

AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANGIOGÊNICA, ANTIANGIOGÊNICA, GENOTÓXICA E ANTIGENOTÓXICA DA SPIRULINA

EVALUATION OF ANGIOGENIC, ANTIANGIOGENIC, GENOTOXIC AND ANTIGENOTOXIC ACTIVITIES OF SPIRULINA

Robenildo Roney Castro Ciriaco¹, Tainan Ramos da Silva², Susy Ricardo Lemes Pontes^{3*}, Luciane Madureira⁴, Pablo Gonçalves⁵, Fátima Mrue¹, Paulo Roberto Melo Reis¹

¹ Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia - GO, Brasil.

² Centro Universitário UniFG, Guanambi - BA, Brasil.

³ Centro Universitário Goyazes, Trindade - GO, Brasil.

⁴ Universidade Estadual de Goiás, Anápolis - GO, Brasil.

⁵ Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO, Brasil.

*Correspondente: susy.pontes@unigy.edu.br

Resumo

Objetivo: avaliar o potencial angiogênico, antiangiogênico, genotóxico e antigenotóxico da *Spirulina*. Material e Métodos: Para avaliação da angiogênese e antiangiogênese foram utilizados ovos embrionados de galinha. Para os testes de genotoxicidade realizou-se o teste do micronúcleo em camundongos tratados intraperitonealmente, com as doses de 1000 mg kg⁻¹, 500 mg kg⁻¹ e 250 mg kg⁻¹ da solução aquosa da *Spirulina*, no tempo de 24 horas, concomitante com a doxirrubicina. Resultados: a solução da *Spirulina* nas três doses utilizadas, provocou uma diminuição significativa na área de porcentagem da rede vascular na membrana corioalantóides, quando comparados ao controle positivo, demonstrando atividade antiangiogênica. A solução da *Spirulina* também apresentou nas três concentrações atividade genotóxica. Quando testado o potencial antigenotóxico, o estudo evidenciou uma diminuição significativa na frequência micronúcleos em 4000 EPC, mostrando assim uma atividade antigenotóxica. Conclusão: a solução da *Spirulina* apresenta potencial antiangiogênico nas concentrações testadas, de apresentar atividade genotóxica e antigenotóxica.

Palavras-chave: Angiogênese, Membrana Corioalantóide, Micronúcleo, *Spirulina*.

Abstract

Objective: to evaluate the angiogenic, antiangiogenic, genotoxic and antigenotoxic potential of *Spirulina*. Material and Methods: To evaluate angiogenesis and antiangiogenesis, embryonated chicken eggs were used. For the genotoxicity tests, the

Recebido: Set. 2021 | Aceito: Nov. 2021 | Publicado: Jan 2022



miconucleus test was performed in mice treated intraperitoneally, with doses of 1000 mg kg⁻¹, 500 mg kg⁻¹ and 250 mg kg⁻¹ of the aqueous solution of Spirulina, within 24 hours, concomitant with doxyrubicin. Results: the Spirulina solution in the three doses used, caused a significant decrease in the percentage area of the vascular network in the chorioallantoic membrane, when compared to the positive control, demonstrating antiangiogenic activity. The Spirulina solution also showed genotoxic activity at the three concentrations. When tested for antigenotoxic potential, the study showed a significant decrease in micronucleus frequency in 4000 EPC, thus showing an antigenotoxic activity. Conclusion: the Spirulina solution has antiangiogenic potential at the concentrations tested, showing genotoxic and antigenotoxic activity.

Keywords: Angiogenesis, Chorioallantoic Membrane, Micronucleus, *Spirulina*.

Introdução

A *Arthrospira maxima* é uma cianobactéria da família *Oscillatoraceae* que cresce nas águas alcalinas em áreas subtropicais e tropicais, incluindo América, Ásia e África Central onde é conhecida popularmente como *Spirulina* (SPR). Essa planta tem sido amplamente utilizada como fonte de alimentação pelo seu alto valor nutricional de proteínas, nutrientes e minerais. Além disso, a *Spirulina* possui efeito benéfico para a saúde humana, pois vários estudos têm demonstrado ações anti-hipertensivas, antioxidante e anti-hiperlipêmico^{1,2}. Outros trabalhos demonstraram melhora no tratamento da esteatose hepática, obesidade e doenças cardiovasculares, que hoje estão associadas a altas taxas de morbidade e mortalidade³. Propriedades antigenotóxicas e anticarcinogênicas foram comprovadas em pesquisas realizadas *in vivo* e *in vitro*⁴.

Nos últimos anos, aumentou-se o interesse em avaliar o potencial antioxidante dos hidrolisados de proteínas e sua possível aplicação como alimentos funcionais e nutracêuticos⁵. Atualmente, a *Spirulina* é considerada como produto natural, capaz de prevenir ou controlar doenças, fornecendo benefícios médicos e tem apresentado uma série de melhorias principalmente como na hipercolesterolemia, certas doenças inflamatórias, alergias, câncer, toxicidade ambiental e toxicidade induzida por drogas, doenças cardiovasculares entre outras patologias^{6,7}.

Os efeitos anti-hiperlipêmicos da *Spirulina* têm sido demonstrados em animais roedores. E a redução dos níveis de colesterol foi relatada pela primeira vez em ratos albinos por Devi e Venkataraman em 1983, logo depois, em camundongos em 1984, por

Kato *et al*⁸. No estudo com ratos, a suplementação com a *Spirulina* e uma dieta com altos teores de gordura e colesterol resultou em uma diminuição significativa no colesterol sérico total, LDL, VLDL, enquanto o HDL foi aumentado concomitantemente^{9,10}.

Estudos sobre os efeitos antioxidantes da *Spirulina* em humanos sugerem resultados positivos para a saúde, também para o desempenho físico devido à sua composição química com alta concentração proteica¹¹. O estresse oxidativo e a inflamação contribuem simultaneamente para a patogênese da aterosclerose, hipertrofia cardíaca, insuficiência cardíaca e hipertensão. Por isso, agentes com atividade antioxidante e/ou anti-inflamatória podem revelar-se benéficos no combate a doenças cardiovasculares¹².

Diversos trabalhos têm favorecido uma compreensão mais adequada dos mecanismos de carcinogênese. O processo de angiogênese que é a formação dos novos vasos sanguíneos a partir de outros já existentes, são estimulados por alguns fatores, e esses vasos são necessários para o fornecimento dos nutrientes e a oxigenação adequada para seu crescimento^{13,14}. A angiogênese se encontra em diversos processos fisiológicos como a menstruação, cicatrização de feridas e outros. Os casos patológicos como retinopatia diabética, artropatias crônicas, angiofibroma, glaucoma vascular, disseminação metastática, crescimento tumoral e desenvolvimento de placa de ateroma a neovascularização também está presente^{15,16}.

Não obstante, é notório que alguns compostos de origem vegetais podem causar doenças e até a morte por ação de agentes genotóxicos ou carcinogênicos. O interesse em determinar os riscos no uso medicinal de tais compostos se explica por ações indesejáveis que os mesmo podem provocar. As mutações gênicas atuam em etapas do processo da carcinogênese humana, sendo assim, testes que detectam compostos genotóxicos permitem identificar substâncias que ofereçam esse risco^{17,18}.

Desta forma, em virtude da utilização da *Spirulina* pela população, torna-se necessário a investigação científica da atividade angiogênica e genotóxica dessa substância. Considerando a importância da descoberta de novas substâncias que induzem a formação de novos vasos sanguíneos e ao processo de mutagenicidade, o presente estudo teve como objetivo de avaliar o potencial angiogênico, antiangiogênico, genotóxico e antigenotóxico da *Spirulina* *Spirulina* (*Arthrospira maxima*).

Material e Métodos

Obtenção da solução de Spirulina

A *Spirulina* foi adquirida nas farmácias comerciais de Goiânia na apresentação em capsula, fabricado pelo Laboratório UnilifeVitamins, com autorização do MS sob nº 6.02234-1. A solução aquosa foi obtida por diluição com água destilada da capsula de *Spirulina*, onde foram aplicadas as seguintes doses: 1000 mg kg⁻¹, 500 mg kg⁻¹ e 250 mg kg⁻¹.

Ovos embrionados

Foram analisadas 60 membranas corioanlantióides (MCAS) do ovo embrionado de galinha (*Gallus domesticus*). Os experimentos foram realizados no Laboratório de Estudos Experimentais e Biotecnológicos (LEB) da Pontifícia Universidade Católica de Goiás e também no Laboratório de Análises Clínicas da UniFG. Os ovos foram obtidos da granja Carrapicho, distrito de Guirapá, Pindaí-Bahia.

Animais da experimentação

Para realizar o teste do micronúcleo, foram utilizados 40 camundongos machos, saudáveis, da espécie *Mus musculus* "outbred", linhagem SwissWebster, oriundos do Biotério Central da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, apresentando peso corpóreo entre de 30 a 40g e faixa etária entre 45 a 60 dias. Os animais foram alojados em gaiolas individuais de polipropileno, com piso sólido, forradas com maravalha previamente esterilizada, conforme padrões internacionais e Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA¹⁹.

Os animais foram acomodados em ambiente com temperatura média de 24 ± 2°C e umidade relativa de 55±5%; com ciclo de claro-escuro de 12 horas e tiveram água e alimentação *ad libitum*.

Procedimento experimental angiogênese

Os ovos embrionados de galinha foram incubados em estufa automática à temperatura de 37°C e com umidade entre 60 e 70%, durante dezesseis dias de incubação. No quinto dia de incubação foi realizado, na casca do ovo, uma abertura circular, com

auxílio da micro-retíficaDremel. Este procedimento foi realizado dentro de uma câmara de fluxo laminar, em ambiente previamente esterilizado com luz ultravioleta.

Em seguida, após a realização da abertura da casca do ovo, foi depositado uma gota (NaCl 0,9%) para facilitar a exposição da MCA (membrana corioalantóide) já vascularizada. Posteriormente, a abertura foi vedada com fita adesiva e o ovo foi novamente incubado.

Ao final do 13° dia de incubação foram utilizados discos de papel filtro, veiculando as soluções a serem testadas (*Spirulina*), controles (negativo, indutor, inibidor). Utilizou-se como controle negativo (água destilada), controle inibidor (dexametasona) e controle positivo (Regederm®). As redes vasculares das membranas foram analisadas após 72 horas de tratamento dos controles e teste²⁰. Tendo sido os mesmos depositados diretamente sobre a membrana. Todos os ovos voltaram para a incubadora até o 16° dia, quando foram, por fim, retirados. Todas as MCAs foram cortadas e retiradas dos ovos e em seguida depositadas em placas de Petri preenchidas com solução de formol (3,7 % v/v) por 5 minutos.

Na etapa seguinte, foram obtidas fotografias por equipamento digital, em tamanho 640x480 pixels e formato de RGB 24 bits, padronizados com objetivo de analisar e quantificar a rede vascular²⁰. Os resultados obtidos da rede vascular formada nas MCAs foram analisadas com o *software* Image J a partir porcentagem de área vascularizada e comparadas grupos controles e teste.

Teste do micronúcleo em medula óssea de camundongos

Foram utilizados cinco grupos de camundongos, cada grupo foi constituído por cinco animais. Três desses grupos foram tratados intraperitonealmente, com as doses de 1000, 500 e 250 mg kg⁻¹ do solução aquosa da *Spirulina*, por um período de 24 horas. O grupo controle negativo foi tratado com água destilada estéril, enquanto que o grupo controle positivo recebeu 2 mg kg⁻¹ de doxorubicina. Todos esses grupos foram utilizados para testar a genotoxicidade. Outros três grupos com cinco animais cada um foram usados para a avaliar a antigenotoxicidade, e receberam intraperitonealmente, doses de 1000, 500 e 250 mg kg⁻¹ da solução aquosa da *Spirulina*, concomitantemente

com doses de 2 mg kg^{-1} de DXR. Os mesmos controles positivos e negativos foram usados para esse teste.

Após 24 horas, os camundongos foram submetidos à anestesia geral com Tiopental (30 mg kg^{-1}), em seguida, a eutanásia por deslocamento cervical. Os fêmures dos animais foram retirados. As epífises do fêmur foram seccionadas e a medula óssea lavada com 1 ml de soro fetal bovino. Após homogeneização da medula no soro, a mesma foi centrifugada a $300 \times g$ durante 5 minutos e o sobrenadante, parcialmente descartado. O precipitado de células foi homogeneizado com pipeta de Pasteur. Uma gota da suspensão celular foi transferida para a lâmina de vidro onde foi confeccionado o esfregaço das células da medula óssea hematopoiética. Após a secagem as lâminas foram fixadas em metanol absoluto durante 5 minutos e coradas em solução Corante de Panótico Instant Prov, por um período de 2 minutos. As lâminas foram lavadas em água corrente e deixadas secar em temperatura ambiente. A confecção dos esfregaços e contagens das lâminas foram realizadas pelo procedimento “duplo-cego”.

Análise de dados

Os resultados das MCAs foram comparados em relação ao grupo controle negativo ou positivo pelo teste de análise de variância (ANOVA) e também por estatística descritiva. As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. Foi utilizado para avaliar a normalidade dos grupos o teste de Kolmogorov-Smirnov. As análises foram realizadas pelo *software* BioEstat 5.0²¹.

No teste do micronúcleo foi realizada a análise das lâminas em microscópio óptico comum Nikon, com a finalidade de detectar possíveis alterações e/ou perdas cromossômicas (micronúcleos) nos eritrócitos policromáticos (EPC) da medula óssea dos animais submetidos aos diferentes tratamentos. As células foram visualizadas em objetiva de imersão (1000x), usando duas lâminas para cada animal, avaliando-se 4.000 EPC por lâmina. Foi utilizada a média das duas lâminas como resultado. Para a avaliação da citotoxicidade, foram contados eritrócitos policromáticos (EPC) e eritrócitos normocromáticos (ENC). A relação entre EPC/ENC foi determinada conforme Schmid²².

As frequências de eritrócitos policromáticos micronucleados (EPCMN) em 4.000

EPC de cada grupo foram comparadas em relação ao grupo controle negativo ou positivo pelo teste ANOVA e todos os pares comparados pelo teste de Tukey.

Resultados e Discussão

Foram analisadas dez MCAs por grupo, como pode ser observado na Tabela 1 e Figura 1, para avaliação da atividade angiogênica e antiangiogênica da *Spirulina* nas concentrações de 1000 mg 500 mg e 250 mg. As doses testadas da *Spirulina* quando comparadas aos controles negativo (água) e inibidor (dexametasona) apresentaram uma diferença não significativa ($p>0,05$) demonstrando assim que a *Spirulina* não possui potencial angiogênico.

Tabela 1 – Avaliação da atividade angiogênica e antiangiogênica. Médias e desvios padrões obtidos na mensuração da porcentagem de área vascularizada formados

Identificação MCAs	Regederm® %	Dexametasona %	H ₂ O %	1000 %	500 %	250 %
1	42,39	17,1	33,59	27,22	22,79	21,7
2	44,18	13,6	31,92	21,73	28,88	18,77
3	49,18	12,4	40,3	31,5	21,92	23,57
4	50,39	17,15	34,5	34,0	27,54	17,53
5	55,2	12,8	34,59	24,01	21,29	21,4
6	42,22	13,48	34,59	28,21	27,54	16,16
7	49,13	13,48	25,8	24,2	22,57	21,36
8	56,65	9,88	32,38	34,7	25,18	22,80
9	49,14	12,11	28,2	24,2	19,31	19,29
10	43,72	15,41	29,3	25,29	21,59	17,55
Média	48,22	13,74	32,51	27,5	23,86	20,01
DP	5,09	2,26	4,06	4,5	3,21	2,49

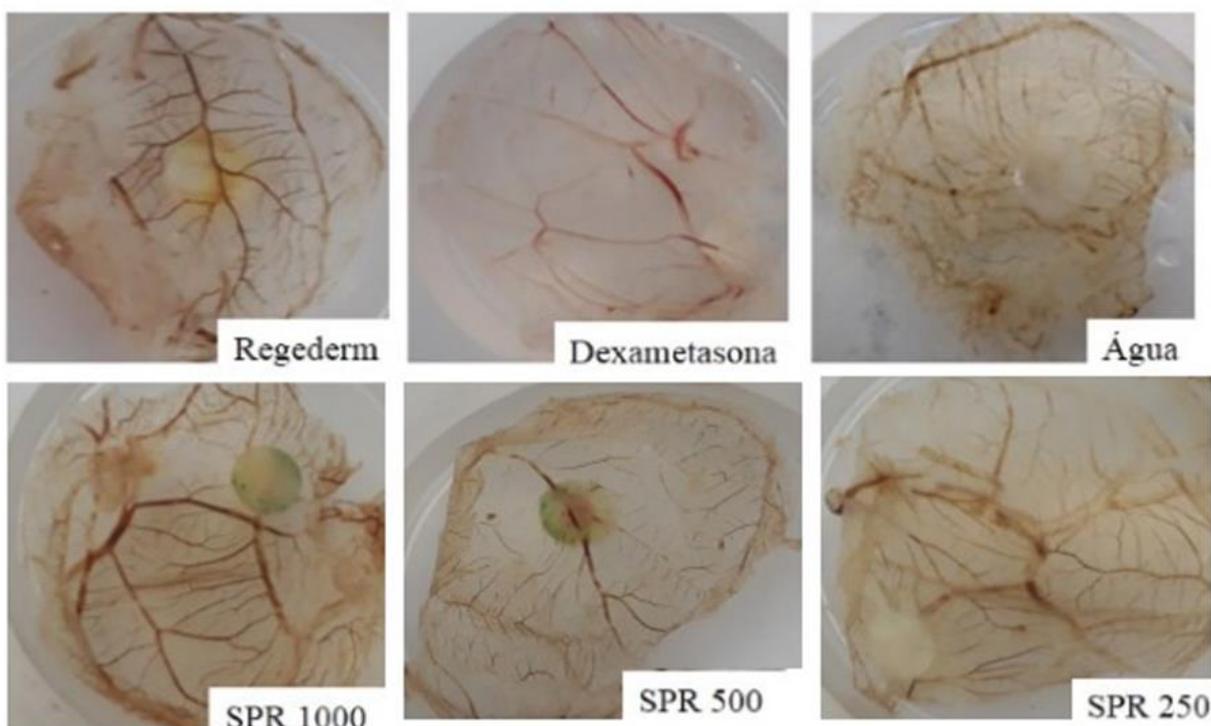


Figura 1 – Visão da rede vascular nas MCAs de ovos embrionados de galinha após tratamento com solução da *Spirulina* e os controles.

Em comparação com o controle positivo (Regederm), o resultado médio do número de vasos quantificados, demonstrou diferença significativa em todas as concentrações testadas ($p < 0,05$), evidenciando assim uma capacidade antiangiogênica.

Na avaliação da atividade angiogênica da solução aquosa da *Spirulina* os resultados obtidos neste estudo, não demonstraram atividade angiogênica nas doses testadas. Diversas espécies de plantas tem apresentado atividade angiogênica testadas *in vivo* como *Aloe vera*, *Angélica sinensis*, *Dalbergia odorifera*, *Epimediums agittatum*, *Patrinia villosa*, *Trichosanthes kirilowii*, *Hevea brasiliensis* e *Synadenium umbellatum*^{20,23,24}.

Em relação a investigação da atividade antiangiogênica da *Spirulina*, esse trabalho evidenciou presença potencial antiangiogênico da solução aquosa da *Spirulina*, apresentando resultados relevantes quando comparado aos grupos controles positivo (Regederm) e negativo (Dexametasona) Isso pode demonstrar possível efeito benéfico da *Spirulina*, como substância adjuvante no tratamento de neoplasias, podendo ser explicado pela capacidade da substância em inibir o crescimento do tumor através da redução dos nutrientes e oxigenação, ou seja a redução da neovascularização, corroborando pesquisas

realizadas *in vivo* e *in vitro* Álvarez-González⁴. Em outro trabalho, foi demonstrada redução na formação do carcinoma bucal em hamsters pelo mesmo fator citado anteriormente²⁵.

A *Spirulina* mostrou suprimir o glioma o crescimento de células e também reduzir a angiogênese²⁶. Portanto, a *Spirulina* tem uma característica de reduzir a angiogênese parcialmente, por regulação da quantidade de IL-17 (Interleucina-17). A IL-17 que é uma citocina que participa no processo de mediadores inflamatórios, recrutando neutrófilos para as áreas de infecção e que supostamente, promove a angiogênese^{26,27}.

Em outros trabalhos apenas alguns compostos presentes na *Spirulina* como carotenoides, β -caroteno e a ficocianina, foram testados e mostraram propriedades anticarcinogênicas por apresentarem efeito antiangiogênico^{1,28-30}.

A antiangiogênese portanto é uma estratégia terapêutica anti-neoplásica, que vem sendo, cada vez mais estudada, baseada no desenvolvimento de substâncias capazes de inibir o crescimento célere dos tumores^{14,31}.

A frequência de micronúcleos contados em 4000 EPC, foi usada para avaliar a genotoxicidade, os resultados estão representados na Tabela 1.

Tabela 1 – Avaliação da atividade genotóxica e citotóxica. Frequência de MN/4000 EPC e relação entre EPC/ENC após 24 horas do tratamento com *Spirulina* em diferentes doses e controles

Dose <i>Spirulina</i> (mg kg ⁻¹ peso corporal)	Nº de animais	Eritrócitos policromáticos micronucleados (EPCMN) (média± DP)	Relação EPC/ENC (média± DP)
1000	5	23,2 ± 2,16 ^b	0,94 ± 0,15 ^c
500	5	15 ± 1,22 ^b	0,80 ± 0,07 ^c
250	5	12,8 ± 1,48 ^b	0,92 ± 0,22 ^c
H ₂ O (controle negativo)	5	4 ± 1,41 ^a	0,86 ± 0,05 ^c
DXR (controle positivo)	5	40,2 ± 6,14	0,42 ± 0,08

^a p> 0,05 ; ^bp<0,05; ^c p>0,05; ^d p<0,05. Todos os resultados foram comparados com o grupo controle negativo. O valor de p menor de 0,05 (p<0,05) foram considerados indicativos de significância.

Observa-se que as todas as doses da solução da *Spirulina* de 1000 mg kg⁻¹ e 500 mg kg⁻¹ e 250 mg kg⁻¹ apresentaram atividade genotóxica. Houve diferenças significativas ($p < 0,05$) na frequência de EPCMN quando comparadas ao grupo controle negativo. Já a relação EPC/ENC, para avaliar a citotoxicidade, quando comparada com o controle negativo não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) para as três doses testadas.

A Tabela 2 apresenta os resultados da frequência de EPCMN, média, desvio padrão e relação EPC/ENC para avaliar a atividade antigenotóxica.

Tabela 2 – Avaliação da atividade antigenotóxica e citotóxica Frequência de EPCMN e relação entre EPC/ENC após tratamento simultâneo com DXR e de diferentes doses da *Spirulina*

Dose <i>Spirulina</i> (mg kg ⁻¹ DXR)	Nº de animais	Eritrócitos policromáticos micronucleados (EPCMN) (média ± DP)	Relação EPC/ENC (média ± DP)
1000 + 2	5	14,4 ± 4,39 ^b	0,82 ± 0,08 ^d
500 + 2	5	11,6 ± 1,14 ^b	0,84 ± 0,11 ^d
250 + 2	5	11 ± 1,87 ^b	0,74 ± 0,16 ^d
H ₂ O (controle negativo)	5	4 ± 1,41	0,86 ± 0,05
DXR (controle positivo)	5	40,2 ± 6,14 ^a	0,42 ± 0,08 ^c

^a $p > 0,05$; ^b $p < 0,05$; ^c $p > 0,05$; ^d $p < 0,05$.

Todos os resultados foram comparados com o Grupo controle positivo.

Os valores de p menor que 0,05 ($p < 0,05$) foram considerados significativos.

Os resultados do tratamento concomitante da *Spirulina* com doses de 1000 mg kg⁻¹, 500 mg kg⁻¹ e 250 mg kg⁻¹ mais 2 mg kg⁻¹ de doxorubicina. Todos os grupos apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) quando comparados ao grupo controle positivo, significando que a *Spirulina* apresenta, também, potencial antigenotóxico. A relação de EPC/ENC comparadas ao controle positivo apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$) para as três doses testadas significando não possuir potencial citotóxico. Na tabela 2 os dados testados, não apresentou diferença significativa e na

tabela 3 é possível verificar nos dados testados que apresentou uma diferença significativa indicando assim que a substância não é citotóxica.

Na avaliação da genotoxicidade da solução aquosa da *Spirulina*, os resultados obtidos neste estudo, demonstraram efeito genotóxico em todas as concentrações testadas, em desacordo com estudos realizados com o mesmo objetivo que não detectaram toxicidade “aparente ao organismo” e não apresentarem riscos à saúde^{28,32,33}. Outro experimento utilizando solução da *Spirulina*, mais especificamente o componente β -caroteno mostrou redução na formação de carcinoma bucal em hamsters²⁵. Além disso, vários trabalhos demonstraram propriedades benéficas como capacidade antioxidante da *Spirulina*, por apresentarem compostos como ácidos fenólicos, tocoferóis e β -caroteno^{1,29,30}.

Na avaliação da antígenotoxicidade da solução aquosa da *Spirulina* os resultados obtidos neste estudo, evidenciaram diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparados ao grupo controle positivo (doxorubicina). As doses utilizadas foram as mesmas citadas anteriormente para a teste de genotoxicidade associados a 2mg kg^{-1} de Doxorubicina. Isso comprova que a *Spirulina* nas dosagens testadas evidencia a atividade antígenotóxica dessa alga.

Esses resultados, apesar de parecer serem controversos, sugerem efeito genotóxico e antígenotóxico, podendo ser explicados pela presença de alguns constituintes químicos citados anteriormente (ácidos fenólicos, tocoferóis e β -caroteno) assim como a utilização de doses mais elevadas nesse trabalho⁶.

Esses resultados relacionados com a antígenotoxicidade da *Spirulina* corroboram outros trabalhos realizados que mostraram proteção ou melhora na toxicidade induzida pela cisplatina e pelo uretano e outras drogas^{1,6,4}. Uma das possíveis explicações para esse efeito protetor da *Spirulina*, seria uma redução significativa na extensão da peroxidação lipídica e um aumento concomitante dos antioxidantes enzimáticos do fígado e não enzimáticos por exemplo a glutatona reduzida⁹.

Diversos compostos têm se destacado com características de proteção as células e também potencial antioxidante. Nas cianobactérias destacam-se o β -caroteno, carotenóides, clorofila e biliproteínas e a ficocianina. O principal pigmento da *Spirulina* spp. é a ficocianina podendo ser considerado como pigmento fitoplanctônico singular. Em diversos países, esse pigmento é usado como suplemento alimentar, devido

ao seu potencial nutracêutico, anti-inflamatório, antibacteriano e antioxidante^{9,34}. A presença da ficocianina no extrato utilizado, confirma o potencial protetor contra substâncias capaz de induzir o estresse oxidativo e de acordo com estudo, a *Spirulina* não causa efeito citotóxico para as células³⁵, corroborando assim com os resultados desse estudo.

Conclusão

A solução aquosa da *Spirulina* demonstrou atividade antiangiogênica, nas concentrações testadas, além disso, apresentou atividade genotóxica. A solução aquosa da *Spirulina* também apresentou atividade antigenotóxica nos tratamentos concomitantes com a doxorrubicina, mostrando diminuição na frequência dos micronúcleos em 4000 EPC. O solução aquosa da *Spirulina* nãoapresentou atividade citotóxica nas concentrações testadas através da relação eritrócitos normocromáticos e eritrócitos policromáticos.

Diante disso, é evidente que a *Spirulina* é uma substância que possui diversos efeitos benéficos para a saúde humana e com possível grau de segurança quando utilizada nas dosagens recomendadas.

Referências

1. Torres-Duran PV, Ferreira-Hermosillo, A. & Juarez-Oropeza, M. A. Antihyperlipemic and antihypertensive effects of *Spirulina maxima* in an open sample of mexican population: a preliminary report. *Lipids Health Dis.* 2008; 6(33): 1–8.
2. Gutiérrez -Salmeán G, Fabila-Castillo L, Chamorro-Cevallos G. Nutritional and toxicological aspects of *Spirulina* (*Arthrospira*). *Nutrición hospitalaria.* 2015;32(1): 34-40.
3. Kada T. et al. Anti-mutagenic action of vegetable factor(s) on the mutagenic principle of tryptophan pyrolysate. *Mutat. Res.* 1978;53:351-353.
4. Candelaria PV. et al. Leptin signaling and cancer chemoresistance: Perspectives. *World J. Clin. Oncol.* 2017;8(2).
5. Álvarez-González I. et al. Effect of *Spirulina maxima* and its protein extract on micronuclei induction by hydroxyurea in pregnant mice and their fetuses. *J. Med. Food.* 2013;16(11):992–996.
6. Martinez-Palma N, Martinez-Ayala A, Davila-Ortiz G. Determination of antioxidant and chelating activity of protein hydrolysates from *Spirulina* (*Arthrospira maxima*)

- obtained by simulated gastrointestinal digestion. Rev. Mex. Ing. Quím. 2015;14: 25–34.
7. Cardoso RVC. et al. Development of nutraceutical formulations based on the mycelium of *Pleurotostreatus* and *Agaricusbisporus*. Food Funct. 2017;8(6).
 8. Carvalho LF. de et al. Novel food supplements formulated with s pirulina to meet athletes' needs. Braz. arch. biol. Technol. 2018;16(11):1-11.
 9. Nah W. et al. Effect of *Spirulina maxima* on spermatogenesis and steroidogenesis in streptozotocin-induced type I diabetic male rats. Food Chem. 2012;134: 173-179.
 10. Deng R, Chow T. Hypolipidemic, Antioxidant and Antiinflammatory Activities of Microalgae *Spirulina*. Cardiovasc Ther. 2011;28(4): 1–23.
 11. Devi MA, Venkataraman LV. Hypocholesterolemic effect of blue-green algae *Spirulina platensis* in albino rats. Ann. Nutr. Reports Int. 1983;28: 519–530.
 12. Lucas BF. et al. Effect of *Spirulina* addition on the physicochemical and structural properties of extruded snacks. Food Sci. Technol. (Campinas). 2017;37:16–23.
 13. Hernandez-Lepe MA. et al. *Spirulina* y suefectohipolipemiente y antioxidante en humanos: una revisión sistemática. Nutr. Hosp. 2015;32(2):494–500.
 14. Chung CH. et al. Aggretin Venom Polypeptide as a Novel Anti-angiogenesis Agent by Targeting Integrin alpha2beta1. Sci Rep. 2017; 7: 2–11.
 15. Pinho MSL. Angiogênese: o gatilho proliferativo. Rev. bras. colo-proctol. 2017;24(4):396–406.
 16. González RP. et al. Método para o estudo *in vivo* da angiogênese: indução de neovascularização na córnea de coelho. Acta Cir. Bras. 2010;15(2).
 17. Safatle AMV. et al. Implante de duas membranas biológicas em microbolsa corneana como modelo experimental de angiogênese. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. 2002; 39(4): 189–195.
 18. Paumgarten FJR, Carneiro MRG, Oliveira ACAX. The impact of tobacco additives on cigarette smoke toxicity: a critical appraisal of tobacco industry studies. Cad.Saúde Pública. 2017;33(3):41-59.
 19. Luz AC. 2012. Avaliação do potencial citotóxico e genotóxico de *Plantago major L.* em sistemas teste *in vivo*. Rev. Bras. Plantas Med. 2012;14(635):635–642.
 20. Damy SB. et al. Aspectos Fundamentais da Experimentação Animal – Aplicações em Cirurgia Experimental. Rev. Assoc. Med. Bras. 2010;56(1): 103–111.
 21. Melo-Reis PR. et al. Angiogenic activity of *Synadenium umbellatum* Pax látex. Braz. J. Biol. 2010;70(1):189–194.
 22. Ayres M. et al. Software bioestat, aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas. 4. ed. Belém: Sociedade Civil Mamirauá/MCT/CNPQ. 2007.
 23. Schmid W. The micronucleus test. Mutat. Res. 1975;31:9-15.
 24. Bessa G. et al. Angiogenicactivityoflatexfrom*Euphorbiatirucalli* Linnaeus 1753 (Plantae, Euphorbiaceae). Braz. J. Biol. 2015; 75(3):752–758.
 25. Wang S. et al. Angiogenesis and anti-angiogenesis activity of Chinese medicinal herbal extracts. Life Sci. 2004;74(20): 2467–2478.

26. Ambrosi MA. et al. Propriedades de saúde de *Spirulina* spp. Rev. Ciênc. Farm. Básica. 2008;29(2).
27. Kawanishi YU. et al. Regulatory effects of *Spirulina* complex polysaccharides on growth of murine RSV-M glioma cells through Toll-like receptor 4. Microbiol Immunol. 2013;57(1):63-73.
28. Normanton M, Marti LC. Dados recentes em IL-17 e células Th17, e implicações na doença do enxerto contra hospedeiro. Einstein (São Paulo). 2031;11(2): 237–246.
29. Finamore A. Antioxidant, immunomodulating, and microbial-modulating activities of the sustainable and ecofriendly *Spirulina*. Oxid. Med. Cell. Longev. 2017;1–13.
30. Ferrari CKB, Torres EAFS. Novos compostos dietéticos com propriedades anticarcinogênicas. Rev. bras. cancerol. 2002;48(3): 375–382, 2002.
31. Miranda MS. et al. Antioxidant activity of the microalga *Spirulina maxima*. Braz. J. Med. Biol. Res. 1998;31(87):1075–1079.
32. Seyidoglu N. et al. The effects of *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*) and *Saccharomyces cerevisiae* on the distribution and cytokine production of CD4+ and CD8+ T-lymphocytes in rabbits. Austral. J. Vet. sci. 2017;49(3):185-190.
33. Leon IAA. Estudo do cultivo da *Spirulinaplantensis* por processo contínuo com uréia como fonte de nitrogênio. Dissertação (Mestrado em Tecnologia bioquímica-farmacêutica) – Universidade de São Paulo, 2010.
34. Rogatto GP. et al. Influência da ingestão de *Spirulina* sobre o metabolismo de ratos exercitados. Rev. Bras. Med. Esporte. 2044;10(4):258–263.
35. Chu W. et al. Protective effect of aqueous extract from *Spirulina platensis* against cell death induced by free radicals. BMC Complement. Altern. Med. 2010;10(53): 1–8.