

**Universidade Federal da Paraíba
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-graduação em Produtos
Naturais e Sintéticos Bioativos**

Anderson Fellyp Avelino Diniz

**Suplementação alimentar com *Spirulina platensis* restaura os danos
causados pela dieta hipercalórica em corpo cavernoso de ratos Wistar**

**João Pessoa-PB
2019**

Anderson Fellyp Avelino Diniz

Suplementação alimentar com *Spirulina platensis* restaura os danos causados pela dieta hipercalórica em corpo cavernoso de ratos Wistar

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do título de **Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos**. Área de Concentração: **Farmacologia**.

Orientadora: Profa. Dra. Bagnólia Araújo da Silva

**João Pessoa-PB
2019**

**Catalogação na publicação
Seção de Catalogação e Classificação**

D585s Diniz, Anderson Fellyp Avelino.

Suplementação alimentar com Spirulina platensis restaura os danos causados pela dieta hipercalórica em corpo cavernoso de ratos Wistar / Anderson Fellyp Avelino Diniz. - João Pessoa, 2019.

171 f. : il.

Orientação: Bagnólia Araújo da Silva.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Spirulina platensis. 2. Dieta hipercalórica. 3. Obesidade. 4. Disfunção erétil. 5. Perfil alimentar. 6. Atividade antioxidante. I. Silva, Bagnólia Araújo da. II. Título.

UFPB/BC

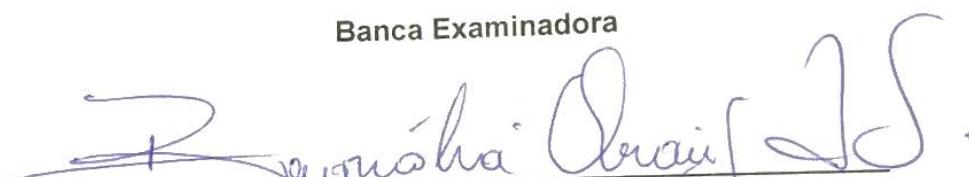
Anderson Fellip Avelino Diniz

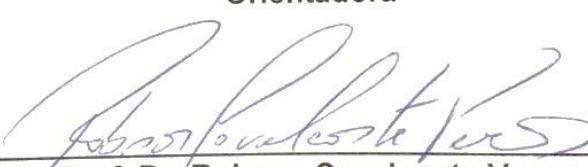
Suplementação alimentar com *Spirulina platensis* restaura os danos causados pela dieta hipercalórica em corpo cavernoso de ratos Wistar

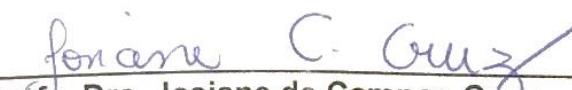
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do título de **Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos**. Área de Concentração: **Farmacologia**.

Aprovada em 22/02/2019

Banca Examinadora


Prof. Dra. Bagnólia Araújo da Silva
(Universidade Federal da Paraíba)
Orientadora


Prof. Dr. Robson Cavalcante Veras
(Universidade Federal da Paraíba)
Examinador Externo


Prof. Dra. Josiane de Campos Cruz
(Universidade Federal da Paraíba)
Examinadora Interna

*O Senhor é a minha força e o meu escudo;
n'Ele o meu coração confia, e d'Ele recebo ajuda.
Meu coração exulta de alegria,
e com o meu ser lhe darei graças.*

Salmos 28:7

Dedicatórias

Aos meus pais,
José Ronaldo Diniz Silva e Auricélia
Avelino Diniz, por serem as minhas
inspirações e meus maiores
incentivadores, por não medirem
esforços para me proporcionar o
melhor, por toda educação, carinho e
amor incondicional. Por se fazerem
presentes em todos os momentos da
minha vida. Sem vocês nada disso
seria possível. A vocês todo meu amor
e gratidão.

Aos meus irmãos,
André Fellyp Avelino Diniz e Rebeca
Avelino Diniz, companheiros de vida e
para a vida. Gratidão por dividir e
construir com vocês a maior parte da
minha trajetória. Por toda amizade e
amor sem medidas. Amo vocês.

A toda minha família,
Por toda compreensão, apoio, orações
e amor.

Agradecimentos

À Deus, autor da vida, por me guiar em todos as minhas escolhas e em todos os momentos, sem Ele nada disso seria possível e se tornaria real. Por toda força e ânimo nas dificuldades, por ser minha maior fonte de alegria, paz e amor. Por me fazer feliz e realizado em todos os aspectos da vida. À Ele toda glória, honra e gratidão.

À Profa. Dra. Bagnólia Araújo da Silva, minha orientadora, eterna professora e amiga. Pela oportunidade dada a integrar sua equipe de trabalho e fazer parte do Laboratório de Farmacologia Funcional Prof. George Thomas. Por enxergar e acreditar no meu potencial. Por todos os ensinamentos e advertências. Por ser fonte de inspiração profissional e humana. Obrigado por despertar em mim o amor pela docência, e acreditar que podemos ser o que quisermos ser. À senhora, toda a minha gratidão.

À Profa. Dra. Fabiana de Andrade Cavalcante, por todo auxílio e disposição em ajudar na realização desse trabalho, por sempre me passar paz, calma e tranquilidade, por todos os conselhos e sermões que contribuíram para meu crescimento pessoal e acadêmico. Serei sempre grato por tudo a mim proporcionado.

Ao Prof. Dr. Robson Cavalcante Veras do Departamento de Ciências Farmacêuticas e do Programa de Pós-graduação Ciências da Nutrição (PPGCN) do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da UFPB e a Profa. Dra. Josiane de Campos Cruz do Departamento de Biotecnologia do Centro de Biotecnologia (CBiotec) da UFPB e do Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Sociedade Brasileira de Fisiologia, ambos titulares da banca de defesa de Dissertação; Prof. Dr. Amilton da Cruz Santos, do departamento de Educação Física do CCS/UFPB e a Profa. Dra. Maria do Socorro de França Falcão do Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Sociedade Brasileira de Fisiologia (SBFis) do Centro de Biotecnologia da UFPB, suplentes da banca de defesa de Dissertação, por aceitarem o convite em participar da avaliação desse trabalho, por todas as suas contribuições e ensinamentos, que foram essenciais nessa etapa da minha formação acadêmica.

À Profa. Dra. Leylliane de Fátima Leal Interaminense de Andrade do Departamento de Nutrição do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) pela disponibilidade para auxiliar no preparo e na análise da composição da dieta hipercalórica utilizada nesse trabalho.

Ao Prof. Alexandre Sérgio Silva do Departamento de Educação Física do CCS da UFPB por toda supervisão nas análises bioquímicas realizadas nesse trabalho, bem como a sua equipe, especialmente aos orientandos Lydiane Tavares Toscano e Matheus da Silveira Costa, que acompanharam todos esses experimentos bioquímicos e de estresse oxidativo em seu laboratório.

A todos os integrantes do LFF que estão ou passaram pelo Laboratório de Farmacologia Funcional Prof. George Thomas, entre eles, Alana Cristina Costa, Cleyton Oliveira Bezerra, Elba dos Santos Ferreira, Eurípedes Targino Linhares Neto, Francisco Fernandes Lacerda Júnior, Gleice Rayanne da Silva, Iana Vitória Souza Oliveira, Iara Leão Luna de Souza, Indyra Duarte Alencar Figueiredo, João Pedro de Moura Lima, Laiz Aline Silva Brasileiro, Luan Diniz Pessoa, Luiz Henrique Agra Cavalcante Silva, Luiz Henrique César Vasconcelos, Manoel Vieira Duvirgens, Maria da Conceição Correia Silva, Maria Thaynan de Lima Carvalho, Paula Benvindo Ferreira, Petruska Pessoa da Silva Souza, Rafael Lima Marinho Paiva, Rayanne Fernandes Pessoa, Renata de Souza Sampaio, Sarah Rebeca Dantas Ferreira, Thayna Maria Costa Fernandes de Moura e Thiago Afonso Rodrigues Melo, por todo auxilio, ajuda, companheirismo, convivência, puxões de orelha, elogios e pelo apoio característico desta equipe.

A Thales André Gomes Candeia, por todo companheirismo e amizade, se fazendo presente em todos os momentos. Pelo apoio, força, incentivo, ajuda e paciência nos momentos mais estressantes e quando tudo parecia dar errado. Obrigado por todos os momentos felizes que você me proporcionou, por tantas alegrias que pudemos compartilhar juntos e por dividir comigo as tristezas que fazem parte do decorrer da vida. Por ser a melhor companhia de viagens, festas e praias. Por muitas das vezes deixar de fazer por você pra fazer por mim. Sou muito grato por sua vida, e por teres sido peça fundamental para conclusão desse ciclo. Obrigado por ter sido você em tudo. Por todo abraço, carinho e amor. Amo você.

À Prof. Dra. e amiga Iara Leão Luna de Souza, que o LFF me presenteou. Por ser praticamente minhas mãos e meus pés na realização desse trabalho. Por toda paciência em suas orientações e ensinamentos. Por estar presente desde a bancada até o término dessa escrita. Por toda sua disponibilidade e conselhos nos momentos mais difíceis. Por todo carinho e amizade que construímos durante todo esse percurso. Admiro-te bastante como pessoa e profissional.

À Paula Benvindo Ferreira, por toda empatia que adquirimos desde o início. Por seu jeito doce e acolhedor a qual me recebeu no laboratório, me fazendo sentir-se em casa. Por todos os conselhos, força e apoio em todos os momentos. Por estar sempre disponível. Por ser esse ser humano incrível, a quem admiro bastante. Por ser minha amiga-irmã que quero levar para a vida. Amo-te.

À Maria Conceição Correia da Silva, por sua amizade e companheirismo desde o II Curso de Verão de Farmacologia do PPgPNSB. Por sua disponibilidade em ajudar sempre que possível. Pelos ensinamentos repassados sobre toda rotina e vivência do laboratório. Por toda sua paciência e tranquilidade. Por me socorrer nos momentos mais corridos.

À Luiz Henrique Vasconcelos, pela amizade que construímos desde o Curso de Verão de Farmacologia do PPgPNSB. Por sua disponibilidade em sempre ajudar. Por ser a primeira pessoa a estar comigo na bancada me orientando e ensinando. Gratidão.

A meu grande amigo Edvaldo Balbino Alves Júnior, por nossa amizade e companheirismo há quase oito anos. Por vivenciar comigo quase que todos os momentos, sejam eles bons ou ruins. Por sua paciência e me aguentar durante esses dois anos dividindo apartamento. Por dividi comigo momentos maravilhosos. Por ser meu cúmplice e estar sempre disponível. Por despertar em mim tanta admiração. Por ser amigo de verdade. Por me escutar e me fazer rir. Por mergulharmos juntos no mestrado e mais recentemente no doutorado. Por todo aprendizado passado diariamente. Por todas as nossas diferenças que tanto nos aproximam, minha eterna gratidão a você.

Aos meus amigos Tiago Santos, Almir Rogério e Lucas Almeida por todos os momentos incríveis que dividimos juntos. Por tanto companheirismo mesmo diante da distância e rumos que nossas vidas tomaram. Por toda amizade construída desde a graduação. Por todo incentivo, apoio e força. Amo vocês.

À Aline Priscilla e Viviane Araújo, por serem essas amigas excepcionais que a vida me presenteou. Por sempre acreditarem e me darem força. Por dividir comigo momentos que só a gente sabe o quanto foi bom. Por todo amor e carinho. Enfim, por toda nossa amizade.

Ao meu incrível “Quinteto”, Sabrina Laís, Debora Dantas, Edvaldo Júnior e Diego Barros. Nosso grupo que teve origem na graduação e que se estende até hoje, firme e forte. Amizade sólida e que tenho levado pra vida. Mesmo algumas vezes distantes fisicamente, sabemos que estamos unidos por um elo que nunca será desfeito, o amor de amigos, e que quando nos juntamos a farra é grande. Obrigado por todo apoio e confiança. Amo vocês meus amigos.

A Francisco Lacerda Júnior e Maria Thaynan Cavalho, meus eternos e queridos IC's aos quais me apropriei. Por tanto aprendizado a mim repassados. Por todos os momentos divertidos que pudemos dividir juntos. Pela ajuda mútua. Pelo carinho, amor e companheirismo. Sem dúvidas levarei vocês comigo aonde quer que eu for. Amo vocês.

À Iana Vitoria e Gleice Rayanne, presentes que o laboratório me deu. Por toda amizade construída ao longo desses dois anos. Por todo carinho que sempre tiveram por mim, todo esse sentimento é sem dúvidas recíproco.

A Thiago Afonso Rodrigues Melo, meu aperreio e abuso diário. Apesar de não fazer mais parte do nosso laboratório, sou extremamente grato por você meu amigo. Por ter me recebido de braços abertos e da melhor maneira possível. Por me ensinar tanto, todos os dias, a ser um profissional apaixonado pelo que faz e um ser humano mais humano. Por tantos momentos em que os risos superaram as dificuldades. Por sempre acreditar no meu potencial. Admiro-te muito, amo você.

À Elba dos Santos Ferreira, minha amiga e companheira nos experimentos. Obrigado por todo apoio e palavras de incentivo dados. Pela força e tranquilidade que exalam de você. Por acreditar que tudo no fim daria certo. Pelas orações e por toda amizade que desenvolvemos. Minha eterna gratidão.

A todos amigos e colegas da minha turma de mestrado 2017.1, por toda parceria e excelente convívio durante o período de disciplinas.

Ao meu querido “bloco do PPgPNSB”, vulgo “meteoro”, Lyvia Layanne, Hidna Cunha, Renata Albuquerque, Jefferson Rodrigues, Edvaldo Júnior, José Lucas, Edileuza Bezerra, Ana Laura, Fiama Figueiredo, Danilo Duarte, Laisa Vilar e Rafael Carlos por tantos momentos incríveis vivenciados. Por nossos caminhos terem se cruzado e hoje termos tamanha afinidade e carinho.

À Hidna Cunha, José Lucas, Lyvia Layanne e Rafael Carlos, presentes de Deus na minha vida. Por serem mais que amigos, verdadeiros irmãos que a pós-graduação me concedeu e que habitam em um lugar bem especial no meu coração. Por deixarem minha vida mais alegre, e trazerem tranquilidade e apoio nos momentos mais difíceis. Por torcerem a cada vitória conquistada. Pela reciprocidade e amor constantes. Eu amo vocês.

Ao coordenador do PPgPNSB, Prof. Dr. Josean Fechine Tavares, pela brilhante competência com a qual conduz e coordena esse Programa.

À Caroline Mangueira e Nilmar Nícia Neves de Medeiros, secretárias do PPgPNSB/CCS, por toda disponibilidade, paciência e eficiência com que desenvolvem seu trabalho.

Ao José Crispim Duarte e à Roberta Nunes Parentoni, pela competência com que conduzem a Unidade de Produção Animal (UPA) e pelo auxílio técnico ao LFF, sempre que solicitado.

Ao Sr. Luís C. Silva e a Adriano S. Cordeiro, pelo trabalho executado na UPA e pela prestatividade em separar os animais.

À Mônica Rodrigues da Silva, pelo seu trabalho na limpeza, por manter nosso ambiente de trabalho/estudo em ótimas condições, por sua alegria e bom humor contagiantes e todo apoio dado sempre que solicitada.

À Sra. Maria Lusinete Santos do Nascimento, pelo trabalho na limpeza de material e equipamentos úteis à rotina do laboratório.

Ao Professor e Conselheiro Federal de Farmácia, José Samuel de Moraes Meira, pelo apoio financeiro concedido para participação em congressos científicos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) pela bolsa concedida e pelo suporte técnico-científico através do Portal Periódicos. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) por todo apoio financeiro.

À Universidade Estadual da Paraíba, instituição que me formou como profissional de Farmácia e responsável por forjar meu caráter profissional.

À Universidade Federal da Paraíba, por todo apoio institucional. Ao Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, programa ao qual me torno mestre na área de concentração de farmacologia, bem como a todos os professores pertencentes a este, que contribuíram com seus ensinamentos para meu crescimento profissional e científico.

A todos que, diretamente ou indiretamente, contribuíram para meu crescimento profissional e pessoal, bem como, para a produção dessa Dissertação de Mestrado.

Meu muito obrigado

Anderson Fellyp Avelino Diniz

Resumo

Caracterizada por sua natureza multifatorial, a disfunção erétil (DE) é considerada um distúrbio predominantemente vascular, definida como a incapacidade constante de alcançar e/ou manter uma ereção peniana para uma relação sexual satisfatória, tendo, portanto, o aumento na adiposidade corporal como um fator independente para o seu desenvolvimento. Recentemente, demonstrou-se que a suplementação alimentar com *Spirulina platensis*, uma alga verde-azulada com potente atividade antioxidante, previne danos à função erétil. Assim, visando evidenciar novas alternativas terapêuticas para o tratamento da DE, avaliaram-se os possíveis efeitos da suplementação alimentar com *S. platensis*, na reversão dos danos causados sobre a função erétil de ratos Wistar alimentados com uma dieta hipercalórica. Os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFPB (certidão 6061090318). Os ratos foram divididos em grupo alimentado com dieta padrão (318,0 kcal/100g), que recebeu solução salina (DP), grupo alimentado com a dieta hipercalórica (417,0 kcal/100g), que recebeu solução salina (DHC), grupo alimentado com dieta hipercalórica e suplementado com a alga nas doses de 25 (DHC + SP25), 50 (DHC + SP50) e 100 mg/kg (DHC + SP100) e grupo alimentado com a dieta hipercalórica e, posteriormente, alimentado com a dieta padrão (DHC + DP). Foram analisados os parâmetros bioquímicos, a função erétil (*in vivo*), os mecanismos funcionais envolvidos nas alterações da reatividade contrátil e relaxante do corpo cavernoso (*in vitro*), e a relação estresse oxidativo/defesas antioxidantes tecidual. A suplementação alimentar com *S. platensis* nas doses de 50 e 100 mg/kg foi eficaz na redução dos níveis de triglicerídios nos ratos que consumiram a dieta hipercalórica. Ademais, não houve alteração dos parâmetros bioquímicos dos ratos que foram alimentados com a dieta hipercalórica em relação aos que consumiram a dieta padrão. Adicionalmente, foi observado redução do número e aumento da latência para iniciar a ereção peniana nos ratos que consumiam a dieta hipercalórica. Entretanto, tais efeitos foram restaurados pela suplementação alimentar com a alga em todas as doses testadas, bem como, no grupo alimentado com dieta hipercalórica e posteriormente com dieta padrão. Em relação à reatividade cavernosa, a eficácia contrátil à fenilefrina (FEN) (acoplamento fármaco-mecânico) foi potencializada 61,5% no grupo DHC. Similarmente, o consumo da dieta hipercalórica promoveu uma redução de 73,6% da eficácia relaxante induzida pela acetilcolina (ACh), evidenciando assim, os efeitos deletérios do consumo dessa dieta sobre a reatividade cavernosa, estando diretamente associada à modulação negativa das vias do óxido nítrico (NO) e dos prostanoïdes. Em contrapartida, a *S. platensis* aumentou a biodisponibilidade de NO, reduziu a liberação das espécies reativas de oxigênio (ROS) e potencializou o efeito relaxante promovido pela acetilcolina (ACh), restaurando os danos à reatividade contrátil e relaxante cavernosa. A capacidade antioxidante total (CAT) cavernosa foi aumentada, e os níveis de malondialdeído (MDA) reduzidos, pela suplementação alimentar com a alga na dose de 50 mg/kg nos ratos do grupo DHC, restaurando, portanto, os danos oxidativos correlacionados ao consumo da dieta hipercalórica. Dessa forma, a suplementação alimentar com *S. platensis* restaura os danos ao corpo cavernoso, decorrentes do consumo da dieta hipercalórica, despondo, portanto, como uma alternativa terapêutica promissora para o tratamento da disfunção erétil causada pelo aumento da adiposidade corporal.

Palavras-chave: 1. *Spirulina platensis*. 2. Dieta hipercalórica. 3. Obesidade. 4. Disfunção erétil. 5. Perfil dietético. 6. Atividade antioxidante.

Abstract

Characterized by its multifactorial nature, erectile dysfunction (ED) is considered a predominantly vascular disorder, defined as a constant inability to achieve and/or maintain a penile erection for a satisfactory sexual intercourse, having an increase in body adiposity as a development factor. Recently, food supplementation with *Spirulina platensis*, a blue-green alga with potent antioxidant activity, has been shown to prevent damage in the erectile function. Thus, *S. platensis* treatment was evaluated as a therapeutic alternative to prevent ED in rats submitted to hypercaloric diet. The experimental procedures were approved by the UFPB Committee on Ethics in Animal Use (6061090318). The rats were divided into groups; fed a standard diet (318.0 kcal/100g), which received saline solution (DP), a group fed a hypercaloric diet (417.0 kcal/100g), which received saline solution (DHC) (DHC + SP25), 50 (DHC + SP50) and 100 mg/kg (DHC + SP100) and group fed the hypercaloric diet and later fed with standard diet (DHC + DP). Biochemical parameters, erectile function (in vivo), functional mechanisms involved in changes in the contractile and relaxing reactivity of the cavernous body (in vitro), and oxidative stress/antioxidant tissue defense relationships were analyzed. Food supplementation with *S. platensis* at doses of 50 and 100 mg/kg was effective in reducing the levels of triglycerides in rats consuming the high calorie diet. Additionally, a reduction in number and increase in latency to initiate penile erection were observed in rats consuming the hypercaloric diet. However, these effects were restored by food supplementation with algae at all doses tested, as well as in the group fed a hypercaloric diet and later with a standard diet. Regarding cavernous reactivity, the contractile efficacy to phenylephrine (FEN) (drug-mechanical coupling) was potentiated 61.5% in the DHC group. Similarly, the consumption of the hypercaloric diet promoted a reduction of 73.6% of the acetylcholine-induced relaxing efficacy (ACh), thus evidencing the deleterious effects of dietary intake on cavernous reactivity, being directly associated with the negative modulation of the oxidic pathways nitric oxide (NO) and prostanoids. In contrast, *S. platensis* increased NO bioavailability, reduced the release of reactive oxygen species (ROS), and potentiated the acetylcholine (ACh) relaxing effect, restoring damage to contractile reactivity and cavernous relaxation. Cavernous total antioxidant capacity (CAT) was increased, and malondialdehyde levels (MDA) reduced by food supplementation with algae at dose of 50 mg/kg in rats in the DHC group, thus restoring oxidative damage correlated to consumption of the hypercaloric diet. Thus, dietary supplementation with *S. platensis* restores damage to the corpus cavernosum, resulting from the consumption of the hypercaloric diet, thus emerging as a promising therapeutic alternative for the treatment of erectile dysfunction caused by increased body adiposity.

Keywords: 1. *Spirulina platensis*. 2. Hypercaloric diet. 3. Obesity. 4. Erectile dysfunction. 5. Dietary profile. 6. Antioxidant activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Osso e músculo ísquio, extensibilidade do esqueleto fibroso peniano.....	39
Figura 2 – Representação anatômica do pênis lateral e corte transversal	40
Figura 3 – Sistema arterial do pênis	41
Figura 4 – Sistema venoso do pênis	42
Figura 5 – Mecanismo central de controle da ereção peniana pela dopamina.....	45
Figura 6 – Mecanismo farmacomecânico da contração no músculo liso cavernoso pela ativação da via $G_{q/11}$ -PLC β 1.....	47
Figura 7 – Composição do tecido adiposo.....	50
Figura 8 – Ingredientes utilizados no preparo da dieta hipercalórica na sua forma <i>in natura</i> , triturada e homogênea, moldada e cortada antes e após a secagem em estufa	75
Figura 9 – Protocolo do desenho experimental	78
Figura 10 – Fotos demonstrando o evento de lordose, onde o rato se apoia nas patas traseiras, inclinando o corpo em direção à área genital (A); o evento de ereção peniana do rato (B)	80
Figura 11 – Mapa conceitual da modulação promovida pela suplementação alimentar com <i>Spirulina platensis</i> em ratos Wistar alimentados com hipercalórica.....	128

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Adipocinas e suas principais funções no organismo	52
Quadro 2 – Classificação da obesidade segundo o IMC que divide a adiposidade em graus ou classes	58

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Número de ereções penianas e latência para a ereção peniana dos ratos dos grupos DP, DHC + SP25, DHC + SP50, DHC + SP100 e DHC + DP	89
Gráfico 2 – Curvas concentrações-resposta cumulativas à FEN dos grupos DP, DHC, DHC + SP25, DHC + SP50, DHC + SP100 e DHC + DP em corpo cavernoso isolado de rato	91
Gráfico 3 – Curvas concentrações-resposta cumulativas à FEN na ausência e na presença de L-NAME e de indometacina em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos DP, DHC, DHC + SP50, DHC + SP100 e DHC + DP	95
Gráfico 4 – Curvas concentrações-resposta cumulativas à ACh dos grupos DP, DHC, DHC + SP25 DHC + SP50, DHC + SP100 e DHC + DP em corpo cavernoso isolado de rato	98
Gráfico 5 – Curvas concentrações-resposta cumulativas à ACh na ausência e na presença de tempol e de apocinina dos grupos DP, DHC e DHC + SP50 em corpo cavernoso isolado de rato	100
Gráfico 5 – Concentrações de MDA em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos DP, DHC, DHC + SP25, DHC + SP50, DHC + SP100 e DHC + DP	103
Gráfico 7 – Percentual de capacidade antioxidante total em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos DP, DHC, DHC + SP25, DHC + SP50, DHC + SP100 e DHC + DP	105

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição centesimal de macronutrientes das dietas experimentais.....	76
Tabela 2 – Parâmetros bioquímicos dos ratos dos grupos DP, DHC, DHC + SP25, DHC + SP50, DHC + SP100 e DHC + DP	87
Tabela 3 – Valores de E_{max} e de pCE_{50} da FEN nos grupos DP, DHC, DHC + SP25, DHC + SP50, DHC + SP100 e DHC + DP em corpo cavernoso isolado de rato.....	92
Tabela 4 – Valores de E_{max} e de pCE_{50} da FEN na ausência e na presença de L-NAME e de indometacina em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos DP, DHC, DHC + SP50, DHC + SP100 e DHC + DP	96
Tabela 5 – Valores de E_{max} e de pCE_{50} da ACh nos grupos DP, DHC, DHC + SP25, DHC + SP50, DHC + SP100 e DHC + DP em corpo cavernoso isolado de rato.....	98
Tabela 6 – Valores de E_{max} e de pD_2 da ACh na ausência e na presença de tempol e de apocinina em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos DP, DHC e DHC + SP50.....	101
Tabela 7 – Valores de MDA e CAT em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos DP, DHC, DHC + SP25, DHC + SP50, DHC + SP100 e DHC + DP.....	107

LISTA DE ABREVIATURAS

[Ca²⁺]_c	Concentração de Ca ²⁺ citosólico
[K⁺]_e	Concentração extracelular de K ⁺
4Ca²⁺-CaM	Complexo 4 íons cálcio-calmodulina
5-HT₇	Receptores de 5-hidroxitriptamina do tipo 7
AA	Ácido araquidônico
AC	Ciclase de adenilil
ACh	Acetilcolina
AGL	Ácido graxo livre
AIN	American Institute of nutrition
ANG II	Angiotensina II
ANOVA	Análise de variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ARC	Núcleo arqueado
ATP	Trifosfato de adenosina
CaM	Calmodulina
cAMP	Monofosfato cíclico de adenosina
CAT	Catalase
Cav	Canais de cálcio dependentes de voltagem
Cav1	Canais de cálcio dependentes de voltagem do tipo 1
Cav2	Canais de cálcio dependentes de voltagem do tipo 2
CCA	Coeficiente de conversão alimentar
CCh	Carbacol
CCK	Colecistocinina
CCS	Centro de Ciências da Saúde
CEA	Coeficiente de eficácia alimentar
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
cGMP	Monofosfato cíclico de guanosina
CGRP	Peptídio relacionado ao gene da calcitonina
CICR	Liberação de Ca ²⁺ induzida por Ca ²⁺
CLA	Ácido linoleico conjugado
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal

COX	Ciclo-oxigenase
DA	Dopamina
DAG	Diacilglicerol
DE	Disfunção erétil
DHC	Grupo alimentado com dieta hipercalórica
DHC + SP25	Grupo alimentado com dieta hipercalórica e suplementado com <i>S. platensis</i> na dose de 25 mg/kg
DHC + SP50	Grupo alimentado com dieta hipercalórica e suplementado com <i>S. platensis</i> na dose de 50 mg/kg
DHC + SP100	Grupo alimentado com dieta hipercalórica e suplementado com <i>S. platensis</i> na dose de 100 mg/kg
DPP-4	Dipeptidil peptidase 4
DPPH	1,1-difenil-2-picril-hidrazil
DTT	Ditiotreitol
e.p.m.	Erro padrão da média
EDHF	Fator de hiperpolarização derivado do endotélio
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
E_{max}	Efeito máximo
eNOS	Sintase do óxido nítrico endotelial
ERK	Cinase sensível a estímulos externos
ERNs	Espécies reativas de nitrogênio
ET-1	Endotelina do tipo 1
FDA	Administração de Alimentos e Medicamentos
FEN	Fenilefrina
FSH	Hormônio folículo estimulante
G_{αq}	Subunidade α da proteína G _q
G_{12/13}	Proteína G ₁₂ ou proteína G ₁₃
GABA	Ácido gama-aminobutírico
sGC	Ciclase de guanilil solúvel
GDP	Difosfato de guanosina
GLP-1	Peptídio semelhante ao glucagon 1
GMP	Monofosfato de guanosina
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofina
GPCRs	Receptores acoplados à proteína G

G_{q/11}	Proteína G _q ou proteína G ₁₁
GSH-Px	Glutationa peroxidase
GST	Glutationa S-transferase
GSH	Glutationa redutase
GTP	Trifosfato de guanosina
H₂O₂	Peróxido de hidrogênio
HCLO	Ácido hipocloroso
HDL-c	Fração de lipoproteína de alta densidade
HO[·]	Radical hidroxila
HO₂[·]	Radical peridroxila
IL-1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
IMC	Índice de massa corpórea
IPeFarm	Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos
iNOS	Sintase do óxido nítrico induzível
IP₃	1,4,5-trisfosfato de inositol
IP₃ R	Receptor de IP ₃
JAK2	<i>Jannus</i> cinase 2
LDL-c	Fração de lipoproteína de baixa densidade
LH	Hormônio luteinizante
LHA	Área hipotalâmica lateral
L-NAME	N-nitro L-arginina metil-ester
LPL	Lipoproteína lipase
M	Concentração molar (mol/L)
MAPK	Proteína cinase ativada por mitógeno
MCP-1	Proteína quimiotática de monócitos 1
MDA	Malondialdeído
MLC	Cadeia leve da miosina
MLCK	Cinase da cadeia leve da miosina
MLCP	Fosfatase da cadeia leve da miosina
MPOA	Área pré-optica medial
NA	Noradrenalina
NADPH	Fosfato de dinucleotídio de adenina e nicotinamida
NANC	Não colinérgico não adrenérgico

NCX	Trocador Na ⁺ /Ca ²⁺
nNOS	Sintase do óxido nítrico neuronal
NO	Óxido nítrico
NO₂	Dióxido de nitrito
ONO₂⁻	Peroxinitrito
NOS	Sintase do NO
NPS	Nitroprussiato de sódio
NPY	Neuropeptídio Y
OMS	Organização Mundial de Saúde
¹O₂	Oxigênio singuleto
O₂^{•-}	Ânion superóxido
O₃	Ozônio
PAI-1	Inibidor do ativador de plasminogênio 1
pCE₅₀	Logaritmo negativo, na base 10, da concentração molar de uma substância que produz 50% de seu efeito máximo
PDE	Fosfodiesterase
PGE₁	Prostaglandina E ₁
PGE₂	Prostaglandina E ₂
PGF_{2α}	Prostaglandina F _{2α}
PGI₂	Prostaciclina I ₂
PI3K	Fosfatidilinositol-3-cinase
PIP₂	4,5-bisfosfato de fosfatidilinositol
PIP₃	3,4,5-trifosfato de fosfatidilinositol
PKA	Proteína cinase dependente de cAMP
PKC	Proteína cinase dependente de cálcio
PKG	Proteína cinase dependente de cGMP
PLC_{β1}	Fosfolipase C do tipo β ₁
PLC_{β2}	Fosfolipase C do tipo β ₂
PMCA	Ca ²⁺ -ATPase da membrana plasmática
PPgPNSB	Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos
PVN	Núcleo paraventricular
PPY	Peptídio tirosina-tirosina
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada

RhoA	Proteína G monomérica da família Rho do tipo A
RhoGAP	Proteína ativadora de GTPase da Rho
RhoGEF	Fator de troca de nucleotídio guanina de Rho
RL	Radicais livres
rMLC	Cadeia leve regulatória da miosina
RO[•]	Radical alcoxila
ROO[•]	Radical peroxila
ROOH[•]	Radical hidroxiperoxila
ROCK	Proteína cinase da Rho
ROS	Espécie reativa de oxigênio
RS	Retículo sarcoplasmático
RyR	Receptor de rianodina
SERCA	Ca ²⁺ -ATPase do retículo endosarcoplasmático
sGC	Ciclase de guanilil solúvel
SNC	Sistema nervoso central
SOD	Superóxido dismutase
SP	<i>Spirulina platensis</i>
TAB	Tecido adiposo branco
TAM	Tecido adiposo marrom
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TNF-α	Fator de necrose tumoral do tipo alfa
TxA₂	Tromboxano A ₂
UCP-1	Proteína desacopladora 1
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
UPA	Unidade de produção animal
VEGF	Fator de crescimento do endotélio vascular
VET	Valor energético total
VIP	Peptídio intestinal vasoativo
V_m	Potencial de membrana

OBS: as abreviaturas e os símbolos utilizados neste trabalho e que não constam nesta relação encontram-se descritos no texto ou são convenções adotadas universalmente.

SUMÁRIO

1 Introdução	30
2 Fundamentação teórica	33
2.1 Disfunção erétil	33
2.1.1 Epidemiologia da disfunção erétil.....	34
2.1.2 Fisiopatologia da disfunção erétil	35
2.2 Fisiologia da ereção peniana	38
2.2.1 Anatomia e estrutura do pênis	38
2.2.2 Sistema arterial peniano.....	41
2.2.3 Sistema venoso peniano	42
2.3 Controle fisiológico da ereção	43
2.3.1 Mecanismos centrais e periféricos de controle da ereção peniana	43
2.3.2 Determinantes e mecanismos fisiológicos da flacidez peniana.....	46
2.4 Tecido adiposo	49
2.4.1 Tecido adiposo branco	52
2.4.2 Tecido adiposo marrom.....	53
2.4.3 Tecido adiposo bege	55
2.5 Perfil dietético e obesidade	55
2.5.1 Estresse oxidativo na obesidade e na função erétil	59
2.6 Produtos naturais	61
2.6.1 Produtos naturais marinhos	63
2.6.2 <i>Spirulina platensis</i>	66
3 Objetivos	73
4 Material e métodos	75
4.1 Material	75
4.1.1 Produto-teste	75
4.1.2 Animais	75
4.1.3 Dietas experimentais	75
4.1.4 Substâncias e reagentes.....	77
4.1.5 Solução nutritiva	78
4.1.6 Equipamentos	78
4.2 Métodos	79
4.2.1 Grupos experimentais	79

4.2.2 Preparo e administração da <i>S. platensis</i>	80
4.2.3 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre parâmetros bioquímicos.....	80
4.2.4 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre a ereção peniana induzida pela <i>R</i> -(<i>-</i>)-apomorfina.....	81
4.2.5 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre a reatividade contrátil e relaxante do corpo cavernoso isolado de rato	82
4.2.5.1 Obtenção e preparo do corpo cavernoso	82
4.2.5.2 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre a reatividade contrátil do corpo cavernoso isolado de rato	82
4.2.5.2.1 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação com <i>S. platensis</i> sobre a curva cumulativa de FEN	82
4.2.5.2.2 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação com <i>S. platensis</i> sobre a curva cumulativa de FEN na ausência e na presença de L- NAME ou de indometacina.....	83
4.2.5.3 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre a reatividade relaxante do corpo cavernoso isolado de rato	83
4.2.5.3.1 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação com <i>S. platensis</i> sobre a curva cumulativa de ACh	83
4.2.5.3.2 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação com <i>S. platensis</i> sobre a curva cumulativa de ACh na ausência e na presença de tempol ou de apocinina	83
4.2.6 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre o estresse oxidativo	84
4.2.6.1 Obtenção do homogenato do corpo cavernoso isolado de rato.....	84
4.2.6.2 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre os níveis de MDA no corpo cavernoso isolado de rato	84
4.2.6.3 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre a capacidade antioxidante total do corpo cavernoso isolado de rato	85

4.2.7 Análise estatística	86
5 Resultados	88
5.1 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre parâmetros bioquímicos.....	88
5.2 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre a ereção peniana induzida pela <i>R</i>-(<i>-</i>)-apomorfina.....	90
5.3 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre a reatividade contrátil do corpo cavernoso isolado de rato	92
5.3.1 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação com <i>S. platensis</i> sobre a curva cumulativa de FEN	92
5.3.1.2 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação com <i>S. platensis</i> sobre a curva cumulativa de FEN na ausência e na presença de L- NAME ou de indometacina.....	95
5.4 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre a reatividade relaxante do corpo cavernoso isolado de rato	99
5.4.1 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação com <i>S. platensis</i> sobre a curva cumulativa de ACh	99
5.4.1.2 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação com <i>S. platensis</i> sobre a curva cumulativa de ACh na ausência e na presença de tempol ou de apocinina.....	103
5.5 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre o estresse oxidativo.....	104
5.5.1 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre os níveis de MDA no corpo cavernoso	104
5.5.2 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre a capacidade antioxidante total do corpo cavernoso ..	106
6 Discussão	110
7 Conclusões	132
Referências	134
Anexos	166

1 Introdução

A disfunção erétil (DE) é definida como a incapacidade constante de alcançar e/ou manter uma ereção peniana que possibilite uma atividade sexual satisfatória (HEALTH, 1993). A função erétil depende de um equilíbrio preciso entre fatores hormonais, psicológicos, neurológicos, metabólicos, vasculares e cavernosos. Logo, alterações em qualquer um e/ou combinação desses fatores poderão levar à DE (AGARWAL et al., 2006).

As mudanças na adiposidade corporal e o seu impacto sobre a fertilidade masculina ganharam destaque e têm elevado o interesse da população em entender os processos subjacentes a essa problemática e assim minimizar as alterações nocivas à função sexual principalmente pela DE (ROWE, 2000; YAFI et al., 2016).

As consequências do desequilíbrio, principalmente em nível de tecido adiposo, estão associadas a diversos prejuízos para a saúde e, tornam-se fatores de risco para diversas doenças cardiovasculares, diabetes *mellitus* tipo 2, apneia do sono, cânceres, asma, obesidade e disfunções sexuais (APOVIAN; GOKCE, 2012; JORDAN; MCSHARRY; MALHOTRA, 2014; KAHN et al., 2014). Todas essas comorbidades estão, portanto, associadas ao aumento demasiado da adiposidade corporal, resultando em maior gasto com saúde e redução na longevidade e qualidade de vida (WITHROW; ALTER, 2011; TOBIAS et al., 2014; MELDRUM; MORRIS; GAMBONE, 2017).

Em virtude de tais problemas, é importante buscar novas alternativas terapêuticas para minimizá-los. Nesse cenário, os produtos naturais fornecem um rico arsenal terapêutico, se tornando a cada dia uma fonte de inestimável valor às necessidades medicinais da humanidade (KINGSTON, 2011), desempenhando também importante papel nos processos de descoberta e desenvolvimento de medicamentos, seja fornecendo substâncias isoladas, ou como produtos diretos (NEWMAN; CRAGG, 2012).

Nessa busca, a *Spirulina platensis*, alga verde-azulada, unicelular, microscópica, de estrutura simples, mas com uma composição complexa, vem se destacando entre os organismos marinhos (ZEWEIL et al., 2016), principalmente, pelo seu potencial medicinal e nutricional, apresentando efeitos estimulantes sobre a imunidade inata e específica, bem como atividades biológicas comprovadas como hipolipemiante, antibacteriana, antifúngica, antiviral, anticancerígena, anti-inflamatória e antioxidante (CUVELIER, 2001; CHALLOUF et al., 2011; HWANG; CHEN; CHAN, 2013; KU et al., 2013; ANANYA et al., 2014).

Recentemente, foi implantado um modelo de disfunção erétil em ratos Wistar desencadeado pelo consumo de dieta hipercalórica por 8 semanas (SOUZA et al., 2017). Além disso, nos animais alimentados com a dieta hipercalórica e suplementados simultaneamente com *S. platensis* foi observado a prevenção dos efeitos causados pelo consumo da dieta hipercalórica, tais como: redução da função erétil, aumento da resposta contrátil, a redução do relaxamento do corpo cavernoso, o aumento no estresse oxidativo sistêmico e tecidual, bem como um expresso e significativo aumento da adiposidade (SOUZA, 2018).

Partindo desse princípio e sabendo das alterações provocadas pelo consumo de uma dieta hipercalórica, considera-se importante investigar se a suplementação alimentar com a alga reverteria tais alterações e quais os mecanismos envolvidos nesse efeito. Assim, nesse trabalho foi avaliado o efeito da suplementação com *S. platensis* sobre a função erétil de ratos alimentados com uma dieta hipercalórica durante 16 semanas, com a finalidade de verificar se a alga reverte os danos à função erétil.

2 Fundamentação teórica

2.1 Disfunção erétil

Embora reconhecida como uma condição patológica por vários milênios, a investigação sistemática e baseada em evidências da disfunção erétil é um fenômeno relativamente recente na medicina moderna. Por volta de 1150 a.C., os antigos egípcios haviam descrito 12 posições sexuais diferentes com desenhos de papiro explícitos que foram passados, estudados e preservados ao longo dos séculos. O papiro de Ebers contém, entre muitos outros remédios, prescrições para “fraqueza do membro masculino” (1700 a.C.) (SMITH, 1974; SHAH, 2002; SHOKEIR; HUSSEIN, 2004). Contudo, apenas em 1993 que os Institutos Nacionais de Saúde realizaram uma conferência de consenso multidisciplinar sobre impotência sexual e definiram oficialmente a DE como sendo a incapacidade de alcançar e/ou manter a ereção peniana adequada com duração suficiente para uma relação sexual satisfatória (NIH, 1993; ALVES; QUEIROZ; MEDEIROS, 2012).

A DE não constitui uma doença, mas sim, uma manifestação sintomatológica de doenças isoladas ou associadas. Sendo considerada um distúrbio predominantemente vascular e benigno, que, no entanto, afeta a saúde física e psicológica, tendo uma repercussão significativa na qualidade de vida dos homens e de suas parceiras ou de seus parceiros sexuais, principalmente, devido à redução da autoestima e ao comprometimento das relações interpessoais (MOURA; CERESÉR, 2012; STEFANO, 2012; LEITOLIS, 2013). A predominância dessa disfunção se eleva com a idade e pode ser vista como um grave problema de saúde pública (JÚNIOR et al., 2014).

A natureza multifatorial é evidente e estudos populacionais mostram que várias condições que envolvem anormalidades vasculares como hipertensão arterial, envelhecimento, sedentarismo, dislipidemia, diabetes, resistência à insulina e a obesidade estão entre os principais fatores de risco para o desenvolvimento da DE vasculogênica no homem e em modelos animais (GROVER et al., 2006; MUSICKI; BURNETT, 2006; ALVES; QUEIROZ; MEDEIROS, 2012). Além disso, a DE pode ter origem iatrogênica como em procedimentos de prostatectomia radical, sendo um efeito colateral comum nesse caso (AXELSON; JOHANSON; BILL-AXELSON, 2012). Estudos mostram que a DE é um fator preditivo para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, podendo ser um potente marcador para a triagem de doenças coronarianas silenciosas (PHE; ROUPRET, 2012).

A obesidade é um fator de risco independente para o desenvolvimento da DE e, nesse caso, associa-se com a função anormal na via de sinalização do óxido nítrico (NO), com consequente diminuição do relaxamento dos corpos cavernosos do pênis (LEWIS et al., 2004; ESPOSITO et al., 2006; ESPOSITO et al., 2008). Em diferentes estudos, foi evidenciada que a alteração no estilo de vida, através de uma alimentação mais saudável e da realização de exercícios físicos, melhora o prognóstico dessa doença (ESPOSITO et al., 2009; ESPOSITO; GIUGLIANO, 2011). Dessa forma, é importante conhecer os mecanismos que favorecem o desenvolvimento da DE para assim poder prevenir complicações futuras, bem como auxiliar na busca por tratamentos efetivos para esse problema.

2.1.1 Epidemiologia da disfunção erétil

Os primeiros estudos epidemiológicos sobre sexualidade foram conduzidos nos Estados Unidos da América (EUA), quando as primeiras drogas específicas para a disfunção erétil estavam sendo introduzidas ao mercado. Nesse contexto, vários estudos foram sendo gradualmente realizados e agregam conhecimento à DE e seus tratamentos, de forma paralela e sinérgica, bem como, reuniões de consenso para criar definições e grandes levantamentos epidemiológicos (COLSON et al., 2018). Entretanto, questões culturais e religiosas, a subjetividade na análise qualitativa da ereção e dificuldade de padronização dos dados, sempre foram barreiras para a precisa definição epidemiológica da disfunção erétil.

A DE é a mais prevalente disfunção sexual que acomete homens após os 40 anos, estimando-se que mais de 100 milhões de homens no mundo tenham algum grau de DE (WYLLIE, 2014; RIEDNER, 2017). Entre 1987 e 1991, a investigação epidemiológica na população em geral, *Massachusetts Male Aging Study* (MMAS), utilizou homens entre 40 e 70 anos, e demonstrou uma prevalência mundial da DE de 52%, sendo 17% classificados como de grau leve, 25% de grau moderado e 10% de grau severo. A prevalência total foi segmentada apontando uma elevada incidência de DE de acordo com o aumento da idade: 12,4 casos/1000 homens aos 40 anos, 29,8 casos/1000 homens aos 50 anos de idade e 46,4/1000 homens aos 60 anos (FELDMAN et al., 1994; BURNETT, 2012). Entretanto, mesmo que seja evidente o aumento dos casos com o passar idade, a DE não é uma consequência inevitável do envelhecimento, essa investigação, embasada numa nova definição da DE, permite,

assim, aumentar a estimativa da prevalência média e estabelecer que os principais fatores de risco para a DE são de origem orgânica (SCHIAVINI; DAMIÃO, 2017).

O comitê internacional de consulta para medicina sexual em definições, epidemiologia e fatores de risco para a disfunção sexual realizou uma análise extensiva da prevalência mundial da DE. Nesse cenário, foi demonstrada prevalência da doença na faixa de 1-10% em homens abaixo de 40 anos, 2-9% naqueles que possuíam de 40 a 49 anos, 20-40% nos homens com idade entre 60 e 69 anos e 50-100% nos homens acima de 70 anos (BEJIN, 1999; PINNOCK; STAPLETON; MARSHALL, 1999; BRAUN et al., 2000; NICOLOSI et al., 2013; NICOLOSI et al., 2015). Adicionalmente, a prevalência mundial da DE é estimada em 322 milhões de homens comprometidos em 2025 (COSTA; POTEMPA, 2012).

No Brasil, aproximadamente 25 milhões de homens com mais de 18 anos possuem algum grau de DE e aproximadamente 11 milhões têm disfunção moderada ou severa. Brasileiros entre 18 e 39 anos apresentam DE mínima (32%), moderada (10,3%) e grave (impotência) (1,1%). Acima dos 70 anos, essas taxas passam a ser 21, 35 e 12,3%, respectivamente (RODRIGUES et al., 2010). Dados referentes a incidência da DE são menos abundantes. Entretanto, o número de novos casos da doença, por ano, varia de 19 a 66 casos em cada 1.000 homens, segundo estudos realizados nos Estados Unidos, na Holanda e no Brasil (JOHANNES et al., 2000; MOREIRA et al., 2003; SCHOUTEN et al., 2005).

Um estudo prospectivo demonstrou que a incidência de DE em homens brasileiros foi de 2,5 vezes maior do que no MMAS (26/1.000 pessoas-ano), aumentando conforme a idade, menor escolaridade, diabetes, hipertensão e obesidade. A taxa de incidência da disfunção erétil em homens brasileiros foi de 65,6 casos por 1.000 pessoas/ano. A projeção de um milhão de novos casos anualmente no Brasil demonstra que a DE deve ser considerada um problema de saúde pública (MOREIRA et al., 2003).

2.1.2 Fisiopatologia da disfunção erétil

As causas de DE estão diretamente relacionadas com processos biopsicossociais que envolvem a coordenação psicológica, endócrina, vascular e neurológica (PRIETO, 2008), podendo ser classificadas etiologicamente em psicológica, orgânica ou mista, onde há combinação de ambos fatores, ou seja,

alterações em qualquer um desses pontos podem contribuir para desenvolvimento da DE (WYLLIE, 2004; YAFI et al., 2016).

Os fatores psicogênicos mais comuns incluem ansiedade de desempenho, transtornos psiquiátricos, como ansiedade, estresse e depressão, e conflitos no relacionamento, que culminam na redução da libido sexual ou no medo de falhar durante o ato sexual. Entre os fatores orgânicos, destacam-se as causas neurológicas, endócrinas, vasculares, utilização de drogas e medicamentos (MCVARY, 2012; SWERDLOFF; WANG, 2012; MCCABE; ALTHOF, 2014).

A DE neurológica ou neurogênica é representada principalmente pela deficiência da sinalização através das inervações penianas (BRACKETT et al., 2010). É estimado que as causas neurológicas correspondam a aproximadamente 10 a 19% dos casos de DE e que estão entre essas causas, alterações como a doença de Parkinson, demências, doenças desmielinizantes e lesões medulares em níveis que afetam a ereção e/ou a ejaculação (BUZIN, 2010; ANTUÑA et al., 2015).

A redução dos níveis de testosterona, hormônio responsável por aumentar a expressão de sintase do óxido nítrico endotelial (eNOS), e a redução da expressão de proteínas da via da RhoA/ROCK caracterizam a DE endócrina (LUGG et al., 1996; MILLS; LEWIS; STOPPER, 1998; SOPKO; HANNAN; BIVALACQUA, 2014). Entre as principais causas endócrinas, estão o diabetes *mellitus*, a síndrome metabólica (SM) e as alterações dos hormônios sexuais (SWERDLOFF; WANG, 2012; TEIXEIRA, 2014).

Estudos demonstram que entre 35 e 75% dos diabéticos apresentam algum grau de DE, e que a origem dessa disfunção nesses indivíduos resulta de suas complicações, como doenças vasculares, hipertensão arterial sistêmica, neuropatias e obesidade (CHITALEY et al., 2009; OWIREDU et al., 2011; MCVARY, 2012; WAJCHENBERG, 2012). Isso ocorre porque no diabetes *mellitus*, a exposição prolongada à glicose leva à glicação não-enzimática de proteínas plasmáticas e das membranas celulares, que se depositam na camada subendotelial, podendo diretamente inativar o NO endotelial impedindo a vasodilatação dependente de endotélio. Além disso, ocorre uma grande liberação de radicais livres que reagem com o NO gerando peroxinitrito, um potente oxidante que favorece o desenvolvimento da DE (WAJCHENBERG, 2002; SOUZA et al., 2011).

Outra causa endócrina bastante relevante para a DE é a síndrome metabólica, em que homens que apresentam mais de três alterações metabólicas como

hipertensão arterial (pressão arterial sistólica > 130 e/ou pressão arterial diastólica > 85 mmHg), glicemia (glicemia > 110 mg/dL) ou diagnóstico de diabetes, triglicerídos (> 150 mg/dL), HDL colesterol (< 40 mg/dL) e obesidade visceral (circunferência da cintura superior a 102 cm) são mais suscetíveis a desenvolverem DE (VLACHOPOULOS et al., 2007; ESPOSITO et al., 2015).

A obesidade visceral está associada a aumentos nos níveis de peptídio C, glicose e insulina, desempenhando um efeito negativo sobre os níveis de testosterona. Em obesos, há aumento da atividade da enzima aromatase, que transforma a testosterona em estradiol, no tecido adiposo. O aumento de estradiol na corrente sanguínea suprime a produção de testosterona por *feedback* negativo, levando à diminuição da lipólise e aumento da deposição de gordura abdominal (TRAISH et al., 2009).

A doença traumática arterial, a aterosclerose e a hipertensão arterial sistêmica estão entre as principais causas de DE vasculogênica (WYLLIE, 2004; PERTICONE et al., 2005), e estão diretamente relacionadas a disfunção endotelial, que pode resultar do desbalanço da via do NO, do aumento da atividade simpática e das alterações estruturais que reduzem a capacidade relaxante dos corpos cavernosos do pênis (MITTAWAE et al., 2006; JACKSON, 2007; CORONA et al., 2011).

A utilização de medicamentos, como os anti-hipertensivos, os analgésicos opioides, os antiandrógenos e os antiulcerogênicos, bem como algumas drogas a exemplo do álcool estão envolvidos no desencadeamento da DE (FRANCIS et al., 2007; AVERSA et al., 2008). O consumo de pequenas doses de álcool promove inicialmente um aumento da ereção e do desejo sexual, devido ao seu efeito vasodilatador. No entanto, grandes quantidades dessa substância podem causar sedação, diminuir a libido e causar uma disfunção sexual transitória. O alcoolismo crônico pode resultar em disfunção hepática, um decréscimo dos níveis de testosterona e um aumento dos níveis de estrogênio, podendo apresentar também casos de polineuropatia alcoólica que afeta diretamente a inervação peniana (LUE, 2012).

Ademais, o envelhecimento é o principal fator de risco para a DE e tanto a prevalência como a gravidade da doença aumentam com a idade, portanto, usualmente é causada pela presença de disfunções neural e endotelial (EL-SACCA, 2007; LEWIS et al., 2010).

2.2 Fisiologia da ereção peniana

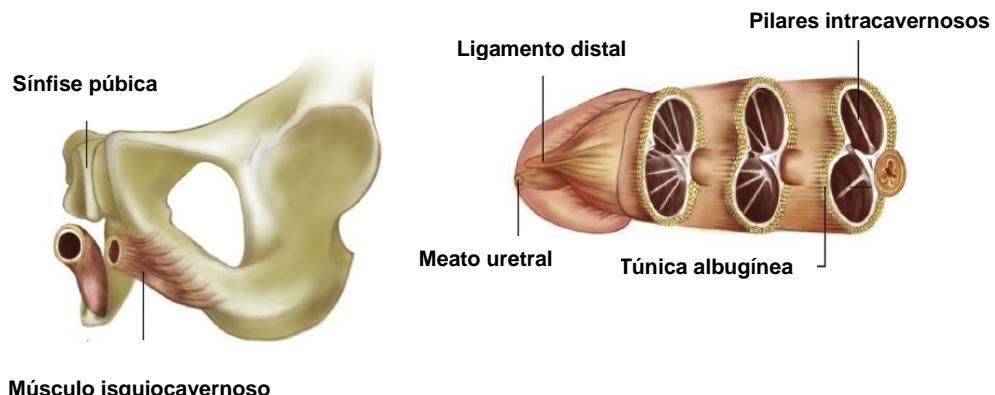
2.2.1 Anatomia e estrutura do pênis

A anatomia e processo de ereção ainda não são completamente descritos, apesar de extensos estudos terem sido feitos (HUANG; HSU, 2018). O pênis é o órgão genital masculino que permite a micção e relações sexuais (SACHS; MEISEL, 1988; KATZ, 2002). Nesse âmbito, a anatomia descritiva divide o pênis em três partes, a base, o corpo e a glande (EARDLEY; SETHIA, 2003).

A base do pênis é a parte formada por três estruturas cilíndricas, estas constituídas por dois corpos cavernosos e um corpo esponjoso, este último envolve a uretra e forma a glande peniana na porção distal (SATTAR; WESPES; SCHULMAN, 1994). A parte proximal do pênis se encontra ancorada no osso pélvico, localizada paralelamente e inserida no ramo público do osso ísquio, sendo esta região denominada crura (ou ramos) que se fundem para formar os corpos cavernosos, enquanto a parte proximal do corpo esponjoso forma o bulbo peniano, este circundado pelo músculo bulbo cavernoso, ao passo que a crura peniana está circundada pelo músculo isquiocavernoso (Figura 1A). A glande apresenta uma aparência esponjosa devido a um vasto plexo venoso com um grande número de anastomoses (BROCK et al, 1997; KANDEEL; KOUSSA; SWERDLOFF, 2001; EARDLEY; SETHIA, 2003; DEAN; LUE, 2005) (Figura 2).

Os corpos cavernosos são estruturas cilíndricas homogêneas revestidos por uma estrutura compacta formada por duas camadas de tecido fibroso, constituída de colágeno e elastina, que confere rigidez, flexibilidade e resistência ao pênis, denominada de túnica albugínea (Figura 1B). A túnica albugínea é uma delgada lâmina que tem espessura de aproximadamente 2 mm com o pênis em estado flácido e de cerca de 0,25 mm durante a ereção (AWAD et al, 2011; AVERY; SCHEINFELD, 2015).

Figura 1 – Osso e músculo ísquo (A), extensibilidade do esqueleto fibroso peniano (B).



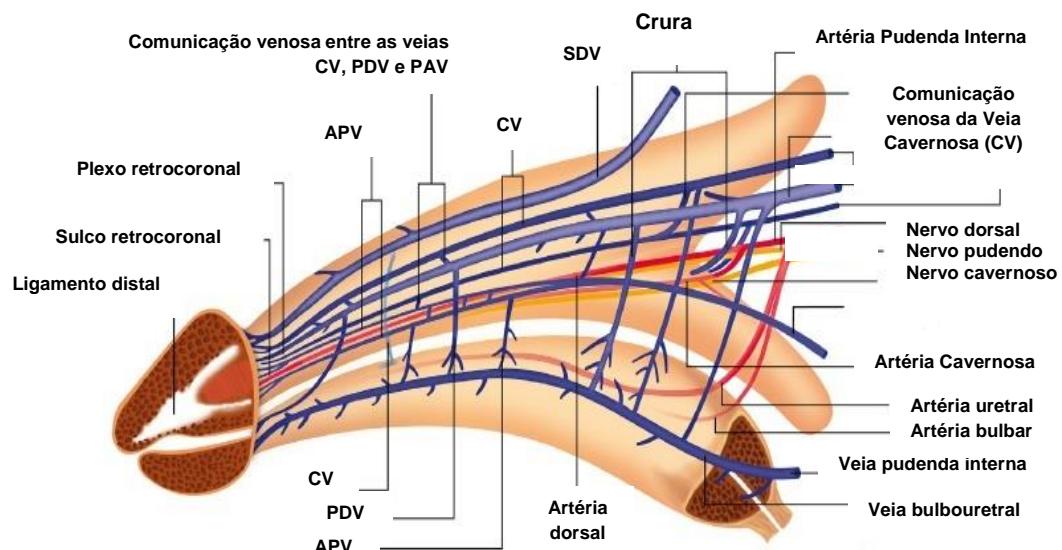
Fonte: Adaptado de HUANG, 2018.

O tecido erétil dos corpos cavernosos é composto de múltiplos espaços lacunares interconectados, revestidos por células endoteliais, além das trabéculas, que formam as paredes dos espaços sinusoidais, e consistem em bandas espessas de músculo liso e de uma estrutura fibroelástica formada por fibroblastos, colágeno e elastina (GOLDSTEIN et al., 1982; BERTOLOTTO et al., 2009).

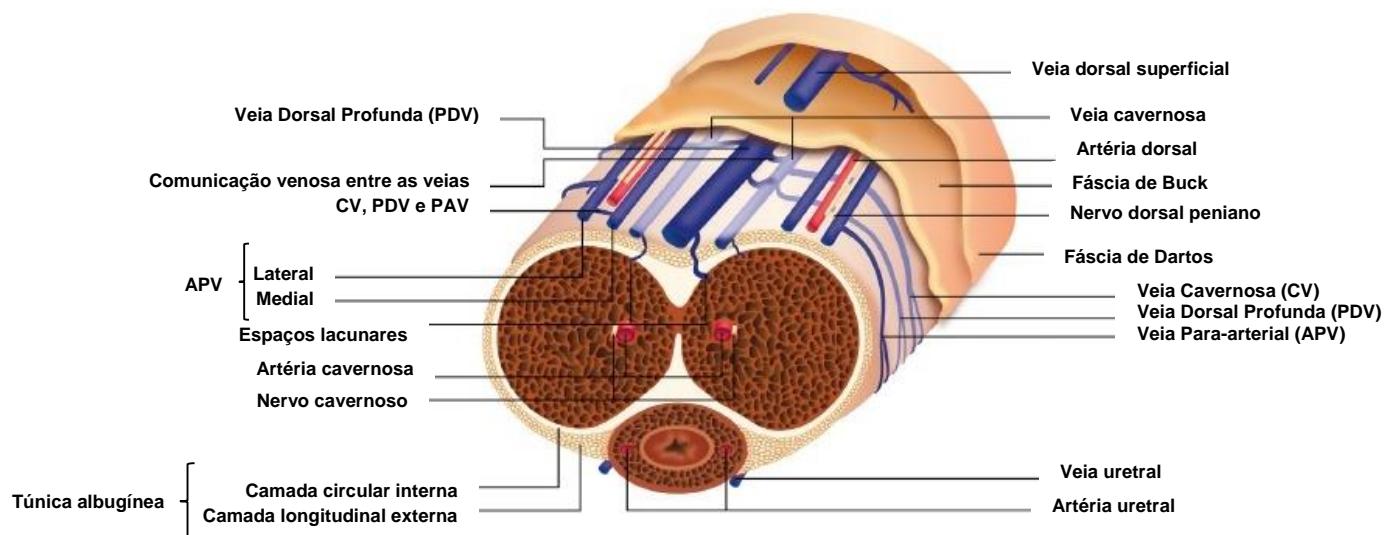
O corpo esponjoso, ventral e mediano, também é revestido pela túnica albugínea e contém a uretra. Apresenta-se mais dilatado e saliente em seu segmento proximal, denominado bulbo, e em seu segmento distal, constituindo a glande (BHATT et al., 2010; HSIEH et al., 2012; JUNG et al., 2014). O tecido que compõe os corpos cavernosos e o corpo esponjoso apresenta característica esponjosa, e é uma estrutura composta por sinusoides ou trabéculas cavernosas, que apresenta espaços lacunares, conhecidos como espaços cavernosos, interconectados por células musculares lisas e sustentado por estroma formado por células de colágeno, elastina, vasos sanguíneos e nervos (Figura 2) (LUE, 2002; CLEMENT; GIULIANO, 2015).

Figura 2 – Representação anatômica do pênis lateral (A) e corte transversal (B).

A



B



Fonte: Adaptado de HUANG, 2018.

O pênis é singularmente dotado em sua capacidade de alternar entre uma maciez esponjosa e uma rigidez óssea. Quando os sinusoides cavernosos são preenchidos com sangue fluido, a existência de estruturas como o músculo isquiocavernoso, o músculo bulbo esponjoso e o ligamento distal rígido na glande é essencial para manter uma ereção (HSIEH et al., 2015; HSU; LIU, 2018).

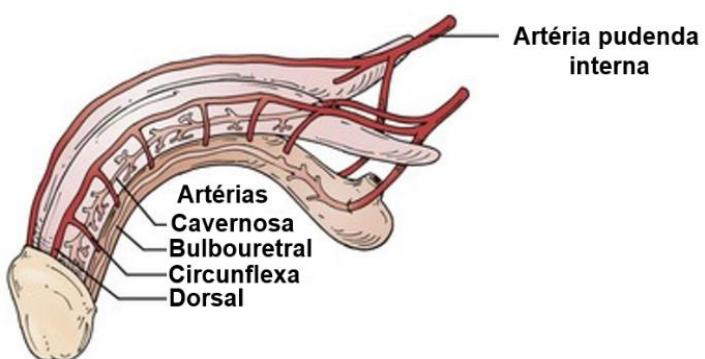
2.2.2 Sistema arterial peniano

O pênis tem um suprimento sanguíneo duplo para todo o tecido peniano e sinusoides extensíveis, que são agrupados em entidades cavernosas, esponjosas e glande. Os ramos pudendos externos superficiais da artéria femoral suprem o tecido superficial à fáscia de Buck, incluindo a pele do pênis. O suprimento arterial das estruturas mais profundas do que a fáscia de Buck, surge da divisão anterior da artéria ilíaca interna, que dá origem à artéria pudenda interna (Figura 3) (LUE, 2002; HSU, 2006; HSU, 2011).

A artéria pudenda interna é responsável pelo suprimento sanguíneo peniano. Essa artéria representa um ramo da artéria ilíaca interna na junção sacro-ilíaca. Após atravessar o tronco perineal no canal de Alcock, a artéria pudenda interna se torna artéria peniana, fornecendo sangue para três ramos arteriais. O primeiro ramo é a artéria bulbouretral, que corre medialmente no espaço profundo do períneo para suprir o corpo esponjoso e a uretra.

O segundo ramo é a artéria cavernosa, que possui formato espiralado e fornece sangue ao pilar peniano e irriga os espaços sinusoides dos corpos cavernosos através de múltiplas artérias helicinas e que desempenha um papel predominante na função erétil, onde durante o estado de flacidez peniana se encontram contraídas. As artérias dorsais compreendem a terceira ramificação, percorrem o pilar peniano em direção à linha mediana, onde perfundem o ligamento suspensor, irrigando a glande peniana (RUSSEL; NEHRA, 2003; STANDRING, 2015).

Figura 3 – Sistema arterial do pênis.



Fonte: Adaptado de WEIN et al., 2011.

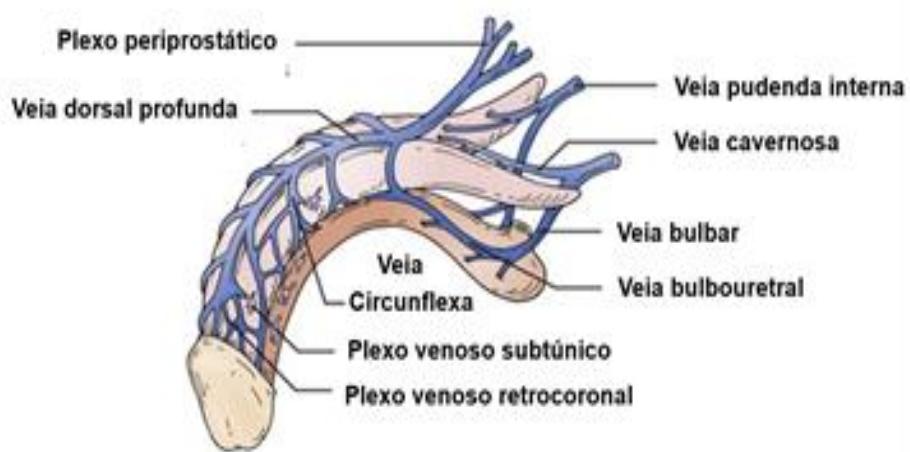
2.2.3 Sistema venoso peniano

O sistema venoso do pênis humano tem sido amplamente estudado e é geralmente classificado basicamente em sistemas venosos superficiais, intermediários e profundos, os quais são responsáveis pela drenagem venosa dos tecidos penianos (RUSSEL; NEHRA, 2003; HSU; LIU, 2018).

A veia dorsal superficial (SDV) está localizada entre a fáscia de Buck e a fáscia de Dartos para drenagem venosa geral dos tecidos superficiais tais como o prepúcio e a pele que reveste o pênis, além da veia pudenda externa. A drenagem intermediária é realizada pelas veias circunflexas dorsais e profundas que convergem na veia dorsal profunda e drenam a glande e as porções superficiais dos corpos cavernosos do pênis (HSU et al., 2013; STANDRING, 2015).

Na drenagem profunda, o sangue venoso retorna dos espaços sinusoides através das vênulas do plexo subtúnico, localizado abaixo da túnica albugínea, presente majoritariamente nos dois terços distais do pênis, nesse caso, o sangue retorna através das veias emissárias que atravessam a túnica albugínea. O sistema venoso profundo drena tanto os corpos cavernosos quanto o corpo esponjoso. Este *design* é ideal para facilitar a ereção peniana, pois a vasculatura venosa é suscetível de ser comprimida (CHRIST; LUE, 2004; FAZIO; BROCK, 2004; HSIEH et al., 2015).

Figura 4 – Sistema venoso do pênis.



Fonte: Adaptado de WEIN et al., 2011.

2.3 Controle fisiológico da ereção

A ereção é um evento neurovascular reflexo, sujeito a modificações pelo sistema nervoso central e periférico, e modulado por fatores endócrinos e psicológicos, que resultam no relaxamento da musculatura lisa peniana. A relação sexual satisfatória é percebida pela mente, sendo subjetiva e modificada através de processos conscientes e inconscientes. Assim, a ereção é essencialmente um reflexo espinhal que pode ser iniciado por recrutamento de impulsos aferentes do pênis, pelo processamento de informações no hipotálamo, mas também por estímulos visuais, olfativos, táteis, auditivos e imaginários como resultado final de uma integração complexa de sinais (THOMAS, 2002; CIRINO et al., 2006; ANDERSSON, 2011).

2.3.1 Mecanismos centrais e periféricos de controle da ereção peniana

A ereção peniana é uma resposta sexual masculina que desempenha um papel fundamental na reprodução de mamíferos, incluindo no homem, e que também pode ser observada em contextos diferentes daqueles estreitamente relacionados à reprodução, para isso, diferentes mecanismos neurais e/ou humorais centrais e periféricos participam de sua regulação (MEISEL; SACHS, 1994; MCKENNA, 2000; ANDERSSON, 2001; HULL et al., 2012; GIULIANO; RAMPIN, 2014).

No hipotálamo, o núcleo paraventricular (PVN) e a área pré-optica medial (MPOA) representam os principais locais de controle e de modulação da ereção peniana. Inicialmente, o reconhecimento dos estímulos sensoriais é realizado pela MPOA, que também coordena os reflexos necessários para atividade motora copulatória e para ejaculação. Nesse circuito cerebral, os estímulos sensoriais são enviados ao PVN, onde são processados e encaminhados diretamente para a medula espinal por meio de neurônios pré-motores (ANDERSSON; WAGNER, 1995; ANDERSSON, 2001; ANDERSSON, 2003; CHRIST; LUE, 2004).

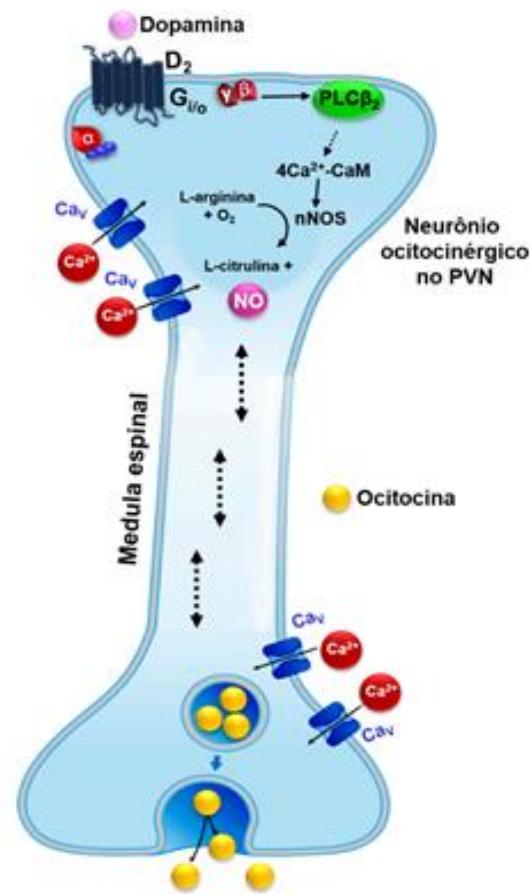
Nessa região, diferentes neurotransmissores centrais e neuropeptídios controlam a ereção peniana, dentre eles, destacam-se a dopamina (DA), a serotonina, ocitocina, a noradrenalina, NO, entre outros. Esses neurotransmissores podem facilitar ou inibir a ereção peniana atuando nas diversas áreas do cérebro (WITT; INSEL, 1994; STANCAMPIANO et al., 1995; BANCILA et al., 2002; COOLEN et al., 2004; ANDERSSON, 2011).

Os efeitos centrais pró-eréteis decorrem da liberação da DA na MPOA e no PVN através da via incerto hipotalâmica. Esse neurotransmissor exerce seus efeitos através da ativação de seus receptores subdivididos em D₁-*like*, que compreendem os subtipos D₁ e D₅, e acoplam a proteína G_s, ou D₂-*like*, estes mais abundantes no Sistema Nervoso Central (SNC), localizam-se nos neurônios ocitocinérgicos do PVN e são formados pelos subtipos D₂, D₃ e D₄, que acoplam as proteínas G_{i/o} (CHEN; CHAN; CHANG, 1999; HSIEH et al., 2014; BASKERVILLE; DOUGLAS, 2008; BASKERVILLE et al., 2009).

Após a ativação dos receptores D₂, ocorre estimulação da via da fosfolipase C_{β2} (PLC_{β2}) pelo dímero βγ das proteínas G_{i/o}. Nessa sinalização, a PLC_{β2} hidrolisa fosfolipídios presentes na membrana do tipo 4,5-bisfosfato de fosfatidilinositol (PIP₂), produzindo o 1,4,5-trifosfato de inositol (IP₃) e o diacilglicerol (DAG) (BILLINGTON; PENN, 2003; BERRIDGE, 2014;). O IP₃ induz a liberação de Ca²⁺ do retículo endoplasmático por ativar os receptores de IP₃ (IP₃R). Além disso, no retículo endoplasmático há os receptores de rianodina (RyR), canais de Ca²⁺ sensíveis à cafeína, que são ativados pelo Ca²⁺ previamente liberado via IP₃R num processo denominado de liberação de Ca²⁺ induzida pelo Ca²⁺ (CICR) (DELLIS et al., 2006; MCHALE et al., 2006) (Figura 5).

Na sequência dessa cascata de sinalização, o Ca²⁺, junto com o DAG, ativam a proteína cinase dependente de Ca²⁺ (PKC), que, por sua vez, leva a um aumento na concentração citosólica de Ca²⁺ ([Ca²⁺]_c) através da fosforilação e da ativação direta dos canais de Ca²⁺ dependentes de voltagem (Ca_V) presentes na membrana plasmática (FUKATA; KAIBUCHI; AMANO, 2001). O aumento na [Ca²⁺]_c favorece a interação do Ca²⁺ com a proteína calmodulina (CaM), formando o complexo 4Ca²⁺-CaM. Este complexo ativa a enzima sintase do óxido nítrico neuronal (nNOS), que catalisa a conversão da L-arginina e O₂ em L-citrulina e NO (Figura 5). O NO é responsável por ativar os neurônios ocitocinérgicos, através de um mecanismo não esclarecido, e liberar a ocitocina em regiões extra hipotalâmicas do cérebro, bem como na medula espinal, especialmente na região sacral, de onde se projetam fibras parassimpáticas que inervam os corpos cavernosos do pênis, promovendo a ereção peniana (Figura 5) (ARGIOLAS; MELIS, 2005; XIAO et al., 2005).

Figura 5 – Mecanismo central de controle da ereção peniana pela dopamina.



D₂: receptor dopaminérgico do subtipo 2; PLC_{β2}: fosfolipase C_{β2}; CaM: calmodulina; nNOS: sintase do óxido nítrico neuronal; NO: óxido nítrico; PVN: núcleo paraventricular; Ca_V: canais de Ca²⁺ dependentes de voltagem.

Fonte: SOUZA, 2018.

Outro neurotransmissor bastante importante para o processo de ereção peniana é a ocitocina. A ocitocina é um peptídio neuro-hipofisário bem conhecido por seu papel hormonal na lactação e no parto, estando presente não apenas nos neurônios dos corpos celulares localizados no PVN e MPOA do hipotálamo, mas também em neurônios que se projetam do PVN e estruturas adjacentes para áreas cerebrais extra hipotalâmicas, em que sua ação é mediada pela ativação dos neurônios ocitocinérgicos no PVN por moduladores excitatórios, como a DA, além disso, a própria ocitocina é capaz de promover autoativação dos seus receptores. Com essa ativação, são conduzidos estímulos para áreas extra hipotalâmicas, bem como para a medula espinal, através de terminais sinápticos (ARGIOLAS; GESSA,

1991; PEDERSEN et al., 1992; VERONNEAU-LONGUEVILLE, et al., 1999; ARGIOLAS; MELIS, 2004).

Os mecanismos de controle periférico da ereção peniana dependem tanto de fatores neuronais como de fatores locais que, influenciarão os processos de contração e de relaxamento muscular liso cavernoso. A modulação do tônus muscular cavernoso ocorre através de mecanismos moleculares que dependem da ação de agonistas, como os neurotransmissores e os fatores derivados do endotélio e, da integralidade da sinalização intracelular. O aumento na $[Ca^{2+}]_c$ é a causa primária para a produção da contração, logo, a regulação dos níveis citosólicos desse íon e da sensibilidade da maquinaria contrátil são cruciais para a regulação do tônus da célula muscular lisa cavernosa (MAGGI et al., 2000; ANDERSSON, 2011).

2.3.2 Determinantes e mecanismos fisiológicos da flacidez peniana

A inervação peniana é autonômica (simpática, responsável pela ejaculação e flacidez, e parassimpática, responsável pela ereção) e somática (sensorial e motora). A partir de neurônios da medula espinhal e dos gânglios periféricos, as inervações simpáticas e parassimpáticas se fundem para formar o nervo cavernoso, o qual penetra nos corpos cavernosos e esponjoso para promover os eventos neurovasculares durante os processos de ereção e flacidez do pênis. Os nervos somáticos são primariamente responsáveis pelas sensações e pela contração dos músculos bulbocavernoso e isquiocavernoso (DEAN, LUE, 2005; AXELSON; JOHANSSON; BILL-AXELSON, 2012).

A via simpática é originada a partir do 11º segmento torácico até o 2º lombar, passando através do ramo ventral do nervo espinhal para a cadeia ganglionar simpática. Em humanos os segmentos de T10 ao T12 frequentemente dão origem às fibras simpáticas e a cadeia de células ganglionares, que se projetam para o pênis, estão localizadas nos gânglios sacral e caudal (DE GROATH, BOOTH, 1993, DEAN, LUE, 2005).

Para a manutenção da flacidez do pênis a estimulação simpática é o mecanismo primordial, em que, a liberação da NA pelos neurônios adrenérgicos estimula seus receptores nos vasos penianos bem como no músculo liso dos corpos cavernosos para induzir a contração (MILLS; CHITALEY; LEWIS, 2001; GUR; KADOWITZ; HELLSTROM, 2009), dessa forma, a flacidez peniana é mantida pela

liberação de noradrenalina das terminações nervosas adrenérgicas que se ligam a receptores adrenérgicos (ARs) α_1 e α_2 . Ademais, a estimulação adrenérgica é responsável pela inibição da liberação de NO das terminações nervosas nitrérgicas através da ativação de ARs pré-sinápticas, portanto, o sistema adrenérgico antagoniza os processos neurovasculares que levam à ereção peniana (CELLEK, 2000; GOLDSTEIN, 2000; TRAISH et al., 2000).

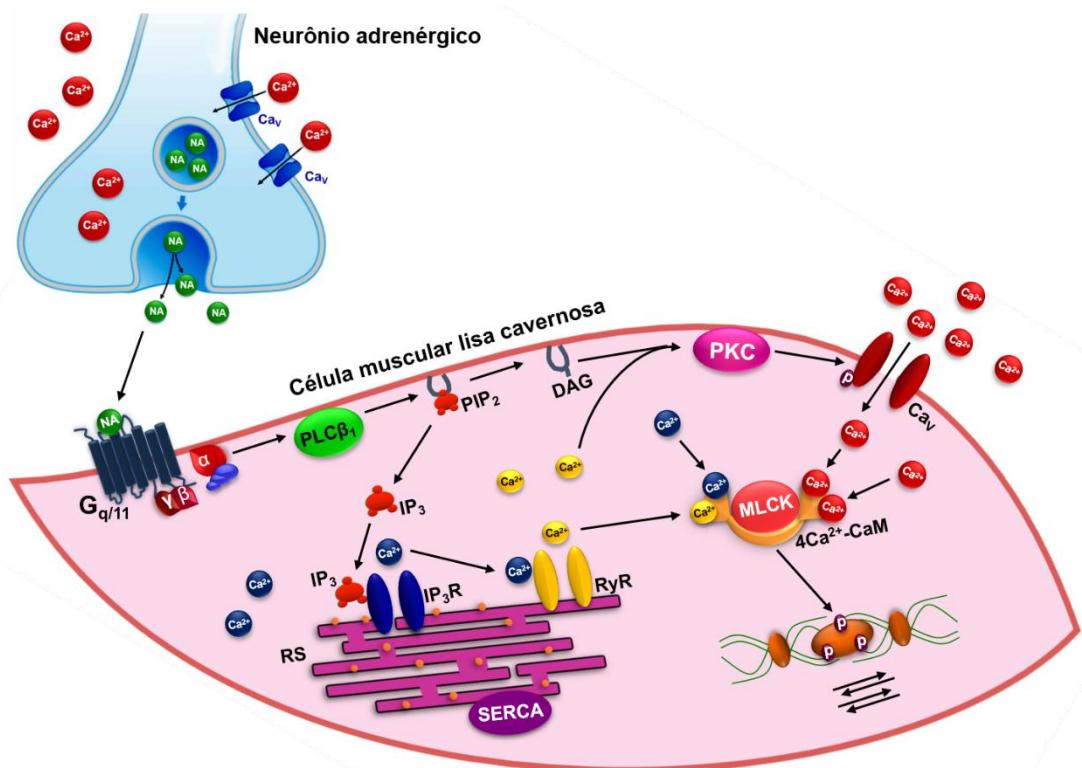
A ativação dos dois subtipos de receptores adrenérgicos α promove a contração do músculo liso trabecular e do pênis, uma vez que a estimulação pré-sináptica de receptores α_2 inibe a transmissão não colinérgica não adrenérgica (NANC) (SIMONSEN et al., 1997; FILIPPI et al., 2002). Além disso, estudos demonstram que a expressão de receptores adrenérgicos α no tecido cavernoso é 10 vezes mais abundante que dos receptores β , e que os subtipos de receptores adrenérgicos α_1 (α_{1A} , α_{1B} , α_{D1} e α_{1L}) e α_2 (α_{2A} , α_{2B} e α_{2C}) são especificamente mais expressos em corpo cavernoso humano (MAGGI et al., 2000; ANDERSSON, 2011). Entretanto, existem ainda outros importantes mediadores da contração cavernosa, dentre eles a endotelina 1 (ET-1), a prostaglandina F2 α (PGF2 α), o tromboxano A2 (TXA2) e a angiotensina II (ANG II) (TEJADA et al., 1991; BECKER et al., 2001; ANDERSSON, 2003).

A resposta contrátil no músculo liso cavernoso é iniciada pela regulação funcional da $[Ca^{2+}]_c$ e depende necessariamente de dois tipos de acoplamentos: eletro- e farmacomecânico, que estão envolvidos com a mudança do potencial de membrana (V_m) e que acontecem quando a contração promovida por um agonista é maior que a observada só com a mudança do V_m , respectivamente. O acoplamento eletromecânico leva a resposta contrátil através da despolarização de membrana diretamente associada ao aumento da concentração extracelular de potássio ($[K^+]_e$) ou a ação de bloqueadores dos canais de K $^+$ (REMBOLD, 1992; REMBOLD, 1996).

Apesar da importância do acoplamento eletromecânico de contração, o estado de flacidez peniana decorre majoritariamente da resposta contrátil desencadeada pela ligação de agonistas a receptores acoplados à proteína G (GPCRs) e a ativação da cascata do inositol através das proteínas G $_{q/11}$. A ativação ocorre pela ligação da adrenalina e da NA aos receptores α_1 , da ET-1 aos receptores ETA/B, da PGF $_{2\alpha}$ aos receptores FP, do TXA2 aos receptores TP e da ANG II aos receptores AT $_1$, o que desencadeia a ativação da via da fosfolipase C $_{\beta1}$ (PLC $_{\beta1}$) e culmina na formação do complexo 4Ca $^{2+}$ -CaM, de maneira semelhante ao observado para a via da PLC $_{\beta2}$. Este

complexo ativa a cinase da cadeia leve da miosina (MLCK), que fosforila a cadeia leve regulatória da miosina (rMLC), promovendo a interação dos filamentos de miosina com os de actina, desencadeando o processo de contração do músculo liso cavernoso (Figura 6) (WEBB, 2003).

Figura 6 – Mecanismo farmacomecânico da contração no músculo liso cavernoso pela ativação da via $G_{q/11}$ -PLC β_1 .



NA: noradrenalina; Cav: canais de Ca^{2+} dependentes de voltagem; PLC β_1 : fosfolipase C β_1 ; PIP₂: 4,5-bisfosfato de fosfatidilinositol; DAG: diacilglicerol; IP₃: 1,4,5-trifosfato de inositol; IP₃R: receptor de IP₃; RyR: receptor de rianodina; RS: retículo sarcoplasmático; SERCA: Ca^{2+} -ATPase do RS; PKC: proteína cinase dependente de Ca^{2+} ; MLCK: cinase da cadeia leve da miosina; CaM: calmodulina.

Fonte: SOUZA, 2018.

As células musculares lisas cavernosas são capazes de manter o estado contraído mesmo após a redução dos níveis intracelulares desse íon. Estudos têm relatado uma via alternativa que contribui para a manutenção da contração no músculo liso, designada como via de sensibilização ao Ca^{2+} , que envolve a modulação da fosfatase da cadeia leve da miosina (MLCP), principalmente pela pequena proteína G ligante de GTP (RhoA) e pela sua cinase associada ROCK, uma proteína serina/treonina cinase (KARAKI et al., 1997; Hori; KARAKI, 1998).

No estado inativado, a RhoA está ligada ao difosfato de guanosina (GDP) e a proteína inibidora da dissociação da guanina (RhoGDI), formando um complexo que se encontra no citoplasma (JIN; BURNETT, 2006). Vários agonistas contráteis, tais como a ET-1, a ANG II e a ACh, que normalmente aumentam a $[Ca^{2+}]_c$ via GPCRs levam à ativação direta do fator de troca de nucleotídio de guanina da RhoA (RhoGEF) pelas proteínas $G_{12/13\alpha}$ GTP, que ativam a RhoA (SOMLYO; SOMLYO, 2003; BERRIDGE, 2014).

2.4 Tecido adiposo

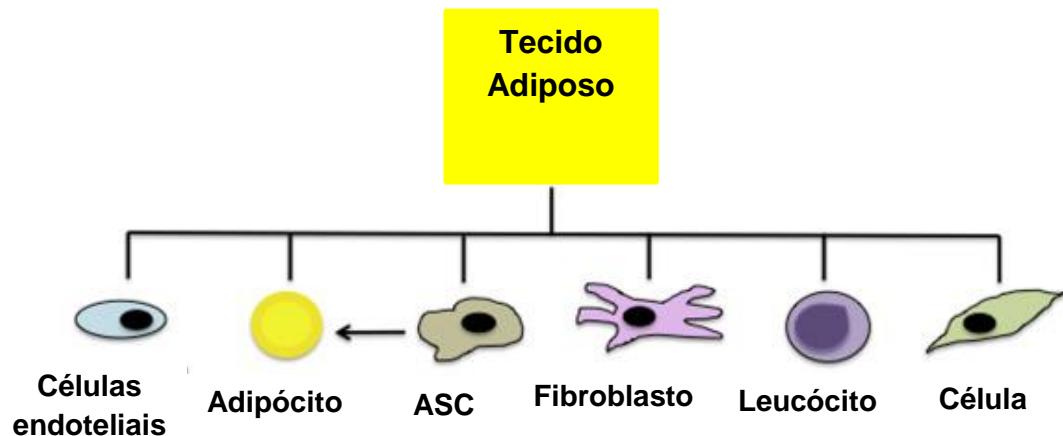
O tecido adiposo foi, por muito tempo, tradicionalmente visto como um órgão passivo de estocagem de energia, isolante térmico e proteção mecânica a traumas, porém, ao longo das últimas décadas, dados experimentais têm sido atribuídos a biologia e bioquímica desse tecido, não sendo apenas considerado como um tecido inerte para armazenar gordura (OTTAVIANI; MALAGOLI; FRANCESCHI, 2011; KRYSIAK; HANDZLIK-ORLIK; OKOPIEN, 2012). Além disso, é um órgão com função dinâmica devido a sua atividade metabólica e endócrina que contribui para a homeostase energética do organismo, por ser o principal local de armazenamento para o excesso de energia e capaz de sintetizar uma série de compostos biologicamente ativos, está envolvido tanto em processos fisiológicos como patológicos (COELHO; OLIVEIRA; FERNANDES, 2013; CHOI; COHEN, 2017).

Durante o processo evolutivo, as espécies animais foram expostas a situações que promoveram adaptações fisiológicas, como uma limitada disponibilidade de alimentos e baixas temperaturas, e o tecido adiposo representa o principal componente corporal que responde a essas alterações no suprimento nutricional e na temperatura ambiente (BARTELT; HEEREN, 2014). Todo tecido adiposo é composto por adipócitos e suas células precursoras, os pré-adipócitos, fibroblastos, leucócitos, macrófagos residentes, células-tronco derivadas do tecido adiposo (ASCs), células do estroma vascular, células murais e tecido nervoso (Figura 7) (FONSECA-ALANIZ et al., 2006; ETOH et al., 2009).

Os adipócitos são as células predominantes nesse tecido e especializadas em armazenar gordura na forma de triacilglicerol (TAG) em seu citoplasma, desempenhando atividades metabólicas de lipogênese e lipólise; sendo lipogênese o processo que resulta em biossíntese e armazenamento de TAG na gotícula

intracitoplasmática quando a oferta energética é abundante e lipólise o processo que resulta na quebra de TAG armazenado e liberação de ácidos graxos livres (AGL), quando há déficit energético (PROENÇA et al., 2014; BAUMGARD; HAUSMAN; SANZ, 2016).

Figura 7 - Composição do tecido adiposo.



Fonte: Adaptado de FRANCES et al., 2018. ASC: célula-tronco derivada de tecido adiposo.

Juntamente com as demais células do tecido adiposo, os adipócitos desempenham atividade endócrina secretando uma grande variedade de substâncias bioativas, denominadas adipocinas, que participam de diversos processos fisiológicos (HALBERG; WERNSTED; SCHERER, 2009; LO et al., 2016) (Tabela 2).

Dentre as adipocinas produzidas no tecido adiposo, a mais abundantemente é a adiponectina, que age como fator protetor por apresentar efeito anti-inflamatório e aumentar a sensibilidade à insulina via supressão da produção de citocinas inflamatórias induzidas pelo fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) (VAIOPoulos et al., 2012; YOGARAJAH et al., 2015; POULOS et al., 2016). Outra adipocina muito importante é a leptina que atua via sistema nervoso central (SNC) reduzindo a ingestão alimentar, proporcionando saciedade e aumentando o gasto energético (ANDRADE-OLIVEIRA; CÂMARA; MORAES-VIEIRA, 2015).

O sistema nervoso autônomo tem controle direto sobre o tecido adiposo através de seus componentes simpático e parassimpático. A inervação simpática está relacionada, principalmente, com as ações catabólicas, como a lipólise mediada pelos receptores adrenérgicos β e dependente da atividade da enzima lipase hormônio-sensível (LHS). Por outro lado, o sistema nervoso parassimpático está envolvido na

execução de efeitos anabólicos sobre os depósitos adiposos, como a captação de glicose e de ácidos graxos estimulada pela insulina (PÉNICAUD et al., 2000; KREIER et al., 2012).

As adipocinas, como demonstrado, influenciam uma variedade de processos fisiológicos, entre eles, o controle da ingestão alimentar, homeostase energética, sensibilidade à insulina, angiogênese, proteção vascular, regulação da pressão e coagulação sanguínea. O tecido adiposo mantém intensa comunicação com os demais órgãos e sistemas orgânicos através de ações autócrinas, parácrinas e endócrinas. Alterações na secreção dessas substâncias, consequentes de alterações na quantidade de tecido adiposo, podem constituir situação relacionada à gênese do processo fisiopatológico da obesidade e suas complicações (BOOTH et al., 2015; LIAW; PEPLOW, 2016).

Ademais, as adipocinas possuem ações variadas atuando na homeostase do tecido adiposo, entretanto, em determinadas condições a secreção dessas substâncias pode ser alterada como em condições de disfunção do tecido adiposo (KLÖTING; BLÜHER, 2014).

Quadro 1 - Adipocinas e suas principais funções no organismo.

Adipocinas	Funções
Adipsina	Secreção de insulina pelas células β
Adiponectina	Sensibilidade à insulina, anti-inflamatória
Apelina	Estimula entrada de glicose no tecido adiposo e músculo esquelético, regulação da ingestão alimentar
HSL	Metabolismo lipídico
IGF-1	Metabolismo lipídico
IL-6	Inflamação
Leptina	Regulação do apetite, inflamação
LPL	Metabolismo lipídico
MCP-1	Quimiotaxia de macrófagos
Omentina-1	Sensibilidade à insulina
PAI-1	Homeostase vascular
PCR	Inflamação
RBP-4	Resistência à insulina
Resistina	Resistência à insulina, inflamação
TGF- β	Migração e adesão celular, crescimento e diferenciação tecidual
TNF- α	Inflamação, resistência à insulina
Visfatina	Resistência à insulina

HSL: lipase hormônio sensível, IGF-1: fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1, IL-6: interleucina-6, LPL: lipase lipoproteica, MCP-1: proteína quimiotática de macrófagos 1, PAI-1: inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1, PCR: proteína C reativa, RBP-4: proteína ligante de retinol 4, TGF- β : fator de transformação de crescimento beta, TNF- α : fator de necrose tumoralalfa. Fonte: DINIZ, 2019

Em mamíferos, o tecido adiposo não é homogêneo e se divide em três tipos de tecido adiposo: tecido adiposo branco (TAB), tecido adiposo marrom (TAM) e tecido adiposo bege (SETHI; VIDAL-PUIG, 2007; HILDEBRAND et al., 2018).

2.4.1 Tecido adiposo branco

O TAB é o principal órgão de estoque do organismo, encontrado principalmente na região subcutânea e na região visceral (HILDEBRAND et al., 2018). Por constituir depósitos localizados em diversas regiões do organismo envolvendo, ou mesmo se infiltrando em, órgãos e estruturas internas, o TAB oferece proteção mecânica contra choques e traumatismos externos, permite um adequado deslizamento entre vísceras e feixes musculares, sem comprometer a integridade e funcionalidade dos mesmos. Além disso, pela distribuição mais abrangente, incluindo derme e tecido subcutâneo, e por ser um excelente isolante térmico, tem papel importante na manutenção da temperatura corporal (LOWELL; SPIEGELMAN, 2000; FONSECA-ALANIZ et al., 2007). Outra função, refere-se a sua capacidade de armazenar energia com

necessidade de pouca água, fornecendo mais calorias por grama em comparação ao carboidrato (9 vs. 4 kcal/g), o que dá ao TAB o status de importante sistema tamponante para o balanço energético (BERNLOHR; JENKINS; BENNAARS, 2002; GAZIOGLU et al., 2015).

Esse tecido adiposo desempenha um papel fundamental na patogênese da obesidade e nas suas complicações associadas, sendo responsável por acumular o excesso de energia sob a forma de triglicerídos, que podem ser mobilizados sob condições de privação de energia (CHOE et al., 2016). Além disso, o TAB atua como um importante órgão endócrino liberando uma ampla gama de moléculas, as adipocinas, que exercem diversas funções endócrinas no organismo (Tabela 2) (WOZNIAK et al., 2009).

Em indivíduos magros e saudáveis, o TAB apresenta adipócitos pequenos e sensíveis à insulina, sendo habitado por linfócitos T *helper* do tipo 2 (Th₂), linfócitos T regulatório (Treg), linfócitos *natural killer* (NK) e eosinófilos que contribuem para a ativação de macrófagos do tipo M₂ (anti-inflamatório) por meio da secreção de IL-4 ou IL-10, mantendo assim a homeostase local. Em contraste, durante o balanço energético positivo presente na obesidade, os adipócitos sofrem hipertrofia e hiperplasia para armazenar o excesso de nutrientes ingeridos. Esse processo é acompanhado por hipóxia, necrose, infiltrado de células imunológicas tais como neutrófilos, linfócitos T *helper* do tipo 1, linfócitos B e mastócitos que induzem a ativação de macrófagos com fenótipo M1 (pró-inflamatório) por meio da alteração no padrão de secreção de adipocinas. Consequentemente, as células imunológicas recrutadas secretam mais citocinas inflamatórias, o que perpetua um ciclo vicioso que leva o TAB a um estado pró-inflamatório constante (TATEYA et al., 2013; HUH et al., 2014; REILLY; SALTIEL, 2017).

Os adipócitos possuem forma esférica e variam em tamanho a depender da gotícula única de lipídio neles estocada, sendo considerados uniloculares. Essa gotícula de lipídio ocupa cerca de 90% do volume celular total, além disso, as mitocôndrias presentes nesses adipócitos são finas, alongadas e variam em quantidade. Além dos adipócitos, o TAB é composto por pré-adipócitos, células do sistema imune, tecidos conjuntivo, nervoso e vascular (SAELY; GEIGER; DREXEL, 2010).

Durante o processo de hipertrofia e hiperplasia dos adipócitos, o TAB passa por uma reprogramação metabólica que inclui uma maior produção de leptina. Essa

superprodução é responsável por iniciar uma resistência em seus receptores centrais, ao mesmo tempo em que aumenta a atividade pró-inflamatória, estimulando a angiogênese, vasoconstrição, agregação plaquetária e ativação das células do sistema imunológico. Além dessas respostas inflamatórias, e por consequência delas, existe uma produção aumentada de proteínas desdobradas no TAB que leva ao estresse do retículo endoplasmático. Tal fato amplifica ainda mais o sinal quimiotático e pró-inflamatório, ou seja, o estresse do retículo também desempenha um papel importante na disfunção do TAB observado na obesidade (KAWASAKI et al., 2012).

Assim, a disfunção mitocondrial tem sido implicada na patogênese de uma variedade de doenças, incluindo obesidade e suas comorbidades (BOURNAT; BROWN, 2010; CUMMINS et al., 2014).

2.4.2 Tecido adiposo marrom

O TAM está localizado principalmente na região interescapular, caracterizado por múltiplas gotículas de lipídios, bastante vascularizado e rico em mitocôndrias. A sua principal função é a regulação térmica por meio da geração de calor mediada pela oxidação lipídica (PEREZ-ECHARRI et al., 2009). Esse tecido é especializado na produção de calor (termogênese) e, portanto, participa ativamente na regulação da temperatura corporal (CURI et al., 2002; CANNON; NEDERGAARD, 2004).

Os adipócitos do TAM podem atingir 60 µm de diâmetro, sendo, geralmente, muito menores que o adipócito branco que tem um tamanho médio de 90–100 µm. São multiloculares e contêm diversas gotículas de lipídios de tamanhos diferenciados e produzem a proteína desacopladora 1 (UCP-1), também conhecida como termogenina, que se localiza na membrana mitocondrial interna. Em decorrência da grande demanda de oxigênio, há uma quantidade elevada de vasos sanguíneos nesse tecido (CINTI, 2009).

Apresentam um grande número de mitocôndrias que, por não possuírem o complexo enzimático necessário para a síntese de ATP, utilizam a energia liberada pela oxidação de metabólitos, principalmente ácidos graxos, para gerar calor (SWEENEY, 2000; BOUCHER et al., 2005). Esse processo ocorre porque a proteína UCP-1, atua como um canal de próton que descarrega a energia gerada pelo acúmulo de prótons no espaço intermembranoso das mitocôndrias durante as reações oxidativas do ciclo de Krebs, desviando esses prótons do complexo F1F0 (ATP

sintase) e impedindo a síntese de ATP, permitindo que se dissipe em calor a energia estocada na mitocôndria. A alta concentração de citocromo oxidase dessas mitocôndrias contribui para a coloração mais escurecida das células e do tecido (CALDER et al., 2011; SINDHU et al., 2015).

Além dos adipócitos, o tecido adiposo marrom contém uma matriz de tecido conjuntivo (fibras colágenas e reticulares), tecido nervoso, células do estroma vascular, nódulos linfáticos, células imunes (leucócitos, macrófagos), fibroblastos e pré-adipócitos (AHIMA; FLIER, 2000).

Antigamente, acreditava-se que o TAM só era encontrado em recém-nascidos e roedores, principalmente na região interescapular. Na literatura, é descrito que os humanos nascem com TAM no pescoço e no tórax, mas, subsequentemente ele é substituído por TAB durante o crescimento. Apesar disso, apenas em 2009 foi identificado TAM metabolicamente ativo nas regiões cervical e supraclavicular de humanos adultos (CYPESS et al., 2009; LICHTENBELT et al., 2009; VIRTANEN et al., 2009).

2.4.3 Tecido adiposo bege

É o mais recente tecido adiposo identificado, em que foi descrito um tipo distinto de adipócito com potencial termogênico, o adipócito bege, também conhecido como brite (*brown-in-white*) (KLINGENSPOR; HERZIG; PFEIFER, 2012; WU et al., 2012). Os adipócitos beges foram encontrados em alguns depósitos de TAB, mas exercendo características funcionais e moleculares semelhantes aos adipócitos marrons. Esses adipocitos são multiloculares, expressam UCP-1 e já foram identificados em roedores e humanos (BARTELT; HEEREN, 2014).

É sabido que a exposição ao frio induz o remodelamento dos adipócitos brancos para adipócitos bege, a fim de gerar calor por meio da termogênese. Esse remodelamento fenotípico vem sendo estudado como uma alternativa de amenizar/tratar a obesidade (HILDEBRAND et al., 2018). O acúmulo desses adipócitos resulta no escurecimento do TAB e decorre do processo de transdiferenciação de adipócitos brancos, da diferenciação de células precursoras em decorrência da demanda corporal, da exposição ao frio e/ou da ativação de receptores adrenérgicos β_3 , mas, com o consumo de dietas com alto teor de lipídios e/ou a

transneutralização há o clareamento dos adipócitos (Figura 4) (ROSENWALD et al., 2013; WHITTLE; RELAT PARDO; VIDAL PUIG, 2013).

2.5 Perfil dietético e obesidade

Estudos relatam que nas últimas décadas ocorreram mudanças significativas nos hábitos alimentares, que impactaram na saúde da população. A prevalência do déficit nutricional diminuiu e houve aumento de sobrepeso e obesidade (KEARNEY, 2010; POPKIN, ADAIR, NG, 2013; URLACHER; KRAMER, 2018). Segundo a Organização Mundial de Saúde, o número de mortes associado a hábitos alimentares não saudáveis acompanhados do sedentarismo, atingem no mundo 1,6 e 4,1 milhões, respectivamente. Ainda de acordo com a OMS, em 2016 mais de 1,9 bilhões de adultos apresentavam sobrepeso e mais de 650 milhões eram obesos. Adicionalmente, no mesmo ano no Brasil, o Ministério da Saúde (2017) verificou que 18,9% da população estava obesa. Tais números se devem, em grande parte, ao padrão dietético consumido (OMS, 2017).

O perfil alimentar é representado principalmente pela dieta ocidental ou dieta hipercalórica caracterizada pelo aumento do aporte calórico e energético, pela alta ingestão de carnes vermelhas, laticínios ricos em gordura e alimentos industrializados contendo grandes quantidades de sódio, ácidos graxos saturados e carboidratos simples (CALDER et al., 2011; CALICETI et al., 2017). Essa dieta proporciona excesso calórico de macronutrientes (carboidratos, gorduras e proteínas), porém déficit em micronutrientes tais como, vitaminas e minerais, que acarretam problemas graves a saúde do indivíduo (KANT, 2010; KEARNEY, 2010).

Em decorrência do aumento das pesquisas envolvendo nutrição experimental, em 1973, o *American Institute of Nutrition* (AIN) constituiu uma comissão para elaboração de uma dieta padrão para ser utilizada em estudos nutricionais com animais de laboratório. Como fruto desse trabalho, foi publicada a dieta AIN-76A, que foi reformulada no ano de 1988, na reunião da Federação das Sociedades Americanas para Biologia Experimental (FASEB). Na AIN-93, foram designadas novas dietas levando em consideração quatro etapas diferentes da vida dos roedores, como as fases de crescimento, gestação, lactação (AIN-93G) e manutenção (AIN-93M) (BIERI et al., 1979; REEVES; NIELSEN; FAHEY JR, 1993).

De acordo com cálculos da nutrição experimental baseados na AIN-93, uma dieta é considerada hiperlipídica quando o percentual de calorias obtidas dos lipídios que a compõem for igual ou superior a 36% do Valor Energético Total (VET) da dieta. Além disso, uma dieta que apresenta VET superior a 410,0 kcal/100 g é considerada hipercalórica, e quanto maior esse valor, há maior eficiência no aumento da adiposidade corporal nos animais, e como consequência, maior a probabilidade de alterações fisiológicas (REEVES; NIELSEN; FAHEY JR, 1993; HENRIQUES et al., 2014).

Assim, o consumo exacerbado desses tipos de alimentos está sendo associado ao desenvolvimento da obesidade, que resultam na disfunção do tecido adiposo. Portanto, o tecido adiposo funciona como uma conexão entre os hábitos alimentares e o desenvolvimento de complicações metabólicas e comorbidades (ARCHUNDIA; SUBHAN; CHAN, 2017).

A obesidade, é, portanto, uma doença metabólica complexa, em que sua etiologia é atribuída a uma combinação entre fatores genéticos, epigenéticos, ambientais, psicossociais e de estilo de vida (GONZÁLEZ-MUNIESA et al., 2017). Sua principal característica clínica é a inflamação crônica sistêmica e de baixo grau causada pela expansão do tecido adiposo branco bem como pelo depósito ectópico de gordura em tecidos não adiposos (O'ROURKE, 2009; LUMENG; SALTIEL, 2011; CHOE et al., 2016).

Definida como uma doença crônica e pelo acúmulo excessivo de gordura ou de tecido adiposo no corpo, a obesidade é resultante do consumo excessivo de nutrientes e/ou diminuição do gasto energético, com graves dimensões sociais e psicológicas, que afeta praticamente todos os grupos etários e socioeconômicos (AITLHADJ et al., 2012; OMS, 2017). A Federação Mundial de Obesidade relata que a obesidade é considerada uma epidemia e é reconhecida como um dos mais importantes e comuns problemas de saúde pública que o mundo enfrenta (PALOU et al., 2000; BOWERS et al., 2014; SWINBURN et al., 2018). Nas últimas décadas, o estilo de vida moderno e sedentário e a alimentação rica em calorias, gorduras e açucares, associados ao envelhecimento populacional tem aumentado consideravelmente a prevalência mundial de obesidade (FUSSENEGGER et al., 2008; TREMMEL et al., 2017).

A etiologia da obesidade envolve múltiplos fatores relacionados à hábitos alimentares inadequados, diminuição progressiva ou não prática de atividade física, fatores genéticos, metabólicos, sociais, comportamentais e culturais (SANTOS et al.,

2012). Além disso, os sistemas biológicos apresentam mecanismos fisiológicos que regulam a perda excessiva de energia, com a finalidade de evitar o estado de desnutrição, que representa um dano superior ao organismo e, consequentemente, dificultam a redução da adiposidade corporal (SPEAKMAN, 2004; BAHIA et al., 2012).

A estimativa do grau de adiposidade é feita pelo índice de massa corporal (IMC). O IMC calcula genericamente a adiposidade e identifica sobre peso e obesidade, em adultos, representado pela razão entre o peso do indivíduo expresso em quilogramas (kg) e o quadrado da altura em metros (m) (ABESO, 2016; OMS, 2018).

Segundo dados do Ministério da Saúde, a utilização desse índice é comum por sua facilidade de mensuração e por ser uma medida não invasiva e de baixo custo (BRASIL, 2014), contudo, o IMC não evidencia a composição corporal, a distribuição e localização do excesso de tecido adiposo, nem as variações individuais em função do sexo, etnia e idade em termos de quantidade de massa magra, sendo recomendada a avaliação concomitante de outras medidas antropométricas como a determinação das circunferências torácica e abdominal e das dobras cutâneas para o diagnóstico da doença (ABESO, 2016). No entanto, mesmo que o IMC seja uma ferramenta imprecisa, é a mais comumente utilizada, pois é simples, prática e sem custo (OMS, 2018).

A Organização Mundial de Saúde classifica indivíduos com sobre peso e obesidade baseada em padrões internacionais desenvolvidos para pessoas adultas descendentes de europeus (Quadro 2), onde IMC acima de 25 kg/m² com sobre peso, IMC \geq 30 kg/m² como obesos, e pessoas com IMC \geq 40 kg/m² são classificadas como obesos mórbidos (OMS, 2018).

Quadro 2 – Classificação da obesidade segundo o IMC que divide a adiposidade em graus ou classes.

IMC (kg/m ²)	Classificação	Grau/classe
<18,5	Magro ou baixo peso	0
18,5-24,9	Normal ou eutrófico	0
25-29,9	Sobre peso ou pré-obeso	0
30-34,9	Obesidade	I
35-39,9	Obesidade	II
\geq 40	Obesidade grave	III

Fonte: OMS, 2018.

Apesar de políticas de saúde pública para combater a epidemia de obesidade, estudos epidemiológicos têm demonstrado números alarmantes e crescentes desta doença (NG et al., 2014; NCD, 2016). Dados da Organização Mundial da Saúde evidenciam que no ano de 2016 mais de 1,9 bilhão de adultos maiores de 18 anos tinham excesso de peso. Destes, mais de 650 milhões de adultos eram obesos. Projeta-se que aproximadamente cerca de metade da população adulta do mundo estará com excesso de peso ou obesidade até 2030 (OMS, 2016).

No Brasil, é crescente o número de crianças e adultos com sobrepeso e obesidade. Segundo dados da OMS (2016), 56,5% da população adulta brasileira está com sobrepeso e 22,1% obesa. Entre crianças e adolescentes de 5 a 19 anos 28% está com sobrepeso e 10,8% são obesos. Estes números mais que dobraram desde 1980. Neste cenário, dentre as capitais nordestinas, destaca-se a cidade de João Pessoa, Paraíba, que apresentou o maior percentual de adultos obesos (21,7%), superando a média nacional (18,9%) (BRASIL, 2017).

2.5.1 Estresse oxidativo na obesidade e na função erétil

As espécies reativas de oxigênio (ROS) são moléculas altamente reativas e transientes que exercem funções importantes no organismo. Embora a elevação transitória destes estímulos seja essencial para a regulação de diversos processos fisiológicos celulares, como a sinalização celular, controlam processos de cicatrização, apoptose, manutenção do tônus muscular liso e a fagocitose, se tais estímulos estressores forem persistentes e/ou excederem a capacidade de defesa do organismo, levando ao processo de estresse oxidativo. A cronicidade desse processo é prejudicial para as células, por causar danos proteicos, lipídicos e ao ácido desoxirribonucleico (DNA), além de estar relacionado como o desenvolvimento de diversas doenças (VALKO et al., 2007), que resultam em um desequilíbrio entre a produção das ROS e a capacidade antioxidante do tecido (WEI; LEE, 2002; EL ASSAR; ÂNGULO; RODRÍGUEZ-MAÑAS, 2013).

A produção excessiva de ROS leva a disfunções celulares, peroxidação lipídica e mutagenicidade do DNA, causando danos celulares irreversíveis e morte celular (GIORDANO et al., 2005; MURDOCH et al., 2006; TAKIMOTO; KASS, 2007). Vários estudos têm demonstrado que essa produção excessiva induz à disfunção endotelial em animais (CSISZAR et al., 2002; UNGVARI et al., 2007; IDRIS et al., 2012;

GASPAROTTO et al., 2018) e humanos idosos (DONATO et al., 2007; JABLONSKI et al., 2007).

É sabido que o estresse oxidativo associado a inflamação crônica desempenha papel crucial no desenvolvimento da obesidade e de suas comorbidades associadas, portanto, a obesidade é caracterizada como uma condição crônica de estresse oxidativo. Nesse caso, os níveis elevados de glicose e de lipídios circulantes resultam no fornecimento excessivo de substratos energéticos para rotas metabólicas, o que, por sua vez, pode aumentar a produção de ROS (MCMURRAY; PATTEN; HARPER, 2016).

A presença de inflamação crônica, hiperleptinemia, resistência à insulina, hiperglicemia, injúria tecidual, presença de ácidos graxos livres, deficiência de vitaminas e minerais e disfunção mitocondrial e endotelial, quadro clássico presente na obesidade, levam a produção exacerbada de ROS (MANNA; JAIN, 2015). As ROS ativam o NF_κB, que é redox sensível, desencadeando a liberação de citocinas pró-inflamatórias, que aumentam a produção dessas espécies reativas, estabelecendo assim um círculo vicioso prejudicial ao organismo acarretando em injúria tecidual, resistência à insulina, desordens do sono, diabetes, bem como favorecendo e contribuindo para a DE (FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ et al., 2011; BRYAN et al., 2013).

As ROS incluem diversos radicais livres, como o ânion superóxido (O_2^-) e os radicais hidroxila (OH^-) e os derivados de oxigênio não radicalares, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o ácido hipocloroso (HClO), o peroxinitrito ($ONOO^-$) e o ozônio (O_3) (GIORDANO et al., 2005; HALLIWELL, 2006). O O_2^- é produzido pelas xantina oxidase, eNOS desacoplada, cadeia respiratória mitocondrial e nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) oxidases que inicia os processos oxidativos (FREY et al., 2009; SAWYER et al., 2002; MURDOCH et al., 2006). Em seguida, o O_2^- é dismutado a H_2O_2 , através de reações espontâneas ou catalizadas enzimaticamente. Ambos O_2^- e H_2O_2 podem reagir, na presença de ferro ou outros metais, para formar o mais potente radical OH^- (BRUNORI; ROTILIO, 1984).

Na maioria dos tipos de células, a geração de ROS ocorre majoritariamente na cadeia transportadora de elétrons, encontrada nas cristas da membrana mitocondrial interna. Além disso, outros locais importantes para produção dos radicais livres englobam microssomos e diversas enzimas, destacando-se a xantina oxidase, a mono oxigenase P450, a ciclo-oxigenase, a lipoxigenase, a indolamina dioxygenase e a

monoamina oxidase (MATSUZAWA-NAGATA et al., 2008; MATSUDA; SHIMOMURA, 2013).

Uma das consequências do aumento do estresse oxidativo é a inativação e a diminuição da síntese do NO pelas altas concentrações de O_2^- (SUN et al., 2004; LIU et al., 2012). O NO pode reagir com o O_2^- para produzir o $ONOO^-$, fato que reduz a biodisponibilidade do NO e resulta em disfunção endotelial, contribuindo assim para o surgimento de várias condições patológicas como aterosclerose, isquemia e disfunção erétil. Dessa forma, a inativação direta do NO, em grande parte pelo O_2^- , pode contribuir para a redução do relaxamento dos corpos cavernosos e favorecer o processo de flacidez peniana (BIVALACQUA et al., 2005; PACHER; SZABÓ, 2006; PACHER et al. 2007; SILVA et al., 2013).

Em condições fisiológicas, as células possuem um sistema antioxidante eficiente que atua contra o acúmulo das ROS, com a finalidade de conter a sua formação no organismo. Esses sistemas antioxidantes podem ser enzimáticos e não enzimáticos, e desempenham papel fundamental na prevenção da oxidação resultante da ação das ROS (BROIENI et al., 2008). O sistema antioxidante enzimático engloba a superóxido dismutase (SOD), as glutationas peroxidase (GSH-PX) e redutase (GSH-Rd) e a catalase, que são enzimas responsáveis pela remoção do O_2^- , dos hidroperóxidos orgânicos e do H_2O_2 , respectivamente (YU, 1994; PIETTA, 2000; NORDBERG; ARNER, 2001). Dentre estes antioxidantes, a SOD é considerada a principal enzima envolvida na defesa do organismo contra o O_2^- . A SOD atua convertendo o O_2^- para H_2O_2 , que posteriormente é convertida pela catalase e/ou glutationa em água (FREY et al., 2009). De fato, a redução da atividade da SOD contribui para as altas concentrações de O_2^- . Em corpos cavernosos de ratos obesos, a redução da atividade da SOD é relacionada à DE (LI et al., 2010; HELMY; SENBEL, 2012).

O sistema não enzimático envolve um grupo de antioxidantes que podem ser complexados em compostos produzidos *in vivo*, como é o caso da glutationa, da ubiquinona e do ácido úrico, e em compostos obtidos diretamente da dieta tais como o α -tocoferol (vitamina E), o β -caroteno, o ácido ascórbico (vitamina C) e compostos fenólicos como os flavonoides (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007; SAMPAIO; MORAES, 2010).

Neste sentido, os indivíduos obesos apresentam maior susceptibilidade ao dano oxidativo. Fato este, justificado porque, a obesidade além de aumentar a produção de

ROS, também favorece a diminuição das defesas antioxidantes sistêmicas e teciduais, favorecendo diretamente ao desenvolvimento da DE (AMIRKHIZI et al., 2017).

2.6 Produtos naturais

A natureza sempre despertou no homem um fascínio encantador, não só pelos recursos oferecidos para sua alimentação e manutenção, mas por ser sua principal fonte de inspiração e aprendizado (DEWICK, 1997). A busca incessante pela compreensão das leis naturais e o desafio de transpor barreiras à sua sobrevivência, como o clima e as doenças, levaram o homem ao atual estágio de desenvolvimento científico, sem abrir mão da utilização de produtos naturais para as mais variadas atribuições e necessidades, apesar do avanço tecnológico observado até hoje (PINTO, 1995; LIMA; BARREIRO, 2005).

As primeiras descrições sobre os produtos naturais feitas pelo homem remontam às sagradas escrituras e ao papiro de Ebers. Este papiro foi descoberto e publicado por Georg Ebers, enumera aproximadamente 100 doenças e descreve um grande número de drogas de natureza animal e vegetal (DREYFUS; CHAPELA, 1994; VILELA, 2007). Os produtos naturais são utilizados pela humanidade desde tempos imemoriais. A busca por alívio e cura de doenças através da utilização de ervas e folhas talvez tenha sido uma das primeiras formas de utilização dos produtos naturais. A história do desenvolvimento das civilizações Oriental e Ocidental é rica em exemplos da utilização de recursos naturais na medicina, no controle de pragas e em mecanismos de defesa, merecendo destaque a civilização Egípcia, Greco-romana e Chinesa (TOBERT, 2003; HOSTETTMANN; QUEIROZ; VIEIRA, 2003).

O Brasil se situa em posição privilegiada para a ciência de produtos naturais, em decorrência de ser um dos países rico por uma imensa biodiversidade e ter constituído um grande corpo de pesquisadores de química de produtos naturais (BERLINCK, 2012). O Brasil, com a grandeza de seu litoral, de sua flora e, sendo o detentor da maior floresta equatorial e tropical úmida do planeta, não pode abdicar de sua vocação para os produtos naturais. A Química de Produtos Naturais (QPN) é, dentro da Química brasileira, a área mais antiga, e a que interliga diversas áreas do conhecimento (LONGO; AMADO-FILHO, 2014; NEWMAN; CRAGG, 2016).

A discussão crítica sobre a biologia e química e sua importância para a química de produtos naturais do Brasil trouxe diferentes perspectivas para os avanços

nacionais da área (PUPO; GALLO; VIEIRA, 2007). Ressalta-se ainda, a importância da combinação da pesquisa em química e biologia, no que diz respeito aos avanços e desafios a serem enfrentados à investigação do metabolismo de micro-organismos, o fato de que, embora projetos de produtos naturais tenham se voltado cada vez mais para a descoberta de novos compostos bioativos, mostrando-se mais eficazes na descoberta de novos protótipos de fármacos (ALMEIDA; PINTO, 2011; ZHANG et al., 2014).

Análises mais recentes da pesquisa em produtos naturais no Brasil têm foco em produtos naturais de micro-organismos, decorrência natural do crescimento e fortalecimento de estudos envolvendo o metabolismo de fungos, bactérias e algas, por diferentes grupos nacionais (MONTANARI; BOLZANI, 2001; ALMEIDA et al., 2009).

Em todo o mundo, os produtos naturais desempenham um papel essencial nos processos de descoberta e desenvolvimento de medicamentos, seja fornecendo substâncias isoladas, ou como produtos diretos, desempenhando assim um papel fundamental na pesquisa farmacológica e na proteção à saúde (NEWMAN; CRAGG, 2012).

O panorama de descoberta de biomoléculas microbianas a partir da biodiversidade de micro-organismos do Brasil, vem demonstrando que a enorme maioria dos produtos naturais descritos por pesquisadores brasileiros são, na verdade, conhecidos (IÓCA; ALLARD; BERLINCK, 2014). A distribuição dos tópicos de pesquisa evidencia que a investigação sobre o metabolismo desses micro-organismos ainda é quase inexistente, bem como estudos da biossíntese de metabólitos, o que reforça a necessidade de se promover a pesquisa interdisciplinar, com forte caráter internacional e colaborativo, para fortalecer a pesquisa de produtos naturais de micro-organismos marinhos no Brasil (BERLINCK et al., 2004; VALLI et al., 2013). Das 53.000 espécies de produtos naturais utilizadas na prática da medicina herbal para os cuidados primários à saúde, várias são de origem aquática, mas diferentemente das plantas, os organismos aquáticos não têm um histórico significativo de uso na medicina tradicional (PAN et al., 2014). A pesquisa na área de produtos naturais bioativos não apenas permite identificar novos compostos como também propõe novas estruturas moleculares para serem utilizadas como modelos para novos fármacos (NEWMAN; CRAGG, 2016).

A compreensão dos produtos naturais conduziu abordagens e análises em purificações, caracterização, determinação estrutural, dinâmica química e metabólica inter-relacionais, bem como, características vigorosamente diversificadas e uso e funções baseados na farmacologia, que levaram à racionalização dos avanços no entendimento e contribuições para a pesquisa (PUCHEAULT, 2008; CONCHA; LONG, 2003; KWAN; SCHMIDT, 2013). Os detalhes mais refinados nos ambientes ecológicos dos recursos naturais e seu impacto na geração dos constituintes e suas variações no design e na diversificação, bem como nos níveis de envolvimento de produtos na biomecânica dos processos celulares abrem o horizonte do desenvolvimento para aplicações mais amplas na química de espécies terrestres e organismos marinhos (ATANASOV et al., 2015).

2.6.1 Produtos naturais marinhos

Os oceanos cobrem 70 % da superfície terrestre e são habitados por cerca de 200.000 espécies de plantas e invertebrados marinhos e milhões de microrganismos. Além das plantas, esponjas, octocorais, ascídeas e briozoários são organismos sésseis quando adultos e se desenvolvem em condições adversas quando comparados aos terrestres (RAPADO et al., 2015). A evolução e sobrevivência destas espécies resultou em organismos que produzem substâncias únicas com funções ecológicas diversas.

O século XXI traz uma diversidade sem precedentes na pesquisa de produtos naturais no que se refere às fontes de biomoléculas. Enquanto a pesquisa em produtos naturais de plantas ainda é a principal, os organismos marinhos, constituem uma das fontes biológicas com mais interesse exploratórios pelos pesquisadores brasileiros na área de produtos naturais, porém, permanecem pouco explorados por motivos tais como: as coletas biológicas marinhas são muito caras, o acesso aos biomas marinhos ainda é restrito, existem poucos especialistas dispostos a enfrentar o desafio do isolamento de substâncias polares, e, principalmente, o fato de que a biodiversidade marinha brasileira é muito mais limitada do que se preconiza como sendo a biodiversidade da “Amazônia Azul” (BERLINCK et al., 2004). O censo marinho informa que determinadas regiões da costa do Brasil são verdadeiros desertos no que se refere à biodiversidade de invertebrados, que por sua vez,

constitui, a principal fonte de produtos naturais marinhos (LONGO; AMADO-FILHO, 2014).

Pesquisas e estudos envolvendo produtos naturais de origem marinha vem ganhando destaque nos últimos anos, produtos que até os anos 50 fugiram do interesse dos pesquisadores de produtos naturais, principalmente devido ao difícil acesso às suas profundidades. De fato, não há histórico significativo da utilização dos produtos naturais marinhos em detrimento aos que se originam das plantas, mas existem relatos do uso desses produtos pelos antigos fenícios, que produziam corantes roxos a partir de moluscos marinhos, além de utilizarem as algas para fertilizar o solo (PAN et al., 2014). Entretanto, com o avanço das técnicas e o advento dos equipamentos seguros de mergulho, na década de 70, algas e invertebrados marinhos puderam começar a serem estudados nas bancadas dos laboratórios de química e farmacologia (FENICAL; JENSEN, 2006).

As pesquisas com Produtos Naturais marinhos no Brasil iniciaram na década de 60 no Centro de Pesquisas de Produtos Naturais na Faculdade de Farmácia da UFRJ (KELECOM, 1997). No entanto, ainda são poucas as pesquisas, documentadas em artigos científicos, sobre substâncias isoladas e a atividade biológica de produtos naturais de organismos marinhos coletados ao longo do litoral brasileiro. As poucas informações existentes sobre a química desses organismos, muitos dos quais são espécies endêmicas, indicam um grande potencial de pesquisa para a área no Brasil (CHAGAS-PAULA, 2015).

A história do estudo dos Produtos Naturais marinhos demonstra que, por volta de 1960, houve um grande investimento por parte das indústrias farmacêuticas na busca de substâncias bioativas a partir dos organismos que vivem nos oceanos (HAY; FENICAL, 1997; DAVIDSON et al., 2008). Desde então, diversos países, como os Estados Unidos, Austrália, Itália e China, têm se dedicado ao estudo químico de esponjas, corais, moluscos e algas. Muitas substâncias identificadas possuem estruturas químicas únicas e sem precedentes em fontes naturais terrestres, fato que tem motivado, além do desenvolvimento de novos métodos de isolamento e de síntese orgânica, pesquisas sobre a origem e biossíntese das substâncias isoladas, sua importância ecológica e atividades farmacológicas (PAUL, 1994; EPIFANIO; MAIA; FENICAL, 2000; YAMAGUCHI et al., 2011).

Os oceanos representam uma importante fonte de organismos, e, apresentam um recurso enorme para a descoberta de novos agentes terapêuticos. Nesse contexto,

entre 1977 e 1997, foram relatados em torno de 2.500 metabólitos isolados a partir de organismos marinhos (BLUNT et al., 2014). Além disso, Faulkner (2000) relatou que até 1998 havia mais de 840 novas estruturas descritas provenientes do ecossistema marinho. O Censo da Vida Marinha (2000-2010) avaliou a diversidade, a abundância e a distribuição da vida no oceano, concluindo que potencialmente mais de 90% das espécies marinhas permanecem não descritas pela ciência (SNELGROVE, 2016).

Por apresentar características físico-químicas, luminosidade, profundidade, temperatura, pressão e pH particulares, conferem ao ecossistema marinho condições importantes e inigualáveis para seu estudo. Em consequência, muitos organismos marinhos vivem em habitats complexos, expostos a condições extremas e a diversidade ambiental faz com que eles produzam grande variedade de metabólitos biologicamente ativos que, possivelmente, não podem ser encontrados em outros organismos. Esta situação reforça a busca de novos compostos no ambiente marinho, que apresenta possibilidades quase ilimitadas (SENTHILKUMAR; 2013; SENTHILKUMAR; KIM, 2013).

Dentre os produtos naturais marinhos, as algas ganham destaque pela produção de metabólitos secundários bioativos, incluindo, compostos polifenólicos, polissacarídeos, esteroides, ácidos graxos, carotenóides, aminoácidos tipo micosporina, compostos halogenados, policetídeos, lectinas, peptídeos e seus derivados (CARDOZO et al., 2007; FAULKNER, 2011). Esses metabólitos indicam diversidade estrutural e funcional de suas contrapartes terrestres devido às diferenças em suas vias metabólicas (DREW; DEMAIN, 1977; GUVEN; PERCOT; SESIK, 2010). Entre o grande número de funcionalidades biológicas dos produtos naturais de algas marinhas, pode-se destacar os efeitos, anticancerígenos, imunomoduladores, antidiabéticos, antimicrobianos, anticoagulantes, protetores de UV, inibidores de tirosina sinase, antioxidantes e anti-inflamatórios (BLUNT et al., 2015).

2.6.2 *Spirulina platensis*

Os oceanos compreendem um enorme ecossistema, cobrindo mais de 70% da superfície da Terra, abrigando grande variedade de organismos marinhos que produzem um número variado de metabólitos secundários com uma gama de funcionalidades biológicas (WIJESEKARA et al., 2011). Entre os organismos marinhos, as algas constituem o principal e maior grupo. Estudos demonstram que

foram descritas aproximadamente 72.500 espécies de algas em todo o mundo, e que a maioria delas é de origem marinha (GUIRY, 2012).

Dentre as algas marinhas, as pertencentes ao filo das cianobactérias e da família *Spirulinaceae*, representam os procariontes fotossintéticos mais encontrados nos ecossistemas aquáticos. Certas espécies, incluindo *Aphanizomenon flos-aquae*, *Spirulina maxima*, *Spirulina fusiformis*, *Spirulina sp*, *Nostoc* e *Spirulina platensis*, têm sido consumidos pelos seres humanos há séculos (FURST, 1978; CIFERRE et al., 1983; HORI et al., 1994; PARIKH et al., 2001; TORRES-DURAN et al., 2007; RASMUSSEN et al., 2009). Ao longo dos tempos, essas microalgas foram utilizadas como alimento tradicional de alguns povos mexicanos, africanos, americanos e orientais (FURST, 1978; CIFERRE et al., 1983).

As algas marinhas têm sido bastante utilizadas como fontes de importantes compostos bioquímicos, que podem ser raros em plantas e animais. Na indústria alimentícia, há uma demanda cada vez mais crescente por vários componentes provenientes de algas, como pigmentos naturais, carotenoides, proteínas e vitaminas utilizados para substituir os pigmentos sintéticos e aumentar o valor nutricional de alimentos tanto para animais como para humanos (VONSHAK, 1997; NASIRIAN et al., 2018).

A *Spirulina platensis* foi descoberta pela primeira vez pelo cientista espanhol Hernando Cortez em 1519, em que foi observado que a alga fazia parte da alimentação dos povos mexicanos astecas. Pierre Dangeard descobriu também os benefícios da *Spirulina* para a saúde, onde verificaram que os flamingos sobreviviam consumindo algas verde azuladas (UGWU; AOYAGI; UCHIYAMA, 2008).

Neste sentido, a alga verde azulada *Arthrosphaera (Spirulina) platensis* é uma das microalgas mais promissoras, que pode ser usada como fonte alimentar e farmacêutica (VONSHAK, 1997; EL-SHEEKH; HAMAD; GOMAA, 2014). A *Spirulina platensis*, portanto, é um dos organismos marinhos que merece destaque, é unicelular, microscópica, pertencente à família *Spirulinaceae* do filo das cianobactérias (MAZOKOPAKIS et al., 2014; ZEWEIL et al., 2016). Adicionalmente, essa microalga é rica em proteínas, que apresenta várias bioatividades, incluindo atividades antioxidante, anti-hipertensiva, imunomoduladora, anticancerígena e antiobesidade (LU et al., 2010; WANG; ZHANG, 2016; FAN et al., 2018,). O cultivo dessa alga se tornou interessante por ser facilmente adaptável, mesmo quando sujeita a condições extremas (CHAMORRO et al., 1996; ISMAIL et al., 2015), pode ser

encontrada em vários ambientes, no entanto, àqueles com maior concentração de sal, carbonatos e bicarbonatos são mais favoráveis ao seu crescimento, o que torna essa alga capaz de se adaptar em diferentes habitats e colonizar ambientes em que a vida para outros micro-organismos seria muito difícil ou até impossível (CIFERRE et al., 1983; SERBAN et al., 2016).

Apresentando forma helicoidal, medindo entre 0,2 a 0,5 mm de comprimento, a *S. platensis* pode ser encontrada nos oceanos, nos rios e nos lagos de água doce. Em sua composição, a alga é composta por alto teor de proteínas (65 a 70% do seu peso seco) e todos os aminoácidos essenciais (EL-SHEEKH; HAMAD; GOMAA, 2014), além disso, é uma rica fonte de minerais, vitaminas e antioxidantes, incluindo carotenoides, tocoferóis, compostos fenólicos e ficocianinas (PARK et al., 2008; DENG; CHOW, 2010). As ficocianinas presentes na alga correspondem a 20% do peso seco da alga, elevando a sua capacidade antioxidante, uma vez que sequestra radicais livres e inibe a formação de radicais superóxido (BHAT; MADYASTHA, 2000; MCCART, 2007; ERIKSEN, 2008; KU et al., 2013; KUDDUS et al., 2013). Ademais, a presença de clorofila e carotenoides, como o β caroteno, regula a atividade de enzimas como a SOD e a CAT e bloqueia o efeito deletério das ROS através da quelação dos íons metálicos (CUVELIER, 2001; WU et al., 2016; MARYCZ; MICHALAK; KOCHEROVA, 2017).

O consumo de *S. platensis* como suplemento alimentar traz benefícios à saúde na prevenção ou controle da obesidade, inflamação (COSKUN et al., 2011) e doenças cardiovasculares (KHAN et al., 2005). Além disso, possui efeitos radioprotetores (MOHAMED et al., 2014), nefroprotetores (SABER et al., 2015), reprotoxetores (FARAG et al., 2016) e hepatoprotetores (TOUGHAN et al., 2018). Não obstante, cerca de um terço da atual produção mundial dessa alga marinha é comercializado para aplicação em ração animal. Adicionalmente, vários estudos relatam o marcante papel favorável e promissor da *S. platensis* na fertilidade, crescimento animal e qualidade do produto nutricional (HOLMAN; MALAU-ADULI, 2013).

A *Spirulina platensis* possui qualidades nutricionais distintas, com papel excepcional no tratamento de uma infinidade de doenças (XIONG et al., 2018). Essa alga também contém 4-7% de lipídios, cuja composição é principalmente de ácidos graxos essenciais poli-insaturados como o ácido γ -linolênico, ácido α -linoleico, ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido docosahexaenoico (DHA) (FERREIRA-HERMOSILLO; TORRES-DURAN; JUAREZ-OROPEZA, 2010), dentre esses

componentes, o ácido linoleico é relacionado aos possíveis efeitos terapêuticos da alga, uma vez que é convertido em ácido linoleico conjugado (CLA), nos mamíferos, pelas dessaturases, que estão presentes na glândula mamária e no tecido adiposo (MENESES; AUGUSTO, 2014).

O CLA reduz a gordura corporal, aumenta a massa magra, atua na diminuição do número e tamanho dos adipócitos, aumenta as taxas de degradação de gordura nos adipócitos e inibe a lipoproteína lipase, responsável pela entrada de ácidos graxos nos adipócitos (HARO; ARTACHO; VIQUE, 2006). Além disso, é rica em vitamina B12, minerais, ácidos graxos essenciais, 15% de carboidratos complexo (MAZO; GMOSHINSKII; ZILOVA, 2004; ASMATHUNISHA; KATHIREZAN, 2012), e de pigmentos fotossintéticos que apresentam uma variedade de atividades farmacológicas (MARLES et al., 2011; ASMATHUNISHA; KATHIREZAN, 2012; KU et al., 2013). Graças a sua vasta composição de nutrientes, a *Spirulina platensis* tem sido representada como um alimento nutracêutico (KARKOS et al., 2011) e sido proposta como uma suplementação eficaz, protegendo contra a incidência de câncer e melhorando o status antioxidante (SMIESZEK et al., 2017).

É demonstrado o uso dessa alga marinha como suplemento alimentar para consumo humano e para aquicultura (TANG; SUTER, 2011; BISHOP; ZUBECK, 2012; HOLMAN; MALAU-ADULI, 2013). Entretanto, desde 1974, essa alga já era conhecida como um alimento promissor, uma vez que a *S. platensis* foi declarada pela Conferência das Nações Unidas sobre alimentação como “o melhor alimento para o futuro” (ONU, 2017). Adicionalmente, segundo a Administração Nacional da Aeronáutica e Espaço (NASA), agência espacial americana, o valor nutricional de um kg da alga equivale a 1.000 kg de frutas e vegetais, sendo utilizada como fonte alimentar em missões espaciais de longo prazo (CORNET; DUBERTRET, 1990).

No Brasil, a regulamentação para registro de novos alimentos foi aprovada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), no ano de 1999, através de Resoluções de Diretoria Colegiada (RDC) que ditam as diretrizes básicas para o registro de alimentos e/ou novos ingredientes (RDC nº16/99) (BRASIL, 1999a), bem como para avaliação do risco e segurança dos alimentos (RDC nº17/99) (BRASIL, 1999b). Em 2013, a alga foi classificada pela ANVISA como novo alimento e, em julho de 2017, elencada na lista de constituintes autorizados para a utilização como suplemento alimentar, apresentando segurança para uso comprovadas e citadas pela OMS (BRASIL, 2013; BRASIL, 2017a; OMS, 2017b).

A *Spirulina* foi recentemente discutida como uma suplementação eficiente para o controle de peso, sendo demonstrado por Zeinalian et al. (2017) que a suplementação por 12 semanas com a alga (1 g/dia) foi efetiva para reduzir o peso corporal e o IMC, e que, após três meses com a mesma suplementação, porém com a dose de 2g/dia em pacientes hipertensos e com sobrepeso resultaram na diminuição do peso, índice de massa corporal, IMC e da circunferência da cintura (MICZKE et al., 2016). Em outro estudo realizado durante seis meses de intervenção com a *Spirulina* de 6g/dia, foi relatada redução do peso em pacientes com doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) (SZULINKA et al., 2017).

Segundo Fujimoto et al. (2012), a *Spirulina* é eficaz na redução do peso corporal através da redução da infiltração de macrófagos na gordura visceral e na prevenção do acúmulo de lipídios no fígado e estresse oxidativo, além disso, a alga é rica em fenilalanina, um potente liberador de colecistocinina que afeta o centro de apetite do cérebro, que por sua vez age como um inibidor de peso corporal. É também demonstrado, que a propriedade antioxidante da alga é eficaz no tratamento da obesidade através de diferentes mecanismos, incluindo efeito inibitório da lipase, efeito supressor na ingestão alimentar, efeito inibitório na diferenciação de adipócitos, efeito estimulatório no gasto energético e efeito regulatório sobre o metabolismo lipídico (MAZOKOPAKIS et al., 2014; HASSAN; EL-GHARIB, 2015).

O potencial da *S. platensis* como suplemento alimentar foi comprovado experimentalmente pela recuperação nutricional de ratos desnutridos alimentados com dietas compostas com essa alga (ALVES; MELLO; VOLTARELLI, 2005), em virtude da variedade de nutrientes que a mesma contém (PHANG et al., 2000).

Além da importância nutricional, diferentes atividades biológicas e farmacológicas foram descritas em estudos pré-clínicos e clínicos para a *S. platensis* destacando: diminuição da concentração plasmática de triglicerídos e lipoproteínas de baixa densidade em pacientes com pacientes com síndrome nefrótica hiperlipidêmica (SAMUELS; MANI; NAYAK, 2002); preservação da microbiota intestinal saudável por favorecer o crescimento de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (KULSHRESHTHA et al., 2008); atividade antifúngica contra *Aspergillus orizae* (BIERHALS et al., 2009); atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* (PARISI et al., 2009); atividade antioxidante, atribuída a inibição da peroxidação lipídica promovida pela ficocianina (BASHANDY et al., 2016); atividade anti-inflamatória, por reduzir a expressão e secreção de citocinas pró

inflamatórias em macrófagos estimulados por lipopolissacarídio através da inibição da translocação nuclear do NF-κB (KU et al., 2013; PHAM; PARK; LEE, 2016); melhora da qualidade do esperma de ratos Wistar expostos cronicamente ao cloreto de mercúrio, através do aumento na contagem e na motilidade dos espermatozoides (EL-DESOKY et al., 2013).

Recentemente em nosso laboratório demonstramos que a suplementação alimentar com *S. platensis* promove diminuição da reatividade contrátil à FEN e aumento na atividade relaxante à ACh em aorta de ratos Wistar saudáveis, por modulação positiva da via do NO (BRITO, 2014), redução das reservas adiposas e restauração da reatividade contrátil intestinal em ratos Wistar alimentados com dieta hipercalórica (FERREIRA, 2017), bem como, efeito preventivo sobre o aumento da reatividade contrátil cavernosa, diminuição do número de ereções e aumento do tempo para início de uma ereção peniana em ratos Wistar alimentados com dieta hipercalórica durante 8 semanas (SOUZA, 2018).

Diante dessas premissas, evidencia-se um papel promissor para a *S. platensis* na melhora da reatividade muscular lisa vascular e intestinal, da disfunção endotelial e do estresse oxidativo. Entretanto, não há relatos da aplicabilidade da utilização da alga na melhora e na reversão dos danos promovidos pelo consumo de uma dieta hipercalórica sobre a função erétil, sendo assim, necessários estudos para elucidar o potencial efeito da *S. platensis* sobre a função sexual de ratos Wistar.

3 Objetivos

Avaliar o efeito da suplementação alimentar com *Spirulina platensis* na reversão dos danos causados pelo consumo da dieta hipercalórica, bem como, simular uma reeducação alimentar através da alteração dietética, da dieta hipercalórica (DHC) pela dieta padrão (DP), em corpo cavernoso de ratos Wistar, analisando:

- A função erétil, *in vivo*;
- A reatividade contrátil do corpo cavernoso;
- O envolvimento das vias do NO e da COX na resposta contrátil do corpo cavernoso;
- A reatividade relaxante do corpo cavernoso;
- O envolvimento do estresse oxidativo na resposta relaxante do corpo cavernoso;
- O balanço estresse oxidativo/defesas antioxidantes no corpo cavernoso.

4 Material e métodos

4.1. Material

4.1.1 Produto-teste

A *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*) foi adquirida do laboratório INFINITY Pharma (HONG KONG, China) na forma de pó (lote n° 17J11-B004-020541, Anexo 1). Uma amostra foi analisada e manipulada pela Farmácia de Manipulação Roval (João Pessoa, Paraíba, Brasil) (lote n° 20121025, Anexo 2).

4.1.2 Animais

Os ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), com aproximadamente oito semanas de idade, pesando entre 150-160 g, foram adquiridos do Biotério Prof. Thomas George do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPeFarM) da UFPB. Os animais tiveram acesso a água *ad libitum* e eram mantidos sob ventilação e temperatura (21 ± 1 °C) controladas e constantes, submetidos diariamente a um ciclo claro-escuro de 12 h, sendo o período claro das 6 às 18 h. A eutanásia dos ratos era realizada no período claro desse ciclo. Todos os procedimentos experimentais eram realizados seguindo os princípios de cuidados com animais *Guidelines for the ethical use of animals in applied etiology studies* (SHERWIN et al., 2003) e do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) (BRASIL, 2016), submetidos e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFPB, certidão 6061090318 (Anexos C e D). Foram utilizados 128 ratos Wistar para a realização dos procedimentos experimentais.

4.1.3 Dietas experimentais

Era utilizada uma dieta padrão do tipo *pellets* (Presence®) contendo 23% de proteína, 63% de carboidrato e 4% de lipídio com valor energético total (VET) de 318,0 kcal/100 g ou uma dieta hipercalórica composta por uma mistura de ração padrão tipo *pellets* (Presence®), chocolate ao leite, amendoim *in natura* torrado e biscoito de maizena na proporção de 3:2:2:1, com VET de 417,0 kcal/100 g. Para o preparo da dieta hipercalórica, a ração, o amendoim e o biscoito eram moídos e misturados, e o chocolate era derretido em banho-maria e adicionado à mistura para a formação de

material homogêneo que era moldado e, em seguida, secado em estufa (70 °C) por 24 h (Figura 8) e armazenado a temperatura ambiente. A dieta era preparada semanalmente e ofertada aos ratos na forma de *pellets* (ESTADELLA et al., 2004).

Figura 8 - Ingredientes utilizados no preparo da dieta hipercalórica na sua forma *in natura* (**A**), triturada (**B**) e homogênea, moldada e cortada antes e após a secagem em estufa (**C**).



Fonte: SOUZA et al., 2016.

A análise da composição nutricional das dietas padrão e hipercalórica (LATIMER, 2012) foi realizada no Laboratório de Bioquímica e Microbiologia de Alimentos do Departamento de Nutrição da UFPB (Tabela 1) sob supervisão da Profa. Dra. Leylliane de Fátima Leal Interaminense de Andrade (SOUZA et al., 2017).

Tabela 1 – Composição centesimal de macronutrientes das dietas experimentais.

Parâmetros	Dieta padrão (DP)	Dieta hipercalórica (DHC)
Carboidratos (%)	63	46
Proteínas (%)	23	23
Lipídios (%)	4	16
VET (kcal/100 g)	318,0	417,0

Fonte: SOUZA et al., 2017. VET = valor energético total.

4.1.4 Substâncias e reagentes

O cloreto de cálcio di-hidratado ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), o sulfato de magnésio hepta-hidratado ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) e a glicose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) foram adquiridos da Vetec (Brasil). O bicarbonato de sódio (NaHCO_3) foi adquirido da Fmaia (Brasil). O cloreto de sódio (NaCl) e o cloreto de potássio (KCl) foram adquiridos da Química Moderna (Brasil). O fosfato de potássio monobásico (KH_2PO_4), o fosfato de sódio monobásico (NaH_2PO_4), o hidróxido de sódio (NaOH) e o ácido clorídrico (HCl) foram adquiridos da Nuclear (Brasil). Estas substâncias, exceto a glicose, o bicarbonato de sódio e o cloreto de sódio eram dissolvidas e diluídas em água destilada para obtenção de cada solução - estoque que era mantida sob refrigeração

A fenilefrina (FEN) foi adquirida da Pfizer (EUA). A ACh, o nitroprussiato de sódio (NPS), a *R*-(-)-apomorfina, o *N*_ω-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME), a indometacina, o tempol, a apocinina, o ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), o MDA, o 1,1-difenil-2-picril hidrazil (DPPH) foram adquiridos da Sigma Aldrich (Brasil). As substâncias utilizadas nos experimentos funcionais eram dissolvidas e diluídas em água destilada, exceto a indometacina e a apocinina que eram dissolvidos em álcool absoluto (96 °GL) para obtenção de cada solução-estoque, as quais eram mantidas a 4 ou -20 °C.

A mistura carbogênica (95% de O_2 e 5% de CO_2) foi adquirida da White Martins (Brasil).

4.1.5 Solução nutritiva

A solução nutritiva utilizada nos experimentos funcionais era gaseificada com carbogênio, ajustada ao pH 7,4 com HCl ou NaOH 1 N e mantida a 37 °C, sua composição está discriminada a seguir:

Krebs com composição (mM) (CLAUDINO et al., 2004): NaCl 118,4; KCl 4,7; MgSO₄ 1,2; KH₂PO₄ 1,17; CaCl₂ 2,5; Glicose 5,6; NaHCO₃ 25,0

4.1.6 Equipamentos

A pesagem das substâncias era realizada em balança analítica modelo AY220, enquanto os ratos eram pesados em balança semianalítica modelo BK2000. O pH das soluções era aferido em pHmetro digital PG2000. Todos estes equipamentos foram adquiridos da Gehaka (Brasil).

Para o registro das contrações isométricas, os órgãos eram suspensos em cubas de banho para órgãos isolados (6 mL), modelo BOI-04, e conectados a transdutores de força isométricos, modelo TIM 05, acoplados a um amplificador modelo AECAD04F. Este, por sua vez, estava conectado a um sistema de aquisição digital com o software AQCAD versão 2.5.0 para aquisição dos dados e ANCAD para análise. O sistema continha uma bomba termostática modelo BT 60 que controlava a temperatura das cubas. Todos os aparelhos foram adquiridos junto a AVS Projetos (São Paulo, Brasil).

Para registros dos vídeos eram utilizadas câmeras digitais dos modelos Samsung Es60 12.2 Mega Pixels 3x Zoom A0342 e Sony Cyber Shot Dsc W690 16.1 Mp.

As amostras utilizadas foram centrifugadas em aparelho refrigerado, modelo VS-15000 CFN II (VISION, Coreia do Sul) e centrífuga de bancada, modelo NI 1811-A (NOVA instruments, SP, Brasil).

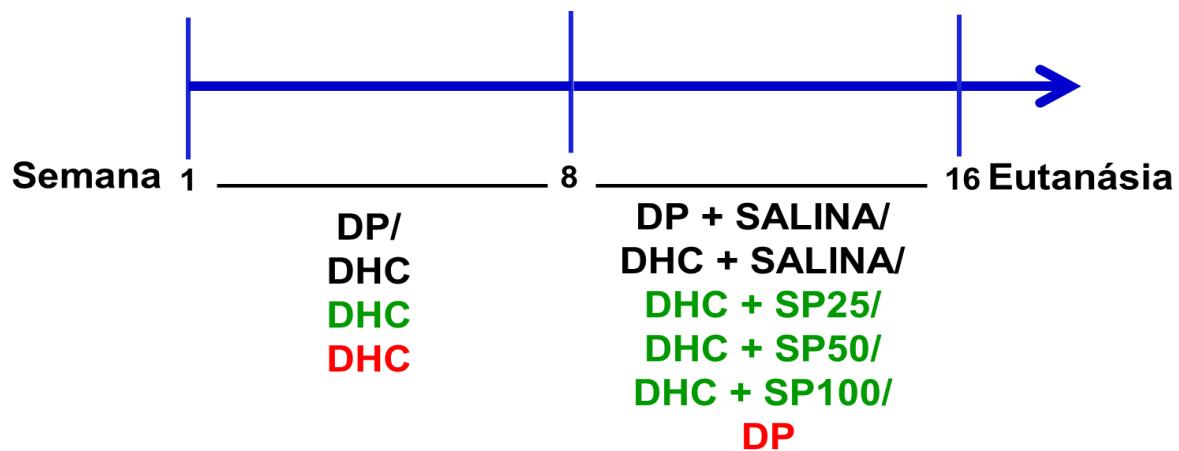
A leitura das absorbâncias para dosagem de MDA e o teste da capacidade antioxidante total (CAT) foi realizada no espectrofotômetro modelo SP-22 da Biospectro (Paraná, Brasil).

4.2 Métodos

4.2.1 Grupos experimentais

Os ratos foram divididos randomicamente em seis grupos experimentais: grupos alimentados com dieta padrão que recebiam solução salina (NaCl 0,9%) (DP) e grupos alimentados com dieta hipercalórica que recebiam solução salina (NaCl 0,9%) (DHC), durante as 8 semanas iniciais, por conseguinte, durante as 8 semanas finais, os animais do grupo DHC foram suplementados com *S. platensis* nas doses de 25 (DHC + SP25), 50 (DHC + SP50) e 100 mg/kg (DHC + SP100) ou a dieta hipercalórica era substituída pela dieta padrão (DHC + DP), (Figura 9). Os grupos experimentais foram alimentados por um período total de 16 semanas (EL-DESOKY et al., 2013; FERREIRA, 2017) e foram alocados 2 ratos em cada gaiola de polipropileno, em função da disponibilidade da Unidade de Produção Animal - UPA.

Figura 9 – Protocolo do desenho experimental.



Fonte: DINIZ, 2019.

Os resultados eram avaliados ao se comparar os dados obtidos com os ratos do grupo DP com aqueles obtidos pelos ratos dos grupos DHC + SP25, DHC + SP50, DHC + SP100 e DHC + DP.

4.2.2 Preparo e administração da *S. platensis*

O pó de *S. platensis* era diariamente dissolvido em solução salina (NaCl 0,9%) para o preparo das doses utilizadas no estudo, que eram administradas aos ratos ao fim da preparação. As suplementações eram realizadas por um período de oito semanas para todas as doses (25, 50 e 100 mg/kg/dia) (adaptado de JUÁREZ-OROPEZA et al., 2009; EI-DESOKY et al., 2013; FERREIRA, 2017; SOUZA, 2018).

As administrações eram realizadas por via oral no período das 12 às 14 h com o auxílio de agulhas de aço inoxidável para gavagem (BD-12, Insight, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil) e seringas descartáveis de 10 mL com precisão de 0,2 mL (BD, Higilab, João Pessoa, Paraíba, Brasil).

4.2.3 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre parâmetros bioquímicos

Em alguns ratos, para obtenção do plasma, cerca de 5 a 10 mL de sangue eram coletados através de punção cardíaca, em tubos de ensaio contendo anticoagulante (EDTA) e levados à centrifugação a 1.198 x g durante 10 minutos. O sobrenadante era então transferido para tubos Eppendorf® e armazenado a -20 °C até as análises (OKAFOR et al., 2011).

As análises de glicose, triglicerídos, colesterol total e fração de lipoproteína de alta densidade (HDL-c) foram realizadas através de *kits* comerciais específicos Labtest® (Minas Gerais, Brasil), de acordo com as instruções do fabricante, em um analisador bioquímico automático Labmax 240 (Minas Gerais, Brasil). Os valores de fração de lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) foram estimados pela equação de Friedewald, Levy e Fredrickson (1972): [LDL-c = (colesterol total – HDL-c) – (triglicerídos/5)].

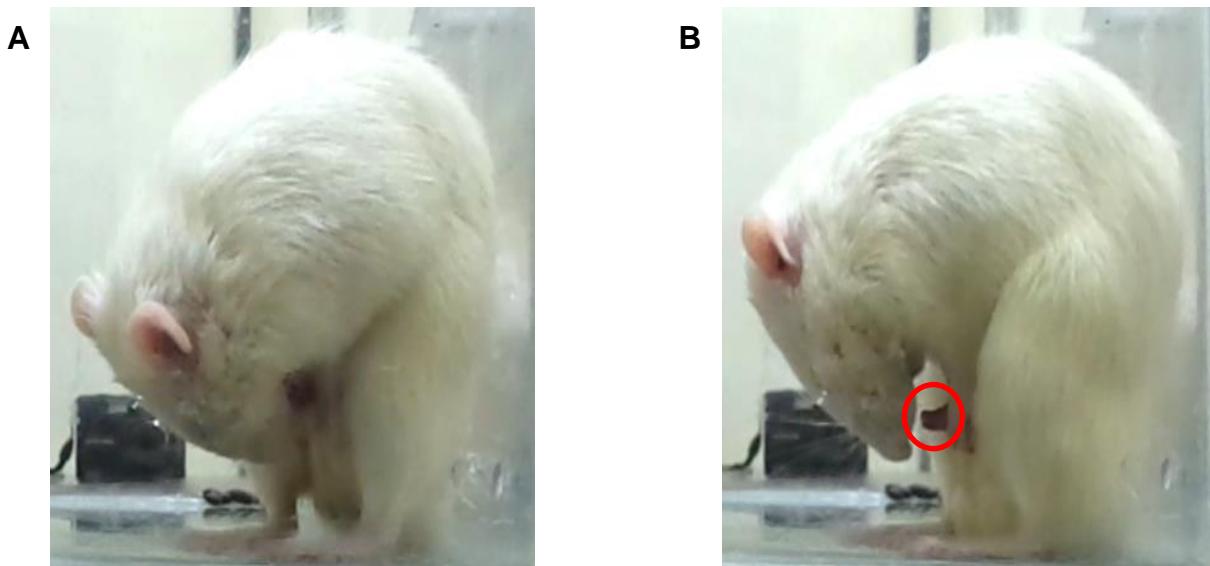
A análise bioquímica (LATIMER, 2012) foi realizada no Laboratório de Estudos do Treinamento Físico Aplicado ao Desempenho e Saúde do Departamento de Educação Física da UFPB, sob supervisão do Prof. Dr. Alexandre Sérgio Silva.

4.2.4 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre a ereção peniana induzida pela *R*-(*-*)-apomorfina

Os ratos eram colocados individualmente em uma caixa de vidro, ambientados nesse local por 30 minutos, em seguida, recebiam uma injeção subcutânea, na região dorsal, de *R*-(*-*)-apomorfina (80 µg/kg) preparada em solução salina. Posteriormente, os ratos eram filmados por 30 minutos com o auxílio de duas câmeras digitais.

Através das imagens eram avaliados o tempo de latência para a ereção e o número das ereções obtidas por cada animal. Eram consideradas ereções somente os eventos nos quais era possível observar o pênis do animal ereto, acompanhado de lordose, na qual o animal se apoia nas patas traseiras, inclinando o corpo em direção à área genital, segurando o pênis com as patas dianteiras e fazendo a lambedura do mesmo por um tempo superior a 5 segundos (Figura 10). Eventos em que não era observada a ereção, porém os outros comportamentos ocorreram, como bocejos e lambeduras excessivas das patas e do abdômen, eram caracterizados como lambeduras (RAMPIN; JEROME; SUAUDEAU, 2003; HANNAN et al., 2006).

Figura 10 – Fotos demonstrando o evento de lordose, onde o rato se apoia nas patas traseiras, inclinando o corpo em direção à área genital (**A**); o evento de ereção peniana do rato (**B**).



Fonte: DINIZ, 2019.

4.2.5 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre a reatividade contrátil e relaxante do corpo cavernoso isolado de rato

4.2.5.1 Obtenção e preparo do corpo cavernoso

Vinte e quatro horas após a última exposição da dieta e das suplementações, os ratos eram eutanasiados por guilhotina. O pênis do animal era isolado próximo a sua fixação ao osso ísquio e, removia-se a veia dorsal peniana e a uretra. Em seguida, os corpos cavernosos eram separados em dois segmentos de aproximadamente 1 cm. Após a separação, os órgãos eram suspensos verticalmente através de duas hastes metálicas de aço inoxidável em cubas de banho para órgãos isolados (6 mL) contendo solução de Krebs gaseificada com carbogênio a 37 °C. A haste superior era conectada ao transdutor de força isométrico, com tensão de repouso equivalente a 0,5 g (CLAUDINO et al., 2004). A preparação era mantida em repouso por um período de 60 min para estabilização, com renovação da solução nutritiva a cada 15 minutos, para evitar a influência de metabólitos liberados pelo órgão ao meio (CLAUDINO et al., 2004; FERMINO et al., 2009).

4.2.5.2 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre a reatividade contrátil do corpo cavernoso isolado de rato

4.2.5.2.1 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação com *S. platensis* sobre a curva cumulativa de FEN

O corpo cavernoso era montado como descrito no item 4.2.5.1. Após o período de estabilização eram obtidas curvas concentrações-resposta cumulativas à FEN (10^{-8} - 3×10^{-3} M) (CLAUDINO et al., 2004; FERMINO et al., 2009). A reatividade contrátil era calculada com base na amplitude máxima da resposta do corpo cavernoso de rato do grupo DP. As comparações eram realizadas entre DP, DHC, DHC + SP25, DHC + SP50, DHC + SP100 e DHC + DP, baseado nos valores de efeito máximo (E_{max}) e do logaritmo negativo na base 10 da concentração de FEN que produziu 50% do seu

E_{max} (pCE₅₀), calculados a partir das curvas cumulativas concentrações-resposta obtidas.

4.2.5.2.2 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação com *S. platensis* sobre a curva cumulativa de FEN na ausência e na presença de L-NAME ou de indometacina

O corpo cavernoso era preparado conforme o item 4.2.5.1. Após o período de estabilização era incubado, por 30 minutos, o L-NAME (10^{-4} M), um inibidor não seletivo da NOS (VIGNOZZI et al., 2006), e a indometacina (10^{-5} M), bloqueadora não seletiva da COX (CARTLEDGE; EARDLEY; MORRISON, 2000), em preparações distintas e, em seguida, eram obtidas curvas concentrações-resposta cumulativas à FEN (10^{-8} - 3×10^{-3} M).

A resposta contrátil do corpo cavernoso na presença dos inibidores era calculada com base na amplitude média da curva obtida no grupo DP. A reatividade contrátil era avaliada tendo como base os valores de E_{max} e de pCE₅₀ da FEN, na ausência e na presença isolada de L-NAME e de indometacina, e o efeito dos inibidores sobre a curva cumulativa concentrações-resposta à FEN era comparada entre DP, DHC, DHC + SP50, DHC + SP100 e DHC + DP.

4.2.5.3 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre a reatividade relaxante do corpo cavernoso isolado de rato

4.2.5.3.1 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação com *S. platensis* sobre a curva cumulativa de ACh

O corpo cavernoso era preparado como descrito no item 4.2.5.1. Após o período de estabilização era induzida uma contração com FEN (10^{-5} M) e, após a formação do componente tônico, a ACh (10^{-11} - 3×10^{-4} M) era adicionada à cuba de maneira cumulativa, em preparações distintas (CLAUDINO et al., 2004; FERMINO et al., 2009).

A resposta relaxante era expressa como a percentagem reversa da contração inicial produzida pela FEN. As comparações eram realizadas entre DP, DHC,

DHC + SP25, DHC + SP50, DHC + SP100 e DHC + DP com base nos valores de E_{max} e de pCE_{50} dos agentes relaxantes, calculados a partir das curvas concentrações-resposta cumulativas obtidas.

4.2.5.3.2 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação com *S. platensis* sobre a curva cumulativa de ACh na ausência e na presença de tempol ou de apocinina

O corpo cavernoso era montado conforme o item 4.2.5.1. Após o período de estabilização era incubada, por 30 minutos, a apocinina (10^{-4} M), inibidora da NADPH oxidase (CÔCO et al., 2016) ou o tempol (10^{-3} M), um mimético da SOD (PEIXOTO et al., 2009), em preparações distintas e, em seguida, era induzida uma contração com FEN (10^{-5} M) e após a formação do componente tônico, a ACh ($10^{-11}\text{-}3 \times 10^{-4}$ M) era adicionada à cuba de maneira cumulativa.

A resposta relaxante do corpo cavernoso à ACh na presença da apocinina ou do tempol era calculada com base na amplitude máxima da contração, e a reatividade relaxante era avaliada de acordo com os valores de E_{max} e de pCE_{50} da ACh, na ausência e na presença dos inibidores, e comparada entre DP, DHC e DHC + SP50.

4.2.6 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre o estresse oxidativo

4.2.6.1 Obtenção do homogenato do corpo cavernoso isolado de rato

Após a eutanásia dos ratos, o corpo cavernoso era isolado e congelado a -20°C até o preparo do homogenato. Nesse procedimento, o órgão era pesado, macerado e homogeneizado com solução de KCl 10% na proporção de 1:1. Posteriormente, as amostras eram centrifugadas a $1.198 \times g$ durante 10 minutos e o sobrenadante obtido era separado para análise.

4.2.6.2 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre os níveis de MDA no corpo cavernoso isolado de rato

A medida da produção de MDA, produto da peroxidação lipídica da membrana plasmática, foi realizada seguindo a metodologia descrita por Ohkawa; Ohishi; Yagi (1979). Após a obtenção dos homogenatos do órgão, alíquotas de 250 µL eram incubadas a 37 °C em banho-maria por 60 minutos. Em seguida, as amostras eram precipitadas com 400 µL de ácido perclórico 35% e centrifugadas a 16.851 x g por 20 minutos a 4 °C. O sobrenadante era transferido para tubos Eppendorf® e, logo, 400 µL de ácido tiobarbitúrico 0,6% eram adicionados às amostras e incubadas à temperatura de 95-100 °C por 1 h. Após esse período, as amostras resfriadas eram lidas em espectrofotômetro a 532 nm. A determinação dos níveis de MDA nas amostras era realizada substituindo os valores de absorbância na curva-padrão de MDA obtida para a solução padrão (1 µL de 1,1,3,3-tetrametoxipropano em 70 mL de água destilada, diluída em séries de 250, 500, 750, 1000, 1250, 1500, 1750, 2000, 2250, 2500, 2750 e 3000 µL de água destilada) (DRAPER et al., 1993).

A análise de MDA foi realizada no Laboratório de Estudos do Treinamento Físico Aplicado ao Desempenho e Saúde do Departamento de Educação Física da UFPB, sob supervisão do Prof. Dr. Alexandre Sérgio Silva.

4.2.6.3 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre a capacidade antioxidante total do corpo cavernoso isolado de rato

A quantificação da capacidade antioxidante total foi baseada no método de DPPH descrito por Brand-Williams; Cuvelier; Berset (1995). Em tubos apropriados para centrífuga e protegidos da luz eram adicionados 50 µL do homogenato do órgão e 2 mL da solução de DPPH dissolvido em etanol absoluto (0,012 g/L); logo, os tubos eram agitados em vórtex por 10 segundos e, então, mantidos em repouso por 30 minutos. Em seguida, as amostras eram centrifugadas a 7.489 x g por 15 minutos a 20 °C. O sobrenadante era lido em espectrofotômetro a 515 nm. Os resultados eram expressos como percentual de capacidade antioxidante total, calculados através da equação: $CAT = 100 - ([DPPH \cdot R] \times T) / ([DPPH \cdot R] \times B) \times 100$; sendo $[DPPH \cdot R] \times T$ e $[DPPH \cdot R] \times B$ correspondentes à concentração de DPPH remanescente após 30 minutos, avaliados na amostra (T) e no branco (B) preparado com água destilada.

A análise da capacidade antioxidante total foi realizada no Laboratório de Estudos do Treinamento Físico Aplicado ao Desempenho e Saúde do Departamento de Educação Física da UFPB, sob supervisão do Prof. Dr. Alexandre Sérgio Silva.

4.2.7 Análise estatística

Os resultados foram expressos como a média e o erro padrão da média (e.p.m.), a normalidade da variância foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk, e foram analisados estatisticamente empregando-se o teste *t* (não pareado), para comparação entre dois grupos experimentais, a análise de variância (ANOVA) *one-way* seguido do pós-teste de Tukey, para comparação múltipla entre os grupos experimentais. A hipótese nula foi rejeitada quando os valores de $p < 0,05$.

Como parâmetro de potência foi utilizado o pCE₅₀, calculado por regressão não linear, e como parâmetro de eficácia o E_{max} (NEUBIG et al., 2003). Os dados foram analisados pelo programa GraphPad Prism® versão 5.01 (GraphPad Software Inc., San Diego CA, U.S.A.).

5 Resultados

5.1 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre parâmetros bioquímicos

Não foram observadas diferenças nos parâmetros bioquímicos (glicose, colesterol total, HDL-c e LDL-c) dos ratos que consumiram dieta hipercalórica em relação aos que consumiram a dieta padrão (Tabela 2, n = 5).

Nos ratos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* nas doses de 50 ($39,3 \pm 2,3$ mg/dL) e 100 mg/kg ($38,5 \pm 1,8$ mg/dL) foi observado uma redução nos níveis de triglicerídos quando comparados ao grupo DHC ($76,00 \pm 9,8$ mg/dL) (Tabela 2, n = 5).

Tabela 2 – Parâmetros bioquímicos nos ratos dos grupos DP, DHC, DHC + SP25, DHC + SP50, DHC + SP100 e DHC + DP.

Grupos	Glicose (mg/dL)	Triglicerídio (mg/dL)	Colesterol total (mg/dL)	HDL-c (mg/dL)	LDL-c (mg/dL)
DP	87,7 ± 2,5	54,7 ± 9,0	40,8 ± 2,4	16,3 ± 2,4	13,6 ± 2,3
DHC	86,2 ± 3,7	76,0 ± 9,8	51,5 ± 1,1	15,8 ± 1,9	20,5 ± 4,7
DHC + SP25	91,8 ± 3,5	48,0 ± 5,2	42,0 ± 4,3	17,2 ± 1,6	15,4 ± 3,4
DHC + SP50	91,7 ± 3,5	39,3 ± 2,3 [#]	43,3 ± 6,2	15,0 ± 2,3	20,3 ± 6,2
DHC + SP100	90,3 ± 3,9	38,5 ± 1,8 [#]	40,5 ± 3,6	11,5 ± 0,6	21,4 ± 3,9
DHC + DP	86,2 ± 3,7	56,8 ± 8,2	43,5 ± 2,3	13,5 ± 0,8	18,6 ± 2,4

ANOVA one-way seguida do pós-teste de Tukey, [#] $p < 0,05$ (DHC vs. DHC + SP50 ou DHC + SP100), (n = 5). DP = grupo alimentado com dieta padrão; DHC = grupo alimentado com dieta hipercalórica; DHC + SP25, DHC + SP50 e DHC + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; DHC + DP = grupo alimentado com dieta hipercalórica e posteriormente com dieta padrão; HDL-c = fração de lipoproteína de alta densidade; LDL-c = fração de lipoproteína de baixa densidade.

Fonte: DINIZ, 2019.

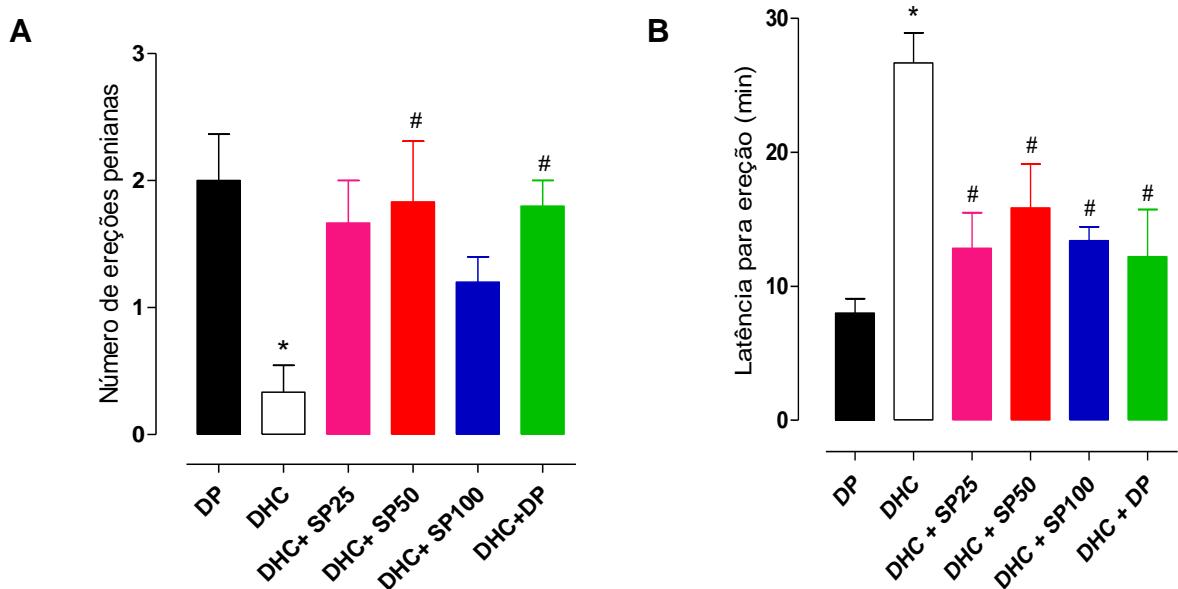
5.2 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre a ereção peniana induzida pela *R*-(*-*)-apomorfina

No grupo alimentado com dieta hipercalórica ($0,3 \pm 0,2$) foi observado que o número de ereções penianas foi inferior ao grupo alimentado com a dieta padrão ($2,0 \pm 0,4$) (Gráfico 1A, $n = 5$).

Quando os ratos consumiram a dieta hipercalórica e foram suplementados com *S. platensis* nas doses de 25 ($1,7 \pm 0,3$) e 100 mg/kg ($1,2 \pm 0,2$) não foi observada diferença quando comparados ao grupo DHC, porém, os grupos DHC + SP50 ($1,8 \pm 0,5$) e DHC + DP ($1,8 \pm 0,2$) apresentaram aumento no número de ereções penianas quando comparados ao grupo alimentado com a dieta hipercalórica ($0,3 \pm 0,2$) (Gráfico 1A, $n = 5$).

A latência para obter a ereção peniana no grupo DHC ($26,7 \pm 2,2$ min) foi superior ao grupo DP ($8,0 \pm 1,0$ min). Nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica, foi observado que esse parâmetro foi reduzido pela suplementação nas doses de 25 ($12,8 \pm 2,6$ min), 50 ($15,3 \pm 3,3$ min) e 100 mg/kg da alga ($13,4 \pm 1,0$ min), bem como no grupo DHC + DP ($12,2 \pm 3,5$ min), em relação ao grupo DHC (Gráfico 1B, $n = 5$).

Gráfico 1 – Número de ereções penianas (A) e latência para a ereção peniana (B) dos ratos dos grupos DP, DHC + SP25, DHC + SP50, DHC + SP100 e DHC + DP.



As colunas e as barras verticais representam a média e o e.p.m., respectivamente ($n = 5$). ANOVA one-way seguido do pós-teste de Tukey. * $p < 0,05$ (DP vs. DHC) e # $p < 0,05$ (DHC vs. DHC + SP25, DHC + SP50, DHC + SP100 e DHC + DP). DP = grupo alimentado com dieta padrão; DHC = grupo alimentado com dieta hipercalórica; DHC + SP25, DHC + SP50 e DHC + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* nas doses de 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; DHC + DP = grupo alimentado com dieta hipercalórica e posteriormente com dieta padrão.

Fonte: DINIZ, 2019.

5.3 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre a reatividade contrátil do corpo cavernoso isolado de rato

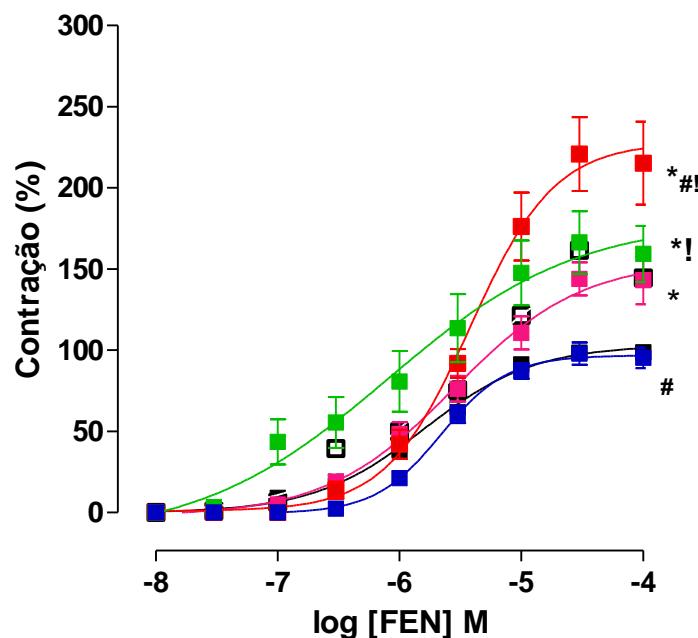
5.3.1 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação com *S. platensis* sobre a reatividade contrátil a FEN

No grupo que consumiu a dieta hipercalórica foi observado um aumento do E_{max} da FEN quando comparado ao grupo DP ($E_{max} = 161,5 \pm 11,2$ e 100%, respectivamente). Entretanto, não houve alteração da potência desse agente contrátil quando comparados os grupos DP ($pCE_{50} = 5,8 \pm 0,04$) e DHC ($pCE_{50} = 5,6 \pm 0,1$) (Gráfico 2 e Tabela 3, $n = 5$).

Nos ratos alimentados com dieta hipercalórica ($E_{max} = 161,5 \pm 9,3\%$; $pCE_{50} = 5,8 \pm 0,2$), a suplementação com *S. platensis* na dose de 25 mg/kg ($E_{max} = 147,3 \pm 13,4\%$; $pCE_{50} = 5,4 \pm 0,1$) não alterou a reatividade contrátil do corpo cavernoso de rato frente à FEN. No entanto, a suplementação dos ratos na dose de 50 mg/kg ($E_{max} = 224,2 \pm 22,2\%$; $pCE_{50} = 5,6 \pm 0,1$) aumentou a eficácia contrátil desse agonista quando comparado aos grupos DP, DHC e DHC + SP25, sem alteração da potência contrátil. Por outro lado, no grupo suplementado com a alga na dose de 100 mg/kg foi observada redução de eficácia contrátil à FEN ($E_{max} = 98,0 \pm 6,8\%$; $pCE_{50} = 5,6 \pm 0,04$) em relação ao grupo DHC ($E_{max} = 161,5 \pm 9,3\%$; $pCE_{50} = 5,8 \pm 0,2$), sem alteração da potência (Gráfico 2 e Tabela 3, $n = 5$).

No grupo que consumiu dieta hipercalórica posteriormente era alimentado com dieta padrão ($E_{max} = 166,4 \pm 19,3\%$) a eficácia contrátil à FEN foi aumentada quando comparada ao grupo DP ($E_{max} = 100\%$) ou ao grupo DHC + SP25 ($E_{max} = 147,3 \pm 13,4\%$) (Gráfico 2 e Tabela 3, $n = 5$).

Gráfico 2 – Curvas concentrações-resposta cumulativas à FEN dos grupos DP (■), DHC (□), DHC + SP25 (■), DHC + SP50 (■), DHC + SP100 (■) e DHC + DP (■) em corpo cavernoso isolado de rato.



Os símbolos e as barras verticais representam a média e o e.p.m., respectivamente ($n = 5$). ANOVA one-way seguido do pós-teste de Tukey. $*p < 0,05$ (DP vs. DHC, DHC + SP50 ou DHC + DP), $^{\#}p < 0,05$ (DHC vs. DHC + SP25, DHC + SP50, DHC + SP100 ou DHC + DP), $^{\prime}p < 0,05$ (DHC + SP25 vs. DHC + SP50 ou DHC + DP) e $^{\&}p < 0,05$ (DHC + SP100 vs. DHC + DP). FEN = fenilefrina; DP = grupo alimentado com dieta padrão; DHC = grupo alimentado com dieta hipercalórica; DHC + SP25, DHC + SP50 e DHC + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; DHC + DP = grupo alimentado com dieta hipercalórica e posteriormente com dieta padrão.

Fonte: DINIZ, 2019.

Tabela 3 – Valores de E_{\max} e de pCE_{50} da FEN nos grupos DP, DHC, DHC + SP25, DHC + SP50, DHC + SP100 e DHC + DP em corpo cavernoso isolado de rato.

Grupos	E_{\max} (%)	pCE_{50}
DP	100	$5,8 \pm 0,04$
DHC	$161,5 \pm 9,3^*$	$5,8 \pm 0,2$
DHC + SP25	$147,3 \pm 13,4$	$5,6 \pm 0,1$
DHC + SP50	$224,2 \pm 22,2^{*#!}$	$5,4 \pm 0,1$
DHC + SP100	$98,0 \pm 6,8^{\#}$	$5,6 \pm 0,04$
DHC + DP	$166,4 \pm 19,3^{*!}$	$5,6 \pm 0,1^{\&}$

ANOVA one-way seguido do pós-teste de Tukey. $*p < 0,05$ (DP vs. DHC, DHC + SP50 ou DHC + DP), $^{#}p < 0,05$ (DHC vs. DHC + SP50 ou DHC + SP100), $^{!}p < 0,05$ (DHC + SP25 vs. DHC + SP50 ou DHC + DP) e $^{\&}p < 0,05$ (DHC + SP100 vs. DHC + DP) ($n = 5$). FEN = fenilefrina; DP = grupo alimentado com dieta padrão; DHC = grupo alimentado com dieta hipercalórica; DHC + SP25, DHC + SP50 e DHC + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; DHC + DP = grupo alimentado com dieta hipercalórica e posteriormente com dieta padrão.

Fonte: DINIZ, 2019.

5.3.1.2 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação com *S. platensis* sobre a curva cumulativa de FEN na ausência e na presença de L- NAME ou de indometacina

Nos ratos que consumiram apenas dieta padrão, observou-se aumento do efeito máximo ($E_{max} = 153,8 \pm 17,9\%$; $pCE_{50} = 5,5 \pm 0,04$) à FEN na presença da L-NAME, um inibidor não seletivo de NOS, bem como da potência contrátil desse agonista quando comparada ao grupo DP na ausência desse inibidor ($E_{max} = 100\%$; $pCE_{50} = 5,8 \pm 0,04$) (Gráfico 3A e Tabela 4, $n = 5$).

Nas contrações induzidas pela FEN na presença de indometacina, um bloqueador não seletivo de COX, no grupo DP, observou-se que não houve alteração da curva na presença desse inibidor ($E_{max} = 90,5 \pm 2,6\%$; $pCE_{50} = 5,6 \pm 0,05$) quando comparado à sua ausência ($E_{max} = 100\%$; $pCE_{50} = 5,8 \pm 0,04$) (Gráfico 3A e Tabela 4, $n = 5$).

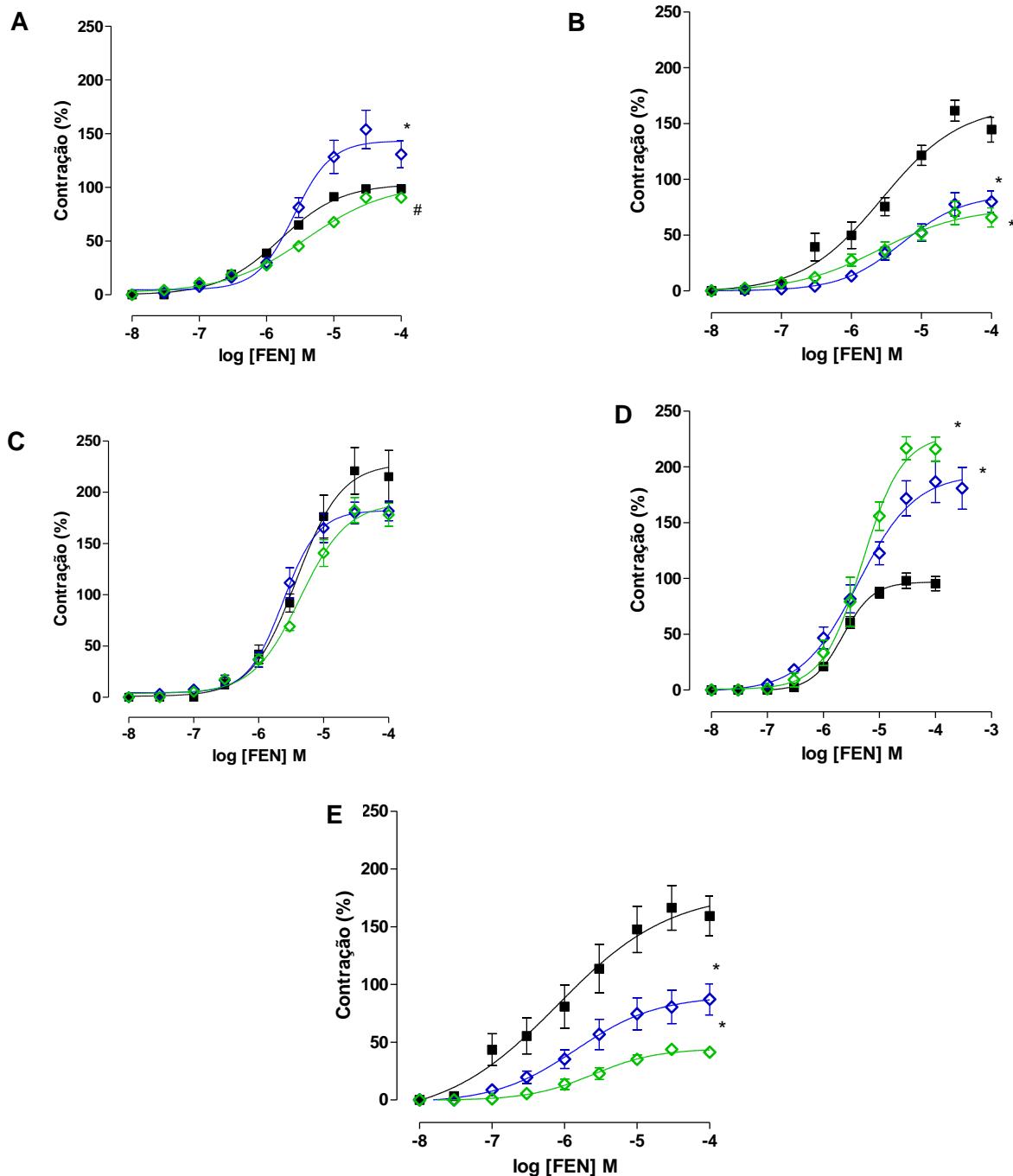
Ao analisar a curva de FEN na presença de L-NAME nos ratos que consumiram apenas dieta hipercalórica, observou-se redução de duas vezes na eficácia contrátil ($E_{max} = 80,0 \pm 9,5\%$) quando comparado à ausência desse inibidor ($E_{max} = 161,5 \pm 9,3\%$). Porém, não foi observado alterações na potência contrátil da FEN na ausência ou na presença desse inibidor ($pCE_{50} = 5,6 \pm 0,2$ e $5,4 \pm 0,08$, respectivamente) (Gráfico 3B e Tabela 4, $n = 5$).

Nos ratos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* na dose 50 mg/kg tanto a eficácia como a potência contrátil da FEN não foram alteradas na presença de L-NAME ($E_{max} = 179,8 \pm 10,4\%$; $pCE_{50} = 5,6 \pm 0,08$) e de indometacina ($E_{max} = 183,3 \pm 12,0\%$; $pCE_{50} = 5,5 \pm 0,08$), quando comparados à ausência desses inibidores ($E_{max} = 224,2 \pm 22,2\%$; $pCE_{50} = 5,4 \pm 0,07$) (Gráfico 3C e Tabela 4, $n = 5$).

Foi observado que a eficácia contrátil da FEN na presença de L-NAME ($E_{max} = 186,7 \pm 18,6\%$; $pCE_{50} = 5,4 \pm 0,1$) foi aumentada duas vezes nos ratos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com 100 mg/kg de *S. platensis*. Similarmente, a eficácia contrátil desse agonista também foi aumentada na presença de indometacina ($E_{max} = 216,7 \pm 10,3\%$; $pCE_{50} = 5,4 \pm 0,1$) quando comparados à curva na ausência desses inibidores ($E_{max} = 98,0 \pm 6,8\%$; $pCE_{50} = 5,6 \pm 0,04$) (Gráfico 3D e Tabela 4, $n = 5$).

Nos ratos alimentados com dieta hipercalórica e posteriormente com dieta padrão, a curva concentrações-resposta à FEN na presença de L-NAME ($E_{max} = 80,5 \pm 14,4\%$; $pCE_{50} = 5,9 \pm 0,1$) reduziu duas vezes a eficácia contrátil sem alteração da potência desse agonista, bem como foi reduzida 3,8 vezes a eficácia contrátil da FEN na presença de indometacina ($E_{max} = 43,8 \pm 3,1\%$; $pCE_{50} = 5,7 \pm 0,1$) quando comparados a ausência desses inibidores ($E_{max} = 166,4 \pm 19,3\%$; $pCE_{50} = 6,0 \pm 0,1$) (Gráfico 3E e Tabela 4, $n = 5$).

Gráfico 3 – Curvas concentrações-resposta cumulativas à FEN na ausência (■) e na presença de L-NAME (◇) e de indometacina (◇) em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos DP (A), DHC (B), DHC + SP50 (C), DHC + SP100 (D) e DHC + DP (E).



Os símbolos e as barras verticais representam a média e o e.p.m., respectivamente ($n = 5$). ANOVA one-way seguido do pós-teste de Tukey. $*p < 0,05$ (ausência vs. L-NAME e indometacina) e $^{#}p < 0,05$ (L-NAME vs. indometacina). FEN = fenilefrina; L-NAME = N_{ω} -nitro-L-arginina metil éster; DP = grupo alimentado com dieta padrão; DHC = grupo alimentado com dieta hipercalórica; DHC + SP50 e DHC + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 50 e 100 mg/kg, respectivamente; DHC + DP = grupo alimentado com dieta hipercalórica e posteriormente com dieta padrão.

Fonte: DINIZ, 2019.

Tabela 4 – Valores de E_{max} e de pCE_{50} da FEN na ausência e na presença de L-NAME e de indometacina em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos DP, DHC, DHC + SP50, DHC + SP100 e DHC + DP.

FEN	E_{max} (%)	pCE_{50}
DP		
Ausência	100	$5,8 \pm 0,04$
L-NAME	$153,8 \pm 17,9\%^*$	$5,5 \pm 0,04^*$
Indometacina	$90,5 \pm 2,6\#$	$5,6 \pm 0,05^*$
DHC		
Ausência	$161,55 \pm 9,3$	$5,6 \pm 0,2$
L-NAME	$80,0 \pm 9,5^*$	$5,4 \pm 0,08$
Indometacina	$70,8 \pm 10,1^*$	$5,7 \pm 0,1$
DHC + SP50		
Ausência	$224,2 \pm 22,2$	$5,4 \pm 0,07$
L-NAME	$179,8 \pm 10,4$	$5,6 \pm 0,08$
Indometacina	$183,3 \pm 12,0$	$5,5 \pm 0,08$
DHC + SP100		
Ausência	$98,0 \pm 6,8$	$5,6 \pm 0,04$
L-NAME	$186,7 \pm 18,6^*$	$5,4 \pm 0,1$
Indometacina	$216,7 \pm 10,3^*$	$5,4 \pm 0,1$
DHC + DP		
Ausência	$166,4 \pm 19,3$	$6,0 \pm 0,1$
L-NAME	$80,5 \pm 14,4^*$	$5,9 \pm 0,1$
Indometacina	$43,8 \pm 3,1^*$	$5,7 \pm 0,1$

ANOVA one-way seguido do pós-teste de Tukey. $^*p < 0,05$ (ausência vs. L-NAME e indometacina) e $^{\#}p < 0,05$ (L-NAME vs. Indometacina) ($n = 5$). FEN = fenilefrina; L-NAME = N_{ω} -nitro-L-arginina metil éster; DP = grupo alimentado com dieta padrão; DHC = grupo alimentado com dieta hipercalórica; DHC + SP50 e DHC + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 50 e 100 mg/kg, respectivamente; DHC + DP = grupo alimentado com dieta hipercalórica e posteriormente com dieta padrão.

Fonte: DINIZ, 2019.

5.4 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre a reatividade relaxante do corpo cavernoso isolado de rato

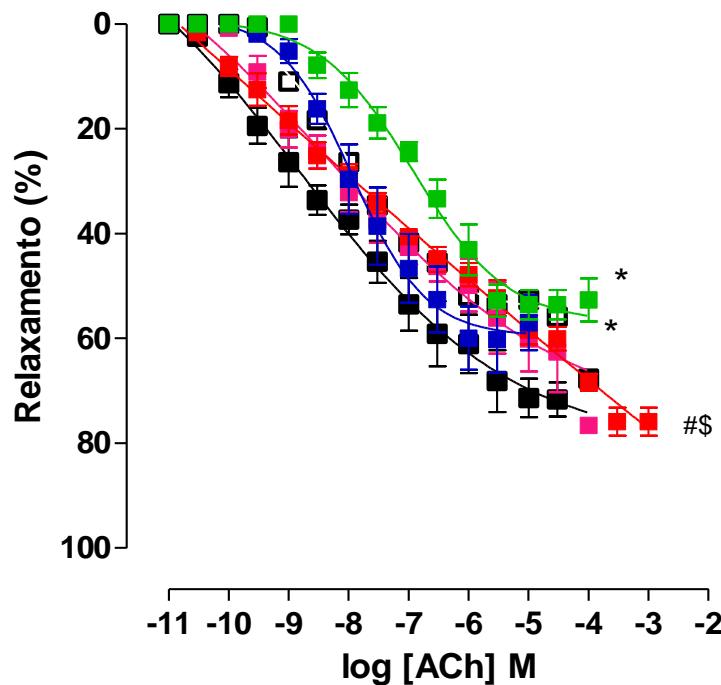
5.4.1 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação com *S. platensis* sobre a curva cumulativa de ACh

A eficácia relaxante da ACh foi reduzida no grupo DHC ($E_{max} = 53,5 \pm 1,5\%$) quando comparada ao grupo DP ($E_{max} = 72,7 \pm 3,3\%$), no entanto, a potência desse agonista foi semelhante em ambos grupos DHC e DP ($pCE_{50} = 7,9 \pm 0,1$ e $8,2 \pm 0,2$, respectivamente) (Gráfico 4 e Tabela 5, $n = 5$).

Nos grupos que consumiram a dieta hipercalórica, a suplementação com *S. platensis* nas doses de 25 ($E_{max} = 57,2 \pm 5,7\%$; $pCE_{50} = 8,1 \pm 0,3$) e 100 mg/kg ($E_{max} = 60,2 \pm 6,2\%$; $pCE_{50} = 7,8 \pm 0,2$) não alterou o relaxamento promovido pela ACh no corpo cavernoso isolado de rato, quando comparado ao grupo DHC ($E_{max} = 53,5 \pm 1,5\%$; $pCE_{50} = 8,2 \pm 0,2$) (Gráfico 4 e Tabela 5, $n = 5$).

A suplementação com 50 mg/kg da alga ($pCE_{50} = 7,1 \pm 0,2$) nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica ou o grupo DHC + DP ($pCE_{50} = 7,0 \pm 0,1$) reduziram a potência contrátil da ACh quando comparado ao grupo DHC ($pCE_{50} = 7,9 \pm 0,1$). A melhor eficácia relaxante desse agonista foi observada no grupo DHC + SP50 ($E_{max} = 75,9 \pm 2,7\%$) quando comparado ao grupo DHC ($E_{max} = 53,5 \pm 1,5\%$). Porém, no grupo DHC + DP ($E_{max} = 53,6 \pm 2,8\%$) o relaxamento frente à ACh foi reduzido quando comparado ao grupo DP ($E_{max} = 72,7 \pm 3,3\%$) (Gráfico 4 e Tabela 5, $n = 5$).

Gráfico 4 – Curvas concentrações-resposta cumulativas à ACh dos grupos DP (■), DHC (□), DHC + SP25 (■), DHC + SP50 (■), DHC + SP100 (■) e DHC + DP (■) em corpo cavernoso isolado de rato.



Os símbolos e as barras verticais representam a média e o e.p.m., respectivamente ($n = 5$). ANOVA one-way seguido do pós-teste de Tukey. * $p < 0,05$ (DP vs. DHC), # $p < 0,05$ (DHC vs. DHC + SP50) e #\\$ $p < 0,05$ (DHC + DP vs. DHC50). FEN = fenilefrina; DP = grupo alimentado com dieta padrão; DHC = grupo alimentado com dieta hipercalórica; DHC + SP25, DHC + SP50 e DHC + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; DHC + DP = grupo alimentado com dieta hipercalórica e posteriormente com dieta padrão. Fonte: DINIZ, 2019.

Tabela 5 – Valores de E_{max} e de pCE_{50} da ACh nos grupos DP, DHC, DHC + SP25, DHC + SP50, DHC + SP100 e DHC + DP em corpo cavernoso isolado de rato.

Grupos	E_{max} (%)	pCE_{50}
DP	$72,7 \pm 3,3$	$8,2 \pm 0,2$
DHC	$53,5 \pm 1,5^*$	$7,9 \pm 0,1$
DHC + SP25	$57,2 \pm 5,7$	$8,1 \pm 0,3$
DHC + SP50	$75,9 \pm 2,7^{*\$}$	$7,1 \pm 0,2^{*\$}$
DHC + SP100	$60,2 \pm 6,2$	$7,8 \pm 0,2$
DHC + DP	$53,6 \pm 2,8^*$	$7,0 \pm 0,1^{*\$}$

ANOVA one-way seguido do pós-teste de Tukey. * $p < 0,05$ (DP vs. DHC, DHC + SP50 e DHC + DP), # $p < 0,05$ (DHC vs. DHC + SP25, DHC + SP50, DHC + SP100 e DHC + DP), \\$ $p < 0,05$ (DHC + SP25 vs. DHC + SP50 ou DHC + DP), #\\$ $p < 0,05$ (DHC + DP vs. DHC50) ($n = 5$). DP = grupo alimentado com dieta padrão; DHC = grupo alimentado com dieta hipercalórica; DHC + SP25, DHC + SP50 e DHC + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; DHC + DP = grupo alimentado com dieta hipercalórica e posteriormente com dieta padrão.

Fonte: DINIZ, 2019.

5.4.1.2 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação com *S. platensis* sobre a curva cumulativa de ACh na ausência e na presença de tempol ou de apocinina

Nos ratos alimentados com dieta padrão, a curva da ACh na presença de tempol, um mimético da SOD, apresentou eficácia relaxante aumentada, não havendo alteração de potência ($E_{max} = 90,7 \pm 6,9\%$; $pCE_{50} = 8,1 \pm 0,3$) quando comparada a ausência dessa substância ($E_{max} = 72,7 \pm 3,3\%$; $pCE_{50} = 8,2 \pm 0,2$) (Gráfico 5A e Tabela 6, $n = 5$).

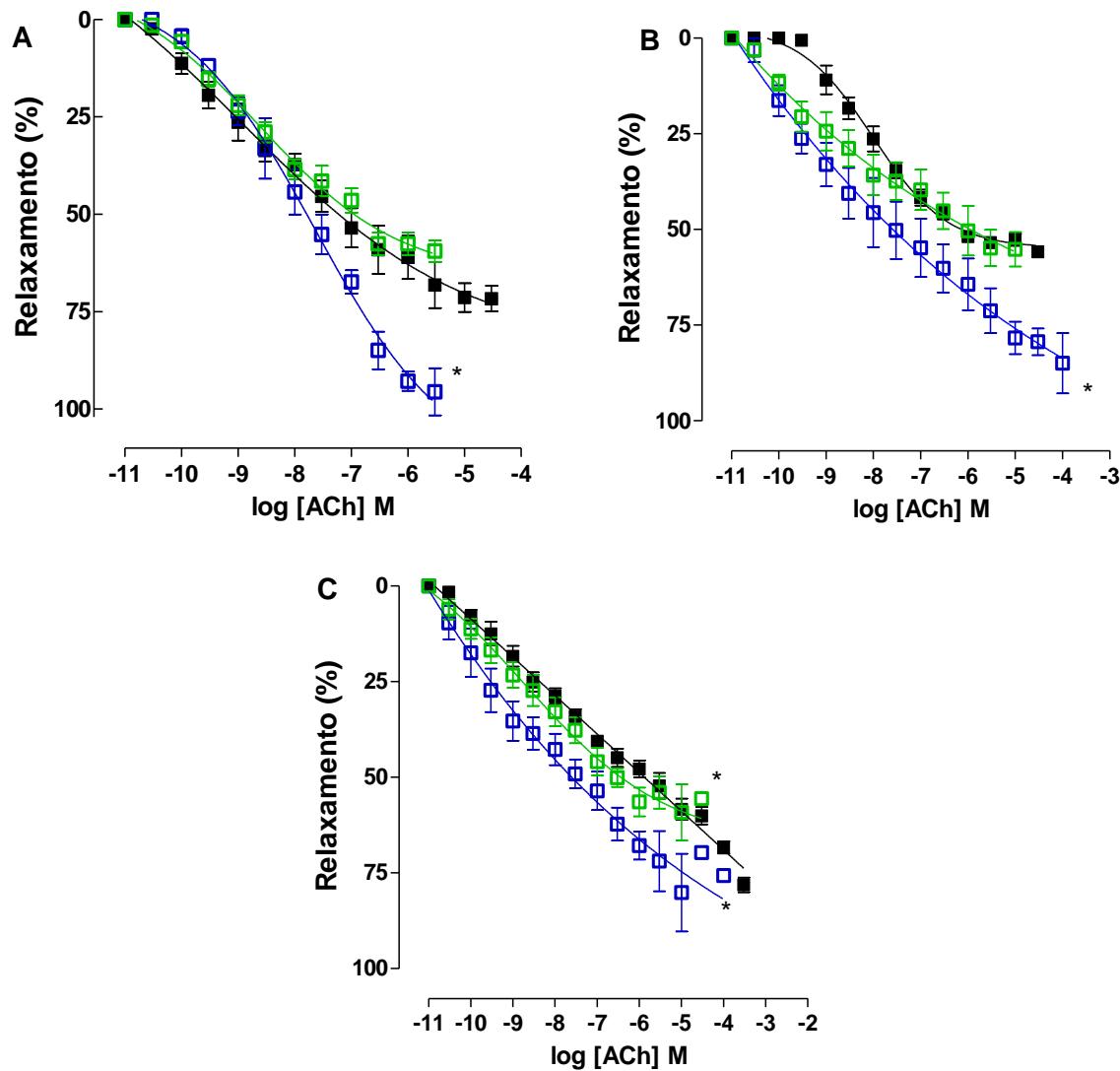
Entretanto, na curva da ACh na presença da apocinina, inibidor do complexo NADPH oxidase, dos ratos que consumiram dieta padrão não foi observada alteração da eficácia e da potência relaxante ($E_{max} = 57,6 \pm 2,8\%$; $pCE_{50} = 8,5 \pm 0,2$) quando comparado a curva na ausência desse inibidor ($E_{max} = 72,7 \pm 3,3\%$; $pCE_{50} = 8,2 \pm 0,2$) (Gráfico 5A e Tabela 6, $n = 5$).

Ao analisar a curva da ACh na presença de tempol, dos ratos alimentados com a dieta hipercalórica, observou-se aumento no efeito relaxante desse agonista ($E_{max} = 84,4 \pm 6,6\%$; $pCE_{50} = 8,1 \pm 0,4$) sem alteração de potência, quando comparado ao grupo DHC na ausência dessa substância ($E_{max} = 53,5 \pm 1,5\%$; $pCE_{50} = 7,9 \pm 0,1$) (Gráfico 5B e Tabela 6, $n = 5$).

Adicionalmente, a análise da curva de relaxamento da ACh na presença da apocinina, nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica, demonstrou que não houve alteração tanto da eficácia bem como da potência desse agonista ($E_{max} = 55,2 \pm 4,5\%$; $pCE_{50} = 8,5 \pm 0,3$) quando comparado a curva na ausência desse inibidor ($E_{max} = 53,5 \pm 1,5\%$; $pCE_{50} = 7,9 \pm 0,1$) (Gráfico 5B e Tabela 6, $n = 5$).

A suplementação com 50 mg/kg de *S. platensis* nos ratos que consumiam a dieta hipercalórica não alterou a eficácia relaxante da ACh tanto na presença de tempol ($E_{max} = 78,4 \pm 5,8\%$) como na presença da apocinina ($E_{max} = 62,3 \pm 1,8\%$), quando comparado a ausência destas substâncias ($E_{max} = 53,5 \pm 1,5\%$). Entretanto, ocorreu potencialização da resposta relaxante desse agonista na presença do tempol e da apocinina ($pCE_{50} = 8,4 \pm 0,3$ e $8,2 \pm 0,2$, respectivamente) comparado a ausência desta substância ($pCE_{50} = 7,1 \pm 0,2$) (Gráfico 5C e Tabela 6, $n = 5$).

Gráfico 5 – Curvas concentrações-resposta cumulativas à ACh na ausência (■) e na presença de tempol (□) e apocinina (□) dos grupos DP (A), DHC (B) e DHC + SP50 (C) em corpo cavernoso isolado de rato.



Os símbolos e as barras verticais representam a média e o e.p.m., respectivamente ($n = 5$). ANOVA one-way seguido do pós-teste de Tukey. $*p < 0,05$ (ausência vs. tempol e apocinina). DP = grupo alimentado com dieta padrão; DHC = grupo alimentado com dieta hipercalórica; DHC + SP50 = grupo alimentado com dieta hipercalórica e suplementado com *S. platensis* 50 mg/kg.

Fonte: DINIZ, 2019.

Tabela 6 – Valores de E_{max} e de pD_2 da ACh na ausência e na presença de tempol e apocinina em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos DP, DHC e DHC + SP50.

FEN	E_{max} (%)	pCE_{50}
DP		
Ausência	72,7 ± 3,3	8,2 ± 0,2
Tempol	90,7 ± 6,9*	8,1 ± 0,3
Apocinina	57,6 ± 2,8	8,5 ± 0,2
DHC		
Ausência	53,5 ± 1,5	7,9 ± 0,1
Tempol	84,4 ± 6,6*	8,1 ± 0,4
Apocinina	55,2 ± 4,5	8,5 ± 0,3
DHC + SP50		
Ausência	75,9 ± 2,7	7,1 ± 0,2
Tempol	78,4 ± 5,8	8,4 ± 0,3*
Apocinina	62,3 ± 1,8	8,2 ± 0,2*

ANOVA one-way seguido do pós-teste de Tukey. * $p < 0,05$ (ausência vs. tempol e apocinina). DP = grupo alimentado com dieta padrão; DHC = grupo alimentado com dieta hipercalórica; DHC + SP50 = grupo alimentado com dieta hipercalórica e suplementado com *S. platensis* 50 mg/kg.

Fonte: DINIZ, 2019.

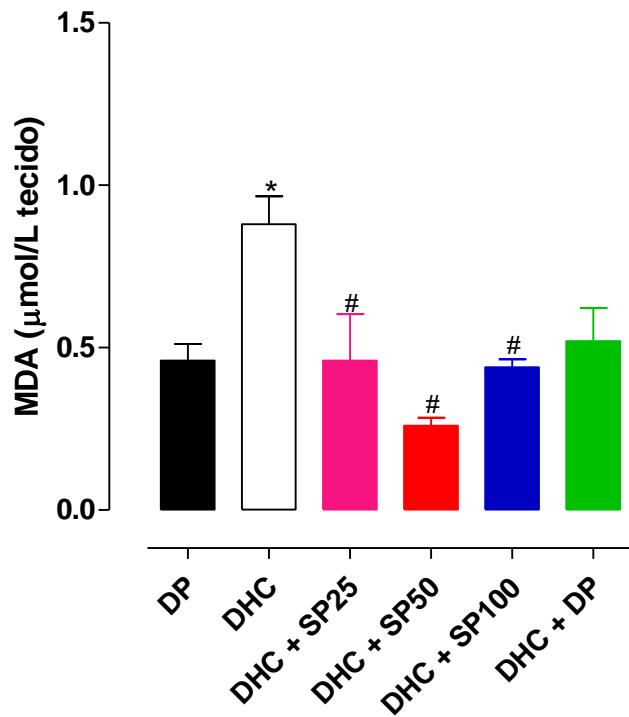
5.5 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre o estresse oxidativo

5.5.1 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre os níveis de MDA no corpo cavernoso

Nos ratos que consumiam a dieta hipercalórica, o grupo DHC ($0,9 \pm 0,40 \mu\text{mol/L}$) apresentou aumento na concentração de MDA em relação ao grupo DP ($0,5 \pm 0,05 \mu\text{mol/L}$). Entretanto, a suplementação dos ratos com a *S. platensis* nas doses de 25 ($0,5 \pm 0,1 \mu\text{mol/L}$), 50 ($0,3 \pm 0,02 \mu\text{mol/L}$) e 100 mg/kg ($0,4 \pm 0,02 \mu\text{mol/L}$) reduziu os níveis de MDA tanto em relação ao grupo DHC como também ao grupo DP (Gráfico 6, $n = 5$).

Não foi observada diferença na concentração de MDA no corpo cavernoso dos ratos do grupo DHC + DP ($0,5 \pm 0,1 \mu\text{mol/L}$) quando comparado aos grupos DP e DHC (Gráfico 6, $n = 5$).

Gráfico 6 - Concentrações de MDA em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos DP, DHC, DHC + SP25, DHC + SP50, DHC + SP100 e DHC + DP.



Os símbolos e as barras verticais representam a média e o e.p.m., respectivamente (n = 5). ANOVA one-way seguido do pós-teste de Tukey. * $p < 0,05$ (DP vs. DHC) e # $p < 0,05$ (DHC vs. DHC + SP25, DHC + SP50 e DHC + SP100). DP = grupo alimentado com dieta padrão; DHC = grupo alimentado com dieta hipercalórica; DHC + SP25, DHC + SP50 e DHC + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; DHC + DP = grupo alimentado com dieta hipercalórica e posteriormente com dieta padrão.

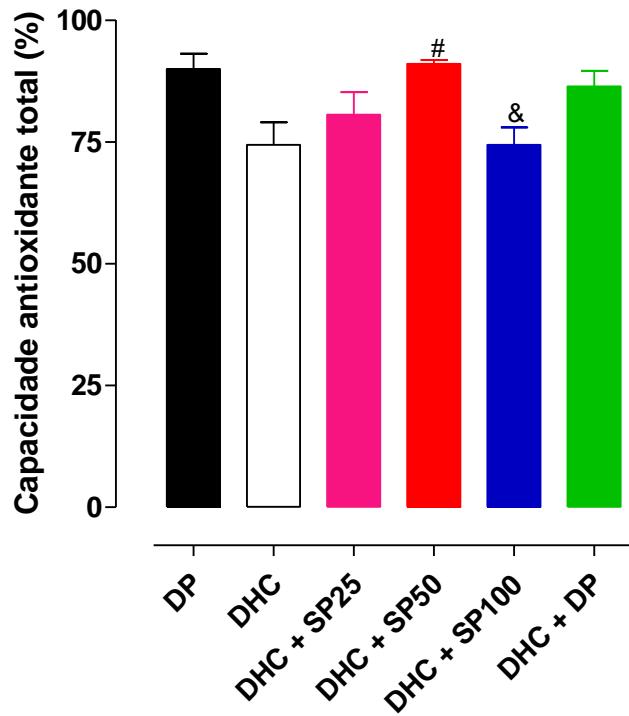
Fonte: DINIZ, 2019.

5.5.2 Efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre a capacidade antioxidante total do corpo cavernoso

No corpo cavernoso isolado de rato, não foi observada diferença na capacidade antioxidante total entre os ratos alimentados com a dieta padrão ($90,0 \pm 3,1\%$) e os alimentados com dieta hipercalórica ($74,4 \pm 4,6\%$) (Gráfico 7, $n = 5$).

Nos ratos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* na dose de 50 mg/kg ($91,0 \pm 0,8\%$), verificou-se aumento da capacidade antioxidante total do órgão em relação ao grupo DHC. De maneira similar, foi observada diferença entre os grupos DHC + SP50 e DHC + SP100 ($91,0 \pm 0,8$ e $74,4 \pm 3,5\%$, respectivamente) (Gráfico 7, $n = 5$).

Gráfico 7 - Percentual de capacidade antioxidante total em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos DP, DHC, DHC + SP25, DHC + SP50, DHC + SP100 e DHC + DP.



Os símbolos e as barras verticais representam a média e o e.p.m., respectivamente (n = 5). ANOVA one-way seguido do pós-teste de Tukey. $^{\#}p < 0,05$ (DHC vs. DHC + SP50) e $^{\&}p < 0,05$ (DHC + SP50 vs. DHC + SP100). DP = grupo alimentado com dieta padrão; DHC = grupo alimentado com dieta hipercalórica; DHC + SP25, DHC + SP50 e DHC + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; DHC + DP = grupo alimentado com dieta hipercalórica e posteriormente com dieta padrão.

Fonte: DINIZ, 2019.

Tabela 7 – Valores de MDA e CAT em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos DP, DHC, DHC + SP25, DHC + SP50, DHC + SP100 e DHC + DP.

Grupos	MDA ($\mu\text{mol/L}$)	CAT (%)
DP	0,5 \pm 0,05	90,0 \pm 3,1
DHC	0,9 \pm 0,40*	74,4 \pm 4,6
DHC + SP25	0,5 \pm 0,1 [#]	80,6 \pm 0,5
DHC + SP50	0,3 \pm 0,02 [#]	91,0 \pm 0,8 [#]
DHC + SP100	0,4 \pm 0,02 [#]	74,4 \pm 3,5 ^{&}
DHC + DP	0,5 \pm 0,1	86,4 \pm 0,8

ANOVA one-way seguido do pós-teste de Tukey. * $p < 0,05$ (DP vs. DHC), [#] $p < 0,05$ (DHC vs. DHC + SP25, DHC + SP50 e DHC + SP100) e [&] $p < 0,05$ (DHC + SP50 vs. DHC + SP100).. DP = grupo alimentado com dieta padrão; DHC = grupo alimentado com dieta hipercalórica; DHC + SP25, DHC + SP50 e DHC + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; DHC + DP = grupo alimentado com dieta hipercalórica e posteriormente com dieta padrão.

Fonte: DINIZ, 2019.

6 Discussão

No presente trabalho, após a comprovação do desenvolvimento da disfunção erétil associado ao consumo da dieta hipercalórica em ratos Wistar, foi observado que a ingestão alimentar dessa dieta resultou na redução da função erétil, aumento da eficácia contrátil e redução do relaxamento do corpo cavernoso, além do aumento da síntese das ROS. Em contrapartida, tais efeitos deletérios foram restaurados pela suplementação alimentar com *Spirulina platensis* nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica, por mecanismos relacionados à via do NO, dos prostanoïdes e das ROS.

O aumento da adiposidade, em decorrência de fatores como diminuição progressiva ou não prática de exercícios físicos, metabolismo, fatores sociais, comportamentais e culturais, além dos hábitos alimentares inadequados, constitui a principal causa da obesidade, definida como uma doença crônica, caracterizada pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo, localizado em todo o corpo (SANTOS et al., 2012; OMS, 2017). O excesso de adiposidade corporal, portanto, representa um impacto sobre diferentes doenças crônicas bem como, sobre variadas disfunções orgânicas que acometem principalmente a musculatura lisa de diversos órgãos.

Diante disso, estudos realizados por Oliveira et al. (2016) observaram que ratos Wistar, alimentados com uma dieta hipercalórica (417,0 kcal/100 g), durante dois meses, apresentaram redução da eficácia contrátil intestinal frente ao carbacol (CCh) e ao KCl. Ferreira (2017) ao utilizar a mesma dieta desse estudo, porém, por quatro meses, demonstrou redução da reatividade intestinal contrátil e relaxante, além de aumento na peroxidação lipídica do tecido adiposo de ratos Wistar, e que após dois meses, a suplementação com a alga restaurou todos os danos causados pela ingestão alimentar dessa dieta hipercalórica. Recentemente, Souza (2018) verificou que o consumo da mesma dieta hipercalórica, durante dois meses, resultou no aumento da massa corporal final dos ratos, bem como, aumento dos parâmetros relacionados à adiposidade, além disso, redução da função erétil com aumento da resposta contrátil e diminuição da resposta relaxante do corpo cavernoso e que esses efeitos foram prevenidos pela suplementação com a *S. platensis*.

Baseado nos estudos realizados por Ferreira (2017) e Souza (2018), ratos Wistar foram alimentados com dieta hipercalórica durante dezesseis semanas, sendo as oito primeiras semanas alimentados unicamente com a dieta padrão ou a dieta hipercalórica (417,0 kcal/100 g) e as oito semanas seguintes, destinadas à suplementação com *S. platensis* nas doses de 25, 50 e 100 mg/kg. Com o objetivo de simular o processo de reeducação alimentar, um outro grupo de animais foram alimentados com a dieta

hipercalórica durante oito semanas e posteriormente por mais oito semanas, receberam a dieta padrão.

O manejo metabólico relacionado a pessoas obesas tem demonstrado desafios únicos, relacionado principalmente com o aumento da adiposidade corporal, bem como com complicações fisiológicas e metabólicas que se relacionam diretamente com a terapia de suporte nutricional (DICKERSON et al., 2013; BOREL et al., 2014; DICKERSON et al., 2017). Neste contexto, mudanças nos indicadores nutricionais da população, tais como alterações no perfil lipídico, também tem sido observadas, especialmente no que se refere ao incremento da obesidade (PAIVA; WAJNMAN, 2010; SARTURI; NEVES; PERES, 2012; KUCZMARSKI et al., 2016). Diante de tal panorama, a caracterização dos parâmetros bioquímicos e laboratoriais, representam uma alternativa importante para a prevenção da obesidade, e, consequentemente da DE.

As alterações dietéticas podem estar correlacionadas ao aumento de parâmetros bioquímicos em ratos que consumiram dietas hiperlipídicas e hipercalóricas (FRANCISCHI et al., 2000; SILVA, 2014). Neste sentido, foi avaliado os efeitos do consumo da dieta hipercalórica ou a suplementação alimentar com *S. platensis* sobre os perfis bioquímicos (glicose, colesterol total fração de lipoproteína de alta densidade, fração de lipoproteína de baixa densidade e triglicerídos). Onde, em alguns ratos, aproximadamente 10 mL de sangue foram coletados para obtenção do plasma, através de punção cardíaca e posteriormente foram realizadas todas as análises, com a finalidade de saber se o aporte energético e calórico excessivo, provenientes do consumo da dieta, prejudicariam tais parâmetros.

Ao analisar os ratos que consumiram a dieta hipercalórica, não foi observada diferença entre as dosagens bioquímicas de glicose, colesterol total, HDL-c e LDL-c, entre todos os grupos experimentais (DP, DHC, DHC + SP25,50 e 100 mg/kg e DHC + DP). Diante desse resultado, sugere-se que o consumo da dieta hipercalórica induz o aumento da adiposidade corporal sem promover alterações nesses parâmetros bioquímicos dos ratos. Semelhantemente, resultados foram verificados em outros estudos, com ratos e camundongos alimentados com dieta hipercalórica (JANG et al., 2003; WOODS et al., 2003; DUARTE et al., 2006).

Entretanto, em nossos estudos os ratos alimentados com a dieta hipercalórica e que foram suplementados com a alga, evidenciamos uma redução dos níveis séricos de triglicerídos, nas doses de 50 e 100 mg/kg, quando comparados ao grupo DHC,

sugerindo uma reversão dos efeitos danosos sobre o perfil lipídico dos triglicerídos em ratos Wistar.

O aumento dos triglicerídos é um distúrbio lipídico relativamente frequente na prática clínica. A obesidade, o estresse agudo, a ingestão de álcool, as dietas com alto teor de gordura e carboidratos, a gravidez, a estrogenoterapia, a terapia de glicocorticoides e um número considerado de doenças elevam consideravelmente os níveis de triglicerídos (SACKS, 2012). Ding et al., (2016) destacam uma preocupação entre a relação dos níveis séricos de lipídios e dislipidemia com obesidade e seus possíveis agravamentos cardiovasculares. Em outro estudo, Casavalle et al. (2014) ainda reforçam, em que indivíduos com excesso de peso tem maior propensão a desenvolver dislipidemia, bem como o excesso de peso é um importante preditor de saúde que requer preocupação.

A hiperlipidemia contribui para a disfunção endotelial, interferindo no relaxamento da musculatura lisa cavernosa. O comprometimento do relaxamento dependente do endotélio em vários leitos vasculares de homens com triglicerídos elevados tem sido bem caracterizado (KUGIYAMA et al., 2000). O LDL oxidado, juntamente com a produção de radicais superóxidos e o comprometimento funcional do NO endotelial, são provavelmente as principais causas dos danos provocados ao relaxamento endotelial e do desenvolvimento da DE. Além disso, as dislipidemias promovem a aterosclerose, que é um fator de risco independente para o desenvolvimento DE (KIM, 2012).

Neste estudo, a utilização da suplementação com a *S. platensis* no modelo de consumo alimentar da dieta hipercalórica, promoveu redução dos níveis de triglicerídos em ratos Wistar alimentados durante dezesseis semanais. Diante disso, demonstra-se uma possível atividade moduladora da alga que restaura os danos sobre tal parâmetro bioquímico analisado, bem como reduziria a deposição dos ácidos graxos, na forma de triglicerídos, nos adipócitos dos ratos que consumiram a dieta hipercalórica (CANI et al., 2009).

Como demonstrado por Souza (2018), o consumo da dieta hipercalórica durante oito semanas, promoveu aumento da massa corporal final, do ganho de massa corporal, dos depósitos de gordura nos tecidos adiposos (epidídimal, inguinal e retroperitoneal) de ratos Wistar. Assim, o impacto ocasionado pela alteração dietética sobre a adiposidade corporal representa importante fator de risco independente para o desenvolvimento de diversas disfunções orgânicas, como por exemplo a disfunção

erétil, que afetam a musculatura lisa, especificamente a cavernosa, levando a possíveis alterações sobre a função erétil desses ratos.

Adicionalmente Souza (2018) evidenciou o aumento da reatividade contrátil e diminuição da reatividade relaxante em corpo cavernoso de rato alimentados com dieta hipercalórica, o que também contribuiu para efeitos danosos a função erétil de ratos Wistar, tais efeitos prevenidos pela suplementação com *S. platensis*.

Diante disso, sabendo dos efeitos deletérios oriundos do consumo da dieta hipercalórica sobre a musculatura lisa cavernosa, hipotetizou-se primeiramente, se a suplementação com a alga possivelmente reverteria os danos à função erétil de ratos Wistar, em relação ao número de ereções e a latência pra início das ereções penianas.

A habilidade de agonistas dopaminérgicos em induzir ereções penianas é descrita desde 1975 e foi sucessivamente confirmada por um grande número de estudos. Esta investigação teve início a partir da observação do efeito erectogênico da apomorfina, um agonista dopaminérgico não seletivo. A administração sistêmica de baixas doses deste composto é capaz de induzir ereções em ratos e camundongos (MENEGATTI et al., 2005; RAMPIN et al., 2008; D'AQUILA et al., 2010).

Assim, para a avaliação da função erétil dos ratos, foi utilizada a R-(-)-apomorfina, indutor da ereção peniana, com maior afinidade pelos receptores D2-like, presentes nos neurônios ocitocinérgicos do nucleoparaventricular (PVN) no hipotálamo. Utilizando-se o protocolo experimental que avalia a função erétil em ratos acordados, em que esses receberam a R-(-)-apomorfina, por via subcutânea na região dorsal. Essa substância é ligeiramente absorvida e posteriormente transportada para o tecido cerebral, atingindo níveis cerebrais máximos após 15 minutos, tendo sua concentração plasmática reduzida à metade aproximadamente 20 minutos após sua administração (HSIEH et al., 2014; HANNAN et al., 2006)

Partindo desses princípios, neste estudo a função erétil dos grupos alimentados com a dieta hipercalórica apresentou redução no número de ereções penianas e aumento no tempo de latência para iniciar a ereção quando comparado ao grupo DP, sugerindo assim o desenvolvimento da DE nesses ratos, em que, de acordo com a American Psychiatric Association (APA, 2012), entende-se por DE a combinação ou apenas um de sintomas como, a dificuldade na obtenção de uma ereção durante a atividade sexual, dificuldade em manter uma ereção até a conclusão da atividade sexual e/ou aumento no tempo para iniciar a ereção.

Recentemente, Souza (2018) com base na análise do número de ereções penianas e na latência para a ereção, demonstrou um modelo de disfunção erétil causada pela exposição dos ratos à dieta hipercalórica, o que fortaleceu a associação da DE ao aumento da adiposidade corporal, e que a suplementação com *S. platensis* previniu a diminuição do número de ereções penianas na dose de 100 mg/kg e o aumento do tempo de latência para iniciar a ereção peniana nas doses de 50 e 100 mg/kg em ratos Wistar, evidenciando assim, que a alga está prevenindo os danos à função erétil e consequentemente o desenvolvimento da DE nesses animais.

Utilizando tal modelo de DE, foi realizado também a análise da função erétil dos ratos quando esses eram suplementados com *S. platensis* e, foi observado aumento do número de ereções penianas na dose de 50 mg/kg e redução do tempo de latência para iniciar a ereção peniana em todas as doses analisadas (25, 50 e 100 mg/kg). Inferindo-se que a suplementação com a alga restaura os danos à função erétil, atenuando a DE em ratos alimentados com dieta hipercalórica.

Adicionalmente, a alga ainda, pode estar modulando mecanismos centrais no eixo dopaminérgico-ocitocinérgico, aumentando a afinidade dos hormônios dopamina e ocitocina pelos seus respectivos receptores, ou também modulando mecanismos periféricos que levam a ativação das vias de sinalização que contribuem para o relaxamento da musculatura lisa cavernosa, mecanismos estes, que servem de gatilho para iniciar e/ou manter a ereção peniana.

Ademais, questionou-se se a alteração dietética, partindo do delineamento experimental em que os ratos foram inicialmente alimentados com a dieta hipercalórica durante oito semanas e posteriormente, por mais oito semanas essa dieta foi substituída por uma dieta padrão (normocalórica), simulando um processo de reeducação alimentar, restauraria a função erétil dos ratos, uma vez já observado, que o consumo dessa dieta hipercalórica resultou na diminuição do número de ereções penianas e aumento do tempo de latência.

Após esse período, o grupo DHC + DP apresentou aumento no número de ereções penianas bem como redução do tempo de latência para iniciar a ereção peniana, demonstrando assim, melhora na função erétil desses ratos. Inferindo-se que, mudanças no estilo de vida, especificamente quanto aos hábitos alimentares, contribuem para melhoria na atividade e função sexual.

Hábitos alimentares não saudáveis, em particular, a ingestão de alimentos com aporte calórico e energético elevados, compartilham fatores de risco relacionados à DE,

estando fortemente atrelados a um estado pró-inflamatório, que resultam em disfunção endotelial e diminuição da disponibilidade e atividade do óxido nítrico (NO). O decréscimo de NO vascular tem sido associado ao aumento da adiposidade abdominal, tabagismo e principalmente ao alto consumo de gorduras e açúcares, ocasionando danos à função erétil (MELDRUM et al., 2013). Assim, escolhas de estilo de vida pobres, tem sido associada com a redução da disponibilidade de NO, que por sua vez podem levar a DE.

A melhoria dos hábitos de vida que modulam os fatores de risco pode ter um papel crucial na redução da carga da disfunção sexual (ESPOSITO et al., 2014). A segmentação de vários fatores de estilo de vida associados às doenças cardiovasculares, distúrbios metabólicos, tabagismo, consumo de álcool e obesidade, correlacionados a prática de atividade física, controle do peso e reeducação alimentar, podem ter benefícios significativos na função vascular e erétil, que levaram a melhora na DE (GUPTA et al., 2012; MELDRUM et al., 2013).

A DE representa um ônus significativo para a qualidade de vida. Muitas condições crônicas têm sido associadas ao seu desenvolvimento, incluindo síndrome metabólica, dislipidemias, diabetes mellitus, doenças cardiovasculares, presença de outras doenças genitourinárias, por exemplo, sintomas do trato urinário inferior e transtornos psiquiátricos, bem como a obesidade e o hipogonadismo (LEWIS et al., 2012; JOLLY; CHAMBERS, 2014). Ademais, o aumento da adiposidade corporal afeta a fertilidade masculina principalmente no que se refere as características do esperma, a embriogênese, a função erétil, bem como a saúde dos seus descendentes (ISIDORI et al., 2002; MENUCCI; BURMAN, 2013; SILVEIRA; LATRONICO, 2013; STAMOU; GEORGOPoulos, 2017).

Assim, o consumo da dieta hipercalórica, a suplementação com *S. platensis* e a reeducação alimentar com a substituição da dieta hipercalórica pela dieta padrão promoveram alterações na função erétil dos ratos no modelo de indução de ereção com *R*-(-)-apomorfina, fazendo-se importante investigar possíveis efeitos benéficos e maléficos sobre o desempenho sexual dos ratos em estudo.

Sabendo que ratos alimentados com uma dieta hipercalórica durante oito semanas, promoveu aumento da contratilidade cavernosa, comprometendo ambos acoplamentos, eletro e farmacomecânico, bem como a suplementação simultânea com *S. platensis*, durante esse mesmo período, previu os danos a reatividade contrátil e relaxante ao corpo cavernoso de ratos Wistar, correlacionados ao consumo da dieta

hipercalórica (SOUZA, 2018), e que, uma vez verificada alterações na função erétil dos ratos, resultante da alteração dietética e da suplementação com *S. platensis*, foi questionado se o consumo da mesma dieta hipercalórica poderia aumentar a reatividade contrátil e reduzir a resposta relaxante do corpo cavernoso, favorecendo, portanto o estado de flacidez peniana, agora, porém, por um período de dezenas de semanas, pautado em estudos que demonstraram que o aumento da adiposidade corporal promove danos endoteliais, que é uma característica comum da DE (ROSINI; SILVA; MORAES, 2012; TRAISH et al. 2015). Ademais, sugere-se ainda, que a suplementação com a alga restaure as alterações provocadas pelo consumo da dieta hipercalórica sobre a musculatura lisa cavernosa.

A relação que envolve os estados de flacidez e ereção peniana depende diretamente da combinação existente entre os processos de contração e relaxamento das células lisas cavernosas, estes, controlados por mecanismos periféricos através das inervações autonômicas. O controle periférico da ereção peniana depende de fatores neuronais e locais, em que é gerado um tônus muscular, responsável pela manutenção do estado funcional do pênis (ANDERSSON, 2011).

A modulação do tônus muscular cavernoso ocorre através de mecanismos moleculares que dependem da ação de agonistas, como por exemplo, os neurotransmissores e os fatores derivados do endotélio. Dessa forma, a regulação dos níveis de Ca²⁺ e da sensibilidade da maquinaria contrátil, representam pontos cruciais para regulação do tônus das células musculares lisas cavernosas, uma vez que, um aumento na [Ca²⁺]_i é a causa primária para a produção da contração nessa musculatura.

Assim, com o objetivo de verificar os efeitos do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre o acoplamento farmacocémico contrátil do músculo liso cavernoso, que desencadeia a resposta contrátil pela ligação de agonistas a receptores acoplados a proteína G (GPCRs) e pela ativação da cascata do inositol através das proteínas G_{q/11}, decidiu-se investigar se este tipo de acoplamento em corpo cavernoso de rato seria modificado por esses parâmetros, alterando consequentemente, o balanço entre flacidez e ereção peniana.

No protocolo utilizado, ao se comparar a curva de FEN entre os ratos alimentados com a dieta hipercalórica e os alimentados com a dieta padrão, foi observado aumento da eficácia contrátil do agonista no grupo DHC em relação ao grupo DP. Porém, a potência contrátil relativa desse agente contrátil não foi alterada quando

comparada entre esses grupos. Esses resultados demonstram, portanto, a influência deletéria do consumo da dieta hipercalórica sobre os mecanismos que favorecem a contratilidade cavernosa, possivelmente como o aumento da expressão dos Cav, uma vez que o aumento da eficácia contrátil da FEN no corpo cavernoso, pelo acoplamento farmacomecânico, induz a manutenção da flacidez peniana (HOPPNER et al., 1996; SILVA et al., 2014)

Dessa forma, sabendo que nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica houve um aumento da eficácia contrátil da FEN, o que consequentemente facilita a manutenção do pênis em seu estado flácido, dificultando assim a obtenção da ereção peniana nesses animais, questionou se suplementação alimentar com *S. platensis* poderia reverter esse processo, uma vez já instalado os danos ao corpo cavernoso, provenientes do consumo da dieta hipercalórica. Foi demonstrado, que quando esses ratos eram suplementados com a dose de 25 mg/kg da alga, não alterou a reatividade contrátil do corpo cavernoso frente ao agonista, comparado ao grupo DHC.

Interessantemente, quando suplementados com a dose de 50 mg/kg foi observado aumento da eficácia contrátil, o que teoricamente seria um efeito prejudicial advindo da suplementação da alga, uma vez que o aumento da contração leva a diminuição do aporte sanguíneo, favorecendo o processo de detumescência do órgão. Resultados semelhantes, indicam que a *S. platensis* nessa mesma dose, promove aumento da via de sensibilização ao cálcio por modulação positiva da via Rho/ROCK em músculo liso intestinal de ratos alimentados com a mesma dieta hipercalórica durante dezesseis semanas, o que contribui para manutenção da contração muscular, e, consequentemente, a flacidez peniana (FERREIRA, 2017).

Apesar desse resultado demonstrar um possível efeito nocivo da suplementação alimentar com a alga na dose de 50 mg/kg sobre o corpo cavernoso de ratos Wistar, levando em consideração a DE, deve-se analisar até que ponto esse efeito pode ser prejudicial à função sexual desses animais, sabendo que tal efeito foi contrabalanceado pela ação da *S. platensis* sobre as vias de sinalização que favorecem o relaxamento cavernoso, em virtude dos dados obtidos na avaliação das ereções penianas, *in vivo*, desses grupos experimentais.

No grupo alimentado com a dieta hipercalórica e suplementado com *S. platensis* na dose de 100 mg/kg, foi observado diminuição da eficácia contrátil da FEN, demonstrando, portanto, uma reversão completa dos efeitos deletérios provenientes do consumo da dieta hipercalórica sobre a reatividade contrátil cavernosa, ou seja, mesmo

esses ratos consumindo a dieta hipercalórica durante dezenas de semanas, a suplementação alimentar com a alga simultaneamente ao consumo da dieta hipercalórica conseguiu normalizar a função erétil desses animais. Inferindo-se, portanto, que a suplementação com a *S. platensis*, neste estudo, pode reduzir os passos das vias de contração cavernosa, bem como ativar passos das vias de sinalização que resultam no relaxamento do corpo cavernoso de ratos, e neste caso, restaura as alterações desencadeadas pelo consumo da dieta hipercalórica sobre a reatividade cavernosa.

Em contrapartida, no grupo alimentado com a dieta hipercalórica e posteriormente alimentado com a dieta padrão, com a finalidade de simular uma alteração de hábito alimentar em humanos, foi observado que não houve diferença quando comparado ao grupo DHC. Sugerindo assim, que apenas com mudanças nos hábitos alimentares, especificamente dietas, não são capazes de reverter os danos advindos da dieta hipercalórica sobre a responsividade cavernosa, reforçando dessa forma, a importância da suplementação alimentar com a *S. platensis* na restauração da resposta contrátil cavernosa frente ao aumento da adiposidade.

Para tais suposições faz-se necessário estudos futuros mais aprofundados, em relação a expressão das proteínas chaves da via de sensibilização ao Ca²⁺, com o objetivo de comprovar os efeitos atribuídos pelo consumo da dieta hipercalórica, bem como os efeitos distintos resultantes da suplementação alimentar com a *S. platensis*, que variaram de acordo com o microambiente ao qual essa alga está inserida, sobre os alvos moleculares analisados neste estudo.

Diante desses resultados e conclusões parciais, decidiu-se investigar se a reatividade contrátil da musculatura lisa cavernosa seria alterada pela presença de fatores derivados do endotélio, que incluem neurotransmissores, como o NO e os prostanoïdes, uma vez que os espaços cavernosos são revestidos por células endoteliais, que medeiam o processo de ereção peniana (BURNETT, 1995; ANDERSSON; STIEF, 1997; HSIEH et al., 2015), a fim de determinar se as alterações sobre a responsividade contrátil cavernosa pelo consumo da dieta hipercalórica e pela suplementação alimentar com a *S. platensis*, estariam relacionadas com o envolvimento das vias do NO e dos prostanoïdes, levando portanto, ao desenvolvimento da DE.

A patogênese da disfunção erétil está relacionada à disfunção endotelial. Essa disfunção está associada à diminuição da síntese do óxido nítrico (NOS), com

consequente redução da disponibilidade de NO nos tecidos sinusoidais dos corpos cavernosos (HSU, 2018). Dados da literatura demonstram que o NO é o principal neurotransmissor responsável pelo processo de ereção peniana e desporta como potente vasodilatador derivado do endotélio (FURCHGOTT et al., 1983; BULT et al., 1990; HSU; LU; 2018).

Embasado nessas informações, após a incubação das preparações com L-NAME, inibidor não seletivo de NOS (VIGNOZZI et al., 2006; AYHANCI; APPAK; CENGIZ, 2018), demonstrou-se que, no grupo alimentado apenas com a dieta padrão, aumento da eficácia e potência contrátil da FEN. Sugerindo assim, que a formação de NO contrabalança a contração no corpo cavernoso, uma vez que reduzindo a sua biodisponibilidade do meio, através da presença do L-NAME, foi observado aumento da eficácia contrátil do agonista. Esses dados, todavia, já eram esperados e estão de acordo com dados da literatura que demonstram o importante papel vasodilatador do NO em corpo cavernoso de ratos (MELIS; ARGOLAS, 1995; JOYNER; DIETZ, 1997; CARTLEDGE; MINHAS; EARDLEY, 2001).

Nos ratos alimentados unicamente com a dieta hipercalórica, observou-se redução de duas vezes na eficácia contrátil da FEN na presença do L-NAME, indicando que a presença de NO nestesistema em que os ratos consumiam a dieta hipercalórica, está aumentando a contração através de uma disfunção endotelial, sugerindo que o NO poderia estar reagindo com o ânion superóxido do meio, produzido pelo consumo dessa dieta, que aumenta a liberação de ROS, formando o peroxinitrito, que é um potente vasoconstrictor, ou seja, neste caso, a presença de NO estaria favorecendo, portanto, o processo de contração neste sistema.

Nos grupos DHC e suplementados com *S. platensis* na dose de 50 mg/kg, não houve alteração na eficácia e potência contrátil na presença do inibidor de NOS quando comparado a sua ausência. Porém, quando se compara a suplementação dessa dose na presença de L-NAME ao grupo DHC, se observa um aumento da curva de FEN, ficando semelhante quando comparado a curva correspondente a sua ausência. Interessantemente, quando os ratos foram suplementados com a dose de 100 mg/kg, ocorreu um aumento da contração na presença desse inibidor, podendo inferir que a *S. platensis* estaria agindo como um potente antioxidante, modulando positivamente passos da via do NO, aumentando a produção do substrato e expressão da NOS, bem como do próprio NO e consequentemente removendo do meio o ânion superóxido, radical livre que favorece a vasoconstrição. O NO, portanto, ficaria mais biodisponível

podendo exercer seu efeito vasodilatador, dificultando o processo de contração (BRITO, 2014; IBRAHIM; ABDEL-DAIM, 2015; SOUZA, 2018).

Curiosamente, no grupo DHC + DP observou-se que a curva concentração-resposta à FEN na presença de L-NAME reduziu duas vezes a eficácia contrátil. Inferindo-se que, nestes ratos os efeitos provenientes da troca da dieta hipercalórica pela dieta normocalórica (padrão) foram semelhantes aos observados ao grupo DHC, ou seja, os efeitos deletérios sobre a via do NO, oriundos do consumo da dieta hipercalórica, não foram restaurados apenas pela mudança da alimentação dos animais.

Diante desses dados e sabendo que existem ainda outras substâncias produzidas pelo endotélio, além do NO, envolvidas na regulação dos processos de flacidez e ereção peniana, decidiu-se investigar e determinar se as alterações promovidas pelo consumo da dieta hipercalórica e pela suplementação alimentar com a alga sobre a reatividade contrátil do corpo cavernoso de ratos, estariam correlacionadas com a modulação das vias dos prostanoïdes.

O endotélio é responsável pela produção de grande variedade de substâncias vasoconstritoras e vasorelaxantes, produtos da ciclooxigenase (COX) os chamados prostanoïdes, representados pelos fatores relaxantes derivados do endotélio (EDRF) como a PGI₂, a PGE₁ e a PGE₂, produzidos predominantemente nas artérias penianas, e as substâncias vasoconstritoras dependentes do endotélio ou os fatores de contração (EDCF), como a PGF_{2α} e o TXA₂, produzidos principalmente nas veias penianas e nos corpos cavernosos (CHRIST et al., 1990; PIETRO et al., 1998; SIMONSEN et al., 2001; MARTINEZ et al., 2005; CAU; EVORA; TOSTES, 2018).

A disfunção endotelial é caracterizada por alterações nas funções reguladoras do endotélio, resultando numa produção desequilibrada entre mediadores pró-coagulantes e anticoagulantes, inibidores do crescimento e/ou dos fatores relaxantes e contráteis (prostanoïdes). Os mecanismos fisiopatológicos que levam à disfunção endotelial ou à diminuição dos prostanoïdes relaxantes e aumento dos prostanoïdes contráteis, incluem fatores de risco para doenças cardiovasculares e doenças metabólicas, como aterosclerose, hipertensão arterial, insuficiência renal, obesidade e disfunção erétil ou uma combinação desses fatores (EVORA, 2000; EVORA et al., 2009).

Com base nessas informações, foi avaliada uma possível modulação da via dos prostanoïdes sobre a contratilidade do corpo cavernoso de ratos Wistar alimentados

com a dieta hipercalórica e suplementados com a *S. platensis*, utilizando para isso, um inibidor não seletivo da COX, a indometacina (MIRGORODSKAYA et al., 2018).

Na análise dos resultados, foi observado que nos ratos alimentados exclusivamente com a dieta padrão houve uma sobreposição das curvas de FEN na ausência e na presença da indometacina, sugerindo, portanto, que provavelmente a contração promovida pela FEN, neste sistema, não está sendo alterada pela via dos prostanoïdes.

Avaliando os ratos que consumiram a dieta hipercalórica, observou-se diminuição da curva de contração induzida pela FEN na presença do inibidor de COX quando comparado a sua ausência. Inferindo-se que neste sistema, o consumo da dieta hipercalórica está modificando a síntese e/ou a liberação dos mediadores lipídicos, através da produção aumentada de prostanoïdes contrateis em detrimento aos relaxantes, isso justificado pela redução da curva de contração do bloqueador na presença de indometacina. Souza (2018), também demonstrou uma redução da eficácia contrátil da FEN na presença de indometacina, em ratos alimentados com a mesma dieta hipercalórica (417,0 kcal/100 g) durante oito semanas. Estudos anteriores reafirmam ainda que a adiposidade corporal aumentada associada a produção de espécies reativas de oxigênio podem contribuir para os danos na produção de prostanoïdes relaxantes, resultando na disfunção endotelial e consequentemente favorecendo o desenvolvimento da disfunção erétil nos ratos (ALVAREZ et al., 2007; VANOUTTE et al., 2009).

Entretanto, quando esses animais foram suplementados com a alga, foi observado um aumento da curva de FEN, na dose de 50 mg/kg, na presença de indometacina, e que na dose de 100 mg/kg esse aumento foi ainda maior. A partir desses dados, pode-se sugerir que, possivelmente, a *S. platensis* estaria promovendo um aumento na síntese de prostanoïdes relaxantes que dificultam a contração. Dessa forma, a alga além de modular positivamente a via do NO, está restaurando as alterações deletérias causadas pelo consumo da dieta hipercalórica sobre a via dos prostanoïdes, o que comprova ainda mais o efeito benéfico da *S. platensis* sobre a função erétil desses ratos.

Ao analisar os ratos que consumiram a dieta hipercalórica e posteriormente foram alimentados com a dieta padrão, verificou-se redução de 3,8 vezes na eficácia contrátil da FEN na presença de indometacina, efeito esse similar ao observado nos ratos alimentados apenas com a dieta hipercalórica, ou seja, os danos causados sobre

a via do ácido araquidônico pelo consumo dessa dieta não foram restaurados apenas pela alteração dietética nesses animais. Inferindo-se, portanto, que os efeitos deletérios, como o aumento da adiposidade corporal, provenientes do consumo da dieta hipercalórica desencadeiam alterações sobre as vias do NO e dos prostanoides, e que essas alterações não podem ser revertidas apenas com mudanças nos hábitos alimentares.

A saber, o ciclo erétil é composto por quatro fases: flacidez, tumescência, ereção e detumescência. Todos esses processos envolvem a participação de eventos simultâneos e sinérgicos com a liberação de substâncias contráteis e relaxantes das fibras nervosas e da camada endotelial, que cobre a musculatura lisa dos corpos cavernosos (MÓNICA; DE NUCCI, 2018).

Os processos de flacidez e ereção peniana são modulados por mecanismos que controlam o relaxamento da musculatura lisa dos corpos cavernosos do pênis. A partir disso, foi levantada a hipótese de que o consumo da dieta hipercalórica poderia reduzir a responsividade relaxante cavernosa de ratos e que a suplementação alimentar com a *S. platensis* possivelmente estaria envolvida na modulação positiva desse relaxamento e/ou restauraria as alterações causadas pelo consumo da dieta hipercalórica sobre a reatividade relaxante dependente do endotélio, para isso foram realizadas curvas cumulativas concentrações-resposta de relaxamento com a ACh.

Diante de tal metodologia, foi demonstrado que a eficácia relaxante da ACh entre os ratos que consumiram a dieta hipercalórica, durante as dezesseis semanas, foi diminuída quando comparada a curva de relaxamento desse agonista, do grupo alimentado unicamente com a dieta padrão. Sabe-se que, diabetes mellitus, hipercolesterolemia, hipertensão, idade avançada e obesidade aumentam a incidência da DE. A perda da integridade funcional endotelial e, posteriormente, a disfunção endotelial advinda desses eventos ou de suas associações, contribui para o desenvolvimento da DE (RAJFER et al., 1992; BURNETT et al., 2004). Estudos anteriores também demonstraram a correlação existente entre a disfunção endotelial e a redução do relaxamento dependente de endotélio em corpo cavernoso de camundongos obesos (TOQUE et al., 2010), ratos diabéticos (TOQUE et al., 2013), ratos idosos (SILVA et al., 2014) ou ratos com adiposidade corporal aumentada (SOUZA, 2018).

A suplementação alimentar com a *S. platensis* nas doses de 25 e 100 mg/kg no grupo que consumiu apenas a dieta hipercalórica não alteraram a curva de relaxamento

promovida pela ACh. Entretanto, no grupo alimentado com a dieta hipercalórica e suplementado com a alga na dose de 50 mg/kg, a eficácia relaxante do agonista foi aumentada, ultrapassando o relaxamento observado nos ratos que foram alimentados apenas com a dieta padrão. Diante desses resultados, pode-se inferir que as suplementações com a *S. platensis* podem estar modulando positivamente as vias de sinalização do NO, bem como dos prostanoïdes, uma vez que as alterações e efeitos deletérios desencadeados pelo consumo da dieta hipercalórica sobre a reatividade relaxante dos corpos cavernosos foram restauradas.

Ademais, a curva de relaxamento da ACh dos ratos alimentados com a dieta hipercalórica e posteriormente com a dieta padrão, não foi alterada quando comparada ao grupo DHC, porém, ao comparar essa curva com o grupo DP, é observado uma diminuição da eficácia relaxante desse agonista, reafirmando mais uma vez que os danos provocados pelo consumo da dieta hipercalórica sobre a responsividade relaxante cavernosa, não são restaurados única e exclusivamente pela alteração dietética alimentar, ou seja, a substituição da dieta hipercalórica por uma dieta padrão (normocalórica) não produz efeitos benéficos sobre as reatividades contrátil e relaxante do corpo cavernoso de ratos Wistar.

Tendo como base a importância do estresse oxidativo no desenvolvimento da DE, principalmente pela influência dos radicais livres sobre a reatividades contrátil e relaxante cavernosa. Para isso, foi hipotetizado se o consumo da dieta hipercalórica e a suplementação com *S. platensis*, na dose (50 mg/kg) que potencializou o efeito da ACh, alterariam o relaxamento dos corpos cavernosos, através da modulação das ROS, e portanto, evidenciar se o estresse oxidativo é um dos alvos modulados pela alga para restaurar os danos à função erétil dos ratos.

As preparações foram, então, incubadas durante 30 minutos, com a apocinina, também conhecida como acetovanilona, um inibidor não seletivo da NADPH oxidase (JIN et al., 2008; MUSICKI et al., 2010; DAYAL et al., 2013), previamente a indução do relaxamento com a ACh. Nos ratos que consumiram apenas a dieta padrão foi observado que não houve alteração da eficácia e potência na curva de relaxamento da ACh na presença da apocinina, inferindo-se que o relaxamento produzido pela ACh não envolve a formação do ânion superóxido pelo sistema enzimático NADPH oxidase. Quando foi colocado o tempol neste grupo DP, um mimético da SOD responsável pela redução dos níveis do ânion superóxido do meio, verificou-se que o relaxamento promovido pelo agonista foi aumentado. Ressaltando assim, que, em um sistema

fisiológico normal a produção e a presença do ânion superóxido está diretamente relacionada a redução da eficácia relaxante, dificultando o relaxamento do corpo cavernoso de rato, uma vez que já é demonstrado o papel e a influência danosa do ânion superóxido, produzido a partir do complexo NADPH oxidase, sobre a reatividade relaxante do corpo cavernoso de rato (LIU et al., 2012; SILVA et al., 2013, SOUZA, 2018).

Similarmente, quando analisado os ratos que consumiram a dieta hipercalórica, a curva de relaxamento da ACh na presença da apocinina e do tempol, também não foi alterada, quando comparado a ausência dessas substâncias. Assim, a partir desses resultados sugere-se que a alteração dietética não promove mudanças na produção do ânion superóxido pelo complexo enzimático NADPH oxidase, uma vez que ambas as curvas de relaxamento, dos grupos DP e DHC, ficaram sobrepostas quando comparadas as curvas de relaxamento da ACh na ausência da apocinina e do tempol, porém, não pode ser descartado a possibilidade da produção das ROS através de outras vias independentes desse complexo.

A suplementação com 50 mg/kg de *S. platensis* nos ratos que consumiram a dieta hipercalórica potencializou o relaxamento promovido pela ACh, sem alteração do efeito máximo, na presença e na ausência da apocinina. Sugerindo-se que a suplementação alimentar com a alga promove melhorias na produção de radicais livres, e, consequentemente sobre o estresse oxidativo. Isso, observado pelo aumento da eficácia no grupo DHC + SP50, quando comparado ao grupo DHC, ambos na ausência da apocinina, e, quando foi colocado o tempol, a curva de relaxamento não alterou, possivelmente pela diminuição da disponibilidade de ânion superóxido do meio.

Diante disso, o próximo passo desse estudo foi a avaliação das influências do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com *S. platensis* (50 mg/kg) sobre os níveis intracelulares da enzima responsável pela catálise através da redução e da oxidação univaleente do íon superóxido a peróxido de hidrogênio e oxigênio molecular, a superóxido dismutase, considerada a primeira linha de defesa contra as ROS, atuando sobre os radicais superóxidos (DEVLIN, 1998; VOET et al., 2000; WASSMANN; WASSMANN; NICKENIG, 2004).

Para isso, os corpos cavernosos foram pré-incubados com tempol, um mimético da SOD (PEIXOTO et al., 2009). Nos ratos alimentados com a dieta padrão, na presença do tempol, observou-se aumento da eficácia relaxante da ACh.

Semelhantemente, nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica verificou-se aumento da eficácia relaxante do agonista na presença do mimético da SOD.

Se a suplementação alimentar com a *S. platensis* não reduzisse os níveis basais do ânion superóxido no corpo cavernoso dos ratos alimentados com a dieta hipercalórica, a potencialização do efeito relaxante da ACh deveria apresentar magnitude similar ao observado nos ratos que consumiram unicamente a dieta hipercalórica na presença do mimético da SOD. Entretanto os ratos suplementados com a alga na dose de 50 mg/kg apresentaram aumento da potência relaxante do agonista na presença do tempol.

Diante dos resultados observados e descritos até aqui, pode-se inferir que o consumo da dieta hipercalórica promoveu danos a reatividade contrátil e relaxante do corpos cavernosos de ratos Wistar, com consequente comprometimento da função erétil desses animais, mas que esses danos foram restaurados pela suplementação alimentar com a *S. platensis*. Essas alterações estão, portanto, relacionadas com a modulação da via do NO, dos prostanoïdes, bem como, das espécies reativas de oxigênio. Partindo desse contexto, o próximo passo dessa pesquisa foi a avaliação do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com a alga sobre o balanço entre estresse oxidativo e as defesas antioxidantes em corpos cavernosos de ratos Wistar.

Os métodos mais utilizados para aferição indireta das ROS e, consequentemente, das lesões oxidativas são os espectrofotométricos e cromatométricos, que medem a atividade enzimática como a SOD, catalase, GSH-Px e GSH-Rd e/ou a concentração de tripeptídeos como a glutationa reduzida (GSH) e aldeídos (MDA) (LUZ et al., 2011). A determinação dos níveis de MDA é realizada por meio de uma reação colorimétrica, em que moléculas do ácido tiobarbitúrico condensam-se com uma molécula de MDA, formando como produto um cromógeno de cor rosa fluorescente, capaz de ser detectado através de leitura espectrofotométrica (LABAER, 2005; CAMPOS et al., 2008; GIERA; LINGEMAN; NIESSEN, 2012). Tomando como base essa metodologia, para confirmar ou descartar a hipótese de que, o estresse oxidativo, oriundo do aumento da adiposidade corporal, esteja envolvido com o aumento da reatividade contrátil e diminuição da reatividade relaxante cavernosa, e que a potencial atividade antioxidante da *S. platensis* pudesse estar restaurando esses danos, foram avaliados os níveis de MDA, em amostras dos corpos cavernosos de ratos Wistar, nos quatro grupos experimentais.

Ao analisar o grupo alimentado com a dieta hipercalórica durante dezesseis semanas, é demonstrado que os níveis de MDA nestes ratos foram aumentados em relação àqueles quantificados no grupo alimentado com a dieta padrão. Tal resultado era esperado, corroborando com dados da literatura em que, os níveis de MDA aumentados no tecido adiposo estão relacionados ao aumento da adiposidade corporal, justificando portanto, que nesta condição, ocorre maior produção de citocinas pró-inflamatórias, a exemplo o TNF- α , a IL-1 e a IL-6, estas estimulam e aumentam a produção de ROS por macrófagos e monócitos infiltrados no tecido adiposo (MORROW, 2003; FONSECA et al., 2007). Além disso, Cani et al., (2008), demonstrou por meio de pesquisas experimentais com ratos Wistar, que os animais tratados com dieta hipercalórica apresentaram concentração de TBARS significativamente mais elevada que o grupo controle.

A suplementação alimentar com as doses de 25, 50 e 100 mg/kg de *S. platensis* nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica, reduziu os níveis de MDA nos corpos cavernosos, quando comparados ao grupo DHC. Inferindo-se que, a suplementação alimentar com a alga restaura os danos promovidos pelo consumo da dieta hipercalórica sobre a via da ROS, uma vez que, foi demonstrado redução de marcadores do estresse oxidativo no órgão em estudo. Esses dados colaboram com os resultados obtidos por Ferreira (2017), quando demonstrado que após o consumo da mesma dieta hipercalórica, por dezesseis semanas, a suplementação com a *S. platensis* reduziu os danos oxidativos sobre as reservas adiposas.

Adicionalmente, recentemente, Souza (2018), demonstrou efeito preventivo da suplementação alimentar com essa alga no aumento dos danos do estresse oxidativo, promovido pelo consumo da dieta hipercalórica durante oito semanas, sobre os tecidos adiposos, o plasma e os corpos cavernosos de ratos Wistar. Ademais, o grupo alimentado com a dieta hipercalórica e posteriormente essa dieta era substituída pela por uma dieta padrão, com a finalidade de simular uma possível mudança nos hábitos alimentares, verificou-se que não houve alteração na concentração de MDA quando comparado ao grupo DHC.

Dados bem consolidados demonstram que o aumento de MDA tecidual reflete o aumento da peroxidação dos ácidos graxos insaturados na membrana. Deve salientar-se que em níveis fisiológicos as ROS são úteis para o organismo, porém em concentrações elevadas apresentam-se como citotóxicas (SATTAMARAHDY et al., 2015). Em que, as várias condições, tais como a radiação, hipóxia, condições

inflamatórias, infecções, processos cancerígenos e obesidade induzem a formação exacerbada de níveis de ROS, produzindo por sua vez, peróxidos lipídicos da membrana que produzem MDA como um subproduto.

Em pacientes obesos há diversos fatores que interferem na suscetibilidade do indivíduo à presença do excesso de lesões oxidativas contribuintes para as comorbidades, dentre eles se destacam a hiperglicemia, os níveis elevados de lipídios teciduais, a inflamação crônica e as defesas antioxidantes inadequadas, além disso, vários estudos mostram acúmulo de subprodutos da peroxidação lipídica no plasma de indivíduos obesos (MAHAPATRA et al., 1998; LIMA et al., 2004; MELISSAS et al., 2006).

Em resposta ao estresse oxidativo tem-se o sistema antioxidante. Os antioxidantes são substâncias capazes de inibir oxidações que ocorrem nos sistemas biológicos. O mecanismo antioxidante envolve substâncias que previnem a geração de espécies reativas, capturem ou neutralizem estas espécies, prevenindo sua interação com a célula (BARREIROS et al., 2006). Adicionalmente, os antioxidantes, sejam naturais ou sintéticos, possuem elevada estabilidade oxidativa em função de sua estrutura molecular e, por isso, desempenham papel fundamental na prevenção da oxidação resultante da ação dos radicais livres (ANDRADE, 2007).

A produção contínua de radicais livres durante os processos metabólicos culminou no desenvolvimento de mecanismos de defesa antioxidante, que têm o objetivo de limitar os níveis intracelulares de tais espécies reativas e controlar a ocorrência de danos decorrentes (BARBOSA et al., 2010). Esse aumento da produção de ROS, nos sistemas biológicos, é contrabalanceado pela capacidade antioxidante corporal, que representa a capacidade do organismo de sequestrar os radicais livres através dos sistemas redox (BRIGHENTI et al., 2005). Na análise da capacidade antioxidante total, leva-se em conta a ação acumulativa de todos os antioxidantes presentes, obtendo-se um parâmetro integrado, capaz de revelar nuances acerca do delicado equilíbrio redox existente *in vivo*. A medida da capacidade antioxidante total auxilia na avaliação dos fatores nutricionais, fisiológicos e ambientais do balanço redox em seres humanos e animais (GHISELLI et al., 2000; GUPTA; CARABALLO; AGARWAL, 2019).

Existem amplas evidências indicando a importância da capacidade antioxidante total no plasma, nos tecidos e órgãos, e sua modificação durante o desenvolvimento do estresse oxidativo, bem como sua viabilidade como uma ferramenta na investigação da

associação existente entre a dieta alimentar e o estresse oxidativo (HADZOVIC-DZUVO et al., 2015; TIRAWATTANAKOSON et al., 2016). Além disso, a peroxidação lipídica e a conversão oxidativa de lipoproteínas de baixa densidade são consideradas um evento chave no processo biológico que inicia e acelera o desenvolvimento da DE.

Assim, para avaliar se o consumo da dieta hipercalórica e a suplementação alimentar com *S. platensis* alterariam a capacidade antioxidante tecidual dos ratos, foi utilizado o método calorimétrico da redução do DPPH, que se fundamenta na habilidade da amostra em reduzir o radical do DPPH a 1,1-difenil-2-picril hidrazina, detectada por espectrofotometria (FLOEGEL et al., 2011; GUPTA; CARABALLO; AGARWAL, 2019).

Utilizando essa metodologia, foi demonstrado que a capacidade antioxidante total dos corpos cavernosos foi reduzida nos ratos que consumiram a dieta hipercalórica, fato este correlacionado ao aumento dos níveis de MDA sistêmico nesses ratos, porém não foi verificado diferença quando comparado ao grupo alimentado com a dieta padrão. Sugerindo-se que, o aumento da adiposidade corporal contribui diretamente para maior produção de radicais livres, consequentemente, maior síntese de ROS, que neste sistema, em particular, poderia estar havendo um equilíbrio entre a produção de ROS e o sistema de defesa antioxidante, uma vez que não foi observado diferença entre os grupos DHC e DP, sabendo que, os sistemas antioxidantes são potencializados e ativados quando ocorre aumento na produção de radicais livres (MARCHI et al., 2013; ANTUS, 2016), fato este, baseado na semelhança entre a capacidade antioxidante total dos grupos DP e DHC e o aumento da concentração de MDA no corpo cavernoso do grupo DHC.

Analizando os ratos alimentados com a dieta hipercalórica e suplementados com a *S. platensis* nas doses de 25 e 100 mg/kg, a capacidade antioxidante do corpo cavernoso não foi alterada quando comparadas ao grupo DHC. Similarmente a esses dados, os ratos que tiveram a dieta hipercalórica substituída, após oito semanas, pela dieta padrão também não apresentaram variação quanto ao percentual de inibição da oxidação. Inferindo-se que as defesas antioxidantes sistêmicas desses ratos cooperam na remoção dos radicais livres teciduais, e, dessa forma, reduzem os efeitos danosos das ROS nos tecidos corporais.

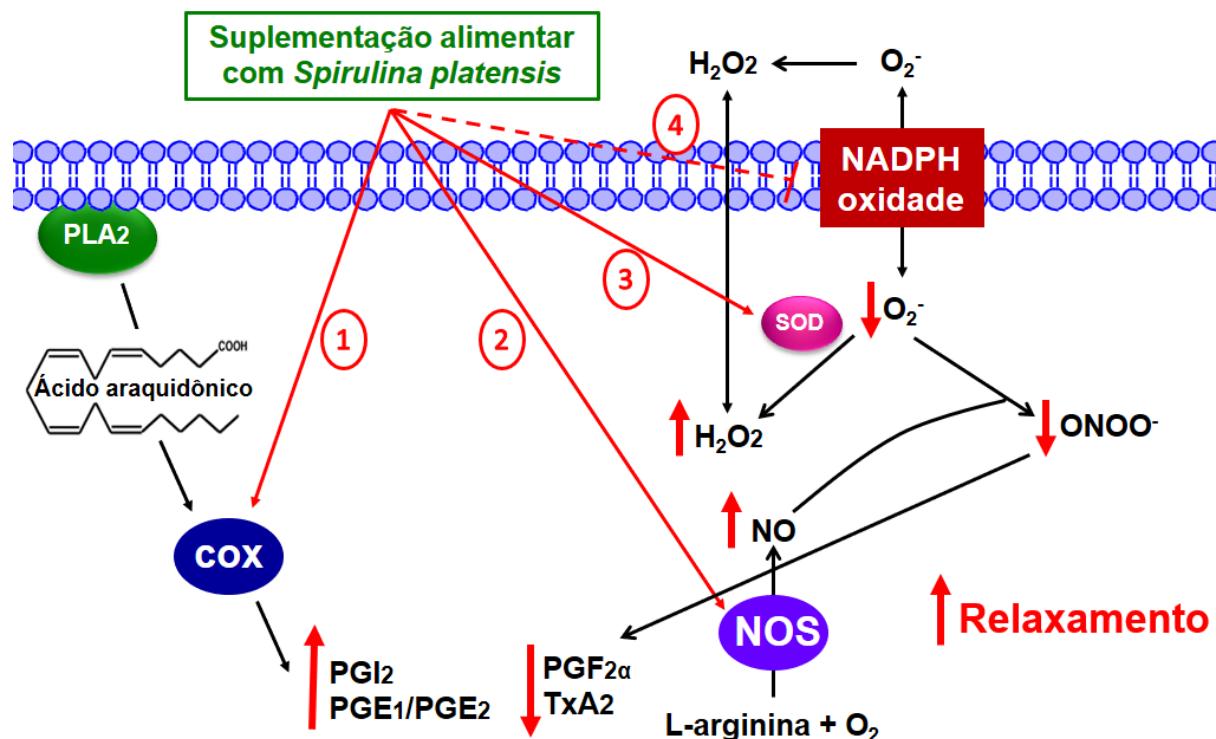
Entretanto, nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* na dose de 50 mg/g foi observado um aumento da capacidade antioxidante total dos corpos cavernosos quando comparado ao grupo DHC,

justificando a redução dos níveis de MDA quantificados no corpo cavernoso desses ratos, o que indica aumento das defesas antioxidantes pela alga, e que este aumento está relacionado, consequentemente, à remoção dos radicais livres neste órgão, diminuindo assim, os efeitos deletérios provenientes das ROS no corpo cavernoso desses ratos.

Estudos demonstram os efeitos antioxidantes da *S. platensis*, por vários mecanismos diferentes. Bashandy et al. (2016) mostraram que, em tecidos testiculares, essa alga marinha aumentou a expressão das enzimas antioxidantes SOD, CAT e GSH. Além disso, em outros estudos foi verificado que a ficocianina presente na *S. platensis*, possui elevado poder de sequestro de radicais livres, devido sua alta estabilidade, demonstrando assim sua excelente propriedade antioxidante (BHAT et al., 2010). Essa alga também possui em sua composição, carotenoides, vitaminas do complexo B e vitamina E, que promovem a regulação da SOD, CAT, bloqueio de radicais livres por quelação, podendo prevenir a peroxidação lipídica (CUVELIER, 2011). Com base nos dados da literatura e respaldado nos resultados obtidos neste estudo a partir da suplementação alimentar com a *S. platensis*, destaca-se o potencial papel dessa alga na reversão dos danos provenientes do estresse oxidativo, fato este associado também à potencialização da reatividade relaxante no corpo cavernoso, e consequentemente, à melhora da função erétil desses ratos.

Por fim, baseado nas alterações causadas pela suplementação alimentar com a *S. platensis* sobre os parâmetros envolvidos na reatividade cavernosa sumarizados no mapa conceitual (Figura 11), propõem-se a realização de estudos adicionais, em nível funcional e molecular e ensaios clínicos, para verificar se esses dados são transponíveis para seres humanos, uma vez que baseado na relação da área de superfície corporal (NAIR; JACOB, 2016), as suplementações alimentares utilizadas neste estudo (25, 50 e 100 mg/kg) estão dentro de um perfil aceitável para utilização em humanos (280, 560 e 1.120 mg/70 kg, respectivamente) e, assim, reafirmar o potencial benéfico da suplementação alimentar com a alga na reversão dos efeitos deletérios provenientes da dieta hipercalórica sobre o desenvolvimento da disfunção erétil.

Figura 11 – Mapa conceitual da modulação promovida pela suplementação alimentar com *Spirulina platensis* em ratos Wistar alimentados com hipercalórica.



A modulação da reatividade cavernosa pela suplementação alimentar com *S. platensis* em ratos Wistar envolve: 1. ativação da via da COX, com aumento da produção de prostanoïdes relaxantes e consequente diminuição de prostanoïdes contrateis; 2. ativação da NOS, com aumento da biodisponibilidade de NO; 3. ativação da enzima SOD, com consequente diminuição do O_2^- e da formação de $ONOO^-$ e aumento da concentração de H_2O_2 ; e 4. inibição do complexo NADPH oxidase, com consequente diminuição da formação do O_2^- . As definições das abreviaturas estão presentes na lista de abreviaturas e no texto.

Fonte: DINIZ, 2019.

7 Conclusões

Na avaliação da suplementação alimentar com a *Spirulina platensis* em ratos Wistar que consumiram a dieta hipercalórica, conclui-se que os efeitos danosos provenientes do consumo desta dieta são restaurados, uma vez que a alga promove:

- Redução dos níveis de triglicerídios;
- Aumento do número de ereções, bem como, redução do tempo para o início das ereções penianas, *in vivo*.
- Redução da reatividade contrátil cavernosa;
- Aumento da responsividade relaxante cavernosa;
- Redução do estresse oxidativo tecidual;
- Melhora das defesas antioxidantes;

Além disso, pode-se concluir também que a reeducação alimentar, realizada pela substituição da dieta hipercalórica pela dieta padrão apesar de favorecer o aumento no número de ereções e reduzir o tempo para início das ereções penianas, não reverte o aumento da reatividade contrátil e a diminuição da reatividade relaxante, bem como, não altera o estresse oxidativo e o sistema antioxidantante.

Referências

ABBASI, F. et al. High carbohydrate diets, triglyceride-rich lipoproteins, and coronary heart disease risk. **AM J CARDIOL.**, 85: 45-8, 2005.

AHIMA RS, FLIER JS. Adipose tissue as an endocrine organ. **Trends Endocrinol Metab** 2000;11:327-32.

AITLHADJ, L. et al., Environmental exposure, obesity, and Parkinson's disease: lessons from fat and old worms, **Environ. Health Perspect.** 119 (1) (2012) 20-28.

ALMEIDA; M. R.; LIMA, J. A.; SANTOS, N. P.; PINTO, A. C.; **Rev. Bras. Farmacogn.** 2009, 19, 942.

AMIRKHIZI F, SIASSI F, MINAIE S, DJALALI M, et al. Is obesity associated with increased plasma lipid peroxidación and oxidative stress in women. **ARYA Atheroscler.** J. v.2: 189-192, 2017.

ANANYA AK, AHMAD IZ. Cyanobacteria "the blue green algae" and its novel applications: a brief review. **Int J Innov Appl Stud** 2014; 7: 251-61.

ANDERSON, N. L.; ANDERSON, N. G.; MOL. **Cell Proteom.** 2002, 1, 845.

ANDERSSON, K. E. Erectile physiological and pathophysiological pathways involved in erectile dysfunction. **The Journal of Urology**, v. 170, n. 2, p. S6-S14, 2003.

ANDERSSON, K. E. Mechanisms of penile erection and basis for pharmacological treatment of erectile dysfunction. **Pharmacological Reviews**, v. 63, p. 811-859, 2011.

ANDERSSON, K. E. Pharmacology of penile erection. **Pharmacological Reviews**, v. 53, p. 417-450, 2001.

ANDERSSON, K. E.; STIEF, C. G. Neurotransmission and the contraction and relaxation of penile erectile tissues. **World Journal of Urology**, v. 15, n. 1, p. 14-20, 1997.

ANDERSSON, K. E.; WAGNER, G. Physiology of penile erection. **Physiological Reviews**, v. 75, n. 1, p. 191-237, 1995.

ANDRADE-OLIVEIRA V, CÂMARA NOS, MORAES-VIEIRA PM. Adipokines as drug targets in diabetes and underlying disturbances. **J Diabetes Res.** 2015;2015.

ANDRADE-WARTHA ERS. Capacidade antioxidante *in vitro* do pedúnculo de caju (*Anacardium Occidentale* L.) e efeito sobre as enzimas participantes do sistema antioxidante de defesa do organismo animal. **[Tese de Doutorado]**. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2007.

ANILA, L.; VIJAYALAKSHMI, N. R. Antioxidant action of fl avonoids from *Mangifera indica* and *Emblica offi cinalis* in hypercholesterolemic rats. **Food Chem.**, v. 83, n. 4, p. 569-574, 2003.

ANTUÑA VC, GÓMEZ FJM, ESCAF S, FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ F. Etiología neurógena en pacientes con disfunción erectil. **Arch Esp Urol.** 2015;61(3):403-11. Disponível em: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S000406142008000300007&lng=es.

APA - American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders (5 th ed.), 2012.

ARAÚJO, L.C.C. (2014), Exercício aeróbio crônico de natação promove alterações morofuncionais em íleo de ratos. **Dissertação (mestrado em biologia celular e molecular)**. Universidade Federal da Paraíba.

Associação Brasileira para o Estudo da obesidade e da Síndrome Metabólica (**ABESO**) (2016). Disponível em: <http://www.abeso.org.br/noticia/quase-60-dos-brasileiros-estao-acima-do-peso-revela-pesquisa-do-ibge>

ATANASOV, A.G., WALTENBERGER, B., PFERSCHY-WENZIG, E.M., LINDER, T., WAWROSCH, C., UHRIN, P., et al.,. Discovery and resupply of pharmacologically active plantderived natural products: a review. **Biotech. Adv.** 33, 1582–1614, 2015.

AVERY LL, SCHEINFELD MH. Imaging of penile and scrotal emergencies. **Radiographics**. 2015;33:721-40.

AWAD A, ALSAID B, BESSEDE T, DROUPY S, BENOIT G. Evolution in the concept of erection anatomy. **Surgical and Radiologic Anatomy**, 33(4):301-312, 2011.

AXELSON HW, JOHANSSON E, BILL-AXELSON A. Intraoperative Cavernous Nerve Stimulation and LaserDoppler Flowmetry during Radical Prostatectomy. **J Sex Med**, DOI 10.1111/j.1743-6109.2012.02892.x, 2012.

AXELSON HW, JOHANSSON E, BILL-AXELSON A. Intraoperative Cavernous Nerve Stimulation and LaserDoppler Flowmetry during Radical Prostatectomy. **J Sex Med**, DOI 10.1111/j.1743-6109.2012.02892.x, 2012.

AYHANCI, A., APPAK, S., & CENGIZ, M. I -NAME as a Synthetic Antioxidant in Liver Injuries. **The Liver**, 131–137, 2018. doi:10.1016/b978-0-12-803951-9.00012-4

B. OBERMAN, A. KHAKU, F. CAMACHO, D. GHLDENBERG, Relationship between obesity, diabetes and the risk of thyroid cancer, **Am. J. OtolarynGHI**. 36 (2015) 535–541. <http://dx.doi.org/10.1016/j.amjoto.2015.02.015>.

B.W. MCCRINDLE, Cardiovascular Consequences of Childhood Obesity, **Can. J. Cardiol.** 31 (2015) 124–130., <http://dx.doi.org/10.1016/j.cjca.2014.08.017>.

BAHIA, L.; COUTINHO, E. S. F.; BARUFALDI, L. A.; ABREU, G. A. The costs of overweight and obesity related diseases in the Brazilian public health system: cross-sectional study. **BMC Public Health**, v. 12, n. 440, p. 440-447, 2012.

BARBOSA KB, COSTA NM, ALFENAS RC, SÉRGIO OLIVEIRA DE PAULA SO, MINIM VP, BRESSAN J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Rev Nutr.** 2010;23.

BARREIROS, ALBS; DAVID, JM; DAVID, JP. Estresse Oxidativo: Relação entre Geração de Espécies Reativas e Defesa do Organismo. **Química Nova**. 29:113-123, 2006.

BARTELT, A.; HEEREN, J. Adipose tissue browning and metabolic health. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 10, n. 1, p. 24-36, 2014.

BASHANDY S.A. E. B., SALLY A. E.A., HOSSAM E. and IBRAHIM M. A. (2016), Antioxidant Potential of *Spirulina platensis* Mitigates Oxidative Stress and Reprotoxicity Induced by Sodium Arsenite in Male Rats. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**. Vol 16, pp122-130.

BAUMGARD LH, HAUSMAN GJ, SANZ FERNANDEZ M V. Insulin: Pancreatic secretion and adipocyte regulation. **Domest Anim Endocrinol**. 2016;54:76– 84.

BEJIN, A. The epidemiology of premature ejaculation and of its association with erectile dysfunction. **Adrologie**, v. 9, p. 211-225, 1999.

BERRIDGE, M. J. Cell Signalling Pathways. In: **Cell Signalling Biology**. Portland Press Limited, p. 1-118, 2014.

BERLINCK, R. G. S., HAJDU, E., DA ROCHA, R. M., DE OLIVEIRA, J. H. H. L., HERNANDEZ, I. L. C., SELEGHIM, M. H. R., GRANATO, A. C., DE ALMEIDA, E. V. R., NUNEZ, C. V., MURICY, G., PEIXINHO, S., PESSOA, C., MORAES, M. O., CAVALCANTI, B. C., NASCIMENTO, G. G. F., THIEMANN, O., SILVA, M., SOUZA, A. O., SILVA, C. L., MINARINI, P. R. R.; **J. Nat. Prod.** 2004, 67, 510.

BERLINCK, R. G. S., HAJDU, E., DA ROCHA, R. M., DE OLIVEIRA, J. H. H. L., HERNANDEZ, I. L. C., SELEGHIM, M. H. R., GRANATO, A. C., DE ALMEIDA, E. V. R., NUNEZ, C. V., MURICY, G., PEIXINHO, S., PESSOA, C., MORAES, M. O., CAVALCANTI, B. C., NASCIMENTO, G. G. F., THIEMANN, O., SILVA, M., SOUZA, A. O., SILVA, C. L., Minarini, P. R. R.; **J. Nat. Prod.** 2004, 67, 510.

BERLINCK, R. G. S.; **Ciênc. Cult.** 2012, 64, 27.

BERTOLOTTO M, PAVLICA P, SERAFINI G , et al. Painful penile induration: imaging findings and management. **Radiographics**. 2009;29:477-93.

BERTONI, S.; BALLABENI, V.; FLAMMINI, L.; GHBBETTI, T.; IMPICCIATORE, M.; BAROCELLI, E. Intestinal chronic obstruction affects motor responsiveness of rat hypertrophic longitudinal and circular muscles. **Neurogastroenterol Motil**, v. 20, p. 1234–1242, 2008.

BERTONI, S.; GABELLA, G.; GHIZZARDI, P. BALLABENI, V.; IMPICCIATORE, M.; LAGRSTA, C.; ARCARI, M. L.; BAROCELLI, E. Motor responses of rat hypertrophic intestine following chronic obstruction. **Neurogastroenterol Motil**, v. 16, p. 365–374, 2004.

BHATT S, KOCAKOC E, RUBENS DJ, et al. Sonographic evaluation of penile trauma. **J Ultrasound Med**. 2010;24:993-1000.

BIVALACQUA TJ, USTA MF, KENDIRCI M, PRADHAN L, ALVAREZ X, CHAMPION HC, KADOWITZ PJ, HELLSTROM WJ. Superoxide anion production in the rat penis impairs erectile function in diabetes: influence of in vivo extracellular superoxide dismutase gene therapy. **J Sex Med**. 2005; 2: 187-197.

BLAUSTEIN, M. P. Sodium/Calcium exchange in cardiac, smooth and skeletal muscles: key to the control of contractility. In: HOFFMAN, J. F.; GLEBISCH, G. (Eds). **Current Topics in Membranes and Transport**. Academic Press, Inc, San DieGH, v. 34, p. 289-330, 1989.

BLUNT, J. W.; COPP, B. R.; KEYZERS, R. A.; MUNRO, M. H.; PRINSEP, M. R. Marine natural products. **Natural Product Reports**, v. 31, n. 2, p. 160-258, 2014.

BLUNT, J.W., COPP, B.R., KEYZERS, R.A., MUNRO, M.H.G. and PRINSEP, M.R. (2012), Marine natural products. **Nature Products Reports**. Vol. 29, pp. 144-222.

BLUNT, J.W., COPP, B.R., KEYZERS, R.A., MUNRO, M.H.G., PRINSEP, M.R., Marine natural products. **Nat. Prod. Rep.** 32, 116–211. 2015.

BOOTH A, MAGNUSON A, FOUTS J, FOSTER M. Adipose tissue, obesity and adipokines: role in cancer promotion. **Horm Mol Biol Clin Invest**. 2015; 21(1): 57–74.

BOREL AL, SCHWEBEL C, PLANQUETTE B, VESIN A, GARROUSTE-ORGEAS M, ADRIE C, et al. Initiation of nutritional support is delayed in critically ill obese patients: A multicenter cohort study. **Am J Clin Nutr** 2014;100:859–66.

BOUCHER J, MASRI B, DAVIAUD D, GESTA S, GUIGNE C, MAZZUCOTELLI C, et al. Apelin, a newly identified adipokine up-regulated by insulin and obesity. **Endocrinology** 2005;146:1764-71.

BOUDERBALA, S.; LAMRI-SENHADJI, M.; PROST, J.; LACAILLE-DUBOIS, M. A.; BOUCHENAK, M. Changes in antioxidant defense status in hypercholesterolemic rats treated with Ajuga iva. **Phytomedicine**, v. 15, n. 6-7, p. 453-461, 2008.

BOURNAT J.C, BROWN C.W. Mitochondrial dysfunction in obesity. **Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes**. v.17:446-452, 2010.

BOWERS, R. R.; FESTUCCIA, W. T.; SONG, C. K.; SHI, H.; MOGLIORINI, R. H.; BARTNESS, T. J. Sympathetic innervation of white adipose tissue and its regulation of fat cell number. **American Journal of Physiology, Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 286, p. 1167-1175, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Suplementos alimentares: documentos de base para discussão regulatória**, 2017a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Estratégias para o Cuidado da Pessoa com Doença Crônica - Obesidade, **Cadernos de Atenção Básica**, nº 38. Brasília, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Doenças e Agravos não transmissíveis e Promoção da Saúde. **Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico**, (Vigitel). Brasília, 2017b.

BRAUN, M.; WASSMER, G.; KLOTZ, T.; REIFENRATH, B.; MATHERS, M.; ENGELMANN, U. Epidemiology of erectile dysfunction: results of the 'Cologne Male Survey'. **International Journal of Impotence Research**, v. 12, n. 6, p. 305, 2000.

BRENNAN, V. M.; KUMANYIKA, S. K.; ZAMBRANA, R. E. Introduction: advancing a new conversation about obesity in the underserved. **Obesity interventions in**

underserved communities: evidence and directions. Baltimore (MD): Johns Hopkins University Press, p. 1-21, 2014.

BRITO, A. F. Treinamento de força e suplementação alimentar com *Spirulina platensis* modulam a reatividade vascular de aorta de ratos wistar saudáveis dependente do óxido nítrico e da atividade antioxidante. **Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos).** Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2014.

BRUNORI, M.; ROTILIO, G. Biochemistry of oxygen radical species. **Methods in Enzymology**, v. 105, p. 22-35, 1984.

BRYAN S, BAREGZAY B, SPICER D, SINGAL P.K, KHAPER N. Redox-inflammatory synergy in the metabolic syndrome. **Can. J. Physiol. Pharmacol.** v 91: 22-30, 2013.

BURNETT AL. Evaluation and management of erectile dysfunction. In: Wein AJ, Kavoussi LR, Campbell MF, et al. Campbell-Walsh urology. 10th ed. Philadelphia: Elsevier; 2012. v.1, p.721-9.

BURNETT AL. Novel nitric oxide signaling mechanisms regulate the erectile response. **Int J Impot Res** 2004;16:S15-9

BURNETT AL. The role of nitric oxide in erectile dysfunction: implications for medical therapy. **J Clin Hypertens** 2006;8:53-62.

BUZIN L. Avaliação de função erétil, parâmetros androgênicos, questionários de rastreamento de hipogonadismo de início tardio e obesidade central em homens com 40 anos ou mais, participantes de um rastreamento de câncer de próstata [dissertação]. Porto Alegre: **Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas**, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS); 2010. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10183/18771>.

C. POWER, S.M. PINTO PEREIRA, C. LAW, M. KI, Obesity and risk factors for cardiovascular disease and type 2 diabetes: investigating the role of physical activity and sedentary behaviour in mid-life in the 1958. **British cohort, Atherosclerosis** 233 (2014) 363–369., <http://dx.doi.org/ 10.1016/j.atherosclerosis.2014.01.032>.

CALCERRADA, P., PELUFFO, G., RADI, R. Nitric oxide-derived oxidants with a focus on peroxynitrite:molecular targets, cellular responses and therapeutic implications, 2011. **Curr. Pharm. Des.** 17, 3905–3932.

CALDER PC, AHLUWALIA N, BROUNS F, BUETLER T, CLEMENT K, CUNNINGHAM K, et al. Dietary factors and low-grade inflammation in relation to overweight and obesity. **Br J Nutr.** 2011;106(S3):S5–78.

CALICETI C, CALABRIA D, RODA A, CICERO A. Fructose Intake, Serum Uric Acid, and Cardiometabolic Disorders: A Critical Review. **Nutrients**. 2017;9(4):395.

CAMPOS PETEAN C, FERRIANI RA, DOS REIS RM, DE MOURA MD, JORDÃO AA JR, NAVARRO PA. Lipid peroxidation and vitamin E in serum and follicular fluid of infertile women with peritoneal endometriosis submitted to controlled ovarian hyperstimulation: a pilot study. **Fertil Steril.** 2008;90(6):2080-5.

CANNON B, NEDERGAARD J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. **Physiol Rev** 2004;84:277- 359.

Cardiovascular Disease Risk in People with Type 2 Diabetes. **Curr Obes Rep.** 2017;1–9.

CARDOZO, K.H.M., GUARATINI, T., BARROS, M.P., FALCÃO, V.R., TONON, A.P., LOPES, N.P., CAMPOS, S., TORRES, M.A., SOUZA, A.O., COLEPICOLO, P., PINTO, E., Metabolites from algae with economical impact. **Comp. Biochem. Physiol. Part C: Toxicol. Pharmacol.** 146, 60–78, 2007.

CAROCHE M, FERREIRA IC. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food Chem Toxicol.** 2013;51:15-25. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2012.09.021>. PMid:23017782.

CASAVALLE P L, LIFSHITZ F, ROMANO LS, PANDOLFO M, CAAMAÑO A, BOYER PM, RODRÍGUEZ PN, FRIEDMAN SM. Prevalence of dyslipidemia and metabolic syndrome risk factor in overweight and obese children. **Pediatric Endocrinology Reviews** 2014;12(2):213-223.

CAU, S. B. A., EVORA, P. R. B., & TOSTES, R. C. Vasoconstrictor Substances Produced by the Endothelium. **Endothelium and Cardiovascular Diseases**, 115–125, 2018. doi:10.1016/b978-0-12-812348-5.00009-x

CELLEK S, MONCADA S. Nitrergic control of peripheral sympathetic responses in the human corpus cavernosum. A comparison with other species. **Proc Natl Acad Sci U S A** 1997;94:8226-8231.

CELLEK S. Nitrergic-noradrenergic interaction in penile erection: a new insight into erectile dysfunction. **Drugs Today** 2000; 36:135-146

CHAGAS-PAULA, D. A.; ZHANG, T.; DA COSTA, F. B.; EDRADA-EBEL, R. A. **Metabol. Metabol.** 2015, 5, 404.

CHALLOUF R, TRABELSI L, BEN DHIEB R, EL ABED O, YAHIA A, GHOZZI K, et al. Evaluation of cytotoxicity and biological activities in extracellular polysaccharides released by cyanobacterium *Arthospira platensis*. **Braz Arch Biol Technol** 2011; 54(4): 831-8.

CHENNI, A.; YAHIA, D. A.; BOUKORTT, F. O.; PROST, J.; LACAILLE-DUBOIS, M. A.; BOUCHENAK, M. Effect of aqueous extract of *Ajuga iva* supplementation on plasma lipid profile and tissue antioxidant status in rats fed a high-cholesterol diet. **J. Ethnopharmacol.**, v. 109, n. 2, p. 207-213, 2007.

CHITALEY K, KUPELIAN V, SUBAK L, WESSELLS H. Diabetes, obesity and erectile dysfunction: field overview and research priorities. **J Urol.** 2009;182(6):45-50. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.juro.2009.07.089>.

CHOE S.S, HUH J.Y, HWANG I.J, KIM J.I, KIM J.B. Adipose Tissue Remodeling: its Role in energy Metabolism and Metabolic Disorders. **Front Endocrinol.** v 7: 1-16, 2016.

CHOI, E. M.; HWANG, J. K. Effect of some medicinal plants on plasma antioxidant system and lipid levels in rats. **Phytother. Res.**, v. 19, n. 5, p. 382-386, 2005.

CHUNG, E., DE YOUNG, L., & BROCK, G. B. Investigative Models in Erectile Dysfunction: A State-of-the-Art Review of Current Animal Models. **The Journal of Sexual Medicine**, 8(12), 3291–3305, 2011. doi:10.1111/j.1743-6109.2011.02505.x

CIFERRE, O. (1983), Spirulina, the edible microorganism. **Microbiology Reviews**. Vol.47, pp-551-578.

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

CIRINO G, FUSCO F, IMBIRABO C, MIRONE V. Pharmacology of erectile dysfunction in man. **Pharmacol Therap**, 111(2):400-423, 2006.

COBAN S, CANDER S, ALTUNER MS, KELES I, GUL OO. Does metabolic syndrome increase erectile dysfunction and lower urinary tract symptoms. **Urol J** 2015;11:1820–4.

COELHO M, OLIVEIRA T, FERNANDES R. Biochemistry of adipose tissue: an endocrine organ. **Arch Med Sci**. 2013;9(2):191-200. <http://dx.doi.org/10.5114/aoms.2013.33181>. PMid:23671428

COLSON, M. H., CUZIN, B., FAIX, A., GRELLET, L., & HUYGHES, E. Current epidemiology of erectile dysfunction, an update. **Sexologies**, 27(1), e7–e13. 2018. doi:10.1016/j.sexol.2018.01.018

CONCHA, N.P., LONG, P.F. Mining the microbial metabolome: a new Frontier for natural product lead discovery. **Drug Dis. Today** 8, 1078–1084, 2003.

CORONA, G.; RASTRELLI, G.; MONAMI, M.; GUAY, A.; BUVAT, J.; SFORZA, A.; FORTI, G.; MANNUCCI, E.; MAGGI, M. Hypogonadism as a risk factor for cardiovascular mortality in men: a meta-analytic study. **European Journal of Endocrinology**, v. 165, n. 5, p. 687-701, 2011.

COSKUNZ. , M. KEREM, N. GURBUZ, S.OMEROGLU, H. PASAOGLU, C. DEMIRT AS, N.LORTLAR, B. SALMAN, O. PASAOGLU, H. TURGUT. The study of biochemical and histopathological effects of spirulina in rats with TNBS-induced colitis Bratisl. **Lek. Listy**, 112 (2011), pp. 235-243.

COSTA, P.; POTEMPA, A. J. Intraurethral alprostadil for erectile dysfunction: a review of the literature. **Drugs**, v. 72, p. 2243-2254, 2012.

CSISZAR A, UNGVARI Z, EDWARDS JG, KAMINSKI P, WOLIN MS, KOLLER A, KALEY G. Aging-induced phenotypic changes and oxidative stress impair coronary arteriolar function. **Circ Res**. 2002; 90: 1159-1166.

CUMMINS T.D, HOLDEN C.R, SANSBURY B.E, GIBB A.A, et al. Metabolic remodeling of white adipose tissue in obesity. **Am J Physiol Endocrinol Metab**. v.307: E262–E277, 2014.

CURI R, POMPÉIA C, MIYASAKA CK, PROCÓPIO J. Entendendo a gordura. **Os ácidos graxos**. São Paulo:Manole; 2002. p.163-72.

CUVELIER, M.E. (2001), *Antioxidants in: functional foods and introductory course*. Universidade Católica Portuguesa – **Escola Superior de Biotecnologia**, Porto. D'AQUILA, P. S.; PANIN, F.; COSSU, M.; PEANA, A. T.; SERRA, G.; **Eur. J. Pharmacol.** 2010, 460, 71.

D'OCÓN, P. Phenylephrine. **Reference Module in Biomedical Sciences**. 2017. doi:10.1016/b978-0-12-801238-3.96665-0

DARLEY-USMAR V, WISEMAN H, HALLIWELL B. Nitric oxide and oxygen radicals: a question of balance. **FEBS Lett.** 1995; 369: 131-5.

DAVIDSON, S. K.; ALLEN, S. W.; LIM, G. E.; ANDERSON, C. M.; HAYGOOD, M.G.; **Appl. Env. Microbiol.** 2008, 67, 4531.

DAYAL S, WILSON KM, MOTTO DG, MILLER FJ JR, CHAUHAN AK, LENTZ SR. Hydrogen peroxide promotes aging-related platelet hyperactivation and thrombosis. **Circulation.** 2013 26; 127(12):1308-16.

De GROAT WC, BOOTH A. Neural Control of penile erection. London: **Harwood**, 1993.

DEAN RC, LUE TF. Physiology of penile erection and pathophysiology of erectile dysfunction. **Urol Clin N Am**, 32(4):379-395, 2005

DENG R, CHOW TJ. Hypolipidemic, antioxidant, and antiinflammatory activities of microalgae Spirulina. **Cardiovasc Ther.** 2010;28(4):e33–45.

DEVLIN, THOMAS M. *Manual de bioquímica com correlações clínicas*. 4. Ed. São Paulo: **Edgard Blucher**, 1998.

DEWICK, P. M.; Medicinal natural products: a biosynthetic approach, **John DICKERSON RN, MEDLING TL, SMITH AC, MAISH 3RD GO, CROCE MA, MINARD G, et al.** Hypocaloric, high-protein nutrition therapy in older vs younger critically illpatients with obesity. **JPEN J Parenter Enteral Nutr** 2013;37:342–51.

DICKERSON RN, PATEL JJ, MCCLAIN CJ. Protein and calorie requirements associatedwith the presence of obesity. **Nutr Clin Pract** 2017;32:86 S–93 S.

DING W, CHENG H, YAN Y, ZHAO X, CHEN F, HUANG G, HOU D, MI1 J. 10-Year trends in serum lipid levels and dyslipidemia among children and adolescents from several schools in Beijing, China. **J Epidemiol** 2016;26(12):637-645. doi:10.2188/jea.JE20140252.

DONATO AJ, ESKURZA I, SILVER AE, LEVY AS, PIERCE GL, GATES PE, SEALS DR. Direct evidence of endothelial oxidative stress with aging in humans: relation to impaired endothelium-dependent dilation and upregulation of nuclear factor-kappaB. **Circ Res.** 2007; 100 (11): 1659-1666.

DONATO AJ, ESKURZA I, SILVER AE, LEVY AS, PIERCE GL, GATES PE, SEALS DR. Direct evidence of endothelial oxidative stress with aging in humans: relation to impaired endothelium-dependent dilation and upregulation of nuclear factor-kappaB. **Circ Res.** 2007; 100 (11): 1659-1666.

DREW, S.W., DEMAIN, A.L. Effect of primary metabolites on secondary

DREYFUS, M. M.; CHAPELA, I. H. Em The Discovery of Natural Products with

ECHTAY, K. Mitochondrial uncoupling proteins-What is their physiological role? **Free Radic. Biol. Med.** v. 43, p. 1351-1371, 2007.

EL ASSAR M, ANGULO J, RODRÍGUEZ-MAÑAS L. Oxidative stress and vascular inflammation in aging. **Free Radic Biol Med.** 2013.

EL-DESOKY, G. E., BASHANDY, S. A., ALHAZZA, I. M., AL-OTHMAN, Z. A., ABOUL-SOUD, M. A. M.; YUSUF, K. Improvement of mercuric chloride-induced testis injuries and sperm quality deteriorations by *Spirulina platensis* in rats. **Plos One**, v. 8, p. 231-240, 2013.

EL-SACCA, A. Association of risk factors and medical comorbidities with male sexual dysfunction. **The Journal of Sexual Medicine**, v. 4, p. 1691-1700, 2007.

EL-SHEEKH MM, HAMAD SM, GOMAA M. Protective effects of Spirulina on the liver function and hyperlipidemia of rats and human. **Braz Arch Biol Technol.**

EPIFANIO, R. DE A.; MAIA, L. F.; FENICAL, W.; **J. Braz. Chem. Soc.** 2000, 11, 584;

ESPOSITO K, Giugliano F, Di Palo C, Giugliano G, Marfella R, D'Andrea F, D'Armiento M, Giugliano D. Effect of lifestyle changes on erectile dysfunction in obese men: A randomized controlled trial. **JAMA** 2004;291:2978– 84.

ESPOSITO K, GIUGLIANO F, MARTEDEI E, FEOLA G, MARFELLA R, D'ARMIENTO M, et al. High Proportions of Erectile Dysfunction in Men With the Metabolic Syndrome. **Diabetes Care.** 2015;28(5):1201-3. doi: <http://dx.doi.org/10.2337/diacare.28.5.1201>

ESTADELLA, D., OYAMA, L.M., DÂMASO, A. R., RIBEIRO, E.B. and Nascimento, C.M.O. (2004) Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. **Nutrition**, Vol. 20, pp. 218-224.

ETOH, SUGA H, MATSUMOTOD, et al. Characterization of structure and cellular components of aspirated and excised adipose tissue. **Plast Reconstr Surg.** 2009;124(4):1087-1097.

EVGENOV, O.V., PACHER, P., SCHMIDT, P.M., HASKO, G., SCHMIDT, H.H., STASCH, J.P. NO-independent stimulators and activators of soluble guanylate cyclase: discovery and therapeutic potential. 2006. **Nat. Rev. Drug Discov.** 5, 755–768

EVORA PRB, BALDO CF, CELOTTO AC, et al. Endothelium dysfunction classification: why is it still an open discussion? **Int J Cardiol** 2009;137(2):175–6.

EVORA PRB. An open discussion about endothelial dysfunction: is it timely to propose a classification? **Int J Cardiol** 2000;73(3):289–92.

FAN, X. D., CUI, Y. J., ZHANG, R. L., & ZHANG, X. W. Purification and identification of anti-obesity peptides derived from *Spirulina platensis*. **Journal of Functional Foods**, 47, 350–360. (2018).

FARAG, M.R. R.A. EL-AZIZ, H. ALI, S.A. AHMED. Evaluating the ameliorative efficacy of *Spirulina platensis* on spermatogenesis and steroidogenesis in cadmium-intoxicated rats. **Environ. Sci. Pollut. Res.**, 23 (2016), pp. 2454-2466

FAULKNER, D. J. Highlights of marine natural products chemistry (1972-1999). **Natural Product Reports**, v. 17, p. 1-6, 2000.

FAULKNER, D.J. Marine natural products. **Nat. Prod. Rep.** 18, 1R-49R, 2011.

FAZIO L, BROCK G. Erectile dysfunction: management update. **CMAJ** 2004;170:1429-37.

FELDMAN, H.; GOLDSTEIN, I.; HATZICHRISTOU, D. et al. Impotence and its medical and psychosocial correlates : results of the Massachussets Male Aging Study. **The Journal of Urology**, n. 151, p. 54-61, 1994.

FELIPPI, R.S.R., FRANCA, R., SILVA, L.R. and MARQUES, C.D.F. (2014) Prevalência de Constipação intestinal em pacientes com obesidade acompanhados no ambulatório de um hospital pediátrico. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**. Vol. 13, No. 2, pp-152-155.

FENICAL, W. (2006), **Oceanography**. Vol.19, pp- 111.

FENICAL, W.; JENSEN, P. R. Developing a new resource for drug discovery: marine actinomycete bacteria. **Nature Chemical Biology**, v. 2, p. 666-673, 2006.

FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ A, MADRIGAL-SANTILLÁN E, BAUTISTA M, ESQUIVEL-SOTO J, et al. Inflammation, Oxidative Stress, and Obesity. **Int. J. Mol. Sci.** v.12, 3117-3132, 2011.

FERREIRA, E. S. Suplementação alimentar com *Spirulina platensis* promove efeito antiobesidade e restaura a reatividade contrátil de íleo em ratos Wistar. **Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos)**. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2017.

FERREIRA-HERMOSILLO A, TORRES-DURAN PV, JUAREZ-OROPEZA MA. Hepatoprotective effects of *Spirulina maxima* in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a case series. **J Med Case Rep.** 2010;4:103.

FERRER JE, VELEZ JD, HERRERA AM. Age-related morphological changes in smooth muscle and collagen content in human corpus cavernosum. **J Sex Med.** 2010; 7: 2723-8.

FONSECA-ALANIZ MH, TAKADA J, ALONSO-VALE MIC, LIMA FB. O tecido adiposo como centro regulador do metabolismo. **Arq Bras Endocrinol Metabol.** 2006;50(2):216-29.

FREY RS, USHIO-FUKAI M, MALIK A. NADPH oxidase-dependent signaling in endothelial cells: role in physiology and pathophysiology. **Antioxid Redox Signal.** 2009; 11: 791-810.

FUJIMOTO M, TSUNEYAMA K, FUJIMOTO T, SELMI C, GERSHWIN ME, SHIMADA Y. Spirulina improves non-alcoholic steatohepatitis, visceral fat macrophage aggregation, and serum leptin in a mouse model of metabolic syndrome. **Dig Liver Dis.** 2012;44(9):767-774.

FURST, 1978; CIFERRE et al., 1983; HORI et al., 1994; PARIKH et al., 2001; TORRES-DURAN et al., 2007; RASMUSSEN et al., 2009 **aline**

FUSSENEGGER, D. A. PIETROBELL, K. WIDHALM, CHILDHOOD obesity: political developments in Europe and related perspectives for future action on prevention, **Obes. Rev.** 9 (1) (2008) 76–82.

GASPAROTTO, J., CHAVES, P. R., DA BOIT MARTINELLO, K., DA ROSA-SIVA, H. T., BORTOLIN, R. C., SILVA, L. F. O., ... MOREIRA, J. C. F. Obese rats are more vulnerable to inflammation, genotoxicity and oxidative stress induced by coal dust inhalation than non-obese rats. (2018). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 165, 44–51. doi:10.1016/j.ecoenv.2018.08.097

GAZIOGLU SB, AKAN G, ATALAR F, ERTEN G. PAI-1 and TNF-á profiles of adipose tissue in obese cardiovascular disease patients. **Int J Clin Exp Pathol.** 2015; 8(12):15919-25.

GHISELLI, A.; SERAFINI, M.; NATELLA, F.; SCACCINI, C.; **Free Radical Biol. Med.** 2000, 29, 1106.

Ghiselli, A.; Serafini, M.; Natella, F.; Scaccini, C.; **Free Radical Biol. Med.** 2000, 29, 1106.

GHMES, F., TELO, D., SOUZA, H.P.S., NICOLAU, J. C., HALPERN, A. AND SERRANO JR.C.V.(2010), Obesidade e doença arterial coronariana: papel da inflamação vascular. **Arq. Bras. Cardiol.** Vol 94, No.2.

GIAMI, A. Socioepidemiologia da impotência masculina. **Revista Terapia Sexual**, v. III, n. 2, p. 13-3, 2000b.

GIORDANO FJ. Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure. **J Clin Invest.** 2005; 115: 500-508.

GIULIANO, F.; BERNABÉ, J.; BROWN, K.; DROUPY, S.; BENOIT, G.; RAMPIN, O. Erectile response to hypothalamic stimulation in rats: role of peripheral nerves. **American Journal of Physiology, Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 273, n. 6, p. R1990-R1997, 1997.

GIULIANO, F.; JACKSON, G.; MONTORSI, F.; MARTIN-MORALES, A.; RAILLARD, P. Safety of sildenafil citrate: Review of 67 double-blind placebo-controlled trials and the postmarketing safety database. **International Journal of Clinical Practice**, v. 64, n. 2, p. 240-255, 2010.

GIULIANO, F.; RAMPIN, O. Central noradrenergic control of penile erection. **International Journal of Impotence Research**, v. 12, n. S1, p. S13-S19, 2014.

GOLDSTEIN AMB, MEEHAN JP, ZAKHARY R, BUCKLEY PA, ROGERS FA. New observations on microarchitecture of corpora cavernosa in man and possible relationship to mechanism of erection. **Urol**, 20(3):259-266, 1982

GOLDSTEIN I. Oral phentolamine: an alpha-1, alpha-2 adrenergic antagonist for the treatment of erectile dysfunction. **Int J Impot Res** 2000;12(Suppl 1):S75-S80.

GONZÁLEZ-MUNIESA, P. MÁRTINEZ-GONZÁLEZ M-A, HU F.B, DESPRÉS J-P, MATSUZAWA Y, et al. Obesity. **Nat. Rev. Dis. Primers.** v3:17034, 2017.

GROVER, S.A., I. LOWENSTEYN, M. KAOUACHE, S. MARCHAND, L. COUPAL, E. DECAROLIS, J. ZOCCOLI, I. DEFOY, The prevalence of erectile dysfunction in the primary care setting:importance of risk factors for diabetes and vascular disease, **Arch. Intern. Med.** 166 (Jan 23 2006) 213–219.

GUIRY, M.D. How many species of algae are there? **J. Phycol.** 48, 1057–1063,2012.

GUPTA BP, MURAD MH, CLIFTON MM, PROKOP L, NEHRA A, KOPECKY SL. The effect of lifestyle modification and cardiovascular risk factor reduction on erectile dysfunction: A systematic review and meta-analysis. **Arch Intern Med** 2012;171:1797–803

GUPTA, S., CARABALLO, M., & AGARWAL, A. Total Antioxidant Capacity Measurement by Colorimetric Assay. **Oxidants, Antioxidants and Impact of the Oxidative Status in Male Reproduction**, 2019, 207–215. doi:10.1016/b978-0-12-812501-4.00019-5

GUR S, KADOWITZ PJ, HELLSTROM WJG. A critical appraisal of erectile function in animal models of diabetes mellitus. **Int J Androl**, 32(2):93-114, 2009.

GUR, S., CHEN, A. L., & KADOWITZ, P. J. Nitric Oxide Donors and Penile Erectile Function. **Nitric Oxide Donors**, 121–140.2017. doi:10.1016/b978-0-12-809275-0.00005-3

GUVEN, K.C., PERCOT, A., SEZIK, E. Alkaloids in marine algae. **Mar. Drugs**. 2010.

HADZOVIC-DZUVO, A.; VALJEVAC, A.; LEPARA, O.; CUSTOVIC, S.; VATRES, A.; AGACEVIC, A.; RAHMANOVIC, S.; ZUKIC, S. Obesity is associated with decreased total antioxidant capacity in apparently healthy postmenopausal women. **Folia Medical Facultatis Medicinae e Universitatis Sarajevis**, v. 50, n. 2, p. 101-106, 2015.

HALBERG N, WERNSTED I, SCHERER P. The adipocyte as an endocrine cell. **Endocrinol Metab Clin North Am**. 2009;37(3):1–15.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C.; Free Radical in Biology and Medicine, 3rd ed., **Oxford University Press: Oxford**; 4th ed., 2007.

HANNAN, J. L.; SMALLEGANGE, C.; HALE, T. M.; HEATON, J. P.; ADAMS, M. A. Impact of antihypertensive treatments on erectile responses in aging spontaneously hypertensive rats. **Journal of Hypertension**, v. 24, p. 159-168, 2006.

HASLER CM. Functional foods: benefits, concerns and challenges- a position paper from the American council on science and health. **J Nutr**. 2002; 132(12):3772–81.

HASSAN HA, EL-GHARIB NE. Obesity and clinical riskiness relationship: therapeutic management by dietary antioxidant supplementation–A review. **Appl Biochem Biotechnol**. 2015;176(3):647–669.

HAY, M. E.; FENICAL, W.; **Oceanography** 1997, 9, 10.

HELMY MM, SENBEL AM. Evaluation of vitamin E in the treatment of erectile dysfunction in aged rats. **Life Sci**. 2012; 90: 489-94.

HENRIQUES, A.M.P.S.D. (2011), Caracterização farmacológica da contração intestinal induzida pela metformina. **Dissertação (Bioquímica)**. Universidade de Coimbra.

HILDEBRAND S, STÜMER J AND PFEIFER A. PVAT and Its relation to brown, beige, and white adipose tissue in development and function. **Front. Physiol.** v.9:70, 2018.

HILL JO, MELANSON EL, WYATT HT. Dietary fat intake and regulation of energy balance: Implications for obesity. **J Nutr** 2005;130:284S–8S.

HOLMAN, B. A. MALAU-ADULI. Spirulina as a livestock supplement and animal feed. **J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.**, 97 (2013), pp. 615-623

HÖPPNER, C. K.; STIEF, C. G.; JONAS, U.; MANDREK, K.; NOACK, T.; GOLENHOFEN, K. Electrical and chemical control of smooth muscle activity of rabbit corpus cavernosum in vitro. **Urology**, v. 48, n. 3, p. 512-518, 1996.

HORASANLI K, BOYLU U, KENDIRCI M, MIROGLU C. Do lifestyle changes work for improving erectile dysfunction? **Asian J Androl** 2008;10:28–35.

HORI, M. AND KARAKI, H. (1998), Regulatory mechanisms of calcium sensitization of contractile elements in smooth muscle. **Life science**, Vol. 62, pp. 1689-1633.

HOSTETTMANN, K.; QUEIROZ, E. F.; VIEIRA, P. C.; Princípios ativos de plantas superiores, **EdUFSCar**: São Carlos, 2003.

HOWARD, D.W., LEWIS, E. J., KELLER, B.J. and SMITH, C.S. (2004). **Histological techniques for marine bivalve molluscs and crustaceans**. 2a ed, pp- 218, 2004.

HSIEH, C. H., et al. Tunical outer layer plays an essential role in penile veno-occlusive mechanism evidenced from electrocautery effects to the corpora cavernosa in defrosted human cadavers. **Urology**, 86(6), 1129–1136 (2014).

HSIEH, C. H., HUANG, Y. P., TSAI, M. H., CHEN, H. S., HUANG, P. C., LIN, C. W., et al. Tunical outer layer plays an essential role in penile veno-occlusive mechanism evidenced from electrocautery effects to the corpora cavernosa in defrosted human cadavers. **Urology**, 86, 1129–1136, 2015.

HSU, G. L. Physiological approach to penile venous stripping surgical procedure for patients with erectile dysfunction. **Google Patents; Patent No:** US 8,240,313 B2 <http://www.google.com/patents/US20110271966>.(2011).

HSU, G. L. The hypothesis of human penile anatomy, erection hemodynamic and their clinical applications. **Asian Journal of Andrology**, 8(2), 225–234. 2006.

HSU, G.-L. Erection Abnormality. **Encyclopedia of Reproduction**, 382–390. 2018 doi:10.1016/b978-0-12-801238-3.64374-x

HSU, G.-L., & LIU, S.-P. Penis Structure. **Encyclopedia of Reproduction**, 357–366. doi:10.1016/b978-0-12-801238-3.64602-0(2018).

HUANG, P.-C., & HSU, G.-L. Vascular Surgery for Erectile Dysfunction. **Encyclopedia of Reproduction**, 427–436. doi:10.1016/b978-0-12-801238-3.64804-3(2018).

HULL, E. M.; WOOD, R. I.; MCKENNA, K. E. Neurobiology of male sexual behavior. In: KNOBIL, E. and NEILL, J. D. (Eds.), **The Physiology of Reproduction**. 3. ed. San Diego: Elsevier Academic Press. v. 33, p. 1729-1824, 2012.

HWANG, J. H.; CHEN, J. C.; CHAN, Y. C. Effects of c-phycocyanin and *Spirulina* on salicylate – induced tinnitus, expression of nmda receptor and inflammatory genes. **Plos One**, v. 8, n. 3, p. 23-32, 2013.

IBRAHIM AE, ABDEL-DAIM MM. Modulating effects of *Spirulina Platensis* against tilmicosin-induced cardiotoxicity in mice. **Cell J (Yakhteh)**. 2015;17(1):137–44.

IDRIS KHODJA N, CHATAIGNEAU T, AUGER C, SCHINI-KERTH VB. Grape-derived polyphenols improve aging-related endothelial dysfunction in rat mesenteric artery: role of oxidative stress and the angiotensin system. **PLoS One**. 2012;7(2):e32039.

IDRIS KHODJA N, CHATAIGNEAU T, AUGER C, SCHINI-KERTH VB. Grape-derived polyphenols improve aging-related endothelial dysfunction in rat mesenteric artery: role of oxidative stress and the angiotensin system. **PLoS One**. 2012;7(2):e32039.

IÓCA, L. P.; ALLARD, P.-M.; BERLINCK, R. G. S. **Nat. Prod. Rep.** 2014, 31, 646.

ISIDORI AM, CAPRIO M, STROLLO F, MORETTI C, FRAJESE G, ISIDORI A, FABBRI A. Leptin and androgens in male obesity: Evidence for leptin contribution to reduced androgen levels. **J Clin Endocrinol Metab** 2002;84:3673–80.

ISMAIL M, HOSSAIN MF, TANU AR, SHEKHAR HU. Effect of spirulina intervention on oxidative stress, antioxidant status, and lipid profile in chronic obstructive pulmonary disease patients. **Biomed Res Int**. 2015;2015:486120.

J. VAN DER LEEUW, Y. VAN DER GRAAF, H.M. NATHOE, G.J. DE BORST, L.J. KAPPELLE, F.L.J. VISSEREN, R. VAN PETERSEN, A.G. PIJL, A. ALGRA, Y. VAN DER GRAAF, D.E. GROBBEE, G.E.H.M. RUTTEN, F.L.J. VISSEREN, F.L. MOLL, L.J. KAPPELLE, W.P.T.M. MALI, P.A. DOEVENDANS. On behalf of the SMART study group, The separate and combined effects of adiposity and cardiometabolic dysfunction on the risk of recurrent cardiovascular events and mortality in patients with manifest vascular disease, **Heart** 100 (2014) 1421–1429. , <http://dx.doi.org/10.1136/heartjnl-2014-305490>.

J.M. FRIEDMAN, J.L. HALAAS, Leptin and the regulation of body weight in mammals, **Nature (Lond.)** 395 (1998) 763–770.

JABLONSKI KL, SEALS DR, ESKURZA I, MONAHAN KD, DONATO AJ. High-dose ascorbic acid infusion abolishes chronic vasoconstriction and restores resting leg blood flow in healthy older men. **J Appl Physiol**. 2007; 103: 1715-1721.

JABLONSKI KL, SEALS DR, ESKURZA I, MONAHAN KD, DONATO AJ. High-dose ascorbic acid infusion abolishes chronic vasoconstriction and restores resting leg blood flow in healthy older men. **J Appl Physiol**. 2007; 103: 1715-1721.

JACKSON, G. The importance of risk factor reduction in erectile dysfunction. **Current Urology Reports**, v. 8, n. 6, p. 463-466, 2007.

JENKINS RR, GOLDFARB A. Introduction: oxidant stress, aging, and exercise. **Med Sci Sports Exerc**. 1993;25(2):210-2. PMid:8450723.

JIN L, LAGODA G, LEITE R, WEBB RC, BURNETT AL. NADPH oxidase activation: a mechanism of hypertension-associated erectile dysfunction. **J Sex Med.** 2008; 5: 544-51.

JOHANNES, C. B.; ARAUJO, A. B.; FELDMAN, H. A.; DERBY, C. A.; KLEINMAN, K. P.; MCKINLAY, J. B. Incidence of erectile dysfunction in men 40 to 69 years old: longitudinal results from the Massachusetts male aging study. **The Journal of Urology**, v. 163, n. 2, p. 460-463, 2000.

JOLLY K, CHAMBERS R. Improving outcomes for patients with obesity. **Practitioner** 2014;258:29–31.

JONES, D. P. Redefining oxidative stress. **Antioxid. Redox Signal.**, v. 8, n. 9-10, p. 1865-1879, 2006.

KADIISKA, M. B.; GLADEN, B. C.; BAIRD, D. D.; DIKALOVA, A.E.; SOHAL, R. S.; HATCH, G. E.; JONES, D. P.; MASON, R. P.; BARRETT, J. C.; **Free Radical Biol. Med.** 2000, 28, 838

KADIISKA, M. B.; GLADEN, B. C.; BAIRD, D. D.; GERMOLEC, D.; GRAHAM, L. B.; PARKER, C. E.; NYSKA, A.; WACHSMAN, J. T.; AMES, B. N.; BASU, S.; BROT, N.; FITZGERALD, G. A.; FLOYD, R. A.; GEORGE, M.; HEINECKE, J. W.; HATCH, G. E.; HENSLEY, K.; LAWSON, J. A.; MARNETT, L. J.; MORROW, J. D.; MURRAY, D. M.; PLASTARAS, J.; ROBERTS II, L. J.; ROKACH, J.; SHIGENAGA, M. K.; SOHAL, R. S.; SUN, J.; TICE, R. R.; VAN THIEL, D. H.; WELLNER, D.; WALTER, P. B.; TOMER, K. B.; MASON, R. P.; BARRETT, J. C.; **Free Radical Biol. Med.** 2005, 38, 698.

KHAN, J.C. SHOBHA, I.K. MOHAN, M.U.R.NAIDU, C. SUNDARAM, S. SINGH, P.K UPPUSAmy, V.K. KUTALA Protective effect of Spirulina against doxorubicin-induced cardiotoxicity **Phytother. Res.**, 19 (2005), pp. 1030-1037.

KANT AK. Dietary patterns: biomarkers and chronic disease risk. **Appl Physiol Nutr Metab.** 2010;35(2):199–206.

KARKOS PD, LEONG SC, KARKOS CD, SIVAJI N, ASSIMAKOPOULOS DA. Spirulina in clinical practice: evidence-based human applications. **Evid Based Complement Alternat Med.** 2011;2011:531053

KATZ AM. Ernest Henry Starling, his predecessors, and the “Law of the Heart”. **Circulation** 2002;106(23):2986–2992 10.1161/01. CIR.0000040594.96123.55

KAWASAKI N, ASADA R, SAITO A, KANEMOTO S, IMAIZUMI K. Obesity-induced endoplasmic reticulum stress causes chronic inflammation in adipose tissue. **Sci. Rep.** v2: 1-7, 2012.

KEARNEY J. Food consumption trends and drivers. **Phil Trans R Soc.** 2010;365:2793–807.

KELECOM, A.; **Ciência e Cultura** 1997, 49, 321.

KHAN Z, BHADOURIA P, BISEN PS. Nutritional and therapeutic potential of Spirulina. **Curr Pharm Biotechnol** 2005; 6: 373-9.

KIM SC. Hyperlipidemia and erectile dysfunction. **Asian J Androl** 2012;2:161–6.

KIMURA, K., ITO, M., AAMANO, M., CHIHARA, K., FUKATA, Y., NAKAFUKU, M., B. AND FENG, J.,(1996), Regulation of myosin phosphatase by rho and rho-associated kinase (rho-kinase). **Science**, Vol. 273, pp. 248-254.

KINGSTON, D.G.I. (2011). Modern natural products drug discovery and its relevance to biodiversity conservation. **Journal of Natural Products**. Vol. 7, No.3, pp-496-511.

KLÖTING N, BLÜHER M. Adipocyte dysfunction, inflammation and metabolic syndrome. **Rev Endocr Metab Disord**. 2014;15(4):277–87.

KOJDA G, HARRISON D. Interactions between NO and reactive oxygen species: pathophysiological importance in atherosclerosis, hypertension, diabetes and heart failure. **Cardiovasc Res**. 1999; 43: 562-71.

KREDEL LI, SIEGMUND B. Adipose-tissue and intestinal inflammation–visceral obesity and creeping fat. **Front Immunol**. 2014.

KREIER F, FLIERS E, VOSHOL PJ, VAN EDEN CG, HAVEKES LM, KALSBECK A, et al. Selective parasympathetic innervation of subcutaneous and intra-abdominal fat – functional implications. **J Clin Invest** 2012;110:1243-50.

KRYSIAK R, HANDZLIK-ORLIK G, OKOPIEN B. The role of adipokines in 34 connective tissue diseases. **Eur J Nutr**. 2012;51(5):513–28.

KU, C.S., YANG, Y., PARK, Y. and LEE, J. (2013), Health benefits of blue-green algae: prevention of cardiovascular disease and nonalcoholic fatty liver disease. **Journal of Medicinal Food**. V.16, No.2, pp-103-111.

KUCZMARSKI RJ, OGDEN CL, GUO SS, GRUMMER-STRAWN LM, FLEGAL KM, MEI Z, et al. 2000 CDC Growth Charts for the United States: methods and development. **Vital Health Stat 11**. 2016; May (246): 1-190.

KUGIYAMA K, KERNS SA, MORRISETT JD, ROBERTS R, HENRY PD. Impairment of endothelium-dependent arterial relaxation by lysolecithin in modified low-density lipoproteins. **Nature** 2000;344:160–2.

KWAN, J.C., SCHMIDT, E.W. Bacterial endosymbiosis in a chordate host: longterm co-evolution and conservation of secondary metabolism. **PLoS ONE** 201(8), e80822, 2013.

LABAER J. Introduction to the special biomarkers issue. **Proteome Res**, 4. **Harvard Institute of Proteomics**; 2005. p. 1053---9

LEWIS RW, FUGL-MEYER KS, CORONA G, HAYES RD, LAUMANN EO, MOREIRA ED JR, RELLINI AH, SEGRAVES T. Definitions/epidemiology/risk factors for sexual dysfunction. **J Sex Med** 2012;7:1598–607.

LEWIS, R. W.; FUGL-MEYER, K. S.; CORONA, G.; HAYES, R. D.; LAUMANN, E. O.; MOREIRA JR, E. D.; RELLINI, A. H.; SEGRAVES, T. Definitions/epidemiology/risk factors for sexual dysfunction. **The Journal of Sexual Medicine**, v. 7, n. 4, p. 1598-1607, 2010.

LI M, ZHUAN L, WANG T, RAO K, YANG J, YANG J, QUAN W, LIU J, YE Z. Apocynin improves erectile function in diabetic rats through regulation of NADPH oxidase expression. **J Sex Med.** 2012; 9: 3041-50.

LIAW JJT, PEPLOW PV. Effects of Electroacupuncture on Pro-/Antiinflammatory Adipokines in Serum and Adipose Tissue in Lean and Diet-induced Obese Rats. **J Acupunct Meridian Stud.** 2016; 9(2):65-72.

LIMA E, PARRA D. Peroxidacão lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas.** 2001;37:293---303.

LIMA SCVC, ARRAIS RF, ALMEIDA MG, SOUZA ZML, PEDROSA LFC. Perfil lipídico e peroxidacão de lipídios no plasma em crianças e adolescentes com sobrepeso e obesidade. **J Pediatr.** 2004;80.

LIMA, L. M.; BARREIRO, E. J.; **Curr. Med. Chem.** 2005, 12, 23.

LIRA, C.A.B., VANCINE, R.L., IHARA, S.S.M., SILVA A.C., ABOULAFIA, J. AND NOUAILHETAS, V.L.A. (2008), Aerobic exercise aVects C57BL/6 murine intestinal contractile function. **European Journal of Applied Physiology.** Vol 103, pp-215-223.

LO JC, LJUBICIC S, LEIBIGER B, KERN M, LEIBIGER IB, MOEDE T, et al. Adipsin is an adipokine that improves β cell function in diabetes. **Cell.** 2014;158(1):41–53.

LONGO, L. L.; AMADO-FILHO, G. M.; **História, Ciências, Saúde**, 2014, 21, 1.

LOWELL, B.B. B.M. SPIEGELMAN, Towards a molecular understanding of adaptive thermogenesis, **Nature** **404** (6778) (2000) 652–660.

LU, J., REN, D. F., XUE, Y. L., SAWANO, Y., MIYAKAWA, T., & TANOKURA, M.. Isolation of an antihypertensive peptide from alcalase digest of *Spirulina platensis*. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 58, 7166–7171(2010).

LUE TF. Erectile dysfunction. **N Engl J Med** 2000;342:1802–13.

LUE TF. Physiology of penile erection and pathophysiology of erectile dysfunction. In: Wein AJ, Kavoussi LR, Campbell MF, et al. *Campbell-Walsh urology*. 10th ed. **Philadelphia: Elsevier**; 2012. v.1, p.688-720.

LUMENG C.N, SALTIEL A.R. Inflammatory links between obesity and metabolic disease. **J Clin Invest.** v.121(6):2111-2117, 2011.

LUUKKAA V, PESONEN U, HUHTANIEMI I, LEHTONEN A, TILVIS R, TUOMILEHTO J, KOULU M, HUUPPONEN R. Inverse correlation between serum testosterone and leptin in men. **J Clin Endocrinol Metab** 1998;83:3243–6.

LUZ HKM, SCHELL LW, FAUSTINO LR, MANOEL C, SILVA G, FIGUEIREDO JR, et al. Papel de agentes antioxidantes na criopreservação de células germinativas e embriões. **Acta Scientiae Veterinariae.** 2011;39:956.

MADERSBACHER S, ALIVIZATOS G, NORDLING J, SANZ CR, EMBERTON M, DE LA ROSETTE JJ. EAU guidelines on assessment, therapy and follow-up of men with lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic obstruction (BPH guidelines). **Eur Urol.** 2004;46(5):547-54. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eururo.2004.07.016>. 2004

MAHAPATRA S, PADHIARY K, MISHRA TK, NAYAK N, SATPATHY M. Study on body mass index, lipid profile and lipid peroxidation status in coronary artery disease. **J Indian Med Assoc.** 1998;96:39---41.

MAKEY KL, PATTERSON SG, ROBINSON J, LOFTIN M, WADDELL DE, MIELE L, et al. Increased plasma levels of soluble vascular endothelial growth factor (VEGF) receptor 1 (sFlt-1) in women by moderate exercise and increased plasma levels of VEGF in overweight/obese women. **European J Cancer Prevent.** 2013;22(1):83--9.

MALAVIGE LS, JAYARATNE SD, KATHRIARACHCHI ST, SIVAYOGAN S, RANASINGHE P, LEVY JC. Erectile dysfunction is a strong predictor of poor quality of life in men with type 2 diabetes mellitus. **Diabet Med** 2014;31:699--706.

MANNA P, JAIN S.K. Obesity, Oxidative Stress, Adipose Tissue Dysfunction, and the Associated Health Risks: Causes and Therapeutic Strategies. **Metab Syndr Relat Disord.** v13 (10): 423-444, 2015.

MARANESI M, BARZANTI V, CARENINI G, GENTILI P. Nutritional studies on Spirulina maxima. **Acta Vitaminologica Enzymologica.** 1983;6(4):295--304.

MARCHI, E.; BALDASSARI, F.; BONONI, A.; WIECKOWSKI,M.R.; PINTON, P. Oxidative Stress in Cardiovascular Diseases and Obesity : Role of p66Shc and Protein Kinase C. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 1, p. 1-11, 2013.

MARTÍNEZ-SALAMANCA JI, LA FUENTE JM, FERNÁNDEZ A, et al. Nitrergic function is lost but endothelial function is preserved in the corpus cavernosum and penile resistance arteries of men after radical prostatectomy. **J Sex Med** 2015;12: 590-599.

MARYCZ K, MICHALAK I, KOCHEROVA I. The Cladophora glomerata enriched by biosorption process in Cr(III) improves viability, and reduces oxidative stress and apoptosis in equine metabolic syndrome derived adipose mesenchymal stromal stem cells (ASCs) and their extracellular vesicles (MV's). **Mar Drugs.** 2017;15(12)

MATSUDA, M.; SHIMOMURA, I. Increased oxidative stress in obesity: implications for metabolic syndrome, diabetes, hypertension, dyslipidemia, atherosclerosis, and cancer. **Obesity Research & Clinical Practice**, v. 7, n. 5, p. e330-e341, 2013.

MATSUSAWA-NAGATA, N.; TAKAMURA, T.; ANDO, H.; NAKAMURA, S.; KURITA, A.; MISU, H.; OTA, T.; YOKOYAMA, M.; HONDA, M.; MIYIAMOTO, K.; KANEKO, increased oxidative stress precedes the onset of high-fat diet-induced insulin resistance and obesity. **Metabolism Clinical and Experimental**, v. 57, p. 1071-1077, 2008.

MAUER, M. M.; HARRIS, R. B.; BARTNESS, T. J. The regulation of total body fat: lessons learned from lipectomy studies. **Neuroscience and Biobehavioral Review**, v. 25, p. 15-28, 2001.

MAZOKOPAKIS EE, PAPADOMANOLAKI MG, FOUSTERIS AA, KOTSIRIS DA, LAMPADAKIS IM, GANOTAKIS ES. The hepatoprotective and hypolipidemic effects of Spirulina (*Arthrospira platensis*) supplementation in a Cretan population with non-alcoholic fatty liver disease: a prospective pilot study. **Ann Gastroenterol.** 2014;27(4):387--394.

MAZOKOPAKIS EE, STARAKIS IK, PAPADOMANOLAKI MG, MAVROEIDI NG, GANOTAKIS ES. The hypolipidaemic effects of Spirulina (*Arthrospira platensis*) supplementation in a Cretan population: a prospective study. **J Sci Food Agric.** 2014;94(3):432–437.

MAZOKOPAKIS, E.E., STARAKIS, I.K., PAPADOMANOLAKI, M.G., MAVROEIDI, N.G. and GANOTAKIS, E.S. (2014), The hypolipidaemic effects of *spirulina (arthrospira platensis)* supplementation in a cretan population: a prospective study. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Vol..94, No.3, pp-432-437.

MCCALL, M. R.; BALZ, F.; **Free Radical Biol. Med.** 2000, 26,1034.

MCMURRAY, F.; PATTEN, D. A.; HARPER, M. E. Reactive oxygen species and oxidative stress in obesity-recent findings and empirical approaches. **Obesity**, v. 24, n. 11, p. 2301-2310, 2016.

MCVARY KT. Sexual dysfunction. In: Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, et al. **Harrison's: principles of internal medicine**. 18th ed. New York: McGraw-Hill; 2012. v.1, p.374-8.

MELDRUM DR, GAMBONE JC, MORRIS MA, MELDRUM DA, ESPOSITO K, IGNARRO LJ. The link between erectile and cardiovascular health: The canary in the coal mine. **Am J Cardiol** 2013;108:599–606.

MELIS, M. R.; ARGOLAS, A.; **Prog. Neuro-Pharmacol. Biol. Psychiat.** 2000, 21, 899.

MELIS, M.R., ARGOLAS, A. Nitric oxide donors induce penile erection and yawningwhen injected in the central nervous system of male rats. 1995. **Eur. J. Pharmacol.** 294, 1–9

MELISSAS J, MALLIARAKI N, PAPADAKIS JA, TAFLAMPAS P, KAMPA M, CASTANAS E. Plasma antioxidant capacity in morbidly obese pacients before and after weight loss. **Obes Surg.** 2006;16:314---20.

MENEGATTI, R.; FRAGA, C. A. M.; BARREIRO, E. J.; EIFLER LIMA, V. L.; RATES, S. M. K; DALLA COSTA, T.; **Quim. Nova** 2005, 27, 447.

MICK GJ, WANG X, MCCORMICK K. White adipocyte vascular endothelial growth factor: regulation by insulin. **Endocrinology**. 2002;143(3):948–53.

MICZKE A, SZULINKA M, HANSDORFER-KORZON R, et al. Effects of spirulina consumption on body weight, blood pressure, and endothelial function in overweight hypertensive Caucasians: a double-blind, placebo-controlled, randomized trial. **Eur Rev Med Pharmacol Sci.** 2016;20(1):150–156.

Ministério da Saúde. **Vigitel Brasil** 2017. Available from: <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/abril/17/Vigitel.pdf>

MIRGORODSKAYA, A. B., KUSHNAZAROVA, R. A., NIKITINA, A. V., SEMINA, I. I., NIZAMEEV, I. R., KADIROV, M. K., ... SINYASHIN, O. G. (2018). Controlled binding and release of indomethacin. **Journal of Molecular Liquids.** doi:10.1016/j.molliq.2018.10.115

MITTAWAE, B.; EL-NASHAAR, A. R.; FOUDA, A.; MAGDY, M.; SHAMLOUL, R. Incidence of erectile dysfunction in 800 hypertensive patients: a multicenter Egyptian national study. **Urology**, v. 67, n. 3, p. 575-578, 2006.

MIYAZAWA-HOSHIMOTO S, TAKAHASHI K, BUJO H, HASHIMOTO N, SAITO Y. Elevated serum vascular endothelial growth factor is associated with visceral fat accumulation in human obese subjects. **Diabetologia**. 2003;46(11):1483–8.

MOHAMED, W.A.; S.A. ISMAIL, Y.M.A. EL-HAKIM Spirulina platensis ameliorative effect against GSM 900-MHz cellular phone radiation-induced genotoxicity in male Sprague-Dawley rats, **Comp. Clin. Pathol.**, 23 (2014), pp. 1719-1726

MÓNICA, F. Z., & DE NUCCI, G. Erectile Dysfunction and the Endothelium. **Endothelium and Cardiovascular Diseases**, 629–637, 2018. doi:10.1016/b978-0-12-812348-5.00043-x

MONTANARI, C. A.; BOLZANI, V. S.; **Quim. Nova** 2001, 24, 105.

MONTEZANO, A.C., TOUYZ, R.M. Reactive oxygen species, vascular noxs, and hypertension: focus on translational and clinical research. **Antioxid. Redox Signal.** 20, 164–182.2014.

MOREIRA, E. D. et al. Incidence of erectile dysfunction in men 40 to 69 years old: results from a population-based cohort study in Brazil. **Urology**, n. 61, p. 431-436, 2003.

MOURA LR, CERESÉR KMM. Aspectos farmacológicos do citrato de sildenafila no tratamento da disfunção erétil. **Ver Bras Med.** 2012;59(4):265-75.

MUNIZ, J.J., LEITE, L.N., MARTINIS, B.S., CARNEIRO, F.S., TIRAPELLI, C.R., 2015. Chronic ethanol consumption induces erectile dysfunction: role of oxidative stress. **Life Sci.** 141, 44–53.2015.

MURAT, N., KORHAN, P., KIZER, O., EVCIM, S., KEFI, A., DEMIR, Ö., GIDENER, S., ATABEY, N., ESEN, A.A., 2016. Resveratrol protects and restores endothelium-dependent relaxation in hypercholesterolemic rabbit corpus cavernosum. **J. Sex. Med.** 13 (1),12–21.

MURDOCH CE, ZHANG M, CAVE AC, SHAH AM. NADPH oxidase dependent redox signalling in cardiac hypertrophy, remodelling and failure. **Cardiovasc Res.** 2006; 71: 208-215.

MURTHY, K. S. Signaling for contraction and relaxation in smooth muscle of the gut. **Annual Review of Physiology**, v. 68, n. 1, p. 345-374, 2006.

MUSICKI B, LIU T, LAGODA GA, STRONG TD, SEZEN SF, JOHNSON JM, BURNETT AL. Hypercholesterolemia-induced erectile dysfunction: endothelial nitric oxide synthase (eNOS) uncoupling in the mouse penis by NAD(P)H oxidase. **J Sex Med.** 2010; 7: 3023-32.

NAGAOKA, S., SHIMIZU, K., KANEKO, H., SHIBAYAMA, F., MORIKAWA, K., KANAMARU, Y., OTSUKA, A., HIRASHI, T. AND KATO, T. (2005) A novel protein

cphycocyanin plays a crucial role in the hypocholesterolemic action of *spirulina platensis* concentrates in rats. **Journal of Nutrition**. Vol.135, pp-2425-2430.

NAM, S. Y. Obesity-Related Digestive Diseases and Their Pathophysiology. **Gut and Liver**, v. 11, n. 3, p. 323-334, 2017.

NASCIMENTO T.B., CAMPOS D.H.S., ALVES C.A.B., CICOGNA A.C., CORDELLINI A.S. (2011), A possible increase of activity of endothelial l-arginine/nitric oxide pathway in aortas of diet-induced obesity rats. **Endocrinol Metabol Syndrom**. Vol. 1, pp.1- 7.

NASIRIAN F, DADKHAH M, MORADI-KOR N, OBEIDAVI Z. Effects of Spirulina platensis microalgae on antioxidant and anti-inflammatory factors in diabetic rats. **Diabetes Metab Syndr Obes**. 2018;11:375–380.

NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: a pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19.2 million participants. **Lancet**. v. 387: 1377-1396, 2016.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M.; J. **Nat. Prod.** 2016, 79, 629.

NEWMAN, D.J. AND CRAGG, G.M. (2012), Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. **Journal of Natural Products**, Vol. 75, pp-311-355.

NG, M. et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. **Lancet** .v.384: 766-781, 2014.

NICOLOSI, A.; GLASSER, D. B.; KIM, S. C.; MARUMO, K.; LAUMANN, E. O. Sexual behaviour and dysfunction and help-seeking patterns in adults aged 40-80 years in the urban population of Asian countries. **BJU International**, v. 95, n. 4, p. 609-614, 2013.

NICOLOSI, A.; MOREIRA, E. D.; SHIRAI, M.; TAMBI, M. I. B. M.; GLASSER, D. B. Epidemiology of erectile dysfunction in four countries: cross-national study of the prevalence and correlates of erectile dysfunction. **Urology**, v. 61, n. 1, p. 201-206, 2015.

NIH Consensus Conference. Impotence. NIH Consensus Development Panel on O'Rourke R.W. Inflammation in obesity-related diseases. **Surgery**. v. 145 (3): 255-259, 2009.

OLIVEIRA, G. A.; SOUZA, I. L. L.; BARROS, B. C.; FERREIRA, E. S.; VASCONCELOS, L. H. C.; QUEIROGA, F. R.; SILVA, P. M.; ANDRADE, L. F. L. I.; CAVALCANTE, F. A.; SILVA, B. A. **Effect of a hyperlipidic diet in the contractile reactivity and morphology of rats ileum**. 48th Brazilian Congress of Pharmacology and Experimental Therapeutics and The 21st Latin American Congress of Pharmacology (SBFTE), Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil, 2016.

OLIVEIRA, R. A. R. Avaliação da reatividade vascular e alterações morfológicas em artérias de ratos feitos obesos por uma dieta hiperlipídica associada à ingestão de

frutose. **Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde)**. Universidade São Francisco, Bragança Paulista, São Paulo 2013.

OTTAVIANI E, MALAGOLI D, FRANCESCHI C. The evolution of the adipose tissue: a neglected enigma. **Gen Comp Endocrinol**. 2011;174(1):1-4. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ygcn.2011.06.018>. PMid:21781968

OTTAVIANI, E., MLAGHIL D. and FRANCESCHINE, C. (2011), The evolution of the adipose tissue: a neglected enigma. **Gen Comp Endocrinol**. Vol. 174, pp-1-4. OWIREDU WKBA, AMIDU N, ALIDU H, SARPONG C, GYASISARPONG CK. Determinants of sexual dysfunction among clinically diagnosed diabetic patients. **Reprod Bio Endocrinol**. 2011;70(9):7827-39. doi: <http://dx.doi.org/10.1186/1477-7827-9-70>.

OZATA, M., MERGEN, M., OKTENLI, C., AYDIN, A., SANISOGLU, S.Y., BOLU, E., YILMAZ, M.I., SAYAL, A., ISIMER, A. and OZDEMIR, I.C. (2002) Increased oxidative stress and hypozincemia in male obesity. **Clinical Biochemistry**. Vol.35, pp-627–631.

PACHER P, BECKMAN JS, LIAUDET L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. **Physiol Rev**. 2007; 87: 315-424.

PACHER P, SZABÓ C. Role of peroxynitrite in the pathogenesis of cardiovascular complications of diabetes. **Curr Opin Pharmacol**. 2006; 6: 136-141.

PAIVA PTA, WAJNMAN S. Das causas às consequências econômicas da transição demográfica no Brasil. **Ver Bras Estud Popul** 2010;22(2):303-22.

PALOU, A.; SERRA, F.; BONET, M. L.; PICÓ, C. Obesity: molecular bases of a multifactorial problem. **European Journal of Nutrition**, v. 39, p. 127-144, 2000.

PAN, D. A.; LILLIOJA, S.; KRIKETOS, A. D.; MILNER, M. R.; BAUR, L. A.; BOGARDUS, C.; JENKINS, A. B.; STORLIEN, L. H. Skeletal muscle triglyceride levels are inversely related to insulin action. **Diabetes**, v. 46, n. 6, p. 983-988, 1997.

PAN, S. Y.; LITSCHER, G.; GAO, S. H.; ZHOU, S. F.; YU, Z. L.; CHEN, H. Q.; ZHANG, S. F.; TANG, M. K.; SUN, J. N.; KO, K. M. Historical perspective of traditional indigenous medical practices: the current renaissance and conservation of herbal resources. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, p. 34-40, 2014.

PARISI, A.S., YOUNES, S., REINEHR, C.O., COLLA, L.M. (.2010), Avaliação da atividade antibacteriana da microalga *Spirulina platensis*. **Rev Ciênc Farm Básica**, Vol.30, No.3, pp-297-301.

PARK HJ, LEE YJ, RYU HK, KIM MH, CHUNG HW, KIM WY. A randomized double-blind, placebo-controlled study to establish the effects of spirulina in elderly Koreans. **Ann Nutr Metab**. 2008;52(4):322–328.

PARK, M.Y., JI, G.E. and SUNG, M.K. (2012), Dietary kaempferol suppresses inflammation of dextran sulfate sodium induced colitis in mice. **Digestive Diseases and Sciences**. Vol.57, No.2, pp-355-363.

PASSAGLIA, P., CERON, C.S., MECAWI, A.S., ANTUNES-RODRIGUES, J., COELHO, E.B., TIRAPELLI, C.R. Angiotensin type 1 receptor mediates chronic ethanol consumption-induced hypertension and vascular oxidative stress. **Vasc. Pharmacol.** 74, 49–59, 2015.

PAUL, V. J., ed.; *Em Ecological Role of Marine Natural Products*; Publishing

PAUSOVA, Z. From big fat cells to high blood pressure: a pathway to obesity-associated hypertension. **Current Opinion in Nephrology and Hypertension**, v. 15, p. 173-178, 2006.

PÉNICAUD L, COUSIN B, LELOUP C, LORSIGNOL A, CASTEILLA L. The autonomic nervous system, adipose tissue plasticity, and energy balance. **Nutrition** 2000;16:903-8.

PEREZ-ECHARRI N, PEREZ-MATUTE P, MARCOS-GOMEZ B, MARTI A, et al. Downregulation in muscle and liver lipogenic genes: EPA ethyl ester treatment in lean and overweight (high-fat-fed) rats. **J Nutr Biochem.** v. 20:705-714, 2009.

PERTICONE F, SCIACQUA A, MAIO R, PERTICONE M, MAAS R, BOGER RH, et al. Asymmetric dimethylarginine, L-arginine, and endothelial dysfunction in essential hypertension. **J Am Coll Cardiol.** 2005;46(3):518-23. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2005.04.040>.

PETERSEN, D. R.; DOORN, J. A.; **Free Radical Biol. Med.** 2004, 37, 937.

PHAM, T.X., PARK, Y.K., and LEE, J.Y. (2016), Anti-Inflammatory Effects of *Spirulina platensis* Extract via the Modulation of Histone Deacetylases. **Nutrients**, Vol.8, pp. 381-393.

PHANG, S.M., MIAH, M.S., CHUU, W.L., HASHIM, M. (2000), *Spirulina* culture in digesteds aGH starch factory waste water. **Journal of Applied Phycology**, Vol.12, No.5, pp.395-400.

PHE V, ROUPRET M. Erectile dysfunction and diabetes: a review of the current evidence-based medicine and a synthesis of the main available therapies. **Diabetes Metab**, 38(1):1-13, 2012.

PHÉ V, ROUPRÉT M. Erectile dysfunction and diabetes: A review of the current evidence-based medicine and a synthesis of the main available therapies. **Diabetes Metab** 2012;38:1– 13.

PINNOCK, C. B.; STAPLETON, A. M.; MARSHALL, V. R. Erectile dysfunction in the community: a prevalence study. **The Medical Journal of Australia**, v. 171, n. 7, p. 353-357, 1999.

PINTO, A. C.; **Quim. Nova** 1995, 18, 608.

POLIDORI, M. C.; STAHL, W.; ETCHLER, O.; NIESTROJ, I.; SIES, H.; **Free Radical Biol. Med.** 2001, 30, 456.

POLUS, A. ZAPALA, B. RAZNY, U. GIELICZ, A, et al. Omega-3 fatty acid supplementation influences the whole blood transcriptome in women with obesity,

associated with pro-resolving lipid mediator production. **Biochim. biophys. acta.** 1746-1755, 2016.

POPKIN BM, ADAIR LS, NG SW. Now and Then: The Global Nutrition Transition: The Pandemic of Obesity in Developing Countries. **Nutr Rev.** 2013;70(1):3–21.

POULOS SP, DODSON M V, CULVER MF, HAUSMAN GJ. The increasingly complex regulation of adipocyte differentiation. **Exp Biol Med.** 2016;241(5):449–56.

PROENÇA ARG, SERTIÉ RAL, OLIVEIRA AC, CAMPAÑA AB, CAMINHOTTO RO, CHIMIN P, et al. New concepts in white adipose tissue physiology. **Brazilian J Med Biol Res.** 2014;47(3):192–205.

PUCHEAULT, M. Natural products: chemical instruments to apprehend

PUETZ, S.; LUBOMIROV, L. T.; PFITZER, G. Regulation of smooth muscle contraction by small GTPases. **Physiology (Bethesda, Md.)**, v. 24, p. 342-356, 2009. PUPO, M. T.; GALLO, M. B. C.; VIEIRA, P. C.; **Quim. Nova** 2007, 30, 1446.

RADENKOVIC, M., IVETIC, V. POPOVIC, M., MIMICA-DUKIC, N. and VELJKOVIC, N. (2006) Neurophysiological effects of mistletoe (*viscum album* L.) On isolated rat intestines. **Phytotherapy research.** Vol. 20, pp-374–377.

RAJFER J, ARONSON WJ, BUSH PA, ET AL. Nitric oxide as a mediator of relaxation of the corpus cavernosum in response to nonadrenergic, noncholinergic neurotransmission. **N Engl J Med** 1992;326:90–4.

RAMPIN, O.; JÉRÔME, N.; SUAUDEAU, C.; LIFE SCI. 2008, 72, 2329.

RAPADO, L. N.; PINHEIRO, A. S.; LOPES, P. O. M. V.; FOKOUE, H. H.; SCOTTI, M. T.; MARQUES, J. V.; OHLWEILER, F. P.; BORRELY, S. I.; PEREIRA, C. A. B.; KATO, M. J.; NAKANO, E.; YAMAGUCHI, L. F. **Plos. Negl. Trop. Dis.** 2015, 7, E2251.

REUTER TY. Diet-induced models for obesity and type 2 diabetes. **Drug Discov Today Dis Models** 2015;4:3–8.

RIEDNER CE. Avaliação do efeito da obesidade na associação entre doença cardíaca isquêmica e disfunção erétil **[Tese]. Programa de Pós-Graduação em Medicina** - Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRS) Porto Alegre; 2017.

ROBERTS, C.K., BARNARD, R.J., SINDHU, R.Z., JURCZAK, M., EHDAIEH, A., VAZIRI, N.D. (2006) Oxidative stress and dysregulation of Nad(p)h oxidase and antioxidant enzymes in diet-induced metabolic syndrome. **Metabolism clinical and experimental** Vol .55, pp-928-934.

ROCHA, V.S. (2015), Influência da leptina na reatividade vascular em anéis de aorta de ratos obesos. **Dissertação (Fisiologia, Bioquímica e Exercício em Modelos Experimentais)**. Universidade Federal do Espírito Santo.

RODRIGUES, T. M.; SIMÕES, F. A.; CASTILHO, L. N.; FREDERICO, F. A. P.; NETO, W. Z. Disfunção erétil: como diagnosticar e tratar. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 67, p. 76-86, 2010.

RUDICH, A.; KANETY, H.; BASHAN, N. Adipose stress-sensing kinases: linking obesity to malfunction. **Trends in Endocrinology and Metabolism.**, v. 18, n.18, p. 291-299, 2007.

SABER, T.M. S.A. ELGAML, H.A. ALI, A.A. SALEH. Protective effect of Spirulina platensis against aluminium-induced nephrotoxicity and DNA damage in rats. **Toxicol. Environ. Chem.**, 97 (2015), pp. 1113-1123

SACKS, F.M. The relative role of low-density lipoprotein cholesterol and high-density lipoprotein cholesterol in coronary artery disease: evidence from large-scale statin and fibrate trials. **Am J Cardiol.**, 88(12A): 14N-8N, 2012.

SAMPAIO RC, MORAES C. Estresse oxidativo e envelhecimento: papel do exercício físico. Motriz: **Revista de Educação Física (online)**. 2010;16:506---15.

SAMUELS, R., MANI, U.V., NAYAK, U.S. (2002), **Hypocholesterolemic effect of Spirulina in patients with hyperlipidemic nephrotic syndrome**, Vol.5, pp-91-96.

SANTOS et al., Qualidade de pessoas com obesidade grau III: um desafio comportamental. **Revista da sociedade brasileira de clínica médica**, (2012)Vol.10, pp-384-389.

SANTOS, A. A.; CARVALHO, C. C.; CHAVES, E. C. L.; GOYATÁ, S. L. T. Qualidade de pessoas com obesidade grau III: um desafio comportamental. **Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica**, v. 10, p. 384-389, 2012.

SARTURI JB, NEVES J, PERES KG. Obesidade em adultos: estudo de base populacional num município de pequeno porte no sul do Brasil em 2010. **Ciênc Saúde Coletiva** 2012;15(1):105-13.

SATTAR AA, WESPES E, SCHULMAN CC. Computerized measurement of penile elastic fibers potent and impotent men. **Eur Urol**, 25(2):142-144, 1994.

SATTARAHMADY, N.; HELI, H.; MEHDIZADEH, A. R.; YARMOHAMMADI, H.; MOHAMMAD, S.; MORTAZAVII, J. Evaluation of Serum Catalase Activity and Malondialdehyde Level a Stress Oxidative Biomarkers among Iranian Welders. **Galen Medical Journal**, v. 4, p. 62-66, 2015.

SAWYER DB, SIWIK DA, XIAO L, PIMENTEL DR, SINGH K, COLUCCI WS. Role of oxidative stress in myocardial hypertrophy and failure. **J Mol Cell Cardiol**. 2002; 34: 379-388.

SBEM. (2006), Sociedade brasileira de endocrinologia e metabologia. Obesidade: tratamento. **Projeto diretrizes**, p. 1-7.

SCHIAVINI JL, DAMIÃO R. Abordagem da disfunção erétil. **Rev Hosp Univ Pedro Ernesto.** 2017;9(supl.):48-59. Disponível em: http://revista.hupe.uerj.br/detalhe_artigo.asp?id=253.

SCHNEIDER CDO, OLIVEIRA AR. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Rev Bras Med Esporte.** 2004;10(4):308-13. <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-86922004000400008>. [Links]

SCHOUTEN, B. W. V.; BOSCH, J. L. H. R.; BERNSEN, R. M. D.; BLANKER, M. H.; THOMAS, S.; BOHNEN, A. M. Incidence rates of erectile dysfunction in the Dutch general population. Effects of definition, clinical relevance and duration of follow-up in the Krimpen Study. **International Journal of Impotence Research**, v. 17, n. 1, p. 58, 2005.

SEFTEL AD, SUN P, SWINDLE R. The prevalence of hypertension, hyperlipidemia, diabetes mellitus and depression in men with erectile dysfunction. **J Urol** 2004;171:2341–5.

SEIFRIED, H. E.; ANDERSON, D. E.; FISHER, E. I.; MILNER, J. A. A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. **J. Nutr. Biochem.**, v. 18, n. 9, p. 567-579, 2007.

SENTHILKUMAR, K. et al. (2013), Brown seaweed fucoidan: biological activity and apoptosis, growth signaling mechanism in cancer. **Int. Journal. Biologic. Macromolecules. Guildford**, Vol. 60, pp-366-374.

SERBAN MC, SAHEBKAR A, DRAGAN S, et al. A systematic review and meta-analysis of the impact of Spirulina supplementation on plasma lipid concentrations. **Clin Nutr.** 2016;35(4):842–851.

SHAH, J. Erectile dysfunction through the ages. **BJU International**, v. 90, n. 4, p. 433-441, 2002.

SHOKEIR AA, HUSSEIN MI. Sexual life in pharaonic Egypt: towards a urological view. **Int J Impot Res** 2004;16(5):385–8.

SILVA, F. H.; LANARO, C.; LEIRIA, L. O.; RODRIGUES, R. L.; DAVEL, A. P.; CLAUDINO, M. A.; TOQUE, H. A.; ANTUNES, E. Oxidative stress associated with middle aging leads to sympathetic hyperactivity and downregulation of soluble guanylyl cyclase in corpus cavernosum. **American Journal of Physiology, Heart Circulation Physiology**, v. 307, p. H1393-H1400, 2014.

SILVEIRA LFG, LATRONICO C. Approach to the patient with hypogonadotropic hypogonadism. **J Clin Endocrinol Metab** 2013;98(5):1781–8.

SIMPÓCIO, J.A., VALE, G.T., GONZAGA, N.A., LEITE, L.N., HIPÓLITO, U.V., PEREIRA, C.A., TOSTES, R.C., TIRAPELLI, C.R. Reactive oxygen species derived from NAD(P)H oxidase play a role on ethanol-induced hypertension and endothelial dysfunction in rat resistance arteries. **J. Physiol. Biochem.** 73 (1), 5–16, 2017.

SINDHU S, THOMAS R, SHIHAB P, SRIRAMAN D, BEHBEHANI K, AHMAD R. Obesity Is a Positive Modulator of IL-6R and IL-6 Expression in the Subcutaneous Adipose Tissue: Significance for Metabolic Inflammation. **PLOS ONE.** 2015; 1-17.

SMIESZEK A, GIEZEK E, CHRAPIEC M, et al. The influence of *Spirulina platensis* filtrates on Caco-2 proliferative activity and expression of apoptosis-related microRNAs and mRNA. **Mar Drugs.** 2017;15(3).

SMITH, G. E. **Papyrus ebers. English translation.** Chicago: Ares Publishers, 1974.

SNELGROVE, P. V. R. An ocean of discovery: biodiversity beyond the Census of Marine Life. **Planta Medica**, v. 82, n. 09/10, p. 790-799, 2016.

SOMLYO, A. P. AND SOMLYO, A. V. (2003), Ca^{2+} sensitivity of smooth muscle and non-muscle myosin II: modulated by g proteins, kinases, and myosin phosphatase. **Physiological Reviews.** Vol. 83, pp- 1325-1358.

SOUZA CA, CARDOSO FL, SILVEIRA RA, WITTKOPF PG. Importância do Exercício Físico no Tratamento da Disfunção Erétil. **Rev Bras Cardiol.** 2011;24(3):180-5. Disponível em: http://sociedades.cardiol.br/socerj/revista/2011_03/a_2011_v24_n03_06impor t.pdf.

SOUZA, I. L. L. Suplementação alimentar com *Spirulina platensis* previne o desenvolvimento da obesidade e da disfunção erétil em ratos Wistar por modular os fatores derivados do endotélio e o estresse oxidativo. **Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos).** Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2018.

SPEAKMAN J, HAMBLY C, MITCHELL S, et al. Animal models of obesity. **Obes Rev** 2007;8:55–61

SPEAKMAN, J. R. Obesity: the integrated roles of environment and genetics. **Journal of Nutrition**, v. 134, p. 2090-2015, 2004.

STAMOU MI, GEORGOPoulos NA. Kallman syndrome: phenotype and genotype of hypogonadotropic hypogonadism. **Metabolism** 2017. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2017.10.012>.

STUNKARD, A. J.; WADDEN, T. A. **Obesity: theory and therapy.** New York: Raven Press 2nd ed., v.1, 1993.

SUN D, HUANG A, YAN EH, WU Z, YAN C, KAMINSKI PM, OURY TD, WOLIN MS, KALEY G. Reduced release of nitric oxide to shear stress in mesenteric arteries of aged rats. **Am J Physiol Heart Circ Physiol.** 2004; 286: H2249-H2256.

SUN D, HUANG A, YAN EH, WU Z, YAN C, KAMINSKI PM, OURY TD, WOLIN MS, KALEY G. Reduced release of nitric oxide to shear stress in mesenteric arteries of aged rats. **Am J Physiol Heart Circ Physiol.** 2004; 286: H2249-H2256.

SURWIT, R. S.; FEINGLOS, M. N.; RODIN, J.; SUTHERLAND, A.; PETRO, A. E.; OPARA, E. C.; KUHN, C. M.; REBUFFÉ-SCRIVÈ, M. Differential effects of fat and sucrose on the development of obesity and diabetes in C57BL/6J and A/J mice. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 44, p. 645-51, 1995.

SWEENEY G. Leptin signalling. Review article. **Cell Signal** 2002;14:655-63.

SWERDLOFF RS, WANG C. The testis and male sexual function. In: Goldman L, Schafer Al. **Goldman's Cecil medicine.** 24th ed. Philadelphia: Elsevier; 2012. v.1,

SWINBURN, B.A., SACKS, G., HALL, K.D., MCPHERSON, K., KNEGHOD, D.T., MOODIE, M.L. AND GHRTMAKER, S.L., The global obesity pandemic: shaped by global drivers and local environments. *Lancet*. Vol. 378, pp-741-746. 2018.

SZULINSKA M, GIBAS-DORNA M, MILLER-KASPRZAK E, et al. Spirulina maxima improves insulin sensitivity, lipid profile, and total antioxidant status in obese patients with well-treated hypertension: a randomized double-blind placebo-controlled study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2017;21(10):2473–2481.

TAKIMOTO E, KASS DA. Role of oxidative stress in cardiac hypertrophy and remodeling. *Hypertension*. 2007; 49: 241-248.

TAMLER R, DEVENEY T. Hypogonadism, erectile dysfunction, and type 2 diabetes mellitus: What the clinician needs to know. *Postgrad Med* 2010;122:165–75.

TANG, E.H.; VANHOUTTE, P.M. Endothelial dysfunction: a strategic target in the treatment of hypertension? *Pflugers Archiv: European Journal of Physiology*, v.459, n.6, p.995–1004, 2011.

TAVARES, T.B., NUNES, S.M. and SANTOS, M.O. (2010), Obesidade e qualidade de vida: revisão da literatura. *Revista médica de Minas Gerais*. Vol. 20, No..3, pp-359-366.

TEIXEIRA AS, Pereira BJ. Disfunção erétil como marcador precoce de doença cardiovascular. *Rev Factores Risco*. 2014;(25):8-11. Disponível em: <http://www.spc.pt/DL/RFR/artigos/405.pdf>.

TEIXEIRA, L.G., Interação entre obesidade induzida por dieta hiperlipídica e colite crônica aumenta reciprocamente a inflamação no tecido adiposo e no cólon. **Dissertação (Doutorado em Bioquímica e Imunologia)** Universidade Federal de Minas Gerais. (2012)

THIBAULT L, WOODS SC, WESTERTERP-PLANTENGA MS. The utility of animal models of human energy homeostasis. *Br J Nutr* 2014;92:S41–5.

TIRAWATTANAKOSON, R.; RATTANARAT, P.; NGAMROJANA VANICH, N.; RODTHONGKUM, N.; CHAILAPAKUL, O. Free radical scavenger screening of total antioxidant capacity in herb and beverage using/PEDOT: PSS-modified electrochemical sensor. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, v. 767, p. 68-75, 2016.

TOBERT, J. A.; Nat. Rev. **Drug Disc.** 2003, 2.

TOKUSOGLU O, UNAL MK. Biomass nutrient profiles of three microalgae: Spirulina platensis, Chlorella vulgaris, and Isochrisis galbana. *J Food Sci* 2003; 68: 1144-8.

TOMADA N, TOMADA I, CRUZ F, VENDEIRA P, NEVES D. Characterization of VEGF and angiopoietins expression in human corpus cavernosum during aging. *J Sex Med*. 2010; 7:1410-1418.

TOSTES RC, CARNEIRO FS, LEE A, GIACHINI FR, LEITE R, OSAWA Y, et al. Cigarette smoking and erectile dysfunction: focus on NO bioavailability and ROS generation. *J Sex Med*. 2008;5(6):1284-95. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1743-6109.2008.00804.x>.

TOUGHAN, H. S.R. KHALIL, A.A. EL-GHONEIMY, A. AWAD, A.S. SEDDEK. Effect of dietary supplementation with *Spirulina platensis* on Atrazine-induced oxidative stress-mediated hepatic damage and inflammation in the common carp (*Cyprinus carpio* L.) **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, 149 (2018), pp. 135-142.

TRAISH A, KIM NN, MORELAND RB, et al. Role of alpha adrenergic receptors in erectile function. **Int J Impot Res** 2000;12(Suppl1):S48-S63.

TRAISH AM, GUAY A, FEELEY R, SAAD F. The dark side of testosterone review deficiency: I. Metabolic syndrome and erectile dysfunction. **J Androl.** 2009;30(1):10-22. Doi: <http://dx.doi.org/10.2164/jandrol.108.005215>.

TRAISH AM, HAIDER A, DOROS G, SAAD F. Long-term testosterone therapy in hypogonadal men ameliorates elements of the metabolic syndrome: An observational, long-term registry study. **Int J Clin Pract** 2015;68:314-29.

TREMMEL M, GERDTHAM UG, NILSSON PM, SAHA S: Economic burden of obesity: a systematic literature review. **Int J Environ Res Public Health.** v14: E435, 2017.

UGWU, C. U., AOYAGI, H., & UCHIYAMA, H. Photobiorectors for mass cultivation of algae. *Bioresource Technology*, 99, 4021e4028.2008.

UNGVARI Z, OROSZ Z, LABINSKYY N, RIVERA A, XIANGMIN Z, SMITH K, CSISZAR A. Increased mitochondria H₂O₂ production promotes endothelial NF- κ B activation in aged rat arteries. **Am J Physiol Heart Circ Physiol.** 2007; 293: H37-H47.

UNGVARI Z, KALEY G, DE CABO R, SONNTAG WE, CSISZAR A. Mechanisms of Vascu-lar Aging: New Perspectives. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci.** 2010; 65:1028-1041.

URLACHER SS, KRAMER KL. Evidence for energetic tradeoffs between physical activity and childhood growth across the nutritional transition. **Sci Rep.** 2018;8(1):369.

VADIVEL, V.; PUGALENTHI, M. Studies on the incorporation of velvet bean (*Mucuna pruriens* var. *utilis*) as an alternative protein source in poultry feed and its effect on growth performance of broiler chickens. **Tropical Animal Health and Production**, v. 42, p. 1367-1376, 2010.

VAIOPoulos AG, MARINOU K, CHRISTODOULIDES C, KOUTSILIERIS M. The role of adiponectin in human vascular physiology. **Int J Cardiol.** 2012;155(2):188-93.

VALKO M, LEIBFRITZ D, MONCOL J, CRONIN MT, et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **Int J Biochem Cell Biol.** v. 39: 44-84, 2007.

VALLI, M.; DOS SANTOS, R. N.; FIGUEIRA, L. D.; NAKAJIMA, C. H.; CASTRO-GAMBOA, I.; ANDRICOPULO, A. D.; BOLZANI, V. S.; J. **Nat. Prod.** 2013, 76, 439.

VAN DER VHET, T.J.R. and TUINSTRA, A.B. (1989), Modulation of oxidative stress in the gastrointestinal tract and effect on rat intestinal motility. **Biochemic Pharmacology.** Vol 38, p. 2808-2819.

VAN DER VLIET; A. (1992), Effect of oxidative stress on receptors and signal transmission. **Chemical and biology interactions**. Vol. 85, pp- 95-116.

VILELA, J. D.; **Rev. Paul. Med.** 2007, 89, 115.

VLACHOPOULOS C, ROKKAS K, STEFANADIS C, IOAKEIMIDIS N. Inflammation, metabolic syndrome, erectile dysfunction and coronary artery disease: common links. **J Eur Urol.** 2007;52:1590-600. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eururo.2007.08.004>.

VOET, DONALD; VOET, JUDITH; PRATT, CHARLOTTE. Fundamentos de bioquímica. Porto Alegre: **Artmed**, 2000.

WAJCHENBERG BL. Disfunção endotelial no diabetes do tipo 2. **Arq Bras Endocrinol Metab.** 2012;46(5):514-9. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0004-27302002000500004>.

WAJCHENBERG BL. Disfunção endotelial no diabetes do tipo 2. **Arq Bras Endocrinol Metab.** 2002;46(5):514-9. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0004-27302002000500004>.

WANG, Z. J., & ZHANG, X. W. Inhibitory effects of small molecular peptides from Spirulina (Arthrospira) platensis on cancer cell growth. **Food & Function**, 7, 781–788. (2016).

WASSMANN, S.; WASSMANN, K.; NICKENIG, G. Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. **Hypertension**, v. 44, n. 4, p. 381-386, 2004.

WEATHERIL, A.R., LEE, J.V., ZHAO, L., LEMAY, D.G., YOUN, H.S. and HWANG, D.H. (2005), Saturated and polyunsaturated fatty acids reciprocally modulate dendritic cell functions mediated through tlr4. **Journal Immunology**. Vol. 174, pp-5390-5397.

WEBB, R C. Smooth muscle contraction and relaxation. **Advances in Physiology Education**. Vol. 27, pp- 201-206. (2003),

WEI YH, LEE HC. Oxidative stress, mitochondrial DNA mutation, and impairment of antioxidant enzymes in aging. **Exp Biol Med (Maywood)**. 2000; 227: 671-682.

WESPES, E.; AMAR, A.; HATZICHRISTOU, D.; MONTORSI, F.; PRYOR, J.; VARDI, Y.; **Eur. Urol.** 2002, 41, 1.

WESSELLS H, TEAL TH, ENGEL K, et al. Fluid shear stress-induced nitric oxide production in human cavernosal endothelial cells: inhibition by hyperglycaemia. **JU Int** 2006;5:1047–52.

WHO. Obesity and overweight. Disponível em:< <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>>2018

WHO. Prevalence of obesity among adults. Disponível em:< http://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/overweight_obesity/obesity_adults/en/>2018

WHO. Prevalence of overweight among adults. Disponível em:< http://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/overweight/en/>2018

WIJESEKARA, I., PANGESTUTI, R., KIM,S.-K., Biological activities and potential health benefits of sulfated polysaccharides derived from marine algae. **Carbohydr. Polym.** 84, 14–212011. New York, 1997.

WOODRUM, D.A.AND BROPHY, C.M. The paradox of smooth muscle physiology. **Mol. Cell. Endocrinol.**, (2001), Vol. 177, pp. 135-143.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Noncommunicable diseases. **Fact sheet N°355.** 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity and overweight; fact sheets. **Updated** June 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity: prevent - ing and managing the global epidemic. Geneva: **World Health Organization**; 2000.

WU Q, LIU L, MIRON A, KLIMOVA B, WAN D, KUCA K. The antioxidant, immunomodulatory, and anti-inflammatory activities of Spirulina: An overview. **Arch Toxicol.** 2016.

WYLLIE M. As drogas e o sistema genitourinário. In: Page C, Curtis M, Sutter M, et al. **Farmacologia integrada**. 2a ed. Barueri: Manole; 2014. p.495-501

XIONG, J. S. LIU, Y. PAN, B. ZHANG, X. CHEN, L. FAN. Combination of fish oil and ethanol extracts from Spirulina platensis inhibits the airway inflammation induced by ovalbumin in mice. **J. Funct. Foods**, 40 (2018), pp. 707-714

Y. MINOKOSHI, Y.-B. KIM, O.D. PERONI, L.G.D. FRYER, C. MU" LLER, D. CARLING, B.B. KAHN, Leptin stimulates fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase, **Nature** 415 (2002) 339–343., <http://dx.doi.org/10.1038/415339a>.

YAMAGUCHI, L. F.; FREITAS, G. C.; YOSHIDA, N. C.; SILVA, R. A.; GAIA, A. M.; SILVA, A. M.; SCOTTI, M. T.; EMERENCIANO, V. P.; GUIMARÃES, E. F.; FLOH, E. I. S.; COLOMBO, C. A.; SIQUEIRA, W. J.; KATO, M. J. **J. Braz. Chem. Soc.** 2011, 22, 2371.

YOGARAJAH T, BEE Y-TG, NOORDIN R, YIN KB. Increased peroxisome proliferator-activated receptor γ expression levels in visceral adipose tissue, and serum CCL2 and interleukin-6 levels during visceral adipose tissue accumulation. **Mol Med Rep.** 2015;11(1):515–20.

ZEINALIAN R, FARHANGI MA, SHARIAT A, SAGHAFI-ASL M. The effects of Spirulina platensis on anthropometric indices, appetite, lipid profile and serum vascular endothelial growth factor (VEGF) in obese individuals: a randomized double blinded placebo controlled trial. **BMC Complement Altern Med.** 2017;17(1):225.

ZEWEIL H., ABAZA, I. M., ZAHRAN, S. M., AHMED, M. H., HAIAM, M., ABOUL-ELA and ASMAA, A. S., Effect of *Spirulina platensis* as dietary supplement on some biological traits for chickens under heat stress condition. **Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences**, Vol.6, No.5, pp. 08-12. (2016)

Anexos

Anexo 1 – Certificado da *Spirulina platensis*.

1

CERTIFICADO DE ANÁLISE

Insumo:	Espirulina 60%	Data de Análise:	27-10-2017	
Lote Interno:	17J11-B004-025041	Lote Fabricante:	SP17132	
Data de Fabricação:	19-06-2017	Data de Validade:	18-06-2020	
Origem:	China	Procedência:	Hong Kong	
Condições de Armazenamento:	Temperatura Ambiente	Ordem de Fracionamento:	025041	
DCB:	- -	DCI:	-	
CAS:	-	Peso Molecular:	-	
Fórmula Molecular:				
Observações:	Parte Utilizada:	Toda a planta	Nome Científico:	Spirulina platensis
Testes	Especificações	Resultados	Unidade	Referências
Descrição *	Po fino verde, com leve odor de algas	Conforme		Fabricante
Sabor	Leve de algas	Conforme		Fabricante
Perda por Dessecção *	<= 8,0% (2g/ 105°C/ Peso constante)	4,44	%	Fabricante
Proteína	>= 60	65,3	%	Fabricante
Cinzas totais *	<= 8,0	6,83	%	Fabricante
Total Carotenoides *	>= 0,3	0,30	g/100g	Fabricante
Arsénio *	<= 1,0	0,081	ppm	Fabricante
Chumbo *	<= 2,0	Não detectado	ppm	Fabricante
Cádmio *	<= 0,1	0,012	ppm	Fabricante
Mercurio	<= 0,1	Conforme	ppm	Fabricante
Granulometria	100 passa malha 80	Conforme	%	Fabricante
Densidade Aparente *	+ ou - 0,5	0,47	g/mL	Fabricante
Testes Microbiológicos				
Contagem total de bactérias *	<= 100000	< 1000	UFC/g	Fabricante
Fungos e Leveduras *	<= 300	< 10	UFC/g	Fabricante
Salmonella *	Negativo	Negativo		Fabricante
Echerichia coli *	Negativo -	Negativo		Fabricante
Coliformes	<= 10	< 10	UFC/g	Fabricante
Staphylococcus *	Negativo	Negativo		Fabricante

(Continua)

(Continuação)



2

CERTIFICADO DE ANÁLISE

Insumo:	Espirulina 60%	Data de Análise:	27-10-2017
Lote Interno:	17J11-B004-025041	Lote Fabricante:	SP17132
Data de Fabricação:	19-06-2017	Data de Validade:	18-06-2020
Origem:	China	Procedência:	Hong Kong
Condições de Armazenamento:	Temperatura Ambiente	Ordem de Fracionamento:	025041

DCB:	-	DCI:	-
CAS:	-	Peso Molecular:	-
Fórmula Molecular:	-		
Observações:	Parte Utilizada:	Toda a planta	Nome Científico: Spirulina platensis

* Resultados obtidos em análises realizadas no Laboratório de Controle de Qualidade SM EMPREENDIMENTOS FARMACÉUTICOS LTDA. E os demais foram transcritos conforme certificado de análise do fabricante.

Conclusão:

Aprovado
Reprovado



Responsável Técnico
João Paulo Sartin Mendes
CRF-GO: Nº 7355



Responsável Técnico Substituto
Olivia Neiva Mesquita Mendes
CRF-GO: Nº 5227



Responsável Técnico
Ana Ligia Boer Barbosa
CRF-SP: 72.656



Responsável Técnico
Ellene Ribeiro de Lima
CRF-GO: Nº 11.361

Fim do Documento

Anexo 2 – Certificado de análise do pó de *Spirulina platensis*.

		PREFEITURA MUNICIPAL DE JOÃO PESSOA SECRETARIA DE RECEITA MUNICIPAL NOTA FISCAL DE SERVIÇOS ELETRÔNICA - NFS-e			NUMERO 1002781
					CÓDIGO DE VERIFICAÇÃO 2T5BRCLC3
DADOS BÁSICOS					
DATA DA EMISSÃO	COMPETÊNCIA	ISS A RETER	Nº DO RPS	Nº DA NFS-e SUBSTITUIDORA	Nº DA NFS-e SUBSTITUÍDA
5/10/2017	19/10/2017	Não	24436		1002780
PRESTADOR DOS SERVIÇOS					
ROYAL <small>FARMÁCIA DE MATERIAIS</small>		NOME / NOME EMPRESARIAL VTO COMERCIO FARMACEUTICO LTDA		NOME DE FANTASIA <small>Exigível</small>	CPF / CNPJ <small>04.211.357/0001-70</small>
		INSCRIÇÃO MUNICIPAL 833126	EXIGIBILIDADE TRIBUTÁRIA <small>Exigível</small>	Nº DO PROCESSO <small>Não</small>	OPTANTE PELO SIMPLES NACIONAL <small>Não</small>
					OPTANTE PELO SIMEI <small>Não</small>
LOGRADOURO AV DOM PEDRO II		NÚMERO <small>00687</small>			
COMPLEMENTO LOJAS / 101 A 106		BAIRRO <small>CENTRO</small>			
MUNICÍPIO João Pessoa		ESTADO <small>PB</small>			
CEP 58013-420		PAÍS <small>BRASIL</small>			
TOMADOR DOS SERVIÇOS					
NOME / NOME EMPRESARIAL PAULA BENVINDO FERREIRA		CPF / CNPJ <small>006.039.433-14</small>		INSCRIÇÃO MUNICIPAL	
LOGRADOURO RUA BANCARIOS JOSE ALEXANDRE DE FARIAS		NÚMERO <small>71</small>			
COMPLEMENTO AP 904		BAIRRO <small>MIRAMAR</small>			
MUNICÍPIO João Pessoa		ESTADO <small>PB</small>			
CEP 58022-010		PAÍS <small>BRASIL</small>			
SERVIÇOS PRESTADOS					
ITEM DA LISTA DE SERVIÇOS 4.07 - Serviços farmacêuticos.					
DESCRIÇÃO DETALHADA 405684 0001405894-0 FORMULA 700.00G Outras C/ SPIRULINA 700.00G 1 350 Trib approx N=R\$47,08 E=R\$63,00 M=R\$0,00 Fonte: IBPT (PB) Versao 17.1.A					
OBRA VINCULADA - CONSTRUÇÃO CIVIL					
LOCAL DA PRESTAÇÃO DOS SERVIÇOS					
MUNICÍPIO João Pessoa		ESTADO <small>PB</small>		PAÍS <small>BRASIL</small>	
VALORES					
VALORES BÁSICOS					
VALOR DOS SERVIÇOS R\$ 350,00	DESCONTO INCONDICIONADO R\$ 0,00	DESCONTO CONDICIONADO R\$ 0,00	DEDUÇÃO LEGAL R\$ 0,00		
RETENÇÕES DE TRIBUTOS FEDERAIS					
PIS R\$ 0,00	COFINS R\$ 0,00	INSS R\$ 0,00	IR R\$ 0,00	CSLL R\$ 0,00	
VALORES COMPLEMENTARES					
OUTRAS RETENÇÕES R\$ 0,00	BASE DE CÁLCULO R\$ 350,00	ALIQUOTA 5,00 %	ISS R\$ 17,50	VALOR LÍQUIDO R\$ 350,00	
USO DA ADMINISTRAÇÃO TRIBUTÁRIA					
INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES					

Anexo 3 – Cópia da certidão de aprovação do Projeto junto à Comissão de Ética no Uso de Animais.



Universidade
Federal da
Paraíba

Comissão de Ética no
Uso de Animais

Reitoria



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Avaliação do mecanismo de ação da Spirulina platensis na reatividade contrátil e relaxante do íleo de ratos Wistar submetidos à dieta hipercalórica", protocolada sob o CEUA nº 6061090318 (ID 000247), sob a responsabilidade de **Bagnólia Araújo Costa** e equipe; **Anderson Fellyp Avelino Diniz** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA/UFPB) na reunião de 06/07/2018.

We certify that the proposal "Evaluation of the mechanism of action of Spirulina platensis on the contractile and relaxing reactivity of the ileum of Wistar rats submitted to the hypercaloric diet", utilizing 128 Heterogenics rats (128 males), protocol number CEUA 6061090318 (ID 000247), under the responsibility of **Bagnólia Araújo Costa** and team; **Anderson Fellyp Avelino Diniz** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Paraíba (CEUA/UFPB) in the meeting of 07/06/2018.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **04/2018** a **02/2020** Área: **Ciências Farmacêuticas**

Origem:	Unidade de Produção Animal - IPeFarM	sex:	Machos	idade:	8 a 8 semanas	N:	128
Espécie:	Ratos heterogênicos						
Linhagem:	Rattus Norvegicus - Wistar					Peso:	150 a 160 g

Local do experimento: O citado projeto será realizado no Laboratório de Farmacologia Funcional (LFF) e na Unidade de Produção Animal, localizados no Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPeFarM) onde funciona o Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, do Centro de Ciências da Saúde (CCS/UFPB), todos da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), sob responsabilidade da orientadora.

João Pessoa, 06 de julho de 2018

Islânia Gisela A. Gonçalves

Profa. Dra. Islânia Gisela Albuquerque Gonçalves
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal da Paraíba

Ricardo R. G.

Prof. Dr. Ricardo Romão Guerra
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal da Paraíba

Anexo 4 – Artigo publicado durante o mestrado na revista *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, FI: 4,936, em 2018.

Hindawi
Oxidative Medicine and Cellular Longevity
Volume 2018, Article ID 6364821, 8 pages
<https://doi.org/10.1155/2018/6364821>



Research Article

Effects of Redox Disturbances on Intestinal Contractile Reactivity in Rats Fed with a Hypercaloric Diet

Iara L. L. de Souza,^{1,2} Elba dos S. Ferreira,¹ Anderson F. A. Diniz,¹
Maria Thaynan de L. Carvalho,³ Fernando R. Queiroga,¹ Lydiane T. Toscano,⁴
Alexandre S. Silva,⁴ Patrícia M. da Silva,⁵ Fabiana de A. Cavalcante,^{1,2}
and Bagnólia A. da Silva^{1,6}

¹Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brazil

²Departamento de Fisiologia e Patologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brazil

³Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brazil

⁴Departamento de Educação Física, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brazil

⁵Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brazil

⁶Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brazil

Correspondence should be addressed to Bagnólia A. da Silva; bagnolia@ltf.ufpb.br

Received 23 June 2018; Accepted 27 September 2018; Published 25 October 2018