



AVALIAÇÃO DE ESTRESSE OXIDATIVO EM CADELAS SUBMETIDAS A CIRURGIA DE OVARIOHISTERECTOMIA RECEBENDO DIETAS A BASE DE ESPIRULINA A UM PORCENTO

Ilan Munhoz Ayer¹; Cláudia Russo²; Ricardo Souza Vasconcellos³

RESUMO: A indústria brasileira do setor *pet food* produziu dois milhões de toneladas de alimentos para cães e gatos no ano de 2010. O potencial do mercado brasileiro, de acordo com a Associação Nacional dos Fabricantes de alimentos para animais de companhia, está muito além dos resultados conquistados, com um consumo potencial de 4,55 milhões de toneladas/ano. Este trabalho tem como objetivo geral avaliar os efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes da espirulina adicionada a 1% na dieta de cadelas previamente à realização de ovariectomia. Serão utilizadas vinte cadelas divididas em dois tratamentos com dez animais cada. As rações serão formuladas de forma atender as exigências nutricionais dos animais. O período experimental será de sessenta dias, dividido em duas fases: adaptação (14 dias) e experimental (46 dias). Para avaliação do estado inflamatório serão realizadas as seguintes análises: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, hemólise peroxidativa *in vitro*, relação entre glutatona reduzida e glutatona oxidada séricas, determinação sérica de alfa-tocoferol e dehidroascorbato, análise das proteínas de fase aguda por eletroforese. Será utilizado delineamento inteiramente casualizado, em um esquema de medidas repetidas no tempo. Os dados serão submetidos à Análise de Variância e as médias comparadas pelo teste Tukey, considerando 5% de probabilidade. A espirulina já demonstrou benefícios em outro estudo em cães, na dosagem proposta no presente projeto e caso este efeito seja confirmado neste estudo com os animais desafiados, os dados desta pesquisa servirão de subsídio para futuros estudos mais aprofundados e também para a utilização deste ingrediente alternativo pela indústria.

PALAVRAS-CHAVE: Spirulina maximum, status oxidativo, proteína c reativa

1. INTRODUÇÃO

A indústria brasileira do setor petfood produziu dois milhões de toneladas de alimentos para cães e gatos no ano de 2010. O potencial do mercado brasileiro, de acordo com a Associação Nacional dos Fabricantes de alimentos para animais de companhia, está muito além dos resultados conquistados, com um consumo potencial de 4,55 milhões de toneladas/ano (ANFAL-pet,).

Manter a alimentação dos cães e gatos adequada tem sido uma busca mais frequente pelos proprietários que fornecem alimentos industrializados aos seus animais, com o objetivo de aumentar a longevidade e prevenir o desenvolvimento de doenças. Com isto, a nutrição e os cuidados veterinários estão ganhando cada vez mais importância na sociedade (LOWE, 2002; BONTEMPO, 2005).

¹ Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário de Unicesumar – UNICESUMAR, Maringá – Paraná. Bolsista do Programa de Bolsas de Iniciação Científica do Cesumar (PROBIC). ilanmayer@hotmail.com

² Professora do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário de Unicesumar – UNICESUMAR, Maringá – Paraná. claudia.russo@hotmail.com

³ Professor PHD do Curso de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – UEM. ricardo.souza.vasconcellos@gmail.com

A nutrição desempenha um papel muito importante na imunidade e na saúde animal. A deficiência nutricional é responsável pela debilidade do sistema imunológico, promovendo aumento da morbidade e até mesmo mortalidade. Porém, a suplementação nutricional ou uma alimentação balanceada apresenta grande influência na melhora do desempenho imunológico (CHEW, 1995).

É sobre este aspecto, de promover a saúde e a longevidade dos animais de companhia, que cada vez mais a indústria pet busca alimentos com finalidades especiais e particulares como os nutracêuticos, alimentos funcionais que beneficiam a nutrição básica e podem prevenir o desenvolvimento de doenças (HUSSEIN, 1998; NEUMANN, et al., 2000; TAIPINA, et al., 2002).

Dentre os nutracêuticos, os antioxidantes têm ganhado destaque recentemente, uma vez que a oxidação dos sistemas orgânicos contribui com o desenvolvimento de uma série de doenças crônicas que levam à redução na longevidade, tais como artrites, cardiopatias, nefropatias, neoplasias, disfunções cognitivas, entre outros (LOWE, 2002). Os antioxidantes podem agir diretamente na neutralização da ação dos radicais livres ou participar indiretamente de sistemas enzimáticos com essa função (SOARES, 2002).

Os antioxidantes são biomoléculas que atuam na redução da formação de espécies reativas de oxigênio ou nitrogênio formadas no organismo ou no sequestro destas substâncias antes que seja causado algum dano, especialmente ao DNA. Os antioxidantes podem agir diretamente na neutralização da ação dos radicais livres ou participar indiretamente de sistemas enzimáticos que tem essa função (SOARES, 2002).

Geralmente, mais de uma substância com atividade antioxidante encontra-se nos alimentos, o que torna importante a avaliação do potencial do alimento como um todo na redução dos danos oxidativos ao organismo. As algas cianofíceas do gênero *Spirulina* spp. apresentam uma longa história de uso na alimentação humana (BELAY, 2002). Isto porque estas algas são consideradas fontes ricas de aminoácidos (aproximadamente 65% de proteína bruta), minerais, vitaminas, ácidos graxos poli-insaturados (especialmente gama-linolênico) e pigmentos antioxidantes. Devido à sua composição química, alguns efeitos imunomodulatórios têm sido atribuídos ao seu emprego na alimentação humana e animal (JAIME-CEBALLOS et al., 2005). Na sua composição, as espirulinas apresentam quantidades significantes de alfa-tocoferol, glutatona, ácido ascórbico, astaxantina, luteína, zeaxantina, criptoxantina, β -caroteno e ficocianinas (EL-BAKY et al., 2007).

Comparativamente às outras substâncias empregadas como antioxidantes na alimentação animal, o extrato alcoólico de espirulina inibiu a peroxidação lipídica mais significativamente (65% de inibição) que o alfa-tocoferol (35%), BHA (45%) e β -caroteno (48%). A atividade antioxidante da espirulina tem sido atribuída ao sinergismo dos antioxidantes presentes neste alimento (BELAY, 2002).

No sistema imunológico de ratos, a suplementação com espirulina permitiu maior proliferação de linfócitos *in vitro*, maior atividade fagocitária de macrófagos e maior produção de IgG em resposta à vacinação (HAYASHI et al., 1994; ROMAY et al., 2003).

Baseando-se no exposto acima, este projeto busca responder a seguinte pergunta de pesquisa: A espirulina proporciona ação anti-inflamatória e antioxidante em animais submetidos à procedimentos cirúrgicos?

2. MATERIAL E MÉTODOS

Serão utilizados vinte animais do sexo feminino, adultas jovens entre um e cinco anos de idade, com peso entre 10-20 kg e escore de condição corporal 5-6 (Laflamme, 1997). Todas as cadelas serão submetidas ao exame clínico, hematológico, bioquímica sérica, urinário e coproparasitológico para atestar seu estado de saúde. As cadelas que

participarão do experimento serão selecionadas no Hospital Veterinário do Centro Universitário de Maringá (CESUMAR), provenientes de proprietários da região que trouxeram o animal para agendar castração. Apenas serão incluídos na pesquisa aqueles animais cujo proprietário tenha sido esclarecido sobre os objetivos da pesquisa e tenha concordado com os procedimentos adotados.

As cadelas serão divididas em dois tratamentos com dez animais cada. O período experimental será de sessenta dias, dividido em duas fases: fase de adaptação: esta fase terá 14 dias e os animais de ambos os grupos receberão um mesmo alimento comercial para cães adultos em manutenção, visando estabilizar todas as variáveis hematológicas e bioquímicas para a fase experimental posterior; fase experimental: esta fase terá 46 dias sendo os animais distribuídos nos dois tratamentos (Controle e Espirulina 1%) e avaliados nos momentos inicial, aos 45 dias (pré-operatório, após 45 dias recebendo o alimento teste) e aos 46 dias (24h pós-operatório) para a determinação do status oxidativo e inflamatório. O estudo terá um delineamento inteiramente casualizado em um esquema de medidas repetidas no tempo. Os dados serão submetidos à Análise de Variância e as médias comparadas pelo teste Tukey, considerando 5% de probabilidade. Todas as análises estatísticas serão realizadas com o auxílio do software estatístico SAS, versão 9.0.

Após a fase pré-experimental será realizada a coleta sanguínea, por venopunção da jugular. Serão realizadas coletas de para avaliação de ação antioxidantes no período pré, trans e pós-operatório (com 24 horas após cirúrgico). Ao completar dez dias do procedimento cirúrgico será feita a retirada dos pontos e realizada novamente a coleta de sangue para avaliação da atividade antioxidante da dieta sobre o procedimento cirúrgico.

As análises a ser realizadas serão: as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), hemólise peroxidativa in vitro, relação entre glutathione reduzida (GSH) e glutathione oxidada (GSSG) séricas, determinação sérica de alfa-tocoferol e dehidroascorbato, vitamina E, análise das proteínas de fase aguda por eletroforese.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com este delineamento proposto pretende-se desenvolver um modelo de desafio para o estudo com nutracêuticos em cães. Além disto, a busca de ingredientes com propriedades funcionais tem sido intensa pela indústria de alimento, visando melhorar a qualidade dos alimentos para favorecer um envelhecimento saudável. Desta forma, a espirulina já demonstrou benefícios em outro estudo em cães, também no Brasil (Labres, 2012), na dosagem proposta no presente projeto e caso este efeito seja confirmado neste estudo com os animais desafiados, os dados desta pesquisa servirão de subsídio para futuros estudos mais aprofundados e também para a utilização deste ingrediente alternativo pela indústria. O Brasil está desenvolvendo pesquisas no cultivo desta alga em subprodutos industriais para viabilizar o seu uso na prática e a comprovação dos seus benefícios à saúde poderá viabilizar comercialmente este ingrediente. Portanto, espera-se neste projeto desenvolver um modelo experimental para estudos de ingredientes com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias em cães e viabilizar o uso de um novo ingrediente em petfood.

4. CONCLUSÃO

A espirulina já demonstrou benefícios em outro estudo em cães, na dosagem proposta no presente projeto e caso este efeito seja confirmado neste estudo com os

animais desafiados, os dados desta pesquisa servirão de subsídio para futuros estudos mais aprofundados e também para a utilização deste ingrediente alternativo pela indústria.

5. REFERÊNCIAS

ANFALPET. Associação Nacional dos Fabricantes de Alimentos para Animais de Estimação – ANFALPET.

LOWE, J.E. Adding Value to Petfood by Utilizing Novel Ingredients and Developments in Applied Nutrition. 2002, In: Petfood Forum, anais, São Paulo-Brasil.

BONTEMPO, V. Nutrition and health of dogs and cats: evolution of petfood. J. Vet. Res. V.29, p.45-50, 2005.

CHEW, B.P.; PARK, J.S. Carotenoid action on the immune response. J. Nutr. V.134, p.257S-261S, 2004.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. Revista de Nutrição. v. 15, p. 71-81, 2002.

BELAY, A. The Potential Application of Spirulina (Arthrospira) as a Nutritional and Therapeutic Supplement in Health Management. J. Am. Nutr. Assoc. v.5; p.27-49, 2002.

JAIME-CEBALLOS, B.; VILLARREAL, H.; GARCIA, T. et al. Effect of spirulina platensis meal as feed additive on growth, survival and development in *litopenaeus schmitti* shrimp larvae. Rev. Invest. Mar. v.26; p.235-241, 2005.

EL-BAKY, H.H.A.; BAZ, F.K.E.; EL-BAROTY, G.S. Enhancement of Antioxidant Production in Spirulina Plantensis Under Oxidative Stress. Am. Euras. J. Sci. Res. V.2, p.170-179, 2007.

LAFLAMME, D. P. Development and validation of a body condition score system for cats: a clinical tool. Feline Practice, Santa Barbara, v. 25, n. 5-6, p. 13-17, 1997