróis sérico antes e depois dos tratamentos no grupo jovem.	53

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Comparação dos efeitos dos tratamentos no TBARS sérico entre jovens e adultos tratados com E, S e ES. 49
- Tabela 2 - Comparação dos efeitos dos tratamentos no colesterol total sérico entre jovens e adultos tratados com E, S e ES. 52
- Tabela 3 - Comparação dos efeitos dos tratamentos no triacilgliceróis sérico entre jovens e adultos tratados com E, S e ES. 54

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA	Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AVE	Acidente Vascular Encefálico
CT	Colesterol Total
E	Exercício
EO	Estresse Oxidativo
ERO	Espécies Reativas de Oxigênio
ES	Exercício + Spirulina
M	Média
S	Spirulina
TAG	Triacilgliceróis
TBARS	Espécies Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico
MDA	Malonaldeído
MED	Mediana
RL	Radicais Livres
SOD	Superóxido dismutase
SNC	Sistema Nervoso Central
TBA	Ácido Tiobarbitúrico

LISTA DE SÍMBOLOS

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	19
2. REFERENCIAL TEÓRICO	21
2.1 ENVELHECIMENTO	21
2.2. ESTRESSE OXIDATIVO	23
2.3. TEORIA DO ENVELHECIMENTO PELOS RADICAIS LIVRES	27
2.4. SISTEMAS DE DEFESA ANTIOXIDANTES	27
2.5 <i>SPIRULINA PLATENSIS</i>	29
2.6 EXERCÍCIO FÍSICO	31
3. MÉTODOS	36
3.1. DELINEAMENTO DO ESTUDO	36
3.2. LOCAL DO ESTUDO	36
3.3. ANIMAIS	36
3.4. TRATAMENTOS	37
3.5. PROTOCOLO DO ESTUDO	38
3.5.1. SUBGRUPO EXERCÍCIO (E)	38
3.5.2. SUBGRUPO SPIRULINA (S)	39
3.5.3. SUBGRUPO EXERCÍCIO + SPIRULINA (ES)	39
3.5.4. SUBGRUPO CONTROLE	39
3.6. COLETA DE MATERIAL	39
3.7. ANÁLISES	40
3.7.1 ESPÉCIES REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO (TBARS)	40
3.7.2 PERFIL LIPÍDICO	41
3.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA	41
4. RESULTADOS	43
4.1. ANIMAIS	43
4.2. PESO	43
4.3. TBARS CEREBRAL	45
4.4. TBARS SÉRICO	46
4.5. PERFIL LIPÍDICO	50
4.5.1 COLESTEROL TOTAL	50
4.5.2 TRIACILGLICERÓIS	52
5. DISCUSSÃO	55
6. CONCLUSÃO	67
REFERÊNCIAS	68
ANEXOS	83
ANEXO A. PARECER DE APROVAÇÃO DE PROJETO PELA COMISSÃO DE ÉTICA EM USO DE ANIMAIS.	85

1. INTRODUÇÃO

O processo de envelhecimento tem sido considerado uma dos mais relevantes fenômenos epidemiológicos da história recente dado o intenso aumento na expectativa de vida nos últimos séculos (VAULPEL, 2010; BLAGOSKLONNY, 2010). E, relacionado a este processo, o estresse oxidativo e a hiperlipidemia tem sido alvos de diversas abordagens terapêuticas (WANG, MICHAELIS, 2010; KAO et al, 2010; GOMES et al, 2009).

Recentes evidências sugerem que a indução ao metabolismo mitocondrial (mitohormese) atua como promotor da saúde metabólica promovendo o *life span*. O uso de terapias que conduzem a referida hormese destaca a restrição calórica, exercícios físicos moderados e também moléculas antioxidantes em diferentes modelos experimentais como: *Saccharomyces cerevisiae*, *Drosophila melanogaster*, *Caenorhabditis elegans*, roedores e primatas (BAUR, 2010).

A prática regular de exercícios físicos moderados tem mostrado potencial efeito antioxidante (CAKIR et al, 2010; GOMEZ-CABRERA; DOMENECH; VIÑA, 2008; VENDITTI; DI MEO, 1997) e traz muitos benefícios à saúde, incluindo a redução de risco para doenças cardiovasculares, câncer e diabetes. Paradoxalmente, o exercício físico intenso pode resultar em dano oxidativo nos constituintes celulares (VIÑA et al, 2000). No entanto, o estímulo mitocondrial pela realização de exercícios moderados conduz à formação de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) que se caracteriza como uma resposta adaptativa, aumentando a defesa antioxidante, a longevidade e culminando na resistência ao estresse.

O uso de moléculas com capacidade funcional vem sendo estudado com a pretensão de mimetizar os efeitos benéficos de terapias bem reconhecidas como a restrição calórica no prolongamento da vida. Diversos componentes nutricionais têm

sido pesquisados como agentes antioxidantes associados ao exercício moderado (SHARMAN; DOWN; SEM, 1971; BRADY; BRADY; ULLREY, 1979). A cianobactéria *Spirulina platensis*, devido seus componentes moleculares, vem sendo relatada como atenuadora do estresse oxidativo (KHAN, 2005), pelo seu efeito antioxidante dado principalmente pela *ficocianina* (BHAT, MADYASTHA, 2001).

Estes procedimentos vêm sendo investigados por diferentes autores, entretanto, ainda permanece a falta de evidências mais elucidativas sobre os mecanismos biológicos que favorecem o *life span*, a existência de protocolos de exercício físico adequados para o idoso e dosagens de moléculas funcionais para potencializar a longevidade.

As Espécies Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) têm sido usadas na análise da peroxidação lipídica pela mensuração dos malonaldeídos, os quais são marcadores de estresse oxidativo (POTTER; NEUN; STERN, 2011; BABUSIKOVA et al, 2007; SÁINZ et al, 2010; OKABE et al, 2007) e que estão ligados ao envelhecimento, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas. Assim, tratamentos que sejam capazes de interferir no perfil lipídico e no estresse oxidativo podem ter relevância na prática clínica através da prevenção de doenças e promoção da saúde. Neste contexto, o presente trabalho objetivou verificar o efeito do exercício físico moderado e do uso da *Spirulina platensis* na peroxidação lipídica e no perfil lipídico no envelhecimento em ratos.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 ENVELHECIMENTO

O número de pessoas com idade superior a 60 anos está crescendo mais rápido que qualquer outra faixa etária (WHO, 2010). A partir de um ponto de vista histórico, isso decorre do progresso da civilização, a qual acabou com muitas causas de morte que levavam jovens ao óbito no passado como, por exemplo, a fome, as epidemias virais ou infecciosas e a violência física. Além disso, os avanços da medicina aumentaram o tempo de vida das pessoas idosas pelo tratamento de algumas doenças relacionadas à idade (BLAGOSKLONNY, 2010) e, na atualidade, houve uma redução das taxas de fertilidade (WHO, 2010).

Segundo dados da ONU, no mundo, os idosos representavam 8,5% da população em 1975. Os quais passaram a representar 11% em 2009 com um número aproximado de 737,27 milhões de idosos e estima-se que 22% desta população, em torno de 2,01 bilhões, está projetada para ter 60 anos ou mais em 2050 (UN, 2010).

Uma das grandes preocupações sociais é que a maioria das pessoas que hoje estão na Terceira Idade, cerca de 70%, vive em países em desenvolvimento e a tendência é que esses números continuem a aumentar (WHO, 2005). Nestes países, os idosos, que em 2009 representavam 5% da população, representarão 11% em 2050 (UN, 2010).

No Brasil, a expectativa de vida passou de 66,7 anos em 1990 para 73,3 anos em 2008 (IBGE, 2009). Segundo dados da Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios (PNAD), a população idosa passou de 8,8% em 1998 para 11,1% em 2008, atingindo 19 milhões de pessoas com mais de 60 anos no país (IBGE, 2009). Estima-se que este número aumentará para 64 milhões em 2050, ou seja, uma representação da população de 29% (UN, 2010).

O crescimento relativo por faixa etária também aumentou expressivamente de 1998 para 2008, onde o número de idosos com 80 anos ou mais aumentou 69,4%, alcançando cerca de três milhões de pessoas nesta faixa etária (IBGE, 2009). Espera-se que estes idosos passarão a representar 22% da população com 60 anos ou mais em 2050, o que em 2009 representava 14% (UN, 2010).

Essas mudanças podem ser entendidas em um contexto histórico de sucesso para as políticas de saúde pública e para o desenvolvimento sócio-econômico ou pode ser vista sob um olhar de desafio, onde a sociedade necessite se adaptar para que a saúde dos idosos seja maximizada (WHO, 2010). Além disso, este panorama traz um direcionamento da atenção para o fenômeno da longevidade, a qual requer preocupações diretas não apenas do Estado, mas também da sociedade e da família quanto aos cuidados que este grupo etário requer (IBGE, 2009).

Desta forma, para que o envelhecimento seja pensado sob um ponto de vista positivo, é necessário não apenas aumentar o tempo de vida das pessoas, mas sim, oferecer oportunidades ao indivíduo envelhecido. E com o propósito de tornar esse pensamento real, a Organização Mundial da Saúde adotou o termo “envelhecimento ativo”, ou seja, a otimização das oportunidades de saúde, participação e segurança a fim de melhorar a qualidade de vida ao longo dos anos. O objetivo desta ideia é aumentar a expectativa de vida saudável e promover qualidade de vida não apenas para pessoas saudáveis, mas também para pessoas fragilizadas ou com alguma incapacidade funcional (WHO, 2005).

Uma vida ativa, através da realização de exercícios, e uma alimentação saudável são fatores comportamentais determinantes para o envelhecimento ativo, pois melhora a saúde e a participação social do indivíduo idoso, uma vez que aumentam os contatos sociais. Também promove melhora da capacidade funcional, reduz o risco de

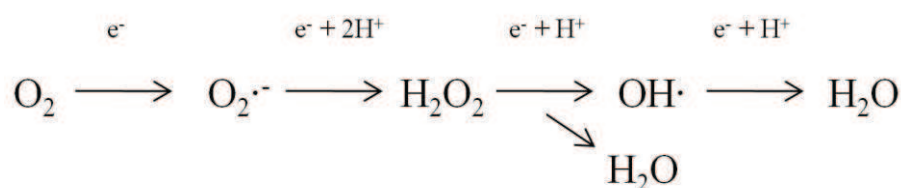
morte, a gravidade das doenças crônicas e os custos médicos com a saúde. Apesar de um grande número de idosos ainda ser sedentário e não ter acesso a alimentação de qualidade, principalmente em países menos desenvolvidos, estes fatores determinantes devem ser entendidos como janelas de oportunidades para estimular a participação social, a saúde e a segurança (WHO, 2005).

2.2. ESTRESSE OXIDATIVO

Estresse oxidativo é o estado de desequilíbrio entre a produção de radicais livres (RL) e a capacidade que o organismo tem de reagir a esta alteração através de sistemas de defesa antioxidante (CORRÊA, 2006).

Os RL são moléculas que contém átomos que apresentam ao menos um elétron desemparelhado em seu orbital externo, tornando-os instáveis, altamente reativos e com grande capacidade de ligação inespecífica com outras moléculas da célula (SCHIPPER, 2004; ARAÚJO, 2004). O oxigênio gera espécies reativas no processo de transferência de elétrons ou durante a absorção de energia e as espécies reativas de oxigênio (ERO) estão entre as principais substâncias reativas com elevado potencial para gerar RL (LENHINGER, NELSON, COX, 2002). No entanto, a geração de ERO ocorre de forma fisiológica no organismo, uma vez que são produzidas pelo metabolismo neuronal e glia (VOET; VOET; PRATT, 2000; BOVERIS; CHANCE, 1973).

Na atmosfera, o oxigênio está presente na forma de triplete birradical ($3O_2$), ou seja, estável. Porém, na respiração celular, sofre redução até ser transformado em água e, neste processo, também ocorre a formação de intermediários reativos, como o radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxil (OH^{\cdot}) (SHIPPER, 2004; ARAÚJO, 2004). Este processo pode ser observado na Figura 1.



Fonte: Araújo, 2004.

Figura 1 - Formação de espécies reativas a partir da redução do oxigênio triplete.

As ERO têm alto potencial de reatividade com outros compostos, gerando diferentes RL, o que inicia uma reação em cadeia (RAHA; ROBINSON, 2000).

Um dos compostos que possuem alto poder de ligação com as ERO são os lipídios. Os lipídios são grupos heterogêneos de compostos com propriedade de baixa solubilidade em água e incluem gorduras, óleos, esteróides, ceras e compostos relacionados. O conhecimento da bioquímica dos lipídios está relacionado às áreas importantes, como obesidade, aterosclerose e função de ácidos graxos poliinsaturados na nutrição e na saúde (MURRAY, RODWELL, 2002).

A membrana celular é formada por glicerofosfolipídios, esfingolipídios, colesterol, ésteres de colesterol, glicerídeos e ácidos graxos. Além de fornecer uma barreira semipermeável, a bicamada fosfolipídica também oferece estrutura para um ótimo funcionamento das proteínas (MAXFIELD; TABAS, 2005). O colesterol é um dos principais reguladores da organização dos lipídios, pois sua distribuição entre os folhetos irá determinar a fluidez da membrana e, por fim, a sua função. As células de mamíferos podem conter em torno de 1.000 a 2.000 tipos de lipídios, havendo uma concentração mais pronunciada no encéfalo e no tecido adiposo. Nesse sentido, o metabolismo lipídico tem extrema importância para o Sistema Nervoso Central (SNC),

já que os lipídios possuem um papel determinante na fisiologia e sinalização celular de muitas doenças neurológicas (ADIBHATLA; HATCHER, 2008).

No entanto, os lipídios quando oxidados possuem alta capacidade de gerar RL, uma vez que a peroxidação lipídica é a reação do oxigênio molecular com lipídios insaturados. Esta reação de oxidação ocorre devido a fatores ambientais ou pela ação enzimática - pela catalisação de enzimas lipoxigenases ou pelos RL formados nos processos metabólicos (ARAÚJO, 2004). Assim, a partir da decomposição dos hidroperóxidos lipídicos, ocorre a formação de malonaldeído (MDA), que são aldeídos de cadeia curta (BONNES-TAOUREL; GUÉRIN; TORREILLES, 1992). Estes aldeídos, derivados da peroxidação lipídica, são muito reativos e interagem com o DNA provocando lesões e sabe-se que com o avanço da idade ocorre o aumento da concentração de MDA, sendo que valores mais altos são mais reforçados em idades mais avançadas (GIL et al, 2002).

Nesse contexto, uma das formas de mensurar a peroxidação lipídica é através dos níveis de MDA, o qual é largamente utilizados como marcador da peroxidação lipídica nos estados de estresse oxidativo elevados em humanos (GUSTAW-ROTHENBERG; KOWALCZUK; GALÁN et al, 2006) e em animais (JOLITHA; SUBRAMANYAM; ASHA DEVI, 2006; ASHA DEVI; KIRAN, 2004). Ele pode ser mensurado através da análise das TBARS, que avalia as alterações oxidativas nos lipídios, mediadas pelos RL (POTTER; NEUN; STERN, 2011; NIELSEN et al, 1997; GUTTERIDGE, 1982).

A partir da mensuração da peroxidação lipídica, muitas evidências experimentais e clínicas comprovaram que os processos oxidativos participam da formação e progressão da placa aterosclerótica em diferentes fases, iniciando pela formação da placa pela migração de partículas de LDL nativa para o espaço

sobendotelial onde, em contato com macrófagos, células endoteliais ou células musculares lisas, sofrem um processo de oxidação de seus fosfolipídios pela ação das ERO, transformando-os inicialmente numa partícula oxidada (LDL-ox). A LDL-ox é considerada mais aterogênica que a LDL nativa. Porém, a LDL, sem sofrer os processos químicos oxidativos, tem pouco poder aterogênico (PORTO, 2005; SIGALA et al, 2010).

A membrana plasmática é mais suscetível a ação das ERO do que os outros componentes celulares, por ser mais atingida pela peroxidação lipídica, acarretando alteração na estrutura e permeabilidade das membranas celulares. A partir disto, ficam prejudicadas a seletividade da troca iônica e a liberação do conteúdo de organelas, como enzimas hidrolíticas dos lisossomas, juntamente com a formação de produtos citotóxicos, levando a morte celular (FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

Dentre os tecidos mais sensíveis ao dano oxidativo, o cérebro é um alvo importante uma vez que exige alto consumo de glicose e de oxigênio gerando, assim, maior peroxidação de ácidos graxos nas membranas deste tecido, associado à pequena produção de antioxidantes (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989). Assim, a peroxidação lipídica pode provocar danos ao tecido cerebral, tornando-a relacionada à diversas doenças crônicas neuronais ligadas ao envelhecimento como o Acidente Vascular Encefálico (AVE) (CHEN et al, 2010; YILDIRIM et al, 2007), Doença de Parkinson (BAILLET et al, 2010), Doença de Alzheimer e Demência Vascular (GUSTAW-ROTHENBERG; KOWALCZUK; STRYJECKA-ZIMMER, 2010). Além destas, outras doenças crônicas também decorrem da peroxidação lipídica, como o Infarto Agudo do Miocárdio (BAGATINI et al, 2010) e Doença Renal Crônica (DE VECCHI et al, 2009).

2.3. TEORIA DO ENVELHECIMENTO PELOS RADICAIS LIVRES

O envelhecimento não é uma doença, mas um processo fisiológico no qual ocorrem declínios progressivos na função orgânica que podem vir acompanhados de doenças relacionadas à idade (ROMANO et al, 2010).

O fenômeno do envelhecimento é relacionado há um processo multifatorial e tem sido explicado por diversas teorias. Dentre as Teorias Biológicas, uma das mais proeminentes é a Teoria do Envelhecimento pelos Radicais Livres (ROMANO et al, 2010), a qual foi proposta por Harman em 1956. Esta teoria defende que as espécies reativas de oxigênio (ERO) geradas na célula resultam em dano cumulativo (HARMAN, 1956) e que estas mudanças, que ocorrem ao longo do tempo, são responsáveis pelo envelhecimento e as desordens relacionadas a ele (HARMAN, 1981).

Sabe-se que células cultivadas em meio com baixo teor de oxigênio exibem vida prolongada (PACKER; FUEHR, 1977). Por outro lado, células cultivadas em altas concentrações de oxigênio têm vida útil reduzida e mostram encurtamento acelerado dos telômeros (VON ZGLINICKI et al, 1995). A partir disso, alguns estudos defendem que a causa de muitas doenças crônicas, como doenças degenerativas, do câncer e do envelhecimento em si, emerge do dano oxidativo ao DNA mitocondrial (ZHANG; JU, 2010; HURSTING et al, 2003; STUART et al, 2004). A senescência cerebral e a neurodegeneração, por exemplo, ocorrem com a disfunção mitocondrial caracterizada pelo comprometimento da transferência de elétrons e pelo dano oxidativo (NAVARRO, BOVERIS, 2010). Desta forma, o estresse oxidativo tem sido constantemente ligado a doenças neurodegenerativas relacionadas à idade (FERNÁNDEZ-CHECA et al, 2010).

2.4. SISTEMAS DE DEFESA ANTIOXIDANTES

No organismo existem sistemas de defesa enzimáticos e não enzimáticos na célula, que neutralizam a formação endógena de ERO e, dentre estas defesas, estão em atuação as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase e glutathiona peroxidase (VOET; VOET; PRATT, 2000). Se a formação de ERO não for desativada pelo sistema antioxidante, danos às macromoléculas biológicas serão causados (RAHA; ROBINSON, 2000). Do contrário, os componentes vitais da célula são protegidos através da existência de um equilíbrio entre geração e neutralização de oxidantes por diferentes formas de defesa intra e extracelular (ZIMMERMANN et al, 2004).

A enzima SOD, com sua função de catalisar a reação de dismutação do radical $O_2\cdot^-$ à H_2O_2 , promove a redução da formação das espécies reativas e, por conseguinte, a diminuição dos danos causados. O H_2O_2 formado nesta reação deverá ser eliminado pelas enzimas catalase e glutathiona peroxidase, com o objetivo de impedi-lo de reagir com metais de transição e gerar $OH\cdot$ (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989).

A catalase acelera a decomposição do H_2O_2 em água e oxigênio, podendo ser encontrada na maioria das células, mas de forma mais prevalente nos peroxissomas (CHANCE; SIES; BOVERIS, 1979) e em menor proporção em alguns órgãos como coração, músculo esquelético e cérebro, os tornando mais vulneráveis ao estresse oxidativo (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989).

Durante o processo de envelhecimento ocorrem algumas mudanças na barreira antioxidante, havendo uma redução gradual da atividade de algumas enzimas que atuam na defesa celular, como por exemplo, a SOD, Glutathiona Redutase (ANDERSEN et al, 1997) e catalase. Além disso, a literatura aponta que a co-superexpressão da SOD e catalase podem reduzir os níveis de estresse oxidativo e aumentar a longevidade (ORR; SOHAL, 1994). Neste caso, são interessantes intervenções com agentes antioxidantes

exógenos, derivados da alimentação ou através do exercício, que possam estimular a atividade destas enzimas.

2.5 *SPIRULINA PLATENSIS*

A *Spirulina* é uma cianobactéria aeróbia fotossintética, da divisão filogenética das eubactérias, classificada por Bergey (1989) como Cianobactérias, de ordem Oscillariales e gênero *Spirulina*. Constitui uma célula procariótica com parede e membrana celular, ribossomos e região nuclear, sem núcleo verdadeiro (BROCK; MADIGAN, 1991). Ela habita solos, areias, pântanos, lagos alcalinos, águas marinhas e doces e os nutrientes que necessita para sobrevivência são água e fonte de carbono, nitrogênio, fósforo, potássio, ferro e outros oligoelementos. Além disso, durante a fotossíntese a *Spirulina* converte os nutrientes em matéria celular e libera oxigênio (HENRIKSON, 1994).

Desde a pré-história, a *Spirulina* tem sido utilizada como fonte alimentar por tribos de caçadores que coletavam massas gelatinosas de algas verde-azuladas para comê-las cruas ou cozidas (RICHMOND, 1990, apud AMBROSI et al, 2008). Além disso, também em tempos remotos, era consumida pelos astecas no México e têm sido colhidas, secas e comidas pelo antigo povo Kanembu na região de Lake Chad na África ao longo dos séculos (GERSHWIN; BELAY, 2007).

Conhecida por ser fonte rica de nutrientes, a *Spirulina* é um dos alimentos mais bem pesquisados como alimento funcional no mercado de bilhões de dólares de suplementação alimentar (GERSHWIN; BELAY, 2007). Na Europa, Japão e Estados Unidos, ela é autorizada como complemento alimentar por não possuir toxicidade ao organismo (BELAY et al, 1993; VON DER WEID; DILLON; FALQUET, 2000). No Brasil, sua comercialização é permitida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária

(ANVISA), desde que o produto final, no qual o microorganismo tenha sido adicionado, esteja devidamente registrado (BRASIL, 2008).

O consumo da *Spirulina* promove benefícios para a saúde humana, pois em sua composição química está incluída maior quantidade de proteína (65%) do que qualquer outro alimento natural, como peixe, soja, leite, entre outros, e ela possui uma rede de proteínas completas, pois possui todos os aminoácidos essenciais. Além disso, ela é fonte de vitaminas A, E, K, B1, B2, B3, B6, B12, ácido pantotênico e alguns minerais como ferro, manganês, cromo, selênio, cobre e zinco. Também contém muitas enzimas, uma delas é a SOD que possui uma atividade de que varia de 10.000 a 37.500 unidades a cada 10 gramas de *Spirulina* (HENRIKSON, 1994).

Esta cianobactéria fornece ácidos graxos essenciais (GERSHWIN; BELAY, 2007) na forma de ácido linoléico e ácido gama-linolêico, os quais podem promover a normalização do colesterol e ajudar na prevenção de muitas doenças (HENRIKSON, 1994). Ela é composta de 12-16% de carboidratos, glicogênio sulfatado como reserva de carbono e um exopolissacarídeo sulfatado complexo (CORNET; DUSSAP; GROS, 1998). Também é facilmente digerível (85-95%) por possuir parede celular mucoprotéica e é completamente não-tóxica (VILCHEZ et al, 1997).

A *Spirulina* possui pigmentos capazes de ajudar na síntese de muitas enzimas responsáveis pelo metabolismo corporal. A Ficocianina é o principal pigmento, compõe cerca de 14% do peso total da *Spirulina* e seu consumo torna-se importante uma vez que é um estimulante ao sistema imunológico, aumentando a contagem de leucócitos. Outros pigmentos são os carotenóides, como o β -caroteno, que tem sido indicado pelo seu potencial preventivo de câncer, devido à capacidade de desativar os RL e por estimular populações de lactobacilos intestinais, aumentando a absorção de vitamina

B1; ainda possui cerca de 1% de clorofila, um dos níveis mais elevados da natureza (HENRIKSON, 1994).

Com todos estes componentes nutricionais, a *Spirulina* pode trazer muitos benefícios a saúde atuando na prevenção de doenças, como por exemplo, a aterosclerose, através da redução da hipercolesterolemia, o que pode reduzir o risco de um evento cardiovascular (CHEONG et al, 2010); também atua como um agente anti-tumoral, uma vez que pode prevenir carcinomas através da inibição da proliferação via p53 (ISMAIL et al, 2009).

O estudo de Wang et al (2005) mostrou que a *Spirulina platensis* tem alto potencial neuroprotetor em animais que foram submetidos a isquemia cerebral focal transitória, o que pode ser explicado pelo seu papel como antioxidante ou também pelo efeito sobre as citocinas pró-inflamatórias.

Outro estudo, realizado por Lu et al (2006), verificou que a *Spirulina* previne o dano ao músculo esquelético de jovens não treinados, observando uma redução do estresse oxidativo, maiores níveis de lactato e o tempo de exaustão foi estendido após o três semanas de ingestão de *Spirulina*.

Como a *Spirulina* possui um alto potencial antioxidante, pois aumenta a atividade de algumas enzimas como a glutationa peroxidase e a glutationa redutase, pode-se sugerir que ela seja empregada em algumas doenças causadas ou agravadas pelas ERO e também no desenvolvimento de tratamentos para distúrbios neurodegenerativos como o Alzheimer e a Doença de Parkinson (BERMEJO-BESCÓS; PIÑERO-ESTRADA; VILLAR DEL FRESNO, 2008).

2.6 EXERCÍCIO FÍSICO

A realização de atividade física parece ter uma relação linear com um melhor estado de saúde e existem evidências suficientes na literatura provando a efetividade do exercício físico regular e não exaustivo na prevenção primária e secundária de doenças crônicas – doença cardiovascular, câncer, diabetes, hipertensão, obesidade, osteoporose e depressão – e na redução do risco de morte prematura (WARBURTON; NICOL; BREDIN, 2006).

Apesar de muitas certezas, dúvidas ainda permanecem quanto ao “volume” ideal de exercício (intensidade, duração e frequência) para que ocorram benefícios a saúde e, desta forma, é necessário fazer uma delimitação do que é exercício leve, moderado e o que é extenuante (LEE; SKERRETT, 2001).

A idéia de que todo exercício aumenta a produção de ERO partiu do conceito de que ele aumenta o consumo de oxigênio pela mitocôndria o que leva ao aumento da formação de RL por esta organela. No entanto, isto está baseado em um conceito errôneo de que 2% do oxigênio consumido pela mitocôndria é convertido em ERO (GOMEZ-CABRERA; DOMENECH; VIÑA, 2008). Esse conceito foi reavaliado no estudo de Chance, Sies e Boveris (1979), que observaram que essa produção de espécies reativas ocorre quando a mitocôndria está no chamado Estado 4, ou seja, estado de repouso. Por outro lado, quando ela se encontra do Estado 3, ativamente produzindo ATP, a produção de RL cai um décimo.

Nesse sentido, pode-se dizer que o exercício produz ERO. No entanto, a intensidade do exercício é que irá definir se esse aumento das espécies reativas será benéfico ou não a saúde.

É bem aceito na literatura que o exercício exaustivo aumenta bruscamente as ERO, o que é deletério, causando lesões, envelhecimento e morte celular (GOMEZ-CABRERA; DOMENECH; VIÑA, 2008). Assim, os benefícios do exercício se perdem

quando a atividade é exaustiva, especialmente quando esporádica, pois esta causa prejuízo às células musculares e reações inflamatórias dentro do músculo através do aumento da atividade plasmática de enzimas citosólicas, sarcolema e ruptura da linha Z (ARMSTRONG; OGILVIE; SCHWANE, 1983). Davies et al (1982) já apresentavam resultados comprovando que a corrida até a exaustão provoca produção de RL em músculo esquelético de ratos. A partir disso, muitos estudos deixaram claro que a atividade muscular contrátil intensa resulta em dano oxidativo observado pela maior oxidação protéica, lipídica e do DNA (RADÁK et al, 1999) e, em decorrência desta oxidação, ocorre a diminuição da produção de força muscular e fadiga (REID; KHAWLI; MOODY, 1993). Nesse sentido, pôde-se observar que quanto mais intenso, maior o dano.

O teoria da hormese busca explicar a relação entre a intensidade do exercício e a geração de ERO, além de sua implicação na saúde e na doença. Para melhor entendimento, esta teoria define que esta relação está baseada em uma característica de dose-resposta, ou seja, baixas doses são estimulatórias e altas doses são inibitórias. No contexto do estresse oxidativo, pequenos estímulos de baixas concentrações de ERO provocam o aumento dos RL e, em resposta a esta mudança, as células desenvolvem um variado sistema de defesa antioxidante. Assim, as ERO podem ser vistas como benéficas já que atuam como sinalizadoras para melhorar as defesas do organismo (FINKEL; HOLBROOK, 2000).

Para se obter benefícios à saúde, é necessário, portanto, uma homeostase entre a produção de ERO e a defesa antioxidante (FINKEL; HOLBROOK, 2000). Então, para que ocorra este equilíbrio, muitas vias de sinalização sensíveis ao estresse oxidativo estão ativas e possuem um papel importante nos sistemas de mamíferos e uma das vias mais importante é o fator de transcrição fator nuclear κ B (NF- κ B) (BAEUEERLE;

BALTIMORE, 1988). Muitas enzimas antioxidantes, como a SOD mitocondrial, possuem a via NF- κ B ligando sítios em sua região promotora genética (LAUGHLIN et al, 1990). Então, essas enzimas podem ser potenciais alvos para a regulação ativada pelo exercício moderado através da via de sinalização NF- κ B (GOMEZ-CABRERA; DOMENECH; VIÑA, 2008).

Desta forma, a teoria da hormese pode explicar porque o exercício, quando realizado com intensidade moderada, pode ter efeito benéfico à saúde já que, através da geração de pequenas quantidades de ERO, promoverá um aumento da atividade antioxidante (GOMEZ-CABRERA; DOMENECH; VIÑA, 2008). Nesse tipo de exercício, uma baixa concentração de H₂O₂ no músculo esquelético aumenta a liberação de Ca²⁺ do retículo sarcoplasmático, que aumenta a produção de força. No entanto, um aumento maciço na produção de H₂O₂, que ocorre com o exercício exaustivo, resulta no decréscimo da força (ANDRADE; REID; WESTERBLAD, 2001). A partir disso, pode-se afirmar que o exercício moderado promove uma resposta antioxidante eficiente (GOMEZ-CABRERA; DOMENECH; VIÑA, 2008).

Além disso, a teoria da hormese também se aplica ao exercício de intensidade leve, o qual não demonstra tantos benefícios quanto o moderado, pois não produz, ou produz de forma ínfima, a quantidade de ERO necessárias para a ativação das enzimas antioxidantes (GOMEZ-CABRERA; DOMENECH; VIÑA, 2008).

As cargas do exercício através do nado, em ratos, são diferenciadas principalmente pela intensidade durante o treinamento. Terada et al (1999) randomizaram três grupos de animais para tratamentos com exercício através do nado em intensidades alta, moderada e leve. Os pesquisadores consideraram uma carga de alta intensidade àquela em que os animais realizaram 8 a 10 séries de 20 segundos de nado com um peso correspondente a 14 a 16% do peso corporal. O exercício moderado

consistiu de cinco séries de 17 minutos de nado cada, com um peso correspondente a 4 a 5% do peso corporal. O exercício leve foi estipulado com um peso equivalente a 2% do peso corporal e os animais realizaram duas séries de nado de três horas cada.

O exercício moderado atuando isoladamente como um antioxidante pode perder esse benefício quando com ele for associada uma suplementação que também possua potencial antioxidante (GOMEZ-CABRERA; DOMENECH; VIÑA, 2008). Nesse sentido, muitos estudos observaram o efeito de suplementos como vitaminas E (200mg de acetado de α -tocoferol, duas vezes ao dia para adolescentes nadadores), C (1g de ácido ascórbico em cães), selênio + vitamina E (0,5 ppm de selenito de sódio e 50 UI de acetado de α -tocoferol em ratos), ácido α -lipóico (1,65 g/Kg de peso corporal de ácido alfa-lipóico em ratos), os quais impediram as adaptações musculares ao exercício (SHARMAN; DOWN; SEN, 1971; MARSHALL et al, 2002; BRADY; BRADY; ULLREY, 1979; COOMBES et al, 2001).

3. MÉTODOS

3.1. DELINEAMENTO DO ESTUDO

Foi realizado um estudo experimental analítico, longitudinal, do tipo ensaio pré-clínico randomizado e com análise cega. Esse estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA – da Universidade de Passo Fundo (UPF), conforme o parecer nº 035/2010 (ANEXO 1) e foi realizado de acordo com o *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1996).

3.2. LOCAL DO ESTUDO

Os animais foram agrupados no Biotério Central e mantidos sob tratamento no Instituto de Ciências Biológicas. O preparo das soluções para análises e da *Spirulina platensis* foram realizadas no Laboratório de Fermentações da Faculdade de Engenharia de Alimentos. O experimento foi realizado no período de Junho a Agosto de 2010.

3.3. ANIMAIS

Foram utilizados 80 ratos *Wistar hannover* machos, nascidos e mantidos no Biotério Central da UPF. Os animais foram divididos em grupo jovem ($n = 40$; ± 5 meses) e adulto ($n = 40$; ± 9 meses). Em cada grupo, os animais foram randomizados em quatro subgrupos tratamentos: exercício (E), Spirulina (S), exercício mais Spirulina (ES) e controle (Figura 2).

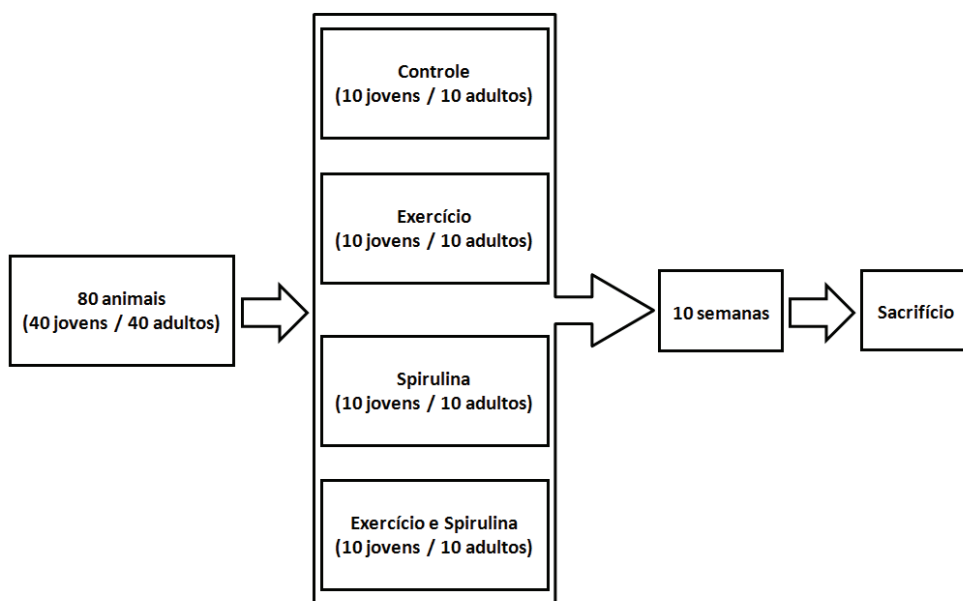


Figura 2 - Distribuição dos animais entre os grupos experimentais para os diferentes tratamentos.

3.4. TRATAMENTOS

Todos os animais receberam água e ração *ad libitum*. Foi utilizada ração padrão para roedores, balanceada segundo as recomendações do *National Research Council e National Institute of Health (USA)*, da marca Nuvital, tipo Nuvilab CR1.

Os animais foram submetidos a diferentes tratamentos, conforme apresentado na Figura 2, os quais foram aplicados uma vez ao dia, três vezes por semana em dias não consecutivos, durante dez semanas.

A *Spirulina platensis* em pó – fornecida pelo Laboratório de Engenharia Bioquímica da Fundação Universidade Federal de Rio Grande – foi diluída em água destilada. Para saber a quantidade de *Spirulina* a ser oferecida, foi utilizada a recomendação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) de que um adulto deve ingerir no máximo 1,6 g de *Spirulina* por dia. Como não há uma

recomendação por peso, o cálculo foi feito baseado em um adulto de 60 Kg. Então, a quantidade de *Spirulina* oferecida foi de 26 mg/Kg.

3.5. PROTOCOLO DO ESTUDO

3.5.1. SUBGRUPO EXERCÍCIO (E)

Para a realização do exercício aeróbico foi projetada uma piscina com 55 cm de altura, 73 cm de largura, com água a uma altura de 35 cm, dividida em quatro raias a fim de permitir que quatro ratos nadassem simultaneamente.

Na semana anterior ao início do tratamento, os animais passaram por um período de adaptação, sendo que no primeiro dia todos os animais deste grupo nadaram por 10 minutos; no segundo dia (não consecutivo) nadaram por 20 minutos; e no terceiro dia por 30 minutos.

Durante as dez semanas de tratamento os ratos realizaram exercício aeróbico através do nado e a carga estipulada foi baseada no protocolo de exercício realizado no estudo de Terada et al (2001), o qual estipula um peso referente a 5% do peso corporal para que o exercício seja considerado de intensidade moderada. O protocolo foi modificado de um exercício intermitente, implementado pelos autores, para um exercício contínuo de 30 minutos, utilizado neste estudo. Assim, o exercício foi realizado em piscina aquecida a 32 °C durante o turno da tarde (Figura 3A).

Os animais foram pesados a cada sete dias e a média de peso de cada grupo foi calculada para a quantificação da intensidade do esforço. Desta forma, cada rato utilizou um cinto elástico com velcro onde estava preso um peso correspondendo a 5% do peso corporal. Os animais também receberam 2 mL de solução salina (NaCl 0,9%) oral pelo método de gavagem (Figura 3B) no turno da manhã.

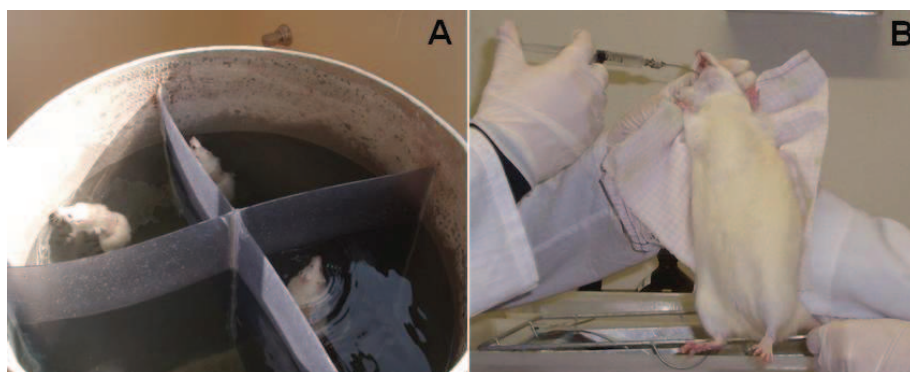


Figura 3 - No A, ratos fazendo exercício em uma piscina especialmente desenhada. No B, um rato recebendo *Spirulina* por gavagem.

3.5.2. SUBGRUPO SPIRULINA (S)

Este subgrupo recebeu *Spirulina platensis* na forma líquida (2 mL), 26 mg/Kg, por meio de gavagem, no turno da manhã.

3.5.3. SUBGRUPO EXERCÍCIO + SPIRULINA (ES)

Os animais deste subgrupo receberam *Spirulina platensis* no turno da manhã e realizaram exercício aeróbico no turno da tarde, conforme protocolos descritos nos itens 3.5.1 e 3.5.2.

3.5.4. SUBGRUPO CONTROLE

Este subgrupo recebeu apenas solução salina por meio de gavagem no turno da manhã.

3.6. COLETA DE MATERIAL

O sangue foi coletado na semana anterior ao início do tratamento (tempo zero) e na semana após o fim do tratamento. A coleta foi realizada pela técnica de punção da

veia retro-orbital e, para isso, os animais passaram por uma anestesia geral com éter e, após a coleta, os olhos foram lavados com solução fisiológica. Foram coletados três mL de sangue em tubo heparinado e, após, o sangue foi centrifugado a 3000 rpm durante 10 minutos em centrífuga da marca QUIMIS®. O sobrenadante foi retirado, armazenado em tubos de eppendorf devidamente nomeados e congelado a em freezer a -70 °C.

Os animais foram sacrificados na semana após o fim da coleta por decapitação em uma guilhotina. Eles tiveram livre acesso à ração e água por 12 horas antes do sacrifício. O encéfalo de cada rato foi removido e o hemisfério cerebral direito foi separado para análise do estresse oxidativo.

3.7. ANÁLISES

3.7.1 ESPÉCIES REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO (TBARS)

As TBARS foram analisadas no plasma e no tecido cerebral dos ratos seguindo o protocolo de Esterbauer e Cheeseman (1990).

O plasma sanguíneo foi descongelado em temperatura ambiente e 300 µL deste foi misturado a 600 µL de TCA 15%. Esta mistura foi centrifugada a 10.000 rpm durante 10 minutos em centrífuga da marca QUIMIS® e, após, o sobrenadante foi retirado e colocado em tubo com rosca. Posteriormente foi adicionado 500 µL de TBA 0,67% e agitado em um agitador da marca MARCONE®. Os tubos foram, então, para o banho fervente por 20 minutos e, após resfriados em banho-maria com água em temperatura ambiente, foi feita a leitura em espectrofotômetro da marca FEMTO® em 532 nm.

Para a análise das espécies reativas no tecido cerebral, o hemisfério cerebral direito foi analisado logo após o sacrifício dos animais. O tecido foi homogeneizado

com tampão fosfato pH 7,4 (1:10) e 300 µl da amostra foi misturada a 600 µL de TCA 15%. A mistura foi agitada em vortex durante 30 segundos e centrifugada durante 10 minutos a 10.000 rpm. Então foram retirados 500 µl de sobrenadante, colocados em tubo rosqueado, adicionados 500 µL de TBA 0,67% e agitado. Depois foram incubados em banho fervente por 20 minutos, resfriados em banho-maria com água em temperatura ambiente e, por fim, foi feita a leitura em espectrofotômetro a 532 nm.

3.7.2 PERFIL LIPÍDICO

O colesterol total (CT) e os triacilgliceróis (TGA) foram mensurados no plasma sanguíneo coletado pré e pós tratamento e as análises foram realizadas usando os reagentes do kit da LabTest (Lagoa Santa – MG).

Para a análise do colesterol total, 1.000 µL de reagente de cor foram adicionados a 10 µL de plasma. Essa mistura foi colocada em banho-maria a 37 °C durante 10 minutos e, após, em banho de água a temperatura ambiente. As amostras foram lidas em espectrofotômetro a 500 nm.

A análise dos TGA foi realizada misturando 10 µL de plasma com 1.000 µL de reagente de cor. A mistura foi colocada em banho-maria a 37 °C durante 5 minutos e após o resfriamento as amostras foram lidas em espectrofotômetro a 500 nm.

Para o cálculo final do CT e dos TGA, utilizou-se: absorvância da amostra multiplicada por 200 e dividida pela absorvância padrão. O resultado foi apresentado em mg/dL.

3.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os resultados passaram pela análise de estatística descritiva e teste de normalidade de Kolgorov-Smirnov. Para a comparação entre grupos foi realizada Análise de Variância (ANOVA) quando a distribuição foi normal ou Kruskal-Wallis quando a distribuição dos dados foi não-normal. Na comparação intra-grupo pré com pós tratamento foi utilizado Teste T para distribuição normal ou Wilcoxon para distribuição não-normal dos dados. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos com $p < 0,05$. Todos os resultados foram tratados com percentil de 0,05 e 0,95 antes da análise estatística.

4. RESULTADOS

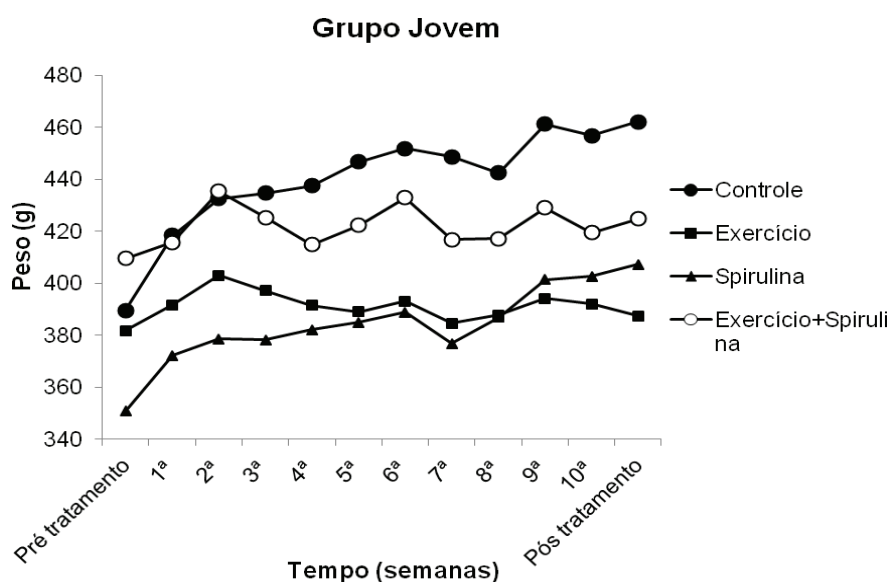
4.1. ANIMAIS

Um total de 80 ratos iniciaram o experimento. Destes, três ratos jovens morreram durante os procedimentos: dois do grupo exercício (não se adaptaram ao treinamento) e um do grupo controle (não resistiu a anestesia para coleta de sangue). Então, ao final do estudo a amostra foi composta por 77 ratos.

4.2. PESO

O peso dos animais jovens antes, durante e após o tratamento pode ser observado na figura 4.

Em jovens, a comparação intra-grupo mostrou que tanto os animais do grupo controle ($389 \pm 48 - 462 \pm 68$; $P < 0,0001$) quanto do S ($352 \pm 23 - 409 \pm 15$; $P < 0,0001$) aumentaram de peso significativamente após o tratamento. Na comparação inter-grupo, a magnitude de aumento de peso foi significativamente menor em ratos tratados com ES comparados aos controles [MED (IQR 25-75%): 33 g (6 – 56) vs. 84 g (49 – 93); $P < 0,05$] e os tratados com E comparados ao controle [MED (IQR 25-75%): 25 g (1 – 39) vs. 84 g (49 – 93); $P < 0,05$].

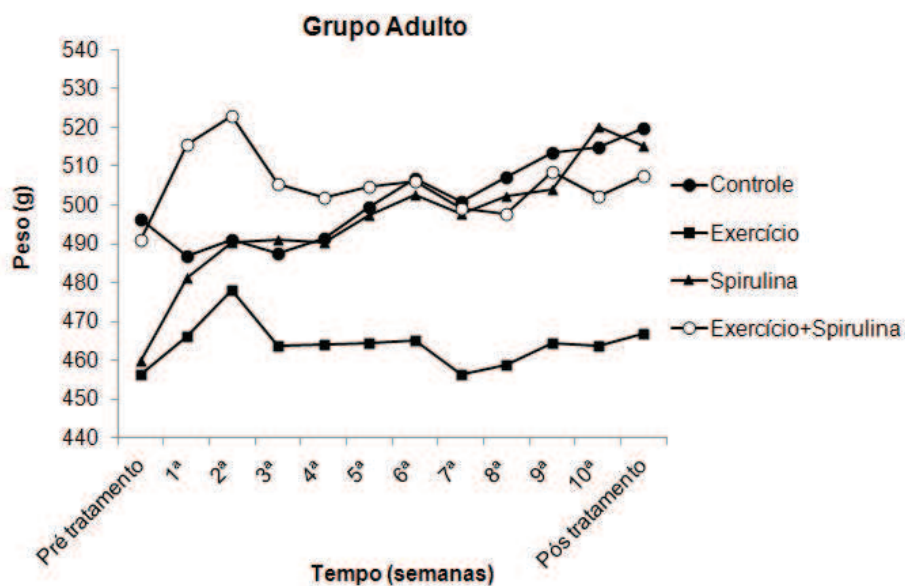


Média de peso em gramas dos animais do grupo jovem antes do tratamento, nas semanas seguintes e após o fim do tratamento.

Figura 4 - Peso dos animais do grupo jovem.

O peso dos animais adultos antes, durante e após o tratamento foi demonstrado na figura 5.

Nos adultos, na comparação intra-grupo, os animais tratados com S ($460 \pm 74 - 510 \pm 62$; $P = 0,0001$) e com ES ($491 \pm 60 - 509 \pm 56$; $P = 0,003$) aumentaram significativamente de peso após o tratamento. Na comparação inter-grupo, o grupo S teve ganho de peso significativamente maior comparado com o grupo E [MED (IQR 25-75%): 56 g (32-69) vs. 9 g (-39-30); $P = 0,0009$].



Média de peso em gramas dos animais do grupo adulto antes do tratamento, nas semanas seguintes e após o fim do tratamento.

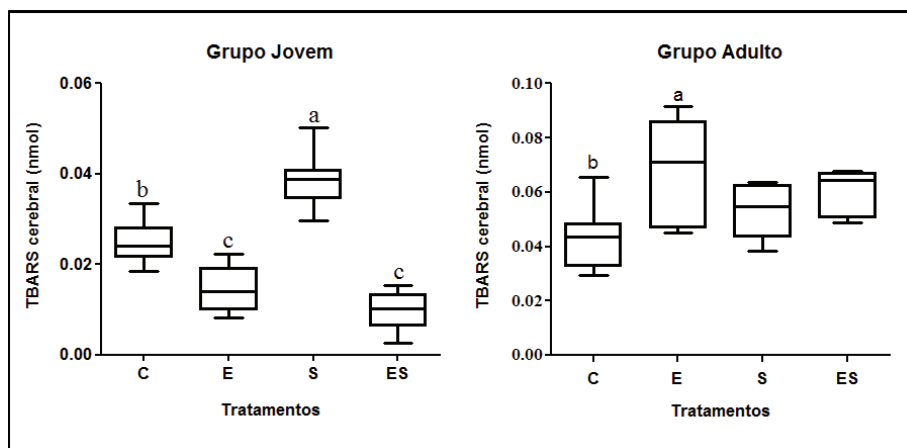
Figura 5 - Peso dos animais do grupo adulto.

Quando comparados grupo adulto com grupo jovem, os adultos pesaram mais que os jovens ($P < 0,0001$) em ambas as mensurações pré (476 ± 70 g vs. 383 ± 55 g) e pós-tratamento (500 ± 77 g vs. 427 ± 58 g).

4.3. TBARS CEREBRAL

Em ratos jovens (Figura 6), o grupo ES teve menores níveis de TBARS no cérebro que ambos os grupo controle ($M \pm DP$: $0,009 \pm 0,004$ nmol vs. $0,025 \pm 0,004$ nmol; $P < 0,0001$) e grupo S ($0,009 \pm 0,004$ nmol vs. $0,038 \pm 0,006$ nmol; $P < 0,0001$). O grupo E apresentou menores níveis de TBARS cerebral que ambos os grupo controle ($0,014 \pm 0,005$ nmol vs. $0,025 \pm 0,004$ nmol; $P = 0,0014$) e grupo S ($0,014 \pm 0,005$ nmol vs. $0,038 \pm 0,006$ nmol; $P < 0,0001$). O grupo controle teve menores níveis de TBARS cerebral que o grupo Spirulina

Nos ratos adultos (Figura 6), o grupo E teve maiores níveis de TBARS no cérebro que o grupo controle ($0,067 \pm 0,019$ nmol vs. $0,043 \pm 0,011$ nmol; $P = 0,0064$). Nenhuma diferença foi encontrada na comparação dos outros grupos.



Significância entre os quatro grupos analisada por ANOVA. Aqueles que partilham letras diferentes possuem resultados com diferença estatisticamente significativa ($P < 0,05$).

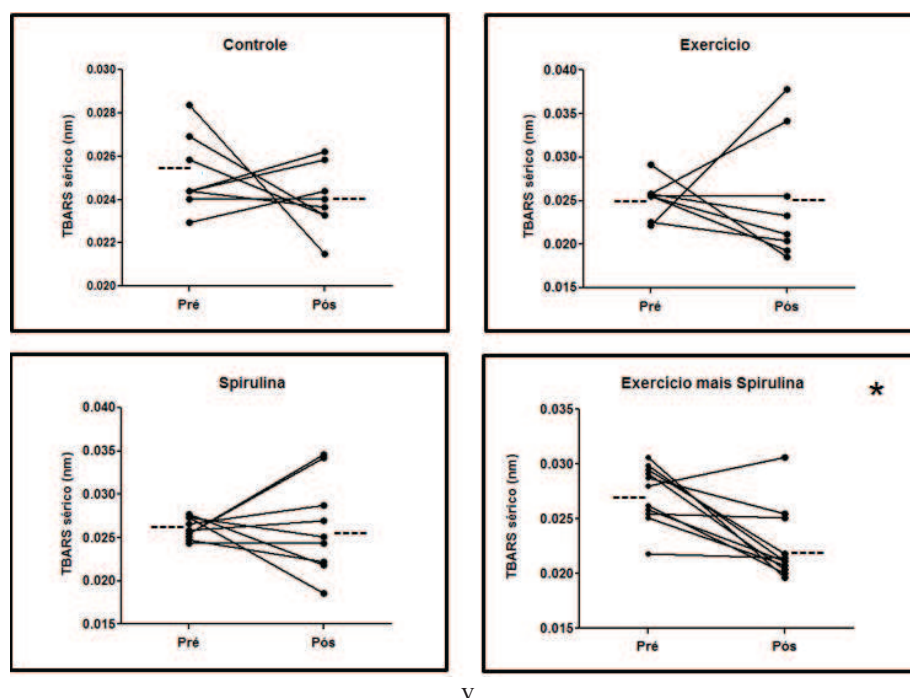
Figura 6 - TBARS no tecido cerebral.

O grupo adulto demonstrou maiores níveis de TBARS no cérebro comparado ao grupo jovem, independentemente do tratamento: controle ($0,004 \pm 0,011$ nmol – $0,025 \pm 0,004$ nmol; $P = 0,0003$) E ($0,067 \pm 0,019$ nmol – $0,014 \pm 0,002$ nmol; $P < 0,0001$), S ($0,052 \pm 0,003$ nmol – $0,038 \pm 0,002$ nmol; $P = 0,0032$) e ES ($0,060 \pm 0,002$ nmol – $0,009 \pm 0,001$ nmol; $P < 0,0001$).

4.4. TBARS SÉRICO

Em ratos jovens, a análise intra-grupo revelou que aqueles tratados com ES mostraram uma redução do TBARS sérico após o tratamento ($0,027 \pm 0,002$ nmol – $0,022 \pm 0,003$ nmol; $P = 0,008$), como apresentado na Figura 7. Níveis medianos de TBARS sérico diminuíram nos outros grupos, mas sem diferença significativa. Na

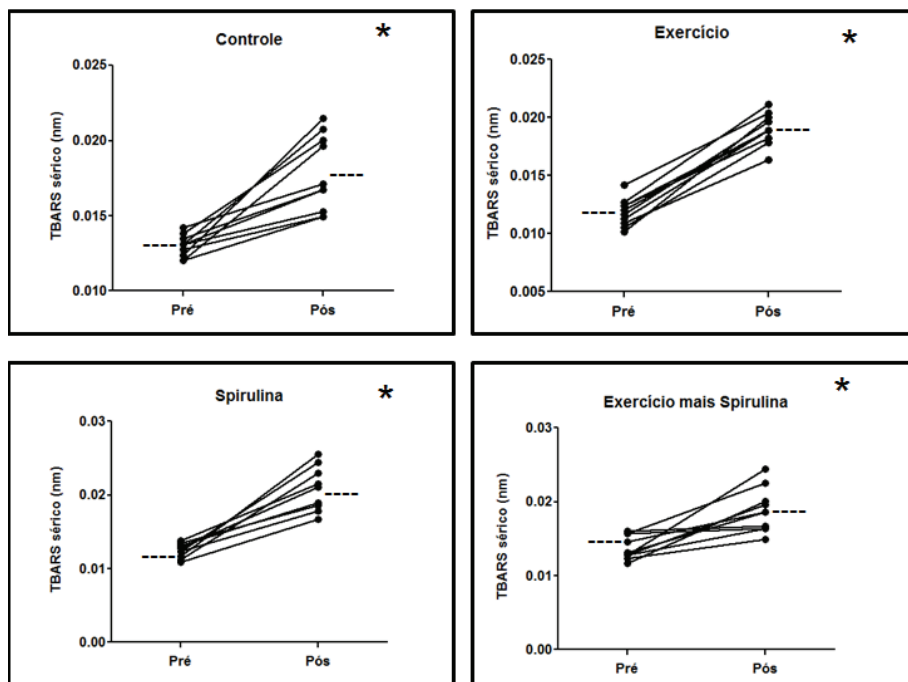
comparação inter-grupo não houve diferença significativa entre o efeito dos tratamentos (dados não mostrados).



Significância intra-grupo analisada por Teste T. O quadro com a marcação (*) possui resultados com diferença estatisticamente significativa ($P < 0,05$). Linhas pontilhadas representam as médias.

Figura 7 - TBARS sérico antes e depois dos tratamentos no grupo jovem.

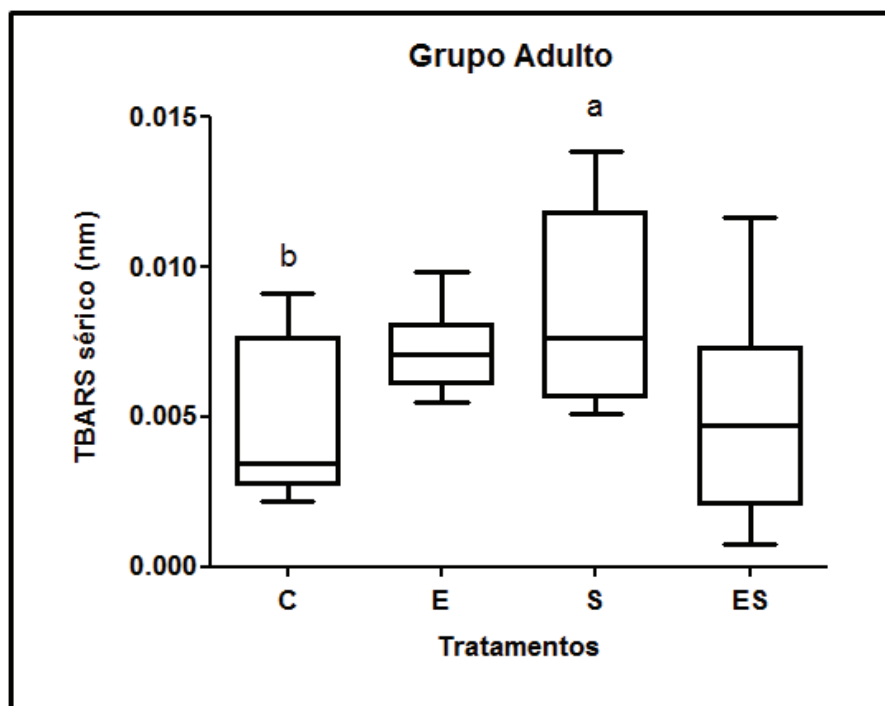
Em adultos, os níveis medianos de TBARS sérico aumentaram significativamente em todos os grupos após os tratamentos: controle ($0,013 \pm 0,001$ nmol – $0,018 \pm 0,0025$ nmol; $P = 0,0003$) E ($0,012 \pm 0,001$ nmol – $0,019 \pm 0,001$ nmol; $P < 0,0001$), S ($0,012 \pm 0,001$ nmol – $0,021 \pm 0,003$ nmol; $P < 0,0001$) e ES ($0,014 \pm 0,001$ nmol – $0,0019 \pm 0,003$ nmol; $P = 0,0012$) (Figura 8).



Significância intra-grupo analisada por Teste T. Os quadros com a marcação (*) possuem resultados com diferença estatisticamente significativa ($P < 0,05$).

Figura 8 - TBARS sérico antes e depois dos tratamentos no grupo adulto.

Na comparação inter-grupo, o efeito dos tratamentos revelou que aqueles tratados com S mostraram maior aumento no TBARS sérico comparado ao controle [MED (IQR 25-75%): 0,008 nmol (0,006 – 0,012) vs. 0,003 nmol (0,003 – 0,008); $P < 0,05$] (Figura 9).



Significância entre os quatro grupos analisada por ANOVA. Aqueles que partilham letras diferentes possuem resultados com diferença estatisticamente significativa ($P < 0,05$).

Figura 9 - Comparação do efeito dos diferentes tratamentos no TBARS sérico no grupo adulto.

A comparação do TBARS sérico entre ratos jovens e adultos é mostrada na Tabela 1. O grupo jovem mostrou significativo benefício na redução do TBARS quando tratado com E, S ou ES.

Tabela 1 - Comparação dos efeitos dos tratamentos no TBARS sérico entre jovens e adultos tratados com E, S e ES.

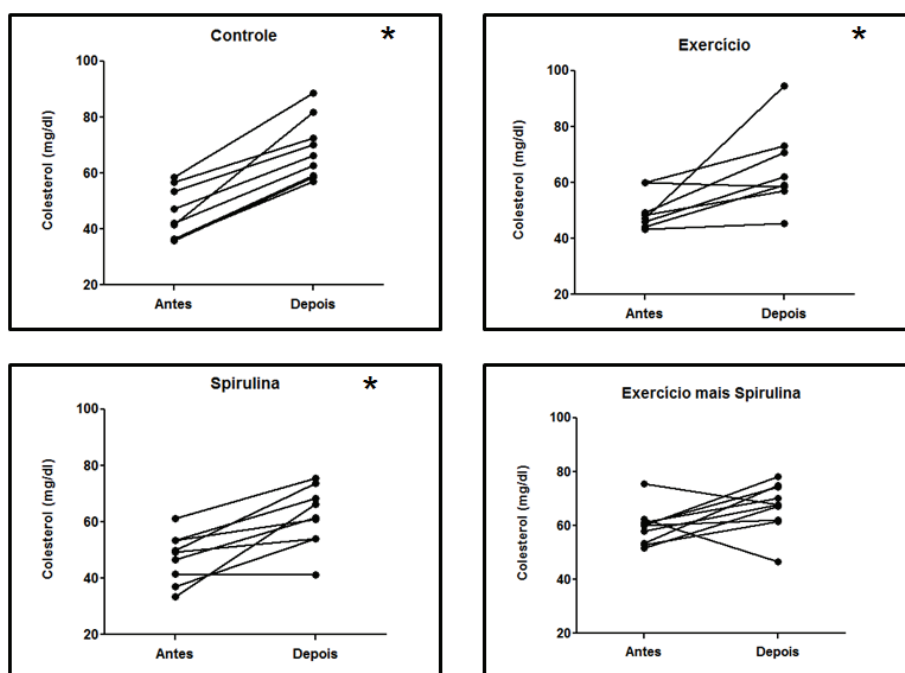
Tratamentos*	Jovem	Adulto	P
	Mediana (IQR 25-75%)		
E	-0,003 (-0,007 – -0,002)	0,007 (0,006 – 0,008)	< 0,0001
S	-0,002 (-0,006 – 0,001)	0,005 (0,004 – 0,006)	0,0 01
ES	-0,006 (-0,009 – -0,004)	0,004 (0,001 – 0,006)	< 0,0001

*Diferença do TBARS sérico em nmol antes e após os tratamentos.

4.5. PERFIL LIPÍDICO

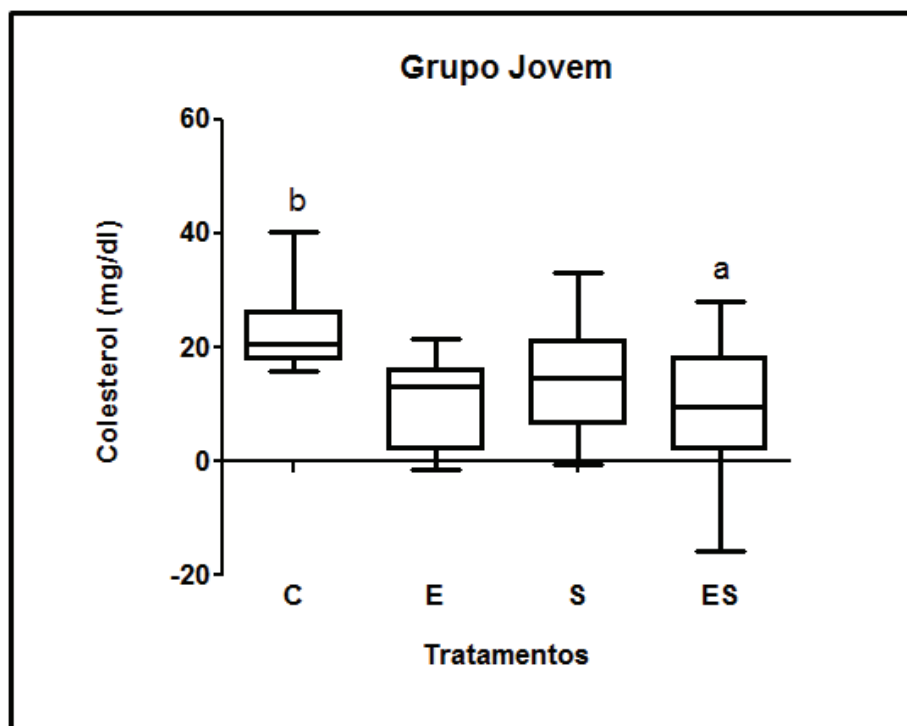
4.5.1 COLESTEROL TOTAL

Em ratos jovens, os níveis medianos de colesterol total (CT) sérico aumentaram significativamente nos grupos controle ($45,5 \pm 8,9$ mg/dl – $68,6 \pm 10,9$ mg/dl; $P < 0,0001$), E ($49,8 \pm 6,5$ mg/dl – $65,1 \pm 14,7$ mg/dl; $P = 0,0156$) e S ($47,4 \pm 8,7$ mg/dl – $61,8 \pm 10,9$ mg/dl; $P = 0,0026$) após os tratamentos, como mostra a Figura 10. Ratos jovens tratados com ES mostraram níveis similares de CT após os tratamentos ($59,6 \pm 6,8$ mg/dl – $67,1 \pm 14,7$ mg/dl; $P = 0,074$). A comparação entre os grupos mostrou que a magnitude de aumento foi significativamente menor em ratos tratados com ES comparados aos controles [MED (IQR 25-75%): 9,6 mg/dl (2,2 – 18,2) vs. 20,6 mg/dl (17,8 – 26,2); $P < 0,05$] (Figura 11).



Significância intra-grupo analisada por Teste T. Os quadros com a marcação (*) possuem resultados com diferença estatisticamente significativa ($P < 0,05$).

Figura 10 - Colesterol sérico antes e depois dos tratamentos no grupo jovem.



Significância entre os quatro grupos analisada por ANOVA. Aquelas que partilham letras diferentes possuem resultados com diferença estatisticamente significativa ($P < 0,05$).

Figura 11 - Comparação do efeito dos diferentes tratamentos no colesterol total sérico no grupo jovem.

Em ratos adultos, a comparação intra-grupo não mostrou diferença significativa em nenhum grupo após o tratamento, assim como não foi encontrada diferença significativa na comparação inter-grupo (dados não mostrados).

Na comparação do CT sérico entre jovens e adultos, os ratos adultos mostraram maior benefício na redução do colesterol quando tratados com S. Os adultos tratados com ES também mostraram um decréscimo do colesterol, contudo com uma significância limítrofe (Tabela 2).

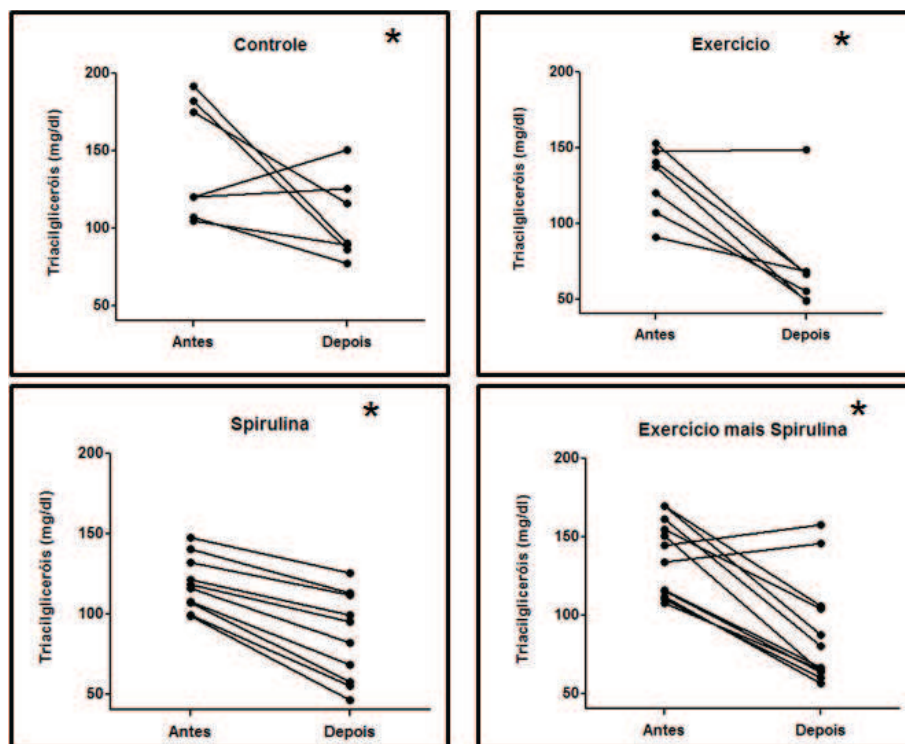
Tabela 2 - Comparação dos efeitos dos tratamentos no colesterol total sérico entre jovens e adultos tratados com E, S e ES.

<i>Tratamentos*</i>	<i>Jovem</i>	<i>Adulto</i>	<i>P</i>
Mediana (IQR 25-75%)			
E	13,29 (2,005 – 16,10)	2,331 (-6,279 – 15,43)	0,2004
S	14,68 (6,119 – 20,47)	-10,20 (-17,60 – 11,13)	0,0106
ES	8,955 (-2,900 – 14,62)	-4,747 (-10,43 – 4,894)	0,0811

**Diferença de colesterol total sérico em mg/dl antes e após os tratamentos.*

4.5.2 TRIACILGLICERÓIS

Na comparação intra-grupo, os níveis medianos de triacilgliceróis (TAG) sérico diminuíram significativamente em todos os grupos em ratos jovens após o tratamento: controle ($143 \pm 38,1$ mg/dl – $105 \pm 26,5$ mg/dl; $P = 0,0003$) E ($0,012 \pm 0,001$ mg/dl – $0,019 \pm 0,001$ mg/dl; $P < 0,0001$), S ($0,012 \pm 0,001$ mg/dl – $0,021 \pm 0,003$ mg/dl; $P < 0,0001$) e ES ($0,014 \pm 0,001$ mg/dl – $0,0019 \pm 0,003$ mg/dl; $P = 0,0012$) (Figura 12). Quando comparados inter-grupos, nenhuma significância estatística foi encontrada entre os tratamentos (dados não mostrados).



Significância intra-grupo analisada por Teste T. Os quadros com a marcação (*) possuem resultados com diferença estatisticamente significativa ($P < 0,05$).

Figura 12 - Triacilgliceróis sérico antes e depois dos tratamentos no grupo jovem.

Em adultos, os níveis medianos de TAG sérico não mostraram diferença significativa após os tratamentos na comparação intra-grupo. E a comparação inter-grupo também não apresentou diferença estatisticamente significativa (dados não mostrados).

Na comparação entre os grupos jovem e adulto sobre o efeito dos diferentes tratamentos no TAG sérico, ratos jovens mostraram melhor benefício na redução dos TAG quando tratados com S, E e ES (Tabela 3).

Tabela 3 - Comparação dos efeitos dos tratamentos no triacilgliceróis sérico entre jovens e adultos tratados com E, S e ES.

<i>Tratamentos</i> *	<i>Jovem</i>	<i>Adulto</i>	<i>P</i>
Mediana (IQR 25-75%)			
E	-71,95 (-87,45 – -29,93)	-5,497 (-66,95 – 12,29)	0,0324
S	-30,75 (-45,37 – -22,32)	9,346 (-42,23 – 48,36)	0,0449
ES	-51,82 (-81,06 – -42,51)	2,137 (-24,85 – 18,88)	0,0103

*Diferença dos triacilgliceróis séricos em mg/dl antes e após os tratamentos.

5. DISCUSSÃO

A origem das doenças neurodegenerativas que aparecem no decorrer do processo de envelhecimento estão sendo alvo de pesquisas e, cada vez mais, o estresse oxidativo tem sido mostrado como potencial agente etiológico (BAILLET et al 2010; GUSTAW-ROTHENBERG; KOWALCZUK; STRYJECKA-ZIMMER, 2010). A literatura também têm mostrado que doenças cardiovasculares crônicas como a aterosclerose, hipertrofia cardíaca, falência cardíaca e hipertensão são causadas, além de um processo inflamatório, pelo estresse oxidativo (DHALLA; TEMSAH; NETTICADAN, 2000) através da hipótese de que a oxidação dos lipídeos é base para que ocorra a aterogênese (CHISOLM; STEINBERG, 2000; GALÁN et al, 2006).

Como a quantificação das TBARS avalia a presença de peroxidação lipídica, através dos níveis de MDA, os quais servem como marcadores de estresse oxidativo (POTTER, NEUN; STERN, 2011; GUSTAW-ROTHENBERG; KOWALCZUK; STRYJECKA-ZIMMER, 2010), este estudo buscou analisar esse marcador que possui importante relação com as doenças crônicas e com o envelhecimento.

Nesse sentido, este estudo observou que ratos jovens tiveram menores níveis de MDA cerebral quando realizaram exercício, particularmente quando associado com *Spirulina*. Além disso, a combinação entre exercício e *Spirulina* tem potencial benefício na redução do MDA sérico. No cenário clínico, estes achados indicam que a prática de exercício moderado com associação de *Spirulina* pode ser útil para prevenir entidades relacionadas com o estresse oxidativo, como as doenças cardiovasculares e neurodegenerativas.

A literatura traz dados controversos a respeito desta questão. Muitos estudos têm pesquisado o efeito de agentes antioxidantes como suplemento durante o exercício. Devi e Kiran (2004) trataram ratos jovens, de diferentes faixas etárias com exercício,

exercício mais suplementação (vitamina E), suplementação e controle. No exercício os animais nadaram durante 12 semanas, cinco vezes por semana, em um protocolo de intensidade leve. Os resultados concordam com os deste estudo, pois os autores verificaram menores níveis de MDA cerebral nos exercitados e suplementados comparados aos controles. Ainda, Jolitha; Subramanyam; Devi (2006) também verificaram que a associação entre exercício e suplementação tem efeito benéfico na peroxidação lipídica cerebral em jovens. Em contraste, Çakır et al (2010) avaliou o efeito do exercício no TBARS cerebral e não encontrou benefício do exercício sobre o estresse oxidativo. Estes autores, no entanto, verificaram que o exercício foi capaz de prevenir o aumento do MDA cerebral quando o estresse oxidativo foi induzido de forma aguda ou crônica e, ainda, os que passaram por estresse crônico e realizaram exercício tiveram menores níveis de MDA comparados com os estressados e sedentários (ÇAKIR et al, 2010).

No presente estudo foi verificado que animais jovens tiveram maiores níveis de TBARS cerebral no grupo que recebeu *Spirulina*. Outro estudo, que também analisou o efeito deste antioxidante, encontrou redução nos níveis de TBARS apenas nos tecidos como fígado, coração, pulmões e rins, mas não encontrou diferença no tecido cerebral (UPASANI; BALARAMAN, 2003).

Nos animais adultos deste estudo, o grupo exercício teve maior TBARS cerebral. Além disso, os animais exercitados, bem como os que receberam apenas *Spirulina* não tiveram benefício em reduzir o TBARS sérico e este aumentou em todos os tratamentos.

Devi; Kiran (2004) verificaram que ratos adultos (8 meses) encontraram valores menores de TBARS cerebral nos que realizaram exercício associado a suplementação em relação ao controle, porém, como neste estudo, verificaram que com

o avanço da idade essa relação passa a se inverter, fazendo que animais exercitados suplementados ou não possuam maiores níveis de MDA cerebral que os controles (DEVI; KIRAN, 2004). Outro estudo também evidenciou que animais adultos tiveram maior MDA cerebral quando realizaram exercício, com ou sem suplementação, comparados ao controle (JOLITHA; SUBRAMANYAM; DEVI, 2006).

Em contrapartida, Galán et al (2006) submeteram indivíduos adultos e idosos às intervenções com exercício ou exercício mais suplementação com antioxidantes (vitamina E, C, A). O exercício foi realizado 50 minutos/sessão, três vezes por semana, durante 10 meses. Os autores observaram melhora significativa nos níveis de MDA sérico no grupo exercício e no exercício mais suplementação.

O presente estudo observou que exercício associado com *Spirulina* é capaz de reduzir o TBARS sérico em adultos. Concordando com esses achados, Kalafati et al (2010) verificaram um efeito benéfico na redução da peroxidação lipídica no sangue através da associação entre exercício moderado na esteira e ingestão de seis gramas de *Spirulina* em indivíduos jovens, durante quatro semanas de tratamento. Porém não verificaram o mesmo benefício apenas com o exercício.

A *Spirulina* também aumentou o TBARS sérico em adultos. Uma pesquisa realizada com camundongos analisou o efeito da *Spirulina* aplicada oralmente duas vezes ao dia, durante sete semanas na cardiotoxicidade induzida pela Doxorubicina. Os resultados demonstraram que houve prevenção do aumento do MDA no tecido cardíaco naqueles tratados com *Spirulina* (KHAN et al, 2005). Vale ressaltar que a quantidade de *Spirulina* no estudo citado foi de 250 mg/Kg de peso corporal, duas vezes ao dia, o que neste estudo correspondeu a uma dose de 2,6 mg/Kg apenas uma vez ao dia. Um artigo de revisão aponta estudos que comprovam o efeito benéfico da *Spirulina* na prevenção de toxicidade induzida em órgãos como fígado, rins, cérebro através da diminuição da

peroxidação lipídica. Estes estudos utilizaram doses de *Spirulina* que vão de 25 mg a 1.500 mg diárias de *Spirulina* (DENG; CHOW, 2010). Um dos estudos citados nesta revisão observou que três diferentes doses de *Spirulina* (250, 500 e 1.000 mg) tiveram efeito positivo na redução da toxicidade pela peroxidação lipídica (PREMKUMAR et al, 2001). Ainda, os níveis séricos de MDA foram reduzidos nos ratos jovens tratados com *Spirulina*, e uma quantidade de 800 mg/Kg de peso corporal, no estudo de Sharma, Sharma, Sharma (2005). Outros autores verificaram que indivíduos jovens que receberam 7,5 gramas diárias de *Spirulina* diminuíram a peroxidação lipídica na análise sanguínea (LU et al, 2006).

Quanto à realização de exercício, Gomez-Cabrera, Domenech e Viña (2008), defendem que o exercício moderado por si só promove benefício antioxidante ao organismo e a associação com suplementação antioxidante pode retirar este efeito. Assim, em um artigo de revisão, estes autores destacam alguns estudos comprovando que a suplementação com vitamina C, E, selênio, ácido α -lipóico retiraram o efeito antioxidante do exercício (GOMEZ-CABRERA; DOMENECH; VIÑA, 2008). A explicação para isso, segundo os autores, é que o exercício moderado gera pequenas quantidades de ERO que ativam vias sinalizadoras, e que, por efeito rebote, aumentam a atividade antioxidante. Assim, o suplemento antioxidante previne a formação de espécies reativas e que acabam por não ativar a atividade enzimática de defesa. No entanto, os resultados do presente estudo mostraram-se contrários, pois foi verificado que a suplementação com *Spirulina* durante o exercício diminuiu a peroxidação lipídica em jovens.

Como na presente pesquisa a *Spirulina* teve maiores níveis de MDA, parece que a quantidade oferecida não foi suficiente para promover efeito antioxidante. A baixa

dosagem de *Spirulina platensis* utilizada neste estudo foi baseada nas recomendações da ANVISA.

O aumento do TBARS após exercício em adultos pode ser explicada pela indução de ERO que ocorre nesse tratamento (GOMEZ-CABRERA; DOMENECH; VIÑA, 2008), seguido de uma menor resposta antioxidante que ocorre com o processo de envelhecimento (JOLITHA; SUBRAMANYAM; DEVI, 2006). Além disso, a associação do exercício com *Spirulina* ter aumentado o MDA sérico em adultos pode ser explicado pelo fato de que o exercício aumentou o MDA, e a *Spirulina*, com uma dosagem muito baixa, não possuiu capacidade antioxidante para reduzir o EO causado pelo exercício. Esse entendimento se dá pelo fato de que esses resultados foram encontrados apenas em adultos.

Percebeu-se ainda, em se tratando de estresse oxidativo, que um protocolo moderado não gera as mesmas respostas em adultos que em jovens e, talvez, um protocolo moderado estipulado para jovens, pode ter atuado como exaustivo em animais mais velhos.

Durante o processo de envelhecimento ocorre uma anormalidade no metabolismo do colesterol, além disso, uma diferença nesse metabolismo ocorre entre o cérebro de indivíduos saudáveis e os com doença de Alzheimer. Estas alterações sugerem que alterações na membrana lipídica que estão ligadas à doença neurológica podem ser causadas pelo acúmulo de danos pelos radicais livres (CUTLER et al, 2003). Também está bem estabelecido que o aumento do colesterol tem potencial aterogênico e é fator de risco para as doenças cardiovasculares. Nesse sentido, este estudo acredita ser importante verificar além da peroxidação lipídica, alterações nos níveis de colesterol e possíveis estratégias que atuem na prevenção de doenças através do controle desses marcadores.

O presente estudo mostrou que a associação entre exercício e *Spirulina* foi benéfica na prevenção do aumento do colesterol em jovens. O estudo de Devi; Prathima; Subramanyam (2003) também verificou que ratos jovens tiveram menores níveis de CT quando realizaram exercício associado ao antioxidante. O estudo também verificou que apenas a realização de exercício também foi eficaz na redução do CT, o que foi contra os resultados do presente estudo.

A associação entre exercício e dieta sobre os níveis de colesterol tem sido pesquisado em alguns estudos. O estudo de Quiles et al (2003) fez associação entre exercício e suplementação com azeite de oliva ou óleo de girassol em ratos jovens. Os animais realizaram exercício moderado em uma esteira, durante oito semanas, diariamente, com duração de 15 minutos. Os autores observaram redução dos níveis séricos de CT. Em outro estudo, os autores submeteram os animais ao exercício através de corrida na esteira em intensidade moderada, 60 minutos por dia, durante oito semanas, além de suplementação com carnitina, vitamina E, C e melatonina. Aqueles que realizaram exercício e exercício mais suplementação reduziram os níveis plasmáticos de CT (KIM, PARK, CHA, 2004).

Meilhac et al (2001) analisaram o efeito da associação do exercício mais vitamina E em camundongos jovens hipercolesterolêmicos. Os autores verificaram que os maiores níveis de CT foram encontrados nos que ingeriram a vitamina, os menores níveis estavam naqueles que realizaram exercício e a associação entre exercício e antioxidante, assim como neste estudo, preveniu o aumento do CT. Ainda, os animais que não foram induzidos à hipercolesterolemia recebendo, assim, dieta normal, tiveram maiores níveis de CT quando realizaram exercício comparado aos sedentários, concordando com os achados deste estudo.

Ainda os animais que receberam *Spirulina* aumentaram o colesterol neste estudo. No estudo de Upasani e Balaraman (2001), não houve diferença significativa no CT entre os animais do grupo controle e os do grupo *Spirulina*. Em contrapartida, Nagaoka et al (2005) verificaram que a *Spirulina* teve potencial efeito benéfico na redução do colesterol em ratos jovens. Bem como o estudo de Bertolin et al (2009), que verificou redução do CT em ratos jovens hipercolesterolêmicos após a ingestão de *Spirulina*. Cheong et al (2010) também verificaram que coelhos hipercolesterolêmicos tiveram o CT reduzido após ingestão de *Spirulina*. Ainda, outro estudo induziu o acúmulo de gordura no fígado de ratos e notou que aqueles que receberam *Spirulina* diminuíram o CT e preveniram o acúmulo de gordura (TORRES-DURÁN, 1999). A grande diferença desta pesquisa para os resultados encontrados na literatura é que os animais não tiveram hipercolesterolemia induzida.

Nosso estudo observou que os mesmos tratamentos (S, E e ES) que aumentaram o CT, diminuíram os TAG nos jovens. Outros estudos também encontraram efeito benéfico entre a associação de exercício moderado com antioxidante nos níveis de TAG (QUILES et al, 2003; KIM, PARK, CHA, 2004) ou somente com exercício (KIM, PARK, CHA, 2004). Resultados contrários a este foram apresentados por Okabe et al (2007) que submeteram ratos jovens ao treinamento através do nado, 30-45 minutos por dia, 3 vezes por semana, durante oito semanas, não verificando diferença significativa nos TAG entre os animais que receberam apenas dieta hipercalórica e os com a mesma dieta e que realizaram exercício.

Os animais adultos deste estudo não obtiveram efeitos de qualquer tratamento no CT ou TAG e, quando comparados aos jovens, tiveram maiores níveis de CT.

Concordando com esses resultados, Galán et al (2006) realizaram um estudo com 320 idosos saudáveis e verificaram que o exercício aumentou significativamente os

níveis de CT e, quanto aos TAG, não houve diferença após o tratamento. Além disso, os autores observaram que, em adultos, a associação entre exercício e antioxidante também não provocou mudanças no TAG, assim como este estudo. No entanto, Varady e Jones (2005) afirmam que pacientes adultos hipercolesterolêmicos podem encontrar benefício na redução no CT e dos TAG quando associarem o exercício moderado à suplementação com alguns alimentos nutracêuticos como óleo de peixe, aveia e esteróis de plantas.

Neste estudo a ingestão de *Spirulina* não promoveu mudanças no CT e TG, no entanto, a literatura aponta resultados contrários à estes, como os apresentados no artigo de revisão de Deng e Chow (2010), que apontam efeito benéfico da *Spirulina* na redução do colesterol em adultos e idosos. Um estudo em que adultos saudáveis que receberam 4,2 g diárias de *Spirulina* por quatro ou oito semanas e outro com adultos com diabetes mellitus tipo 2, verificaram que há maior redução no CT quanto maior os níveis de colesterol do indivíduo, esses artigos também verificaram melhora dos TAG. Indivíduos adultos com doença cardíaca isquêmica diminuíram CT e TAG com ingestão diária de 2 ou 4 g de *Spirulina* e a redução foi maior naqueles que receberam maior dosagem. Outros estudos também verificaram melhora dos níveis de CT e TAG em pacientes adultos com presença de doenças como diabetes mellitus tipo 2 e síndrome nefrótica. Adultos saudáveis também tiveram o CT reduzido, contudo no TAG parece ter havido maior benefício na redução. Idosos saudáveis também mostraram menores níveis de CT e TAG após ingestão de *Spirulina* com quantidade de oito gramas diárias. Por outro lado, os achados deste estudo mostraram que animais adultos possuem maior benefício na redução do CT quando tratados com *Spirulina* em relação aos jovens.

A obesidade tem gerado preocupação em todo o mundo e se tornou, assim, um problema de saúde pública. A WHO indica que em 2015 haverá em torno de 700

milhões de pessoas obesas no mundo e que, cerca de 2,3 bilhões de pessoas com idade acima dos 15 anos terão sobrepeso (WHO, 2011). Além disso, é evidente que pessoas de meia-idade sedentárias ou que realizam curtos períodos de exercício físico possuem aumento da gordura visceral, aumento de peso e que tudo isso eleva o fator de risco para doenças cardiovasculares (SLENTZ; HOUMARD; KRAUS, 2009).

Nesse contexto, este estudo acreditou ser importante analisar o peso corporal de animais sedentários, observar as respostas de jovens e adultos aos diferentes tratamentos e, também, buscar estratégias que possam atuar na prevenção do ganho de peso. Assim, os achados iniciais foram que os animais jovens que realizaram exercício com ou sem associação de *Spirulina* preveniram o aumento de peso que ocorreu no grupo controle e *Spirulina*.

A literatura demonstra resultados favoráveis do exercício físico na redução do peso corporal (LEE; SUI; BLAIR, 2009). É provável que esses efeitos sejam mediados por sinais gerados pelo corpo durante o exercício, como a interleucina-6, ácidos graxos, além da geração de energia que reflete no cérebro para regular os sistemas de neuropeptídeos centrais envolvidas na regulação da homeostase energética. Assim, a prática de exercício tem potencial para reduzir a obesidade em ratos adultos e, em jovens, reduz a adiposidade em ratos alimentados com alto teor de gordura (PATTERSON; LEVIN, 2008).

O estudo de Stasiulis et al (2010) verificaram que oito semanas de exercício reduziu o peso corporal e os TAG de mulheres jovens saudáveis. Esses resultados são compatíveis com os do presente estudo que verificou os mesmos resultados com animais.

Um experimento realizado com ratos jovens verificou que o consumo de *Spirulina* aumentou significativamente o peso da mesma forma que ocorreu nos controles, assim como os resultados do presente estudo (ROGATTO et al, 2004).

Neste estudo, os adultos que realizaram exercício de forma isolada mantiveram o peso após o tratamento, enquanto os que receberam *Spirulina*, com ou sem exercício, aumentaram o peso. Larson-Meyer et al (2010) realizaram um estudo analisando peso corporal de 36 indivíduos adultos com sobrepeso que realizaram exercício ou exercício associado à restrição calórica (antioxidante). Os resultados demonstraram que houve redução significativa do peso corporal após as duas intervenções enquanto que os sedentários não mudaram seu peso. Nesta pesquisa, exercício associado de *Spirulina* aumentou o peso, provavelmente resultante da associação com a suplementação, que aumentou quando fornecida de forma isolada. Ramamoorthy; Premakimari (1996) também não verificaram redução do peso corporal em pacientes adultos hipercolesterolômicos que receberam *Spirulina* nas doses de duas ou quatro gramas.

A ingestão de *Spirulina* aumentou o peso dos animais jovens e adultos neste estudo. Becker et al ainda em 1986 avaliaram o efeito da *Spirulina* relacionada ao peso corporal em humanos e verificaram que não houve diferença significativa na redução do peso após o consumo de *Spirulina*. Estes resultados são importantes, uma vez que o uso de *Spirulina* tem sido indicado clinicamente para emagrecimento por conter substâncias que parecem prolongar o tempo de trânsito gástrico e também produzir sensação de saciedade (MARANESI et al, 1984). Um estudo realizado em ratos Wistar também observou que a ingestão de *Spirulina* não leva à diminuição do peso corporal (ARAÚJO; FACCHINETTI; SANTOS, 2003).

Esses achados, confrontados com a literatura, sugerem a importância de serem implementadas ações de políticas públicas através da reunião de estratégias que

previnam a obesidade, atuantes em ambientes alimentares, de atividade física e que influenciem o comportamento da sociedade frente estas condutas (SACKS; SWINBURN; LAWRENCE, 2009).

Nesta linha de raciocínio, recentes evidências sugerem que a terapia sob Restrição Calórica (RC) protege a saúde e aumenta o *life span* de diferentes modelos experimentais de porte pequeno e mais recentemente de primatas (COLMAN et al, 2009). Esta proteção acontece pela mediação da indução de um gene chamado *silent information regulator 2* (regulador de informação silenciosa, ou apenas Sir2) que codifica uma enzima, a histona desacetilase dependente de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD⁺) (FONTANA et al, 2010; EVANS et al, 2010). Isto promove um aumento na relação NAD⁺ /NADH, onde este aumento tem sido discutido como um promotor de *life span* nestes organismos (LIN et al, 2004).

Queremos desta forma, fazer um paralelo dos atributos já bastante estudados da RC com o exercício físico moderado ou o uso da *Spirulina platensis*. De acordo com Baur (2010) devido o estilo de vida sob RC ainda ser uma incerteza, se pensarmos no ser humano, a busca por terapias que mimetizem os efeitos benéficos da RC para a saúde e a longevidade tem sido evidenciada. Nessa revisão Baur apresenta o resveratrol como um promissor mimetizador da RC. Nesta mesma linha, Ristow e Zarse (2010), relatam como que o aumento do estresse oxidativo promove saúde metabólica e longevidade, resgatando o conceito de hormese. Os autores sugerem que o exercício físico o uso de antioxidantes apresentam um denominador comum metabólico quando comparado com RC. Isto é, aumentam o metabolismo mitocondrial e a formação de ERO, aumentando a resistência ao estresse oxidativo, as defesas antioxidantes e o *life span* (BAUR, 2010).

Neste contexto, o estudo mostrou que o exercício moderado teve importante impacto em jovens sobre o estresse oxidativo e o perfil lipídico, especialmente quando associado à suplementação com *Spirulina*. Adultos responderam de forma diferente ao exercício, com maiores níveis de estresse oxidativo e colesterol, apenas com redução nos TAG. A associação entre exercício e *Spirulina* foi benéfica em prevenir o aumento do colesterol e na redução dos TAG.

A partir desses achados sugerimos avaliação de outros protocolos de exercício comparando diferentes intensidades sobre os níveis de estresse oxidativo e perfil lipídico, principalmente em adultos e idosos, além do seu sinergismo com a *Spirulina*.

6. CONCLUSÃO

Através desta pesquisa pôde-se concluir que adultos possuem respostas diferentes dos jovens frente ao exercício moderado e a suplementação com *Spirulina*, tanto na peroxidação lipídica quanto no perfil lipídico. Assim, jovens possuíram melhor resposta quando realizaram exercício associado ou não à suplementação com *Spirulina*. Os adultos apenas tiveram benefício quando submetidos ao exercício em sinergismo com *Spirulina*. A soma entre os dois tratamentos também foi benéfica sobre o colesterol de jovens.

Sugerem-se mais estudos que busquem esclarecimento sobre a intensidade ideal de exercício, o qual deve ser proporcional para o jovem e para o adulto, buscando sempre um programa direcionado para a necessidade de cada faixa etária.

REFERÊNCIAS

- ADIBHATLA, R.M.; HATCHER, J.F. Altered Lipid Metabolism in Brain Injury and Disorders. *Subcellular Biochemistry*, v. 49, p. 241-268, 2008.
- ANDERSEN, H.R. et al. Antioxidative enzyme activities in human erythrocytes. *Clinical Chemistry*, v. 43, n. 4, p. 562-568, 1997.
- ANDRADE, F.H.; REID, M.B.; WESTERBLAD, H. Contractile response of skeletal muscle to low peroxide concentrations: myofibrillar calcium sensitivity as a likely target for redox-modulation. *The FASEB Journal*, v. 15, n. 2, p. 309-311, 2001.
- ARAÚJO, J.M.A. *Química de alimentos: teoria e prática*. 3ª ed. Viçosa: UFV, 2004.
- ARAÚJO, K.G.L.; FACCHINETTI, A.D.; SANTOS, C.P. Influência da ingestão de biomassas de Spirulina (arthrospira sp.) sobre o peso corporal e consumo de ração em ratos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 23, n. 1, p. 6-9, 2003.
- ARMSTRONG, R.B.; OGILVIE, R.W.; SCHWANE, J.A. Eccentric exercise-induced injury to rat skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, v. 54, n. 1, p. 80-93, 1983.
- BABUSIKOVA, E. et al. Age-related oxidative modifications of proteins and lipids in rat brain. *Neurochemical Research*, v.32, n.8, p. 1351-1356, 2007.
- BAEUERLE, P.A.; BALTIMORE, D. Activation of DNA-binding activity in an apparently cytoplasmic precursor of the NF-kappa B transcription factor. *Cell*, v. 53, n. 2, p. 211-217, 1988.
- BAGATINI, M.D. et al. Enzymes that hydrolyze adenine nucleotides in patients with ischemic heart disease. *Clinica Chimica Acta*, v. 412, n. 1-2, p. 159-164, 2011.

BAILLET, A. et al. The role of oxidative stress in amyotrophic lateral sclerosis and Parkinson's disease. *Neurochemical Research*, v. 35, n. 10, p. 1530-1537, 2010.

BAUR, J.A. Resveratrol, sirtuins, and the promise of a DR mimetic. *Mechanisms of Ageing and Development*, v. 131, n. 4, p. 261-269, 2010.

BELAY, A. et al. Current knowledge on potential health benefits of Spirulina. *Journal Applied Physiology*, v. 5, n. 2, p. 235-241, 1993.

Artigo I. BERMEJO-BESCÓS, P.; PIÑERO-ESTRADA, E.; VILLAR DEL FRESNO, A.M. Neuroprotection by Spirulina platensis protean extract and phycocyanin against iron-induced toxicity in SH-SY5Y neuroblastoma cells. *Toxicology in Vitro*, v. 22, n. 6, p. 1496-1502, 2008.

BHAT, V.B.; MADYASTHA, K.M. Scavenging of peroxynitrite by phycocyanin and phycocyanobilin from Spirulina platensis: protection against oxidative damage to DNA. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, v. 285, n. 2, p. 262-266, 2001.

BLAGOSKLONNY, M.V. Why human lifespan is rapidly increasing: solving "longevity riddle" with "revealed-slow-aging" hypothesis. *Aging (Albany NY)*, v. 2, p. 177-82, 2010.

BONNES-TAOUREL, D.; GUÉRIN, M.C.; TORREILLES, J. Is malonaldehyde a valuable indicator of lipid peroxidation? *Biochemical Pharmacology*, v. 44, n.5, p. 985-988, 1992.

BOVERIS, A.; CHANCE, B. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochemical Journal*, v. 134, p. 707-716, 1973.

BRADY, P.S.; BRADY, L.J.; ULLREY, D.E. Selenium, vitamin E and the response to swimming stress in the rat. *The Journal of Nutrition*, v.109, n.6, p.1103-1109, 1979.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. VII *Lista dos novos ingredientes aprovados* – Comissões Tecnocientíficas de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos. Disponível em URL: http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/novos_ingredientes.htm, 2008.

ÇAKIR, B. et al. Stress-induced multiple organ damage in rats is ameliorated by the antioxidant and anxiolytic effects of regular exercise. *Cell Biochemistry and Function*, v. 28, n. 6, p. 469-479, 2010.

BROCK, T.D.; MADIGAN, H.T. *Biology of Microorganism*. 6. ed. Englewood cliffs: Prentice Hall, 1991.

CHANCE, B.; SIES, H.; BOVERIS, A. Hydroperoxide Metabolism in Mammalian Organs. *Physiology Reviews*, v.59, p.527-605, 1979.

CHEN, X.L. et al. Study on the relationship between polymorphism of adiponectin gene and risk of ischemic stroke among Han population in the Northern parts of China. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*, v. 31, p. 129-32, 2010.

CHEONG, S.H. et al. Spirulina prevents atherosclerosis by reducing hypercholesterolemia in rabbits fed a high-cholesterol diet. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, v. 56, n. 1, p. 34-40, 2010.

CHISOLM, G.M.; STEINBERG, D. The oxidative modification hypothesis of atherogenesis: an overview. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 28, n. 12, p. 1815-1826, 2000.

COLMAN, R.J. et al. Caloric restriction delays disease onset and mortality in rhesus monkeys. *Science*, v. 325, n. 5937, p. 201-204, 2009.

COOMBES, J. S. et al. Effects of vitamin E and alpha-lipoic acid on skeletal muscle contractile properties. *Journal Applied Physiology*, v. 90, p. 1424-1430, 2001.

CORRÊA, M.C. *Avaliação de indicadores do estresse oxidativo e da atividade da enzima acetilcolinesterase sanguínea em pacientes com diagnóstico de Acidente Vascular Cerebral Isquêmico*. 2006. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul.

CORNET, J.F.; DUSSAP, C.G.; GROS, J.B. Kinetics and energetics of photosynthetic microorganisms in photobioreactors. *Advances in Biochemical Engineering and Biotechnology*, v. 59, p. 153-224, 1998.

CUTLER, R.G. et al. Involvement of oxidative stress-induced abnormalities in ceramide and cholesterol metabolism in brain aging and Alzheimer's disease. *PNAS*, v. 101, n. 7, p. 2070-2075, 2004.

DAVIES, K.J.A. et al. Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 107, n. 4, p. 1198-1205, 1982.

DENG, R.T; CHOW, J. Hypolipidemic, antioxidant, and antiinflammatory activities of microalgae Spirulina. *Cardiovascular Therapeutics*, v. 28, n.4, p. 33-45, 2010.

DE VECCHI, A.F. et al. Free and total plasma malondialdehyde in chronic renal insufficiency and in dialysis patients. *Nephrology, Dialysis, Transplantation*, v. 24, n. 8, p. 2524-2529, 2009.

DEVI, S.A.; KIRAN, T.R. Regional responses in antioxidant system to exercise training and dietary Vitamin E in aging rat brain. *Neurobiology of Aging*, v. 25, p. 501–508, 2004.

DEVI, S.A.; PRATHIMA, S.; SUBRAMANYAM, M.V.V. Dietary vitamin E and physical exercise: I. Altered endurance capacity and plasma lipid profile in ageing rats. *Experimental Gerontology*, v. 38, n.3, p. 285-290, 2003.

DHALLA, N.S.; TEMSAH, R.M.; NETTICADAN, T. Role of oxidative stress in cardiovascular disease. *Journal of hypertension*, v. 18, n.6, p. 655-673, 2000.

ESTERBAUER, H.; CHEESEMAN, K.H. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods in Enzymology*, v. 186, p. 407–421, 1990.

EVANS, C., et al. NAD⁺ metabolite levels as a function of vitamins and calorie restriction: evidence for different mechanisms of longevity. *BMC Chemical Biology*, v. 10, n. 2, 2010.

FERNÁNDEZ-CHECA, J.C. et al. Oxidative stress and altered mitochondrial function in neurodegenerative diseases: lessons from mouse models. *CNS & Neurological Disorders Drug Targets*, v. 9, n.4, p. 439-54, 2010.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v. 43, 1997.

FINKEL, T.; HOLBROOK, N. J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, v. 408, 2000.

FONTANA, L.; PARTRIDGE, L.; LONGO, V. Extending Healthy Life Span - From Yeast to Humans. *Science*, v. 328, n. 16, 2010.

GALÁN, A.I. et al. Exercise, oxidative stress and risk of cardiovascular disease in the elderly. Protective role of antioxidant functional foods. *BioFactors*, v. 27, p. 167-183, 2006.

GERSHWIN, M.E.; BELAY, A. *Spirulina in Human Nutrition and Health*. CRC Press, 2007.

GIL L. et al. Malondialdehyde: A possible Marker of Ageing. *Gerontology*, v. 48, n.4, 2002.

GOMES, P. et al. Aging increases oxidative stress and renal expression of oxidant and antioxidant enzymes that are associated with an increased trend in systolic blood pressure. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2, n. 3, p. 138-45, 2009.

GOMEZ-CABRERA, M.C.; DOMENECH, E.; VIÑA, J. Moderate exercise is an antioxidant: upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 44, p. 126-131, 2008.

GUSTAW-ROTHENBERG, K.; KOWALCZUK, K.; STRYJECKA-ZIMMER, M. Lipids' peroxidation markers in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Geriatric & Gerontology International*, v. 10, n. 2, p. 161-166, 2010.

GUTTERIDGE, J.M.C. Free-radical damage to lipids, amino acids, carbohydrates and nucleic acids determined by thiobarbituric acid reactivity. *International Journal of Biochemistry*, v. 14, p. 649-53, 1982.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE J.M.C. *Free radicals in biology and medicine*. 2. ed. Clarendon Press, Oxford, UK, 1989.

HARMAN, D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *Journal of Gerontology*, v. 11, n. 3, p. 298-300, 1956.

HARMAN, D. The aging process. *Medical Science*, v. 78, n. 11, p. 7124-7128, 1981.

HENRIKSON, R. *Microalga Spirulina: superalimento del futuro*. Barcelona: Ediciones Urano S.A., 1994.

HURSTING, S.D. et al. Calorie Restriction, Aging, and Cancer Prevention: Mechanisms of Action and Applicability to Humans. *Annual Review of Medicine*, v. 54, p. 131-152, 2003.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Síntese de indicadores sociais: uma análise das condições de vida da população brasileira. *Estudos e pesquisas – Informação demográfica e socioeconômica*, n. 26, 2007.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Síntese de indicadores sociais: uma análise das condições de vida da população brasileira. *Estudos e pesquisas – Informação demográfica e socioeconômica*, n. 26, 2009.

ISMAIL, M.F. et al. Chemoprevention of rat liver toxicity and carcinogenesis by Spirulina. *International Journal of Biological Sciences*, v. 5, n. 4, p. 377-387, 2009.

JOLITHA, A.; SUBRAMANYAM, M.V.V.; DEVI, A.S. Modification by vitamin E and exercise of oxidative stress in regions of aging rat brain: Studies on superoxide dismutase isoenzymes and protein oxidation status. *Experimental Gerontology*, v. 41, p. 753–763, 2006.

KALAFATI, M. et al. Ergogenic and antioxidant effects of spirulina supplementation in humans. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, v. 42, n. 1, p. 142-151, 2010.

KAO, C.L. et al. Resveratrol Protects Human Endothelium from H₂O₂-Induced Oxidative Stress and Senescence via SirT1 Activation. *Journal Atherosclerosis and Thrombosis*, v. 30, n. 9, p. 970-979, 2010.

KHAN, M. et al. Protective effect of Spirulina against doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Phytotherapy Research*, v. 19, n. 12, p. 1030-1037, 2005.

KIM, E.; PARK, H.; CHA, Y.S. Exercise training and supplementation with carnitine and antioxidants increases carnitine stores, triglyceride utilization, and endurance in

exercising rats. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, v. 50, n. 5, p. 335-343, 2004.

LARSON-MEYER, D.E. et al. Caloric Restriction with or without Exercise: The Fitness vs. Fatness Debate. *Medicine Science in Sports and Exercise*, v. 42, n. 1, p. 152–159, 2010.

LAUGHLIN, M.H. et al. Skeletal muscle oxidative capacity, antioxidant enzymes, and exercise training. *Journal of Applied Physiology*, v. 68, n. 6, p. 2337-2343, 1990.

LEE, I.M.; SKERRETT, P.J. Physical activity and all-cause mortality: what is the dose-response relation? *Medicine and Science in Sports and Exercise*, v. 33, n. 6, p. 459-71, 2001.

LEE, D.C.; SUI, X.; BLAIR, S.N. Does physical activity ameliorate the health hazards of obesity? *British Journal of Sports Medicine*, v. 43, n.1, p. 49-51, 2009.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. *Princípios de Bioquímica*. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 2002.

LIN, S.J. Calorie restriction extends yeast life span by lowering the level of NADH. *Genes & Development*, v. 18, n.1, p. 12–16, 2004.

LU, H.K. et al. Preventive effects of *Spirulina platensis* on skeletal muscle damage under exercise-induced oxidative stress. *European Journal of Applied Physiology*, v. 98, n. 2, p. 220-226, 2006.

MARANESI, M. et al. Nutritional studies on *Spirulina maxima*. *Acta vitaminologica et enzymologica*, v. 6, n.4, p. 295-304, 1984.

MARSHALL, R. J. et al. Supplemental vitamin C appears to slow racing greyhounds. *Journal of Nutrition*, v. 132, p. 1616S-1621S, 2002.

MAXFIELD, F.R.; TABAS, I. Role of cholesterol and lipid organization in disease. *Nature*, v. 438, p. 612-621, 2005.

MEILHAC, O. et al. Role of Arterial Wall Antioxidant Defense in Beneficial Effects of Exercise on Atherosclerosis in Mice. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, v. 21, n.10, p. 1681-1688, 2001.

MURRAY, R. K; RODWELL, V. W. Harper: *Bioquímica*. 9. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2002.

NAGOAKA, S. et al. A novel protein C-phycoyanin plays a crucial role in the hypocholesterolemic action of *Spirulina platensis* concentrate in rats. *The Journal of Nutrition*, v. 135, n. 10, p. 2425-2430, 2005.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. United States of America, 1996.

NAVARRO, A.; BOVERIS, A. Brain mitochondrial dysfunction in aging, neurodegeneration, and Parkinson's disease. *Frontiers in aging neuroscience*, v. 2, n. 34, p. 1-11, 2010.

NIELSEN, F. et al. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clinical Chemistry*, v. 43, n. 7, p. 1209-1214, 1997.

OKABE, T.A. et al. Swimming reduces the severity of atherosclerosis in apolipoprotein E deficient mice by antioxidant effects. *Cardiovascular Research*, v. 74, n.3, p. 537-545, 2007.

ORR, W.C.; SOHAL, R.S. Extension of Life-Span by Overexpression of Superoxide Dismutase and Catalase in *Drosophila melanogaster*. *Science*, v. 263, p. 1128-1130, 1994.

PACKER, L.; FUEHR, K. Low oxygen concentration extends the lifespan of cultured human diploid cells. *Nature*, v. 267, p. 423-425, 1977.

PATTERSON, C.M.; LEVIN, B.E. Role of exercise in the central regulation of energy homeostasis and in the prevention of obesity. *Neuroendocrinology*, v. 87, n. 2, p. 65-70, 2008.

POTTER, T.M.; NEUN, B.W.; STERN, S.T. Assay to detect lipid peroxidation upon exposure to nanoparticles. *Methods in Molecular Biology*, v. 697, n. 181-189, 2011.

PORTO, C.C. Doenças do Coração: Prevenção e Tratamento. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. RAHA, S.; ROBINSON, B.H. Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. *Trends in Biochemical Science*, v. 25, n. 10, p. 502-508, 2000.

PREMKUMAR, K. Effect of Spirulina fusiformis on cyclophosphamide and mitomycin-C induced genotoxicity and oxidative stress in mice. *Fitoterapia*, v. 72, n.8, p. 906-911, 2001.

QUILES, J.L. et al. Dietary Fat (Virgin Olive Oil or Sunflower Oil) and Physical Training Interactions on Blood Lipids in the Rat. *Nutrition*, v. 19, p. 363-368, 2003.

RADÁK, Z. et al. Muscle soreness-induced reduction in force generation is accompanied by increased nitric oxide content and DNA damage in human skeletal muscle. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 26, n. 7-8, p. 1059-1063, 1999.

RAMAMOORTHY, A.; PREMAKUMARI, S. Effect of Supplementation of Spirulina on Hypercholesterolemic Patients. *Journal of Food Science & Technology*, v. 33, n.2, p. 124-128, 1996.

REID, M.B.; KHAWLI, F.A.; MOODY, M.R. Reactive oxygen in skeletal muscle. III. Contractility of unfatigued muscle. *Journal of Applied Physiology*, v. 75, n. 3, p. 1081-1087, 1993.

RICHMOND, A. *Handbook of microalgal mass culture*. Boston: CRC Press; 1990. In: AMBROSI M.A. et al. Propriedades de saúde de Spirulina spp. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 29, n.2, 2008.

RISTOW, M.; ZARSE, K. How increased oxidative stress promotes longevity and metabolic health: The concept of mitochondrial hormesis (mitohormesis). *Experimental Gerontology*, v. 45, n. 6, p. 410-418, 2010.

ROGATTO, G.P. et al. Influência da ingestão de espirulina sobre o metabolismo de ratos exercitados. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, v.10, n.4, p. 258-263, 2004.

ROMANO, A.D. et al. Oxidative stress and ageing. *Journal of Nephrology*, v.15, p. 29-36, 2010.

SACKS, G.; SWINBURN, B.; LAWRENCE, M. Obesity Policy Action framework and analysis grids for a comprehensive policy approach to reducing obesity. *Obesity Reviews*, v.10, n.1, p. 76-86, 2009.

SÁINZ, N. et al. Leptin administration downregulates the increased expression levels of genes related to oxidative stress and inflammation in the skeletal muscle of ob/ob mice. *Mediators of Inflammation*, v. 2010, p. 1-15, 2010.

SCHIPPER, H. M. Brain iron deposition and the free radical-mitochondrial theory of ageing. *Ageing Research Reviews*, v. 3, p. 265-301, 2004.

SHARMA, S.; SHARMA, S.; SHARMA, K.P. Protective role of Spirulina feed in a freshwater fish (*Poecilia reticulata* Peters) exposed to an azo dye-methyl red. *Indian Journal of Experimental Biology*, v. 43, n. 12, p. 1165-1169, 2005.

SHARMAN, I.M.; DOWN, M.G.; SEN, R.N. The effects of vitamin E and training on physiological function and athletic performance in adolescent swimmers. *The British Journal of Nutrition*, n. 26, v. 2, p. 265-276, 1971.

SIGALA, F. et al. Oxidized LDL in human carotid plaques is related to symptomatic carotid disease and lesion instability. *Journal of Vascular Surgery*, v. 52, n.3, p. 704-13, 2010.

SLENTZ, C.A.; HOUMARD, J.A.; KRAUS, W.E. Exercise, Abdominal Obesity, Skeletal Muscle, and Metabolic Risk: Evidence for a Dose Response. *Obesity*, v.17, n.3, p. 27-33, 2009.

STASIULIS, A. et al. Aerobic exercise-induced changes in body composition and blood lipids in young women. *Medicina*, v. 46, n. 2, p. 129-34, 2010.

STUART, J.A. et al. Mitochondrial and nuclear DNA base excision repair are affected differently by caloric restriction. *The FASEB Journal*, v. 18, n.3, p. 595-597, 2004.

TERADA, S. et al. Effects of high-intensity swimming training on GLUT-4 and glucose transport activity in rat skeletal muscle. *Journal Applied Physiology*, v. 90, p. 2019-2024, 2001.

TORRES-DURÁN, P.V. et al. Studies on the preventive effect of *Spirulina maxima* on fatty liver development induced by carbon tetrachloride, in the rat. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 64, n. 2, p. 141-147, 1999.

UNITED NATIONS (UN). *Population aged 60 years or over*. Disponível em: <http://www.un.org/esa/population/publications/ageing/ageing2009.htm>. Acessado em: 20 de dezembro de 2010.

UPASANI, C.D.; BALARAMAN, R. Protective effect of Spirulina on lead induced deleterious changes in the lipid peroxidation and endogenous antioxidants in rats. *Phytotherapy Research*, v. 17, n.4, p. 330-334, 2003.

VARADY, K.A.; JONES, P.J. Combination diet and exercise interventions for the treatment of dyslipidemia: an effective preliminary strategy to lower cholesterol levels? *The Journal of Nutrition*, v. 135, n. 8, p. 1829-1835, 2005.

VAUPEL, J.W. Biodemography of human ageing. *Nature*, v. 464, p. 536-42,2010.

VENDITTI, P.; DI MEO, M.S. Effect of training on antioxidant capacity, tissue damage, and endurance of adult male rats. *International Journal of Sports Medicine*, v. 18, n. 7, p. 497-502,1997.

VÍLCHEZ, C. et al. Microalgae-mediated chemicals production and wastes removal. *Enzime and Microbial Technology*, v. 20, n. 8, p. 562-572, 1997.

VIÑA, J. et al. Free radicals in exhaustive physical exercise: mechanism of production, and protection by antioxidants. *IUBMB Life*, v. 50, n. 4-5, p. 271-277, 2000.

VOET, D.; VOET, J; PRATT, C.W. *Fundamentos de bioquímica*. Porto Alegre: ArtMed, 2000.

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

VON ZGLINICKI, T. et al. Mild hyperoxia shortens telomeres and inhibits proliferation of fibroblasts: a model for senescence? *Experimental Cell Research*, v. 220, n.1, p. 186-193, 1995.

WANG, Y. et al. Dietary supplementation with blueberries, spinach, or spirulina reduces ischemic brain damage. *Experimental Neurology*, v. 193, 2005.

WANG, X.; MICHAELIS, E.K. Selective neuronal vulnerability to oxidative stress in the brain. *Frontiers Aging Neuroscience*, v. 2, n. 12, p. 1-12, 2010.

WARBURTON, D.E.; NICOL, C.W.; BREDIN, S.S. Prescribing exercise as preventive therapy. *Canadian Medical Association Journal*, v. 174, n. 7, p. 961-974, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Envelhecimento ativo: uma política de saúde. *Brasília: Organização Pan-Americana de Saúde*, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Obesity and overweight*. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>. Acessado em: 20 de janeiro de 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Our ageing world*. Disponível em: <http://www.who.int/topics/ageing/en/>. Acessado em: 20 de dezembro de 2010.

YILDIRIM, A. et al. Increased lipid peroxidation and decreased antioxidant response in serum and cerebrospinal fluid in acute ischemic stroke. *Turkish Journal of Medical Science*, v. 37, n. 2, 2007.

ZHANG, J.; JU, Z. Telomere, DNA damage, and oxidative stress in stem cell aging. *Birth Defects Research*, v. 90, n.4, p. 297-307, 2010.

ZIMMERMANN, C. et al. Antioxidant status in Acute Stroke Patients and Patients at stroke Risk. *European Neurology*, v.51, 2004.

ANEXOS



UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
VICE-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA

PARECER Nº 035/2010

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade de Passo Fundo, em reunião no dia 14/06/10, analisou o protocolo de pesquisa **“Exercício aeróbico e *Spirulina platensis* nos marcadores do estresse oxidativo e no perfil lipídico do processo de envelhecimento de ratos”**, registro na CEUA Nº 006/2010 de responsabilidade da pesquisadora **Daiane Mazzola**.

Após a análise, a Comissão considerou o estudo relevante. Foram apontadas pendências no protocolo original as quais foram devidamente atendidas pela pesquisadora. Uma emenda modificou o protocolo original em relação ao tipo de exercício aeróbico ao qual os animais serão submetidos.

Em relação aos aspectos éticos, a Comissão considerou o estudo relevante e com relação custo-benefício adequada por não haver alternativa validada que substitua a experimentação em animais. A pesquisadora e seus colaboradores estão comprometidos com a observância dos procedimentos para o uso científico de animais estabelecidos na Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008 e dos *“Princípios Éticos para o Uso de Animais de Laboratório”* preconizados pela Sociedade Brasileira de Ciência de Animais de Laboratório (SBCAL).

Diante do exposto, a Comissão, de acordo com suas atribuições definidas na Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa na forma como foi proposto.

A pesquisadora deverá apresentar relatório à CEUA ao final do estudo.

Situação: PROTOCOLO APROVADO

Passo Fundo, 7 de julho de 2010.

Prof. Dra. Jurema Schons
Coordenadora – CEUA – UPF

Anexo A. Parecer de aprovação de projeto pela Comissão de Ética em Uso de Animais.

APÊNDICES

