

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS  
NATURAIS E SINTÉTICOS BIOATIVOS**

**IARA LEÃO LUNA DE SOUZA**

**Suplementação alimentar com *Spirulina platensis* previne o  
desenvolvimento da disfunção erétil em ratos Wistar  
alimentados com dieta hipercalórica**

**João Pessoa-PB**

**2018**

**IARA LEÃO LUNA DE SOUZA**

**Suplementação alimentar com *Spirulina platensis* previne o desenvolvimento da disfunção erétil em ratos Wistar alimentados com dieta hipercalórica**

Tese 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 **DOUTORA EM PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS BIOATIVOS**. Área de Concentração: **FARMACOLOGIA**

**ORIENTADORA: Profa. Dra. Bagnólia Araújo da Silva**

**COORIENTADORA: Profa. Dra. Fabiana de Andrade Cavalcante**

**João Pessoa-PB**

**2018**

S729s Souza, Iara Leão Luna de.

Suplementação alimentar com *Spirulina platensis* previne o desenvolvimento da disfunção erétil em ratos Wistar alimentados com dieta hipercalórica / Iara Leão Luna de Souza. - João Pessoa, 2018.

337 f. : il.

Orientação: Bagnólia Araújo da Silva.

Coorientação: Fabiana de Andrade Cavalcante.

Tese (Doutorado) - UFPB/CCS.

1. Farmacologia. 2. *Spirulina platensis*. 3. Disfunção erétil - ratos Wistar. 4. Dieta hipercalórica. 5. Estresse oxidativo - obesidade. I. Silva, Bagnólia Araújo da. II. Cavalcante, Fabiana de Andrade. III. Título.

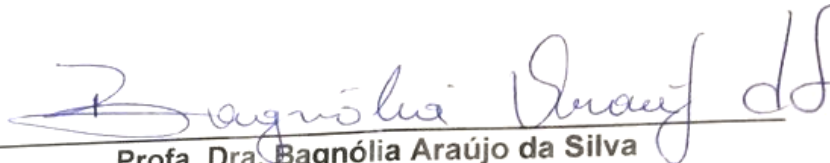
UFPB/BC

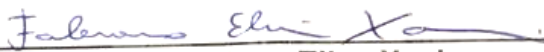
## IARA LEÃO LUNA DE SOUZA


**Suplementação alimentar com *Spirulina platensis* previne o desenvolvimento da disfunção erétil em ratos Wistar alimentados com dieta hipercalórica**

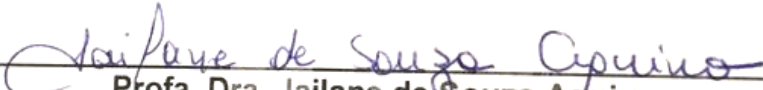
Aprovada em     /     /

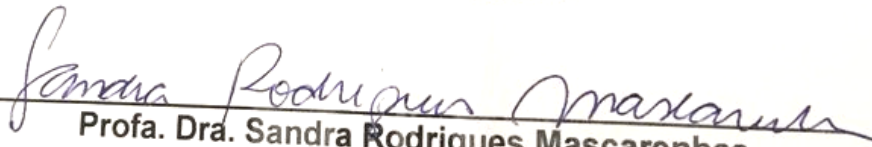
### BANCA EXAMINADORA

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

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Fabiano Elias Xavier  
(Universidade Federal de Pernambuco)  
Examinador Externo

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Enéas Ricardo de Moraes Gomes  
(Universidade Federal da Paraíba)  
Examinador Externo

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dra. Jailane de Souza Aquino  
(Universidade Federal da Paraíba)  
Examinadora Externa

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dra. Sandra Rodrigues Mascarenhas  
(Universidade Federal da Paraíba)  
Examinadora Interna

# **Dedicatórias**

À Conceição de Maria Luna de Souza, Camila Leão Luna de Souza e Ivan Luna Leão de Souza por representarem a segurança em todos os aspectos da vida e por estarem sempre presentes de forma indispensável durante a minha trajetória, transformando e moldando os fundamentos do meu caráter.

Ao meu inesquecível avô, Sr. Gleuber José de Araújo Luna (*in memoriam*), por sempre ter estendido sua mão e seu abraço acolhedor, tendo depositado em mim a sua confiança, possibilitando a concretização dos meus ideais. Mesmo que não possa partilhar fisicamente deste momento junto a mim, creio que também realizou esta conquista.

A minha família pela compreensão nos momentos em que a dedicação aos estudos foi exclusiva, em especial as minhas avós, que não se cansam de me ajudar e torcer para o meu crescimento pessoal e profissional.

Por acreditarem sempre nos meus sonhos, a vocês eu dedico.

# **Agradecimientos**

*“Porque cada um, independente das habilitações que tenha, ao menos uma vez na vida fez ou disse coisas muito acima da sua natureza e condição, e se essas pessoas pudéssemos retirar do quotidiano pardo em que vão perdendo os contornos, ou elas a si próprias se retirassem de malhas e prisões, quantas mais maravilhas seriam capazes de obrar, que pedaços de conhecimento profundo poderiam comunicar, porque cada um de nós sabe infinitamente mais do que julga e cada um dos outros infinitamente mais do que neles aceitamos reconhecer.”*

José Saramago (A Jangada e a Pedra)

Esse trabalho é resultado de um esforço em conjunto, requerendo ajuda, confiança e incentivo de muitas pessoas. Diante disso, quero tecer meus agradecimentos a todos que auxiliaram na construção desse trabalho com primor.

À Deus, por me guiar nos caminhos da vida, por colocar pessoas especiais nessa trajetória e pelo auxílio nas escolhas que me direcionam diariamente em busca dos meus objetivos.

À Profa. Dra. Bagnólia Araújo da Silva, minha eterna orientadora, pelos 10 anos de convivência. Nesses longos anos cada pequeno ensinamento me ajudou a crescer pessoal e profissionalmente. Por me inspirar com o seu talento em sala de aula, despertando cada dia mais o meu interesse em seguir na carreira docente. Por depositar em mim a confiança e permitir que eu pudesse fazer parte da evolução pessoal e profissional de diversos alunos. Certamente, agradeço pela oportunidade de aprender a ensinar e aprender a aprender com você, sempre mantendo a certeza que ainda tenho muito a aprender e amadurecer.

À Profa. Dra. Fabiana de Andrade Cavalcante, minha coorientadora, por todo apoio e auxílio durante o desenvolvimento desse trabalho, pela disposição a ajudar constantemente, por trazer a calma nos momentos difíceis, por remover parte do peso da pós-graduação com seus conselhos. Definitivamente, por se tornar essencial para o meu crescimento pessoal e profissional.

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 e por todo suporte durante o desenvolvimento desse estudo.

À Profa. Dra. Patrícia Mirella da Silva Scardua do Departamento de Biologia Molecular do Centro de Ciências Exatas e da Natureza (CCEN) da UFPB, por todo suporte durante o processamento das amostras para a análise histológica e por vibrar a cada novo resultado alcançado nesse processo; e sua equipe de trabalho, em especial ao seu então doutorando Fernando Ramos Queiroga, que me ensinou e acompanhou durante a execução desses protocolos experimentais e se tornou um grande amigo.

Ao Prof. Alexandre Sérgio Silva do Departamento de Educação Física do CCS da UFPB e sua equipe, especialmente aos orientandos Lydiane Tavares Toscano e Matheus da Silveira Costa, que me acompanharam nos experimentos bioquímicos e de estresse oxidativo em seu laboratório e fizeram esses momentos extremamente agradáveis.

À Profa. Dra. Carla Roberta de Oliveira Costa do Instituto de Ciências Biomédicas (ICB) da Universidade de São Paulo (USP), que me recebeu em seu laboratório com toda hospitalidade para aprender e executar a técnica de *western blot*, e sua equipe de trabalho, especialmente a minha grande amiga Layanne Cabral da Cunha Araujo, que me acompanhou nos experimentos, concedendo todo apoio durante o tempo de estágio no laboratório, bem como durante a minha estadia em São Paulo.

Aos Professores doutores Enéas Ricardo de Moraes Gomes do Departamento de Biotecnologia do Centro de Biotecnologia (CBiotec) da UFPB e Jailane de Souza Aquino do Departamento de Nutrição do CCS da UFPB, titulares do exame de qualificação e da banca de defesa de Tese; Sandra Rodrigues Mascarenhas do Departamento de Biologia Celular e Molecular do CBiotec da UFPB e Fabiano Elias Xavier do Departamento de Fisiologia e Farmacologia do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, titulares da banca de defesa de Tese; Robson Cavalcante Veras e Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz ambos do Departamento de Ciências Farmacêuticas (DCF) do CCS da UFPB, suplentes da banca de

defesa de Tese; Camille de Moura Balarini do Departamento de Fisiologia e Patologia do CCS da UFPB, titular do exame de qualificação; e Hemerson Yuri Ferreira Magalhães do DCF do CCS da UFPB, suplente do exame de qualificação, pela disponibilidade em participar da avaliação desse trabalho, pelas suas contribuições, assim como a participação nessa etapa da minha formação acadêmica.

Aos professores da graduação em Farmácia da Universidade Federal da Paraíba e do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos (PPgPNSB). De fato, alguns se destacam por instigar a curiosidade nos alunos, contribuindo para o desenvolvimento desses futuros mestres, dentre estes cito Bagnólia Araújo da Silva, Demétrius Antônio Machado de Araújo, Eduardo de Jesus Oliveira, Luís Fernando Marques Santos e Tatjana Keesen de Souza Lima.

Ao coordenador do PPgPNSB, Prof. Dr. Josean Fechine Tavares, pela competência com que coordena esse Programa.

À Caroline Mangueira e Nilmar Nincia Neves de Medeiros, secretárias do PPgPNSB, pela paciência, disponibilidade, dedicação e eficiência com que conduzem seu trabalho.

À Ana Carolina de Carvalho Correia, Rafael de Almeida Travassos, Juliana da Nóbrega Carreiro e Gislaine Alves de Oliveira, pelos primeiros ensinamentos durante minha iniciação científica no Laboratório de Farmacologia Funcional Prof. George Thomas (LFF), mais do que necessários para o meu crescimento no campo da pesquisa.

A todos os integrantes do LFF que estão ou passaram pelo Laboratório de Farmacologia Funcional Prof. George Thomas, entre eles, Alana Cristina Costa, Aline de Freitas Brito, Ana Carolina de Carvalho Correia, Ana Caroline de Lima Silva, Anderson Fellyp Avelino Diniz, Anne Kaliery de Abreu Alves, Antônio Raphael Lima de Farias Cavalcanti Silva, Bárbara Cavalcanti Barros, Cibério Landim Macêdo, Cybelle de Arruda Navarro Silva, Elba dos Santos Ferreira, Fábio de Souza Monteiro, Fernando Ramos Queiroga, Filipe Rodolfo

Moreira Borges de Oliveira, Francisco Fernandes Lacerda Júnior, Gislaine Alves de Oliveira, Giuliana Amanda de Oliveira, Giulyane Targino Aires Moreno, Hannah Olga Pereira Rodovalho, Iana Vitória Souza Oliveira, Indyra Duarte Alencar Figueiredo, Italo Rossi Roseno Martins, João Pedro de Moura Lima, Joedna Cavalcante Pereira, José Lucas Ferreira Marques Galvão, José Rabelo, Juliana da Nóbrega Carreiro, Kimã Barbosa Meira, Laiz Aline Silva Brasileiro, Layanne Cabral da Cunha Araujo, Luan Diniz Pessoa, Luiz Henrique Agra Cavalcante Silva, Luiz Henrique César Vasconcelos, Marcela Cristine Silva, Maria Alice Miranda Bezerra Medeiros, Maria da Conceição Correia Silva, Maria Thaynan de Lima Carvalho, Massilon da Silva Moreira dos Santos Júnior, Milena de Melo Medeiros, Paula Benvindo Ferreira, Polyana Cristina Barros Silva, Rafael de Almeida Travassos, Rafael Lima Marinho Paiva, Rayanne Fernandes Pessoa, Renata de Souza Sampaio, Rosimeire Ferreira dos Santos, Sarah Rebeca Dantas Ferreira, Tamyris Freires Ferreira e Thiago Afonso Rodrigues Melo, pela ajuda, boa convivência, sermões, elogios e pelo apoio característico desta equipe.

Aos meus queridos amigos Adriano Silva, Alana Costa, Alexandre Santos, Antônio Raphael, Arthur Gouveia, Bárbara Barros, Breiner Silva, César Dantas, Elba Ferreira, Fernando Queiroga, Filipe Rodolfo, Giuliana Amanda, Giulyanne Targino, Indyra Figueiredo, Layanne Cabral, Luan Diniz, Luiz Henrique Agra, Luiz Henrique Vasconcelos, Mayssa Barbosa, Pedro Meireles, Renato Luiz Ferreira, Sandro Filho, Sarah Rebeca, Thaynan Carvalho, Thiago Afonso. Membros da “quinta série” ou sem grupo definido por serem tão especiais na minha vida, por todo apoio e acima de tudo pelo amor que me proporcionam, independente da distância. Aos mais recentes amigos Thaysa Torres, Diego Farias e Allan Lobo, por toda hospitalidade e auxílio durante o fim desse ciclo, por cada palavra ou atitude que me impulsionou a alçar um vôo que parecia muito distante.

À Bárbara Barros, Elba Ferreira e Thaynan Carvalho, principais alunas envolvidas na execução e obtenção dos dados expostos nesse trabalho, por todo auxílio na parte experimental ou na discussão dos resultados obtidos.

À Layanne Cabral, Raquel Ramalho, Tina Lemos, Bruna Leôncio, Orenito Júnior, Érica Rocha e Victor Souza por me darem todo suporte durante a minha estadia em São Paulo para realização dos experimentos moleculares.

A todos os colegas das turmas de Doutorado do PgPNSB, pelos bons momentos e pelo crescimento acadêmico e pessoal compartilhado.

Ao José Crispim Duarte e à Roberta Nunes Parentoni, pela competência com que conduzem o Biotério “Prof. Thomas George” e pelo auxílio técnico ao LFF, sempre que solicitado.

Ao Sr. Luís C. Silva e a Adriano S. Cordeiro, pelo trabalho executado no Biotério e pela prestatividade em separar os animais quase que diariamente.

À Mônica Rodrigues da Silva, pelo seu trabalho na limpeza, por manter nosso ambiente de trabalho/estudo em condições salútares e, principalmente, por sua alegria contagiante e apoio sempre que necessário.

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.

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

À Universidade Federal da Paraíba, instituição que me formou como profissional de Farmácia e responsável pelo meu aperfeiçoamento profissional.

A todos que, de maneira direta ou indireta, contribuíram para a produção dessa Tese de Doutorado e pelo meu crescimento pessoal e profissional.

Muito obrigada

Iara Leão Luna de Souza

*“If you can keep your head when all about you  
Are losing theirs and blaming it on you;  
If you can trust yourself when all men doubt you,  
But make allowance for their doubting too;  
If you can wait and not be tired by waiting,  
Or, being lied about, don’t deal in lies,  
Or, being hated, don’t give way to hating,  
And yet don’t look too good, nor talk too wise;*

*If you can dream - and not make dreams your master;  
If you can think - and not make thoughts your aim;  
If you can meet with triumph and disaster  
And treat those two impostors just the same;  
If you can bear to hear the truth you’ve spoken  
Twisted by knaves to make a trap for fools,  
Or watch the things you gave your life to broken,  
And stoop and build ‘em up with worn-out tools;*

*If you can talk with crowds and keep your virtue,  
Or walk with kings - nor lose the common touch;  
If neither foes nor loving friends can hurt you;  
If all men count with you, but none too much;  
If you can fill the unforgiving minute  
With sixty seconds’ worth of distance run -  
Yours is the Earth and everything that’s in it!”*

Trechos de *If* by Rudyard Kipling

# Resumo

## RESUMO

A disfunção erétil (DE) é definida como a incapacidade de alcançar e/ou manter uma ereção peniana suficiente para a satisfação sexual, tendo a obesidade, doença inflamatória crônica, caracterizada pelo acúmulo de tecido adiposo, como um fator de risco. Atualmente, muitos pacientes não respondem apropriadamente à farmacoterapia da DE. Dessa forma, visando a busca por novas alternativas terapêuticas, avaliou-se os possíveis efeitos da suplementação alimentar com *Spirulina platensis*, alga com potencial vasodilatador e antioxidante, em um modelo de DE induzida pelo consumo de dieta hipercalórica. Os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFPB (certidão 0201/14). Os ratos Wistar foram divididos em grupo alimentado com ração padrão que recebeu solução salina (GCS), que foi suplementado com a alga nas doses de 25 (GC + SP25), 50 (GC + SP50) ou 100 mg/kg/dia (GC + SP100) e que foi tratado com sildenafil na dose de 1,5 mg/kg/dia (GC + Sild) ou, em grupo alimentado com ração hipercalórica que recebeu solução salina (GOS), que foi suplementado com a alga nas doses de 25 (GO + SP25), 50 (GO + SP50) ou 100 mg/kg/dia (GO + SP100) e que foi tratado com sildenafil na dose de 1,5 mg/kg/dia (GO + Sild). Foram analisados os parâmetros nutricionais e morfométricos, a função erétil, *in vivo*, os mecanismos funcionais envolvidos nas alterações da reatividade contrátil e relaxante do corpo cavernoso, *in vitro*, e o estresse oxidativo sistêmico e tecidual. *Spirulina platensis* na dose de 50 mg/kg reduziu a ingestão alimentar e a massa corporal final dos ratos que consumiram a dieta padrão, já na dose de 100 mg/kg promoveu redução da massa e do diâmetro dos adipócitos do tecido adiposo inguinal e, conseqüentemente, do índice de adiposidade. Ademais, não foi observada alteração na função erétil basal desses ratos. Entretanto, o consumo da dieta hipercalórica resultou na diminuição da ingestão alimentar, porém, houve aumento da massa corporal final, como conseqüência da elevação dos coeficientes de eficácia alimentar e de ganho de peso por consumo calórico, além do aumento das reservas adiposas epididimal, retroperitoneal e inguinal, e do índice de adiposidade. Adicionalmente, a redução do número e o aumento da latência para a ereção peniana foram correlacionados ao consumo da dieta hipercalórica. Interessantemente, esses efeitos deletérios do consumo da dieta hipercalórica sobre a adiposidade corporal e a função erétil, *in vivo*, foram prevenidos pela suplementação alimentar com *S. platensis*. Em relação à reatividade cavernosa, os ratos (GC + SP100) apresentaram redução da eficácia contrátil ao KCl (acoplamento eletromecânico). Por outro lado, a eficácia contrátil à fenilefrina (FEN) (acoplamento farmacomecânico) foi potencializada (GC + SP50), o que foi associado à modulação positiva da via da Rho cinase (ROCK) e dos prostanoídes contráteis. Além disso, observou-se regulação positiva da via do óxido nítrico (NO), redução das espécies reativas de oxigênio (ROS) e potencialização do efeito relaxante promovido pela acetilcolina (ACh). A integração de vias que favorecem a contração e o relaxamento do corpo cavernoso de rato pode estar subjacente a não alteração da função erétil desses ratos, *in vivo*. Por outro lado, o consumo da dieta hipercalórica resultou no aumento da eficácia contrátil do KCl e da FEN, e atenuação da eficácia relaxante induzida pela ACh, indicando o comprometimento dos acoplamentos eletro- e farmacomecânico da reatividade cavernosa. Os efeitos deletérios sobre a reatividade cavernosa decorrem da ativação da via da ROCK, do aumento das ROS, da modulação negativa da via do NO e do desbalanço dos prostanoídes relaxantes/contráteis. Nesse contexto, a suplementação alimentar com *S. platensis*, em ratos alimentados com a dieta hipercalórica, preveniu os danos à reatividade contrátil e relaxante cavernosa. Na análise do estresse oxidativo, a capacidade antioxidante total (CAT) tecidual, foi aumentada pela suplementação com a alga na dose de 50 mg/kg em ratos alimentados com dieta padrão. Já nos ratos que consumiram a dieta hipercalórica, observou-se elevação nos níveis de malondialdeído (MDA) sistêmico e tecidual, bem como redução da CAT sistêmica, resultando em danos oxidativos aos ratos. Essa alteração do estresse oxidativo foi prevenida pela suplementação com a alga. Portanto, a suplementação alimentar com *S. platensis* previne os danos associados ao consumo da dieta hipercalórica e desponta como um adjuvante para o tratamento da DE.

**Palavras-chave:** 1. *Spirulina platensis*. 2. Disfunção erétil. 3. Dieta hipercalórica. 4. Rho cinase. 5. Óxido nítrico. 6. Prostanóides. 7. Estresse oxidativo.

# Abstract



## ABSTRACT

Erectile dysfunction is defined as the inability to achieve and/or maintain a penile erection sufficient for sexual satisfaction, with obesity, a chronic inflammatory disease, characterized by adipose tissue accumulation as a risk factor. Currently, many patients do not respond appropriately to ED pharmacotherapy. Therefore, the possible effects of a food supplementation with *Spirulina platensis*, algae with potential vasodilator and antioxidant, were evaluated in a model of ED induced by the hypercaloric diet consumption. The experimental procedures were approved by the UFPB Ethics Committee on Animal Use (certificate 0201/14). Wistar rats were divided into groups fed with a standard diet that receive saline solution (CSG), that were supplemented with the algae at doses of 25 (CG + SP25), 50 (CG + SP50) or 100 mg/kg/day (CG + SP100) and treated with sildenafil at dose of 1.5 mg/kg/day (CG + Sild) or in groups fed with a hypercaloric diet that receive saline solution (OSG), that were supplemented with the algae at doses of 25 (OG + SP25), 50 (OG + SP50) or 100 mg/kg/day (OG + SP100) and treated with sildenafil at dose of 1.5 mg/kg/day (OG + Sild). The nutritional and morphometric parameters, erectile function, in vivo, functional mechanisms involved in the alterations of the corpus cavernosum contractile and relaxing reactivity, in vitro, and the systemic and tissue oxidative stress were analyzed. *Spirulina platensis* at the dose of 50 mg/kg reduced food intake and final body mass of rats fed with a standard diet, while at the dose of 100 mg/kg promoted a reduction in the mass and diameter of adipocytes from the inguinal adipose tissue and, consequently, in the adiposity index. In addition, no change was observed in the basal erectile function of these rats. However, the hypercaloric diet consumption resulted in a decrease in food intake, but, there was an increase in the final body mass, as a result of the increase in dietary efficacy and weight gain due to caloric intake coefficients, besides the increase in epididymal, retroperitoneal and inguinal reserves, and adiposity index. Additionally, a reduction in number and an increase in latency for penile erection were correlated with hypercaloric diet consumption. Interestingly, these deleterious effects of hypercaloric diet consumption on body adiposity and erectile function, in vivo, were prevented by food supplementation with *S. platensis*. Regarding cavernous reactivity, rats (CG + SP100) showed reduction of the contraction of KCl (electromechanical coupling). However, the contractile efficacy of phenylephrine (Phe) (pharmacomechanical coupling) was potentialized (CG + SP50), which was associated to a positive modulation of the Rho kinase pathway (ROCK) and contractile prostanoids. Besides that, positive regulation of the nitric oxide (NO) pathway, reduction of reactive oxygen species (ROS) and potentiation of the relaxing effect promoted by acetylcholine (ACh) were observed. Integration of pathways that promote contraction and relaxation of rat corpus cavernosum may underlie the non-change in the erectile function of these rats, in vivo. On the other hand, the hypercaloric diet consumption resulted in an increase in the contractile efficacy of KCl and Phe, and attenuation of the relaxing response induced by ACh, indicating the compromise of the electro- and pharmacomechanical couplings of cavernous contraction. The deleterious effects on cavernosal reactivity are due to ROCK pathway activation, ROS increase, negative modulation of NO pathway and the imbalance of the relaxing/contractile prostanoids. In this context, food supplementation with *S. platensis* in rats fed with a hypercaloric diet prevented damages to contractile and relaxation cavernous reactivity. In the analysis of oxidative stress, total antioxidant capacity (TAC) was increased in tissue by the supplementation with the algae at a dose of 50 mg/kg in rats fed with a standard diet. In rats fed with a hypercaloric diet, there was an increase in the levels of systemic and tissue malondialdehyde (MDA), as well as a reduction in systemic TCA, resulting in oxidative damage to rats. This alteration in the oxidative stress was prevented by the algae supplementation. Therefore, food supplementation with *S. platensis* prevents damages associated to a hypercaloric diet consumption and emerges as an adjuvant for the ED treatment.

**Keywords:** *Spirulina platensis*. 2. Erectile dysfunction. 3. Hypercaloric diet. 4. Rho kinase. 5. Nitric oxide. 6. Prostanoids. 7. Oxidative stress.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Representação lateral e corte transversal do pênis .....	46
<b>Figura 2</b> - Anatomia vascular peniana .....	47
<b>Figura 3</b> - Mecanismo central de controle da ereção peniana pela dopamina. 51	
<b>Figura 4</b> - Acoplamento eletromecânico da contração muscular lisa cavernosa pelo aumento da concentração extracelular de K <sup>+</sup> .....	53
<b>Figura 5</b> - Mecanismo farmacomecânico da contração no músculo liso cavernoso pela ativação da via G <sub>q/11</sub> -PLCβ <sub>1</sub> .....	54
<b>Figura 6</b> - Mecanismo de manutenção da contração no músculo liso cavernoso pela ativação da via G <sub>12/13</sub> /ROCK.....	56
<b>Figura 7</b> - Mecanismo farmacomecânico do relaxamento no músculo liso cavernoso pela ativação da via NO-sGC-PKG e G <sub>s</sub> -AC-PKA .....	59
<b>Figura 8</b> - Prevalência mundial de obesidade em mulheres adultas no ano de 2014 .....	69
<b>Figura 9</b> - Prevalência mundial de obesidade em homens adultos no ano de 2014 .....	69
<b>Figura 10</b> - Localização dos tecidos adiposos branco, marrom e bege em humanos e roedores .....	76
<b>Figura 11</b> - Processo de formação do tecido adiposo bege .....	78
<b>Figura 12</b> - Padrão de distribuição do tecido adiposo corporal nas obesidades androide e ginecoide .....	79
<b>Figura 13</b> - Ingredientes utilizados no preparo da dieta hipercalórica na sua forma <i>in natura</i> (A), triturada (B) e homogênea, moldada e cortada antes e após a secagem em estufa (C) .....	100
<b>Figura 14</b> - Protocolo do delineamento experimental .....	104
<b>Figura 15</b> - 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).....	109
<b>Figura 16</b> - Tecido adiposo epididimal (seta vermelha), retroperitoneal (seta azul) e inguinal (seta verde) dos ratos dos grupos GCS (A), GC + SP25 (B), GC + SP50 (C), GC + SP100 (D) e GC + Sild (E) .....	132
<b>Figura 17</b> - Tecido adiposo epididimal (seta vermelha), retroperitoneal (seta azul) e inguinal (seta verde) dos ratos dos grupos GCS (A), GOS (B), GO + SP25 (C), GO + SP50 (D), GO + SP100 (E) e GO + Sild (F) .....	135

<b>Figura 18</b> - Microfotografia dos adipócitos epididimal, retroperitoneal e inguinal dos ratos dos grupos GCS (A), GC + SP25 (B), GC + SP50 (C), GC + SP100 (D) e GC + Sild (E) .....	141
<b>Figura 19</b> - Microfotografia dos adipócitos epididimal, retroperitoneal e inguinal dos ratos dos grupos GCS (A), GOS (B), GO + SP25 (C), GO + SP50 (D), GO + SP100 (E) e GO + Sild (F) .....	144
<b>Figura 20</b> - Registros representativos do efeito contrátil do KCl em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GCS (A), GC + SP25 (B), GC + SP50 (C), GC + SP100 (D) e GC + Sild (E) .....	156
<b>Figura 21</b> - Registros representativos do efeito contrátil do KCl em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GCS (A), GOS (B) GO + SP25 (C), GO + SP50 (D), GO + SP100 (E) e GO + Sild (F).....	158
<b>Figura 22</b> - Registros representativos do efeito contrátil da FEN em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GCS (A), GC + SP25 (B), GC + SP50 (C), GC + SP100 (D) e GC + Sild (E) .....	162
<b>Figura 23</b> - Registros representativos do efeito contrátil da FEN em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GCS (A), GOS (B), GO + SP25 (C), GO + SP50 (D), GO + SP100 (E) e GO + Sild (F).....	164
<b>Figura 24</b> - Registros representativos do efeito contrátil da FEN na ausência (A) e na presença do Y27632 (B) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GCS .....	168
<b>Figura 25</b> - Registros representativos do efeito contrátil da FEN na ausência (A) e na presença do Y27632 (B) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GC + SP50 .....	168
<b>Figura 26</b> - Registros representativos do efeito contrátil da FEN na ausência (A) e na presença do Y27632 (B) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GOS .....	171
<b>Figura 27</b> - Registros representativos do efeito contrátil da FEN na ausência (A) e na presença do Y27632 (B) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GO + SP25.....	171
<b>Figura 28</b> - Registros representativos do efeito contrátil da FEN na ausência (A) e na presença do Y27632 (B) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GO + SP50.....	172
<b>Figura 29</b> - Registros representativos do efeito contrátil da FEN na ausência (A) e na presença do Y27632 (B) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GO + SP100.....	172
<b>Figura 30</b> - Registros representativos do efeito contrátil da FEN na ausência (A) e na presença do Y27632 (B) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GO + Sild.....	173

<b>Figura 31</b> - Registros representativos do efeito contrátil da FEN na ausência (A) e na presença de L-NAME (B), de indometacina (C) e de L-NAME + indometacina (D) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GCS.....	178
<b>Figura 32</b> - Registros representativos do efeito contrátil da FEN na ausência (A) e na presença de L-NAME (B), de indometacina (C) e de L-NAME + indometacina (D) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GC + SP50 .....	179
<b>Figura 33</b> - Registros representativos do efeito contrátil da FEN na ausência (A) e na presença de L-NAME (B), de indometacina (C) e de L-NAME + indometacina (D) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GOS .....	184
<b>Figura 34</b> - Registros representativos do efeito contrátil da FEN na ausência (A) e na presença de L-NAME (B), de indometacina (C) e de L-NAME + indometacina (D) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GO + SP25.....	185
<b>Figura 35</b> - Registros representativos do efeito contrátil da FEN na ausência (A) e na presença de L-NAME (B), de indometacina (C) e de L-NAME + indometacina (D) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GO + SP50.....	186
<b>Figura 36</b> - Registros representativos do efeito contrátil da FEN na ausência (A) e na presença de L-NAME (B), de indometacina (C) e de L-NAME + indometacina (D) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GO + SP100.....	187
<b>Figura 37</b> - Registros representativos do efeito contrátil da FEN na ausência (A) e na presença de L-NAME (B), de indometacina (C) e de L-NAME + indometacina (D) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GO + Sild.....	188
<b>Figura 38</b> - Registros representativos do efeito relaxante do NPS em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GCS (A) e GOS (B) .....	193
<b>Figura 39</b> - Registros representativos do efeito relaxante da ACh em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GCS (A), GC + SP25 (B), GC + SP50 (C), GC + SP100 (D) e GC + Sild (E) .....	194
<b>Figura 40</b> - Registros representativos do efeito relaxante da ACh em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GCS (A), GOS (B), GO + SP25 (C), GO + SP50 (D), GO + SP100 (E) e GO + Sild (F).....	196
<b>Figura 41</b> - Registros representativos do efeito relaxante da ACh na ausência (A) e na presença de apocinina (B), de tempol (C) e de catalase (D) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GCS .....	201

<b>Figura 42</b> - Registros representativos do efeito relaxante da ACh na ausência (A) e na presença de apocinina (B), de tempol (C) e de catalase (D) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GC + SP50 .....	202
<b>Figura 43</b> - Registros representativos do efeito relaxante da ACh na ausência (A) e na presença de apocinina (B), de tempol (C) e de catalase (D) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GC + Sild.....	203
<b>Figura 44</b> - Registros representativos do efeito relaxante da ACh na ausência (A) e na presença de apocinina (B), de tempol (C) e de catalase (D) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GOS .....	208
<b>Figura 45</b> - Registros representativos do efeito relaxante da ACh na ausência (A) e na presença de apocinina (B), de tempol (C) e de catalase (D) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GO + SP50.....	209
<b>Figura 46</b> - Registros representativos do efeito relaxante da ACh na ausência (A) e na presença de apocinina (B), de tempol (C) e de catalase (D) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GC + SP100 .....	210
<b>Figura 47</b> - Registros representativos do efeito relaxante da ACh na ausência (A) e na presença de apocinina (B), de tempol (C) e de catalase (D) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GO + Sild.....	211
<b>Figura 48</b> - Mapa conceitual da modulação da reatividade cavernosa promovida pela suplementação alimentar com <i>Spirulina platensis</i> em ratos Wistar alimentados com dieta padrão .....	270
<b>Figura 49</b> - Mapa conceitual da modulação da reatividade cavernosa promovida pelo consumo da dieta hipercalórica por ratos Wistar .....	270
<b>Figura 50</b> - Mapa conceitual da modulação da reatividade cavernosa promovida pela suplementação alimentar com <i>Spirulina platensis</i> em ratos Wistar alimentados com dieta hipercalórica .....	271

## LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1** - Massa corporal média semanal dos ratos dos grupos GCS (■), GC + SP25 (■), GC + SP50 (■), GC + SP100 (■) e GC + Sild (■).....123
- Gráfico 2** - Massa corporal média semanal dos ratos dos grupos GCS (■), GOS (○), GO + SP25 (●), GO + SP50 (●), GO + SP100 (●) e GO + Sild (●).....124
- Gráfico 3** - Massa dos tecidos adiposos epididimal (A), retroperitoneal (B) e inguinal (C) dos ratos dos grupos GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild..... 134
- Gráfico 4** - Massa dos tecidos adiposos epididimal (A), retroperitoneal (B) e inguinal (C) dos ratos dos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild ..... 137
- Gráfico 5** - Índice de adiposidade dos ratos dos grupos GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild ..... 139
- Gráfico 6** - Índice de adiposidade dos ratos dos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild..... 139
- Gráfico 7** - Diâmetro dos adipócitos dos tecidos adiposos epididimal (A), retroperitoneal (B) e inguinal (C) dos ratos dos grupos GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild..... 143
- Gráfico 8** - Diâmetro dos adipócitos dos tecidos adiposos epididimal (A), retroperitoneal (B) e inguinal (C) dos ratos dos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild..... 146
- Gráfico 9** - Número de ereções penianas (A) e latência para a ereção peniana (B) dos ratos dos grupos GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild..... 150
- Gráfico 10** - Número de ereções penianas (A) e latência para a ereção peniana (B) dos ratos dos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild..... 151
- Gráfico 11** - Correlação entre o número de ereções penianas e a massa corporal final (A), a massa dos tecidos adiposos epididimal (B), retroperitoneal (C) e inguinal (D), o índice de adiposidade (E) e o ganho de massa corporal (F) dos ratos dos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild..... 153
- Gráfico 12** - Correlação entre a latência para a ereção peniana e a massa corporal final (A), a massa dos tecidos adiposos epididimal (B), retroperitoneal (C) e inguinal (D), o índice de adiposidade (E) e o ganho de massa corporal (F) dos ratos dos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild..... 154

<b>Gráfico 13</b> - Curvas concentrações-resposta cumulativas ao KCl dos grupos GCS (■), GC + SP25 (■), GC + SP50 (■), GC + SP100 (■) e GC + Sild (■) em corpo cavernoso isolado de rato .....	157
<b>Gráfico 14</b> - Curvas concentrações-resposta cumulativas ao KCl dos grupos GCS (■), GOS (○), GO + SP25 (●), GO + SP50 (●), GO + SP100 (●) e GO + Sild (●) em corpo cavernoso isolado de rato .....	160
<b>Gráfico 15</b> - Curvas concentrações-resposta cumulativas à FEN dos grupos GCS (■), GC + SP25 (■), GC + SP50 (■), GC + SP100 (■) e GC + Sild (■) em corpo cavernoso isolado de rato .....	163
<b>Gráfico 16</b> - Curvas concentrações-resposta cumulativas à FEN dos grupos GCS (■), GOS (○), GO + SP25 (●), GO + SP50 (●), GO + SP100 (●) e GO + Sild (●) em corpo cavernoso isolado de rato .....	166
<b>Gráfico 17</b> - Curvas concentrações-resposta cumulativas à FEN na ausência (◆) e na presença do Y27632 (◇) em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GCS (A) e GC + SP50 (B).....	169
<b>Gráfico 18</b> - Curvas concentrações-resposta cumulativas à FEN na ausência (◆) e na presença do Y27632 (◇) em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GOS (A), GO + SP25 (B), GO + SP50 (C), GO + SP100 (D) e GO + Sild (E) .....	174
<b>Gráfico 19</b> - Curvas concentrações-resposta cumulativas à FEN na ausência (◆) e na presença de L-NAME (◇), de indometacina (◇) e de L-NAME + indometacina (◇) em corpo em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GCS (A) e GC + SP50 (B).....	180
<b>Gráfico 20</b> - Curvas concentrações-resposta cumulativas à FEN na ausência (◆) e na presença de L-NAME (◇), de indometacina (◇) e de L-NAME + indometacina (◇) em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GOS (A), GO + SP25 (B), GO + SP50 (C), GO + SP100 (D) e GO + Sild (E) .....	189
<b>Gráfico 21</b> - Curvas concentrações-resposta cumulativas ao NPS dos grupos GCS (■) e GOS (○) em corpo cavernoso isolado de rato.....	193
<b>Gráfico 22</b> - Curvas concentrações-resposta cumulativas à ACh dos grupos GCS (■), GC + SP25 (■), GC + SP50 (■), GC + SP100 (■) e GC + Sild (■) em corpo cavernoso isolado de rato .....	195
<b>Gráfico 23</b> - Curvas concentrações-resposta cumulativas à ACh dos grupos GCS (■), GOS (○), GO + SP25 (●), GO + SP50 (●), GO + SP100 (●) e GO + Sild (●) em corpo cavernoso isolado de rato .....	198
<b>Gráfico 24</b> - Curvas concentrações-resposta cumulativas à ACh na ausência (◆) e na presença de apocinina (◇), de tempol (◇) e de catalase (◇) em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GCS (A), GC + SP50 (B) e GC + Sild (C).....	204

**Gráfico 25** - Curvas concentrações-resposta cumulativas à ACh na ausência (◆) e na presença de apocinina (◇), de tempol (◇) e de catalase (◇) em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GOS (A), GO + SP50 (B), GO + SP100 (C) e GO + Sild (D) ..... 212

**Gráfico 26** - Concentração de MDA em plasma (A), em tecidos adiposos epididimal (B), retroperitoneal (C) e inguinal (D) e em corpo cavernoso (E) de rato dos grupos GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild.... 216

**Gráfico 27** - Concentração de MDA em plasma (A), em tecidos adiposos epididimal (B), retroperitoneal (C) e inguinal (D) e em corpo cavernoso (E) de rato dos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild.....217

**Gráfico 28** – Capacidade antioxidante total no plasma (A), nos tecidos adiposos epididimal (B), retroperitoneal (C) e inguinal (D) e no corpo cavernoso (E) de rato dos grupos GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild.....220

**Gráfico 29** – Capacidade antioxidante total no plasma (A), nos tecidos adiposos epididimal (B), retroperitoneal (C) e inguinal (D) e no corpo cavernoso (E) de rato dos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild..... 221

**Gráfico 30** - Expressão proteica de ERK1/2 em corpo cavernoso de rato dos grupos GCS, GC + SP50, GOS, GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 .... 223



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Classificação internacional da obesidade segundo o IMC que divide a adiposidade em graus ou classes .....	68
<b>Tabela 2</b> - Composição centesimal da dieta hipercalórica .....	101
<b>Tabela 3</b> - Composição da solução de Krebs .....	101
<b>Tabela 4</b> - Ingestão alimentar semanal estimada (g) dos ratos dos grupos GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild .....	119
<b>Tabela 5</b> - Ingestão alimentar semanal estimada (g) dos ratos dos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild.....	119
<b>Tabela 6</b> - Valor calórico semanal médio (kcal) fornecido pela ingestão dietética dos ratos dos grupos GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild.....	121
<b>Tabela 7</b> - Valor calórico semanal médio (kcal) fornecido pela ingestão dietética dos ratos dos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild.....	121
<b>Tabela 8</b> - Valores de massa corporal inicial, final e ganho de massa corporal dos ratos dos grupos GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild.....	123
<b>Tabela 9</b> - Valores de massa corporal inicial, final e ganho de massa corporal dos ratos dos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild.....	124
<b>Tabela 10</b> - Valores de CEA, CCA e CGPCC dos ratos dos grupos GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild .....	126
<b>Tabela 11</b> - Valores de CEA, CCA e CGPCC dos ratos dos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild.....	126
<b>Tabela 12</b> - Valores de comprimento nasoanal, do índice de Lee e do IMC dos ratos dos grupos GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild ..	129
<b>Tabela 13</b> - Valores de comprimento nasoanal, do índice de Lee e do IMC dos ratos dos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild.....	129
<b>Tabela 14</b> - Valores de circunferência abdominal, torácica e da relação circunferência abdominal/torácica dos ratos dos grupos GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild.....	130
<b>Tabela 15</b> - Valores de circunferência abdominal, torácica e da relação circunferência abdominal/torácica dos ratos dos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild.....	130

<b>Tabela 16</b> - Parâmetros bioquímicos dos ratos dos grupos GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild.....	148
<b>Tabela 17</b> - Parâmetros bioquímicos dos ratos dos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild.....	148
<b>Tabela 18</b> - Valores de $E_{max}$ e de $pD_2$ do KCl nos grupos GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild em corpo cavernoso isolado de rato..	157
<b>Tabela 19</b> - Valores de $E_{max}$ e de $pD_2$ do KCl nos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild em corpo cavernoso isolado de rato ..	160
<b>Tabela 20</b> - Valores de $E_{max}$ e de $pD_2$ da FEN nos grupos GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild em corpo cavernoso isolado de rato..	163
<b>Tabela 21</b> - Valores de $E_{max}$ e de $pD_2$ da FEN nos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild em corpo cavernoso de rato.....	166
<b>Tabela 22</b> - Valores de $E_{max}$ , de $pD_2$ e de AUC da FEN na ausência e na presença do Y27632 em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GCS e GC + SP50 ..	169
<b>Tabela 23</b> - Valores de $E_{max}$ , de $pD_2$ e de AUC da FEN na ausência e na presença do Y27632 em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild.....	175
<b>Tabela 24</b> - Valores de $E_{max}$ , de $pD_2$ e de AUC da FEN na ausência e na presença de L-NAME, de indometacina e de L-NAME + indometacina em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GCS e GC + SP50.....	180
<b>Tabela 25</b> - Valores de $E_{max}$ , de $pD_2$ e de AUC da FEN na ausência e na presença de L-NAME, de indometacina e de L-NAME + indometacina em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild ..	190
<b>Tabela 26</b> - Valores de $E_{max}$ e de $pD_2$ da ACh nos grupos GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild em corpo cavernoso isolado de rato..	196
<b>Tabela 27</b> - Valores de $E_{max}$ e de $pD_2$ da ACh nos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild em corpo cavernoso isolado de rato ..	198
<b>Tabela 28</b> - Valores de $E_{max}$ e de $pD_2$ da ACh na ausência e na presença de apocinina, de tempol e de catalase em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GCS, GC + SP50 e GC + Sild ..	205
<b>Tabela 29</b> - Valores de $E_{max}$ e de $pD_2$ da ACh na ausência e na presença de apocinina, de tempol e de catalase em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GOS, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild ..	213

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>[Ca<sup>2+</sup>]</b>	Concentração de Ca <sup>2+</sup>
<b>[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub></b>	Concentração intracelular de Ca <sup>2+</sup>
<b>[K<sup>+</sup>]<sub>e</sub></b>	Concentração extracelular de K <sup>+</sup>
<b>4Ca<sup>2+</sup>-CaM</b>	Complexo 4 íons cálcio-calmodulina
<b>5-HT</b>	Serotonina
<b>AC</b>	Ciclase de adenilil
<b>ACh</b>	Acetilcolina
<b>AGL</b>	Ácido graxo livre
<b>AgRP</b>	Peptídeo relacionado ao gene agouti
<b>AIN</b>	American Institute of nutrition
<b>ANG II</b>	Angiotensina II
<b>ANOVA</b>	Análise de variância
<b>ANVISA</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b>ARC</b>	Núcleo arqueado
<b>ATP</b>	Trifosfato de adenosina
<b>C/EBP<math>\alpha</math></b>	Proteína $\alpha$ estimuladora de ligação a CCAAT
<b>CaM</b>	Calmodulina
<b>cAMP</b>	Monofosfato cíclico de adenosina
<b>CART</b>	Transcrito relacionado à anfetamina e à cocaína
<b>CAT</b>	Catalase
<b>Cav</b>	Canais de cálcio dependentes de voltagem
<b>Cav1</b>	Canais de cálcio dependentes de voltagem do tipo 1
<b>Cav2</b>	Canais de cálcio dependentes de voltagem do tipo 2
<b>CCA</b>	Coeficiente de conversão alimentar
<b>CCh</b>	Carbacol
<b>CCK</b>	Colecistocinina
<b>CCS</b>	Centro de Ciências da Saúde
<b>CEA</b>	Coeficiente de eficácia alimentar
<b>CEUA</b>	Comissão de Ética no Uso de Animais
<b>cGMP</b>	Monofosfato cíclico de guanosina
<b>CGPCC</b>	Coeficiente de ganho de peso por consumo calórico

<b>CGRP</b>	Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina
<b>CICR</b>	Liberação de $\text{Ca}^{2+}$ induzida por $\text{Ca}^{2+}$
<b>CLA</b>	Ácido linoleico conjugado
<b>COX</b>	Ciclo-oxigenase
<b>CPI-17</b>	Proteína inibitória de 17 kDa
<b>DA</b>	Dopamina
<b>DAG</b>	Diacilglicerol
<b>DE</b>	Disfunção erétil
<b>DPP-4</b>	Dipeptidil peptidase 4
<b>e.p.m.</b>	Erro padrão da média
<b>EDTA</b>	Ácido etilenodiamino tetra-acético
<b><math>E_{\max}</math></b>	Efeito máximo
<b>eNOS</b>	Sintase do NO endotelial
<b>ERK</b>	Cinase sensível a estímulos externos
<b>ET-1</b>	Endotelina
<b>FASEB</b>	Federação das Sociedades Americanas para Biologia Experimental
<b>FDA</b>	Administração de Alimentos e Medicamentos
<b>FEN</b>	Fenilefrina
<b>FSH</b>	Hormônio folículo estimulante
<b><math>G_{\alpha q}</math></b>	Subunidade $\alpha$ da proteína $G_q$
<b><math>G_{12/13}</math></b>	Proteína $G_{12}$ ou proteína $G_{13}$
<b>GABA</b>	Ácido gama-aminobutírico
<b>GC</b>	Ciclase de guanilil
<b>GDP</b>	Difosfato de guanosina
<b>GLP-1</b>	Peptídeo semelhante ao glucagon 1
<b>GnRH</b>	Hormônio liberador de gonadotrofina
<b>GPCRs</b>	Receptores acoplados à proteína G
<b><math>G_{q/11}</math></b>	Proteína $G_q$ ou proteína $G_{11}$
<b>GSH-PX</b>	Glutathiona peroxidase
<b>GSH-R</b>	Receptor secretagogo de hormônio do crescimento
<b>GSH-Rd</b>	Glutathiona redutase
<b>GTP</b>	Trifosfato de guanosina
<b>HDL-c</b>	Fração de lipoproteína de alta densidade

<b>IL-1</b>	Interleucina 1
<b>IL-6</b>	Interleucina 6
<b>IMC</b>	Índice de massa corpórea
<b>iNOS</b>	Sintase do NO induzível
<b>IP<sub>3</sub></b>	1,4,5-trisfosfato de inositol
<b>IP<sub>3</sub> R</b>	Receptor de IP <sub>3</sub>
<b>JAK2</b>	<i>Jannus</i> cinase 2
<b>LDL-c</b>	Fração de lipoproteína de baixa densidade
<b>LH</b>	Hormônio luteinizante
<b>LHA</b>	Área hipotalâmica lateral
<b>LPL</b>	Lipoproteína lipase
<b>M</b>	Concentração molar (mol/L)
<b>MAPK</b>	Proteína cinase ativada por mitógeno
<b>MCP-1</b>	Proteína quimiotática de monócitos 1
<b>MDA</b>	Malondialdeído
<b>MLCK</b>	Cinase da cadeia leve da miosina
<b>MLCP</b>	Fosfatase da cadeia leve da miosina
<b>MPOA</b>	Área pré-óptica medial
<b>MYPT1</b>	Subunidade 1 de ligação da fosfatase da miosina
<b>NA</b>	Noradrenalina
<b>NADPH</b>	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
<b>NANC</b>	Não colinérgico não adrenérgico
<b>NCX</b>	Trocador Na <sup>+</sup> /Ca <sup>2+</sup>
<b>nNOS</b>	Sintase do NO neuronal
<b>NO</b>	Óxido nítrico
<b>NOS</b>	Sintase do NO
<b>NPS</b>	Nitroprussiato de sódio
<b>NPY</b>	Neuropeptídeo Y
<b>OMS</b>	Organização Mundial de Saúde
<b>PA</b>	Ácido fosfatídico
<b>PAI-1</b>	Inibidor do ativador de plasminogênio 1
<b>PC</b>	Fosfatidilcolina
<b>pD<sub>2</sub></b>	Logaritmo negativo, na base 10, da concentração molar de uma substância que produz 50% de seu efeito máximo

<b>PDE</b>	Fosfodiesterase
<b>PDK-1</b>	Cinase 1 dependente de fosfoinosítido
<b>PGE<sub>1</sub></b>	Prostaglandina E <sub>1</sub>
<b>PGE<sub>2</sub></b>	Postaglandina E <sub>2</sub>
<b>PGF<sub>2α</sub></b>	Prostaglandina F <sub>2α</sub>
<b>PGI<sub>2</sub></b>	Prostaciclina
<b>PI3K</b>	Fosfatidilinositol-3-cinase
<b>PIP<sub>2</sub></b>	4,5-bisfosfato de fosfatidilinositol
<b>PIP<sub>3</sub></b>	3,4,5-trisfosfato de fosfatidilinositol
<b>PKA</b>	Proteína cinase A
<b>PKB</b>	Proteína cinase B
<b>PKC</b>	Proteína cinase C
<b>PKG</b>	Proteína cinase G
<b>PLC<sub>β1</sub></b>	Fosfolipase C <sub>β1</sub>
<b>PLC<sub>β2</sub></b>	Fosfolipase C <sub>β2</sub>
<b>PLD</b>	Fosfolipase D
<b>PMCA</b>	Ca <sup>2+</sup> -ATPase da membrana plasmática
<b>POMC</b>	Pró-opiomelanocortina
<b>PP1c</b>	Subunidade catalítica da proteína fosfatase 1
<b>PPAR<sub>γ</sub></b>	Receptor ativador da proliferação de peroxissomos $\gamma$
<b>PPgPNSB</b>	Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos
<b>PVN</b>	Núcleo paraventricular
<b>PYY</b>	Peptídeo tirosina-tirosina
<b>RDC</b>	Resolução da Diretoria Colegiada
<b>RhoA</b>	Pequena proteína G ligante de GTP
<b>RhoGAP</b>	Proteína ativadora de GTPase da Rho
<b>RhoGEF</b>	Fator de troca de nucleotídeo guanina da Rho
<b>rMLC</b>	Cadeia leve regulatória da miosina
<b>ROCK</b>	Proteína cinase associada à Rho
<b>ROS</b>	Espécie reativa de oxigênio
<b>RS</b>	Retículo sarcoplasmático
<b>RyR</b>	Receptor de rianodina
<b>SDS-PAGE</b>	Eletroforese em gel de poliacrilamida

<b>SERCA</b>	Ca <sup>2+</sup> -ATPase do retículo endosarcoplasmático
<b>sGC</b>	Ciclase de guanilil solúvel
<b>SNC</b>	Sistema nervoso central
<b>SOD</b>	Superóxido dismutase
<b>STAT3</b>	Transdutor de sinal e ativador de transcrição do tipo 3
<b>TAB</b>	Tecido adiposo branco
<b>TAM</b>	Tecido adiposo marrom
<b>TBA</b>	Ácido tiobarbitúrico
<b>TGI</b>	Trato gastrointestinal
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Fator de necrose tumoral $\alpha$
<b>TxA<sub>2</sub></b>	Tromboxano A <sub>2</sub>
<b>UCP-1</b>	Proteína desacopladora 1
<b>UFPB</b>	Universidade Federal da Paraíba
<b>VEGF</b>	Fator de crescimento do endotélio vascular
<b>VET</b>	Valor energético total
<b>VIGITEL</b>	Vigilância por Inquérito Telefônico
<b>VIP</b>	Peptídio intestinal vasoativo
<b>V<sub>m</sub></b>	Potencial de membrana
<b>ZIPK</b>	Proteína de interação zíper
<b><math>\alpha</math>-MSH</b>	Hormônio estimulante de melanócitos $\alpha$

**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

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>39</b>
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....</b>	<b>42</b>
2.1 Disfunção erétil.....	43
2.2 Fisiologia da ereção peniana.....	44
2.2.1 Estrutura do pênis .....	44
2.2.2 Irrigação sanguínea peniana .....	46
2.2.3 Inervação peniana.....	47
2.2.4 Controle fisiológico da ereção peniana .....	49
2.2.4.1 Mecanismos centrais de controle da ereção peniana .....	49
2.2.4.2 Mecanismos periféricos de controle da ereção peniana.....	52
2.2.4.2.1 Determinantes fisiológicos da flacidez peniana.....	52
2.2.4.2.2 Determinantes fisiológicos da ereção peniana .....	57
2.3 Classificação e fisiopatologia da disfunção erétil .....	60
2.4 Diagnóstico da disfunção erétil.....	62
2.5 Tratamento da disfunção erétil .....	63
2.5.1 Tratamento medicamentoso da disfunção erétil.....	64
2.5.1 Terapias intracavernosa e intrauretral .....	64
2.5.2 Terapia sublingual .....	65
2.5.3 Terapia oral .....	66
2.6 Obesidade .....	67
2.7 Determinantes fisiológicos do controle da ingestão alimentar.....	70



2.8 Tecido adiposo .....	75
2.3.1 Características gerais do tecido adiposo.....	75
2.8.2 O papel secretor do tecido adiposo .....	79
2.8.3 Tecido adiposo visceral vs. subcutâneo .....	81
2.9 Comorbidades associadas ao desenvolvimento da obesidade .....	81
2.10 O estresse oxidativo na obesidade .....	83
2.11 Modelos experimentais para o estudo da obesidade .....	85
2.11.1 Modelos experimentais dietéticos para o estudo da obesidade .....	86
2.12 Produtos naturais marinhos.....	88
2.13 <i>Spirulina platensis</i> .....	91
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>95</b>
3.1 Geral.....	96
3.2 Específicos .....	96
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>97</b>
<b>4.1 Material.....</b>	<b>98</b>
4.1.1 Produto-teste .....	98
4.1.2 Animais.....	98
4.1.3 Substâncias e reagentes .....	98
4.1.4 Dietas experimentais .....	100
4.1.5 Soluções.....	101
4.1.6 Equipamentos .....	102
<b>4.2 Métodos.....</b>	<b>103</b>
4.2.1 Grupos experimentais .....	103

4.2.2 Preparo e administração da <i>S. platensis</i> .....	104
4.2.3 Efeito da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre a ingestão alimentar e a massa corporal dos ratos .....	104
4.2.4 Efeito da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre os coeficientes de eficácia alimentar, de conversão alimentar e de ganho de peso por consumo calórico .....	105
4.2.5 Efeito da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre parâmetros da obesidade experimental .....	105
4.2.5.1 Parâmetros murinométricos .....	105
4.2.5.2 Massa dos depósitos de tecido adiposo.....	106
4.2.5.3 Índice de adiposidade.....	106
4.2.5.4 Morfometria do tecido adiposo .....	106
4.2.5.4.1 Preparações histológicas .....	106
4.2.5.4.2 Análise dos tecidos adiposos .....	107
4.2.6 Efeito da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre parâmetros bioquímicos .....	107
4.2.7 Efeito da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre a ereção peniana induzida pela R-(-)-apomorfina .....	108
4.2.8 Efeito da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre a reatividade contrátil e relaxante do corpo cavernoso isolado de rato .....	109
4.2.8.1 Preparação do corpo cavernoso isolado de rato .....	109
4.2.8.2 Efeito da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre a reatividade contrátil do corpo cavernoso isolado de rato .....	110
4.2.8.2.1 Efeito da suplementação com <i>S. platensis</i> sobre o acoplamento eletromecânico de contração do corpo cavernoso isolado de rato.....	110

4.2.8.2.1.1 Efeito da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre a curva cumulativa de KCl .....	110
4.2.8.2.2 Efeito da suplementação com <i>S. platensis</i> sobre o acoplamento farmacomecânico de contração do corpo cavernoso isolado de rato.....	110
4.2.8.2.2.1 Efeito da suplementação com <i>S. platensis</i> sobre a curva cumulativa de FEN .....	110
4.2.8.2.2.2 Efeito da suplementação com <i>S. platensis</i> sobre a cumulativa de FEN na ausência e na presença do Y27632 .....	111
4.2.8.2.2.3 Efeito da suplementação com <i>S. platensis</i> sobre a cumulativa de FEN na ausência e na presença de L-NAME ou de indometacina.....	111
4.2.8.3 Efeito da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre a reatividade relaxante do corpo cavernoso isolado de rato.....	112
4.2.8.3.1 Efeito da suplementação com <i>S. platensis</i> sobre a curva cumulativa de NPS ou de ACh.....	112
4.2.8.3.2 Efeito da suplementação com <i>S. platensis</i> sobre a curva cumulativa de ACh na ausência e na presença de apocinina, de tempol ou de catalase .....	112
4.2.9 Efeito da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre o estresse oxidativo.. .....	113
4.2.9.1 Obtenção do plasma e do homogenato dos tecidos adiposos e do corpo cavernoso de rato.....	113
4.2.9.2 Efeito da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre os níveis de MDA no plasma, nos tecidos adiposos e no corpo cavernoso de rato .....	113
4.2.9.3 Efeito da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre a capacidade antioxidante total do plasma, dos tecidos adiposos e do corpo cavernoso de rato .	114
4.2.9.4 Efeito da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre a expressão proteica de ERK1/2 no corpo cavernoso de rato.....	115

4.2.9.4.1 Extração do tecido cavernoso, processo de eletroforese em gel de poliacrilamida e <i>Western blot</i> .....	115
4.2.10 Análise estatística .....	116
<b>5 RESULTADOS.....</b>	<b>117</b>
5.1 Efeito da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre a ingestão alimentar e a massa corporal dos ratos .....	118
5.1.1 Avaliação da ingestão alimentar estimada .....	118
5.1.2 Cálculo de calorias fornecidas pela ingestão dietética .....	120
5.1.3 Avaliação da massa corporal .....	122
5.2 Efeito da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre os coeficientes de eficácia alimentar, de conversão alimentar e de ganho de peso por consumo calórico.....	125
5.3 Efeito da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre parâmetros da obesidade experimental .....	127
5.3.1 Parâmetros murinométricos .....	127
5.3.2 Massa dos depósitos de tecido adiposo.....	131
5.3.3 Índice de adiposidade.....	138
5.3.4. Morfometria do tecido adiposo .....	140
5.4 Efeito da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre parâmetros bioquímicos .....	147
5.5 Efeito da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre a ereção peniana induzida pela R-(-)-apomorfina.....	149
5.5.1 Correlação entre os parâmetros da obesidade experimental e a função erétil dos ratos Wistar .....	152
5.6 Efeito da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre a reatividade contrátil do corpo cavernoso isolado de rato .....	155

5.6.1 Efeito da suplementação com <i>S. platensis</i> sobre o acoplamento eletromecânico de contração do corpo cavernoso isolado de rato.....	155
5.6.1.1 Efeito da suplementação com <i>S. platensis</i> sobre a curva cumulativa de KCl.....	155
5.6.2 Efeito da suplementação com <i>S. platensis</i> sobre o acoplamento farmacomecânico de contração do corpo cavernoso isolado de rato.....	161
5.6.2.1 Efeito da suplementação com <i>S. platensis</i> sobre a curva cumulativa de FEN.....	161
5.6.2.2 Efeito da suplementação com <i>S. platensis</i> sobre a curva cumulativa de FEN na ausência e na presença do Y27632.....	167
5.6.2.3 Efeito da suplementação com <i>S. platensis</i> sobre a curva cumulativa de FEN na ausência e na presença de L-NAME ou de indometacina.....	176
5.6.3 Efeito da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre a reatividade relaxante do corpo cavernoso isolado de rato.....	191
5.6.3.1 Efeito da suplementação com <i>S. platensis</i> sobre a curva cumulativa de NPS e de ACh .....	191
5.6.3.2 Efeito da suplementação com <i>S. platensis</i> sobre a curva cumulativa de ACh na ausência e na presença de apocinina, de tempol ou de catalase.....	199
5.6.4 Efeito da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre o estresse oxidativo.....	214
5.6.4.1 Efeito da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre os níveis de MDA no plasma, nos tecidos adiposos e no corpo cavernoso .....	214
5.6.4.2 Efeito da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre a capacidade antioxidante total do plasma, dos tecidos adiposos e do corpo cavernoso.....	218
5.6.4.3 Efeito da suplementação alimentar com <i>S. platensis</i> sobre a expressão proteica de ERK1/2 no corpo cavernoso.....	222

<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>224</b>
<b>7 CONCLUSÕES .....</b>	<b>272</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>274</b>
<b>APÊNDICE.....</b>	<b>329</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>331</b>



# 1 Introdução

A disfunção erétil é definida como a incapacidade constante de alcançar e/ou manter uma ereção peniana suficiente para a satisfação sexual e, desponta entre os problemas de saúde mais temidos pelos homens (NIH, 1993; ALVES; QUEIROZ; MEDEIROS, 2012). Recentemente, o impacto da obesidade sobre a fertilidade masculina elevou o interesse da população em entender os processos subjacentes a essa problemática e, dessa forma, minimizar as alterações nocivas à função sexual, como a DE (YAFI et al., 2016).

A obesidade é uma doença crônica, caracterizada pelo aumento demasiado da adiposidade corporal, que apresenta uma etiologia multifatorial abrangendo fatores relacionados à ingestão excessiva de alimentos pouco saudáveis, redução progressiva da atividade física, fatores genéticos, metabólicos, sociais, comportamentais e culturais (SANTOS et al., 2012; OMS, 2017a).

Em virtude da obesidade resultar da interação gene-ambiente, o estudo dos mecanismos pelos quais essa doença produz diferentes disfunções fisiológicas é facilitado pela utilização de modelos animais que compartilham características semelhantes à doença apresentada pelos humanos, como o aumento do estresse oxidativo, processo prejudicial ao organismo, uma vez que altera a funcionalidade de diversos componentes celulares (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015).

Nesse contexto, a pesquisa evoluiu de estudos que evidenciavam primariamente as bases do fenótipo obeso para estudos contemporâneos que possibilitam a manipulação laboratorial e genética para decifrar as falhas dos circuitos que controlam a relação fome-saciedade e acarretam o desenvolvimento das comorbidades, bem como fornecer bases para o avanço terapêutico dessas disfunções orgânicas (BARRETT; MERCER; MORGAN, 2016).

Do ponto de vista terapêutico, é possível reverter a DE através de procedimentos cirúrgicos, da utilização de dispositivos que promovem a ereção por vácuo, da reposição hormonal e da utilização de um arsenal de medicamentos (SHAMLOUL; GHANEM, 2013). Entretanto, a refratariedade aos tratamentos convencionais aliada à preferência da utilização de produtos



naturais pela população, em razão do resgate e da valorização do conhecimento popular, contribuem para a busca de novas alternativas terapêuticas para a DE (SPERLING et al., 2002; ALVES; VELLOSO, 2005; CODEVILLA; CASTILHOS; BERGOLD, 2013).

Nessa busca, a *Spirulina platensis*, uma alga verde azulada pertencente à família das cianobactérias, encontrada nas águas salgadas e doces, vem ganhando destaque devido ao seu potencial nutricional e medicinal, principalmente por apresentar atividades biológicas comprovadas como antioxidante (CIFERRI, 1983; CUVELIER, 2001; HWANG; CHEN; CHAN, 2013) e hipolipemiante (KU et al., 2013). Recentemente, evidenciou-se que a suplementação alimentar com essa alga promove efeitos benéficos em modelo de músculo liso vascular, através da modulação positiva da via de sinalização do NO em aorta de ratos saudáveis e, em músculo liso intestinal por redução do estresse oxidativo e diminuição da adiposidade corporal de ratos obesos (BRITO, 2014; FERREIRA, 2017).

Diante do exposto, a suplementação alimentar com *S. platensis* emerge como fonte potencial para o tratamento de disfunções orgânicas. Dessa forma, nesse trabalho foi avaliado o efeito da suplementação com a alga sobre o consumo alimentar, a evolução ponderal, a adiposidade corporal e o estresse oxidativo de ratos Wistar alimentados como dietas diferenciadas, sendo uma dieta padrão e a outra hipercalórica. Adicionalmente, foi implantado e padronizado um modelo de disfunção erétil induzida pelo consumo de dieta hipercalórica em ratos Wistar, com a finalidade ulterior de contribuir com a busca de novas drogas destinadas ao tratamento dessa doença. Nesse contexto, foi avaliado o efeito da alga sobre a função erétil dos ratos alimentados com as diferentes dietas, a fim de verificar se a *S. platensis* melhora a funcionalidade peniana ou previne os danos à função erétil decorrentes do aumento do consumo calórico. Ainda nesse cenário, avaliou-se os mecanismos envolvidos no efeito promovido pela alga, utilizando metodologias para estudos em níveis funcional e molecular.



## **2 Fundamentação teórica**

## 2.1 Disfunção erétil

A DE é caracterizada pela incapacidade de alcançar e/ou manter uma ereção peniana adequada para se obter uma relação sexual satisfatória (NIH, 1993; ALVES; QUEIROZ; MEDEIROS., 2012) e, representa a disfunção sexual mais estudada em humanos (ÜCKERT et al., 2007). Os primeiros relatos desse transtorno clínico foram encontrados em escrituras egípcias antigas que datam de mais de 5.000 anos e, foram descritas reduções no número e na qualidade das ereções de diferentes egípcios (SMITH, 1974; SHAH, 2002).

Em 2010, 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., 2003; NICOLOSI et al., 2005). Adicionalmente, a prevalência mundial da DE é estimada em 322 milhões de homens comprometidos em 2025 (COSTA; POTEPA, 2012).

No Brasil, aproximadamente 45% dos homens possuem algum grau dessa doença. Os 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).

A DE é considerada uma doença predominantemente vascular e benigna, 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 do relacionamento interpessoal (STEFANO, 2012; LEITOLIS, 2013). A predominância da doença se eleva com a idade e pode ser vista como um grave problema de saúde pública (JÚNIOR et al., 2014). A etiologia da DE é multifatorial e, dentre os fatores de risco, destacam-se a presença de doenças cardiovasculares, o sedentarismo, o tabagismo, o diabetes, a depressão, a ansiedade e a obesidade (ALVES; QUEIROZ; MEDEIROS, 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 NO, com conseqüente 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., 2004; ESPOSITO et al., 2006; ESPOSITO et al., 2009; ESPOSITO; GIUGLIANO, 2011).

Atualmente, a DE não se limita simplesmente a redução da atividade sexual, mas atua como um indicador da disfunção endotelial sistêmica. Do ponto de vista clínico, essa doença geralmente antecede eventos cardiovasculares e pode ser utilizada como marcador inicial para identificar homens com alto risco cardiovascular (GANDAGLIA et al., 2014; YAFI et al., 2016). Diante disso, é importante conhecer os mecanismos fisiológicos que regulam o processo de ereção peniana, uma vez que alterações nessa sinalização celular acarretam a DE.

## **2.2 Fisiologia da ereção peniana**

### **2.2.1 Estrutura do pênis**

O pênis, órgão genital e copulatório masculino, é responsável pela eliminação da urina e pela ejaculação do sêmen. A estrutura peniana é similar em todas as espécies de mamíferos (SACHS; MEISEL, 1988). Nesse contexto,

a anatomia descritiva divide esse órgão em três partes, a base, o corpo e a glândula (EARDLEY; SETHIA, 2003).

A base do pênis é a porção que se encontra conectada ao osso pélvico e é formada por duas cruras (ou ramos) e um bulbo. As cruras são estruturas cilíndricas localizadas paralelamente e inseridas no ramo púbico do osso ísquio, estas estruturas se fundem para formar os corpos cavernosos. O bulbo se estreita e passa a constituir o corpo esponjoso, que se projeta continuamente com os corpos cavernosos no corpo peniano. Portanto, o pênis é constituído por três segmentos cilíndricos: dois corpos cavernosos dorsais emparelhados e um corpo esponjoso localizado ventralmente, que envolve a uretra, formando a glândula na porção distal do órgão (Figura 1) (KANDEEL; KOUSSA; SWERDLOFF, 2001; EARDLEY; SETHIA, 2003; DEAN; LUE, 2005).

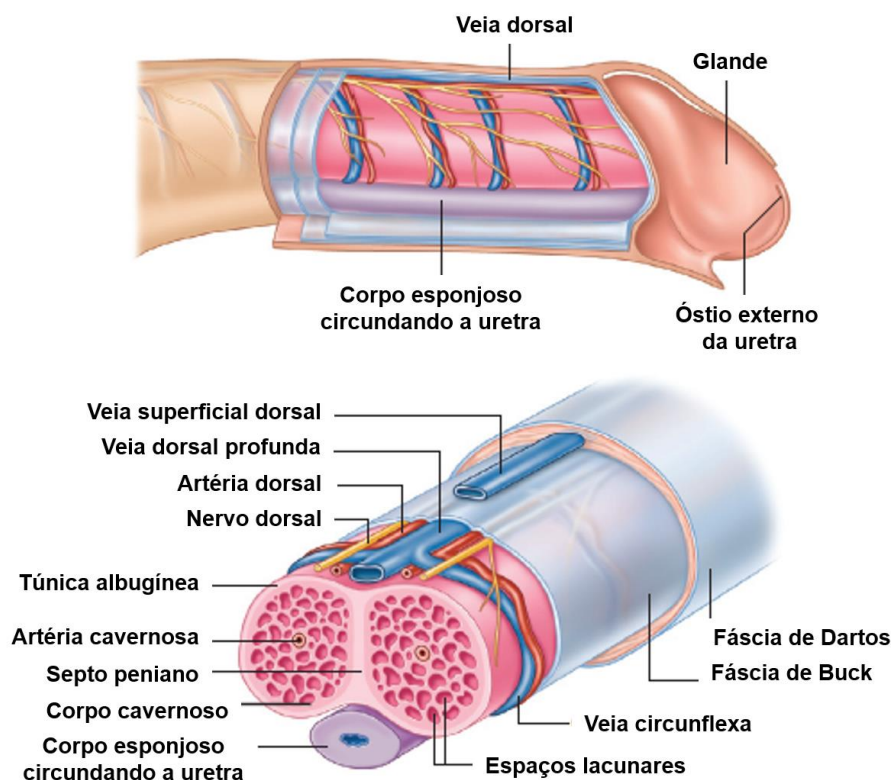
Os corpos cavernosos são circundados por uma estrutura composta por duas camadas de tecido fibroso, principalmente colágeno e elastina, denominada túnica albugínea, que confere flexibilidade, rigidez e resistência ao pênis. A camada longitudinal da túnica albugínea se localiza ao redor de ambos corpos cavernosos e a camada circular interna recobre cada corpo cavernoso individualmente. Além disso, os três segmentos cilíndricos penianos são revestidos pelas fâscias de Buck, de Dartos e por tecido subcutâneo, que os separam da pele (Figura 1) (HSIEH et al., 2012; JUNG et al., 2014).

Devido à presença de um septo perfurado e incompleto, constituído de tecido conjuntivo proveniente da túnica albugínea, que une os dois corpos cavernosos abaixo do arco púbico, o pênis humano funciona como uma unidade (Figura 1) (EARDLEY; SETHIA, 2003; RUSSEL; NEHRA, 2003).

A arquitetura interna dos corpos cavernosos e do corpo esponjoso compartilha características histológicas comuns, exceto a glândula, estrutura que apresenta riqueza de anastomoses venosas. O tecido que compõe esses segmentos cilíndricos apresenta característica esponjosa, e é basicamente uma estrutura contendo sinusoides ou trabéculas cavernosas, que apresenta espaços lacunares, conhecidos também como espaços sinusoides ou cavernosos, interconectados por células musculares lisas e sustentado por estroma formado por células de colágeno, elastina, vasos sanguíneos e nervos (Figura 1) (LUE, 2002; CLEMENT; GIULIANO, 2015).

Adicionalmente, os espaços lacunares são revestidos por células endoteliais e irrigados pelas artérias helicinais (MAS; ESCRIG; GONZALEZ-MORA, 2002). Durante a ereção peniana, o corpo cavernoso aumenta a rigidez do pênis e mantém o seu formato durante a cópula, por ser considerado um sistema de alta pressão (KELLY, 1999), enquanto o corpo esponjoso infla a glândula e apoia o seu tecido durante a cópula, por ser um sistema de baixa pressão (PUROHIT; BECKETT, 1976).

**Figura 1** – Representação lateral e corte transversal do pênis.



Fonte: Adaptado de STANDRING, 2015.

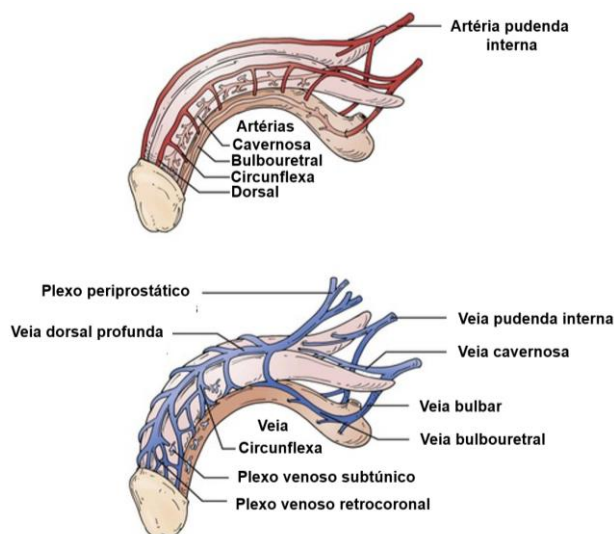
### 2.2.2 Irrigação sanguínea peniana

O suprimento sanguíneo arterial para o pênis deriva, principalmente, da artéria pudenda interna. Essa artéria representa um ramo da artéria íliaca interna na junção sacro-íliaca. Após atravessar o tronco perineal no canal de Alcock, a artéria pudenda interna se torna artéria peniana, que se ramifica nas artérias dorsal, bulbouretral e cavernosa (Figura 2). A artéria dorsal irriga a

glande peniana e a artéria bulbouretral supre o bulbo peniano e o corpo esponjoso. Além disso, a artéria cavernosa se ramifica em artérias helicinais, que irrigam os espaços sinusoides dos corpos cavernosos. Essas artérias possuem formato em espiral e estão contraídas durante a flacidez peniana (LUE, 2002).

A drenagem sanguínea do pênis ocorre em três níveis, o superficial, o intermediário e o profundo. A drenagem superficial é realizada pelas veias presentes entre as fáscias de Buck e Dartos, que convergem na veia dorsal superficial, responsável por drenar o prepúcio e a pele que reveste o pênis, e em seguida, drenam na veia pudenda externa. Entretanto, a drenagem intermediária é realizada pelas veias circunflexas dorsais e profundas que convergem na veia dorsal profunda e drenam a glândula e as porções superficiais dos corpos cavernosos do pênis (Figura 2) (RUSSEL; NEHRA, 2003; STANDRING, 2015).

**Figura 2** – Anatomia vascular peniana.



Fonte: Adaptado de WEIN et al., 2011.

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, e drenam em veias penianas extra-túnicas conhecidas como veias cavernosa e crural. As veias emissárias também coalescem para originar as

veias circunflexas, que drenam na veia dorsal profunda do pênis para esvaziar o plexo periprostático (Figura 2). O sistema venoso profundo drena tanto os corpos cavernosos quanto o corpo esponjoso (CHRIST; LUE, 2004; FAZIO; BROCK, 2004).

### **2.2.3 Inervação peniana**

O pênis é innervado por fibras nervosas autonômicas, simpáticas e parassimpáticas, responsáveis pela regulação dos eventos neurovasculares durante a flacidez e a ereção peniana, e por fibras nervosas somáticas, sensitivas e motoras, que conduzem as sensações e controlam a contração dos músculos isquiocavernoso e bulbo cavernoso (GROAT; BOOTH, 1993).

A inervação simpática provém das raízes nervosas tóraco-lombares, nos segmentos medulares de T11-L2, e se dirige através dos nervos esplânicos para os plexos hipogástrico superior e inferior, em direção ao plexo pélvico (STEERS, 2000; ARGOLAS; MELIS, 2005). Entretanto, a inervação parassimpática provém das raízes sacrais, nos segmentos S2-S4, e passa pelo plexo hipogástrico superior em direção ao plexo pélvico. Esse plexo é o principal cruzamento de nervos autônomos e, localiza-se nas laterais da bexiga e do reto e se irradia para todas as vísceras pélvicas. Coletivamente, as fibras autônomas que innervam o pênis são designadas de nervo cavernoso (GIULIANO et al., 1997; STIEF, 2003).

O pênis também possui inervação somática, tanto sensitiva, através do nervo não colinérgico não adrenérgico (NANC), como motora, que se origina nos segmentos sacrais de S2-S4 e forma o nervo pudendo. Esse nervo se ramifica nos nervos dorsal do pênis, perineal e retal inferior. Nesse caso, os estímulos periféricos obtidos através dos receptores distribuídos por todo o pênis, principalmente na glândula, são enviados ao nervo pudendo, que adentra a medula espinal, de onde os neurônios conduzem os impulsos ao SNC. Além disso, os estímulos motores são conduzidos pelo nervo pudendo aos músculos isquiocavernoso e bulbo cavernoso, que participam das fases de rigidez peniana e contração rítmica durante a ejaculação, respectivamente (STEERS, 2000).



## 2.2.4 Controle fisiológico da ereção peniana

A ereção peniana é um fenômeno neurovascular modulado por fatores psicológicos e hormonais, cujo resultado final é o relaxamento da musculatura lisa do pênis. Esse fenômeno envolve uma complexa interação entre o SNC e estímulos locais. É basicamente mediado por reflexos espinais, pelo processamento de informações no hipotálamo e pela integração de estímulos táteis, visuais, olfatórios, auditivos e imaginários (THOMAS, 2002; ANDERSSON, 2011).

### 2.2.4.1 Mecanismos centrais de controle da ereção peniana

No hipotálamo, o PVN e a área pré-óptica 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 outros processos importantes no ato sexual, como 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 e neuropeptídeos controlam a ereção peniana, dentre eles, destacam-se a dopamina (DA), a ocitocina, a noradrenalina, entre outros (ANDERSSON, 2011).

Entretanto, os efeitos pró-eréteis da DA decorrem da sua liberação na MPOA e no PVN através da via incerto-hipotalâmica (CHEN; CHAN; CHANG, 1999; BASKERVILLE; DOUGLAS, 2008). Essa catecolamina exerce seus efeitos biológicos através de receptores subdivididos em *D<sub>1</sub>-like*, que compreendem os subtipos *D<sub>1</sub>* e *D<sub>5</sub>*, e acoplam a proteína *G<sub>s</sub>*, ou *D<sub>2</sub>-like*, formados pelos subtipos *D<sub>2</sub>*, *D<sub>3</sub>* e *D<sub>4</sub>*, que acoplam as proteínas *G<sub>i/o</sub>* (HSIEH et al., 2004).

No SNC, o subtipo *D<sub>2</sub>* é o mais abundante sendo inclusive descrito a expressão desses receptores no corpo celular de neurônios ocitocinérgicos

localizados no PVN e na MPOA (BASKERVILLE; DOUGLAS, 2008; BASKERVILLE et al., 2009).

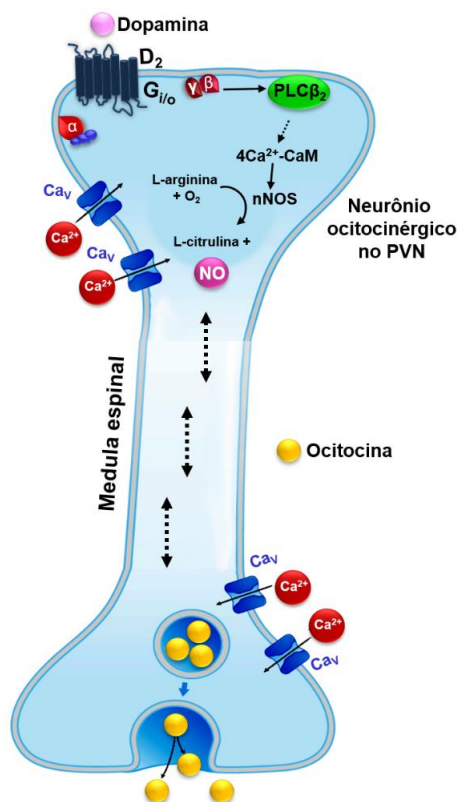
Após a ativação dos receptores  $D_2$  presentes nos neurônios ocitocinérgicos do PVN pela DA, há a estimulação da via da fosfolipase  $C\beta_2$  ( $PLC\beta_2$ ) pelo dímero  $\beta\gamma$  das proteínas  $G_{i/o}$ . Nessa sinalização, a  $PLC\beta_2$  hidrolisa fosfolipídios presentes na membrana do tipo 4,5-bisfosfato de fosfatidilinositol ( $PIP_2$ ), produzindo o 1,4,5-trisfosfato de inositol ( $IP_3$ ) e o diacilglicerol (DAG) (BERRIDGE, 2008; BILLINGTON; PENN, 2003). O  $IP_3$  induz a liberação de  $Ca^{2+}$  do retículo endoplasmático por ativar os receptores de  $IP_3$  ( $IP_3R$ ). Além disso, no retículo endoplasmático há os receptores de rianodina (RyR), canais de  $Ca^{2+}$  sensíveis à cafeína, que são ativados pelo  $Ca^{2+}$  previamente liberado via  $IP_3R$  num processo denominado de liberação de  $Ca^{2+}$  induzida pelo  $Ca^{2+}$  (CICR) (DELLIS et al., 2006; MCHALE et al., 2006).

Na sequência dessa cascata de sinalização, o  $Ca^{2+}$ , junto com o DAG, ativam a proteína cinase dependente de  $Ca^{2+}$  (PKC), que, por sua vez, leva a um aumento na concentração intracelular de  $Ca^{2+}$  ( $[Ca^{2+}]_i$ ) através da fosforilação e da ativação direta dos canais de  $Ca^{2+}$  dependentes de voltagem ( $Ca_v$ ) presentes na membrana plasmática (FUKATA; KAIBUCHI; AMANO, 2001). O aumento na  $[Ca^{2+}]_i$  favorece a interação do  $Ca^{2+}$  com a proteína calmodulina (CaM), formando o complexo  $4Ca^{2+}$ -CaM. Este complexo ativa a enzima sintase do óxido nítrico neuronal (nNOS), que catalisa a conversão da L-arginina e  $O_2$  em L-citrulina e NO. 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 3) (ARGIOLAS; MELIS, 2005; XIAO et al., 2005).

A ocitocina também é um neurotransmissor chave no processo de ereção peniana e sua ação é mediada pela ativação dos neurônios ocitocinérgicos no PVN por moduladores excitatórios, como a DA. Além disso, a própria ocitocina promove autoativação nos seus receptores localizados no PVN. Com essa ativação, são conduzidos estímulos para áreas

extra-hipotalâmicas, bem como para a medula espinal, através de terminais sinápticos (ARGIOLAS; MELIS, 2004).

**Figura 3** – Mecanismo central de controle da ereção peniana pela dopamina.



D<sub>2</sub>: receptor dopaminérgico do subtipo 2; PLCβ<sub>2</sub>: fosfolipase Cβ<sub>2</sub>; CaM: calmodulina; nNOS: sintase do óxido nítrico neuronal; NO: óxido nítrico; PVN: núcleo paraventricular; Cav: canais de Ca<sup>2+</sup> dependentes de voltagem.

Fonte: SOUZA, 2018.

A regulação central da ereção peniana pela noradrenalina (NA) não está bem esclarecida, entretanto há neurônios noradrenérgicos com projeções para as regiões da medula espinal que estão associadas a ereção (GIULIANO; RAMPIN, 2000).

Adicionalmente, alguns neurotransmissores são responsáveis pela inibição dos reflexos autonômicos e somáticos durante a ereção, dentre eles, destacam-se a serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) e o GABA, encontrados em concentrações elevadas na MPOA (GROAT; BOOTH, 1993).

#### **2.2.4.2 Mecanismos periféricos de controle da ereção peniana**

O controle periférico da ereção depende de fatores neuronais e locais que, em última instância, influenciam os processos de contração e de relaxamento muscular liso cavernoso. Nesse contexto, gera-se um tônus muscular e, assim, mantém-se o estado funcional do pênis (ANDERSSON, 2011).

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. Especificamente, um aumento na  $[Ca^{2+}]_i$  é a causa primária para a produção da contração, logo, a regulação dos níveis intracelulares desse íon e da sensibilidade da maquinaria contrátil ao mesmo são os pontos-chave para a regulação do tônus da célula muscular lisa cavernosa (MAGGI et al., 2000).

##### **2.2.4.2.1 Determinantes fisiológicos da flacidez peniana**

A estimulação simpática é o mecanismo primordial responsável pela manutenção do pênis no estado flácido. Nesse caso, a NA liberada pelos neurônios adrenérgicos estimula seus receptores nos vasos penianos e no músculo liso dos corpos cavernosos do pênis para induzir a contração (MILLS; CHITALEY; LEWIS, 2001).

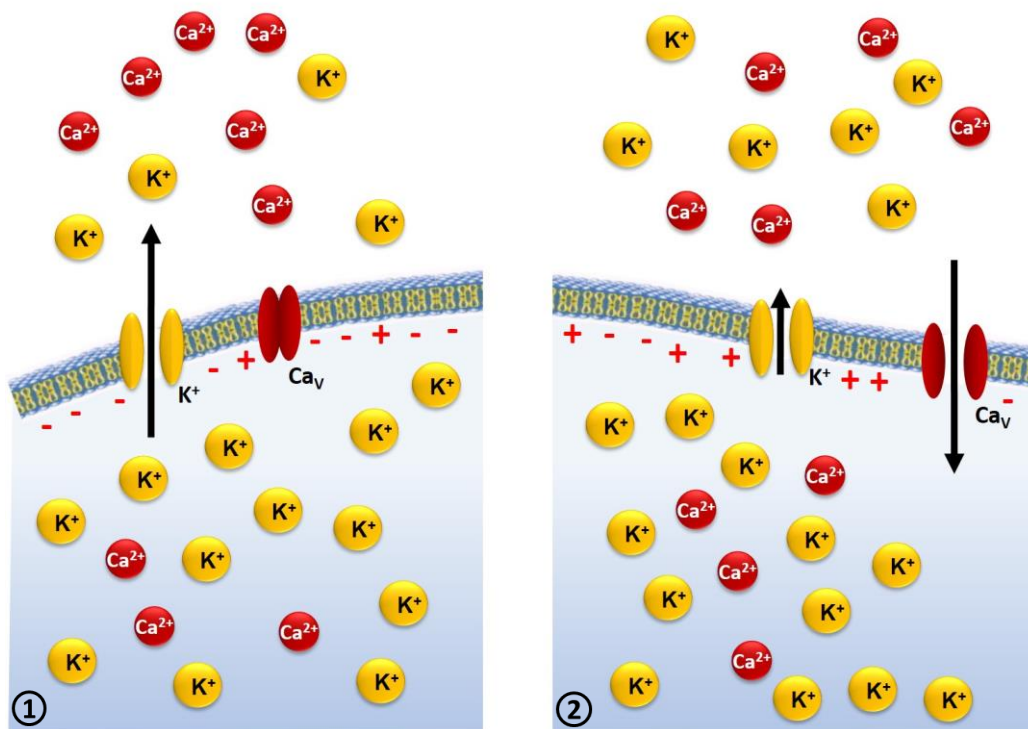
A caracterização farmacológica dos receptores adrenérgicos evidenciou que a expressão do subtipo  $\alpha$  é 10 vezes mais abundante que do  $\beta$  no tecido cavernoso. Além disso, os subtipos de receptores adrenérgicos  $\alpha_1$  ( $\alpha_{1A}$ ,  $\alpha_{1B}$ ,  $\alpha_{D1}$  e  $\alpha_{1L}$ ) e  $\alpha_2$  ( $\alpha_{2A}$ ,  $\alpha_{2B}$  e  $\alpha_{2C}$ ) são expressos em corpo cavernoso humano (MAGGI et al., 2000; ANDERSSON, 2011). Curiosamente, a ativação dos dois subtipos de receptores adrenérgicos  $\alpha$  promove a contração muscular lisa cavernosa, uma vez que foi evidenciado que a estimulação pré-sináptica de receptores  $\alpha_2$  inibe a transmissão NANC (SIMONSEN et al., 1997; FILIPPI et al., 2002). Outros importantes mediadores da contração cavernosa incluem a endotelina 1

(ET-1), a prostaglandina  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ), o tromboxano  $A_2$  ( $TXA_2$ ) e a angiotensina II (ANG II) (TEJADA et al., 1991; BECKER et al., 2001; ANDERSSON, 2003).

Adicionalmente, a regulação funcional da  $[Ca^{2+}]_i$ , para dar início a uma resposta contrátil no músculo liso cavernoso depende de dois tipos de acoplamentos: um acoplamento eletromecânico, que está envolvido com a mudança do potencial de membrana ( $V_m$ ), e outro acoplamento farmacomecânico, que acontece quando a contração promovida por um agonista é maior que a observada só com a mudança do  $V_m$  (REMBOLD, 1992).

O acoplamento eletromecânico leva a resposta contrátil através da despolarização de membrana diretamente associada ao aumento da concentração extracelular de potássio ( $[K^+]_e$ ) (Figura 4) ou a ação de bloqueadores dos canais de  $K^+$  (REMBOLD, 1996).

**Figura 4** – Acoplamento eletromecânico da contração muscular lisa cavernosa pelo aumento da concentração extracelular de  $K^+$ .



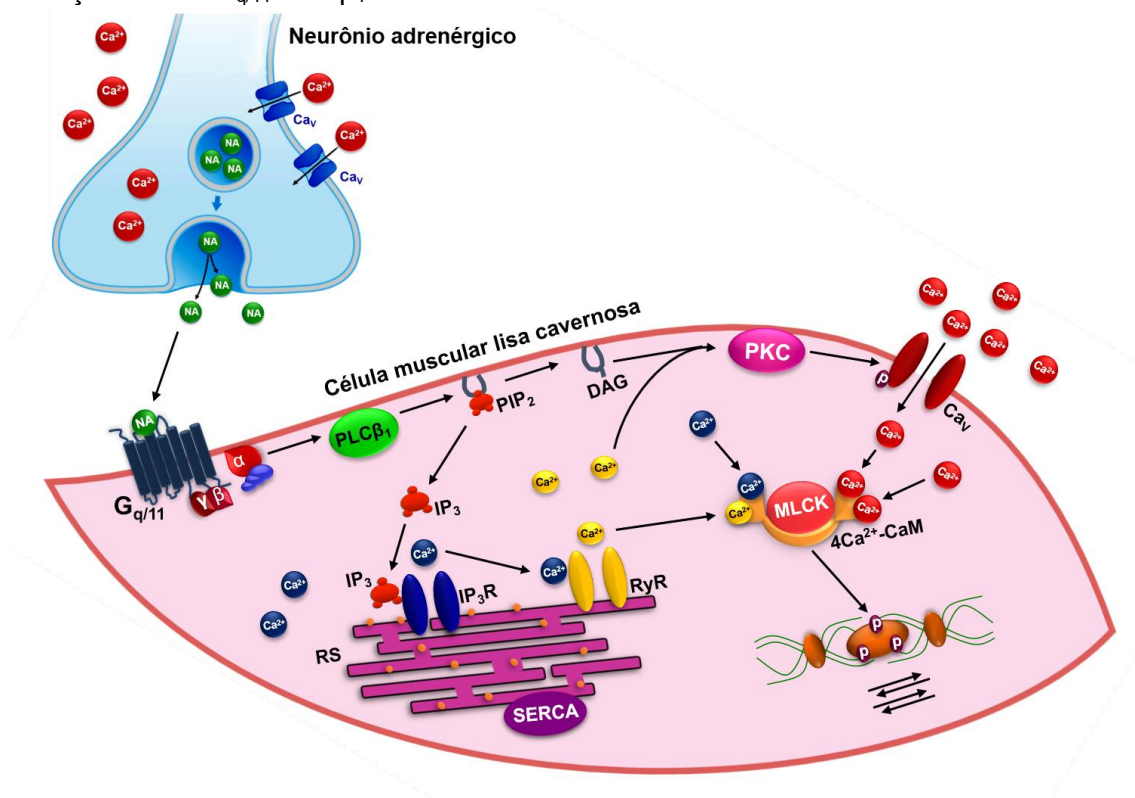
1. Durante o repouso; 2. Após o aumento na  $[K^+]_e$ .

Fonte: SOUZA, 2014.

Apesar da importância do acoplamento eletromecânico de contração da célula muscular lisa cavernosa, 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  $G_{q/11}$ . Nesse cenário, há ligação da adrenalina e da NA aos receptores  $\alpha_1$ , da ET-1 aos receptores  $ET_{A/B}$ , da  $PGF_{2\alpha}$  aos receptores FP, do  $TXA_2$  aos receptores TP e da ANG II aos receptores  $AT_1$ , o que desencadeia a ativação da via da fosfolipase  $C\beta_1$  ( $PLC\beta_1$ ) e culmina na formação do complexo  $4Ca^{2+}$ -CaM, de maneira semelhante ao observado para a via da  $PLC\beta_2$ . 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 5) (WEBB, 2003).

**Figura 5** – Mecanismo farmacomecânico da contração no músculo liso cavernoso pela ativação da via  $G_{q/11}$ - $PLC\beta_1$ .



NA: noradrenalina; Cav: canais de  $Ca^{2+}$  dependentes de voltagem;  $PLC\beta_1$ : fosfolipase  $C\beta_1$ ;  $PIP_2$ : 4,5-bisfosfato de fosfatidilinositol; DAG: diacilglicerol;  $IP_3$ : 1,4,5-trisfosfato de inositol;  $IP_3R$ : receptor de  $IP_3$ ; 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.

Apesar do aumento da  $[Ca^{2+}]_i$  ser transiente, as células musculares lisas cavernosas são capazes de manter o estado contraído mesmo após a redução dos níveis intracelulares desse íon. De fato, estudos têm relatado uma via alternativa que contribui para a manutenção da contração no músculo liso, designada como via de sensibilização ao  $Ca^{2+}$  (Figura 6). Esta via 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 guanina (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  $[Ca^{2+}]_i$  via GPCRs levam à ativação direta do fator de troca de nucleotídeo de guanina da RhoA (RhoGEF) pelas proteínas  $G_{12/13\alpha}$ -GTP, que ativam a RhoA trocando o GDP por trifosfato de guanina (GTP) nessa proteína (SOMLYO; SOMLYO, 2003). Dessa forma, a RhoA-GTP é translocada para a membrana plasmática, onde permanece ancorada por meio de geranilgeranilização e ativa a ROCK. A atividade da RhoA é reduzida pela ação da proteína ativadora de GTPase da Rho (RhoGAP), que culmina com a clivagem do GTP em GDP e a formação do complexo inativo RhoA-GDP/RhoGDI, que retorna ao citoplasma (BURRIDGE; WENNERBERG, 2004).

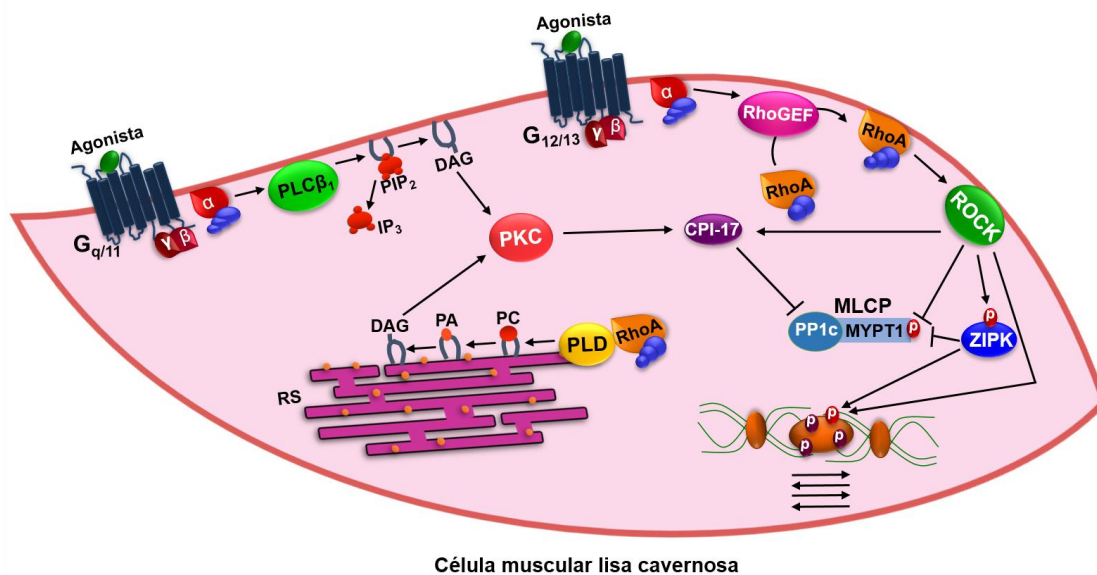
Após ser ativada pela RhoA-GTP, a ROCK fosforila diretamente a rMLC e a subunidade regulatória MYPT1 da MLCP, tornando-a inativa, promovendo a manutenção do estado fosforilado da rMLC e, conseqüentemente, da força de contração (KIMURA et al., 1996). Além disso, esta pode ativar uma proteína cinase independente de  $Ca^{2+}$ , mais conhecida como proteína cinase de interação zíper (ZIPK). A ZIPK fosforila diretamente a rMLC, no entanto seu alvo principal é o resíduo de Thr<sup>696</sup> da MYPT1 que, quando fosforilado, inibe a ação da MLCP (MURTHY, 2006).

A CPI-17 (proteína inibitória de 17 kDa) serve como substrato tanto para a ROCK como para a PKC. Quando fosforilada, a CPI-17 se liga à subunidade

catalítica PP1c da MLCP para inibir a sua atividade enzimática e prolongar a contração do músculo liso (KITAZAWA et al., 2000).

A RhoA-GTP também estimula a fosfolipase D (PLD), essa enzima está principalmente associada a membranas intracelulares, mas também é encontrada na membrana plasmática e é específica para fosfatidilcolina (PC), liberando ácido fosfatídico (PA) que através da ação da enzima fosfo-hidrolase é desfosforilado a DAG levando a ativação sustentada da PKC (BERRIDGE, 2009). A ativação da PKC também pode ser dependente de  $G_{q/11}$ -PLC $\beta_1$  que forma DAG a partir da hidrólise do PIP $_2$ . A PKC pode fosforilar o resíduo de Thr $^{38}$  da CPI-17, aumentando assim sua potência inibitória sobre a PP1c por mais de 1000 vezes, inibindo a ação da MLCP (SOMLYO; SOMLYO, 2003; MURTHY, 2006).

**Figura 6** – Mecanismo de manutenção da contração no músculo liso cavernoso pela ativação da via  $G_{12/13}$ /ROCK.



PLC $\beta_1$ : fosfolipase C $\beta_1$ ; PIP $_2$ : 4,5-bisfosfato de fosfatidilinositol; DAG: diacilglicerol; IP $_3$ : 1,4,5-trisfosfato de inositol; RS: retículo sarcoplasmático; PKC: proteína cinase dependente de Ca $^{2+}$ ; RhoA: pequena proteína ligante de GTP; PLD: proteína cinase D; PC: fosfatidilcolina; PA: ácido fosfatídico; RhoGEF: fator de troca de nucleotídeo de guanina da RhoA; ROCK: cinase da RhoA; CPI-17: proteína inibitória de 17 kDa; ZIPK: proteína cinase de interação zíper; MLCP: fosfatase da cadeia leve da miosina; MYPT1: subunidade regulatória da MLCP; PP1c: subunidade catalítica da MLCP.

Fonte: SOUZA, 2018.



As proteínas cinases ativadas por mitógenos (MAPK) têm sido associadas com o aumento da contratilidade do músculo liso, proliferação e quimiotaxia. Dentre elas, destacam-se as MAPK ERK1/2 e p38, especialmente pela sua atividade sobre o músculo liso vascular, entretanto, os mecanismos moleculares que alteram diretamente a contratilidade cavernosa não estão totalmente esclarecidos (BERRIDGE, 2009).

#### **2.2.4.2.2 Determinantes fisiológicos da ereção peniana**

O relaxamento dos corpos cavernosos do pênis acontece em resposta à neurotransmissão NANC, tendo o NO como neurotransmissor mais importante; e à neurotransmissão colinérgica, que libera a ACh, responsável por estimular a liberação de NO pelas células endoteliais (ANDERSSON, 2003).

A síntese do NO é catalisada pela ação da enzima sintase de óxido nítrico (NOS) que, na presença de O<sub>2</sub> converte a L-arginina em L-citrulina e NO tanto em células endoteliais como nas terminações nervosas. São expressas três isoformas distintas de NOS no pênis, as isoformas constitutivas e dependentes de cálcio incluem a nNOS e a eNOS, além delas, foi identificada a isoforma induzível (iNOS), principalmente, quando há injúria tecidual (BURNETT et al., 1993; GONZALEZ-CADAVID; IGNARRO; RAJFER, 1999).

Nas células endoteliais, a ativação da eNOS pode acontecer em resposta ao estresse de cisalhamento induzido pelo aumento do fluxo sanguíneo nos vasos penianos, nesse caso, há a ativação da enzima PI-3K, que fosforila o PIP<sub>2</sub> e forma o 3,4,5-trisfosfato de fosfatidilinositol (PIP<sub>3</sub>). O PIP<sub>3</sub> recruta e ativa a cinase-1 dependente de fosfoinosítídeo (PKD-1) que, por sua vez, fosforila e ativa a Akt, também conhecida como proteína cinase B (PKB). A Akt é uma serina/treonina cinase que fosforila diretamente a eNOS nos seus resíduos de Ser<sup>1177</sup>, resultando no aumento da atividade dessa enzima, fenômeno que contribui para a produção contínua de NO (HURT et al., 2002; SOMMER et al., 2002).

Outras substâncias são responsáveis por modular o relaxamento muscular liso cavernosos, como o peptídeo intestinal vasoativo (VIP) e o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), liberados pelas terminações nervosas colinérgicas. O endotélio também libera prostanoídes

relaxantes, como a prostaciclina (PGI<sub>2</sub>) e as prostaglandinas E dos tipos 1 e 2 (PGE<sub>1</sub> e PGE<sub>2</sub>) (MOLDERINGS et al., 1992; PORST, 1996).

Embora as substâncias supracitadas estejam envolvidas na regulação do relaxamento muscular liso cavernoso, o NO é considerado o mediador fisiológicos mais importante para a ereção peniana. Quando há um estímulo sexual, este é liberado pelos neurônios NANC ou pelas células endoteliais, em resposta à ACh e, por ser um gás lipossolúvel se difunde e ativa o seu receptor ciclase de guanilil solúvel (cGC) na célula muscular lisa cavernosa (Figura 7) (ANDERSSON, 2011).

A cGC converte o GTP em monofosfato cíclico de guanosina (cGMP), que ativa a proteína cinase dependente de cGMP (PKG). Essa cinase fosforila vários substratos para promover o relaxamento muscular cavernoso (Figura 7), destacando-se: 1) ativação de canais de K<sup>+</sup>, que indiretamente, por repolarização ou hiperpolarização, inibem os Cav; 2) inibição direta dos Cav, diminuindo o influxo de Ca<sup>2+</sup> (REMBOLD, 1996; MAKHLOUF; MURTHY, 1997; WRAY et al., 2003); 3) aumento na cinética da Ca<sup>2+</sup>-ATPase tanto do retículo sarcoendoplasmático (RS) (SERCA) como da membrana plasmática (PMCA), aumentando assim o sequestro e a extrusão de Ca<sup>2+</sup>, respectivamente; 4) diminuição da [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> por ativação do trocador Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> (NCX), que atua numa proporção de 3/1 (BLAUSTEIN, 1989); 5) inibição da MLCK, reduzindo sua afinidade pelo complexo 4Ca<sup>2+</sup>-CaM, impedindo a fosforilação da rMLC e, conseqüentemente, o processo contrátil (REMBOLD, 1992); 6) inativação dos IP<sub>3</sub>R que reduz a liberação do Ca<sup>2+</sup> pelo RS (WOODRUM; BROPHY, 2001); 7) inativação da RhoA por fosforilação do resíduo Ser<sup>188</sup>, deslocando-a para o citosol; 8) ativação da MLCP por fosforilação no resíduo de Ser<sup>695</sup> da subunidade MYPT1 o que impede a fosforilação no resíduo de Thr<sup>696</sup> pela ROCK; 9) ativação da MLCP por fosforilação do telokin (ativador endógeno da MLCP), sendo esse um mecanismo independente de RhoA (MURTHY, 2006; AGUILAR; MITCHELL, 2010).

Do ponto de vista fisiológico, o NO derivado da nNOS é responsável pelo início da ereção, enquanto o NO produzido pela eNOS em resposta ao estresse de cisalhamento contribui para a manutenção da rigidez peniana durante a ereção (ANDERSSON, 2011).



Devido a importância do cGMP e do cAMP na redução da  $[Ca^{2+}]_i$ , destaca-se o papel fundamental para a regulação da função erétil desempenhado pelas enzimas fosfodiesterases (PDEs), que hidrolisam o cGMP e o cAMP às suas formas não cíclicas (GMP e AMP, respectivamente) e encerram a cascata de sinalização que resulta no relaxamento muscular liso cavernoso. Cada família de PDE inclui múltiplas isoformas que podem atuar sobre um nucleotídeo cíclico específico ou sobre os dois tipos. No pênis, a isoforma de fosfodiesterase predominante é a 5 (PDE5), que atua especificamente sobre o cGMP (FRANCIS; TURKO; CORBIN, 2000; MANCINA et al., 2005).

Apesar de menos relevante para o processo de ereção peniana, o acoplamento eletromecânico pode promover relaxamento através da abertura de canais de  $K^+$  que desempenham um papel chave na regulação do potencial de repouso da membrana e na excitabilidade celular, sendo que a contração no músculo liso depende do balanço entre o aumento da condutância ao  $K^+$ , gerando uma repolarização/hiperpolarização. Além disso, a hiperpolarização da membrana das células musculares lisas pode ser produzida por substâncias que abrem diretamente os canais de  $K^+$ , como, por exemplo, a cromacalina, a levocromacalina e o nicorandil e, conseqüentemente, aumentam o efluxo de  $K^+$  da célula (KNOT; BRAYDEN; NELSON, 1996).

Como o balanço entre os processos de contração e de relaxamento do músculo liso cavernoso regula os processos de flacidez e ereção peniana, qualquer desregulação em passos das vias de sinalização supracitadas pode comprometer a funcionalidade peniana e, dessa forma, contribuir para o desenvolvimento da DE.

### **2.3 Classificação e fisiopatologia da disfunção erétil**

No estado fisiológico, a função sexual masculina é descrita como um processo biopsicossocial que envolve a coordenação psicológica, endócrina, vascular e neurológica (PRIETO, 2008). Com base nessa informação, alterações em qualquer ponto desse eixo contribuem para o desenvolvimento da DE. A origem dessa doença é dividida em psicogênica, orgânica ou mista,

onde há a presença de ambos componentes psicológico e orgânico (YAFI et al., 2016).

A presença de fatores psicológicos que afetam a ereção peniana tem demonstrado a importância da avaliação e do gerenciamento dos fenômenos mentais e/ou sentimentais nos homens com DE. Os principais fatores psicogênicos relacionados a doença são o estresse, a depressão e a ansiedade, que culminam na redução da libido sexual ou no medo de falhar durante o ato sexual (MCCABE; ALTHOF, 2014). Antigamente, a origem da DE era considerada primariamente como psicológica, porém, atualmente é descrito que a maioria dos homens são acometidos da DE através de alterações orgânicas (THOMAS, 2002).

Dentre as causas orgânicas que levam ao desenvolvimento da DE, destacam-se a deficiência da sinalização através das inervações penianas, representando a DE neurogênica (BRACKETT et al., 2010); a redução dos níveis de testosterona, hormônio responsável por aumentar a expressão de eNOS, bem como reduzir a expressão de proteínas da via da RhoA/ROCK (LUGG et al., 1996; MILLS; LEWIS; STOPPER, 1998; SOPKO; HANNAN; BIVALACQUA, 2014), representando a DE endócrina; 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), representando a DE vasculogênica; utilização de medicamentos, como os anti-hipertensivos, os analgésicos opioides, os antiandrógenos e os antiulcerogênicos (FRANCIS et al., 2007; AVERSA et al., 2008). Contudo, é difícil definir se a DE resulta do efeito direto desses medicamentos ou da própria doença subjacente, por exemplo, a DE pode derivar da hipertensão arterial em detrimento do medicamento utilizado para o tratamento da mesma (YAFI et al., 2016), representando a DE medicamentosa.

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

A relação entre a obesidade e o desenvolvimento da DE decorre do aumento da hiper-responsividade a agonistas adrenérgico  $\alpha_1$  (ZEMEL et al., 1988); do aumento da expressão da NADPH oxidase e da diminuição da expressão das enzimas antioxidantes SOD, CAT e GPx (FURUKAWA et al., 2004); da redução da atividade da eNOS e da estimulação da produção de ROS (STEINBERG et al., 1997). Além disso, com o estresse oxidativo local, tem-se uma superprodução do ânion superóxido que reage com o NO levando a formação do peroxinitrito, com conseqüente redução da biodisponibilidade do NO (SILVA; CERCHIARO; HONÓRIO, 2011).

#### **2.4 Diagnóstico da disfunção erétil**

Os principais objetivos do diagnóstico da DE envolvem a determinação do desenvolvimento real da doença, com a finalidade de identificar a sua etiologia, reduzir os fatores de risco associados e prevenir os efeitos maléficos das doenças correlacionadas com a DE (GLINA; COHEN; VIEIRA, 2014).

A limitação para a realização do diagnóstico dessa doença decorre das implicações pessoais, interpessoais e sociais relacionadas a DE e, dessa forma, a avaliação do histórico sexual dos homens acometidos pela doença não é simplória. Com base nesse fato, foram padronizados e validados questionários que auxiliam na determinação do desenvolvimento real da DE e da gravidade da doença (ALTHOF et al., 2013). Dentre os mais utilizados na prática clínica, destaca-se o Índice Internacional de Função Erétil (IIFE), que possui 15 perguntas relacionadas a todas as fases da resposta sexual masculina, e o Inventário sobre a Saúde Sexual Masculina (SHIM), que apresenta cinco perguntas específicas sobre a DE (ROSEN et al., 1999; ROSEN; CAPPELLERI; GENDRANO, 2002).

A avaliação do histórico sexual do homem é extremamente importante para distinguir a DE de outras disfunções sexuais que são, geralmente, confundidas pelos pacientes, como a ejaculação precoce e a diminuição da libido (GLINA; COHEN; VIEIRA, 2014). Com essa análise, busca-se determinar se a doença é primária ou secundária a outras doenças ou processos cirúrgicos. Para isso, é verificada a presença de fatores de risco como o

diabetes, a hipertensão arterial, a realização de cirurgias pélvicas, os problemas psicológicos, a hipercolesterolemia, a obesidade, entre outros. Durante essa avaliação, recomenda-se a presença de parceiros sexuais para enriquecer o histórico e para fortalecer o relacionamento pessoal do casal (TAPSCOTT; HAKIM, 2013).

Adicionalmente, a avaliação física pode indicar a presença de comorbidades e expor dados relevantes para o diagnóstico correto da DE. Nesse contexto, os exames são direcionados para a busca de alterações nervosas, vasculares e do sistema genital. É testado o reflexo bulbocavernoso aliado a análise de déficit sensitivo e motor (GHANEM; SALONIA; MARTIN-MORALES, 2012). De maneira adicional, a avaliação local do pênis fornece informações sobre a presença de deformações penianas, placas de fibrose e meato uretral, que comprometem a ereção peniana, já a avaliação da posição e do tamanho dos testículos pode indicar alterações hormonais, como a redução dos níveis de testosterona (SHAMLOUL; GHANEM, 2013).

A avaliação laboratorial auxilia na determinação dos níveis hormonais e no diagnóstico de endocrinopatias que podem estar subjacentes a DE. Segundo a Sociedade Internacional de Medicina Sexual, deve ser quantificado a glicemia de jejum, os níveis de colesterol total e de suas frações, de triglicerídios e de testosterona (HATZICHRISTOU et al., 2010). Na maioria dos casos de DE, com base nas avaliações supracitadas, é possível diferenciar a etiologia da doença entre psicogênica ou orgânica e facilitar a escolha correta do tratamento da DE.

## **2.5 Tratamento da disfunção erétil**

O tratamento da DE é realizado de acordo com a avaliação clínica do paciente. No tratamento não farmacológico, o controle dos níveis glicêmicos, de colesterol e de triglicerídios, a redução da massa corporal, além da interrupção do uso do tabaco e do álcool, são modificações no estilo de vida que podem ser vitais na melhora da DE, especialmente em homens jovens (POLSKY et al., 2005; ARACKAL; BENEGAL, 2007; KUPELIAN; LINK; MCKINLAY, 2007; MAIORINO; BELLASTELLA; ESPOSITO, 2015).

Historicamente, as primeiras alternativas para o tratamento da DE consistiam em manejos cirúrgicos (EARDLEY et al., 2010). Porém, recentemente, a implantação de próteses penianas representa a terceira linha de tratamento para a DE. Após a realização desse procedimento cirúrgico, as alterações sobre os corpos cavernosos do pênis são irreversíveis. As próteses penianas podem ser maleáveis (semirrígidas) ou infláveis (TROST et al., 2013) e, apresentam a infecção como complicação mais pronunciada, uma vez que ocorre em 2-4% dos casos (SELPH; CARSON, 2011). Apesar de raras, existem outras intervenções cirúrgicas que contornam as problemáticas relacionadas a DE. Dentre elas, o *bypass* arterial quando há lesão de artérias penianas e a cirurgia de ligação venosa, que reduz o vazamento venoso congênito (SHAMLOUL; GHANEM, 2013).

Além disso, existem alternativas como a reposição hormonal para a restauração dos níveis de testosterona nos homens que têm diminuição de biodisponibilidade desse hormônio (JAIN; RADEMAKER; MCVARY, 2000) e os dispositivos de ereção a vácuo que auxiliam na transferência de sangue para os corpos cavernosos do pênis. O sangue é retido nesse local pela utilização de um elástico constritor na base do pênis (BOSSHARDT et al., 1995).

## **2.5.1 Tratamento medicamentoso da disfunção erétil**

### **2.5.1.1 Terapias intracavernosa e intrauretral**

Atualmente, representam a segunda linha de tratamento da DE e, apresentam como vantagens a rapidez para início, menos de 10 minutos, e a qualidade das ereções penianas, mesmo na ausência de estímulo sexual (SHAMLOUL; GHANEM, 2013). Nesse caso, o homem precisa receber treinamento prévio para poder aplicar a injeção intracavernosa ou posicionar o supositório intrauretral. Ademais, a indicação dessas terapias prioriza os pacientes que realizaram prostatectomia radical ou que não respondem as outras alternativas medicamentosas (TAL; TELOKEN; MULHALL, 2011).

As substâncias vasodilatadoras habitualmente utilizadas para induzir a ereção peniana são o alprostadil (Caverject®), a papaverina (Hypoverin®) e a



fentolamina (Vigamed®), de maneira isolada, ou em combinações de dois ou três delas, com altas taxas de sucesso terapêutico (90%) (HATZIMOURATIDIS; HATZICHRISTOU, 2005; PERIMENIS et al., 2006).

O alprostadil é a prostaglandina E<sub>1</sub> sintética, logo, ao se ligar a receptores EP<sub>2/4</sub> ativa a via de sinalização da AC, culminando no aumento da concentração intracelular de cAMP ([cAMP]<sub>i</sub>), que através de mecanismos descritos previamente, desencadeia o relaxamento dos corpos cavernosos do pênis e, conseqüentemente, a ereção peniana. Este é utilizado na terapia de injeção intracavernosa e como supositório para uso intrauretal (MORELAND et al., 2003).

A papaverina inibe de maneira não seletiva as enzimas PDEs e, com isso, ocorre aumento da [cAMP]<sub>i</sub> e da concentração intracelular de cGMP ([cGMP]<sub>i</sub>), tendo resultados similares ao observado com a utilização do alprostadil, entretanto, é utilizada apenas na terapia de injeção intracavernosa. Além dessas substâncias, a fentolamina, inibidora seletiva do receptor adrenérgico α<sub>1</sub>, previne a vasoconstrição conseqüente à ativação da via da PLCβ<sub>1</sub> e, diante disso, auxilia na ereção peniana. Essa substância é usada apenas na terapia de injeção intracavernosa (VIRAG et al., 1991).

O principal risco da utilização desses medicamentos é o priapismo, que consiste numa ereção peniana dolorosa e prolongada (superior a duas horas), independente do desejo sexual e decorrente da insuficiência na drenagem sanguínea peniana. Em casos de priapismo, indica-se o atendimento médico emergencial, a fim de realizar a aspiração do sangue dos corpos cavernosos, a aplicação da FEN, um agonista adrenérgico seletivo α<sub>1</sub>, que promove a vasoconstrição local por meio da ativação da via da PLCβ<sub>1</sub> e, em casos mais graves, a criação de *shunts* entre os corpos cavernosos e a glândula ou o corpo esponjoso através de procedimentos cirúrgicos (LINET; OGRINC, 1996).

### **2.5.1.2 Terapia sublingual**

Na terapia sublingual da DE, destaca-se a utilização da apomorfina (UPRIMA®), derivado sintético da morfina, que apresenta similaridades estruturais com a dopamina, sendo um agonista dopaminérgico não seletivo,

mas que apresenta afinidade superior pelos receptores *D<sub>2</sub>-like*. Em decorrência do controle central da ereção peniana ser comandado pela dopamina, ao ativar seus receptores, essa substância promove a ereção peniana, sem causar dependência (HULL et al., 1999).

O principal efeito colateral do uso terapêutico da apomorfina é a presença de náuseas em cerca de 7% dos pacientes (BROCK, 2002). Este efeito é associado a ativação de receptores do *D<sub>2</sub>-like* periféricos que diminuem a motilidade gástrica. Além disso, são relatados casos de êmese, cansaço, bocejos e tontura (THOMAS, 2002).

### 2.5.1.3 Terapia oral

A farmacoterapia primária para o tratamento da disfunção erétil envolve a utilização dos inibidores de PDE5, como a sildenafil (Viagra<sup>®</sup>), que é o protótipo do grupo, a tadalafila (Cialis<sup>®</sup>), a vardenafila (Levitra<sup>®</sup>) e a iodenafila (Helleva<sup>®</sup>). Mecanicamente, os inibidores de PDE5 aumentam a [cGMP]<sub>i</sub> e, dessa forma, iniciam a cascata de eventos intracelulares que resulta no relaxamento dos corpos cavernosos do pênis e promove a ereção peniana (LUE, 2000; CORBIN, 2004). Entretanto, a estimulação sexual prévia é imprescindível para aumentar os níveis intracelulares de NO e, conseqüentemente, para a geração do cGMP (YAFI et al., 2016).

Com o uso desses medicamentos há melhora na performance sexual dos homens, sem alteração da libido. Recentemente, a descoberta de que a utilização desses inibidores reduz o período refratário, tempo onde ocorre uma flacidez fisiológica temporária imediatamente após a ejaculação, promoveu um aumento da procura desses medicamentos por homens jovens e potentes (EKMEKÇIOĞLU et al., 2005; GRUENWALD; LEIBA; VARDI, 2009).

A utilização de inibidores de PDE5 deve ser realizada com cautela em paciente que apresentam comprometimento cardiovascular, como hipertensão arterial não controlada e angina instável (MORGANROTH et al., 2004). Ademais, o uso desses medicamentos é contraindicado em paciente usuários de nitratos, em virtude do aumento do risco de hipotensão grave (EARDLEY et al., 2010).

Os principais efeitos colaterais relacionados a terapia com os inibidores de PDE5 incluem dor de cabeça, congestão nasal e rubor facial. Adicionalmente, alterações visuais e auditivas, incluindo degeneração macular, neuropatia óptica isquêmica anterior, perda auditiva e zumbido são motivos recentes de precauções. Essas complicações parecem estar relacionadas com a ação inibitória leve desses medicamentos sobre a PDE6 (GIULIANO et al., 2010; YUAN et al., 2013; ZELEFSKY et al., 2014).

Apesar do grande sucesso terapêutico desses medicamentos, cerca de 30-40% dos homens acometidos da DE não respondem a essa primeira linha de tratamento (ALVES; VELLOSO, 2005; CODEVILLA; CASTILHOS; BERGOLD, 2013). Com base nessas informações, foram desenvolvidos diferentes modelos animais para o estudo da DE baseados nos principais fatores de risco para a doença, que são o envelhecimento, as lesões pélvicas e a obesidade (BRACKETT et al., 2010; EL-SACCA, 2007; LEWIS et al., 2010; SILVA; CERCHIARO; HONÓRIO, 2011).

## **2.6 Obesidade**

A obesidade é uma doença crônica, caracterizada pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo localizado em todo corpo, com graves dimensões sociais e psicológicas, que afeta praticamente todos os grupos etários e socioeconômicos (OMS, 2017a). Em decorrência dessas informações, é considerada o problema de saúde pública mais comum do século XXI nos países desenvolvidos e em desenvolvimento (PALOU et al., 2000; BOWERS et al., 2004).

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). Como o balanço energético corporal é mantido através de alterações na ingestão de calorias e no gasto energético, o prolongado balanço energético positivo, em que a ingestão excede o gasto, representa a causa mais comum para o desenvolvimento dessa doença (STEIN; COLDITZ, 2004). 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, conseqüentemente, dificultam a redução da adiposidade corporal (SPEAKMAN, 2004; BAHIA et al., 2012).

Na prática clínica cotidiana e para a avaliação em nível populacional, a classificação de sobrepeso e obesidade em adultos é realizada através da medida do índice de massa corpórea (IMC), representado pela razão entre o peso (expresso em kg) e o quadrado da estatura (expresso em m) (ABESO, 2016). 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), entretanto, o IMC não evidencia a distribuição do tecido adiposo corporal, 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 Brasil, tem-se utilizado a classificação de sobrepeso e obesidade proposta pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e baseada em padrões internacionais desenvolvidos para pessoas adultas descendentes de europeus (Tabela 1). Com base nessas medidas, os indivíduos são considerados com sobrepeso quando apresentam IMC na faixa de 25 a 29,9 kg/m<sup>2</sup> e obesos quando o IMC é igual ou superior a 30 kg/m<sup>2</sup> (ABESO, 2016).

**Tabela 1** – Classificação internacional da obesidade segundo o IMC que divide a adiposidade em graus ou classes.

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

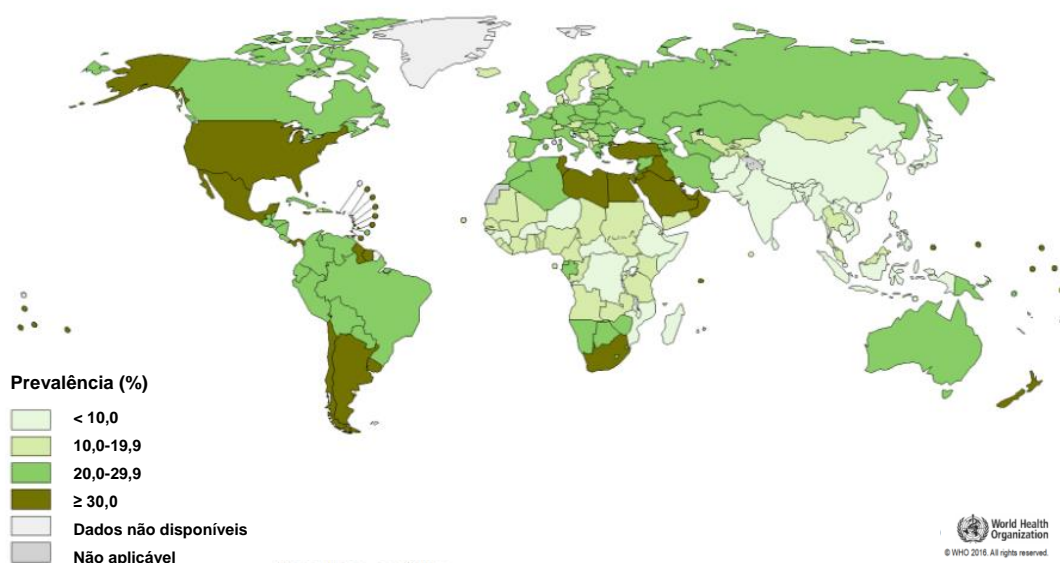
Fonte: ABESO, 2016.

De acordo com a OMS, no ano de 2014 mais de 1,9 bilhões de adultos apresentaram sobrepeso, e destes, mais de 600 milhões eram obesos. Além disso, observou-se elevação na obesidade infantil, com 41 milhões de crianças com idade inferior a cinco anos apresentando sobrepeso ou obesidade (OMS,

2016). Para 2025, a projeção mundial é de 2,3 bilhões de adultos com sobrepeso e mais de 700 milhões obesos (ABESO, 2016).

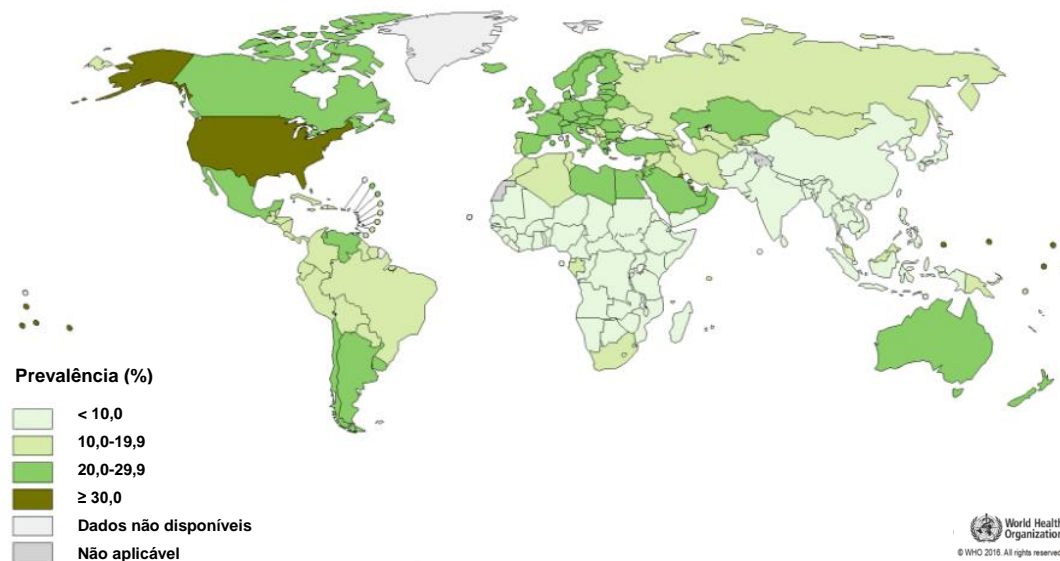
Em 2014, os dados expostos no observatório de saúde global demonstraram uma maior prevalência da obesidade nos Estados Unidos, Ilhas Cook, Palau, Micronesia, Samoa, entre outros. Segundo esses dados, no Brasil, as mulheres apresentaram prevalência da doença em torno de 24% e os homens de 17,1% (Figuras 8 e 9) (OMS, 2016).

**Figura 8** – Prevalência mundial de obesidade em mulheres adultas no ano de 2014.



Fonte: Adaptado de OMS, 2016.

**Figura 9** – Prevalência mundial de obesidade em homens adultos no ano de 2014.



Fonte: Adaptado de OMS, 2016.

Recentemente, a Pesquisa de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (Vigitel) realizada pelo Ministério da Saúde expôs resultados obtidos através de entrevistas realizadas, de fevereiro a dezembro de 2016, com aproximadamente 53 mil adultos das capitais brasileiras. Nessa pesquisa, destacaram-se as informações sobre o excesso de peso observado na população brasileira que passou de 42,6% em 2006 para 53,8% em 2016, sendo mais prevalente nos homens. Além disso, a obesidade aumentou com o avanço da idade e o número de brasileiros obesos passou de 11,8% em 2006 para 18,9% em 2016, não diferindo entre homens e mulheres. Dentre as capitais nordestinas, João Pessoa apresentou o maior percentual de adultos obesos (21,7%), superando a média nacional (18,9%) (BRASIL, 2017b).

Na vigitel foram elencadas algumas mudanças no hábito alimentar da população brasileira, como a redução no consumo regular de refrigerantes e sucos artificiais de 30,9% (2007) para 16,5% (2016), a queda no consumo de ingredientes considerados básicos e tradicionais como o feijão, que diminuiu de 67,5% em 2012 para 61,3% em 2016 e o aumento no consumo de frutas e hortaliças, em cinco dias da semana, que em 2008 era 33,0%, e em 2016, passou para 35,2%. Apesar de algumas alterações positivas, que podem indicar o início de uma nova transição alimentar, o Brasil permanece entre os países que apresentam elevada prevalência de obesidade (BRASIL, 2017b).

## **2.7 Determinantes fisiológicos do controle da ingestão alimentar**

O balanço energético no organismo é variável, uma vez que sofre influência do estilo de vida de cada indivíduo, somado a isso, existem interações com conjuntos específicos de genes de suscetibilidade, cujas variações determinam diferentes impactos fisiológicos (BOUTIN; FROGUEL, 2001).

Duas teorias sobre a evolução dos genes de suscetibilidade já foram descritas, a primeira hipótese é a do gene econômico, que relata que foram selecionados genes que determinam a alta eficiência na aquisição e/ou uso de energia, ao longo de milhões de anos, em populações humanas que passaram por períodos de escassez de alimentos (NEEL, 1962; PRENTICE;

RAYCO-SOLON, MOORE, 2005); já a segunda hipótese é a da derivação genética, que sugere que mutações ocorreram em decorrência da diminuição dos limites rígidos para manutenção da massa corporal causada pelo desaparecimento de predadores (SPEAKMAN, 2006).

Independente das predisposições genéticas, a ingestão de alimentos é regulada centralmente pelos fenômenos de apetite e saciedade, e depende da integração de sinais periféricos. Nesse circuito, neurônios localizados em diferentes regiões do hipotálamo (hipotálamo ventromedial ou lateral e núcleos arqueado e paraventricular) e em regiões extra-hipotalâmicas, incluindo o bulbo (núcleo do trato solitário), mesencéfalo (área tegmental ventral) e prosencéfalo (núcleo accumbens), estão associados ao equilíbrio energético em humanos (THALER et al., 2013).

As informações sensoriais relacionadas ao apetite proveniente da periferia são sinalizadas para o sistema nervoso central (SNC) através de hormônios circulantes e de nervos sensoriais, particularmente aferentes vagais. Os receptores para os sinais periféricos são expressos, principalmente, em dois conjuntos quimicamente distintos de neurônios localizados no núcleo arqueado (ARC), que expressam peptídeos orexígenos como o neuropeptídeo Y (NPY) e o peptídeo relacionado ao gene agouti (AgRP), conhecidos como neurônios NPY/AgRP; ou expressam peptídeos anorexígenos como o hormônio estimulante de melanócitos alfa ( $\alpha$ -MSH), um derivado da pró-opiomelanocotina (POMC), e o transcrito relacionado à anfetamina e à cocaína (CART), chamados neurônios POMC/CART. A ativação de neurônios orexígenos promove aumento da ingestão alimentar e diminuição do gasto energético, enquanto a ativação de neurônios anorexígenos promove efeitos contrários (BING et al., 1996; SCHWARTZ et al., 2000; BROBERGER, 2005; HUDA; WILDING; PINKNEY, 2006).

A presença de estímulos sensoriais, especialmente olfatórios, visuais e táteis e/ou o pensamento sobre os alimentos estimulam a fase cefálica da resposta integrada à refeição e, como consequência, ocorre aumento da estimulação parassimpática excitatória neural no trato gastrointestinal (TGI) e aumento da secreção salivar, de ácido gástrico e pancreático, além da secreção de grelina (MUNDINGER; CUMMINGS; TABORSKY JR, 2006).

A grelina, único hormônio periférico que apresenta efeito estimulante do apetite, é secretada pelas glândulas oxínticas presentes na mucosa gástrica e pelo intestino delgado (CUMMINGS et al., 2001; CUMMINGS, 2006). Ao se ligar ao seu receptor secretagogo de hormônio do crescimento (GSH-R) no ARC aumenta a atividade dos neurônios NPY/AgRP e, antagonicamente, inibe os neurônios POMC/CART a partir da liberação pré-sináptica do ácido gama-aminobutírico (GABA) (NAGAMINE et al., 2003; STANLEY et al., 2005), além disso, a grelina aumenta a liberação do hormônio do crescimento e a motilidade gástrica (KONTUREK et al., 2004). Adicionalmente, os níveis circulantes desse hormônio são reduzidos após a ingestão de nutrientes (TSCHÖP; SMILEY; HEIMAN, 2000).

Após o consumo alimentar, a saciedade gástrica ocorre primariamente pela distensão mecânica, enquanto a saciedade intestinal deriva da presença de diferentes nutrientes alimentares (POWLEY; PHILLIPS, 2004).

A colescistocinina (CCK), primeiro peptídeo intestinal que promove a saciedade descrito, é produzida pelas células I das mucosas intestinais duodenal e jejunal, bem como pelo cérebro e pelo sistema nervoso entérico. A CCK intestinal é secretada em resposta à presença luminal de lipídios e de proteínas (GEARY, 2004; RAYBOULD et al., 2006). Esse peptídeo inibe a ingestão alimentar, estimulando neurônios POMC/CART, e também induz as secreções pancreática e biliar, bem como a contração vesicular. Os seus receptores são expressos no TGI e no cérebro. O receptor CCK1, previamente conhecido como CCK-A (*alimentary*) predomina no TGI, enquanto o CCK2, descrito como CCK-B (*brain*) é majoritariamente expresso no SNC (REHFELD, 2004).

A inibição da ingestão alimentar também é estimulada pelo peptídeo tirosina-tirosina (PYY), produzido pelas células L do íleo e cólon em resposta à presença de lipídios e de carboidratos no lúmen (LIN; TAYLOR, 2004; DEGEN et al., 2005). Após a sua secreção na corrente sanguínea, os dois primeiros aminoácidos desse peptídeo são rapidamente clivados pela enzima dipeptidil peptidase 4 (DPP-4) e resulta no PYY<sub>3-36</sub> (EBERLEIN et al., 1989). No hipotálamo, o PYY<sub>3-36</sub> atua em receptores Y2, que são receptores



pré-sinápticos inibitórios expressos nos neurônios orexígenos (BATTERHAM et al., 2002).

Além do PYY, as células L intestinais secretam o peptídeo semelhante ao glucagon 1 (GLP-1) devido à presença luminal de lipídios e de carboidratos (BRUBAKER; ANINI, 2003). Esse peptídeo estimula a secreção de insulina e dificulta a secreção de glucagon (D'ALESSIO; PRIGEON; ENSINCK, 1995; RITZEL et al., 1995; SCHIRRA; GOKE, 2005), além disso, promove efeito anorexígeno. Os mecanismos responsáveis pela redução da ingestão alimentar não estão completamente esclarecidos, mas envolvem a ligação do GLP-1 ao seu receptor GLP-1R no hipotálamo, nervos aferentes vagais e/ou na área postrema, que ativa neurônios catecolaminérgicos com projeções para o núcleo do trato solitário (MERCHANTHALER; LANE; SHUGHRUE, 1999; YAMAMOTO et al., 2003). A sensação de saciedade promovida pelo GLP-1 também é associada à inibição do esvaziamento gástrico (VERDICH et al., 2001).

Após a absorção dos nutrientes presentes nos alimentos, outros hormônios como a leptina e a insulina se destacam no controle da ingestão alimentar. A leptina é uma proteína de 16 kDa, secretada principalmente pelo tecido adiposo branco (TAB), entretanto, outros órgãos produzem esse hormônio como o estômago, a placenta e o tecido adiposo marrom (TAM) (CINTI et al., 1997; MASUZAKI et al., 1997; BADO et al., 1998). São expressas cinco isoformas de receptores de leptina (Ob-Ra/e), mas apenas o Ob-Rb (forma longa) é responsável pela sinalização intracelular desse hormônio. O Ob-Rb pertence à família de receptor das citocinas e sua ativação inicia a cascata de sinalização da *Jannus* cinase 2 (JAK2), que fosforila resíduos de tirosina e culmina na ativação do transdutor de sinal e ativador de transcrição do tipo 3 (STAT3), que se desloca para o núcleo para estimular a transcrição gênica nos diversos núcleos hipotalâmicos que regulam a ingestão alimentar. A leptina ativa os neurônios POMC/CART e inibe os neurônios NPY/AgRP (VAISSE et al., 1996; TOUW et al., 2000).

A inibição de vias alternativas pela leptina, como a da cinase sensível a estímulos externos (ERK) e da cinase de fosfatidilinositol 3 (PI-3K) estimula o sistema nervoso simpático, favorecendo o aumento do gasto energético (TARTAGLIA et al., 1995; LEUNG; KWAN, 2008).

Como os níveis plasmáticos de leptina são correlacionados aos depósitos corporais de tecido adiposo, quanto maior reserva de tecido adiposo, mais leptina circulante, o que favorece a inibição dos neurônios NPY/AgRP (MAFFEI et al., 1995; JEQUIER; TAPPY, 1999). Entretanto, em indivíduos obesos é observada uma combinação de hiperleptinemia e hiperfagia, caracterizando um quadro de resistência central à leptina, atribuído a alterações no receptor e/ou deficiências no transporte desse hormônio pela barreira hematoencefálica (CONSIDINE et al., 1996; FLIER, 2004).

Semelhante ao observado para a leptina, os níveis plasmáticos de insulina são correlacionados positivamente com a adiposidade corporal (WOODS; SEELEY, 2001; PLUM; BELGARDT; BRUNING, 2006). Esse hormônio é produzido nas células beta pancreáticas e favorece a captação de glicose e redução da glicemia, o que representa um estímulo para o aumento do apetite (WOODS et al., 1998). Porém, a ação da insulina no ARC promove ativação de neurônios POMC/CART e inibição de neurônios NPY/AgRP, com resultado final de saciedade e aumento do gasto energético (WOODS; SEELEY, 2001; PLUM; BELGARDT; BRUNING, 2006).

Conforme descrito, o ARC responde a uma variedade de sinais enviados antes e após a alimentação e a sua capacidade de regular a ingestão de nutrientes depende de alvos existentes em outras áreas hipotalâmicas como o núcleo paraventricular (PVN) e a área hipotalâmica lateral (LHA) (BERTHOUD; MORRISON, 2008). Nesses locais, o  $\alpha$ -MSH se liga aos receptores de melanocortina do tipo 3 e 4 (MC3R e MC4R, respectivamente), diminuindo o fluxo simpático e o gasto energético, bem como o estímulo para consumo alimentar (HUSZAR et al., 1997; YASWEN et al., 1999; BUTLER et al., 2000; CONE, 2005).

Nesse contexto, a regulação central da ingestão alimentar depende da interação entre os neurônios orexígenos e anorexígenos presentes no ARC. Neurônios orexígenos expressam o AgRP, que é um antagonista endógeno da melanocortina (OLLMANN et al., 1997; BROBERGER et al., 1998; HAHN et al., 1998). Somado a isso, no corpo celular dos neurônios POMC/CART são expressos receptores Y1 do NPY e a ligação desse peptídeo ao seu receptor promove uma hiperpolarização de membrana nos neurônios anorexígenos.

Contudo, ainda não foi descrita uma inervação inibitória recíproca, o que demonstra uma interação assimétrica entre os neurônios do ARC que colabora para o aumento da ingestão alimentar, e pode ser considerado um fator que auxilia no desenvolvimento da obesidade, com conseqüente aumento de adiposidade corporal (ROSEBERRY et al., 2004).

## **2.8 Tecido adiposo**

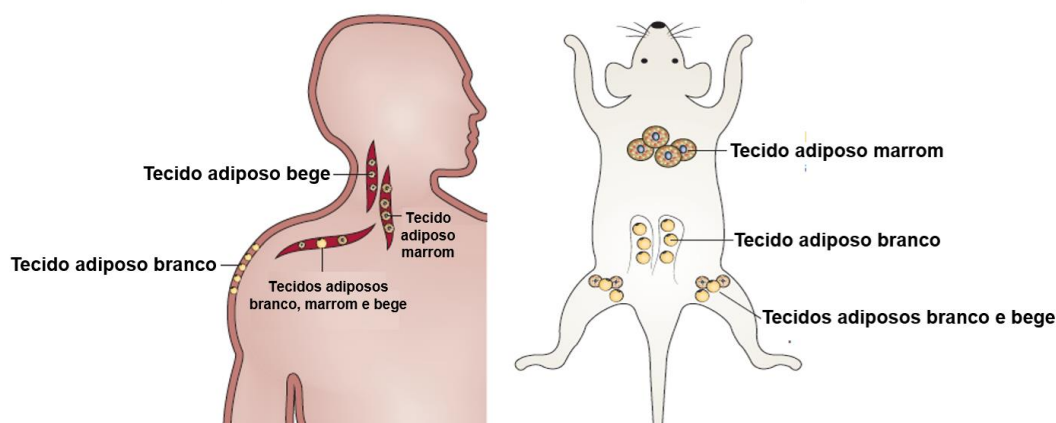
### **2.8.1 Características gerais do tecido adiposo**

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). Em mamíferos, ele não é homogêneo e se divide, classicamente, em TAB e TAM (SETHI; VIDAL-PUIG, 2007).

Os adipócitos do TAB são esféricos e variam em tamanho a depender da gotícula única de lipídio estocada neles, 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 (SAELY; GEIGER; DREXEL, 2010).

Além dos adipócitos, o TAB é composto por pré-adipócitos, células do sistema imune, tecidos conjuntivo, nervoso e vascular. Em humanos, esse tecido apresenta extensiva distribuição, envolve e/ou infiltra as regiões visceral e subcutânea, dessa forma, oferece proteção mecânica, reduzindo o impacto de pancadas (Figura 10) (BERNLOHR; JENKINS; BENNAARS, 2002; FONSECA-ALANIZ et al., 2007). Ademais, funciona como isolante térmico e desempenha um papel importante na manutenção da temperatura corporal (SAELY; GEIGER; DREXEL, 2010).

**Figura 10** – Localização dos tecidos adiposos branco, marrom e bege em humanos e roedores.



Fonte: Adaptado de BARTELT; HEEREN, 2014.

As principais funções do TAB são o armazenamento de energia na forma de triglicerídios e a sua liberação na forma de ácidos graxos livres (AGL) quando há demanda corporal, regulando os processos de lipogênese e lipólise (COELHO; OLIVEIRA; FERNANDES, 2013).

Por outro lado, menores que no TAB, os adipócitos do TAM são multiloculares e contêm diversas gotículas de lipídios de tamanhos diferenciados, um grande número de mitocôndrias 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. Dessa forma, a coloração marrom é atribuída a presença de muitas mitocôndrias e a vascularização do TAM (CINTI, 2009).

Por um longo período, acreditava-se que quantidades substanciais de TAM só eram encontradas 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. Entretanto, foi constatada a presença de TAM em um humano adulto após uma autópsia realizada em 1972 (HEATON, 1972). Apesar dessa informação, apenas em 2009 foi identificado TAM metabolicamente ativo nas regiões cervical e supraclavicular de humanos

adultos (Figura 10) (CYPESS et al., 2009; LICHTENBELT et al., 2009; VIRTANEN et al., 2009).

A função primordial do TAM é dissipar energia através da produção de calor, num processo chamado de termogênese sem tremor, principalmente, através da ativação de uma  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase presente na membrana mitocondrial interna (MEIS et al., 2006; MATTSON, 2010). Esse tecido também armazena energia na forma de triglicerídios, mas regularmente produz calor pela  $\beta$ -oxidação de AGL (BERNLOHR; JENKINS; BENNAARS, 2002; FONSECA ALANIZ et al., 2007; SAELY; GEIGER; DREXEL, 2010).

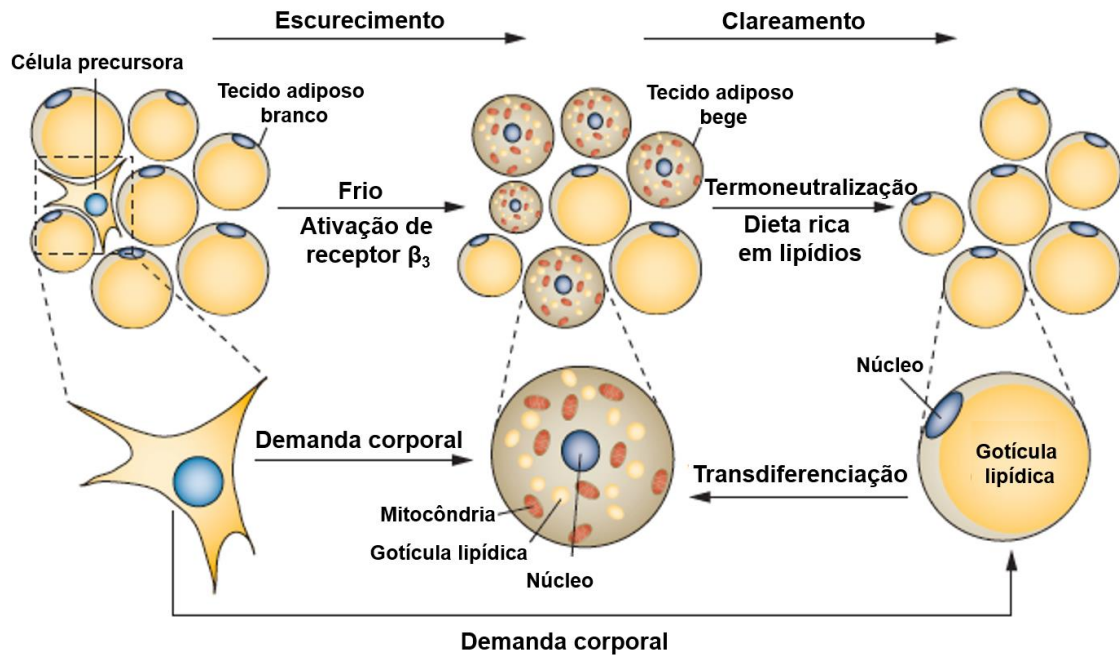
Recentemente, um tipo distinto de adipócito com potencial termogênico foi descrito, o adipócito bege, também conhecido como *brite* (*brown-in-white*) (KLINGENSPOR; HERZIG; PFEIFER, 2012; WU et al., 2012). Os adipócitos beges são multiloculares, expressam UCP-1 e já foram identificados em roedores e humanos (Figura 10) (BARTELT; HEEREN, 2014). 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  $\beta_3$ , mas, com o consumo de dietas com alto teor de lipídios e/ou a transneutralização há o clareamento dos adipócitos (Figura 11) (ROSENWALD et al., 2013; WHITTLE; RELAT-PARDO; VIDAL-PUIG, 2013).

Os adipócitos são considerados células de renovação lenta, e as alterações observadas na composição do tecido adiposo dependem do balanço entre os processos de adipogênese e apoptose (KISSEBAH; KRAKOWER, 1994; WAJCHENBERG, 2000). Em adultos, o número total de adipócitos é estático, pré-definido durante a infância e a adolescência e essas células possuem tempo médio de vida de 10 anos em adultos (SPALDING et al., 2008).

A expansão do TAB ocorre através do aumento no tamanho dos adipócitos existentes pelo acúmulo de lipídios, conhecido como hipertrofia, ou pelo aumento no número de adipócitos através do recrutamento de pré-adipócitos, processo chamado de hiperplasia (GRAY; VIDAL-PUIG, 2007). Na proliferação e diferenciação de pré-adipócitos, a ativação da proteína  $\alpha$

estimuladora de ligação a CCAAT (C/EBP $\alpha$ ) e do receptor ativador da proliferação de peroxissomos  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) coordena a expressão de genes adipogênicos (TONTONOV; HU; SPIEGELMAN, 1994; GREGOIRE; SMAS; SUL, 1998; FARMER, 2008).

**Figura 11** – Processo de formação do tecido adiposo bege.



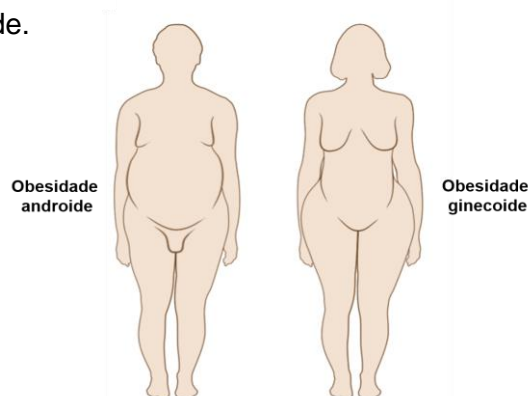
Fonte: Adaptado de BARTELT; HEEREN, 2014.

Diante dessas informações, a obesidade desenvolvida durante a infância e a adolescência possui um caráter hiperplásico, enquanto a obesidade adulta se caracteriza pela hipertrofia dos adipócitos brancos pré-existentes (KISSEBAH; KRAKOWER, 1994; WAJCHENBERG, 2000; KARELIS et al., 2004). De maneira interessante, foi demonstrado que a obesidade humana geralmente promove hipertrofia de adipócitos em reservas subcutâneas superiores, porém, hiperplasia em reservas inferiores (TCHOUKALOVA et al., 2010).

Dessa forma, na caracterização da obesidade é indicado observar a distribuição dos depósitos de tecido adiposo corporal, uma vez que, o seu acúmulo na porção superior do organismo (central ou abdominal), conhecido como obesidade androide, representa maior risco para o aparecimento de doenças metabólicas que o seu acúmulo na porção inferior do organismo (glúteos e coxas), conhecido como obesidade ginecoide ou ginoide (LAPIDUS

et al., 1984; LARSSON et al., 1984; OHLSON et al., 1985; DUCIMETIERE; RICHARD; CAMBIEN, 1986; DONAHUE et al., 1987). A obesidade androide (em forma de maçã) predomina em indivíduos do sexo masculino, enquanto a obesidade ginecoide (em forma de pêra) é mais comum em mulheres (Figura 12) (VAGUE, 1947; MARLISS, 2017).

**Figura 12** – Padrão de distribuição do tecido adiposo corporal nas obesidades androide e ginecoide.



Fonte: Adaptado de MARLISS, 2017.

### 2.8.2 O papel secretor do tecido adiposo

O interesse em estudar o TAB aumentou após a descoberta do seu papel secretor e, atualmente, ele é considerado um dos principais complexos endócrinos do organismo humano (SCHERER, 2006; ROSEN; SPIEGELMAN, 2014). Esse tecido secreta AGL durante o jejum, bem como a lipoproteína lipase (LPL) que cliva o triglicerídio circulante em AGL, posteriormente armazenado nos adipócitos (TRAYHURN; BEATTIE, 2001).

Outrossim, o TAB também secreta diversas moléculas que coletivamente são conhecidas como adipocinas. Dentre essas moléculas, destacam-se o fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) e as interleucinas 1 e 6 (IL-1 e IL-6, respectivamente), que são citocinas pró-inflamatórias; a proteína quimiotática de monócitos 1 (MCP-1/CCL2), uma quimiocina; o angiotensinogênio, regulador da pressão arterial; o inibidor do ativador do plasminogênio 1 (PAI-1), regulador da hemostasia; o fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF), que favorece a angiogênese e a leptina e a adiponectina, que regulam o balanço energético corporal (FRÜHBECK et al.,

2001; FONSECA-ALANIZ et al., 2006). A taxa de secreção dessas adipocinas está relacionada com a quantidade de lipídios estocados nos adipócitos e regula a atividade celular com a finalidade de manter o microambiente favorável para as alterações morfológicas do tecido adiposo (WAJCHENBERG, 2000; SMITH et al., 2001).

A adiponectina, apenas sintetizada pelos adipócitos, é a principal adipocina secretada pelo TAB. Esta circula na forma de trímero, hexâmero ou em uma estrutura de alto peso molecular e possui dois receptores, dos tipos 1 (AdipoR1) e 2 (AdipoR2). Na literatura, foi demonstrado que o músculo esquelético expressa elevados níveis dos dois tipos de receptores de adiponectina, e o fígado expressa o AdipoR2 (YAMAUCHI et al., 2003; PAJVANI et al., 2004; HOLLAND et al., 2011; YE; SCHERER, 2013). Essa adipocina aumenta a sensibilidade à insulina e também possui propriedades anti-apoptóticas e anti-inflamatórias (YE; SCHERER, 2013).

O desenvolvimento da obesidade favorece a secreção da MCP-1 por macrófagos residentes no TAB, o que resulta no recrutamento de monócitos circulantes e infiltração desse tecido, devido a produção de proteinases que degradam a matriz extracelular. As células imunes residentes nesse tecido e os monócitos recém-recrutados se tornam polarizados para os macrófagos pró-inflamatórios do tipo M1 (WEISBERG et al., 2003; LUMENG; BODZIN; SALTIEL, 2007; PATSOURIS et al., 2008), que secretam citocinas como o TNF- $\alpha$  e a IL-6, e mais quimiocinas, gerando um ciclo vicioso que contribui para a formação de um quadro de inflamação sistêmica (LUMENG; BODZIN; SALTIEL, 2007; STRISSEL et al., 2007).

Nesse contexto, outro fator importante que contribui para a ativação da resposta inflamatória na obesidade é a morte de adipócitos, que decorre da compressão dos vasos sanguíneos que irrigam o TAB, diminuindo o aporte adequado de oxigênio para esse tecido. Em resposta à hipóxia e morte celular, há o estímulo para a angiogênese e quimiotaxia de macrófagos (LOLMÈDE et al., 2003; NEELS; OLEFSKY, 2006). Assim, existe uma correlação entre o desenvolvimento da obesidade e de uma inflamação crônica de baixo grau (LUMENG; BODZIN; SALTIEL, 2007).



### 2.8.3 Tecido adiposo visceral vs. subcutâneo

As principais diferenças entre os tecidos adiposos visceral e subcutâneo se associam à síntese e à secreção de adipocinas. Nos depósitos viscerais, há elevada secreção de TNF- $\alpha$ , IL-6 e PAI-1, além disso, as adipocinas secretadas por esse tecido adiposo exercem efeitos sobre o metabolismo hepático, induzem resistência à insulina e inflamação sistêmica crônica (BAUMANN; GAULDIE, 1990; FERNANDEZ-REAL et al., 2001; FRAYN, 2002; RAVUSSIN; SMITH, 2002). Por sua vez, nos depósitos subcutâneos há uma maior concentração de leptina e de adiponectina que exercem maior efeito sobre o desenvolvimento e a função dos adipócitos locais (SOPASAKIS et al., 2004).

Ademais, estudos demonstraram que adipócitos grandes, mais encontrados no tecido adiposo visceral, se tornam resistentes à ação da insulina, secretam uma maior quantidade de citocinas pró-inflamatórias e são mais lipolíticos que os adipócitos pequenos (LE LAY et al., 2001; SOPASAKIS et al., 2004). Dessa forma, a composição do tecido adiposo, a proporção entre a população de adipócitos grandes e pequenos e a localização dessas reservas adiposas determinam a atividade metabólica específica desse tecido e a gravidade das alterações fisiológicas causadas pela obesidade (KUSMINSKI; BICKEL; SCHERER, 2016).

### 2.9 Comorbidades associadas ao desenvolvimento da obesidade

O impacto da obesidade sobre diferentes doenças crônicas elevou o interesse da população sobre o excesso da adiposidade corporal. As implicações dessa doença incluem um amplo espectro de comorbidades que variam de refluxo gastroesofágico, esôfago de Barrett, doença hepática gordurosa não alcoólica, dislipidemias, diabetes *mellitus* tipo 2, hipertensão arterial, síndrome metabólica, diversos tipos de câncer, doença de Alzheimer, asma, entre outros (CALLE; THUN, 2004; BRENNAN; KUMANYIKA; ZAMBRANA, 2014; NAM, 2017). Em função disso, observa-se uma redução na longevidade e qualidade de vida de grande parte dos indivíduos obesos (MELDRUM; MORRIS; GAMBONE, 2017).

Nesse contexto, a infertilidade é um importante fator decorrente da obesidade (CRAIG et al., 2017; SALAS-HUETOS; BULLÓ; SALAS-SALVADÓ, 2017). Fisiologicamente, o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal (HHG) promove a regulação da função reprodutiva através da conexão entre o hipotálamo, responsável pela produção do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) que, por sua vez, controla a síntese e liberação dos hormônios folículo estimulante (FSH) e luteinizante (LH) pela adeno-hipófise. Dessa forma, o GnRH estabelece a frequência pulsátil de liberação das gonadotrofinas, que atuam em gônadas femininas e masculinas e estimulam a produção de hormônios sexuais (LEGAN; KARSCH, 1975; FREEMAN; KNOBIL; NEILL, 1994).

Com base nessas informações, as alterações da obesidade sobre a fertilidade masculina ganharam destaque e contribuem em 45 a 50% das falhas para conseguir uma gravidez bem-sucedida (LAMB; LIPSHULTZ, 2000; ROWE, 2000). Apesar da causa dessa infertilidade não ser totalmente esclarecida, geralmente há uma combinação de desordens endócrinas, defeitos no processo de espermatogênese e na função erétil (FULLSTON et al., 2013; SOUBRY et al., 2013; MCPHERSON et al., 2014).

Diversos homens obesos apresentam hipogonadismo, que é correlacionado a redução na secreção cíclica de LH e na resposta dos testículos a esse hormônio (VERMEULEN et al., 1993). Nesses indivíduos, também há um aumento na expressão da enzima aromatase, que converte a testosterona à estrogênio, contribuindo assim para a redução dos níveis de testosterona e diminuição da libido (MENUCCI; BURMAN, 2013; MICHALAKIS et al., 2013). Em decorrência do aumento do tecido adiposo escrotal, há uma elevação na temperatura testicular, o que dificulta o processo de espermatogênese (SHAFIK; OLFAT, 1981; JUNG; SCHILL, 2000). Ademais, são observadas reduções na contagem, mobilidade e viabilidade dos espermatozoides (JENKINS et al., 2016). Adicionalmente, outra alteração que contribui para a redução da fertilidade nesses homens decorre da disfunção endotelial, que dificulta a ereção peniana (FELDMAN et al., 2000; BURNETT et al., 2009).

Recentemente, evidências epigenéticas sugerem que a memória metabólica da obesidade de um homem, no momento da concepção, pode ser transmitida diretamente para seus filhos através do seu esperma. Como exemplo, foram observadas alterações na metilação do ácido desoxirribonucleico (DNA) do gene do fator de crescimento semelhante a insulina do tipo 2, em recém-nascidos gerados por pais obesos, o que dificulta o crescimento fetal e favorece o nascimento de crianças pequenas para a idade gestacional (SOUBRY et al., 2013). Do ponto de vista da fertilidade masculina, a obesidade afeta as características do esperma, a embriogênese, a função erétil e até mesmo a saúde dos descendentes de homens obesos, demonstrando a importância de aprofundar os estudos sobre as alterações desencadeadas pelo excesso de massa corporal.

## **2.10 O estresse oxidativo na obesidade**

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. As ROS são sinalizadores em condições fisiológicas e, controlam processos de cicatrização, apoptose, manutenção do tônus muscular liso, entre outros (MCMURRAY; PATTEN; HARPER, 2016).

Adicionalmente, as ROS incluem diversos radicais livres, como o ânion superóxido ( $O_2^-$ ) e os radicais hidroxila ( $OH^\cdot$ ), bem como derivados de oxigênio não radicalares, como o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), o ácido hipocloroso (HClO), o peroxinitrito ( $ONOO^-$ ) e o ozônio ( $O_3$ ) (HALLIWELL, 2006; HALLIWELL, 2007).

Um desequilíbrio resultante da produção excessiva de ROS pode danificar proteínas, lipídios, DNA e outros componentes celulares (FINKEL; HOLBROOK, 2000; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015). 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 dioxigenase e a monoamina oxidase (MATSUZAWA-NAGATA et al., 2008; MATSUDA; SHIMOMURA, 2013).

Ainda nesse contexto, o complexo enzimático da nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida (NADPH) oxidase inicia a cascata de reações oxidativas ao produzir o  $O_2^-$  (LIU et al., 2012; SILVA et al., 2013). 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). Adicionalmente, o  $O_2^-$  pode reagir com o NO para formar o  $ONOO^-$ , fato que reduz a biodisponibilidade do NO e resulta em disfunção endotelial (CHRISTODOULOU et al., 1996; NANGLE; COTTER; CAMERON, 2004).

Na obesidade, há a formação adicional de  $O_2^-$  em função do desacoplamento da sintase do óxido nítrico endotelial (eNOS), que ocorre quando há redução no substrato e/ou no cofator dessa enzima (FÖRSTERMANN; SESSA, 2011; JOHNSON et al., 2011). O  $ONOO^-$  pode oxidar o cofator tetrahydrobiopterina impedindo o funcionamento correto da eNOS, bem como pode haver redução da L-arginina, substrato da enzima, em função do aumento da expressão e/ou da atividade da enzima arginase (TOQUE et al., 2011; FRAGA-SILVA et al., 2014).

Com a finalidade de conter a formação dessas ROS, o organismo apresenta sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, e ambos desempenham papel fundamental na prevenção da oxidação resultante da ação das ROS (BROINIZI et al., 2008). O sistema antioxidante enzimático engloba a superóxido dismutase (SOD), as glutatona 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).

O sistema não enzimático envolve um grupo de antioxidantes que podem ser complexados em compostos produzidos *in vivo*, como é o caso da glutatona, da ubiquinona e do ácido úrico, e em compostos obtidos diretamente da dieta tais como o  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E), o  $\beta$ -caroteno, o ácido

ascórbico (vitamina C) e compostos fenólicos como os flavonoides (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007; SAMPAIO; MORAES, 2010). Diante dessas informações, alterações no balanço entre o estresse oxidativo e as defesas antioxidantes corporais, com uma predominância de ROS, eleva a probabilidade de alterações fisiológicas.

### **2.11 Modelos experimentais para o estudo da obesidade**

Atualmente, existem diversos modelos que desenvolvem a obesidade em animais a partir de mutações genéticas, porém, a maioria de casos de obesidade humana são, no entanto, considerados poligênicos, resultado da integração de vários genes. Dessa forma, ao analisar a gênese da obesidade em humanos, a indução dessa doença em animais através do consumo de alimentos altamente palatáveis e com alto valor energético é indicada como o mais apropriado (LUTZ; WOODS, 2012).

Na literatura, os modelos de indução da obesidade em animais são divididos em categorias, sendo baseadas em mutações ou manipulações de genes individuais ou em animais geneticamente intactos que são expostos a ambientes ou situações obesogênicas, como lesões neurais ou ingestão de dietas hipercalóricas (VON DIEMEN; TRINDADE; TRINDADE, 2006; NILSSON et al., 2012).

A maioria dos animais utilizados no estudo da obesidade são pequenos roedores (ratos ou camundongos), porém a maioria dos mamíferos é propícia a desenvolver essa doença quando mantidos em pequenos recintos e expostos a quantidades exacerbadas de alimentos calóricos, como em zoológicos. Diante disso, a escolha do modelo animal ideal para a investigação depende dos objetivos de cada estudo. Nesse caso, estudos com alterações dietéticas simulam melhor a obesidade e suas comorbidades evidenciadas em humanos, enquanto isso, os modelos transgênicos ou com mutações espontâneas podem ser utilizados para explorar molecularmente as vias fisiológicas responsáveis pelo controle da ingestão alimentar e seu papel na obesidade, assim como, na avaliação de alvos e/ou vias específicas para novos tratamentos (SPEAKMAN et al., 2007; LUTZ; WOODS, 2012).

### 2.11.1 Modelos experimentais dietéticos para o estudo da obesidade

As mudanças na alimentação humana e a elevação na prevalência da obesidade global aumentaram o interesse em desenvolver modelos para indução de obesidade em animais com alteração no consumo alimentar, uma vez que, em comparação com os modelos monogênicos de indução da doença, o aumento gradual da massa corporal dos animais se assemelha ao que ocorre com a maior parte da população humana como consequência de um balanço energético positivo ao longo dos anos (BARRETT; MERCER; MORGAN, 2016).

Apesar dos avanços com a utilização de dietas para indução da obesidade os animais de laboratório, não existe uma dieta única e padronizada para todos os estudos. Atualmente, observa-se a mudança na oferta de uma dieta de densidade energética relativamente baixa, que possui pouca quantidade de lipídios e carboidratos, para uma que possui alta densidade energética e é rica nesses macronutrientes, visando o desenvolvimento da obesidade animal (BUETTNER; SCHÖLMERICH; BOLLHEIMER, 2007). Os principais animais utilizados nesses processos são os camundongos C57BL6/J e os ratos das linhagens Wistar, Sprague-Dawley, Long Evans e Osborne Mendel (SCHEMMELE; MICKELSEN; MOTAWI, 1972; SURWIT et al., 1995; MARQUES et al., 2016).

Algumas recomendações facilitam a instalação do quadro de obesidade nos animais, como a elevação da temperatura do ambiente e alterações no ciclo claro-escuro. Nesse contexto, o aumento da temperatura local diminui o gasto energético dos animais e, como os roedores possuem hábitos noturnos, o aumento do período escuro favorece a ingestão alimentar dos animais por um tempo prolongado (TSCHÖP; HEIMAN, 2001).

As desvantagens da utilização desse modelo para a indução da obesidade se referem a inconsistência e a irreprodutibilidade das metodologias. As dietas variam na composição de macro- e micronutrientes, na densidade energética, consistência, sabor e palatabilidade, o que resulta em diferenças na ingestão alimentar, na composição corporal e na evolução ponderal dos animais (BUETTNER; SCHÖLMERICH; BOLLHEIMER, 2007; MERCER; ARCHER, 2008). Apesar dessas limitações, diferentes estudos utilizando o

consumo de alimentos calóricos com a finalidade de indução da obesidade têm auxiliado nos avanços científicos na área (SPEAKMAN et al., 2007; BARRETT; MERCER; MORGAN, 2016).

Historicamente, a primeira indução de obesidade em ratos com alteração alimentar foi realizada em 1949, com a utilização de uma dieta palatável semi-líquida (INGLE, 1949). Em 1953, foi introduzido o termo obesidade nutricional no estudo que demonstrou que o consumo de uma dieta hiperlipídica (50% de lipídios/valor energético total (VET)) por camundongos recém-desmamados desenvolveu a doença nos animais (FENTON; DOWLING, 1953).

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).

Diante dessas informações, dietas que alteram a composição nutricional descrita na AIN-93 podem levar ao desenvolvimento da obesidade. Dessa forma, destaca-se a utilização das dietas denominadas de “cafeteria” e “ocidentalizada” para a indução dessa doença em animais. A principal diferença entre esses tipos de dietas experimentais é a forma de exposição do alimento aos animais, sendo adicionados alimentos na sua forma *in natura* na dieta de “cafeteria”, como biscoitos, linguiça, chocolate, entre outros; entretanto, na dieta “ocidentalizada”, os alimentos ou seus componentes são utilizados para o preparo da dieta na forma de *pellets* (NILSSON et al., 2012; BARRETT; MERCER; MORGAN, 2016).

A dieta de cafeteria oferta alimentos altamente palatável aos animais, entretanto, a dificuldade em padronizar a composição nutricional, a variação na escolha dos alimentos consumidos pelos animais e a dificuldade em calcular a

ingestão energética total têm diminuído o uso dessa metodologia nos estudos científicos (SCLAFANI; SPRINGER, 1976; MOORE, 1987; ROTHWELL; STOCK, 1988; BARRETT; MERCER; MORGAN, 2016).

As dietas modernas contêm altos teores de lipídios e carboidratos, como frutose e sacarose, além de elevados níveis de NaCl e baixo teor de fibras. Dessa forma, são referidas como dietas ocidentalizadas, hiperlipídicas ou hipercalóricas, a depender da composição nutricional. A diferença no percentual desses macronutrientes, bem como a variação na fonte dos lipídios e dos carboidratos gera uma elevada diferença final no fenótipo da obesidade (NILSSON et al., 2012).

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 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).

Nesse sentido, o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas para o tratamento das comorbidades associadas ao consumo das diferentes dietas experimentais, dentre elas, destacando-se atualmente, a disfunção erétil, foi favorecido pela etnofarmacologia, uma vez que, as substâncias de origem natural com atividade eretogênica ainda despertam a curiosidade e o interesse de pacientes e pesquisadores (DREWES; GEORGE; KHAN, 2003). Além disso, vários indivíduos admitem preferência por produtos de origem natural no tratamento da DE, estimulando a busca por novas alternativas terapêuticas (SPERLING et al., 2002).

## **2.12 Produtos naturais marinhos**

Como a natureza tem servido como fonte de medicamentos por milênios, muitas drogas foram desenvolvidas a partir de produtos naturais (CRAGG; NEWMAN, 2013). Atualmente, destacam-se os estudos com produtos



marinhos, que até os anos 50 escaparam do interesse dos cientistas de produtos naturais, principalmente devido ao difícil acesso às suas profundidades. De fato, não há histórico significativo da utilização dos produtos naturais de origem marinha 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).

Os oceanos representam uma importante fonte de organismos, e por cobrir mais de 70% da superfície terrestre, 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, e concluiu que potencialmente mais de 90% das espécies marinhas permanecem não descritas pela ciência (SNELGROVE, 2016). Apesar disso, em 2012 foram listados 1.003 novos compostos isolados de organismos marinhos (BLUNT et al., 2014).

O interesse por estudar os oceanos reside no fato de que o ecossistema marinho possui características físico-químicas particulares, pois fatores como luminosidade, profundidade, temperatura, pressão, pH, entre outros, conferem-lhe condições ambientais inigualáveis. 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).

Nesse sentido, diversas atividades farmacológicas foram descritas para produtos de origem marinha, tais como, ação anti-inflamatória inibidora da ciclooxigenase do tipo 2 (COX2), induzida por cembranoides isolados de corais da espécie *Lobophytum crassum* (CHAO et al., 2008); ação hipoglicêmica por inibição da tirosina fosfatase 1B, promovida pelos éteres pentabromodifenílicos isolados da esponja *Lamellodysidea herbacea* (YAMAZAKI et al., 2013); ação antitrombótica por inibição do receptor da trombina, desencadeado por dissacarídeos encontrados na esponja *Erylus formosus* (STEAD et al., 2000); ação antioxidante em função do sequestro de radicais livres pela astaxantina, carotenoide extraído da microalga *Haematococcus pluvialis* (RICCIONI et al., 2011); ação anti-hipertensiva em decorrência da inibição da síntese de TXA<sub>2</sub>, promovida pela fucoxantina, carotenoide extraído da microalga *Undaria pinnatifida* (RICCIONI et al., 2011); atividade vasorrelaxante por modulação da via do NO pela alga *Spirulina maxima* (JUARÉZ-OROPEZA et al., 2009), entre outras.

Adicionalmente, várias substâncias que estão atualmente em ensaios clínicos apontam a aplicação potencial de produtos naturais marinhos para inibição da dor (MOLINSKI et al., 2009), câncer (SCHUMACHER et al., 2011), tratamento de herpes simples (VO et al., 2011) e asma (FENICAL, 2006).

Apesar do histórico dos nucleosídeos, identificados a partir de esponjas marinhas e que surgiram como uma grande promessa na década de 1950 e inspiraram medicamentos sintéticos aprovados pela Administração de Alimentos e Medicamentos (FDA) dos Estados Unidos, como a citarabina (MARTINS et al., 2014), apenas sete medicamentos derivados de organismos marinhos foram aprovados para uso populacional (MAYER et al., 2010). Destacando-se o Prial<sup>®</sup>, primeiro medicamento de origem marinha, aprovado para venda em 2004, e que é utilizado para o tratamento da dor crônica e produzido a partir de uma neurotoxina obtida de caracol marinho (MOLINSKI et al., 2009; MAYER et al., 2010).

Além dos medicamentos, os produtos nutracêuticos, os alimentos, os biocombustíveis, os biocatalisadores (enzimas) e os cosméticos podem ser originados a partir de organismos marinhos. Dentre essas categorias, os medicamentos aprovados, apesar de mais citados na literatura, representam a

menor linha de produção de bioprospecção marinha até o momento (FLETCHER et al., 1988; MOCZ, 2007; TRINCONE, 2013; WEI; QUARTERMAN; JIN, 2013). Em contraste, os organismos marinhos já produziram uma gama de produtos nutracêuticos e alimentos funcionais benéficos para a saúde da população (KIM, 2013).

### **2.13 *Spirulina platensis***

A *Spirulina platensis*, também conhecida como *Arthrospira platensis*, é uma alga verde-azulada de forma helicoidal com comprimento de 0,2 a 0,5 mm encontrada nos oceanos, nos rios e nos lagos de água doce. Em sua composição, a *S. platensis* apresenta alto teor de proteínas (65 a 70% do seu peso seco) e todos os aminoácidos essenciais, é uma fonte rica em vitamina B12, minerais, ácidos graxos essenciais, 15% de carboidratos complexos (MAZO; GMOSHINSKII; ZILOVA, 2004; ASMATHUNISHA; KATHIREZAN, 2012), além dos pigmentos fotossintéticos que apresentam uma variedade de atividades farmacológicas (MARLES et al., 2011; ASMATHUNISHA; KATHIREZAN, 2012; KU et al., 2013).

Essa alga é cultivada ao redor do mundo devido a sua fácil adaptação aos ambientes, crescendo mesmo em condições de salinidade extremas (CIFERRI et al., 1983; CHAMORRO et al., 1996). Atualmente, é usada como suplemento alimentar para consumo humano e para aquicultura (TANG; SUTER, 2011; BISHOP; ZUBECK, 2012; HOLMAN; MALAU-ADULI, 2013). Apesar disso, 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. Com isso, a *S. platensis* tem sido 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).

Diferentes estudos demonstraram que a utilização da *S. platensis* não foi associada a toxicidade crônica ou subcrônica, mutagenicidade, teratogenicidade em ratos ou a efeitos adversos na reprodução ou lactação de ratas. Nenhuma diferença no peso dos órgãos ou anomalias histológicas foram atribuídas ao consumo alimentar da alga por ratos e camundongos. Além disso, em testes realizados para a detecção de alergias dermatológicas não foram observados sinais de edemas ou eritemas 24 horas após a aplicação da alga, nem duas semanas após essa exposição (SALAZAR et al., 1998; MORAIS; MIRANDA; COSTA, 2006; AMBROSI et al., 2008).

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).

Em sua composição, cerca de 65 a 70% do peso seco se refere a proteínas, sendo esse teor, superior ao encontrado em carne de peixe (15-20%), sementes de soja (35%), ovos (12%), cereais (8-14%) e leite integral (3%). De maneira similar, apresenta percentual de aminoácidos superior àquelas encontradas em verduras, cereais e sementes (HENRIKSON, 1994).

Quanto ao conteúdo de ácidos graxos, a *S. platensis* apresenta ômega 3, ômega 6, ácido linoleico, ácido  $\gamma$ -linoleico, ácido eicosapentaenoico e ácido docosahexaenoico em sua composição (RADMANN; COSTA, 2009; JESUS RAPOSO; MORAES; MORAES, 2013). 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).

A presença de pigmentos, destacando-se a ficocianina que corresponde a 20% do peso seco da alga, eleva a capacidade antioxidante da *S. platensis*, 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). Além disso, a presença de clorofila e carotenoides, como o  $\beta$ -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).

Ademais, a *S. platensis* possui vitaminas, como as vitaminas do complexo B e a vitamina E, que são potentes antioxidantes (CUVELIER, 2001), e minerais, entre eles o cálcio, o fósforo, o magnésio, o ferro, o zinco, o cobre, o cromo, o manganês, o sódio e o potássio, sendo que os principais são o cálcio (1,3 a 1,4 g/kg de *S. platensis*), o fósforo (6,7 a 9,0 g/kg de *S. platensis*) e o potássio (6,4 a 15,4 g/kg de *S. platensis*) (HENRIKSON, 1994).

Além da importância nutricional, diferentes atividades biológicas e farmacológicas foram descritas em estudos não clínicos e clínicos para a *S. platensis* destacando: inibição do apetite e redução da massa corporal em indivíduos obesos, sem detalhes sobre o mecanismo de ação da alga (BECKER et al., 1986; ZEINALIAN et al., 2017); diminuição da concentração plasmática de triglicerídios e lipoproteínas de baixa densidade em pacientes com síndrome nefrótica hiperlipidêmica (SAMUELS; MANI; NAYAK, 2002) ou com doença hepática gordurosa não alcoólica (MAZOKOPAKIS et al., 2014) e em ratos alimentados com dieta hipercolesterolêmica (NAGAOKA et al., 2005); preservação da microbiota intestinal saudável por favorecer o crescimento de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (KULSHRESHTHA et al., 2008); atividade antifúngica contra *Aspergillus oryzae* (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 lipopolissacarídeo através da inibição da translocação nuclear do NF- $\kappa$ B (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); 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) e redução das reservas adiposas e restauração da reatividade contrátil intestinal em ratos Wistar alimentados com dieta hipercalórica (FERREIRA, 2017).

Com base nessas informações, evidencia-se um papel promissor para a *S. platensis* na redução da massa corporal em indivíduos e ratos, 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 prevenção da DE, do ponto de vista da reatividade muscular lisa cavernosa, sendo necessários estudos para evidenciar o potencial efeito protetor da *S. platensis* sobre as alterações na adiposidade corporal e na função sexual masculina de ratos alimentados com dieta hipercalórica.

Dessa forma, modelos experimentais de obesidade se apresentam como uma forma viável de se investigar disfunções orgânicas induzidas pelo excesso de massa corporal, como a disfunção erétil, e sabendo que a alga promove efeitos benéficos em modelos de músculo liso intestinal e vascular, levantou-se a hipótese de que o consumo da dieta hipercalórica potencializa a reatividade contrátil e atenua a reatividade relaxante cavernosa de rato Wistar, e que a suplementação alimentar com *S. platensis* modula positivamente a funcionalidade do corpo cavernoso de rato.



**3 Objetivos**

### 3.1 Geral

Avaliar o efeito da suplementação alimentar com *Spirulina platensis* sobre os parâmetros nutricionais e morfométricos, a função erétil, a reatividade contrátil e relaxante do músculo liso cavernoso e o estresse oxidativo em ratos Wistar alimentados com dietas padrão ou hipercalórica.

### 3.2 Específicos

3.2.1 Investigar o efeito da suplementação alimentar com *S. platensis* em ratos que consumiram dietas padrão ou hipercalórica sobre:

3.2.1.1 A ingestão alimentar e a evolução ponderal;

3.2.1.2 Os parâmetros murinométricos, bioquímicos e a adiposidade corporal;

3.2.2 Avaliar o efeito da suplementação alimentar com a alga em ratos alimentados com dieta padrão, bem como o efeito preventivo dessa suplementação em ratos alimentados com dieta hipercalórica sobre:

3.2.2.1 A função erétil;

3.2.2.2 A reatividade contrátil do corpo cavernoso;

3.2.2.2.1 O envolvimento das vias da RhoA/ROCK, do NO e da COX na resposta contrátil do corpo cavernoso;

3.2.2.3 A reatividade relaxante do corpo cavernoso;

3.2.2.3.1 O envolvimento do estresse oxidativo na resposta relaxante do corpo cavernoso;

3.2.2.4 O estresse oxidativo no plasma, nos tecidos adiposos epididimal, retroperitoneal e inguinal e no corpo cavernoso.





## **4 Material e métodos**

## 4.1 Material

### 4.1.1 Produto-teste

A *Spirulina platensis* foi adquirida do laboratório Dongtai Spirulina Bio-engineering Co.,Ltd (Nanjing, China) na forma de pó (lote nº 2014007, Anexo A). Uma amostra foi analisada pelo Laboratório de Controle de Qualidade Galena Quimica e Farmaceutica Ltda (lote nº 1504023402, Anexo B) para a certificação de que o material era *S. platensis* e comercializada pela Dilecta Farmácia de Manipulação e Homeopatia (João Pessoa, Paraíba, Brasil) (lote nº 2014007).

### 4.1.2 Animais

Os ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), com oito semanas de idade pesando aproximadamente 160 g, eram 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 ( $21 \pm 1$  °C) controladas e constantes, submetidos diariamente a um ciclo claro-escuro de 12 h, sendo o período claro das 6 às 18h00. 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 0201/14 (Anexos C e D). Foram utilizados 150 ratos Wistar para a realização dos procedimentos experimentais.

### 4.1.3 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 ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), a glicose ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ) e o formaldeído foram

adquiridos da Vetec (Brasil). O bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ) foi adquirido da Fmaia (Brasil). O cloreto de sódio ( $\text{NaCl}$ ) e o cloreto de potássio ( $\text{KCl}$ ) foram adquiridos da Química Moderna (Brasil). O fosfato de potássio monobásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), o fosfato de sódio monobásico ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ), o hidróxido de sódio ( $\text{NaOH}$ ) e o ácido clorídrico ( $\text{HCl}$ ) 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. O formaldeído foi utilizado para conservar as amostras de tecidos utilizadas para cortes histológicos.

A FEN foi adquirida da Pfizer (EUA). A ACh, o nitroprussiato de sódio (NPS), a R-(-)-apomorfina, o N $\omega$ -nitro-L-arginina metil éster (L-NAME), a indometacina, o tempol, a apocinina, o ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), a eosina, a hematoxilina de Mayer, o MDA, o 1,1-difenil-2-picril hidrazil (DPPH), o metano hidroximetilamina (tris), o fenil-metil-sulfonil fluoreto (PMSF), a aprotinina, o ditiotretol (DTT), o tween 20 e a albumina foram adquiridos da Sigma Aldrich (Brasil). O di-hidrocloreto de (R-(+)-trans-4-(1-aminoetil)-N-(4-piridil) ciclo-hexanocarboxamida (Y27632) foi adquirido da Cayman Chemical (Brasil). As substâncias utilizadas nos experimentos funcionais eram dissolvidas e diluídas em água destilada, exceto a indometacina, a apocinina e o Y27632 que eram dissolvidos em álcool absoluto (96 °GL) para obtenção de cada solução-estoque, as quais eram mantidas a 4 ou -20 °C.

Todos os reagentes utilizados na eletroforese em gel de poliacrilamida contendo sódio dodecil sulfato (SDS-PAGE), o reagente de Bradford, o tampão de Laemmli, o triton X-100, o pirofosfato de sódio, o fluoreto de sódio e o ortovanadato de sódio foram adquiridos da Bio-Rad (EUA). A membrana de nitrocelulose e os *kits* para detecção de quimioluminescência foram adquiridos da Amersham (GB). O anticorpo anti-ERK (K-23, sc-94) foi adquirido da Santa Cruz Biotechnology (EUA) e o anticorpo secundário biotilado de cabra anticoelho foi adquirido da Vector Laboratories (EUA).

A mistura carbogênica (95% de  $\text{O}_2$  e 5% de  $\text{CO}_2$ ) foi adquirida da White Martins (Brasil).

#### 4.1.4 Dietas experimentais

Era utilizada uma dieta padrão do tipo *pellets* (Presence®) contendo 23% de proteína, 63% de carboidrato e 4% de lipídio com VET de 380,0 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 milho na proporção de 3:2:2:1. 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 13) e armazenado a temperatura ambiente. A dieta era preparada semanalmente e ofertada aos ratos na forma de *pellets* (ESTADELLA et al., 2004).

**Figura 13** – 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 da dieta hipercalórica (Tabela 2) foi realizada no Laboratório de Bioquímica e Microbiologia de Alimentos do

Departamento de Nutrição da UFPB (LATIMER, 2012), sob supervisão da Profa. Dra. Leylliane de Fátima Leal Interaminense de Andrade (SOUZA et al., 2017).

**Tabela 2** – Composição centesimal da dieta hipercalórica.

Parâmetros	Média $\pm$ e.p.m.
Umidade (%)	10,5 $\pm$ 0,003
Cinzas (%)	4,6 $\pm$ 0,05
Carboidratos (%)	45,5 $\pm$ 0,02
Proteínas (%)	22,8 $\pm$ 0,01
Lipídios (%)	16,0 $\pm$ 0,02
VET (kcal/100 g)	417,0 $\pm$ 0,001

VET = valor energético total.

Fonte: SOUZA et al., 2017.

#### 4.1.5 Soluções

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 (Tabela 3):

**Tabela 3** – Composição da solução de Krebs.

Composição	Concentração (mM)
NaCl	118,4
KCl	4,7
MgSO <sub>4</sub>	1,2
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,17
CaCl <sub>2</sub>	2,5
NaHCO <sub>3</sub>	25,0
Glicose	5,6

Fonte: CLAUDINO et al., 2004.

As amostras para procedimentos histológicos eram conservadas em solução de formaldeído tamponado (10%) com a seguinte composição: formaldeído (1:10 v/v), NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (0,04:10 m/v), Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (0,005:10 m/v) e H<sub>2</sub>O (9:10 v/v).

As amostras para separação em eletroforese eram extraídas em tampão contendo a seguinte composição: triton X-100 1%, tris 100 mM (pH 7,4), pirofosfato de sódio 100 mM, fluoreto de sódio 100 mM, EDTA 10 mM, ortovanadato de sódio 10 mM, PMSF 2 mM e aprotinina 0,01 mg/mL.

Para o bloqueio de ligações inespecíficas de proteínas à membrana de nitrocelulose era utilizada uma solução de bloqueio contendo leite desnatado Molico<sup>®</sup>, tris 10 mM, NaCl 150 mM e tween 20 0,02%.

#### 4.1.6 Equipamentos

A pesagem das substâncias e dos tecidos adiposos epididimal, retroperitoneal e inguinal 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 a realização dos cortes histológicos, as amostras eram submetidas ao processador de tecidos modelo PT05 (LUPTEC, Brasil), seccionadas em micrótomo rotativo modelo RM 2125 RT (Leica, Alemanha), fotografadas em microscópio ótico com câmera acoplada modelo BX41 (Olympus, Formosa) e posteriormente analisadas por programa analisador de imagem (Leica Qwin 3.1).

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).

As análises bioquímicas foram realizadas em um analisador bioquímico automático Labmax 240 (Minas Gerais, Brasil).

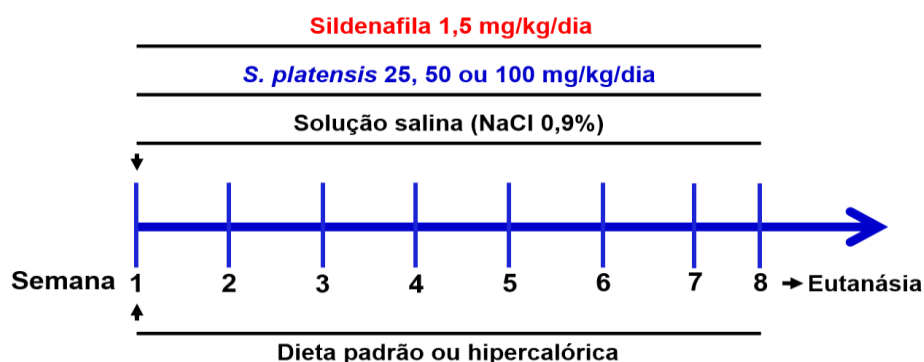
A leitura das absorbâncias para dosagem de MDA e o teste de inibição da oxidação foi realizada no espectrofotômetro modelo SP-22 da Biospectro (Paraná, Brasil).

O processamento das amostras para extração do conteúdo proteico foi realizado com o auxílio do processador de tecidos do tipo Polytron PTA 20S (Brinkmann Instruments, EUA). Além disso, a eletroforese em gel de poliacrilamida e a transferência de proteínas para a membrana de nitrocelulose foi realizada em equipamentos da Bio-Rad (EUA). Adicionalmente, a detecção da quimiluminescência foi realizada no leitor MF-CHEMIBIS (Bio-Imaging Systems Ltda., Jerusalem, Israel) e a densitometria óptica foi quantificada no programa ImageJ 1.43u (National Institute of Health, EUA).

## 4.2 Métodos

### 4.2.1 Grupos experimentais

Os ratos foram divididos randomicamente em 10 grupos experimentais: grupos alimentados com dieta padrão que recebiam solução salina (NaCl 0,9%) (GCS), que eram suplementados com *S. platensis* nas doses de 25 (GC + SP25), 50 (GC + SP50) e 100 mg/kg (GC + SP100) ou tratado com sildenafil na dose de 1,5 mg/kg (GC + Sild) (WALKER et al., 1999; LEONI, 2016), grupos alimentados com dieta hipercalórica que recebiam solução salina (NaCl 0,9%) (GOS), que eram suplementados com *S. platensis* nas doses de 25 (GO + SP25), 50 (GO + SP50) e 100 mg/kg (GO + SP100) ou tratado com sildenafil na dose de 1,5 mg/kg (GO + Sild) (Figura 14). Cada grupo experimental foi alimentado por um período de oito semanas (EL-DESOKY et al., 2013; BRITO, 2014; FERREIRA, 2017) e foram alocados 2 ratos em cada gaiola de polipropileno, em função da disponibilidade do biotério local.

**Figura 14** – Protocolo do delineamento experimental.

Fonte: SOUZA, 2018.

Os resultados eram avaliados comparando-se os dados obtidos com os ratos do GCS com aqueles obtidos pelos ratos dos GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild e pela comparação dos valores obtidos pelo GOS com os valores dos GCS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild.

#### 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; BRITO, 2014; FERREIRA, 2017). De maneira similar, a sildenafil era administrada por um período de oito semanas na dose de 1,5 mg/kg/dia (WALKER et al., 1999; LEONI, 2016).

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 da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre a ingestão alimentar e a massa corporal dos ratos

O consumo alimentar dos ratos era calculado diariamente, sendo representado pela diferença entre o alimento oferecido e o residual utilizando a



fórmula: consumo (g) = quota oferecida (g) – rejeito limpo (g). Foi considerado rejeito limpo o alimento que não foi ingerido e permaneceu na área externa do comedouro (VADIVEL; PUGALENTI, 2010). O cálculo de calorias fornecidas pela ingestão das diferentes dietas era realizado semanalmente através da fórmula: quantidade de kcal da dieta x ingestão alimentar média semanal. A massa corporal (g) dos ratos era verificada 2 vezes por semana, sendo o ganho de massa calculado pela diferença entre massa corpórea final e a inicial.

#### **4.2.4 Efeito da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre os coeficientes de eficácia alimentar, de conversão alimentar e de ganho de peso por consumo calórico**

O coeficiente de eficácia alimentar (CEA) foi calculado pela razão entre o ganho de massa corporal (g) e o consumo alimentar total (g) dos ratos após o período de oito semanas. O coeficiente de conversão alimentar (CCA) foi calculado pela razão entre o consumo alimentar total (g) e o ganho de massa corporal (g) após o período experimental. O coeficiente de ganho de peso por consumo calórico (CGPCC) foi calculado pela razão entre o ganho de massa corporal (g) e o consumo energético total (kcal) dos ratos após o período de oito semanas (CAMPBELL, 1963; GONÇALVES, 2014).

#### **4.2.5 Efeito da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre parâmetros da obesidade experimental**

##### **4.2.5.1 Parâmetros murinométricos**

No dia da eutanásia, os ratos eram pesados e era medido o comprimento nasoanal (cm) que foi utilizado no cálculo do Índice de Lee, a partir da razão entre a raiz cúbica da massa corporal (g) e o comprimento nasoanal (cm) do animal (LEE, 1929). O IMC foi calculado a partir da razão entre a massa corporal (g) e o quadrado do comprimento corporal (cm<sup>2</sup>) (NOVELLI et al., 2007).

A circunferência abdominal, localizada na parte anterior a pata traseira do animal, e a circunferência torácica, localizada na porção posterior a pata dianteira, foram aferidas utilizando trena corporal antropométrica (NOVELLI et al., 2007).

#### **4.2.5.2 Massa dos depósitos de tecido adiposo**

Vinte e quatro horas após a última exposição da dieta e das suplementações, os ratos eram eutanasiados por guilhotina, após cuidadosa dissecação eram pesados os tecidos adiposos epididimal, retroperitoneal e inguinal, os quais representam os principais componentes de adiposidade central em ratos (MAUER; HARRIS; BARTNESS, 2001).

A gordura abdominal localizada na porção inferior do abdome conectada ao epidídimo representa a gordura epididimal. A gordura conectada a parede abdominal posterior, ao redor dos rins e a parte abdominal do ureter representa a gordura retroperitoneal. A gordura subcutânea que se localiza entre a porção inferior da caixa torácica e a porção mediana da coxa representa a gordura inguinal (SURWIT et al., 1995; SANTOS, 2010).

#### **4.2.5.3 Índice de adiposidade**

O índice de adiposidade foi calculado a partir da soma das massas individuais das camadas adiposas epididimal, retroperitoneal e inguinal, através da fórmula:  $\text{gordura epididimal} + \text{gordura retroperitoneal} + \text{gordura inguinal} \times 100 / \text{massa corporal final}$  (STUNKARD; WADDEN, 1993; MACRINI, 2014).

#### **4.2.5.4 Morfometria do tecido adiposo**

##### **4.2.5.4.1 Preparações histológicas**

Após a eutanásia dos ratos, os depósitos de tecido adiposo epididimal, retroperitoneal e inguinal eram cuidadosamente retirados, pesados e fixados em formaldeído a 10% durante um período máximo de 72 h, e submetidas ao

procedimento histológico padrão para inclusão em parafina. Este procedimento incluiu as seguintes etapas: 1) desidratação do tecido em uma série alcoólica crescente (70% por 24 h; 80, 96 e álcool absoluto (3 banhos) por 1 h cada); 2) diafanização ou clareamento, onde o tecido era banhado em álcool absoluto mais xilol (1:1) por 1 h, seguidos de dois banhos em xilol puro por 1 h cada; 3) inclusão em parafina, onde o tecido passava por dois banhos de parafina líquida (aquecida à 50 °C) por 1 h cada. Em seguida, os tecidos eram emblocados em uma nova parafina.

Os blocos obtidos eram seccionados à cinco  $\mu\text{m}$  de espessura utilizando um micrótomo rotativo. Os cortes obtidos eram corados com hematoxilina de Mayer e eosina (HOWARD et al., 2004) e as lâminas obtidas eram analisadas em microscópio óptico com câmera acoplada modelo BX41 (Olympus, Formosa), onde foram fotografadas na objetiva de 20x.

A análise histológica foi realizada no Laboratório de Imunologia e Patologia de Invertebrados do Departamento de Biologia Molecular da UFPB, sob supervisão da Profa. Dra. Patrícia Mirella da Silva Scardua.

#### **4.2.5.4.2 Análise dos tecidos adiposos**

Para a análise do tecido adiposo, eram utilizadas as reservas adiposas epididimal, retroperitoneal e inguinal. Para analisar a morfologia dos adipócitos, eram obtidas imagens digitais dos cortes histológicos (objetiva de 20x) e, 100 adipócitos por animal (25 adipócitos por quadrante da lâmina) tiveram seu diâmetro aferido usando o software Leica Qwin 3.1 (Adaptado de SANTOS, 2010).

#### **4.2.6 Efeito 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, triglicerídios, 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):  $[LDL-c = (colesterol\ total - HDL-c) - (triglicerídios/5)]$ .

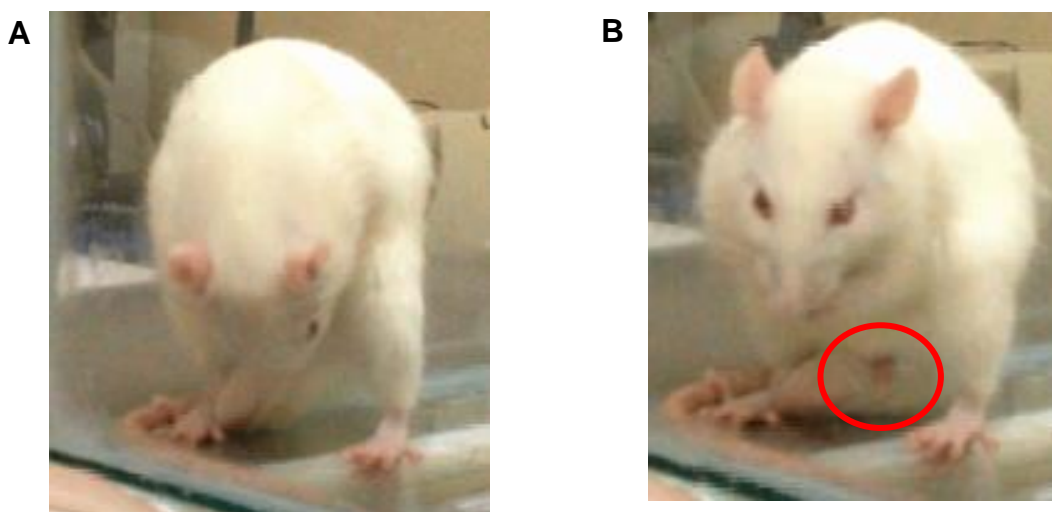
A análise bioquímica foi realizada no Laboratório de Estudos do Treinamento Físico Aplicado ao Desempenho e Saúde do Departamento de Educação Física da UFPB (LATIMER, 2012), sob supervisão do Prof. Dr. Alexandre Sérgio Silva.

#### **4.2.7 Efeito 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 15). 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 15** – 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: SOUZA, 2018.

#### **4.2.8 Efeito da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre a reatividade contrátil e relaxante do corpo cavernoso isolado de rato**

##### **4.2.8.1 Preparação do corpo cavernoso isolado de rato**

Os ratos eram eutanasiados conforme descrito no item 4.2.5.2. 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 minutos 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).

#### **4.2.8.2 Efeito da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre a reatividade contrátil do corpo cavernoso isolado de rato**

##### **4.2.8.2.1 Efeito da suplementação com *S. platensis* sobre o acoplamento eletromecânico de contração do corpo cavernoso isolado de rato**

###### **4.2.8.2.1.1 Efeito da suplementação com *S. platensis* sobre a curva cumulativa de KCl**

O corpo cavernoso era montado como descrito no item 4.2.8.1. Após a estabilização eram obtidas curvas concentrações-resposta cumulativas ao KCl (10 a 100 mM) (CÔCO, 2012). A reatividade contrátil era calculada com base na amplitude máxima da resposta do corpo cavernoso de rato do GCS. As comparações eram realizadas entre GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild ou GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild, baseado nos valores de efeito máximo ( $E_{max}$ ) e do logaritmo negativo na base 10 da concentração de KCl que produziu 50% do seu  $E_{max}$  ( $pD_2$ ), calculados a partir das curvas cumulativas concentrações-resposta obtidas.

##### **4.2.8.2.2 Efeito da suplementação com *S. platensis* sobre o acoplamento farmacomecânico de contração do corpo cavernoso isolado de rato**

###### **4.2.8.2.2.1 Efeito da suplementação com *S. platensis* sobre a curva cumulativa de FEN**

O corpo cavernoso era montado como descrito no item 4.2.8.1. Após o período de estabilização eram obtidas curvas concentrações-resposta cumulativas à FEN ( $10^{-8}$ - $3 \times 10^{-3}$  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 GCS. As comparações eram realizadas entre GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild ou GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild, baseado nos

valores de  $E_{max}$  e de  $pD_2$  da FEN, calculados a partir das curvas cumulativas concentrações-resposta obtidas.

#### **4.2.8.2.2.2 Efeito da suplementação com *S. platensis* sobre a cumulativa de FEN na ausência e na presença do Y27632**

O corpo cavernoso era montado como descrito no item 4.2.8.1. Após o período de estabilização eram obtidas curvas concentrações-resposta cumulativas à FEN ( $10^{-8}$ - $3 \times 10^{-3}$  M) na ausência e na presença do Y27632 ( $10^{-6}$  M), um inibidor seletivo da ROCK, incubado por 20 minutos (MILLS et al., 2001).

A resposta contrátil do corpo cavernoso na presença do inibidor era calculada com base na amplitude média da curva obtida no grupo GCS. A reatividade contrátil era avaliada tendo como base os valores de  $E_{max}$  e de  $pD_2$  da FEN, na ausência e na presença do Y27632, e o efeito do inibidor sobre a curva cumulativa concentrações-resposta à FEN era comparada entre GCS e GC + SP50 ou GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild.

#### **4.2.8.2.2.3 Efeito 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 4.2.8.1. 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 ( $10^{-8}$ - $3 \times 10^{-3}$  M). Além disso, em outras preparações eram realizadas as curvas cumulativas à FEN na presença simultânea dos dois bloqueadores.

A resposta contrátil do corpo cavernoso na presença dos inibidores era calculada com base na amplitude média da curva obtida no grupo GCS. A reatividade contrátil era avaliada tendo como base os valores de  $E_{max}$  e de  $pD_2$  da FEN, na ausência e na presença, isolada ou simultânea, de L-NAME e de

indometacina, e o efeito dos inibidores sobre a curva cumulativa concentrações-resposta à FEN era comparada entre GCS e GC + SP50 ou GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild.

#### **4.2.8.3 Efeito da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre a reatividade relaxante do corpo cavernoso isolado de rato**

##### **4.2.8.3.1 Efeito da suplementação com *S. platensis* sobre a curva cumulativa de NPS ou de ACh**

O corpo cavernoso era preparado como descrito no item 4.2.8.1. Após o período de estabilização era induzida uma contração com FEN ( $10^{-5}$  M) e após a formação do componente tônico, o NPS ( $10^{-11}$ - $10^{-4}$  M) ou a ACh ( $10^{-11}$ - $3 \times 10^{-4}$  M) eram adicionados 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 GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild ou GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild com base nos valores de  $pD_2$  e de  $E_{max}$  dos agentes relaxantes, calculados a partir das curvas concentrações-resposta cumulativas obtidas.

##### **4.2.8.3.2 Efeito da suplementação com *S. platensis* sobre a curva cumulativa de ACh na ausência e na presença de apocinina, de tempol ou de catalase**

O corpo cavernoso era montado conforme o item 4.2.8.1. Após o período de estabilização era incubada, por 30 minutos, a apocinina ( $10^{-4}$  M), inibidora da NADPH oxidase (CÔCO et al., 2016), o tempol ( $10^{-3}$  M), um mimético da SOD (PEIXOTO et al., 2009) ou a catalase (250 UI/mL), enzima que decompõe o  $H_2O_2$  (CÔCO et al., 2016), em preparações distintas e, em seguida, era induzida uma contração com FEN ( $10^{-5}$  M) e após a formação do componente tônico, a ACh ( $10^{-11}$ - $3 \times 10^{-4}$  M) era adicionada à cuba de maneira cumulativa.



A resposta relaxante do corpo cavernoso à ACh na presença da apocinina, do tempol ou da catalase 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  $pD_2$  da ACh, na ausência e na presença dos inibidores, e comparada entre GCS, GC + SP50 e GC + Sild ou GOS, GO + SP50 e GO + Sild.

#### **4.2.9 Efeito da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre o estresse oxidativo**

##### **4.2.9.1 Obtenção do plasma e do homogenato dos tecidos adiposos e do corpo cavernoso de rato**

Após a eutanásia dos ratos, o plasma era obtido conforme descrito no item 4.2.6 e os tecidos adiposos epididimal, retroperitoneal e inguinal, bem como o corpo cavernoso eram isolados e congelados a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  até o preparo do homogenato. Nesse procedimento, cada tecido 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.

##### **4.2.9.2 Efeito da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre os níveis de MDA no plasma, nos tecidos adiposos e no corpo cavernoso 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 do plasma e dos homogenatos teciduais, alíquotas de  $250\text{ }\mu\text{L}$  eram incubadas a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  em banho-maria por 60 minutos. Em seguida, as amostras eram precipitadas com  $400\text{ }\mu\text{L}$  de ácido perclórico 35% e centrifugadas a  $16.851 \times g$  por 20 minutos a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ . O sobrenadante era transferido para tubos Eppendorf® e, logo,  $400\text{ }\mu\text{L}$  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.

#### **4.2.9.3 Efeito da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre a capacidade antioxidante total do plasma, dos tecidos adiposos e do corpo cavernoso 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 plasma ou dos homogenatos teciduais 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.

#### **4.2.9.4 Efeito da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre a expressão proteica de ERK1/2 no corpo cavernoso de rato**

##### **4.2.9.4.1 Extração do tecido cavernoso, processo de eletroforese em gel de poliacrilamida e *Western blot***

O corpo cavernoso era isolado como descrito no item 4.2.8.1 e homogeneizado em tampão de extração, cuja composição está descrita no item 4.1.5, utilizando um processador de tecidos do tipo Polytron PTA 20S (Brinkmann Instruments, USA). Em seguida, os extratos teciduais eram centrifugados a  $17.530 \times g$  a  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  por 20 minutos. Após esse processo, o conteúdo proteico das amostras era quantificado no sobrenadante utilizando o reagente de Bradford (Bio-Rad, Richmond, CA), além disso, as amostras eram conservadas após a adição do tampão de Laemmli (Bio-Rad, Richmond, CA) (LAEMMLI, 1970), acrescido de DTT 200 mM (4:1 v/v). Posteriormente, 50  $\mu\text{g}$  de proteínas totais eram submetidas a eletroforese em gel de poliacrilamida contendo sódio dodecil sulfato (SDS-PAGE 15%) em aparelho de minigel (Bio-Rad, Richmond, CA). Em cada gel era adicionado um marcador com peso molecular com valores conhecidos (Bio-Rad, Richmond, CA).

Após a separação das proteínas, era realizada a transferência destas para uma membrana de nitrocelulose através da estimulação elétrica a 120 V por 2 h (TOWBIN; STAEHELIN; GORDON, 1992). Em seguida, a ligação inespecífica de proteínas à membrana de nitrocelulose foi reduzida pela incubação destas com uma solução de bloqueio, cuja composição está descrita no item 4.1.5, em temperatura ambiente durante 2 h sob leve agitação.

Subsequentemente, as membranas de nitrocelulose eram incubadas com o anti-ERK (K-23, sc-94, Santa Cruz Biotechnology, Brasil) preparado em solução bloqueadora (substituindo o leite pela albumina na sua composição), pernoite a temperatura de  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  sob leve agitação. Após esse período, as membranas eram lavadas com esta solução decrescida de leite ou albumina por 30 minutos e, o anticorpo secundário anticoelho conjugado com peroxidase era incubado por 1 h a temperatura ambiente.

Para a revelação das membranas, era adicionada uma solução para detecção por quimioluminescência conforme descrito no *kit* comercial. Nesse protocolo, a emissão da luz era detectada pelo sistema de detecção MF-CHEMIBIS (Bio-Imaging Systems Ltda., Jerusalem, Israel) e a determinação da intensidade das bandas reveladas era realizada pela leitura da densitometria óptica das imagens analisadas no programa ImageJ 1.43u (National Institute of Health, USA).

Os resultados eram avaliados comparando-se os dados obtidos para os ratos do GCS com aqueles obtidos pelos ratos dos GC + SP50, GOS, GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100.

A análise molecular foi realizada no Laboratório de Sinalização Intracelular do Instituto de Ciências Biomédicas da USP, sob supervisão da Profa. Dra. Carla Roberta de Oliveira Carvalho.

#### **4.2.10 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 e, para avaliar o grau de correlação entre as variáveis experimentais, utilizou-se o coeficiente de correlação linear de Pearson (*r*). A hipótese nula foi rejeitada quando os valores de  $p < 0,05$ .

Como parâmetro de potência foi utilizado o  $pD_2$ , 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 da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre a ingestão alimentar e a massa corporal dos ratos

### 5.1.1 Avaliação da ingestão alimentar estimada

Nos ratos que consumiram a dieta padrão, a ingestão alimentar semanal média estimada dos grupos GC + SP25 ( $172,5 \pm 2,3$  g), GC + SP100 ( $162,5 \pm 3,3$  g) e GC + Sild ( $177,4 \pm 2,0$  g) foi semelhante à ingestão do grupo GCS ( $168,0 \pm 2,7$  g). Apesar disso, esse resultado não foi reprodutível no grupo GC + SP50 ( $138,5 \pm 2,3$  g) que apresentou ingestão alimentar média inferior ao grupo GCS e aos demais grupos experimentais (Tabela 4, n = 10).

Nos ratos que consumiram a dieta hipercalórica, a ingestão alimentar semanal média estimada do grupo GOS ( $123,6 \pm 1,9$  g) foi inferior ao grupo GCS ( $168,0 \pm 2,7$  g). Quando os ratos foram suplementados com *S. platensis* nas doses de 25 ( $157,9 \pm 2,7$  g) e 100 mg/kg ( $146,5 \pm 2,2$  g) ou tratados com sildenafil ( $148,9 \pm 2,2$  g), observou-se um aumento na ingestão média em relação ao grupo GOS, o que não foi observado para o grupo GO + SP50 ( $121,0 \pm 2,5$  g), que manteve essa ingestão semelhante ao grupo GOS e inferior a todos os demais grupos experimentais suplementados com *S. platensis* e tratado com sildenafil. Adicionalmente, o grupo GCS demonstrou ingestão média superior a todos os grupos experimentais alimentados com a dieta hipercalórica (Tabela 5, n = 10).

**Tabela 4** – Ingestão alimentar semanal estimada (g) dos ratos dos grupos GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild.

Grupos	Ingestão alimentar semanal média (g)
GCS	168,0 ± 2,7
GC + SP25	172,5 ± 2,3 <sup>@</sup>
GC + SP50	138,5 ± 2,3 <sup>*</sup>
GC + SP100	162,5 ± 3,3 <sup>@</sup>
GC + Sild	177,4 ± 2,0 <sup>@</sup>

ANOVA *one-way* seguido do pós-teste de Tukey. <sup>\*</sup>*p* < 0,05 (GCS vs. GC + SP50) e <sup>@</sup>*p* < 0,05 (GC + SP50 vs. GC + SP25, GC + SP100 e GC + Sild) (n = 10). GCS = grupo controle salina; GC + SP25, GC + SP50 e GC + SP100 = grupos alimentados com dieta padrão e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GC + Sild = grupo alimentado com dieta padrão e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

**Tabela 5** – Ingestão alimentar semanal estimada (g) dos ratos dos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild.

Grupos	Ingestão alimentar semanal média (g)
GCS	168,0 ± 2,7
GOS	123,6 ± 1,9 <sup>*</sup>
GO + SP25	157,9 ± 2,7 <sup>*#</sup> \$
GO + SP50	121,0 ± 2,5 <sup>*</sup>
GO + SP100	146,5 ± 2,2 <sup>*#</sup> \$
GO + Sild	148,9 ± 2,2 <sup>*#</sup> \$

ANOVA *one-way* seguido do pós-teste de Tukey. <sup>\*</sup>*p* < 0,05 (GCS vs. GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild); <sup>#</sup>*p* < 0,05 (GOS vs. GO + SP25, GO + SP100 e GO + Sild) e <sup>\$</sup>*p* < 0,05 (GO + SP50 vs. GO + SP25, GO + SP100 e GO + Sild) (n = 10). GCS = grupo controle salina; GOS = grupo obeso salina; GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GO + Sild = grupo alimentado com dieta hipercalórica e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

### 5.1.2 Cálculo de calorias fornecidas pela ingestão dietética

As calorias fornecidas através do consumo da dieta padrão pelos ratos dos grupos GC + SP25 ( $655,3 \pm 8,6$  kcal), GC + SP100 ( $617,5 \pm 12,5$  kcal) e GC + Sild ( $674,0 \pm 7,6$  kcal) foram semelhantes às do grupo GCS ( $638,3 \pm 10,1$  kcal). Entretanto, esse resultado não foi reprodutível no grupo GC + SP50 ( $526,4 \pm 8,8$  kcal) que apresentou valor calórico fornecido pela dieta padrão inferior ao grupo GCS e aos demais grupos experimentais (Tabela 6,  $n = 10$ ).

Analisando os ratos alimentados com a dieta hipercalórica, as calorias fornecidas através do consumo dessa dieta pelos ratos do grupo GOS ( $515,2 \pm 7,8$  kcal) foram inferiores ao grupo GCS ( $638,3 \pm 10,1$  kcal). Quando os ratos foram suplementados com *S. platensis* nas doses de 25 ( $652,9 \pm 14,9$  kcal) e 100 mg/kg ( $610,8 \pm 9,1$  kcal) ou tratados com sildenafil ( $621,1 \pm 9,3$  kcal), observou-se um aumento no valor calórico fornecido pelo consumo da dieta em relação ao grupo GOS, o que não ocorreu no grupo GO + SP50 ( $506,1 \pm 10,6$  kcal), que manteve valor inferior ao grupo GOS e a todos os demais grupos experimentais suplementados com *S. platensis* e ao grupo tratado com sildenafil (Tabela 7,  $n = 10$ ).



**Tabela 6** – Valor calórico semanal médio (kcal) fornecido pela ingestão dietética dos ratos dos grupos GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild.

Grupos	Valor calórico semanal médio (kcal) fornecido pela ingestão dietética
GCS	638,3 ± 10,1
GC + SP25	655,3 ± 8,6 <sup>@</sup>
GC + SP50	526,4 ± 8,8*
GC + SP100	617,5 ± 12,5 <sup>@</sup>
GC + Sild	674,0 ± 7,6 <sup>@</sup>

ANOVA *one-way* seguido do pós-teste de Tukey. \* $p < 0,05$  (GCS vs. GC + SP50) e <sup>@</sup> $p < 0,05$  (GC + SP50 vs. GC + SP25, GC + SP100 e GC + Sild) (n = 10). GCS = grupo controle salina; GC + SP25, GC + SP50 e GC + SP100 = grupos alimentados com dieta padrão e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GC + Sild = grupo alimentado com dieta padrão e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

**Tabela 7** – Valor calórico semanal médio (kcal) fornecido pela ingestão dietética dos ratos dos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild.

Grupos	Valor calórico semanal médio (kcal) fornecido pela ingestão dietética
GCS	638,3 ± 10,1
GOS	515,2 ± 7,8*
GO + SP25	652,9 ± 14,9 <sup>#</sup> <sup>\$</sup>
GO + SP50	506,1 ± 10,6*
GO + SP100	610,8 ± 9,1 <sup>#</sup> <sup>\$</sup>
GO + Sild	621,1 ± 9,3 <sup>#</sup> <sup>\$</sup>

ANOVA *one-way* seguido do pós-teste de Tukey. \* $p < 0,05$  (GCS vs. GOS e GO + SP50); <sup>#</sup> $p < 0,05$  (GOS vs. GO + SP25, GO + SP100 e GO + Sild) e <sup>\$</sup> $p < 0,05$  (GO + SP50 vs. GO + SP25, GO + SP100 e GO + Sild) (n = 10). GCS = grupo controle salina; GOS = grupo obeso salina; GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GO + Sild = grupo alimentado com dieta hipercalórica e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

### 5.1.3 Avaliação da massa corporal

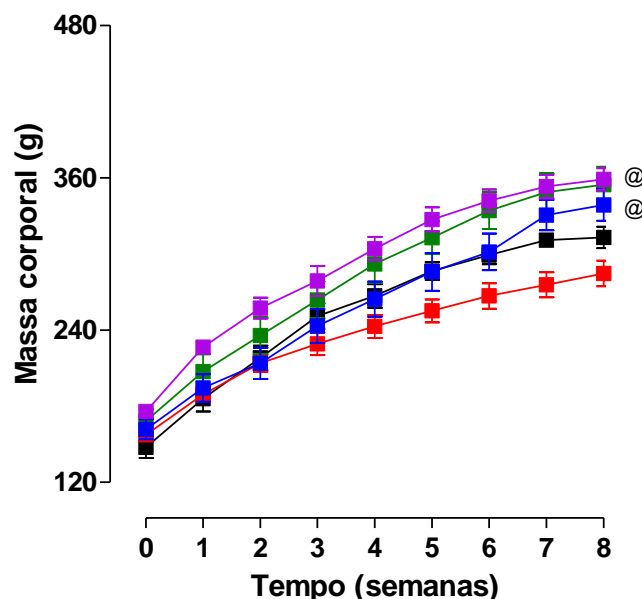
Todos os grupos experimentais apresentaram massa corporal inicial semelhante (Tabelas 8 e 9,  $n = 10$ ). Entretanto, os ratos que consumiram a dieta padrão do grupo GC + SP50 ( $284,4 \pm 10,1$  g) apresentaram massa corporal final inferior aos ratos dos grupos GC + SP25 ( $354,4 \pm 14,3$  g), GC + SP100 ( $338,6 \pm 12,5$  g) e GC + Sild ( $358,8 \pm 8,7$  g), não diferindo do grupo GCS ( $322,9 \pm 4,0$  g) (Gráfico 1 e Tabela 8,  $n = 10$ ).

Além disso, o ganho de massa corporal do grupo GC + SP50 ( $129,1 \pm 9,7$  g) não diferiu do grupo GCS ( $166,3 \pm 10,5$  g), mas foi inferior aos grupos GC + SP25 ( $186,2 \pm 10,0$  g), GC + SP100 ( $176,8 \pm 10,3$  g) e GC + Sild ( $183,1 \pm 9,2$  g) (Tabela 8,  $n = 10$ ).

A massa corporal final do grupo GOS ( $367,1 \pm 12,8$  g) foi superior ao grupo GCS ( $322,9 \pm 4,0$  g) e aos grupos alimentados com a dieta hipercalórica e suplementados com a *S. platensis* nas doses de 25 ( $320,7 \pm 11,4$  g), 50 ( $310,2 \pm 21,7$  g) e 100 mg/kg ( $308,6 \pm 9,2$  g), porém, não diferiu do grupo tratado com a sildenafil ( $344,4 \pm 9,5$  g) (Gráfico 2 e Tabela 9,  $n = 10$ ).

De maneira semelhante, o ganho de massa corporal do grupo GOS ( $215,0 \pm 11,1$  g) não diferiu do grupo GO + Sild ( $175,5 \pm 6,2$  g), mas foi maior que nos grupos GCS ( $166,3 \pm 10,5$  g), GO + SP25 ( $148,6 \pm 14,5$  g), GO + SP50 ( $145,3 \pm 13,7$  g) e GO + SP100 ( $143,1 \pm 9,6$  g) (Tabela 9,  $n = 10$ ).

**Gráfico 1** – Massa corporal média semanal dos ratos dos grupos GCS (■), GC + SP25 (■), GC + SP50 (■), GC + SP100 (■) e GC + Sild (■).



Os símbolos e as barras verticais representam a média e o e.p.m., respectivamente (n = 10). ANOVA *one-way* seguido do pós-teste de Tukey. @ $p < 0,05$  (GC + SP50 vs. GC + SP25, GC + SP100 e GC + Sild). GCS = grupo controle salina; GC + SP25, GC + SP50 e GC + SP100 = grupos alimentados com dieta padrão e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GC + Sild = grupo alimentado com dieta padrão e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

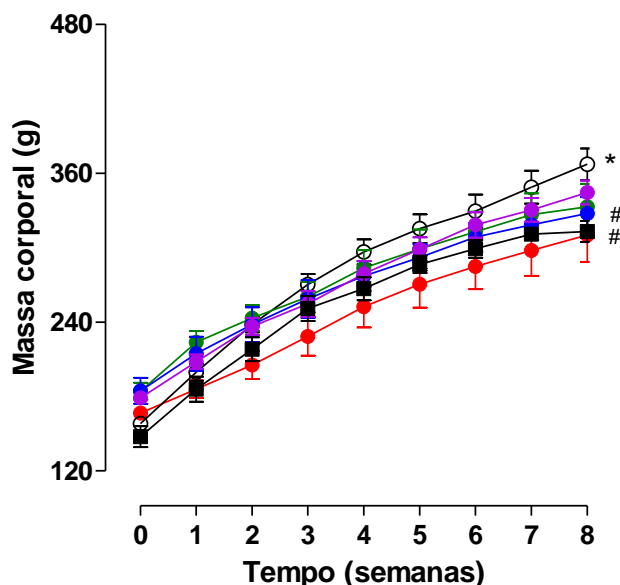
**Tabela 8** – Valores de massa corporal inicial, final e ganho de massa corporal dos ratos dos grupos GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild.

Grupos	Massa corporal inicial (g)	Massa corporal final (g)	Ganho de massa corporal (g)	Ganho de massa corporal (%)
GCS	147,6 ± 8,4	322,9 ± 4,0	166,3 ± 10,5	118,2 ± 2,4
GC + SP25	168,2 ± 9,3	354,4 ± 14,3 <sup>@</sup>	186,2 ± 10,0 <sup>@</sup>	110,4 ± 1,5 <sup>@</sup>
GC + SP50	157,4 ± 4,4	284,4 ± 10,1	129,1 ± 9,7	80,0 ± 3,4*
GC + SP100	161,8 ± 7,8	338,6 ± 12,5 <sup>@</sup>	176,8 ± 10,3 <sup>@</sup>	109,0 ± 2,5 <sup>@</sup>
GC + Sild	175,7 ± 2,6	358,8 ± 8,7 <sup>@</sup>	183,1 ± 9,2 <sup>@</sup>	104,5 ± 1,5 <sup>@</sup>

ANOVA *one-way* seguido do pós-teste de Tukey. \* $p < 0,05$  (GCS vs. GC + SP50) e @ $p < 0,05$  (GC + SP50 vs. GC + SP25, GC + SP100 e GC + Sild) (n = 10). GCS = grupo controle salina; GC + SP25, GC + SP50 e GC + SP100 = grupos alimentados com dieta padrão e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GC + Sild = grupo alimentado com dieta padrão e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

**Gráfico 2** – Massa corporal média semanal dos ratos dos grupos GCS (■), GOS (○), GO + SP25 (●), GO + SP50 (●), GO + SP100 (●) e GO + Sild (●).



Os símbolos e as barras verticais representam a média e o e.p.m., respectivamente (n = 10). ANOVA *one-way* seguido do pós-teste de Tukey. \* $p < 0,05$  (GCS vs. GOS) e # $p < 0,05$  (GOS vs. GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100). GCS = grupo controle salina; GOS = grupo obeso salina; GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GO + Sild = grupo alimentado com dieta hipercalórica e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

**Tabela 9** – Valores de massa corporal inicial, final e ganho de massa corporal dos ratos dos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild.

Grupos	Massa corporal inicial (g)	Massa corporal final (g)	Ganho de massa corporal (g)	Ganho de massa corporal (%)
GCS	147,6 ± 8,4	322,9 ± 4,0	166,3 ± 10,5	118,2 ± 2,4
GOS	158,1 ± 2,5	367,1 ± 12,8*	215,0 ± 11,1*	132,5 ± 3,0*
GO + SP25	174,3 ± 17,2	320,7 ± 11,4#	148,6 ± 14,5#	84,0 ± 2,2#
GO + SP50	166,5 ± 5,3	310,2 ± 21,7#	145,3 ± 13,7#	86,0 ± 1,9#
GO + SP100	174,5 ± 10,5	308,6 ± 9,2#	143,1 ± 9,6#	77,0 ± 2,5#
GO + Sild	178,9 ± 4,0	344,4 ± 9,5	175,5 ± 6,2	92,0 ± 3,0

ANOVA *one-way* seguido do pós-teste de Tukey. \* $p < 0,05$  (GCS vs. GOS) e # $p < 0,05$  (GOS vs. GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100) (n = 10). GCS = grupo controle salina; GOS = grupo obeso salina; GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GO + Sild = grupo alimentado com dieta hipercalórica e tratado com sildenafil. Fonte: SOUZA, 2018.

## 5.2 Efeito da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre os coeficientes de eficácia alimentar, de conversão alimentar e de ganho de peso por consumo calórico

Não foi observada diferença no CEA, CCA e CGPCC dos ratos que consumiram a dieta padrão (Tabela 10, n = 10). Porém, os ratos alimentados com a dieta hipercalórica que receberam a solução salina (NaCl 0,9%) ( $0,22 \pm 0,01$ ) apresentaram CEA superior ao grupo GCS ( $0,12 \pm 0,01$ ) e aos ratos que consumiram a dieta hipercalórica e foram suplementados com 25 ( $0,11 \pm 0,01$ ), 50 ( $0,14 \pm 0,02$ ) ou 100 mg/kg da alga ( $0,13 \pm 0,01$ ) ou tratados com sildenafil ( $0,15 \pm 0,01$ ) (Tabela 11, n = 10).

Além disso, o grupo GOS ( $4,8 \pm 0,3$ ) apresentou CCA inferior ao grupo GCS ( $8,4 \pm 0,6$ ) e aos grupos que consumiram a dieta hipercalórica e receberam suplementação com a alga, GO + SP25 ( $9,6 \pm 0,8$ ), GO + SP50 ( $7,9 \pm 1,5$ ) e GO + SP100 ( $7,8 \pm 0,7$ ), não diferindo do grupo tratado com sildenafil ( $6,8 \pm 0,4$ ) (Tabela 11, n = 10).

O CGPCC dos grupos GOS ( $0,05 \pm 0,01$  g/kcal) e GO + Sild ( $0,06 \pm 0,03$  g/kcal) foi superior ao grupo GCS ( $0,03 \pm 0,01$  g/kcal). Esse coeficiente foi reduzido nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* nas doses de 25 ( $0,03 \pm 0,01$  g/kcal), 50 ( $0,03 \pm 0,01$  g/kcal) e 100 mg/kg ( $0,03 \pm 0,01$  g/kcal) quando comparado ao grupo GOS (Tabela 11, n = 10).

**Tabela 10** – Valores de CEA, CCA e CGPCC dos ratos dos grupos GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild.

Grupos	CEA	CCA	CGPCC (g/kcal)
GCS	0,12 ± 0,01	8,4 ± 0,6	0,03 ± 0,01
GC + SP25	0,14 ± 0,01	7,4 ± 0,4	0,04 ± 0,01
GC + SP50	0,12 ± 0,01	8,9 ± 0,7	0,03 ± 0,01
GC + SP100	0,14 ± 0,01	7,8 ± 0,6	0,05 ± 0,02
GC + Sild	0,13 ± 0,01	8,6 ± 0,5	0,03 ± 0,01

CEA = coeficiente de eficácia alimentar; CCA = coeficiente de conversão alimentar; CGPCC = coeficiente de ganho de peso por consumo calórico; GCS = grupo controle salina; GC + SP25, GC + SP50 e GC + SP100 = grupos alimentados com dieta padrão e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GC + Sild = grupo alimentado com dieta padrão e tratado com sildenafil (n = 10).

Fonte: SOUZA, 2018.

**Tabela 11** – Valores de CEA, CCA e CGPCC dos ratos dos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild.

Grupos	CEA	CCA	CGPCC (g/kcal)
GCS	0,12 ± 0,01	8,4 ± 0,6	0,03 ± 0,01
GOS	0,22 ± 0,01*	4,8 ± 0,3*	0,05 ± 0,01*
GO + SP25	0,11 ± 0,01 <sup>#</sup>	9,6 ± 0,8 <sup>#</sup>	0,03 ± 0,01 <sup>#</sup>
GO + SP50	0,14 ± 0,02 <sup>#</sup>	7,9 ± 1,5 <sup>#</sup>	0,03 ± 0,01 <sup>#</sup>
GO + SP100	0,13 ± 0,01 <sup>#</sup>	7,8 ± 0,7 <sup>#</sup>	0,03 ± 0,01 <sup>#</sup>
GO + Sild	0,15 ± 0,01 <sup>#</sup>	6,8 ± 0,4	0,06 ± 0,03*

ANOVA *one-way* seguido do pós-teste de Tukey. \* $p < 0,05$  (GCS vs. GOS e GO + Sild) e <sup>#</sup> $p < 0,05$  (GOS vs. GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild) (n = 10). CEA = coeficiente de eficácia alimentar; CCA = coeficiente de conversão alimentar; CGPCC = coeficiente de ganho de peso por consumo calórico; GCS = grupo controle salina; GOS = grupo obeso salina; GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GO + Sild = grupo alimentado com dieta hipercalórica e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

### 5.3 Efeito da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre parâmetros da obesidade experimental

#### 5.3.1 Parâmetros murinométricos

Nos ratos alimentados com a dieta padrão, o comprimento nasoanal do grupo GC + SP50 ( $22,9 \pm 0,4$  cm) foi inferior aos grupos GC + SP25 ( $24,4 \pm 0,3$  cm) e GC + Sild ( $24,5 \pm 0,2$  cm), não diferindo dos grupos GCS ( $23,2 \pm 0,4$  cm) e GC + SP100 ( $23,2 \pm 0,4$  cm) (Tabela 12, n = 10). Além disso, o grupo GOS ( $24,8 \pm 0,3$  cm) apresentou comprimento nasoanal maior que o grupo GCS ( $23,2 \pm 0,4$  cm) e menor que os grupos alimentados com a dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* nas doses de 25 ( $23,4 \pm 0,3$  cm), 50 ( $23,2 \pm 0,4$  cm) e 100 mg/kg ( $23,2 \pm 0,2$  cm), não diferindo do grupo tratado com sildenafil ( $24,5 \pm 0,2$  cm) (Tabela 13, n = 10).

Não foi observada diferença no índice de Lee dos grupos experimentais (Tabelas 12 e 13, n = 10). Entre os ratos alimentados com a dieta padrão, o IMC apresentou variação apenas no grupo GC + SP50 ( $0,53 \pm 0,01$  g/cm<sup>2</sup>), onde foi inferior aos grupos GC + SP100 ( $0,61 \pm 0,02$  g/cm<sup>2</sup>) e GC + Sild ( $0,60 \pm 0,01$  g/cm<sup>2</sup>), não diferindo dos grupos GCS ( $0,58 \pm 0,01$  g/cm<sup>2</sup>) e GC + SP25 ( $0,57 \pm 0,01$  g/cm<sup>2</sup>). Apesar disso, o IMC dos grupos que consumiram a dieta hipercalórica não variou (Tabelas 12 e 13, n = 10).

A circunferência abdominal dos ratos alimentados com a dieta padrão do grupo GCS ( $17,4 \pm 0,6$  cm) não diferiu da medida obtida nos grupos GC + SP25 ( $17,4 \pm 0,4$  cm), GC + SP50 ( $16,4 \pm 0,4$  cm) e GC + SP100 ( $17,4 \pm 0,5$  cm), entretanto, foi reduzida no grupo GC + Sild ( $14,8 \pm 0,4$  cm). Além disso, o grupo GC + Sild também apresentou circunferência abdominal inferior aos grupos GC + SP25 e GC + SP100 (Tabela 14, n = 10).

A circunferência torácica foi semelhante nos ratos alimentados com a dieta padrão (Tabela 12, n = 10). Porém, a relação entre a circunferência abdominal/torácica do grupo GC + Sild ( $1,0 \pm 0,02$ ) foi inferior aos grupos GCS ( $1,2 \pm 0,01$ ), GC + SP25 ( $1,2 \pm 0,03$ ) e GC + SP100 ( $1,2 \pm 0,04$ ), não diferindo do grupo GC + SP50 ( $1,1 \pm 0,02$ ) (Tabela 14, n = 10).

Analisando os ratos que consumiram a dieta hipercalórica, a circunferência abdominal do grupo GOS ( $17,2 \pm 0,4$  cm) foi semelhante ao

grupo GCS ( $17,4 \pm 0,6$  cm). Quando os ratos foram suplementados com *S. platensis* nas doses de 25 ( $15,5 \pm 0,2$  cm) e 100 mg/kg ( $15,4 \pm 0,2$  cm) ou tratados com sildenafil ( $15,6 \pm 0,2$  cm), observou-se uma redução nessa medida em relação a ambos grupos GCS e GOS, mas, não houve alteração na circunferência abdominal do grupo GO + SP50 ( $17,0 \pm 0,3$  cm). Além disso, os ratos do grupo GO + SP50 apresentaram essa circunferência superior ao grupo GO + SP100 (Tabela 15, n = 10).

A circunferência torácica do grupo GOS ( $15,2 \pm 0,4$  cm) também foi semelhante ao grupo GCS ( $15,8 \pm 0,3$  cm). Entretanto, houve redução nessa medida nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* dos grupos GO + SP25 ( $13,8 \pm 0,1$  cm), GO + SP50 ( $14,2 \pm 0,2$  cm) e GO + SP100 ( $14,1 \pm 0,3$  cm), assim como no grupo tratado com sildenafil ( $14,2 \pm 0,2$  cm), em comparação aos grupos GCS e GOS (Tabela 15, n = 10). Apesar disso, a relação circunferência abdominal/torácica não diferiu entre os grupos GCS ( $1,2 \pm 0,01$ ), GOS ( $1,2 \pm 0,01$ ), GO + SP25 ( $1,1 \pm 0,02$ ), GO + SP50 ( $1,2 \pm 0,01$ ), GO + SP100 ( $1,1 \pm 0,02$ ) e GO + Sild ( $1,1 \pm 0,02$ ) (Tabela 15, n = 10).



**Tabela 12** – Valores de comprimento nasoanal, do índice de Lee e do IMC dos ratos dos grupos GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild.

Grupos	Comprimento nasoanal (cm)	Índice de Lee (g/cm)	IMC (g/cm <sup>2</sup> )
GCS	23,2 ± 0,4	0,29 ± 0,01	0,58 ± 0,01
GC + SP25	24,4 ± 0,3 <sup>@</sup>	0,29 ± 0,01	0,57 ± 0,01
GC + SP50	22,9 ± 0,4	0,28 ± 0,01	0,53 ± 0,01
GC + SP100	23,2 ± 0,4	0,30 ± 0,01	0,61 ± 0,02 <sup>@</sup>
GC + Sild	24,5 ± 0,2 <sup>@</sup>	0,29 ± 0,01	0,60 ± 0,01 <sup>@</sup>

ANOVA *one-way* seguido do pós-teste de Tukey. <sup>@</sup> $p < 0,05$  (GC + SP50 vs. GC + SP25, GC + SP100 e GC + Sild) (n = 10). IMC = índice de massa corporal; GCS = grupo controle salina; GC + SP25, GC + SP50 e GC + SP100 = grupos alimentados com dieta padrão e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GC + Sild = grupo alimentado com dieta padrão e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

**Tabela 13** – Valores de comprimento nasoanal, do índice de Lee e do IMC dos ratos dos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild.

Grupos	Comprimento nasoanal (cm)	Índice de Lee (g/cm)	IMC (g/cm <sup>2</sup> )
GCS	23,2 ± 0,4	0,29 ± 0,01	0,58 ± 0,01
GOS	24,8 ± 0,3 <sup>*</sup>	0,29 ± 0,01	0,60 ± 0,01
GO + SP25	23,4 ± 0,3 <sup>#</sup>	0,29 ± 0,01	0,58 ± 0,02
GO + SP50	23,2 ± 0,4 <sup>#</sup>	0,28 ± 0,01	0,55 ± 0,02
GO + SP100	23,2 ± 0,2 <sup>#</sup>	0,29 ± 0,01	0,60 ± 0,02
GO + Sild	24,5 ± 0,2	0,28 ± 0,01	0,57 ± 0,01

ANOVA *one-way* seguido do pós-teste de Tukey. <sup>\*</sup> $p < 0,05$  (GCS vs. GOS) e <sup>#</sup> $p < 0,05$  (GOS vs. GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100) (n = 10). IMC = índice de massa corporal; GCS = grupo controle salina; GOS = grupo obeso salina; GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GO + Sild = grupo alimentado com dieta padrão e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

**Tabela 14** – Valores de circunferência abdominal, torácica e da relação circunferência abdominal/torácica dos ratos dos grupos GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild.

Grupos	Circunferência abdominal (cm)	Circunferência torácica (cm)	Circunferência abdominal/torácica
GCS	17,4 ± 0,6	15,8 ± 0,3	1,2 ± 0,01
GC + SP25	17,4 ± 0,4 <sup>l</sup>	15,1 ± 0,7	1,2 ± 0,03 <sup>l</sup>
GC + SP50	16,4 ± 0,4	14,8 ± 0,4	1,1 ± 0,02
GC + SP100	17,4 ± 0,5 <sup>l</sup>	14,4 ± 0,2	1,2 ± 0,04 <sup>l</sup>
GC + Sild	14,8 ± 0,4 <sup>*</sup>	14,2 ± 0,2	1,0 ± 0,02 <sup>*</sup>

ANOVA *one-way* seguido do pós-teste de Tukey. <sup>\*</sup> $p < 0,05$  (GCS vs. GC + Sild) e <sup>l</sup> $p < 0,05$  (GC + Sild vs. GC + SP25 e GC + SP100) (n = 10). GCS = grupo controle salina; GC + SP25, GC + SP50 e GC + SP100 = grupos alimentados com dieta padrão e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GC + Sild = grupo alimentado com dieta padrão e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

**Tabela 15** – Valores de circunferência abdominal, torácica e da relação circunferência abdominal/torácica dos ratos dos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild.

Grupos	Circunferência abdominal (cm)	Circunferência torácica (cm)	Circunferência abdominal/torácica
GCS	17,4 ± 0,6	15,8 ± 0,3	1,2 ± 0,01
GOS	17,2 ± 0,4	15,2 ± 0,4	1,2 ± 0,01
GO + SP25	15,5 ± 0,2 <sup>**</sup>	13,8 ± 0,1 <sup>**</sup>	1,1 ± 0,02
GO + SP50	17,0 ± 0,3	14,2 ± 0,2 <sup>**</sup>	1,2 ± 0,01
GO + SP100	15,4 ± 0,2 <sup>**\$</sup>	14,1 ± 0,3 <sup>**</sup>	1,1 ± 0,02
GO + Sild	15,6 ± 0,2 <sup>**</sup>	14,2 ± 0,2 <sup>**</sup>	1,1 ± 0,02

ANOVA *one-way* seguido do pós-teste de Tukey. <sup>\*</sup> $p < 0,05$  (GCS vs. GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild); <sup>#</sup> $p < 0,05$  (GOS vs. GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild) e <sup>\$</sup> $p < 0,05$  (GO + SP50 vs. GO + SP100) (n = 10). GCS = grupo controle salina; GOS = grupo obeso salina; GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GO + Sild = grupo alimentado com dieta hipercalórica e tratado com sildenafil.

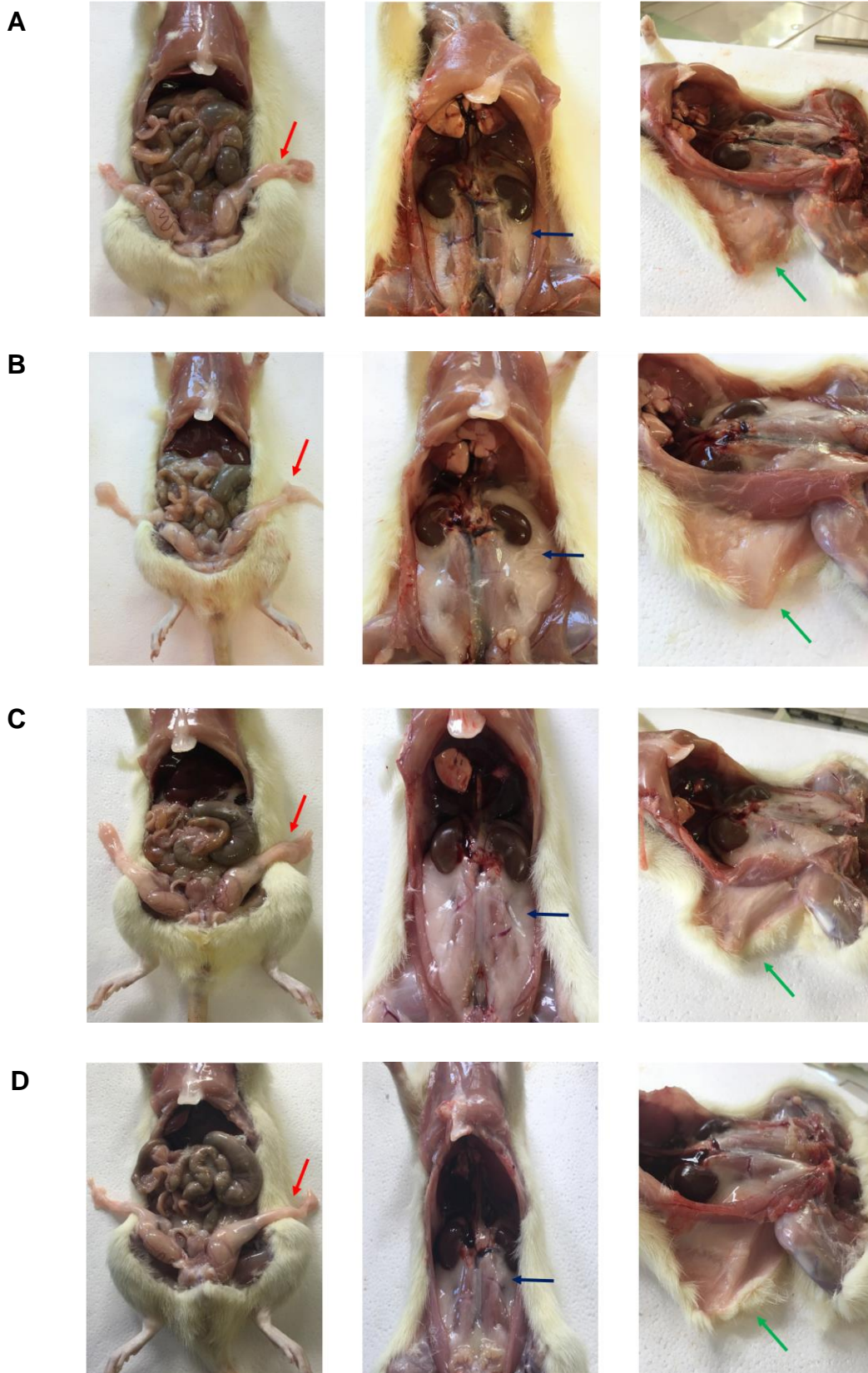
Fonte: SOUZA, 2018.

### 5.3.2 Massa dos depósitos de tecido adiposo

Nos ratos alimentados com a dieta padrão, a massa do tecido adiposo epididimal do grupo GCS ( $1,0 \pm 0,1$  g/100 g) não foi alterada pela suplementação alimentar com *S. platensis* nas doses de 25 ( $1,3 \pm 0,1$  g/100 g), 50 ( $1,0 \pm 0,1$  g/100 g) e 100 mg/kg ( $1,1 \pm 0,05$  g/100 g) ou pelo tratamento com sildenafil ( $1,2 \pm 0,1$  g/100 g) (Figura 16 e Gráfico 3A,  $n = 10$ ). Semelhantemente, o grupo GCS ( $2,1 \pm 0,2$  g/100 g) apresentou massa do tecido adiposo retroperitoneal similar aos grupos GC + SP25 ( $2,1 \pm 0,1$  g/100 g), GC + SP50 ( $1,6 \pm 0,2$  g/100 g), GC + SP100 ( $1,6 \pm 0,1$  g/100 g) e GC + Sild ( $1,9 \pm 0,1$  g/100 g) (Figura 16 e Gráfico 3B,  $n = 10$ ). Entretanto, a massa do tecido adiposo inguinal foi reduzida no grupo GC + SP100 ( $1,0 \pm 0,05$  g/100 g) quando comparado aos grupos GCS ( $1,6 \pm 0,1$  g/100 g), GC + SP25 ( $1,4 \pm 0,1$  g/100 g) e GC + Sild ( $1,4 \pm 0,1$  g/100 g), não diferindo do GC + SP50 ( $1,2 \pm 0,1$  g/100 g) (Figura 16 e Gráfico 3C,  $n = 10$ ).

Nos ratos que consumiram a dieta hipercalórica, a massa do tecido adiposo epididimal dos grupos GOS ( $2,0 \pm 0,1$  g/100 g) e GO + Sild ( $2,0 \pm 0,1$  g/100 g) foi superior ao grupo GCS ( $1,0 \pm 0,1$  g/100 g), não diferindo dos grupos GO + SP25 ( $1,6 \pm 0,1$  g/100 g), GO + SP50 ( $1,6 \pm 0,2$  g/100 g) e GO + SP100 ( $1,5 \pm 0,1$  g/100 g) (Figura 17 e Gráfico 4A,  $n = 10$ ). Além disso, a massa do tecido adiposo retroperitoneal do grupo GOS ( $3,5 \pm 0,3$  g/100 g) foi superior ao grupo GCS ( $2,1 \pm 0,2$  g/100 g). A suplementação alimentar com *S. platensis* nas doses de 25 ( $2,6 \pm 0,3$  g/100 g), 50 ( $2,3 \pm 0,3$  g/100 g) e 100 mg/kg ( $2,5 \pm 0,3$  g/100 g) ou o tratamento com sildenafil ( $2,6 \pm 0,2$  g/100 g) não alterou a massa dessa reserva adiposa (Figura 17 e Gráfico 4B,  $n = 10$ ). Ademais, a massa de tecido adiposo inguinal foi aumentada no grupo GOS ( $2,4 \pm 0,2$  g/100 g) quando comparado ao grupo GCS ( $1,6 \pm 0,1$  g/100 g), não apresentando diferença para o grupo GO + Sild ( $2,0 \pm 0,2$  g/100g). Porém, a suplementação com a alga nas doses de 25 ( $1,7 \pm 0,2$  g/100 g), 50 ( $1,6 \pm 0,1$  g/100 g) e 100 mg/kg ( $1,5 \pm 0,1$  g/100 g) preveniu o aumento nesse depósito adiposo quando comparado ao grupo GOS (Figura 17 e Gráfico 4C,  $n = 10$ ).

**Figura 16** – Tecido adiposo epididimal (seta vermelha), retroperitoneal (seta azul) e inguinal (seta verde) dos ratos dos grupos GCS (A), GC + SP25 (B), GC + SP50 (C), GC + SP100 (D) e GC + Sild (E).



(Continua)

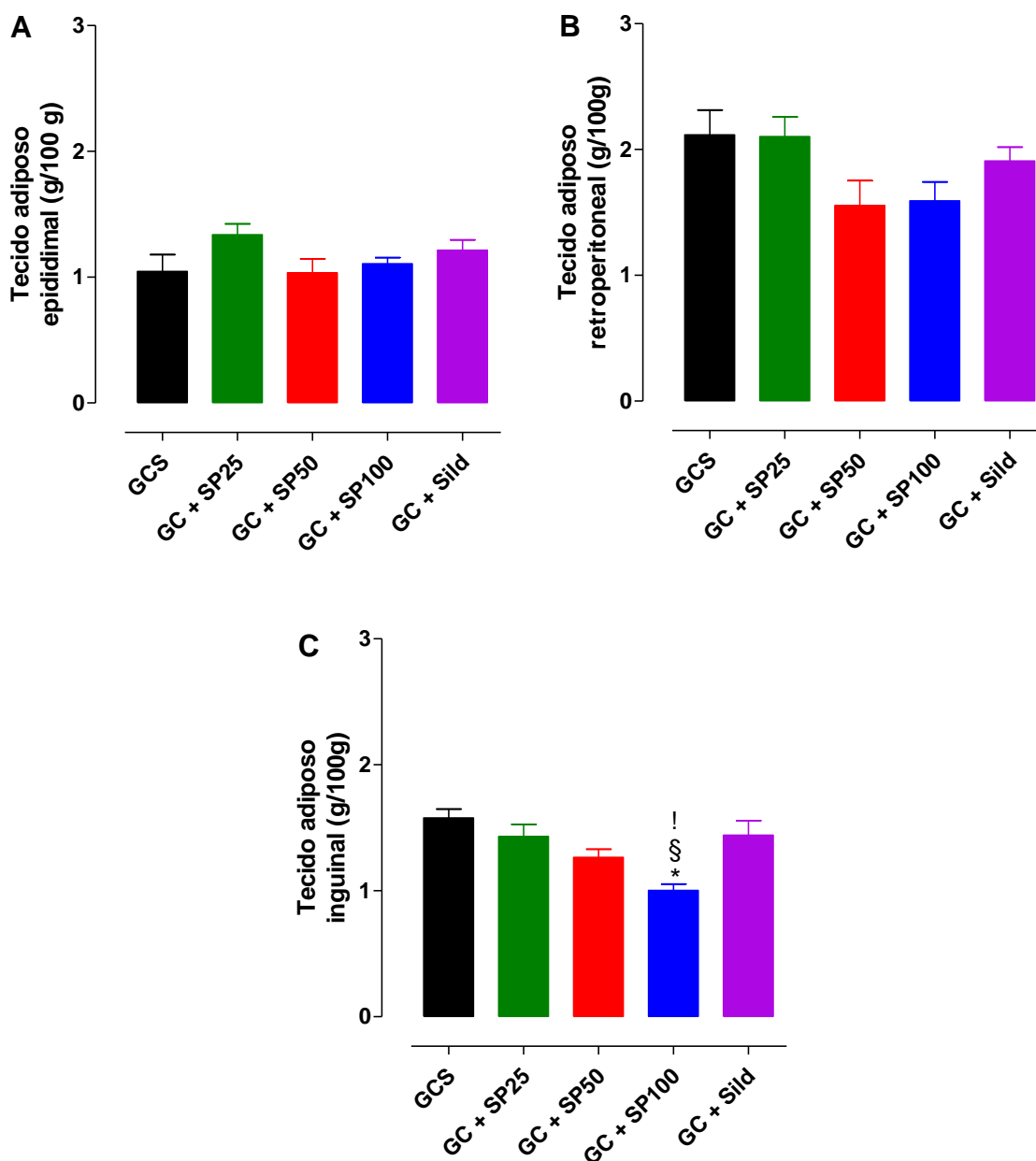
(Continuação)



GCS = grupo controle salina; GC + SP25, GC + SP50 e GC + SP100 = grupos alimentados com dieta padrão e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GC + Sild = grupo alimentado com dieta padrão e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

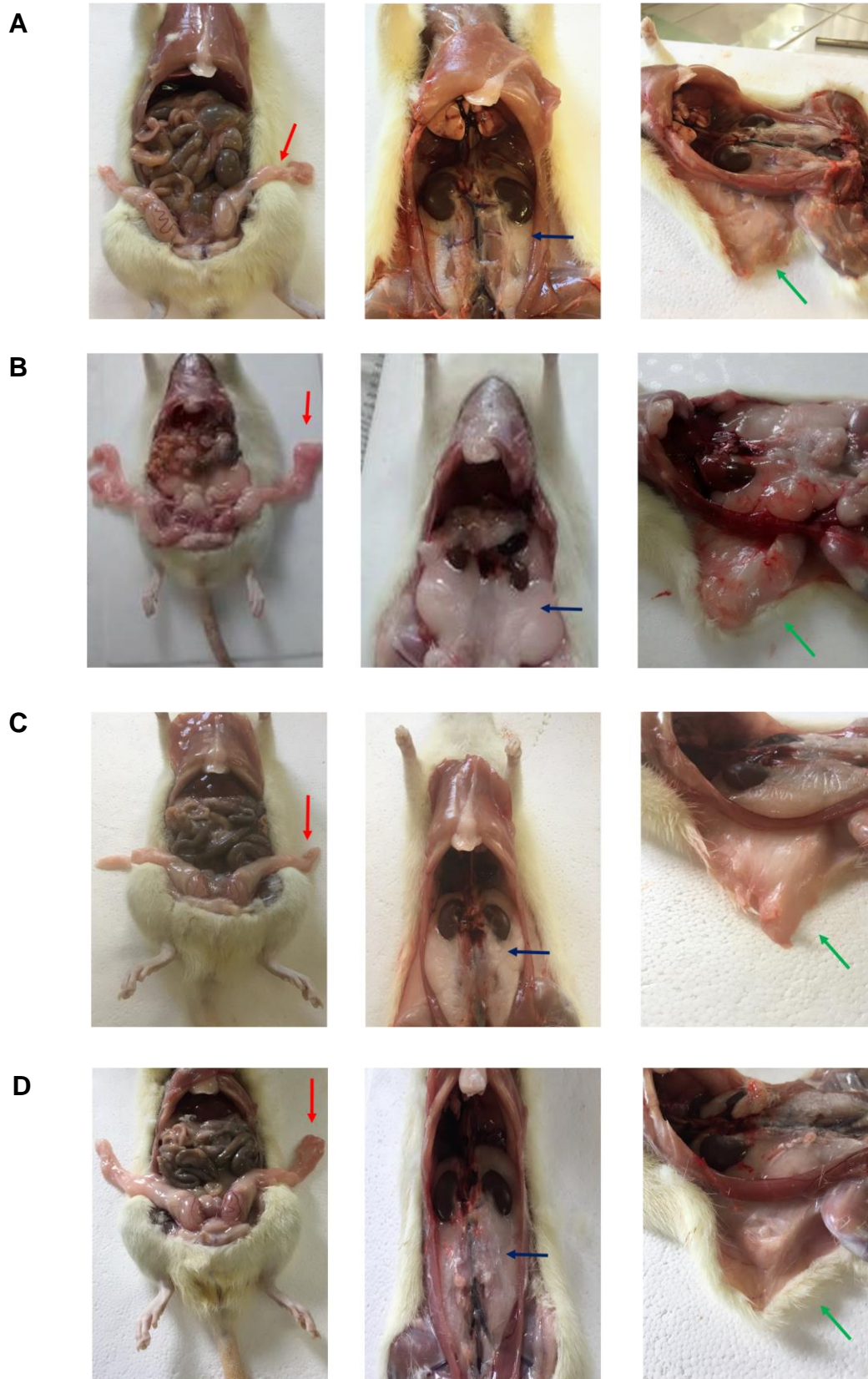
**Gráfico 3** – Massa dos tecidos adiposos epididimal (A), retroperitoneal (B) e inguinal (C) dos ratos dos grupos GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild.



As colunas e as barras verticais representam a média e o e.p.m., respectivamente (n = 10). ANOVA *one-way* seguido do pós-teste de Tukey. \* $p < 0,05$  (GCS vs. GC + SP100); § $p < 0,05$  (GC + SP25 vs. GC + SP100) e ! $p < 0,05$  (GC + Sild vs. GC + SP100). GCS = grupo controle salina; GC + SP25, GC + SP50 e GC + SP100 = grupos alimentados com dieta padrão e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GC + Sild = grupo alimentado com dieta padrão e tratado com sildenafila.

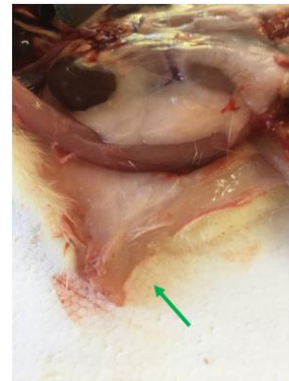
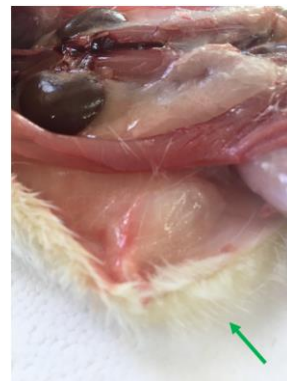
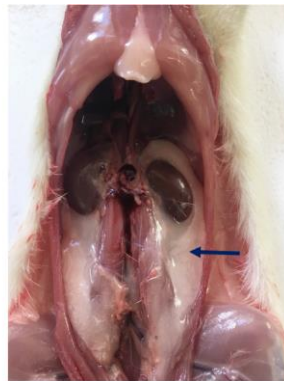
Fonte: SOUZA, 2018.

**Figura 17** – Tecido adiposo epididimal (seta vermelha), retroperitoneal (seta azul) e inguinal (seta verde) dos ratos dos grupos GCS (A), GOS (B), GO + SP25 (C), GO + SP50 (D), GO + SP100 (E) e GO + Sild (F).



(Continua)

(Continuação)

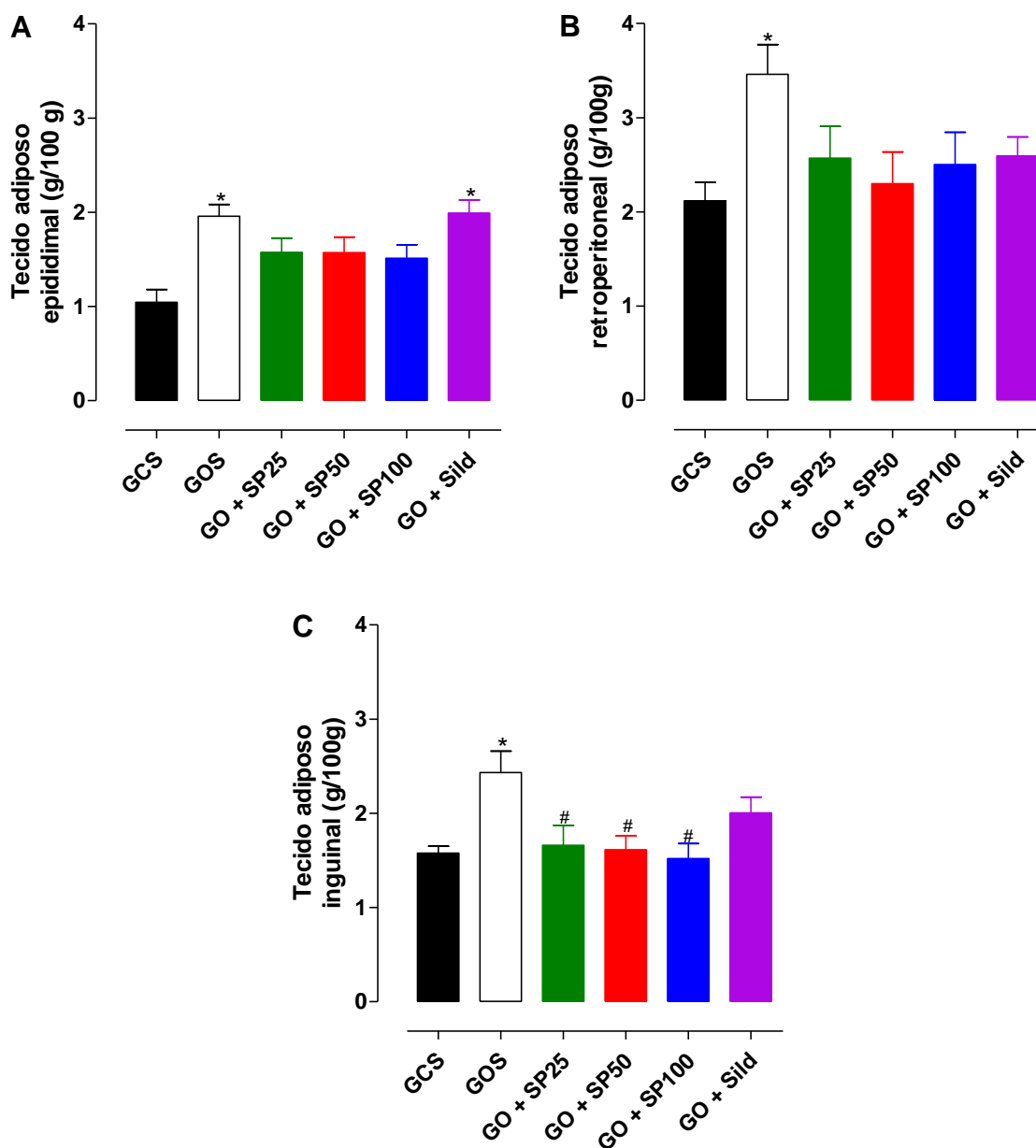
**E****F**

GCS = grupo controle salina; GOS = grupo obeso salina; GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GO + Sild = grupo alimentado com dieta hipercalórica e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.



**Gráfico 4** – Massa dos tecidos adiposos epididimal (A), retroperitoneal (B) e inguinal (C) dos ratos dos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild.



As colunas e as barras verticais representam a média e o e.p.m., respectivamente (n = 10). ANOVA *one-way* seguido do pós-teste de Tukey. \* $p < 0,05$  (GCS vs. GOS e GO + Sild) e # $p < 0,05$  (GOS vs. GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100). GCS = grupo controle salina; GOS = grupo obeso salina; GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GO + Sild = grupo alimentado com dieta hipercalórica e tratado com sildenafil.

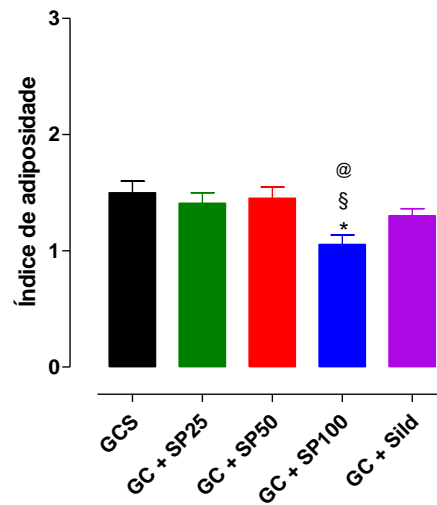
Fonte: SOUZA, 2018.

### 5.3.3 Índice de adiposidade

Nos ratos alimentados com a dieta padrão, o grupo GCS ( $1,5 \pm 0,1$ ) apresentou índice de adiposidade semelhante aos grupos GC + SP25 ( $1,4 \pm 0,1$ ), GC + SP50 ( $1,5 \pm 0,1$ ) e GC + Sild ( $1,3 \pm 0,06$ ). Porém, o grupo GC + SP100 ( $1,0 \pm 0,1$ ) apresentou redução nesse índice quando comparado aos grupos GCS, GC + SP25 e GC + SP50 (Gráfico 5,  $n = 10$ ).

Os ratos que consumiram a dieta hipercalórica e receberam a solução salina (NaCl 0,9%) ( $2,2 \pm 0,1$ ) apresentaram índice de adiposidade superior ao grupo GCS ( $1,5 \pm 0,1$ ) e aos ratos que consumiram a dieta hipercalórica e foram suplementados com *S. platensis* nas doses de 25 ( $1,6 \pm 0,1$ ), 50 ( $1,6 \pm 0,1$ ) e 100 mg/kg ( $1,6 \pm 0,2$ ), não diferindo dos ratos tratados com sildenafil ( $1,9 \pm 0,1$ ). Estes grupos suplementados com a alga, por sua vez, não apresentaram diferença em relação ao grupo GCS (Gráfico 6,  $n = 10$ ).

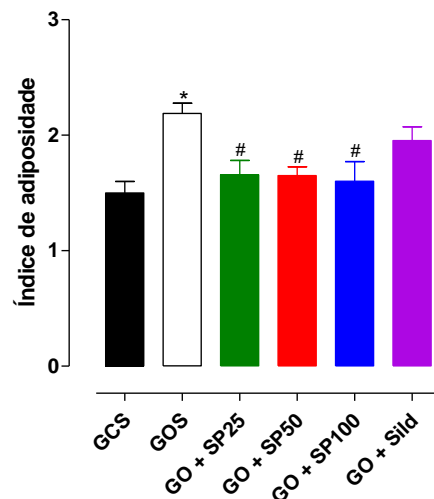
**Gráfico 5** – Índice de adiposidade dos ratos dos grupos GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild.



As colunas e as barras verticais representam a média e o e.p.m., respectivamente (n = 10). ANOVA *one-way* seguido do pós-teste de Tukey. \* $p < 0,05$  (GCS vs. GC + SP100); § $p < 0,05$  (GC + SP25 vs. GC + SP100) e @ $p < 0,05$  (GC + SP50 vs. GC + SP100). GCS = grupo controle salina; GC + SP25, GC + SP50 e GC + SP100 = grupos alimentados com dieta padrão e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GC + Sild = grupo alimentado com dieta padrão e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

**Gráfico 6** – Índice de adiposidade dos ratos dos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild.



As colunas e as barras verticais representam a média e o e.p.m., respectivamente (n = 10). ANOVA *one-way* seguido do pós-teste de Tukey. \* $p < 0,05$  (GCS vs. GOS) e # $p < 0,05$  (GOS vs. GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100). GCS = grupo controle salina; GOS = grupo obeso salina; GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GO + Sild = grupo alimentado com dieta padrão e tratado com sildenafil.

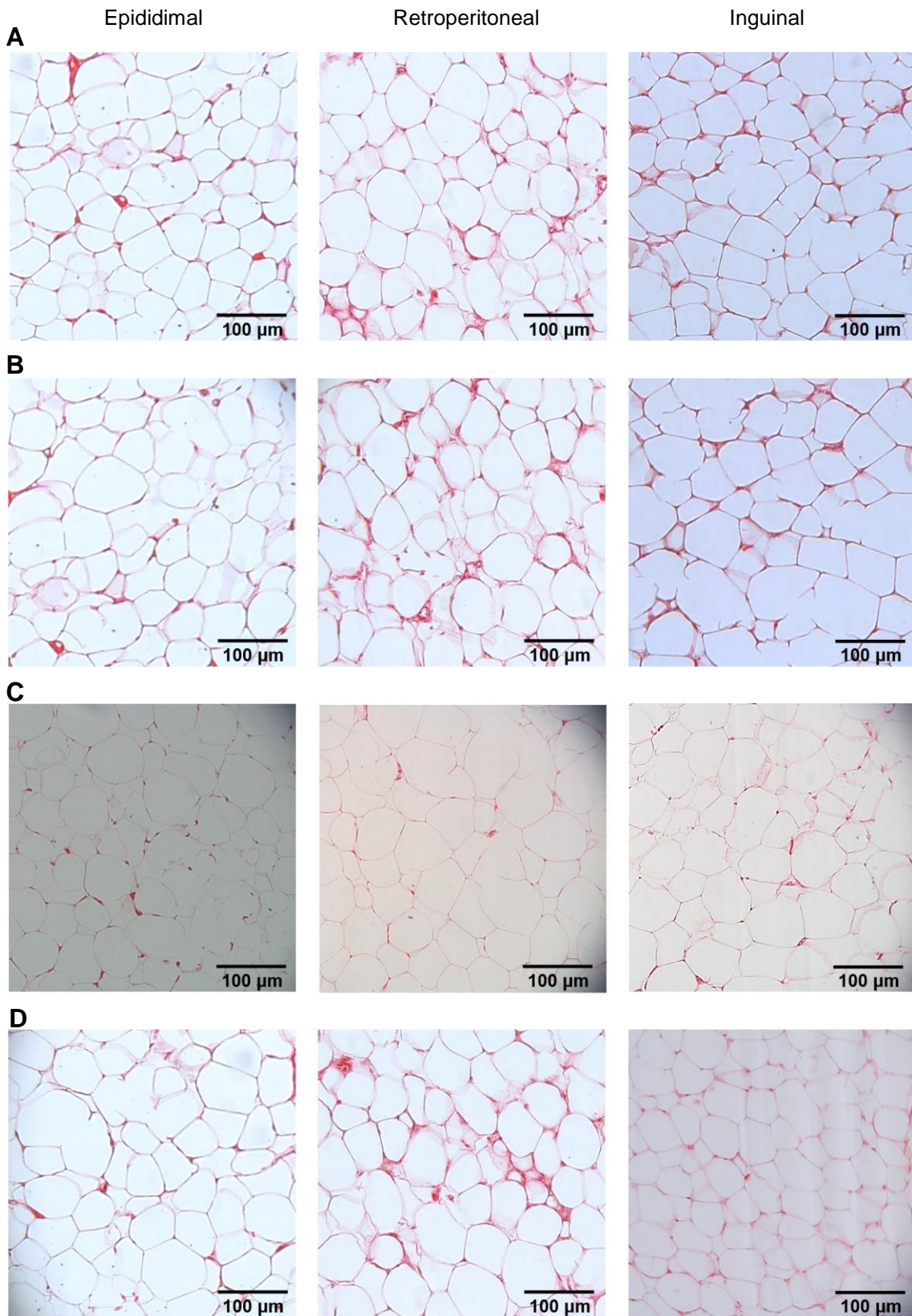
Fonte: SOUZA, 2018.

### 5.3.4 Morfometria do tecido adiposo

Nos ratos alimentados com a dieta padrão, o diâmetro dos adipócitos do tecido adiposo epididimal do grupo GCS ( $85,7 \pm 4,7 \mu\text{m}$ ) não foi alterado pela suplementação alimentar com *S. platensis* nas doses de 25 ( $82,9 \pm 2,7 \mu\text{m}$ ), 50 ( $81,0 \pm 2,8 \mu\text{m}$ ) e 100 mg/kg ( $86,0 \pm 2,5 \mu\text{m}$ ) ou pelo tratamento com sildenafil ( $85,6 \pm 5,1 \mu\text{m}$ ) (Figura 18 e Gráfico 7A,  $n = 5$ ). Semelhantemente, o grupo GCS ( $100,4 \pm 2,9 \mu\text{m}$ ) apresentou diâmetro dos adipócitos do tecido adiposo retroperitoneal similar aos grupos GC + SP25 ( $92,7 \pm 2,0 \mu\text{m}$ ), GC + SP50 ( $91,2 \pm 2,2 \mu\text{m}$ ), GC + SP100 ( $91,7 \pm 2,2 \mu\text{m}$ ) e GC + Sild ( $93,2 \pm 3,9 \mu\text{m}$ ) (Figura 18 e Gráfico 7B,  $n = 5$ ). Entretanto, o diâmetro dos adipócitos do tecido adiposo inguinal foi reduzido nos ratos suplementados com 100 mg/kg da alga ( $62,3 \pm 1,6 \mu\text{m}$ ) quando comparado aos grupos GCS ( $77,8 \pm 3,6 \mu\text{m}$ ), GC + SP25 ( $78,8 \pm 2,7 \mu\text{m}$ ) e GC + Sild ( $80,2 \pm 2,0 \mu\text{m}$ ), não diferindo do grupo GC + SP50 ( $72,7 \pm 2,2 \mu\text{m}$ ) (Figura 18 e Gráfico 7C,  $n = 5$ ).

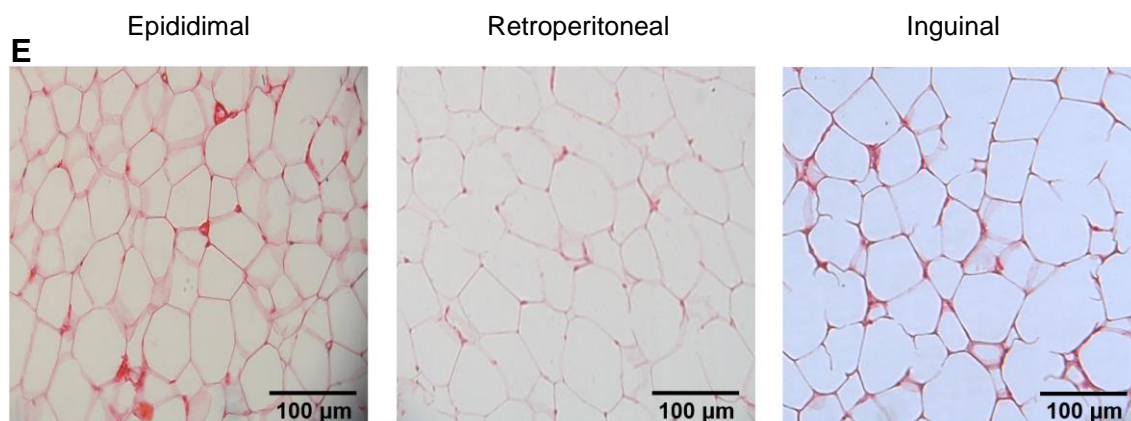
Nos ratos que consumiram a dieta hipercalórica, o diâmetro dos adipócitos do tecido adiposo epididimal do grupo GOS ( $99,6 \pm 2,1 \mu\text{m}$ ) foi superior ao observado no grupo GCS ( $85,7 \pm 4,7 \mu\text{m}$ ), não diferindo dos grupos GO + SP25 ( $93,8 \pm 3,2 \mu\text{m}$ ), GO + SP50 ( $97,5 \pm 2,7 \mu\text{m}$ ), GO + SP100 ( $97,2 \pm 2,2 \mu\text{m}$ ) e GO + Sild ( $94,7 \pm 3,2 \mu\text{m}$ ) (Figura 19 e Gráfico 8A,  $n = 5$ ). Além disso, o diâmetro dos adipócitos do tecido adiposo retroperitoneal do grupo GOS ( $130,5 \pm 4,5 \mu\text{m}$ ) foi superior ao grupo GCS ( $100,4 \pm 3,9 \mu\text{m}$ ). A suplementação com *S. platensis* nas doses de 25 ( $109,8 \pm 4,5 \mu\text{m}$ ), 50 ( $111,1 \pm 5,2 \mu\text{m}$ ) e 100 mg/kg ( $109,5 \pm 4,7 \mu\text{m}$ ) ou o tratamento com sildenafil ( $114,5 \pm 8,2 \mu\text{m}$ ) não alteraram o diâmetro dos adipócitos dessa reserva adiposa (Figura 19 e Gráfico 8B,  $n = 5$ ). Ademais, o diâmetro dos adipócitos do tecido adiposo inguinal foi aumentado no grupo GOS ( $102,7 \pm 2,6 \mu\text{m}$ ) quando comparado ao grupo GCS ( $77,8 \pm 3,6 \mu\text{m}$ ), não apresentando diferença para o grupo GO + Sild ( $88,3 \pm 5,1 \mu\text{m}$ ). Porém, a suplementação com *S. platensis* nas doses de 25 ( $75,1 \pm 5,1 \mu\text{m}$ ), 50 ( $75,0 \pm 2,3 \mu\text{m}$ ) e 100 mg/kg ( $71,6 \pm 4,0 \mu\text{m}$ ) preveniu o aumento do diâmetro dos adipócitos desse depósito adiposo nos ratos que consumiram a dieta hipercalórica quando comparado ao grupo GOS (Figura 19 e Gráfico 8C,  $n = 5$ ).

**Figura 18** – Microfotografia dos adipócitos epididimal, retroperitoneal e inguinal dos ratos dos grupos GCS (A), GC + SP25 (B), GC + SP50 (C), GC + SP100 (D) e GC + Sild (E).



(Continua)

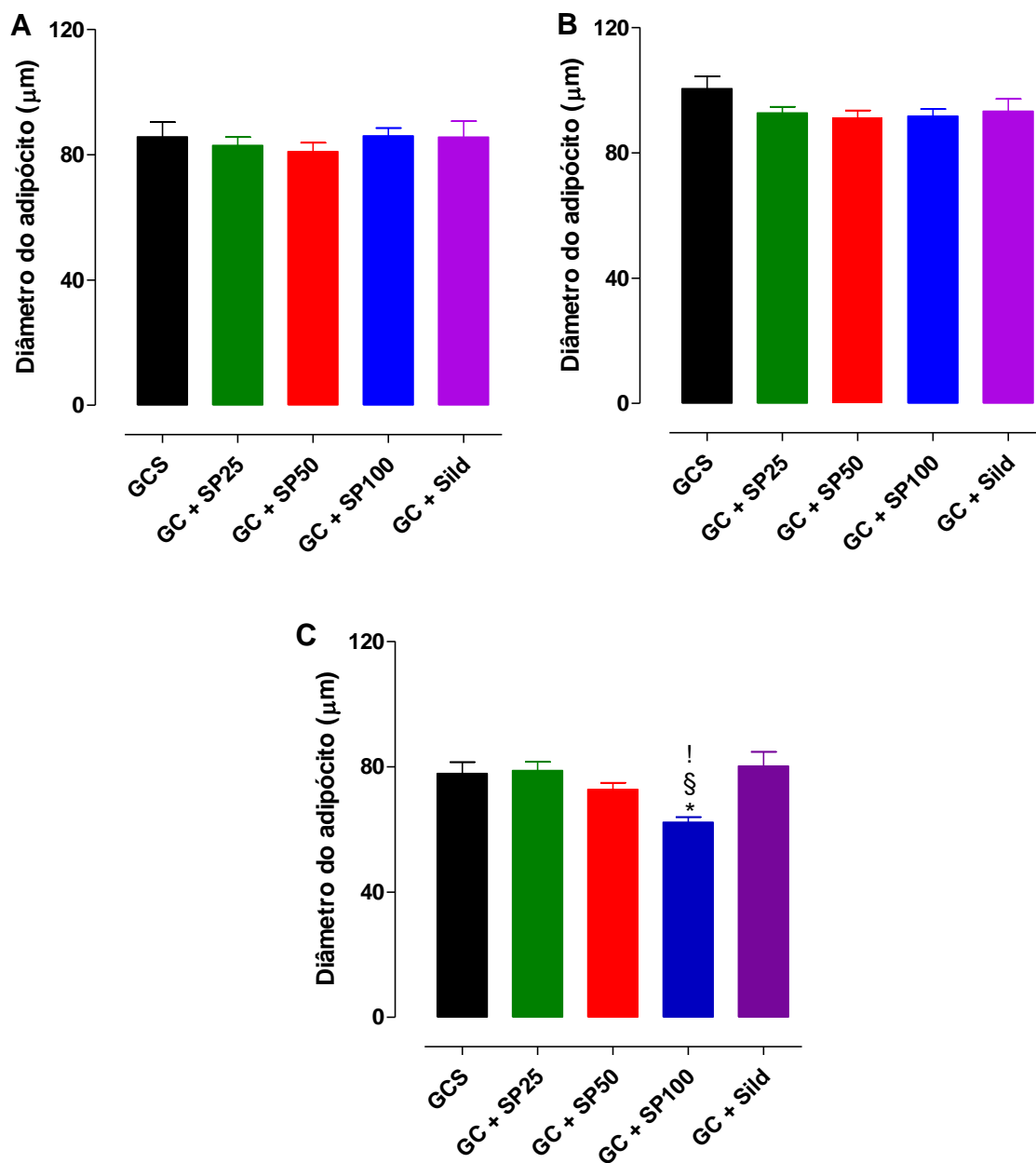
(Continuação)



Aumento na objetiva de 20x (n = 5). GCS = grupo controle salina; GC + SP25, GC + SP50 e GC + SP100 = grupos alimentados com dieta padrão e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GC + Sild = grupo alimentado com dieta padrão e tratado com sildenafila.

Fonte: SOUZA, 2018.

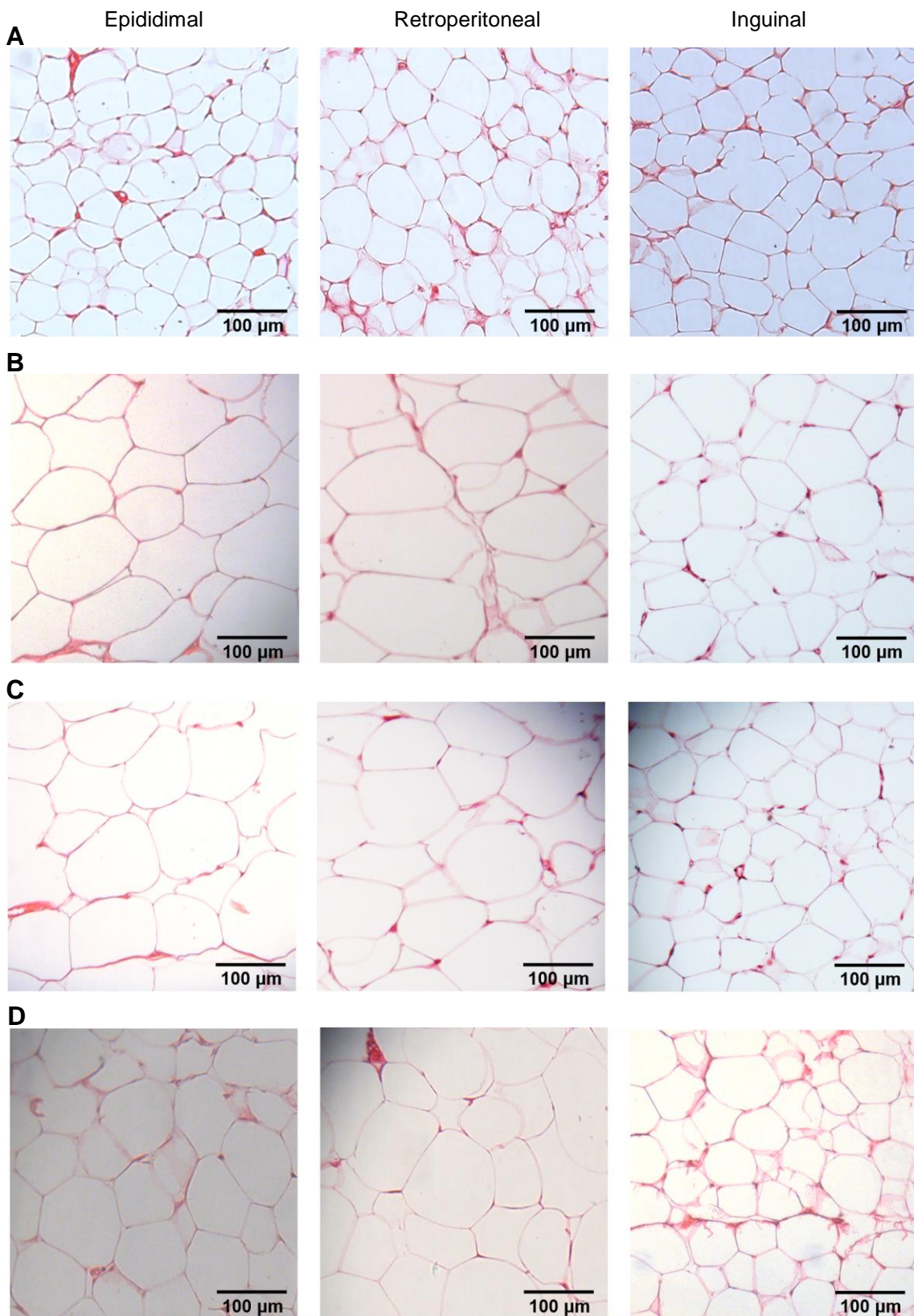
**Gráfico 7** – Diâmetro dos adipócitos dos tecidos adiposos epididimal (A), retroperitoneal (B) e inguinal (C) dos ratos dos grupos GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild.



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. \* $p < 0,05$  (GCS vs. GC + SP100); § $p < 0,05$  (GC + SP25 vs. GC + SP100) e ! $p < 0,05$  (GC + Sild vs. GC + SP100). GCS = grupo controle salina; GC + SP25, GC + SP50 e GC + SP100 = grupos alimentados com dieta padrão e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GC + Sild = grupo alimentado com dieta padrão e tratado com sildenafila.

Fonte: SOUZA, 2018.

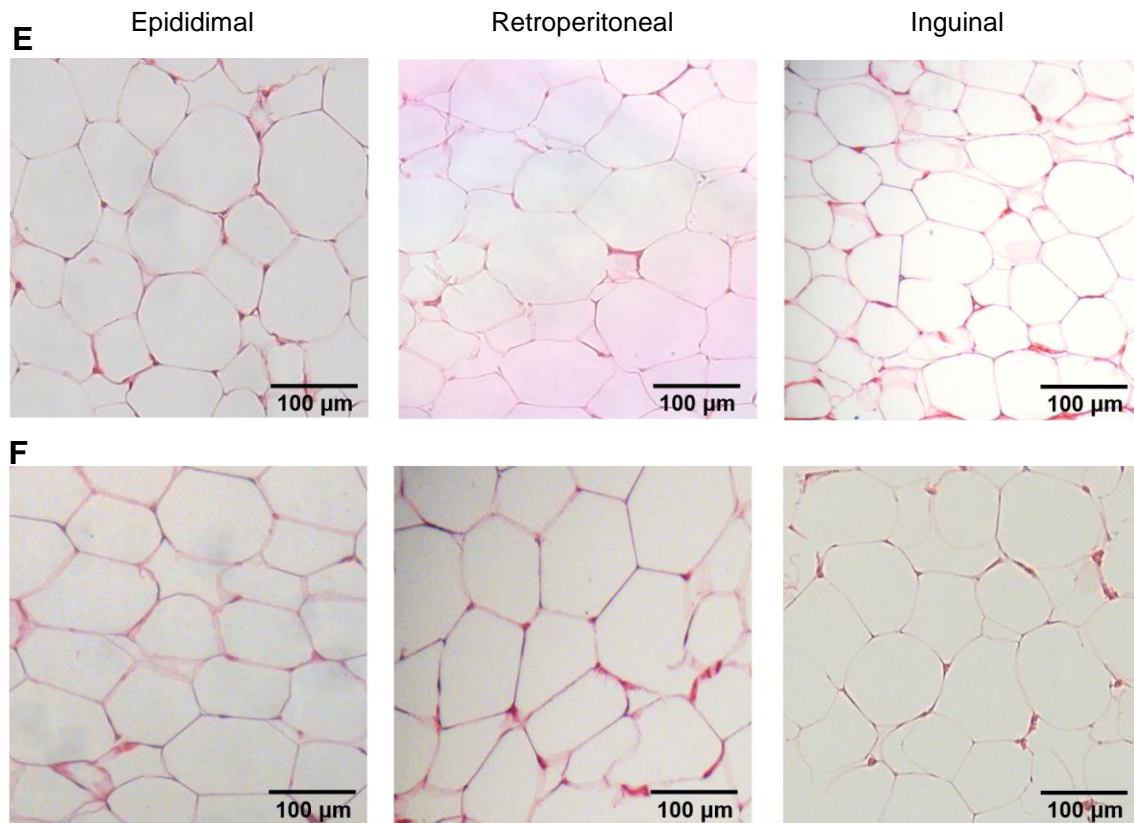
**Figura 19** – Microfotografia dos adipócitos epididimal, retroperitoneal e inguinal dos ratos dos grupos GCS (A), GOS (B), GO + SP25 (C), GO + SP50 (D), GO + SP100 (E) e GO + Sild (F).



(Continua)



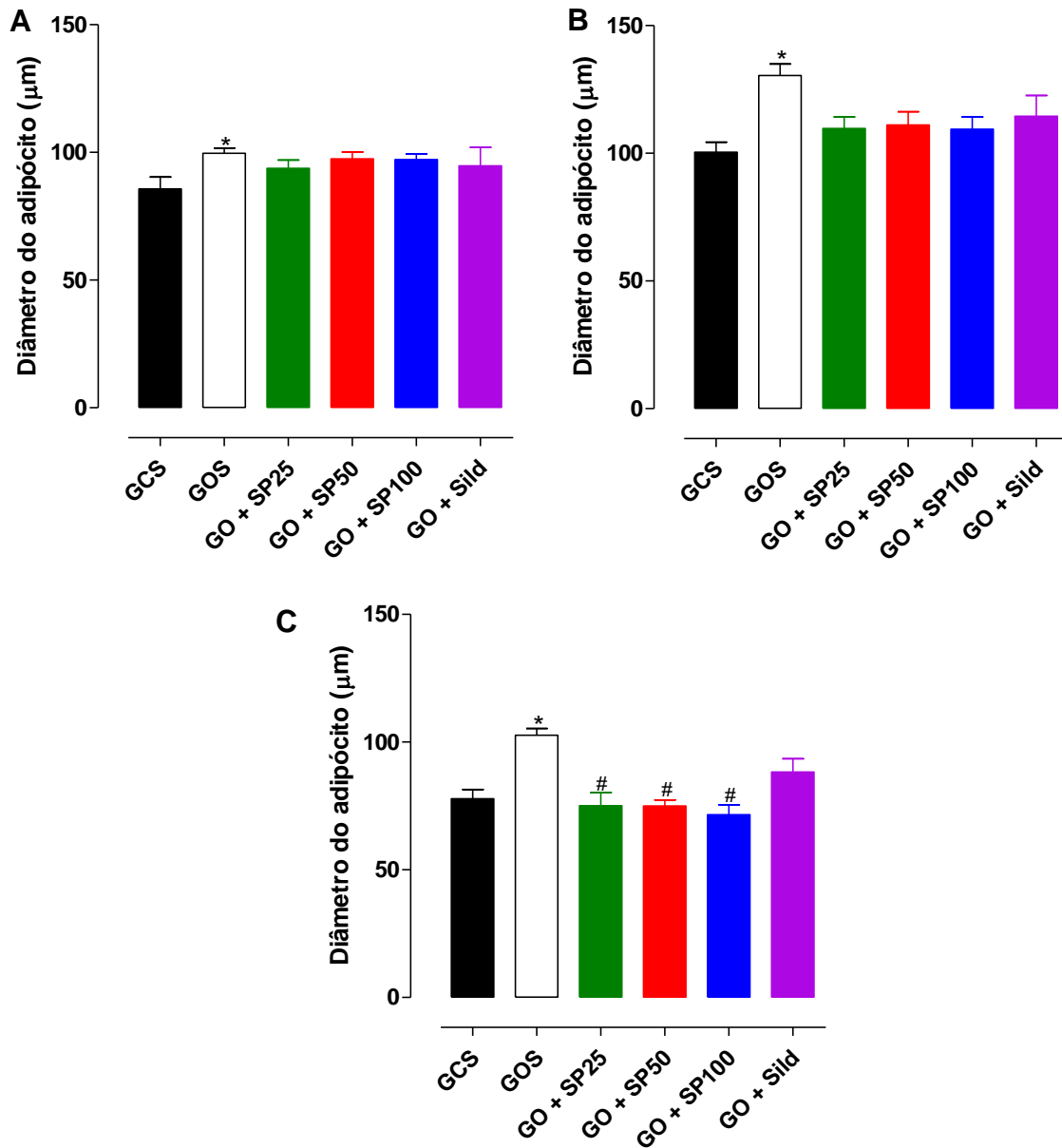
(Continuação)



Aumento na objetiva de 20x (n = 5). GCS = grupo controle salina; GOS = grupo obeso salina; GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GO + Sild = grupo alimentado com dieta hipercalórica e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

**Gráfico 8** – Diâmetro dos adipócitos dos tecidos adiposos epididimal (A), retroperitoneal (B) e inguinal (C) dos ratos dos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild.



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. \* $p < 0,05$  (GCS vs. GOS) e # $p < 0,05$  (GOS vs. GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100). GCS = grupo controle salina; GOS = grupo obeso salina; GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GO + Sild = grupo alimentados com dieta hipercalórica e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

#### **5.4 Efeito da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre parâmetros bioquímicos**

Não foram observadas diferenças nos parâmetros bioquímicos de glicose, triglicerídios, colesterol total e fração de HDL-c e LDL-c dos ratos que consumiram as dietas padrão ou hipercalórica (Tabelas 16 e 17, n = 10).

**Tabela 16** – Parâmetros bioquímicos dos ratos dos grupos GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild.

Grupos	Glicose (mg/dL)	Triglicerídios (mg/dL)	Colesterol total (mg/dL)	HDL-c (mg/dL)	LDL-c (mg/dL)
GCS	86,9 ± 4,5	67,5 ± 2,5	53,2 ± 3,4	17,4 ± 2,4	14,9 ± 1,6
GC + SP25	88,1 ± 2,3	66,0 ± 6,0	44,3 ± 2,8	18,3 ± 2,1	14,4 ± 3,0
GC + SP50	86,7 ± 3,5	68,0 ± 7,2	48,0 ± 3,4	19,7 ± 1,7	15,5 ± 2,4
GC + SP100	78,8 ± 3,5	61,5 ± 4,7	49,8 ± 3,1	17,2 ± 1,3	18,2 ± 2,9
GC + Sild	84,3 ± 3,4	69,0 ± 4,1	49,8 ± 3,9	16,2 ± 1,1	15,9 ± 2,8

HDL-c = fração de lipoproteína de alta densidade; LDL-c = fração de lipoproteína de baixa densidade; GCS = grupo controle salina; GC + SP25, GC + SP50 e GC + SP100 = grupos alimentados com dieta padrão e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GC + Sild = grupo alimentado com dieta padrão e tratado com sildenafila (n = 10). Fonte: SOUZA, 2018.

**Tabela 17** – Parâmetros bioquímicos dos ratos dos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild.

Grupos	Glicose (mg/dL)	Triglicerídios (mg/dL)	Colesterol total (mg/dL)	HDL-c (mg/dL)	LDL-c (mg/dL)
GCS	86,9 ± 4,5	67,5 ± 2,5	53,2 ± 3,4	17,4 ± 2,4	14,9 ± 1,6
GOS	91,4 ± 3,1	80,7 ± 7,2	53,0 ± 3,1	17,0 ± 1,8	14,3 ± 2,0
GO + SP25	86,2 ± 2,6	65,5 ± 6,4	41,3 ± 5,7	15,8 ± 2,0	12,9 ± 2,3
GO + SP50	89,7 ± 4,8	67,2 ± 4,8	48,3 ± 1,9	16,3 ± 1,0	13,5 ± 1,7
GO + SP100	87,2 ± 2,3	62,0 ± 3,4	50,7 ± 6,2	17,5 ± 1,1	14,0 ± 1,9
GO + Sild	85,6 ± 2,4	64,8 ± 8,9	47,3 ± 4,6	15,2 ± 1,1	13,0 ± 2,2

HDL-c = fração de lipoproteína de alta densidade; LDL-c = fração de lipoproteína de baixa densidade; GCS = grupo controle salina; GOS = grupo obeso salina; GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GO + Sild = grupo alimentado com dieta hipercalórica e tratado com sildenafila (n = 10). Fonte: SOUZA, 2018.

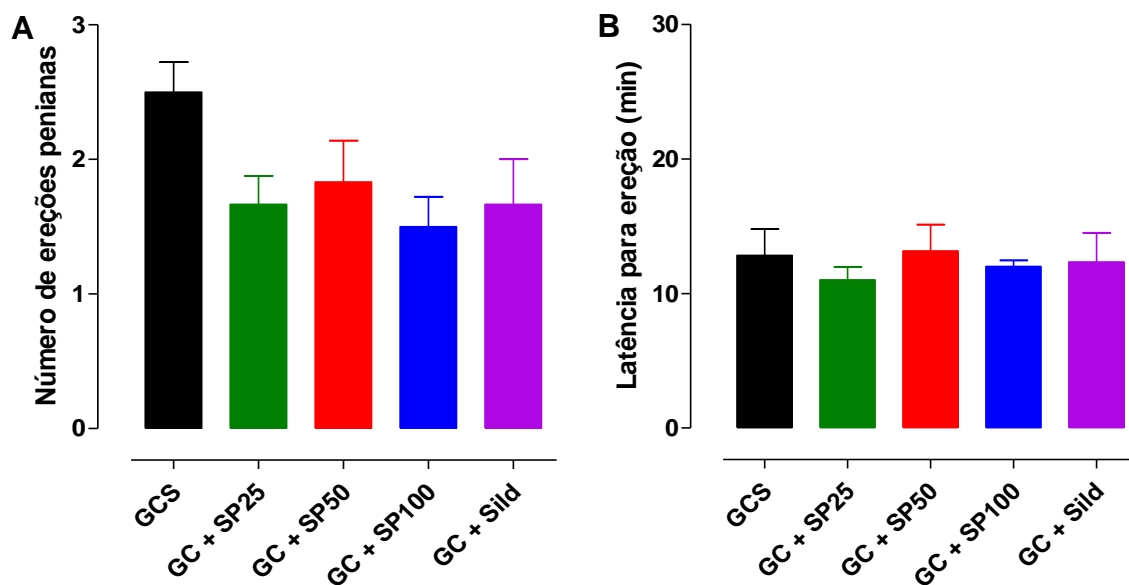
### 5.5 Efeito da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre a ereção peniana induzida pela R-(-)-apomorfina

Não foi observada diferença no número de ereções penianas e na latência para a ereção entre os grupos alimentados com a dieta padrão (Gráfico 9, n = 6).

O número de ereções penianas do grupo GCS ( $2,5 \pm 0,2$ ) foi superior ao grupo GOS ( $0,5 \pm 0,2$ ). Quando os ratos consumiram a dieta hipercalórica e foram suplementados com *S. platensis* nas doses de 25 ( $1,2 \pm 0,3$ ) e 50 mg/kg ( $1,5 \pm 0,2$ ) não foi observada diferença para o grupo GOS, porém o grupo GO + SP25 apresentou menos ereções penianas que o grupo GCS. Ademais, os grupos GO + SP100 ( $1,7 \pm 0,3$ ) e GO + Sild ( $1,7 \pm 0,2$ ) aumentaram o número de ereções penianas quando comparado ao grupo GOS, não diferindo do grupo GCS (Gráfico 10A, n = 6).

A latência para obter a ereção peniana no grupo GOS ( $23,5 \pm 3,1$  min) foi superior ao grupo GCS ( $12,8 \pm 1,9$  min). Nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica, em relação ao grupo GOS, esse parâmetro não foi alterado pela suplementação com 25 mg/kg da alga ( $15,8 \pm 2,9$  min), mas foi reduzido pela suplementação com *S. platensis* nas doses de 50 ( $9,3 \pm 2,6$  min) e 100 mg/kg ( $9,8 \pm 1,1$  min) ou pelo tratamento com sildenafil ( $7,0 \pm 0,4$  min), não diferindo do grupo GCS (Gráfico 10B, n = 6).

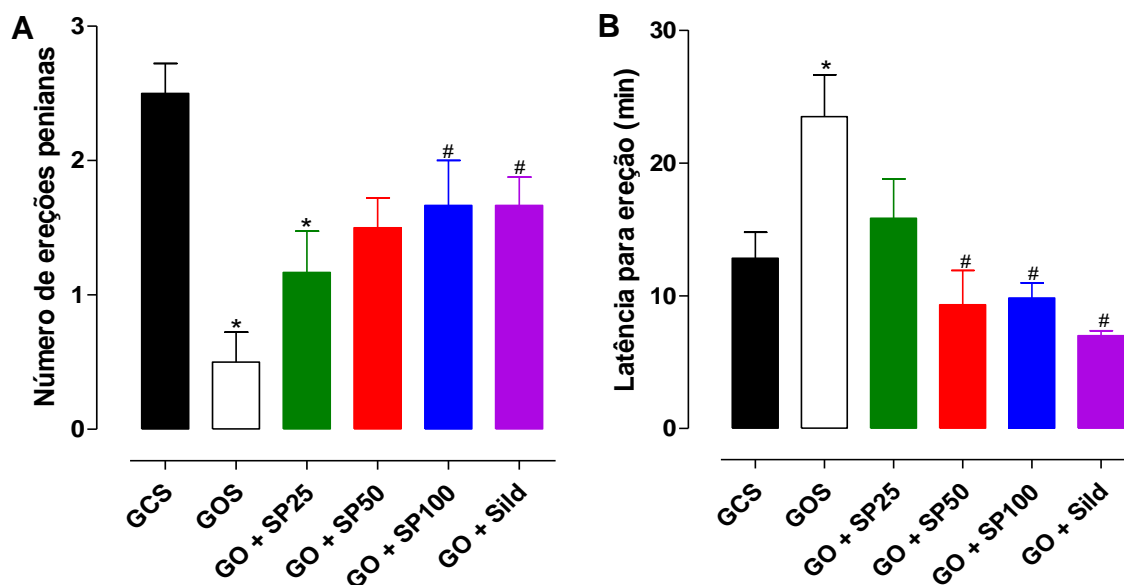
**Gráfico 9** – Número de ereções penianas (A) e latência para a ereção peniana (B) dos ratos dos grupos GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild.



As colunas e as barras verticais representam a média e o e.p.m., respectivamente (n = 6). GCS = grupo controle salina; GC + SP25, GC + SP50 e GC + SP100 = grupos alimentados com dieta padrão e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GC + Sild = grupo alimentado com dieta padrão e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

**Gráfico 10** – Número de ereções penianas (A) e latência para a ereção peniana (B) dos ratos dos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild.



As colunas e as barras verticais representam a média e o e.p.m., respectivamente ( $n = 6$ ). ANOVA *one-way* seguido do pós-teste de Tukey. \* $p < 0,05$  (GCS vs. GOS e GO + SP25) e # $p < 0,05$  (GOS vs. GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild). GCS = grupo controle salina; GOS = grupo obeso salina; GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GO + Sild = grupo alimentado com dieta hipercalórica e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

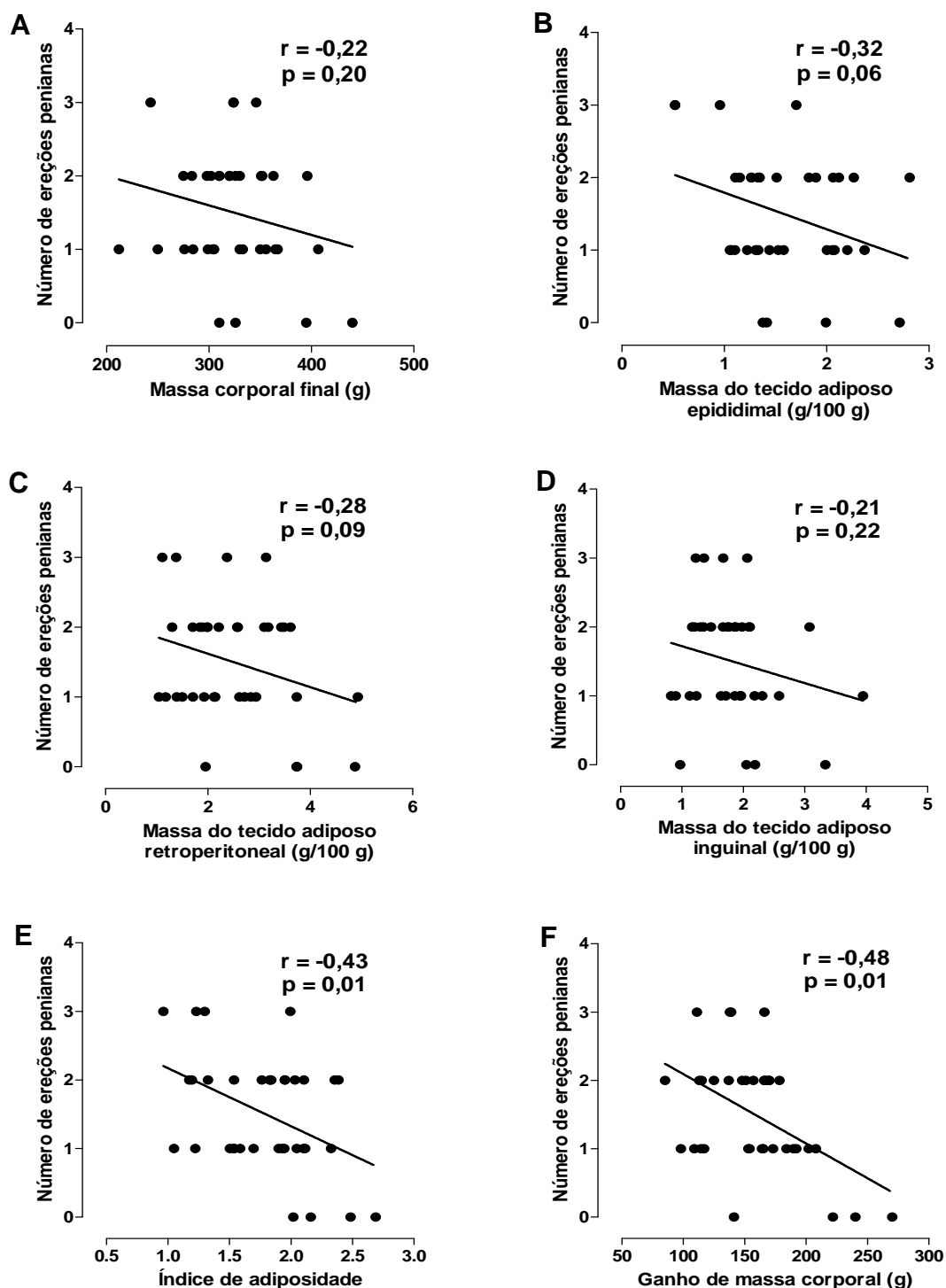
### 5.5.1 Correlação entre os parâmetros da obesidade experimental e a função erétil dos ratos Wistar

A correlação negativa do número de ereções penianas com a massa corporal final ( $r = -0,22$ ;  $p = 0,20$ ) e a massa relativa dos tecidos adiposos epididimal ( $r = -0,32$ ;  $p = 0,06$ ), retroperitoneal ( $r = -0,28$ ;  $p = 0,09$ ) e inguinal ( $r = -0,21$ ;  $p = 0,22$ ) não foi significativa. Entretanto, observou-se uma correlação negativa moderada do número de ereções penianas com o índice de adiposidade ( $r = -0,43$ ;  $p = 0,01$ ) e o ganho de massa corporal ( $r = -0,48$ ;  $p = 0,01$ ) (Gráfico 11,  $n = 6$ ).

A correlação positiva da latência para a ereção peniana com a massa corporal final ( $r = 0,32$ ;  $p = 0,06$ ) e a massa relativa dos tecidos adiposos epididimal ( $r = 0,03$ ;  $p = 0,86$ ), retroperitoneal ( $r = 0,33$ ;  $p = 0,06$ ) e inguinal ( $r = 0,16$ ;  $p = 0,36$ ) não foi significativa. Entretanto, observou-se uma correlação positiva fraca da latência para obter a ereção peniana com o índice de adiposidade ( $r = 0,37$ ;  $p = 0,03$ ) e o ganho de massa corporal ( $r = 0,30$ ;  $p = 0,02$ ) (Gráfico 12,  $n = 6$ ).



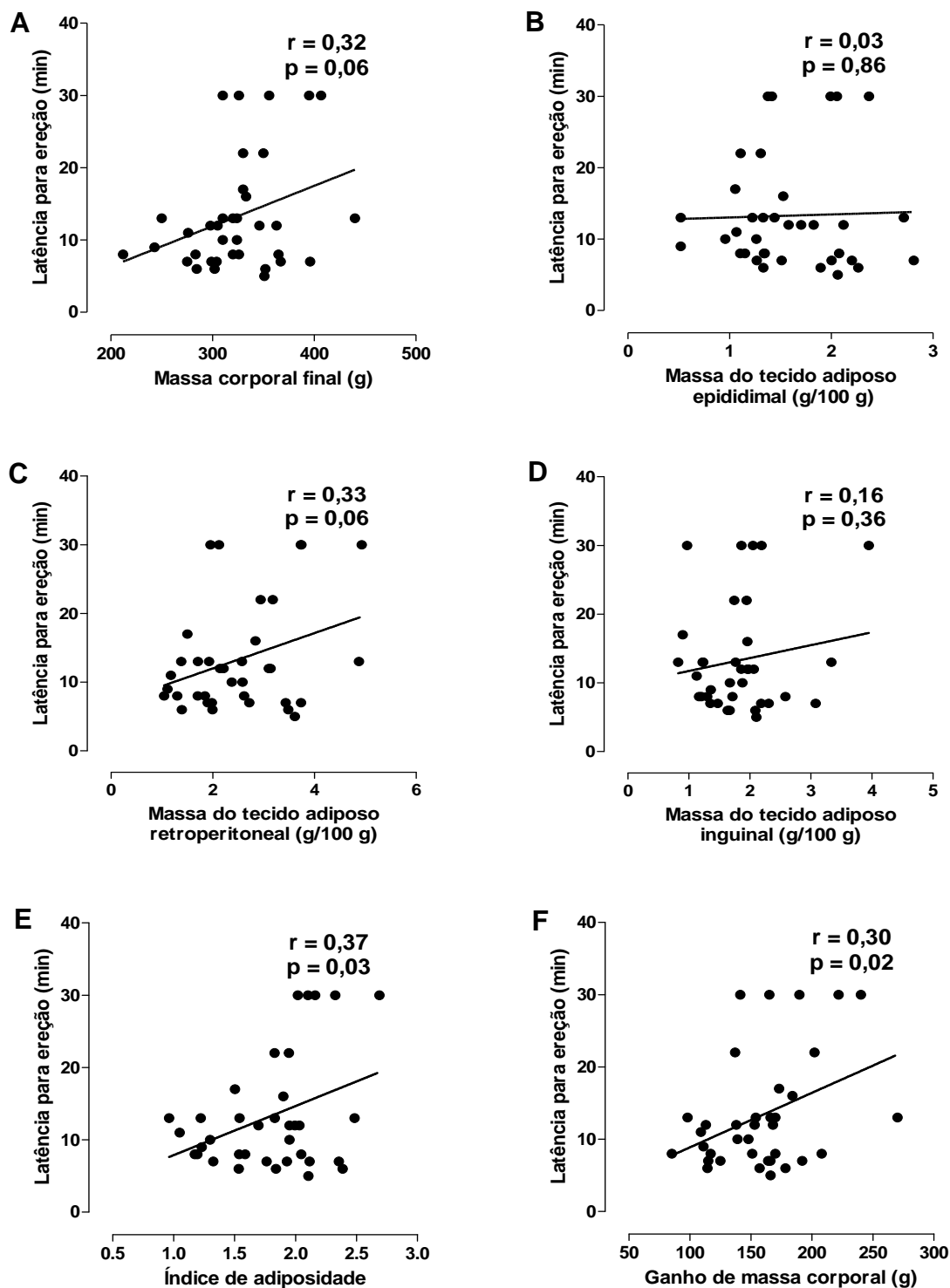
**Gráfico 11** – Correlação entre o número de ereções penianas e a massa corporal final (A), a massa dos tecidos adiposos epididimal (B), retroperitoneal (C) e inguinal (D), o índice de adiposidade (E) e o ganho de massa corporal (F) dos ratos dos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild.



GCS = grupo controle salina; GOS = grupo obeso salina; GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GO + Sild = grupo alimentado com dieta hipercalórica e tratado com sildenafila (n = 6).

Fonte: SOUZA, 2018.

**Gráfico 12** – Correlação entre a latência para a ereção peniana e a massa corporal final (A), a massa dos tecidos adiposos epididimal (B), retroperitoneal (C) e inguinal (D), o índice de adiposidade (E) e o ganho de massa corporal (F) dos ratos dos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild.



GCS = grupo controle salina; GOS = grupo obeso salina; GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GO + Sild = grupo alimentado com dieta hipercalórica e tratado com sildenafil (n = 6).

Fonte: SOUZA, 2018.

## 5.6 Efeito da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre a reatividade contrátil do corpo cavernoso isolado de rato

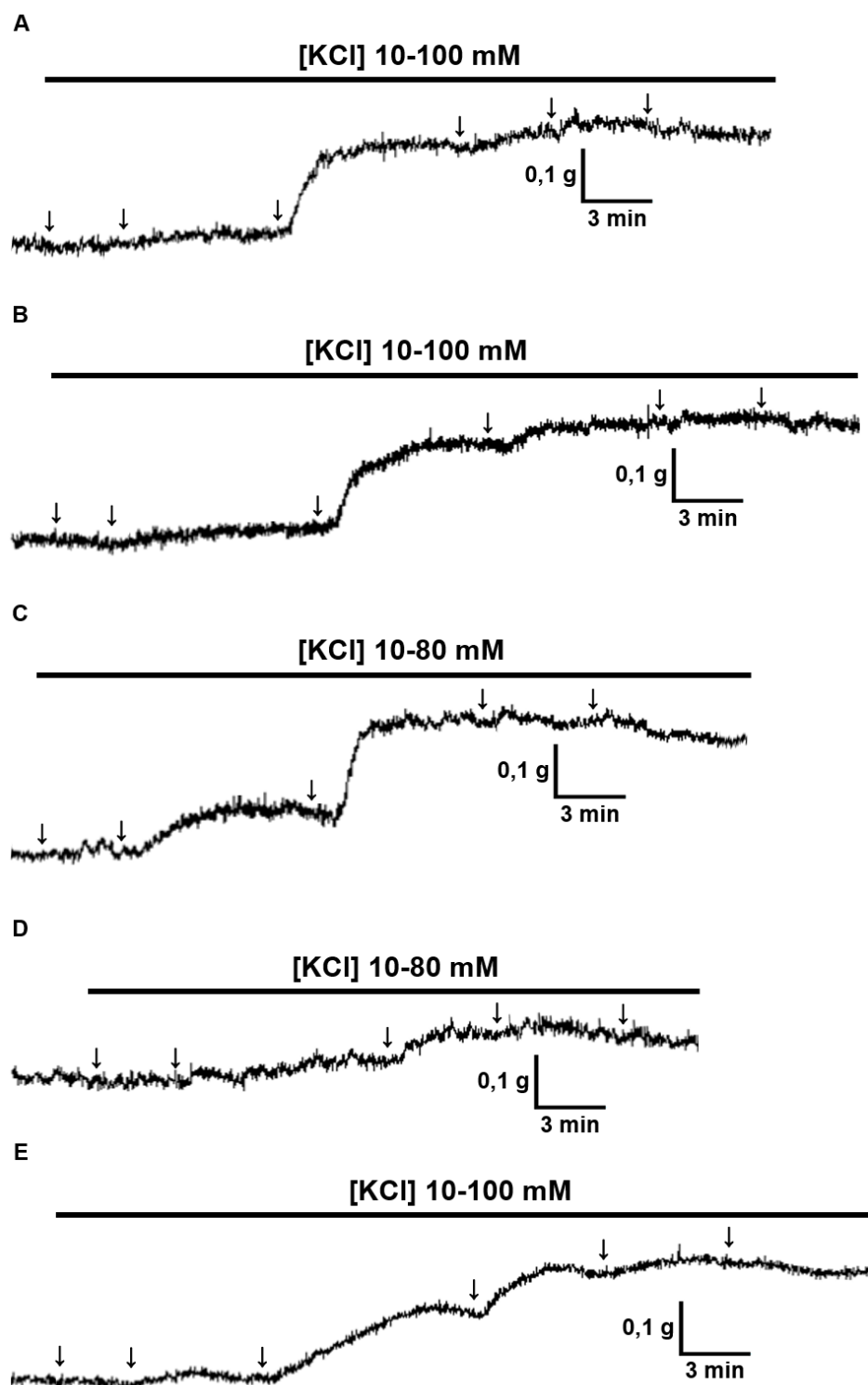
### 5.6.1 Efeito da suplementação com *S. platensis* sobre o acoplamento eletromecânico de contração do corpo cavernoso isolado de rato

#### 5.6.1.1 Efeito da suplementação com *S. platensis* sobre a curva cumulativa de KCl

Nos ratos alimentados com a dieta padrão, a suplementação com *S. platensis* na dose de 100 mg/kg reduziu a eficácia do agente contrátil KCl, conforme o valor de  $E_{max}$  foi reduzido de 100% (GCS) para  $62,0 \pm 7,3\%$ . Entretanto, as curvas cumulativas ao KCl obtidas para os grupos GC + SP25 ( $E_{max} = 98,0 \pm 5,8\%$ ), GC + SP50 ( $E_{max} = 106,0 \pm 9,3\%$ ) e GC + Sild ( $E_{max} = 92,4 \pm 13,3\%$ ) apresentaram eficácia contrátil semelhante ao grupo GCS. Além disso, não foi observada diferença quanto à potência do agente contrátil, conforme os valores de  $pD_2$  dos grupos GC + SP25 ( $pD_2 = 1,5 \pm 0,01$ ), GC + SP50 ( $pD_2 = 1,4 \pm 0,02$ ), GC + SP100 ( $pD_2 = 1,4 \pm 0,03$ ) e GC + Sild ( $pD_2 = 1,4 \pm 0,04$ ) foram semelhantes ao grupo GCS ( $pD_2 = 1,4 \pm 0,03$ ) (Figura 20, Gráfico 13 e Tabela 18,  $n = 5$ ).

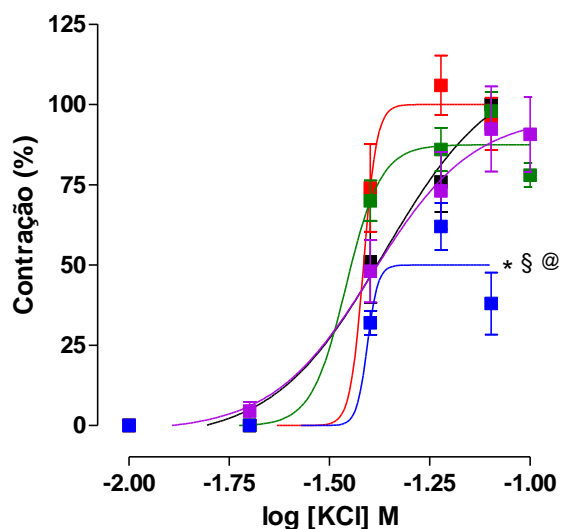
Nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica, a curva concentrações-resposta cumulativa ao KCl do grupo GOS foi potencializada e apresentou aumento na eficácia contrátil ( $E_{max} = 240,9 \pm 23,1\%$ ;  $pD_2 = 1,6 \pm 0,03$ ) quando comparada ao grupo GCS ( $E_{max} = 100\%$ ;  $pD_2 = 1,4 \pm 0,03$ ). A suplementação com 25 mg/kg da alga ( $E_{max} = 111,4 \pm 19,3\%$ ) preveniu o aumento da eficácia contrátil vista no grupo GOS ( $E_{max} = 240,9 \pm 23,1\%$ ). Porém, a suplementação com 50 ( $E_{max} = 184,6 \pm 8,6\%$ ) e 100 mg/kg de *S. platensis* ( $E_{max} = 189,8 \pm 12,5\%$ ) ou o tratamento com sildenafil ( $E_{max} = 228,7 \pm 16,6\%$ ) não reduziu a eficácia contrátil do KCl, uma vez que não diferiu do grupo GOS. Apesar disso, a potência contrátil do KCl foi reduzida nos grupos GO + SP100 ( $pD_2 = 1,4 \pm 0,04$ ) e GO + Sild ( $pD_2 = 1,4 \pm 0,06$ ) quando comparado ao grupo GOS ( $pD_2 = 1,6 \pm 0,03$ ) (Figura 21, Gráfico 14 e Tabela 19,  $n = 5$ ).

**Figura 20** – Registros representativos do efeito contrátil do KCl em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GCS (A), GC + SP25 (B), GC + SP50 (C), GC + SP100 (D) e GC + Sild (E).



As setas para baixo representam a adição cumulativa de KCl. GCS = grupo controle salina; GC + SP25, GC + SP50 e GC + SP100 = grupos alimentados com dieta padrão e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GC + Sild = grupo alimentado com dieta padrão e tratado com sildenafil. Fonte: SOUZA, 2018.

**Gráfico 13** – Curvas concentrações-resposta cumulativas ao KCl dos grupos GCS (■), GC + SP25 (■), GC + SP50 (■), GC + SP100 (■) e GC + Sild (■) 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. \* $p < 0,05$  (GCS vs. GC + SP100), § $p < 0,05$  (GC + SP25 vs. GC + SP100) e @ $p < 0,05$  (GC + SP50 vs. GC + SP100). GCS = grupo controle salina; GC + SP25, GC + SP50 e GC + SP100 = grupos alimentados com dieta padrão e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GC + Sild = grupo alimentado com dieta padrão e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

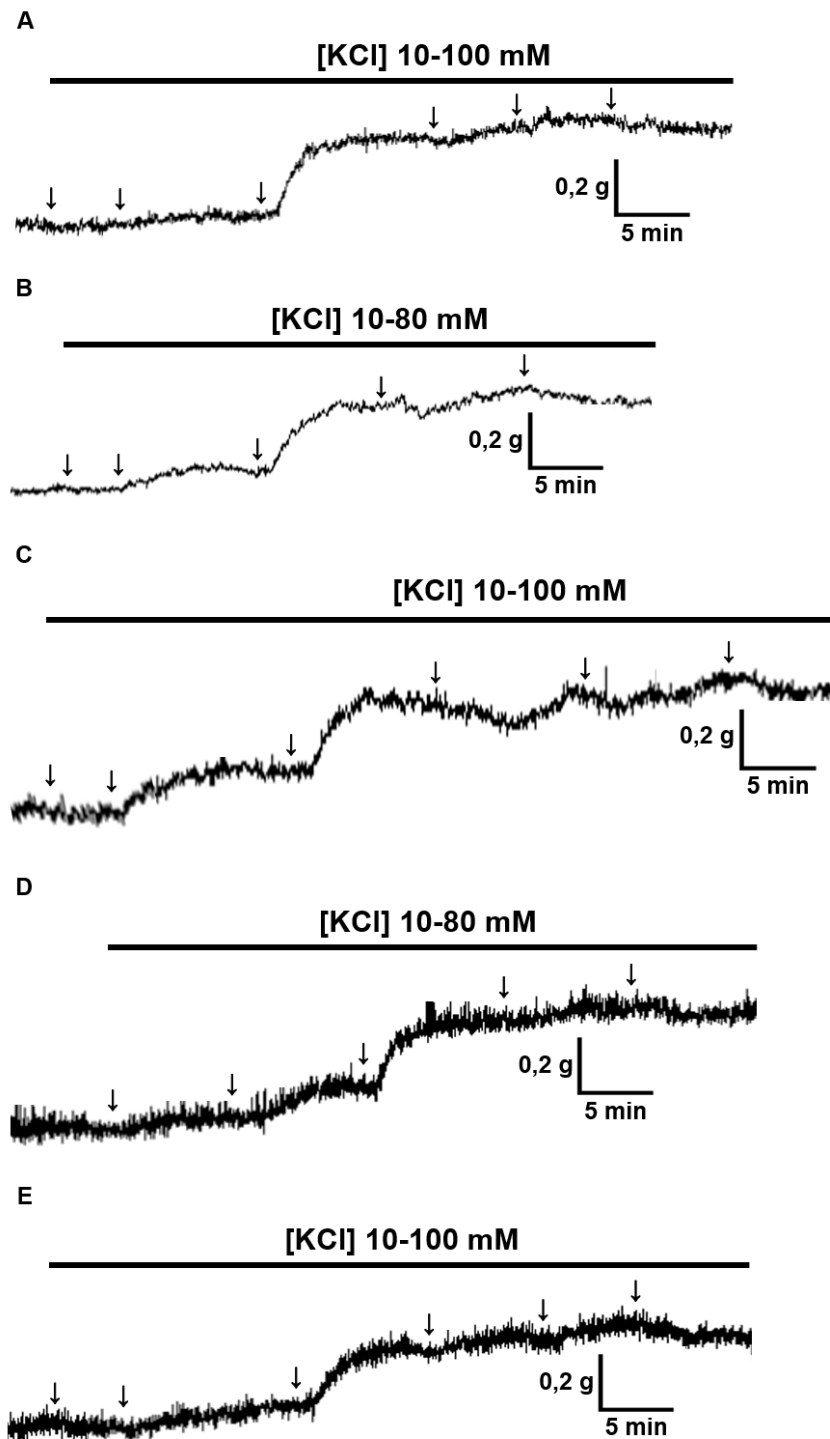
**Tabela 18** – Valores de  $E_{max}$  e de  $pD_2$  do KCl nos grupos GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild em corpo cavernoso isolado de rato.

Grupos	$E_{max}$ (%)	$pD_2$
GCS	100	$1,4 \pm 0,03$
GC + SP25	$98,0 \pm 5,8$	$1,5 \pm 0,01$
GC + SP50	$106,0 \pm 9,3$	$1,4 \pm 0,02$
GC + SP100	$62,0 \pm 7,3^{*§@}$	$1,4 \pm 0,03$
GC + Sild	$92,4 \pm 13,3$	$1,4 \pm 0,04$

ANOVA *one-way* seguido do pós-teste de Tukey. \* $p < 0,05$  (GCS vs. GC + SP100), § $p < 0,05$  (GC + SP25 vs. GC + SP100) e @ $p < 0,05$  (GC + SP50 vs. GC + SP100) ( $n = 5$ ). GCS = grupo controle salina; GC + SP25, GC + SP50 e GC + SP100 = grupos alimentados com dieta padrão e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GC + Sild = grupo alimentado com dieta padrão e tratado com sildenafil.

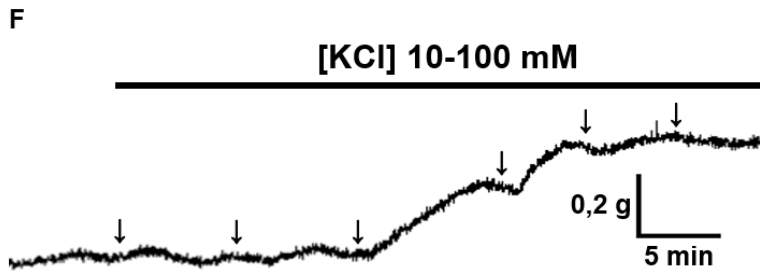
Fonte: SOUZA, 2018.

**Figura 21** – Registros representativos do efeito contrátil do KCl em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GCS (A), GOS (B), GO + SP25 (C), GO + SP50 (D), GO + SP100 (E) e GO + Sild (F).



(Continua)

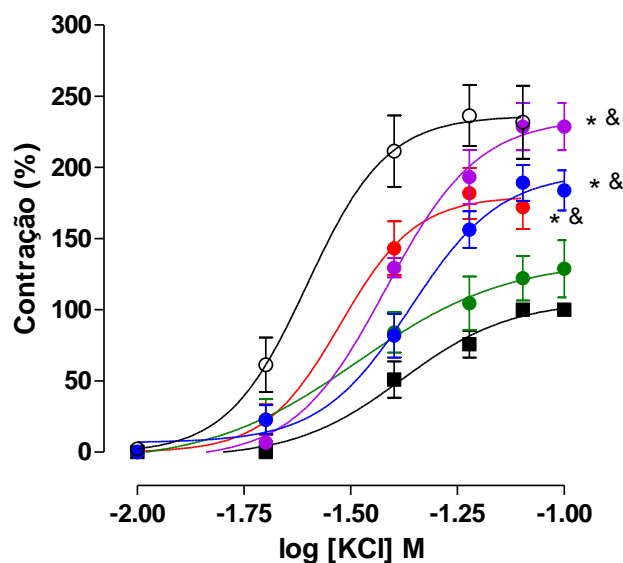
(Continuação)



As setas para baixo representam a adição cumulativa de KCl. GCS = grupo controle salina; GOS = grupo obeso salina; GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GO + Sild = grupo alimentado com dieta hipercalórica e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

**Gráfico 14** – Curvas concentrações-resposta cumulativas ao KCl dos grupos GCS (■), GOS (○), GO + SP25 (●), GO + SP50 (●), GO + SP100 (●) e GO + Sild (●) 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. \* $p < 0,05$  (GCS vs. GOS, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild) e & $p < 0,05$  (GO + SP25 vs. GOS, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild). GCS = grupo controle salina; GOS = grupo obeso salina; GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GO + Sild = grupo alimentado com dieta hipercalórica e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

**Tabela 19** – Valores de  $E_{max}$  e de  $pD_2$  do KCl nos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild em corpo cavernoso isolado de rato.

Grupos	$E_{max}$ (%)	$pD_2$
GCS	100	$1,4 \pm 0,03$
GOS	$240,9 \pm 23,1^*$	$1,6 \pm 0,03^*$
GO + SP25	$111,4 \pm 19,3^\#$	$1,5 \pm 0,06$
GO + SP50	$184,6 \pm 8,6^{*\&}$	$1,5 \pm 0,03$
GO + SP100	$189,8 \pm 12,5^{*\&}$	$1,4 \pm 0,04^\#$
GO + Sild	$228,7 \pm 16,6^{*\&}$	$1,4 \pm 0,06^\#$

ANOVA *one-way* seguido do pós-teste de Tukey. \* $p < 0,05$  (GCS vs. GOS, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild), # $p < 0,05$  (GOS vs. GO + SP25, GO + SP100 e GO + Sild) e & $p < 0,05$  (GO + SP25 vs. GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild) ( $n = 5$ ). GCS = grupo controle salina; GOS = grupo obeso salina; GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GO + Sild = grupo alimentado com dieta hipercalórica e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.



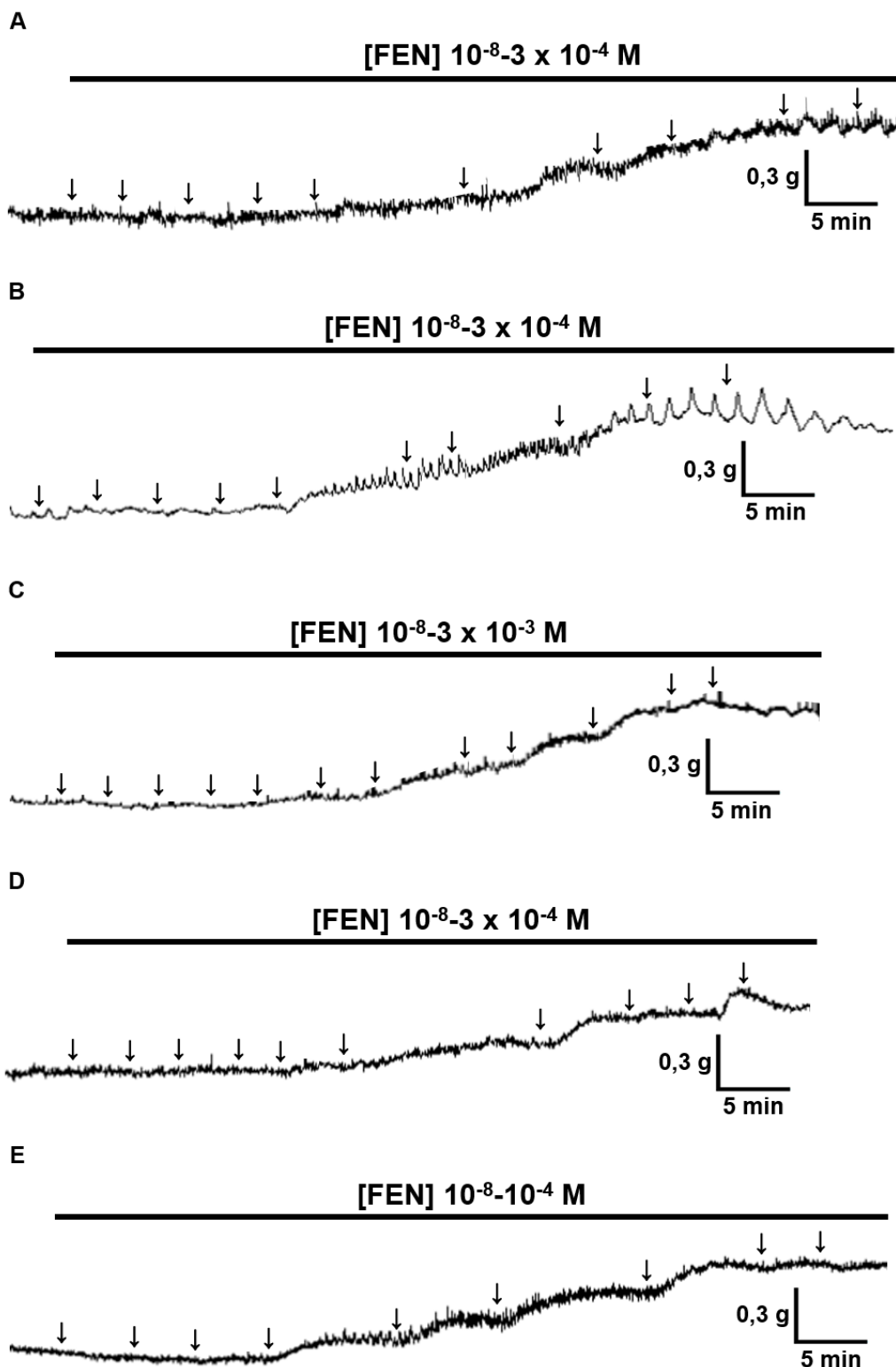
## 5.6.2 Efeito da suplementação com *S. platensis* sobre o acoplamento farmacomecânico de contração do corpo cavernoso isolado de rato

### 5.6.2.1 Efeito da suplementação com *S. platensis* sobre a curva cumulativa de FEN

Nos grupos alimentados com a dieta padrão, a suplementação com *S. platensis* nas doses de 25 ( $E_{max} = 99,3 \pm 2,0\%$ ;  $pD_2 = 5,4 \pm 0,04$ ) e 100 mg/kg ( $E_{max} = 86,6 \pm 4,5\%$ ;  $pD_2 = 5,8 \pm 0,2$ ) ou o tratamento com sildenafil ( $E_{max} = 101,9 \pm 13,1\%$ ;  $pD_2 = 5,8 \pm 0,04$ ) não alteraram a reatividade contrátil do corpo cavernoso de rato à FEN, uma vez que não foi observada diferença quando comparado ao grupo GCS ( $E_{max} = 100\%$ ;  $pD_2 = 5,5 \pm 0,06$ ). Entretanto, a suplementação dos ratos com 50 mg/kg de *S. platensis* reduziu o  $pD_2$  da FEN ( $pD_2 = 4,8 \pm 0,2$ ) e aumentou a eficácia contrátil desse agonista ( $E_{max} = 156,6 \pm 11,6\%$ ) (Figura 22, Gráfico 15 e Tabela 20,  $n = 5$ ).

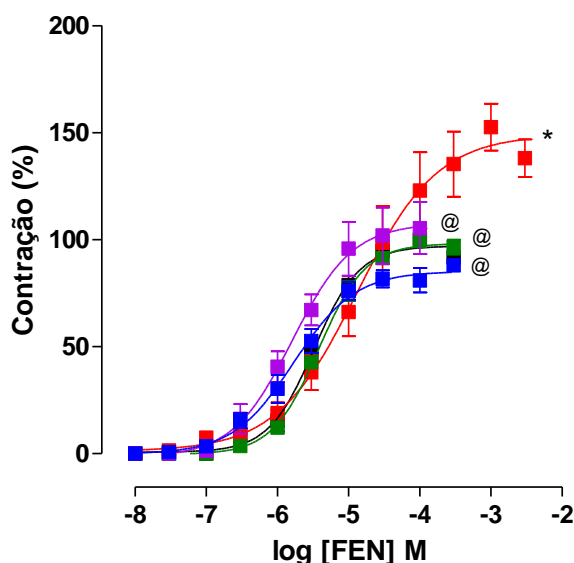
Nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica, a potência contrátil da FEN foi reduzida no grupo GOS ( $pD_2 = 4,8 \pm 0,06$ ) quando comparada ao grupo GCS ( $pD_2 = 5,5 \pm 0,06$ ). Adicionalmente, o  $E_{max}$  desse agonista foi aumentado no grupo GOS em relação ao grupo GCS ( $E_{max} = 147,5 \pm 11,2$  e 100% respectivamente). No entanto, a suplementação com as doses de 25 ( $E_{max} = 84,5 \pm 3,0\%$ ;  $pD_2 = 5,3 \pm 0,07$ ), 50 ( $E_{max} = 72,7 \pm 5,6\%$ ;  $pD_2 = 5,6 \pm 0,1$ ) e 100 mg/kg da alga ( $E_{max} = 79,6 \pm 6,1\%$ ;  $pD_2 = 5,3 \pm 0,1$ ), bem como o tratamento com sildenafil ( $E_{max} = 104,2 \pm 9,7\%$ ;  $pD_2 = 5,5 \pm 0,1$ ) reduziram a eficácia contrátil e aumentaram a potência da FEN em corpo cavernoso de rato quando comparado ao grupo GOS, não diferindo do grupo GCS (Figura 23, Gráfico 16 e Tabela 21,  $n = 5$ ).

**Figura 22** – Registros representativos do efeito contrátil da FEN em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GCS (A), GC + SP25 (B), GC + SP50 (C), GC + SP100 (D) e GC + Sild (E).



As setas para baixo representam a adição cumulativa de FEN. FEN = fenilefrina; GCS = grupo controle salina; GC + SP25, GC + SP50 e GC + SP100 = grupos alimentados com dieta padrão e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GC + Sild = grupo alimentado com dieta padrão e tratado com sildenafil. Fonte: SOUZA, 2018.

**Gráfico 15** – Curvas concentrações-resposta cumulativas à FEN dos grupos GCS (■), GC + SP25 (■), GC + SP50 (■), GC + SP100 (■) e GC + Sild (■) 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. \* $p < 0,05$  (GCS vs. GC + SP50) e <sup>@</sup> $p < 0,05$  (GC + SP50 vs. GC + SP25, GC + SP100 e GC + Sild). FEN = fenilefrina; GCS = grupo controle salina; GC + SP25, GC + SP50 e GC + SP100 = grupos alimentados com dieta padrão e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GC + Sild = grupo alimentado com dieta padrão e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

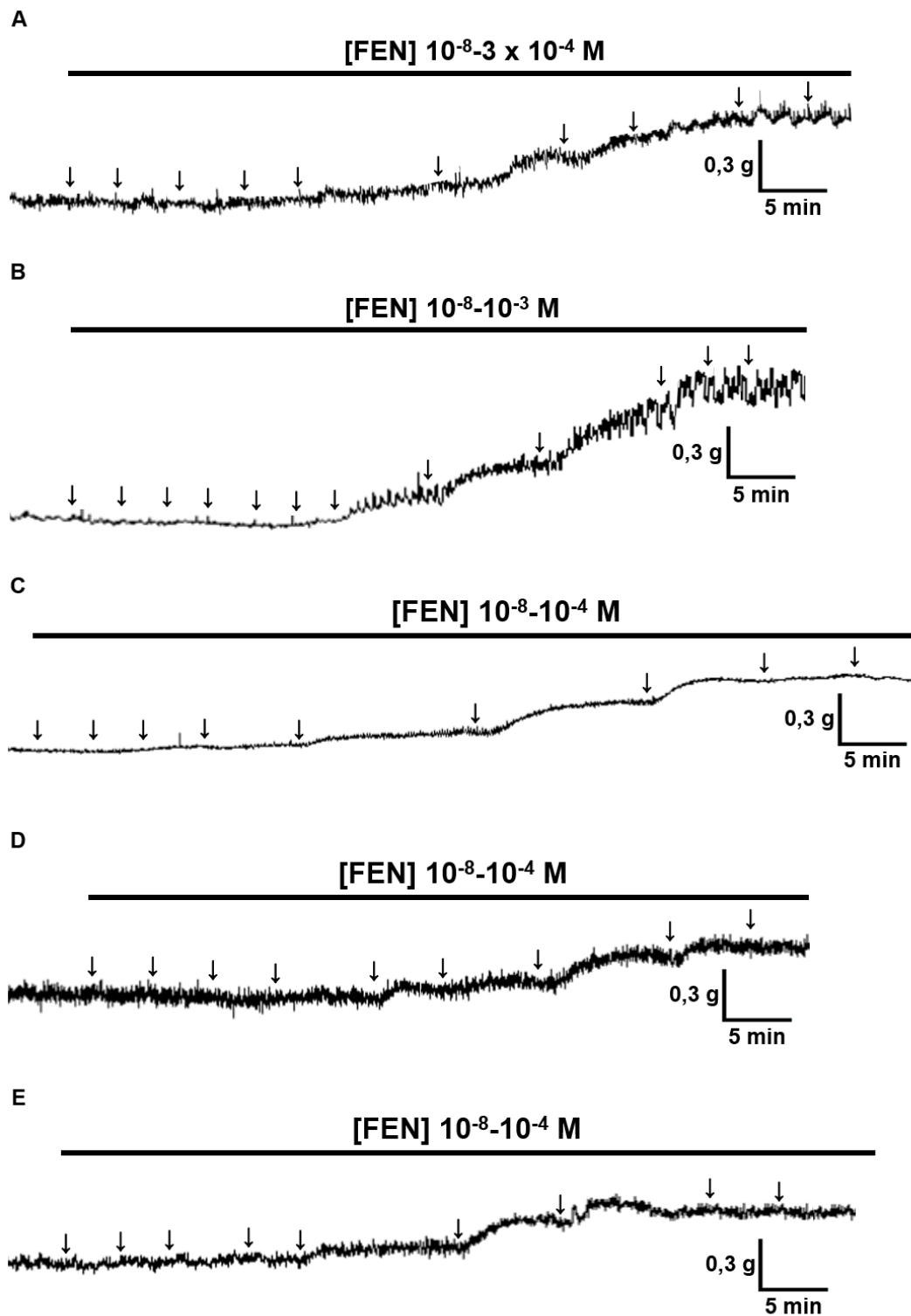
**Tabela 20** – Valores de  $E_{max}$  e de  $pD_2$  da FEN nos grupos GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild em corpo cavernoso isolado de rato.

Grupos	$E_{max}$ (%)	$pD_2$
GCS	100	5,5 ± 0,06
GC + SP25	99,3 ± 2,0 <sup>@</sup>	5,4 ± 0,04 <sup>@</sup>
GC + SP50	156,6 ± 11,6 <sup>*</sup>	4,8 ± 0,2 <sup>*</sup>
GC + SP100	86,6 ± 4,5 <sup>@</sup>	5,8 ± 0,2 <sup>@</sup>
GC + Sild	101,9 ± 13,1 <sup>@</sup>	5,8 ± 0,04 <sup>@</sup>

ANOVA *one-way* seguido do pós-teste de Tukey. \* $p < 0,05$  (GCS vs. GC + SP50) e <sup>@</sup> $p < 0,05$  (GC + SP50 vs. GC + SP25, GC + SP100 e GC + Sild) (n = 5). FEN = fenilefrina; GCS = grupo controle salina; GC + SP25, GC + SP50 e GC + SP100 = grupos alimentados com dieta padrão e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GC + Sild = grupo alimentado com dieta padrão e tratado com sildenafil.

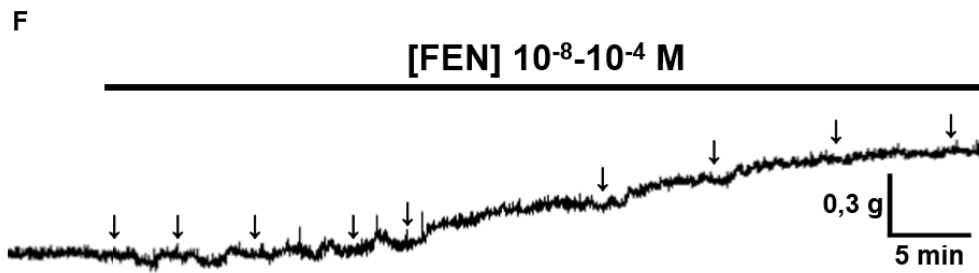
Fonte: SOUZA, 2018.

**Figura 23** – Registros representativos do efeito contrátil da FEN em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GCS (A), GOS (B), GO + SP25 (C), GO + SP50 (D), GO + SP100 (E) e GO + Sild (F).



(Continua)

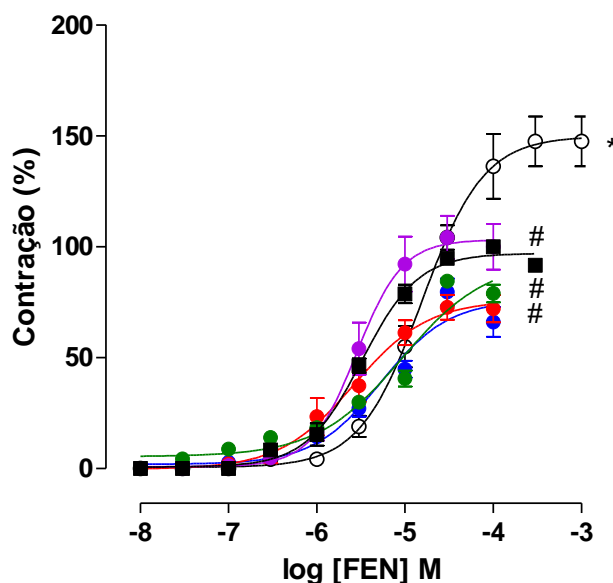
(Continuação)



As setas para baixo representam a adição cumulativa de FEN. FEN = fenilefrina; GCS = grupo controle salina; GOS = grupo obeso salina; GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GO + Sild = grupo alimentado com dieta hipercalórica e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

**Gráfico 16** – Curvas concentrações-resposta cumulativas à FEN dos grupos GCS (■), GOS (○), GO + SP25 (●), GO + SP50 (●), GO + SP100 (●) e GO + Sild (●) 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.  $*p < 0,05$  (GCS vs. GOS) e  $\#p < 0,05$  (GOS vs. GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild). FEN = fenilefrina; GCS = grupo controle salina; GOS = grupo obeso salina; GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GO + Sild = grupo alimentado com dieta hipercalórica e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

**Tabela 21** – Valores de  $E_{max}$  e de  $pD_2$  da FEN nos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild em corpo cavernoso de rato.

Grupos	$E_{max}$ (%)	$pD_2$
GCS	100	$5,5 \pm 0,06$
GOS	$147,5 \pm 11,2^*$	$4,8 \pm 0,06^*$
GO + SP25	$84,5 \pm 3,0^\#$	$5,3 \pm 0,07^\#$
GO + SP50	$72,7 \pm 5,6^\#$	$5,6 \pm 0,1^\#$
GO + SP100	$79,6 \pm 6,1^\#$	$5,3 \pm 0,1^\#$
GO + Sild	$104,2 \pm 9,7^\#$	$5,5 \pm 0,1^\#$

ANOVA *one-way* seguido do pós-teste de Tukey.  $*p < 0,05$  (GCS vs. GOS) e  $\#p < 0,05$  (GOS vs. GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild) ( $n = 5$ ). FEN = fenilefrina; GCS = grupo controle salina; GOS = grupo obeso salina; GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GO + Sild = grupo alimentado com dieta hipercalórica e tratado com sildenafil.

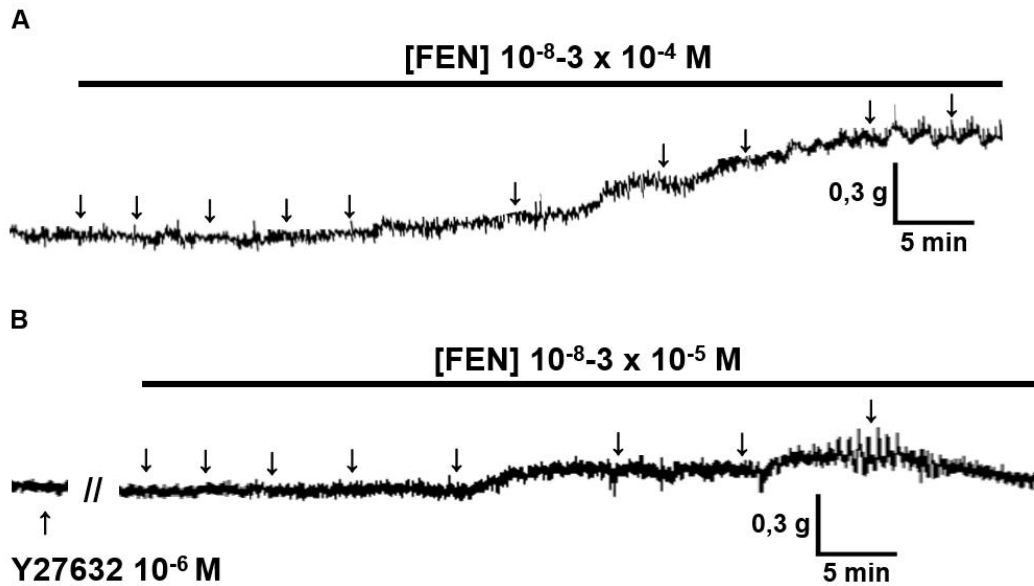
Fonte: SOUZA, 2018.

### 5.6.2.2 Efeito da suplementação com *S. platensis* sobre a curva cumulativa de FEN na ausência e na presença do Y27632

Nos ratos alimentados com a dieta padrão, a eficácia contrátil da FEN foi reduzida 4 vezes na presença do Y27632 ( $E_{\max} = 25,3 \pm 4,5\%$  e  $AUC = 27,9$ ), inibidor de ROCK, quando comparado a sua ausência no grupo GCS ( $E_{\max} = 100\%$  e  $AUC = 193,8$ ). Adicionalmente, não houve alteração na potência contrátil do agonista na ausência ( $pD_2 = 5,5 \pm 0,06$ ) e na presença do Y27632 nesse grupo experimental ( $pD_2 = 5,6 \pm 0,07$ ) (Figura 24, Gráfico 17A e Tabela 22,  $n = 5$ ).

Nos ratos que consumiram a dieta padrão e foram suplementados com 50 mg/kg da alga, o  $pD_2$  da FEN foi potencializado cerca de 22 vezes ( $pD_2 = 5,9 \pm 0,7$ ) com redução do efeito máximo em 2,5 vezes ( $E_{\max} = 63,4 \pm 8,8\%$  e  $AUC = 113,3$ ), na presença do Y27632, quando comparado a ausência desse inibidor ( $pD_2 = 4,8 \pm 0,2$ ;  $E_{\max} = 156,6 \pm 11,5\%$  e  $AUC = 358,2$ ) (Figura 25, Gráfico 17B e Tabela 22,  $n = 5$ ).

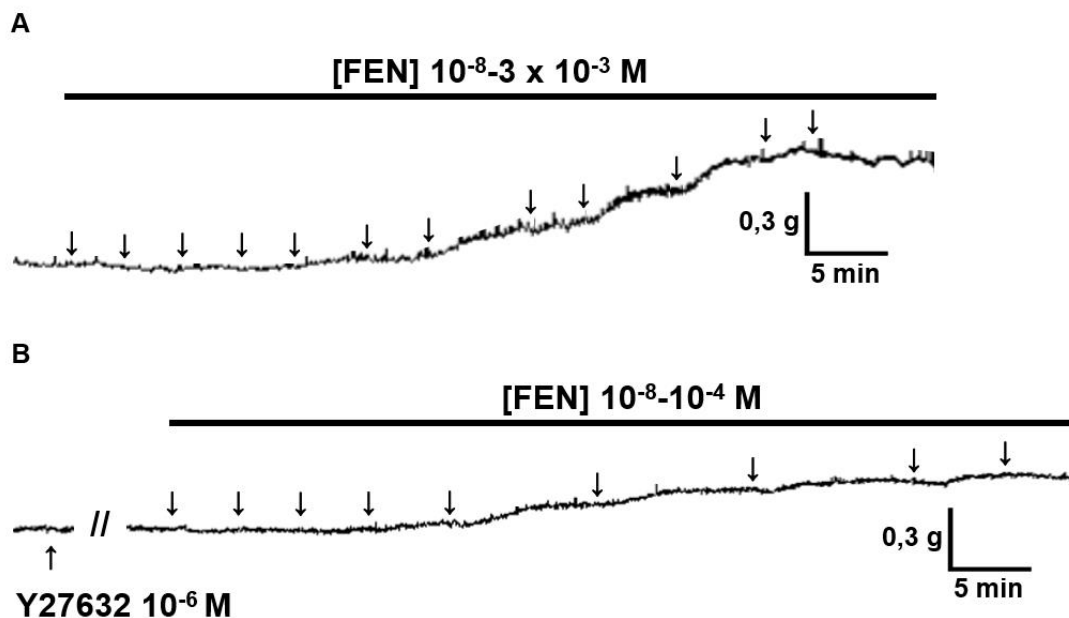
**Figura 24** – Registros representativos do efeito contrátil da FEN na ausência (A) e na presença do Y27632 (B) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GCS.



As setas para baixo representam a adição cumulativa de FEN. FEN = fenilefrina; Y27632 = di-hidrocloreto de (R-(+)-trans-4-(1-aminoetil)-N-(4-piridil) ciclo-hexanocarboxamida; GCS = grupo controle salina.

Fonte: SOUZA, 2018.

**Figura 25** – Registros representativos do efeito contrátil da FEN na ausência (A) e na presença do Y27632 (B) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GC + SP50.

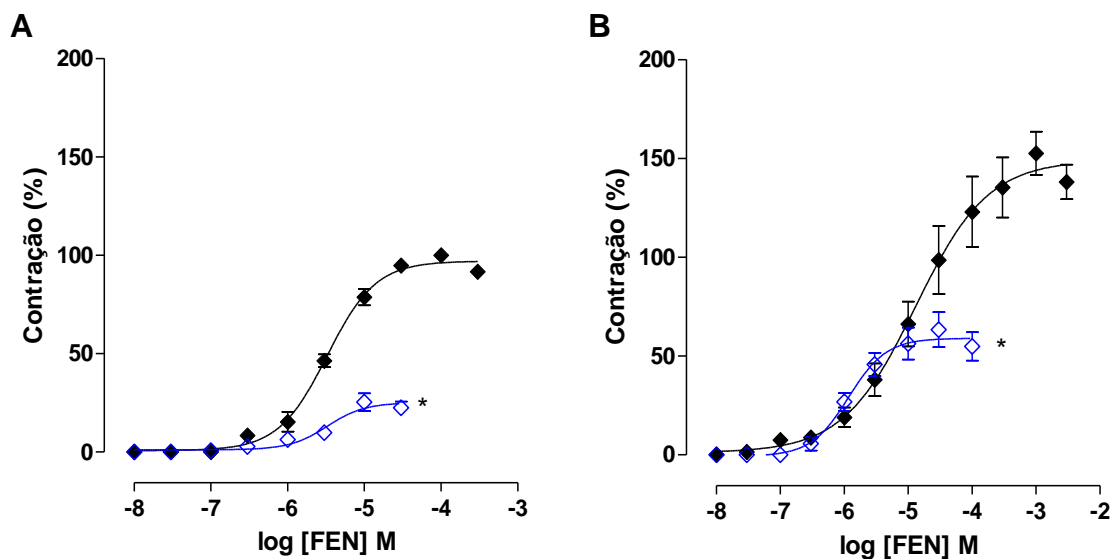


As setas para baixo representam a adição cumulativa de FEN. FEN = fenilefrina; Y27632 = di-hidrocloreto de (R-(+)-trans-4-(1-aminoetil)-N-(4-piridil) ciclo-hexanocarboxamida; GC + SP50 = grupo alimentado com dieta padrão e suplementado com *S. platensis* 50 mg/kg.

Fonte: SOUZA, 2018.



**Gráfico 17** – Curvas concentrações-resposta cumulativas à FEN na ausência (◆) e na presença do Y27632 (◇) em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GCS (A) e GC + SP50 (B).



Os símbolos e as barras verticais representam a média e o e.p.m., respectivamente ( $n = 5$ ). Teste *t*. \* $p < 0,05$  (ausência vs. Y27632). FEN = fenilefrina; Y27632 = di-hidrocloreto de (R-(+)-trans-4-(1-aminoetil)-N-(4-piridil) ciclo-hexanocarboxamida; GCS = grupo controle salina; GC + SP50 = grupo alimentado com dieta padrão e suplementado com *S. platensis* 50 mg/kg.

Fonte: SOUZA, 2018.

**Tabela 22** – Valores de  $E_{max}$ , de  $pD_2$  e de AUC da FEN na ausência e na presença do Y27632 em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GCS e GC + SP50.

FEN	$E_{max}$ (%)	$pD_2$	AUC	Diferença de AUC
GCS				
Ausência	100	$5,5 \pm 0,06$	193,8	165,9
Y27632	$25,3 \pm 4,5^*$	$5,6 \pm 0,07$	$27,9^*$	
GC + SP50				
Ausência	$156,6 \pm 11,5$	$4,8 \pm 0,2$	358,2	249,9 <sup>#</sup>
Y27632	$63,4 \pm 8,8^*$	$5,9 \pm 0,7^*$	$113,3^*$	

ANOVA *one-way* seguido do pós-teste de Tukey. \* $p < 0,05$  (ausência vs. Y27632) e <sup>#</sup> $p < 0,05$  (GCS vs. GC + SP50) ( $n = 5$ ). FEN = fenilefrina; Y27632 = di-hidrocloreto de (R-(+)-trans-4-(1-aminoetil)-N-(4-piridil) ciclo-hexanocarboxamida; AUC = área sob a curva; GCS = grupo controle salina; GC + SP50 = grupo alimentado com dieta padrão e suplementado com *S. platensis* 50 mg/kg.

Fonte: SOUZA, 2018.

Com o consumo da dieta hipercalórica, no grupo GOS, observou-se potencialização do efeito contrátil da FEN cerca de 5 vezes ( $pD_2 = 5,5 \pm 0,1$ ) com redução do efeito máximo em 2,3 vezes ( $E_{max} = 63,9 \pm 8,1\%$ ;  $AUC = 98,3$ ) na presença do Y27632, quando comparado a ausência desse inibidor ( $pD_2 = 4,8 \pm 0,06$ ;  $E_{max} = 147,5 \pm 11,2\%$  e  $AUC = 273,9$ ) (Figura 26, Gráfico 18A e Tabela 23,  $n = 5$ ).

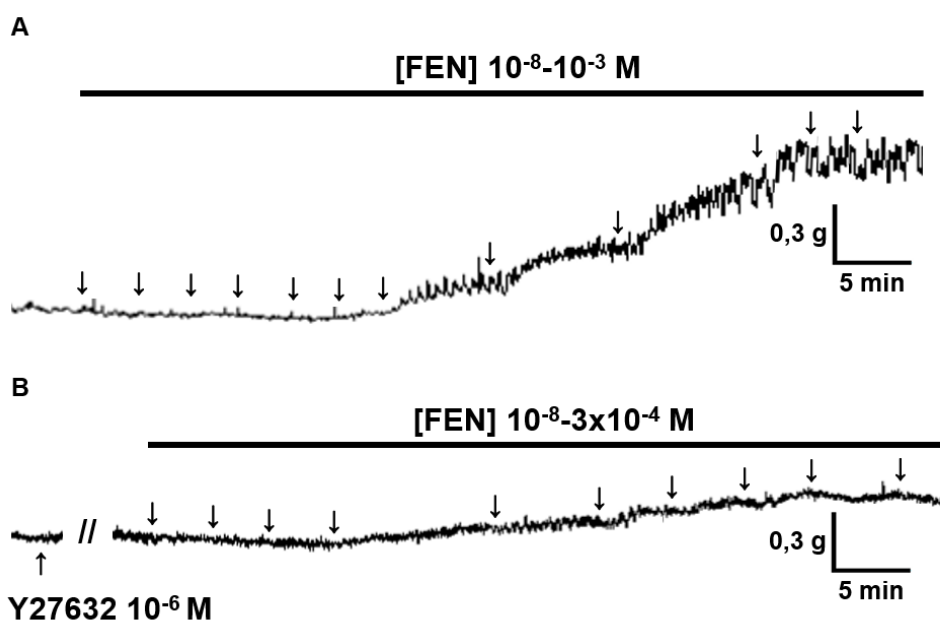
Nos ratos que consumiram a dieta hipercalórica e foram suplementados com 25 mg/kg da alga, a eficácia contrátil da FEN foi reduzida 1,5 vezes na presença do Y27632 ( $E_{max} = 54,7 \pm 3,1\%$  e  $AUC = 72,8$ ) quando comparado a ausência desse inibidor ( $E_{max} = 84,5 \pm 3,0\%$  e  $AUC = 121,0$ ). Entretanto, não houve alteração na potência contrátil do agonista na ausência ( $pD_2 = 5,3 \pm 0,04$ ) e na presença do Y27632 ( $pD_2 = 5,3 \pm 0,07$ ) (Figura 27, Gráfico 18B e Tabela 23,  $n = 5$ ).

Nos ratos suplementados com *S. platensis* na dose de 50 mg/kg e que consumiram a dieta hipercalórica, a eficácia contrátil da FEN foi reduzida 1,7 vezes na presença do Y27632 sem alteração na potência do agonista contrátil ( $E_{max} = 44,1 \pm 6,5\%$  e  $AUC = 58,1$ ;  $pD_2 = 5,4 \pm 0,06$ ) quando comparado a ausência desse inibidor ( $E_{max} = 73,4 \pm 6,1\%$  e  $AUC = 120,4$ ;  $pD_2 = 5,6 \pm 0,1$ ) (Figura 28, Gráfico 18C e Tabela 23,  $n = 5$ ).

Nos ratos que consumiram a dieta hipercalórica e foram suplementados com 100 mg/kg da alga, a eficácia contrátil da FEN foi reduzida 1,8 vezes na presença do Y27632 ( $E_{max} = 43,2 \pm 5,1\%$  e  $AUC = 75,0$ ) quando comparado a ausência desse inibidor ( $E_{max} = 79,6 \pm 6,1\%$  e  $AUC = 105,3$ ). Entretanto, não houve alteração na potência contrátil do agonista na ausência ( $pD_2 = 5,3 \pm 0,1$ ) e na presença do Y27632 ( $pD_2 = 5,3 \pm 0,1$ ) (Figura 29, Gráfico 18D e Tabela 23,  $n = 5$ ).

Nos ratos que consumiram a dieta hipercalórica e foram tratados com sildenafil, a eficácia contrátil da FEN foi reduzida 1,7 vezes na presença do Y27632 sem alteração na potência do agonista contrátil ( $E_{max} = 38,4 \pm 5,2\%$  e  $AUC = 36,8$ ;  $pD_2 = 5,5 \pm 0,4$ ) quando comparado a ausência desse inibidor ( $E_{max} = 104,2 \pm 9,7\%$  e  $AUC = 162,8$ ;  $pD_2 = 5,5 \pm 0,08$ ) (Figura 30, Gráfico 18E e Tabela 23,  $n = 5$ ).

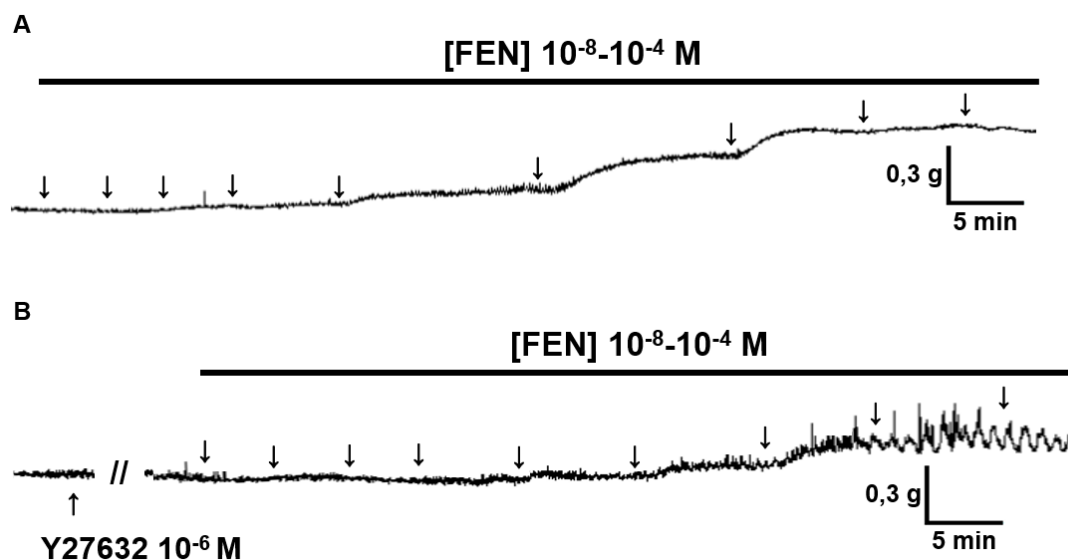
**Figura 26** – Registros representativos do efeito contrátil da FEN na ausência (A) e na presença do Y27632 (B) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GOS.



As setas para baixo representam a adição cumulativa de FEN. FEN = fenilefrina; Y27632 = di-hidrocloro de (R-+)-trans-4-(1-aminoetil)-N-(4-piridil) ciclo-hexanocarboxamida; GOS = grupo obeso salina.

Fonte: SOUZA, 2018.

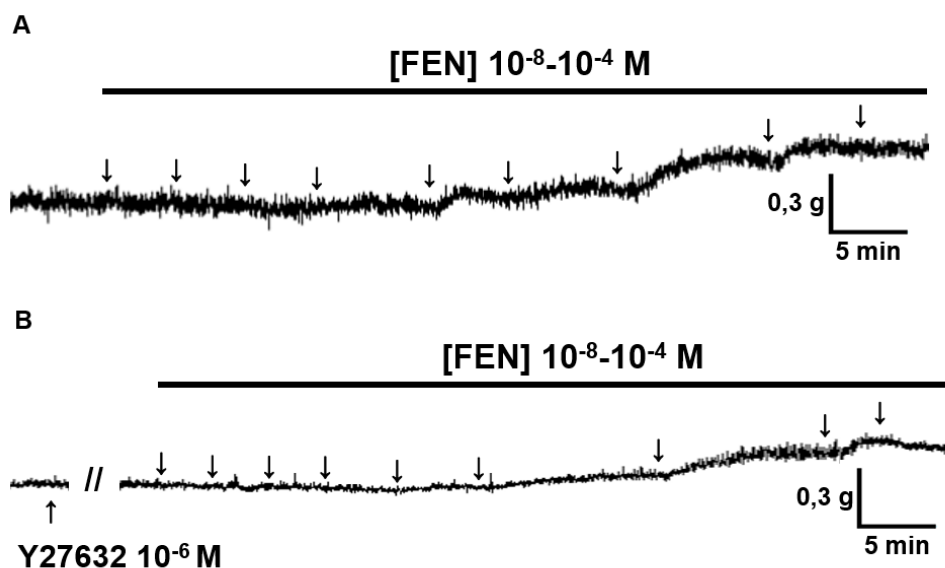
**Figura 27** – Registros representativos do efeito contrátil da FEN na ausência (A) e na presença do Y27632 (B) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GO + SP25.



As setas para baixo representam a adição cumulativa de FEN. FEN = fenilefrina; Y27632 = di-hidrocloro de (R-+)-trans-4-(1-aminoetil)-N-(4-piridil) ciclo-hexanocarboxamida; GO + SP25 = grupo alimentado com dieta hipercalórica e suplementado com *S. platensis* 25 mg/kg.

Fonte: SOUZA, 2018.

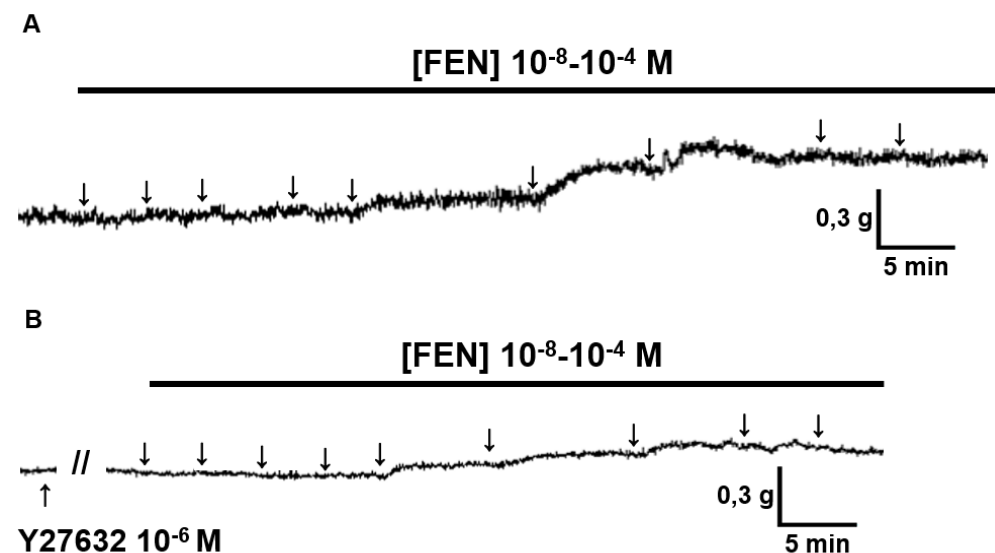
**Figura 28** – Registros representativos do efeito contrátil da FEN na ausência (A) e na presença do Y27632 (B) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GO + SP50.



As setas para baixo representam a adição cumulativa de FEN. FEN = fenilefrina; Y27632 = di-hidrocloreto de (R-(+)-trans-4-(1-aminoetil)-N-(4-piridil) ciclo-hexanocarboxamida; GO + SP50 = grupo alimentado com dieta hipercalórica e suplementado com *S. platensis* 50 mg/kg.

Fonte: SOUZA, 2018.

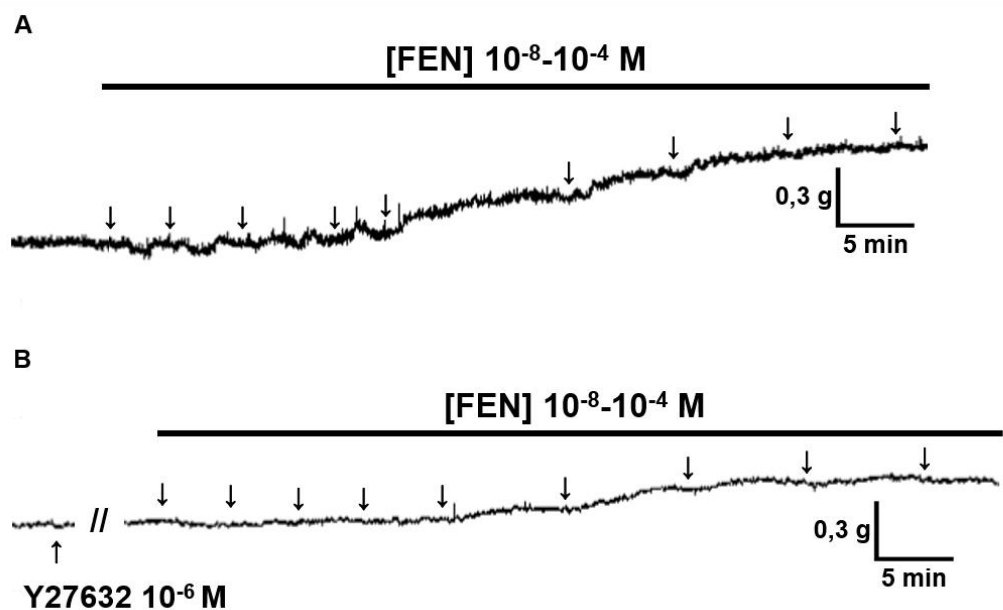
**Figura 29** – Registros representativos do efeito contrátil da FEN na ausência (A) e na presença do Y27632 (B) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GO + SP100.



As setas para baixo representam a adição cumulativa de FEN. FEN = fenilefrina; Y27632 = di-hidrocloreto de (R-(+)-trans-4-(1-aminoetil)-N-(4-piridil) ciclo-hexanocarboxamida; GO + SP100 = grupo alimentado com dieta hipercalórica e suplementado com *S. platensis* 100 mg/kg.

Fonte: SOUZA, 2018.

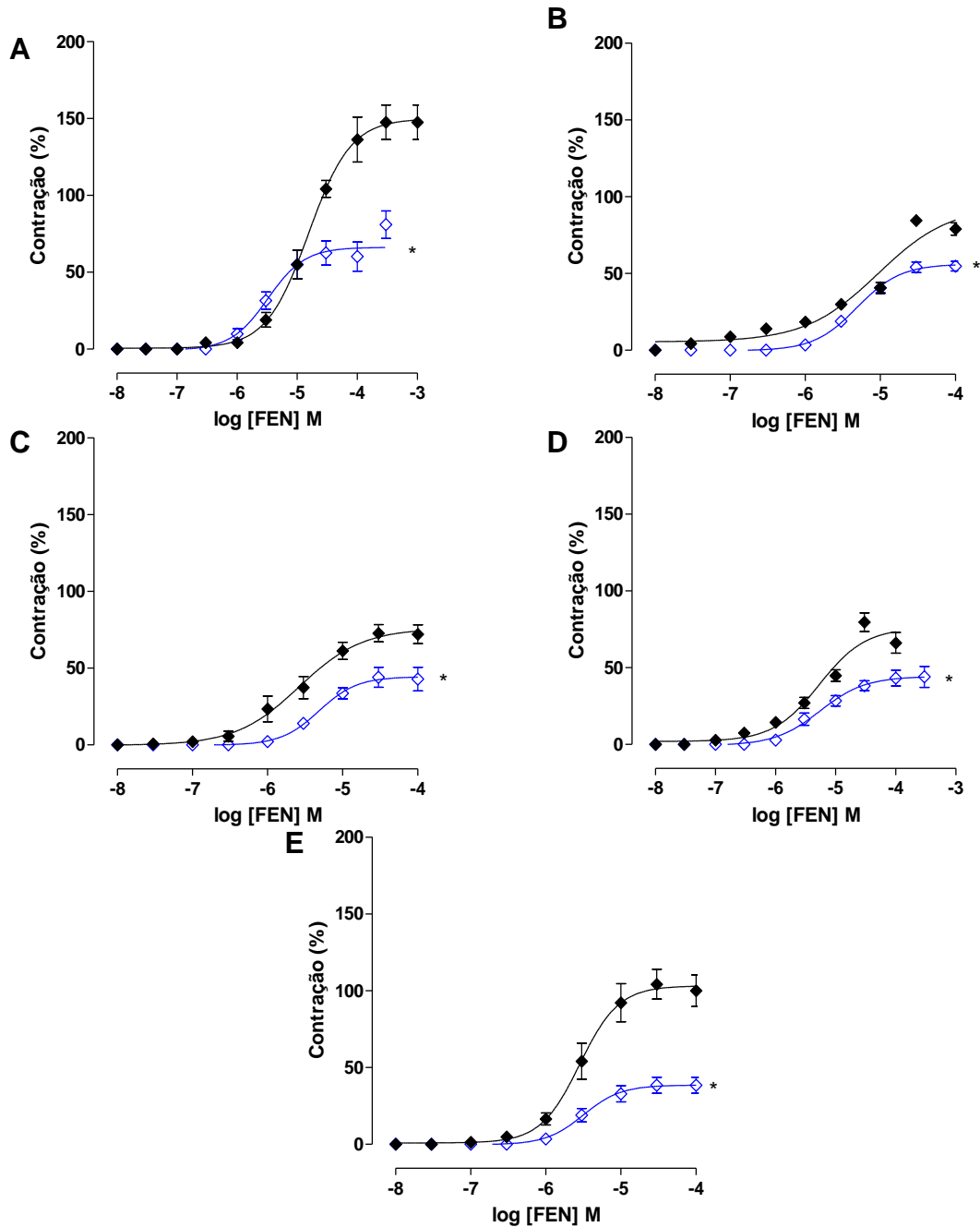
**Figura 30** – Registros representativos do efeito contrátil da FEN na ausência (A) e na presença do Y27632 (B) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GO + Sild.



As setas para baixo representam a adição cumulativa de FEN. FEN = fenilefrina; Y27632 = di-hidroclorato de (R-+)-trans-4-(1-aminoetil)-N-(4-piridil) ciclo-hexanocarboxamida; GO + Sild = grupo alimentado com dieta hipercalórica e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

**Gráfico 18** – Curvas concentrações-resposta cumulativas à FEN na ausência (◆) e na presença do Y27632 (◇) em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GOS (A), GO + SP25 (B), GO + SP50 (C), GO + SP100 (D) e GO + Sild (E).



Os símbolos e as barras verticais representam a média e o e.p.m., respectivamente (n = 5). Teste *t*. \**p* < 0,05 (ausência vs. Y27632). FEN = fenilefrina; Y27632 = di-hidrocloreto de (R-(+)-trans-4-(1-aminoetil)-N-(4-piridil) ciclo-hexanocarboxamida; GOS = grupo obeso salina; GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GO + Sild = grupo alimentado com dieta hipercalórica e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

**Tabela 23** – Valores de  $E_{max}$ , de  $pD_2$  e de AUC da FEN na ausência e na presença do Y27632 em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild.

FEN	$E_{max}$ (%)	$pD_2$	AUC	Diferença de AUC
GOS				
Ausência	147,5 ± 11,2	4,8 ± 0,06	273,9	175,6
Y27632	63,9 ± 8,1*	5,5 ± 0,1*	98,3*	
GO + SP25				
Ausência	84,5 ± 3,0	5,3 ± 0,07	121,0	48,2 <sup>#</sup>
Y27632	54,7 ± 3,1*	5,3 ± 0,04	72,8*	
GO + SP50				
Ausência	73,4 ± 6,1	5,6 ± 0,1	120,4	62,3 <sup>#</sup>
Y27632	44,1 ± 6,5*	5,4 ± 0,06	58,1*	
GO + SP100				
Ausência	79,6 ± 6,1	5,3 ± 0,1	105,3	30,3 <sup>#</sup>
Y27632	43,2 ± 5,1*	5,3 ± 0,1	75,0*	
GO + Sild				
Ausência	104,2 ± 9,7	5,5 ± 0,08	162,8	126 <sup>#</sup>
Y27632	38,4 ± 5,2*	5,5 ± 0,4	36,8*	

Teste *t*. \* $p < 0,05$  (ausência vs. Y27632) e <sup>#</sup> $p < 0,05$  (GOS vs. GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild) ( $n = 5$ ). FEN = fenilefrina; Y27632 = di-hidroclorato de (R-(+)-trans-4-(1-aminoetil)-N-(4-piridil) ciclo-hexanocarboxamida; AUC = área sob a curva; GOS = grupo obeso salina; GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GO + Sild = grupo alimentado com dieta hipercalórica e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

### 5.6.2.3 Efeito da suplementação com *S. platensis* sobre a curva cumulativa de FEN na ausência e na presença de L-NAME ou de indometacina

Ao analisar a curva de FEN na presença de L-NAME, um inibidor não seletivo de NOS, nos ratos alimentados com a dieta padrão do grupo GCS, observou-se potencialização e aumento no efeito máximo ( $E_{max} = 195,9 \pm 16,7\%$  e  $AUC = 345,8$ ;  $pD_2 = 5,8 \pm 0,1$ ) quando comparado a ausência desse inibidor ( $E_{max} = 100\%$  e  $AUC = 193,8$ ;  $pD_2 = 5,5 \pm 0,06$ ) (Figura 31, Gráfico 19A e Tabela 24,  $n = 5$ ).

Entretanto, nos ratos que consumiram a dieta padrão e foram suplementados com *S. platensis* na dose de 50 mg/kg, não houve alteração de potência ou eficácia da FEN na presença de L-NAME ( $E_{max} = 135,3 \pm 13,2\%$  e  $AUC = 270,7$ ;  $pD_2 = 5,0 \pm 0,2$ ) em relação a ausência desse inibidor ( $E_{max} = 156,6 \pm 11,5\%$  e  $AUC = 358,2$ ;  $pD_2 = 4,8 \pm 0,2$ ) (Figura 32, Gráfico 19B e Tabela 24,  $n = 5$ ).

Na avaliação da contração induzida pela FEN na presença de indometacina, um bloqueador não seletivo de COX, nos ratos alimentados com a dieta padrão do grupo GCS, evidenciou-se que não houve alteração da curva cumulativa do agonista na presença do inibidor ( $E_{max} = 122,9 \pm 10,1\%$  e  $AUC = 204,9$ ;  $pD_2 = 5,7 \pm 0,1$ ) comparado a sua ausência ( $E_{max} = 100\%$  e  $AUC = 193,8$ ;  $pD_2 = 5,5 \pm 0,06$ ) (Figura 31, Gráfico 19A e Tabela 24,  $n = 5$ ).

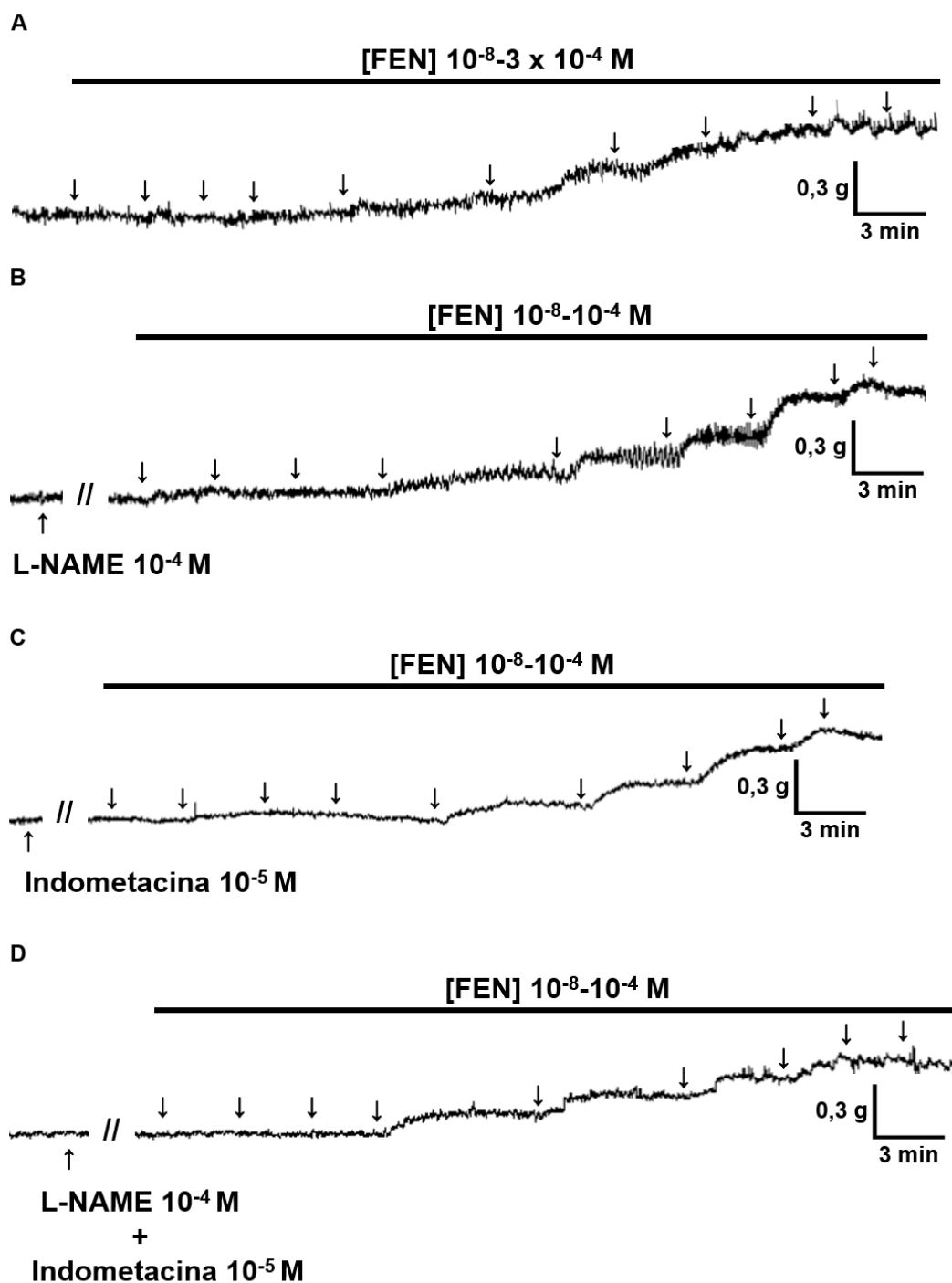
Porém, nos ratos que consumiram a dieta padrão e foram suplementados com 50 mg/kg da alga, a potência da FEN foi aumentada cerca de 6 vezes ( $pD_2 = 5,5 \pm 0,1$ ) com redução do  $E_{max}$  ( $E_{max} = 67,2 \pm 4,6\%$  e  $AUC = 135,7$ ) na presença de indometacina em relação a ausência do inibidor de COX ( $pD_2 = 4,8 \pm 0,2$ ;  $E_{max} = 156,6 \pm 11,5\%$  e  $AUC = 358,2$ ) (Figura 32, Gráfico 19B e Tabela 24,  $n = 5$ ).

Adicionalmente, a presença simultânea de L-NAME e de indometacina não alterou a eficácia contrátil da FEN ( $E_{max} = 99,3 \pm 10,8\%$  e  $AUC = 208,4$ ) nos ratos alimentados com a dieta padrão do grupo GCS, mas potencializou em 3,5 vezes a contração induzida pelo agonista ( $pD_2 = 6,1 \pm 0,1$ ) quando comparado a curva da FEN na ausência desses bloqueadores ( $E_{max} = 100\%$  e  $AUC = 193,8$ ;  $pD_2 = 5,5 \pm 0,06$ ) (Figura 31, Gráfico 19A e Tabela 24,  $n = 5$ ).



De maneira semelhante, nos ratos que consumiram a dieta padrão e foram suplementados com 50 mg/kg da alga, a potência da FEN foi aumentada 38 vezes ( $pD_2 = 6,2 \pm 0,1$ ) com redução do  $E_{max}$  ( $E_{max} = 86,9 \pm 4,2\%$  e  $AUC = 147,0$ ) na presença de L-NAME + indometacina em relação a ausência desses bloqueadores ( $pD_2 = 4,8 \pm 0,2$ ;  $E_{max} = 156,6 \pm 11,5\%$  e  $AUC = 358,2$ ) (Figura 32, Gráfico 19B e Tabela 24,  $n = 5$ ).

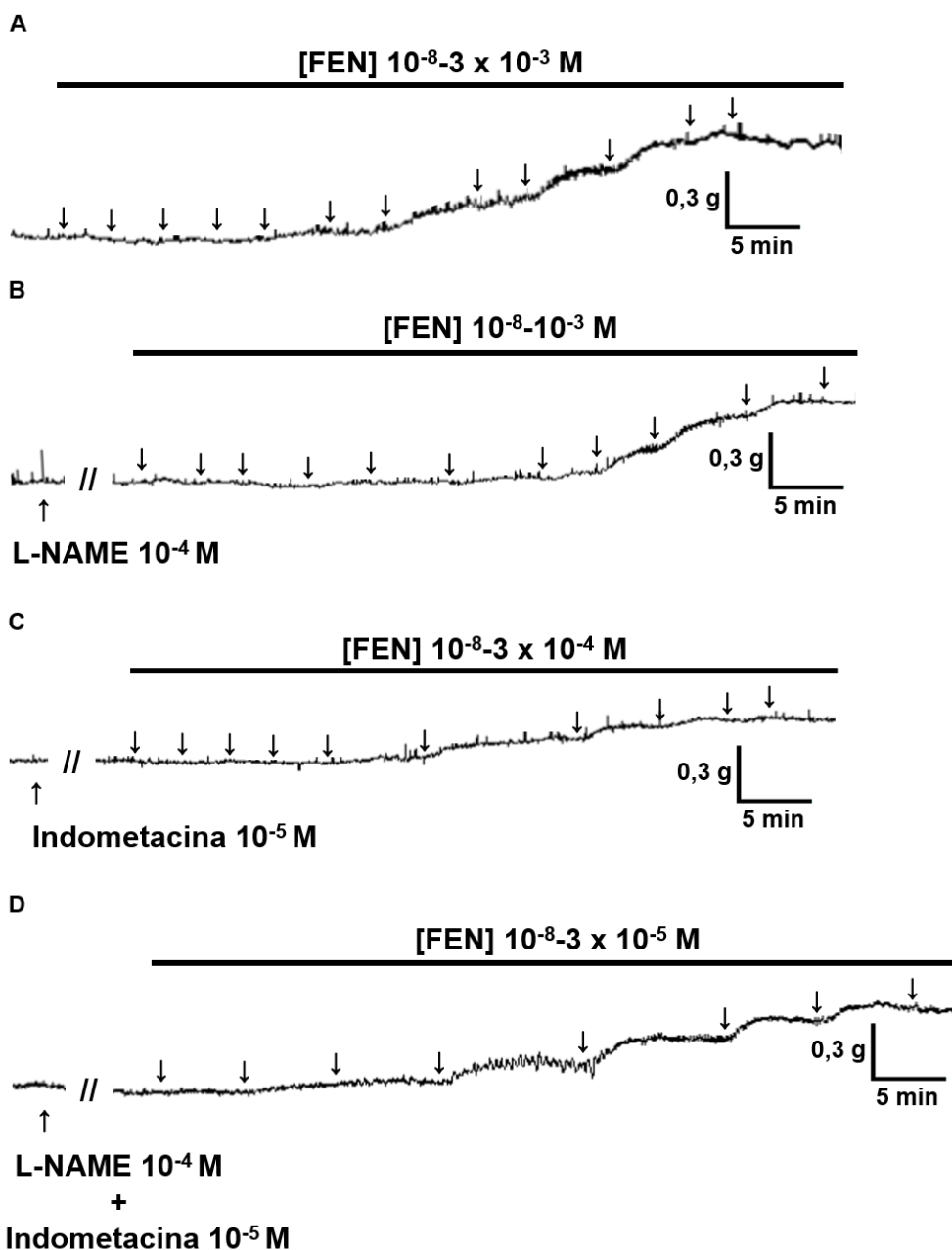
**Figura 31** – Registros representativos do efeito contrátil da FEN na ausência (A) e na presença de L-NAME (B), de indometacina (C) e de L-NAME + indometacina (D) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GCS.



As setas para baixo representam a adição cumulativa de FEN. FEN = fenilefrina; L-NAME = N $\omega$ -nitro-L-arginina metil éster; GCS = grupo controle salina.

Fonte: SOUZA, 2018.

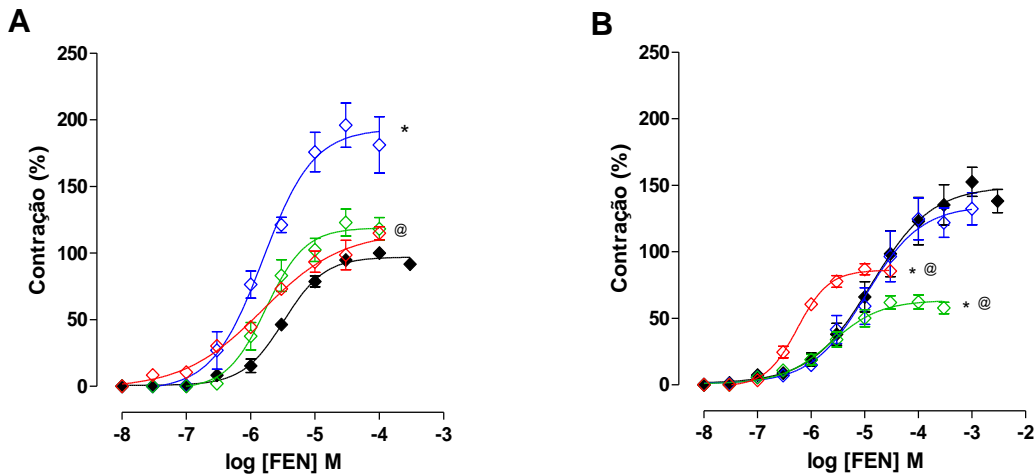
**Figura 32** – Registros representativos do efeito contrátil da FEN na ausência (A) e na presença de L-NAME (B), de indometacina (C) e de L-NAME + indometacina (D) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GC + SP50.



As setas para baixo representam a adição cumulativa de FEN. FEN = fenilefrina; L-NAME = N $\omega$ -nitro-L-arginina metil éster; GC + SP50 = grupo alimentado com dieta padrão e suplementado com *S. platensis* 50 mg/kg.

Fonte: SOUZA, 2018.

**Gráfico 19** – Curvas concentrações-resposta cumulativas à FEN na ausência (◆) e na presença de L-NAME (◇), de indometacina (◇) e de L-NAME + indometacina (◇) em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GCS (A) e GC + SP50 (B).



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, indometacina e L-NAME + indometacina) e @p < 0,05 (L-NAME vs. indometacina e L-NAME + indometacina). FEN = fenilefrina; L-NAME = Nω-nitro-L-arginina metil éster; GCS = grupo controle salina; GC + SP50 = grupo alimentado com dieta padrão e suplementado com *S. platensis* 50 mg/kg. Fonte: SOUZA, 2018.

**Tabela 24** – Valores de  $E_{max}$ , de  $pD_2$  e de AUC da FEN na ausência e na presença de L-NAME, de indometacina e de L-NAME + indometacina em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GCS e GC + SP50.

FEN	$E_{max}$ (%)	$pD_2$	AUC	Diferença de AUC
GCS				
Ausência	100	$5,5 \pm 0,06$	193,8	
L-NAME	$195,9 \pm 16,7^*$	$5,8 \pm 0,1^*$	$345,8^*$	152
Indometacina	$122,9 \pm 10,1^@$	$5,7 \pm 0,1^\Phi$	204,9	11,1
L-NAME + Indometacina	$99,3 \pm 10,8^@$	$6,1 \pm 0,1^*$	208,4	14,6
GC + SP50				
Ausência	$156,6 \pm 11,5$	$4,8 \pm 0,2$	358,2	
L-NAME	$135,3 \pm 13,2$	$5,0 \pm 0,2$	$270,7^*$	87,5 <sup>#</sup>
Indometacina	$67,2 \pm 4,6^*^@$	$5,5 \pm 0,1^*^\Phi$	$135,7^*$	222,5 <sup>#</sup>
L-NAME + Indometacina	$86,9 \pm 4,2^*^@$	$6,2 \pm 0,1^*^@$	$147,0^*$	211,2 <sup>#</sup>

ANOVA one-way seguido do pós-teste de Tukey. \*p < 0,05 (ausência vs. L-NAME, indometacina e L-NAME + indometacina); @p < 0,05 (L-NAME vs. indometacina e L-NAME + indometacina);  $^\Phi$ p < 0,05 (L-NAME + indometacina vs. indometacina) e <sup>#</sup>p < 0,05 (GCS vs. GC + SP50) (n = 5). FEN = fenilefrina; L-NAME = Nω-nitro-L-arginina metil éster; AUC = área sob a curva; GCS = grupo controle salina; GC + SP50 = grupo alimentado com dieta padrão e suplementado com *S. platensis* 50 mg/kg. Fonte: SOUZA, 2018.

Ao avaliar a curva de FEN na presença de L-NAME nos ratos que consumiram a dieta hipercalórica do grupo GOS, a eficácia contrátil da FEN foi reduzida na presença de L-NAME ( $E_{max} = 93,3 \pm 6,0\%$  e  $AUC = 200,2$ ), quando comparado a ausência desse inibidor ( $E_{max} = 147,5 \pm 11,2\%$  e  $AUC = 273,9$ ). Adicionalmente, não houve alteração na potência contrátil do agonista na ausência ( $pD_2 = 4,8 \pm 0,06$ ) ou na presença de L-NAME ( $pD_2 = 5,1 \pm 0,06$ ) (Figura 33, Gráfico 20A e Tabela 25,  $n = 5$ ).

Foi verificado que a eficácia contrátil da FEN foi aumentada na presença de L-NAME ( $E_{max} = 131,5 \pm 14,2\%$  e  $AUC = 206,9$ ) nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica e suplementados com 25 mg/kg de *S. platensis*. Apesar disso, a potência do agonista não foi alterada na presença do inibidor ( $pD_2 = 5,0 \pm 0,05$ ) quando comparado a ausência desse inibidor ( $E_{max} = 84,5 \pm 3,0\%$  e  $AUC = 121,0$ ;  $pD_2 = 5,3 \pm 0,07$ ) (Figura 34, Gráfico 20B e Tabela 25,  $n = 5$ ). Outrossim, a suplementação dos ratos que consumiram dieta hipercalórica com 50 mg/kg da alga, não alterou a curva concentrações-resposta à FEN na presença de L-NAME ( $E_{max} = 70,0 \pm 6,4\%$  e  $AUC = 130,9$ ;  $pD_2 = 5,4 \pm 0,1$ ), ao se comparar à curva na ausência desse inibidor ( $E_{max} = 73,4 \pm 6,1\%$  e  $AUC = 120,4$ ;  $pD_2 = 5,6 \pm 0,1$ ) (Figura 35, Gráfico 20C e Tabela 25,  $n = 5$ ). De maneira similar, no grupo GO + SP100, a presença de L-NAME ( $E_{max} = 63,6 \pm 3,5\%$  e  $AUC = 121,5$ ;  $pD_2 = 5,4 \pm 0,1$ ) não alterou a curva cumulativa à FEN obtida na ausência do inibidor ( $E_{max} = 79,6 \pm 6,1\%$  e  $AUC = 105,3$ ;  $pD_2 = 5,3 \pm 0,1$ ) (Figura 36, Gráfico 20D e Tabela 25,  $n = 5$ ).

Nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica e tratados com sildenafil, a curva concentrações-resposta à FEN foi semelhante na ausência ( $E_{max} = 104,2 \pm 9,7\%$  e  $AUC = 162,8$ ;  $pD_2 = 5,5 \pm 0,08$ ) e na presença de L-NAME ( $E_{max} = 67,7 \pm 11,5\%$  e  $AUC = 123,6$ ;  $pD_2 = 5,7 \pm 0,06$ ) (Figura 37, Gráfico 20E e Tabela 25,  $n = 5$ ).

Ao analisar a curva de FEN na presença de indometacina nos ratos que consumiram a dieta hipercalórica do grupo GOS, a eficácia contrátil da FEN foi reduzida ( $E_{max} = 94,9 \pm 7,2\%$  e  $AUC = 186,1$ ) quando comparado a ausência desse inibidor ( $E_{max} = 147,5 \pm 11,2\%$  e  $AUC = 273,9$ ), sem alteração na potência contrátil do agonista na ausência ( $pD_2 = 4,8 \pm 0,06$ ) ou na presença de indometacina ( $pD_2 = 4,9 \pm 0,1$ ) (Figura 33, Gráfico 20A e Tabela 25,  $n = 5$ ).

Nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica e suplementados com 25 mg/kg de *S. platensis*, a presença de indometacina ( $E_{max} = 95,0 \pm 3,1\%$  e  $AUC = 140,3$ ) não alterou o efeito máximo contrátil da FEN obtido na ausência desse inibidor ( $E_{max} = 84,5 \pm 3,0\%$  e  $AUC = 121,0$ ). Apesar disso, reduziu 19 vezes a potência da FEN ( $pD_2 = 4,6 \pm 0,1$ ) em relação a ausência do inibidor de COX ( $pD_2 = 5,3 \pm 0,07$ ) (Figura 34, Gráfico 20B e Tabela 25,  $n = 5$ ). Nos ratos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* na dose de 50 mg/kg, não houve deslocamento da curva concentrações-resposta à FEN na presença de indometacina ( $E_{max} = 60,6 \pm 7,7\%$  e  $AUC = 96,6$ ;  $pD_2 = 5,7 \pm 0,2$ ), ao se comparar à curva de FEN na ausência desses inibidores ( $E_{max} = 73,4 \pm 6,1\%$  e  $AUC = 120,4$ ;  $pD_2 = 5,6 \pm 0,1$ ). (Figura 35, Gráfico 20C e Tabela 25,  $n = 5$ ). De maneira semelhante, no grupo GO + SP100, a presença de indometacina ( $E_{max} = 59,4 \pm 3,9\%$  e  $AUC = 116,4$ ;  $pD_2 = 5,5 \pm 0,1$ ) não alterou a curva cumulativa da FEN obtida na ausência do inibidor ( $E_{max} = 79,6 \pm 6,1\%$  e  $AUC = 105,3$ ;  $pD_2 = 5,3 \pm 0,1$ ) (Figura 36, Gráfico 20D e Tabela 25,  $n = 5$ ).

Nos ratos que consumiram a dieta hipercalórica e foram tratados com sildenafil, a curva concentrações-resposta à FEN foi semelhante na ausência ( $E_{max} = 104,2 \pm 9,7\%$  e  $AUC = 162,8$ ;  $pD_2 = 5,5 \pm 0,08$ ) e na presença de indometacina ( $E_{max} = 60,6 \pm 4,9\%$  e  $AUC = 120,9$ ;  $pD_2 = 5,5 \pm 0,08$ ) (Figura 37, Gráfico 20E e Tabela 25,  $n = 5$ ).

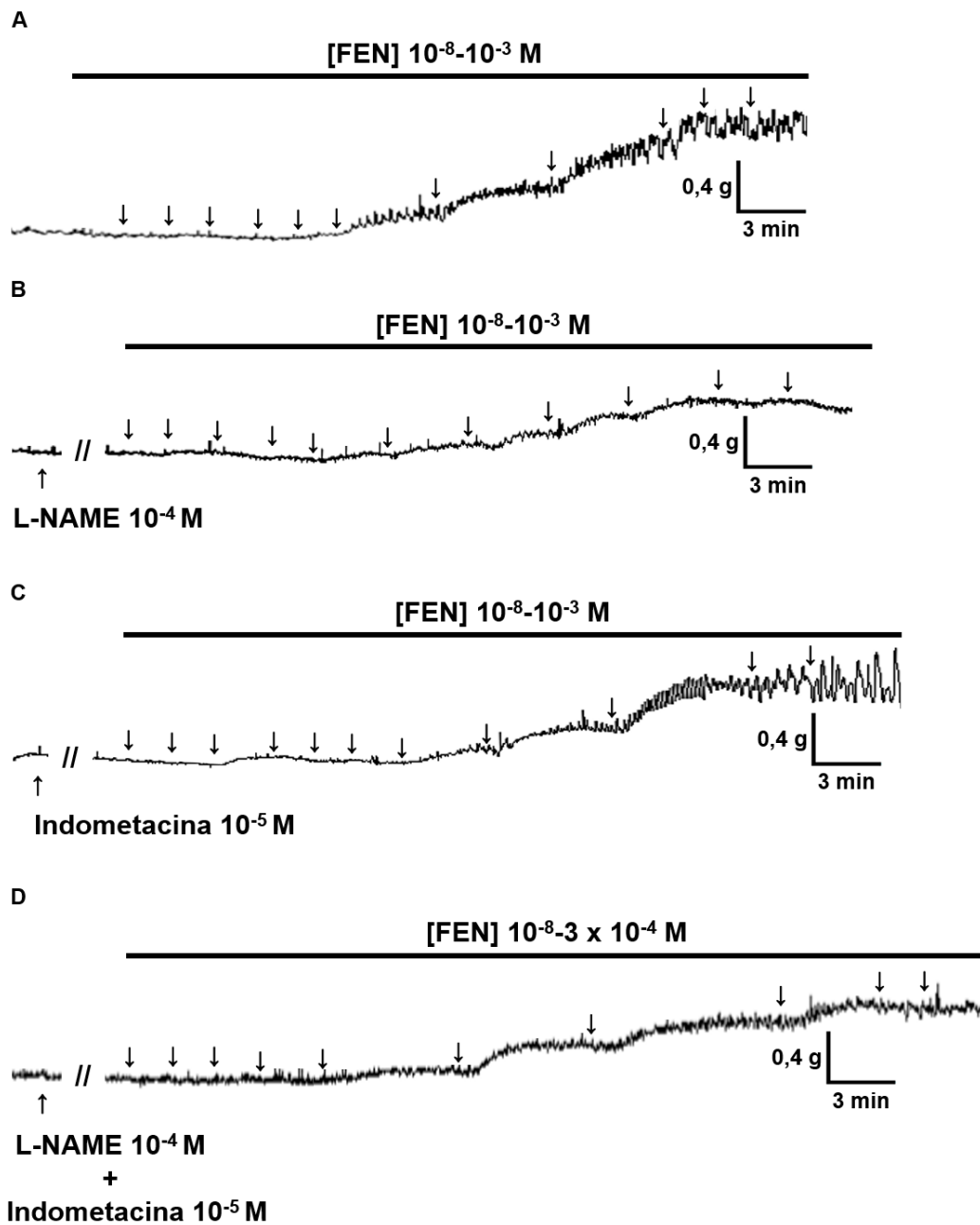
Na presença simultânea de L-NAME e de indometacina nos ratos que consumiram a dieta hipercalórica do grupo GOS, evidenciou-se redução na eficácia contrátil da FEN ( $E_{max} = 77,6 \pm 9,0\%$  e  $AUC = 162,1$ ), quando comparado a ausência desses inibidores ( $E_{max} = 147,5 \pm 11,2\%$  e  $AUC = 273,9$ ). Adicionalmente, a potência do agente contrátil foi aumentada em 4,5 vezes na presença simultânea dos inibidores ( $pD_2 = 5,6 \pm 0,1$ ) em relação a ausência desses inibidores ( $pD_2 = 4,8 \pm 0,06$ ) (Figura 33, Gráfico 20A e Tabela 25,  $n = 5$ ).

Nos ratos que consumiram a dieta hipercalórica e foram suplementados com 25 mg/kg da alga, a presença de L-NAME + indometacina ( $E_{max} = 70,6 \pm 11,4\%$  e  $AUC = 125,0$ ) não alterou o efeito máximo contrátil da FEN, mas potencializou o efeito contrátil do agonista em 2,8 vezes

( $pD_2 = 5,8 \pm 0,1$ ) em relação a ausência desses inibidores ( $E_{max} = 84,5 \pm 3,0\%$  e  $AUC = 121,0$ ;  $pD_2 = 5,3 \pm 0,07$ ) (Figura 34, Gráfico 20B e Tabela 25,  $n = 5$ ). Semelhantemente, nos ratos do grupo GO + SP50, a potência da FEN foi aumentada 2 ( $pD_2 = 6,0 \pm 0,1$ ) sem alteração no efeito máximo ( $E_{max} = 95,7 \pm 12,2\%$  e  $AUC = 166,2$ ) na presença de L-NAME + indometacina quando comparado a ausência desses inibidores ( $pD_2 = 5,6 \pm 0,1$ ;  $E_{max} = 73,4 \pm 6,1\%$  e  $AUC = 120,4$ ) (Figura 35, Gráfico 20C e Tabela 25,  $n = 5$ ). Adicionalmente, com a suplementação com 100 mg/kg da alga em ratos alimentados com dieta hipercalórica, observou-se aumento da potência contrátil da FEN (5 vezes) na presença de L-NAME + indometacina ( $pD_2 = 6,0 \pm 0,1$ ) sem alteração no seu efeito máximo contrátil ( $E_{max} = 85,0 \pm 5,9\%$  e  $AUC = 167,0$ ) em relação a ausência dos inibidores ( $pD_2 = 5,3 \pm 0,1$ ;  $E_{max} = 79,6 \pm 6,1\%$  e  $AUC = 105,3$ ) (Figura 36, Gráfico 20D e Tabela 25,  $n = 5$ ).

Nos ratos que consumiram a dieta hipercalórica e foram tratados com sildenafila, a curva concentrações-resposta à FEN foi semelhante na ausência ( $E_{max} = 104,2 \pm 9,7\%$  e  $AUC = 162,8$ ;  $pD_2 = 5,5 \pm 0,08$ ) e na presença de L-NAME + indometacina ( $E_{max} = 86,0 \pm 11,5\%$  e  $AUC = 141,8$ ;  $pD_2 = 5,7 \pm 0,06$ ) (Figura 37, Gráfico 20E e Tabela 25,  $n = 5$ ).

**Figura 33** – Registros representativos do efeito contrátil da FEN na ausência (A) e na presença de L-NAME (B), de indometacina (C) e de L-NAME + indometacina (D) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GOS.

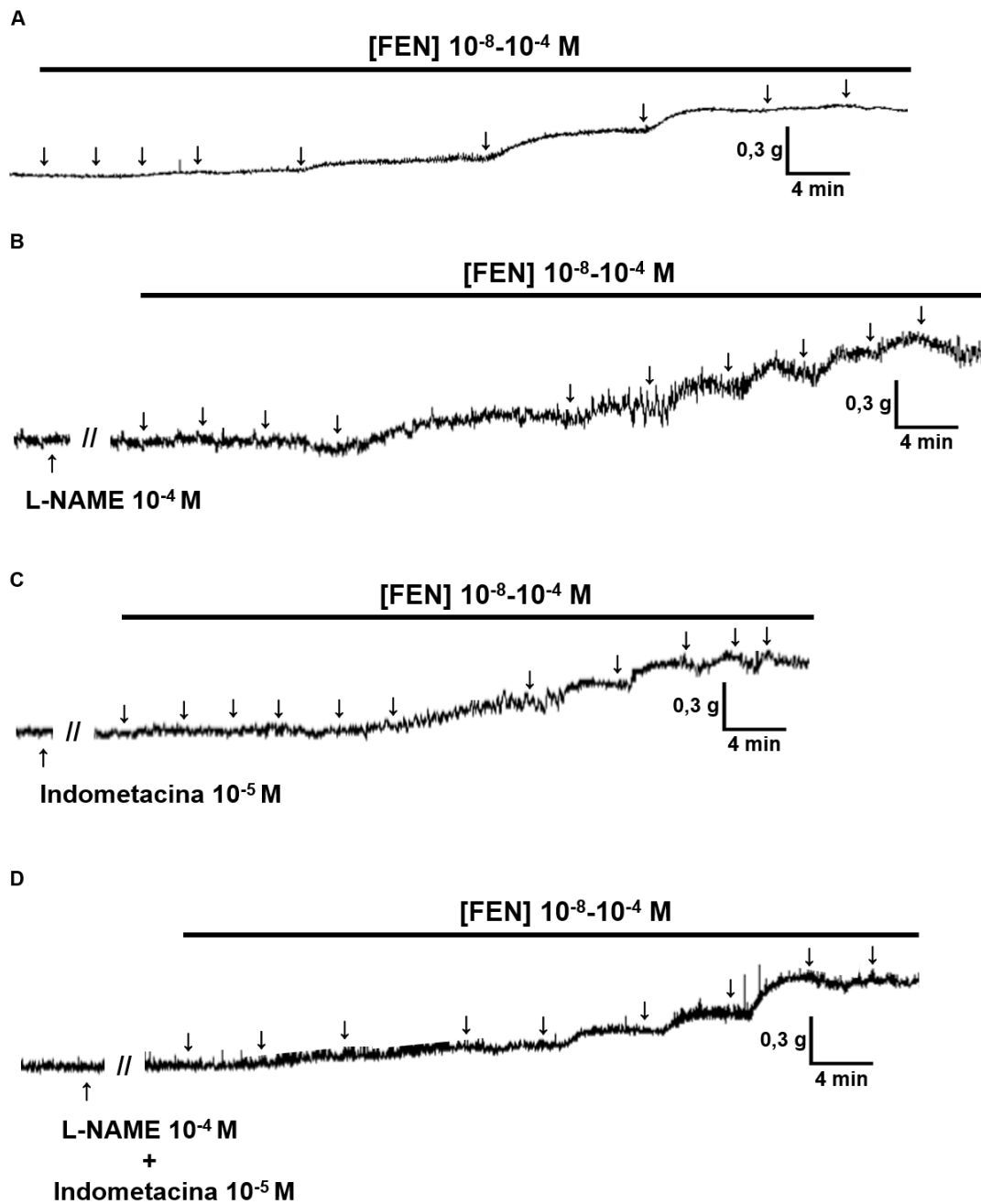


As setas para baixo representam a adição cumulativa de FEN. FEN = fenilefrina; L-NAME = N $\omega$ -nitro-L-arginina metil éster; GOS = grupo obeso salina.

Fonte: SOUZA, 2018.



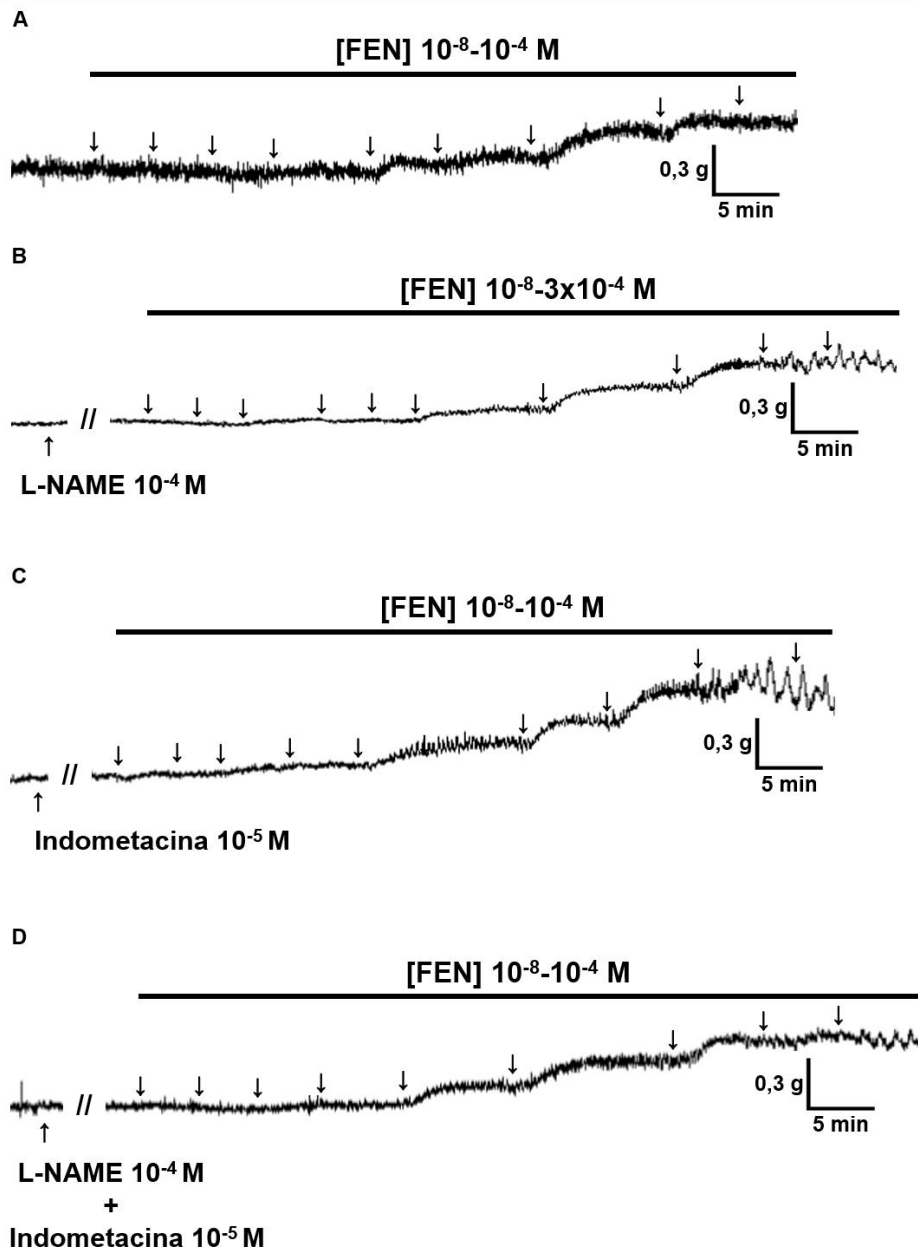
**Figura 34** – Registros representativos do efeito contrátil da FEN na ausência (A) e na presença de L-NAME (B), de indometacina (C) e de L-NAME + indometacina (D) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GO + SP25.



As setas para baixo representam a adição cumulativa de FEN. FEN = fenilefrina; L-NAME = N $\omega$ -nitro-L-arginina metil éster; GO + SP25 = grupo alimentado com dieta hipercalórica e suplementado com *S. platensis* 25 mg/kg.

Fonte: SOUZA, 2018.

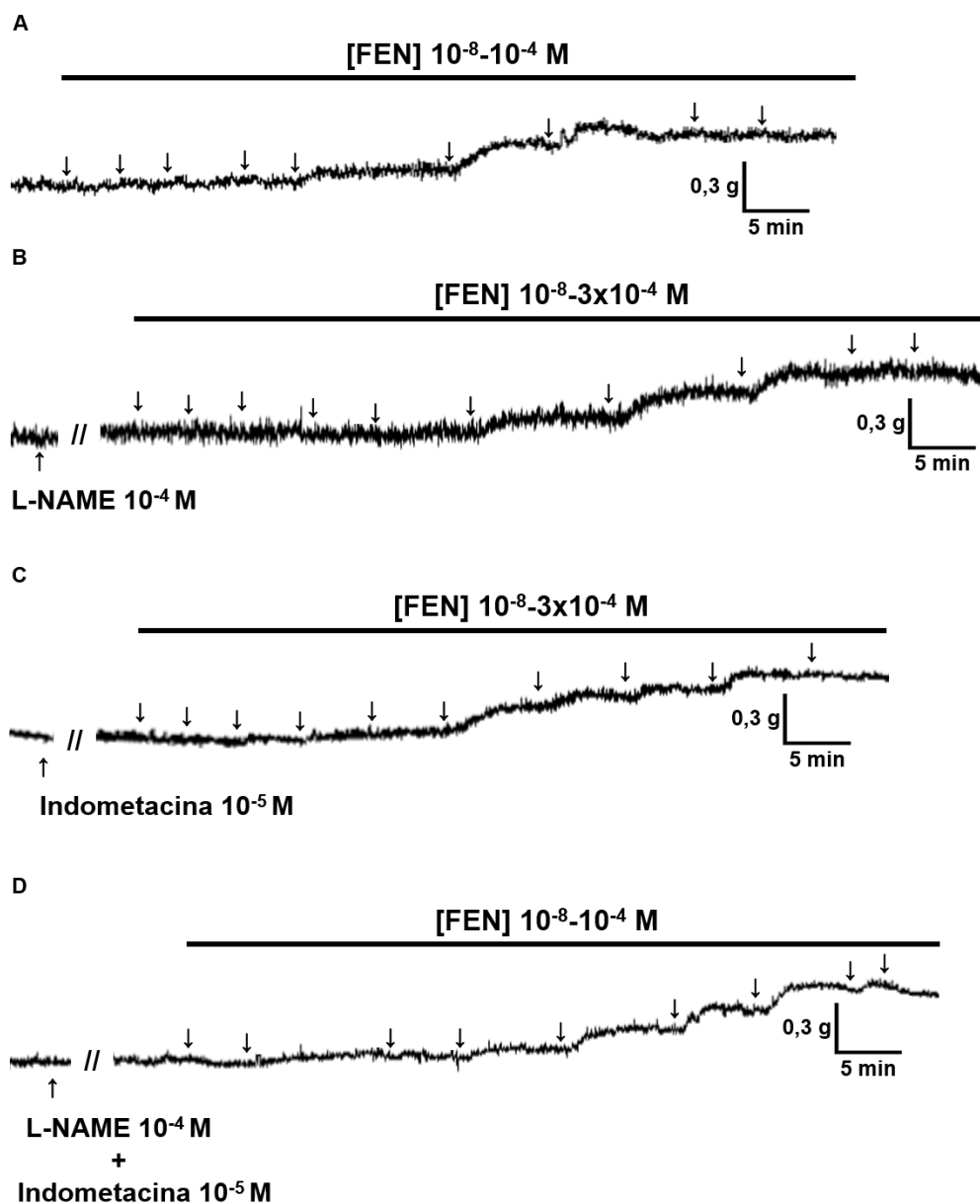
**Figura 35** – Registros representativos do efeito contrátil da FEN na ausência (A) e na presença de L-NAME (B), de indometacina (C) e de L-NAME + indometacina (D) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GO + SP50.



As setas para baixo representam a adição cumulativa de FEN. FEN = fenilefrina; L-NAME = N $\omega$ -nitro-L-arginina metil éster; GO + SP50 = grupo alimentado com dieta hipercalórica e suplementado com *S. platensis* 50 mg/kg.

Fonte: SOUZA, 2018.

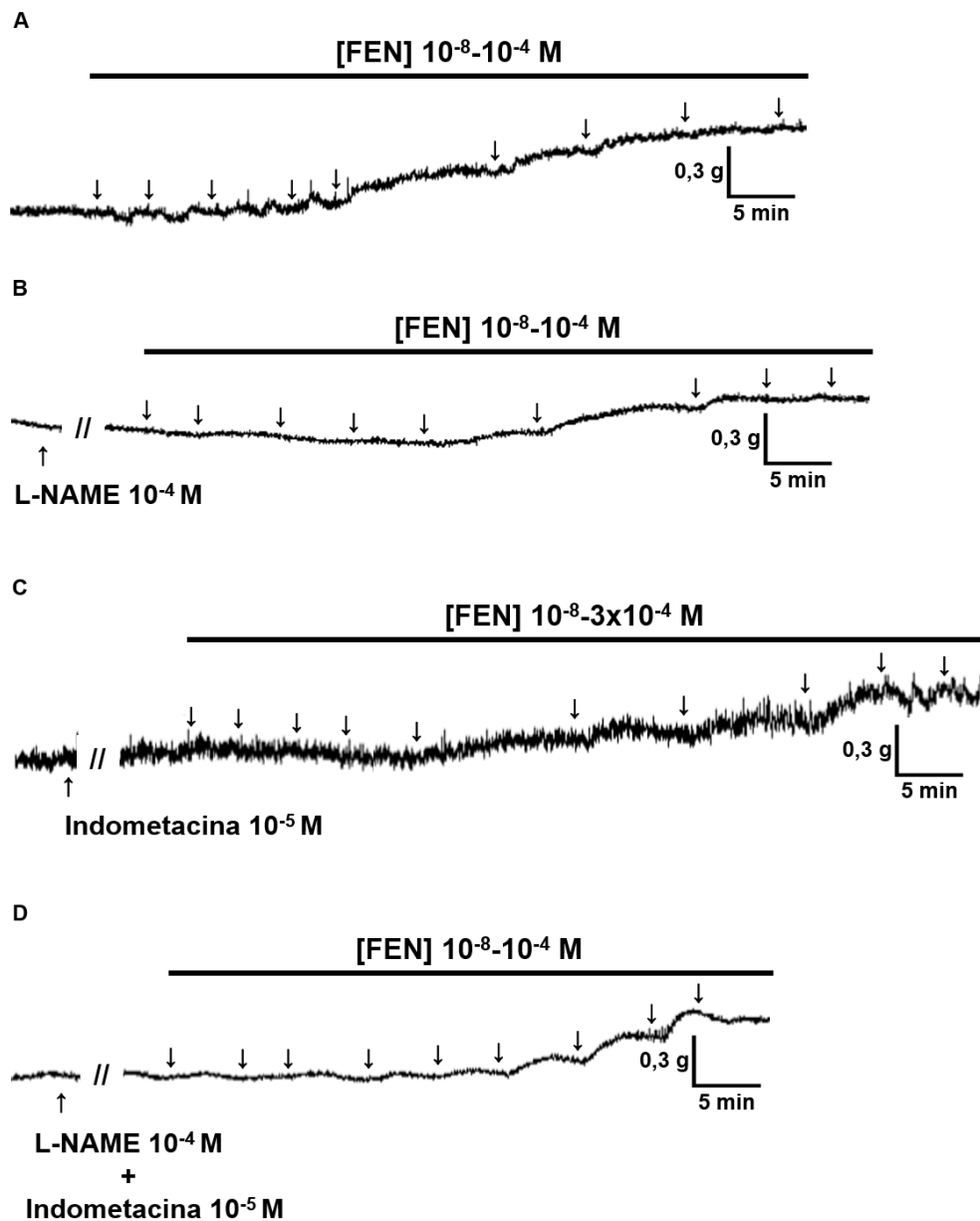
**Figura 36** – Registros representativos do efeito contrátil da FEN na ausência (A) e na presença de L-NAME (B), de indometacina (C) e de L-NAME + indometacina (D) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GO + SP100.



As setas para baixo representam a adição cumulativa de FEN. FEN = fenilefrina; L-NAME = N $\omega$ -nitro-L-arginina metil éster; GO + SP100 = grupo alimentado com dieta hipercalórica e suplementado com *S. platensis* 100 mg/kg.

Fonte: SOUZA, 2018.

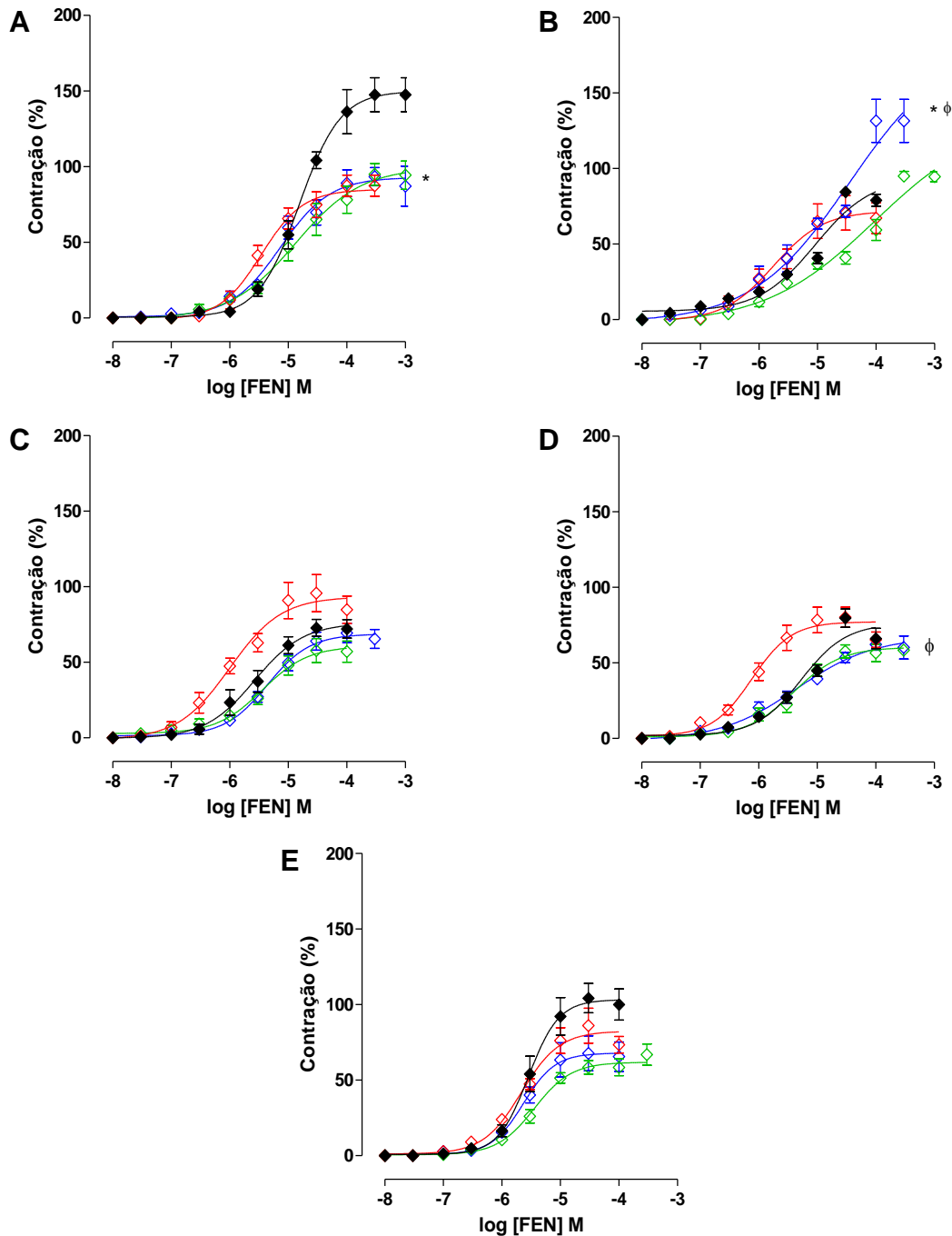
**Figura 37** – Registros representativos do efeito contrátil da FEN na ausência (A) e na presença de L-NAME (B), de indometacina (C) e de L-NAME + indometacina (D) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GO + Sild.



As setas para baixo representam a adição cumulativa de FEN. FEN = fenilefrina; L-NAME = N $\omega$ -nitro-L-arginina metil éster; GO + Sild = grupo alimentado com dieta hipercalórica e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

**Gráfico 20** – Curvas concentrações-resposta cumulativas à FEN na ausência (◆) e na presença de L-NAME (◇), de indometacina (◇) e de L-NAME + indometacina (◇) em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GOS (A), GO + SP25 (B), GO + SP50 (C), GO + SP100 (D) e GO + Sild (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, indometacina e L-NAME + indometacina) e  $\phi p < 0,05$  (L-NAME + indometacina vs. L-NAME e indometacina). FEN = fenilefrina; L-NAME = N $\omega$ -nitro-L-arginina metil éster; GCS = grupo controle salina; GOS = grupo obeso salina; GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GO + Sild = grupo alimentado com dieta hipercalórica e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

**Tabela 25** – Valores de  $E_{max}$ , de  $pD_2$  e de AUC da FEN na ausência e na presença de L-NAME, de indometacina e de L-NAME + indometacina em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild.

FEN	$E_{max}$ (%)	$pD_2$	AUC	Diferença de AUC
GOS				
Ausência	147,5 ± 11,2	4,8 ± 0,06	273,9	
L-NAME	93,3 ± 6,0*	5,1 ± 0,06	200,2*	73,7
Indometacina	94,9 ± 7,2*	4,9 ± 0,1 <sup>Φ</sup>	186,1*	87,8
L-NAME + Indometacina	77,6 ± 9,0*	5,6 ± 0,1*	162,1*	111,8
GO + SP25				
Ausência	84,5 ± 3,0	5,3 ± 0,07	121,0	
L-NAME	131,5 ± 14,2* <sup>Φ</sup>	5,0 ± 0,05 <sup>Φ</sup>	206,9*	85,9
Indometacina	95,0 ± 3,1	4,6 ± 0,1* <sup>@Φ</sup>	140,3	19,3 <sup>#</sup>
L-NAME + Indometacina	70,6 ± 11,4	5,8 ± 0,1*	125,0	4,0 <sup>#</sup>
GO + SP50				
Ausência	73,4 ± 6,1	5,6 ± 0,1	120,4	
L-NAME	70,0 ± 6,4	5,4 ± 0,1 <sup>Φ</sup>	130,9	10,4 <sup>#</sup>
Indometacina	60,6 ± 7,7	5,7 ± 0,2	96,6	23,8 <sup>#</sup>
L-NAME + Indometacina	95,7 ± 12,2	6,0 ± 0,1*	166,2*	45,8 <sup>#</sup>
GO + SP100				
Ausência	79,6 ± 6,1	5,3 ± 0,1	105,3	
L-NAME	63,6 ± 3,5 <sup>Φ</sup>	5,4 ± 0,1 <sup>Φ</sup>	121,5	16,2 <sup>#</sup>
Indometacina	59,4 ± 3,9 <sup>Φ</sup>	5,5 ± 0,1 <sup>Φ</sup>	116,4	11,1 <sup>#</sup>
L-NAME + Indometacina	85,0 ± 5,9	6,0 ± 0,1*	167,0*	61,7 <sup>#</sup>
GO + Sild				
Ausência	104,2 ± 9,7	5,5 ± 0,08	162,8	
L-NAME	67,7 ± 11,5*	5,7 ± 0,06	123,6	39,2 <sup>#</sup>
Indometacina	60,6 ± 4,9	5,5 ± 0,08	120,9	41,9 <sup>#</sup>
L-NAME + Indometacina	86,0 ± 11,5	5,7 ± 0,06	141,8	21,0 <sup>#</sup>

ANOVA *one-way* seguido do pós-teste de Tukey. \* $p < 0,05$  (ausência vs. L-NAME, indometacina e L-NAME + indometacina); @ $p < 0,05$  (L-NAME vs. indometacina e L-NAME + indometacina); <sup>Φ</sup> $p < 0,05$  (L-NAME + indometacina vs. indometacina) e <sup>#</sup> $p < 0,05$  (GOS vs. GO + SP25; GO + SP50; GO + SP100 e GO + Sild) ( $n = 5$ ). FEN = fenilefrina; AUC = área sob a curva; L-NAME = N $\omega$ -nitro-L-arginina metil éster; GOS = grupo obeso salina; GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GO + Sild = grupo alimentado com dieta hipercalórica e tratado com sildenafil. Fonte: SOUZA, 2018.

### 5.6.3 Efeito da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre a reatividade relaxante do corpo cavernoso isolado de rato

#### 5.6.3.1 Efeito da suplementação com *S. platensis* sobre a curva cumulativa de NPS ou de ACh

A curva concentrações-resposta cumulativa ao NPS foi semelhante em ambos grupos GCS ( $E_{max} = 100\%$ ;  $pD_2 = 5,9 \pm 0,05$ ) e GOS ( $E_{max} = 96,7 \pm 2,9\%$ ;  $pD_2 = 6,1 \pm 0,2$ ) (Figura 38 e Gráfico 21,  $n = 5$ ).

Entretanto, analisando o relaxamento do corpo cavernoso promovido pela ACh nos grupos alimentados com a dieta padrão, a suplementação com *S. platensis* nas doses de 25 ( $E_{max} = 69,6 \pm 2,5\%$ ;  $pD_2 = 7,7 \pm 0,1$ ) e 100 mg/kg ( $E_{max} = 64,1 \pm 2,6\%$ ;  $pD_2 = 7,4 \pm 0,2$ ) não alterou a reatividade relaxante do corpo cavernoso de rato à ACh, uma vez que não foi observada diferença quando comparado ao grupo GCS ( $E_{max} = 72,7 \pm 3,5\%$ ;  $pD_2 = 7,6 \pm 0,1$ ). Porém, a suplementação dos ratos com 50 mg/kg de *S. platensis* ou o tratamento com sildenafil aumentou a eficácia relaxante desse agonista ( $E_{max} = 94,4 \pm 5,3$  e  $92,7 \pm 3,1\%$ , respectivamente), sem alterar a potência da ACh ( $pD_2 = 7,7 \pm 0,2$  e  $7,4 \pm 0,3$ , respectivamente), quando comparado aos grupos GCS, GC + SP25 e GC + SP100 (Figura 39, Gráfico 22 e Tabela 26,  $n = 5$ ).

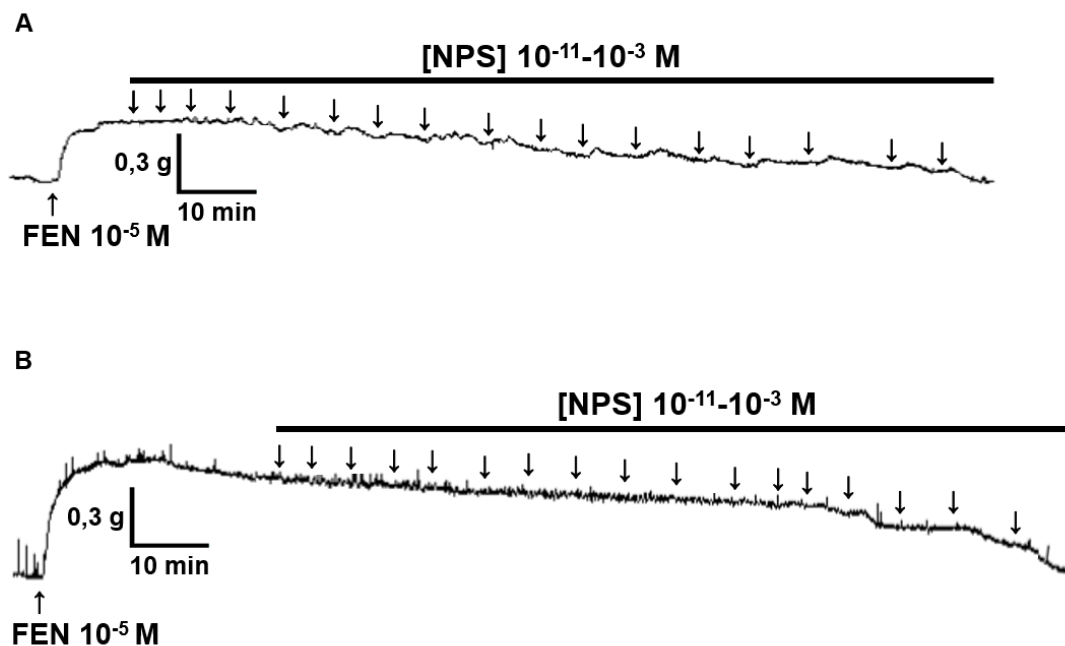
Além disso, a eficácia relaxante da ACh foi diminuída no grupo GOS ( $E_{max} = 50,7 \pm 2,3\%$ ) quando comparada ao grupo GCS ( $E_{max} = 72,7 \pm 3,5\%$ ), porém, a potência do agonista foi semelhante em ambos grupos GOS e GCS ( $pD_2 = 7,0 \pm 0,1$  e  $7,6 \pm 0,1$ , respectivamente) (Figura 40, Gráfico 23 e Tabela 27,  $n = 5$ ).

Nos grupos alimentados com a dieta hipercalórica, a suplementação com *S. platensis* na dose de 25 mg/kg ( $E_{max} = 53,6 \pm 2,8\%$ ;  $pD_2 = 7,0 \pm 0,1$ ) não alterou o relaxamento promovido pela ACh no corpo cavernoso de rato, quando comparado ao grupo GOS ( $E_{max} = 50,7 \pm 2,3\%$ ;  $pD_2 = 7,0 \pm 0,1$ ). Porém, a suplementação com 50 mg/kg da alga ( $E_{max} = 70,3 \pm 5,7\%$ ;  $pD_2 = 9,0 \pm 0,1$ ) ou o tratamento com sildenafil ( $E_{max} = 97,6 \pm 2,4\%$ ;  $pD_2 = 8,6 \pm 0,1$ ) aumentaram a potência e a eficácia relaxante da ACh quando comparado ao grupo GOS. Além disso, a potência relaxante desse agonista foi

aumentada no grupo GO + SP100 ( $pD_2 = 7,9 \pm 0,3$ ), entretanto, sem alteração na eficácia contrátil da ACh ( $E_{max} = 44,4 \pm 4,3\%$ ), comparando-se ao grupo GOS. Adicionalmente, a melhor eficácia relaxante promovida pela ACh foi observada no grupo GO + Sild, apesar disso, a potência do agonista foi superior em ambos grupos GO + SP50 e GO + Sild quando comparado aos outros grupos experimentais (Figura 40, Gráfico 22 e Tabela 27,  $n = 5$ ).



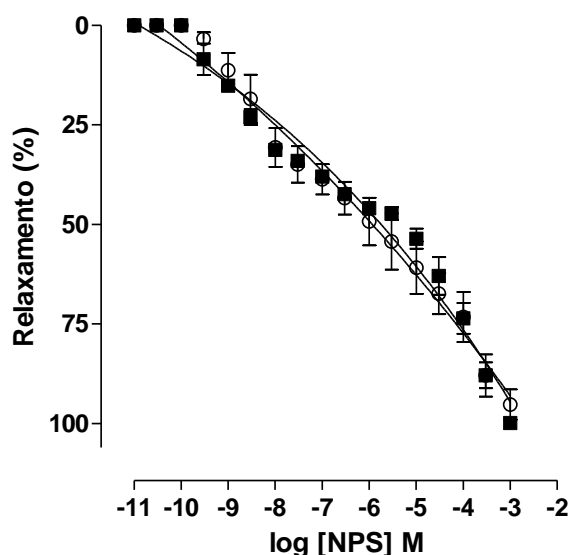
**Figura 38** – Registros representativos do efeito relaxante do NPS em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GCS (A) e GOS (B).



As setas para baixo representam a adição cumulativa de NPS. FEN = fenilefrina; NPS = nitroprussiato de sódio; GCS = grupo controle salina; GOS = grupo obeso salina.

Fonte: SOUZA, 2018.

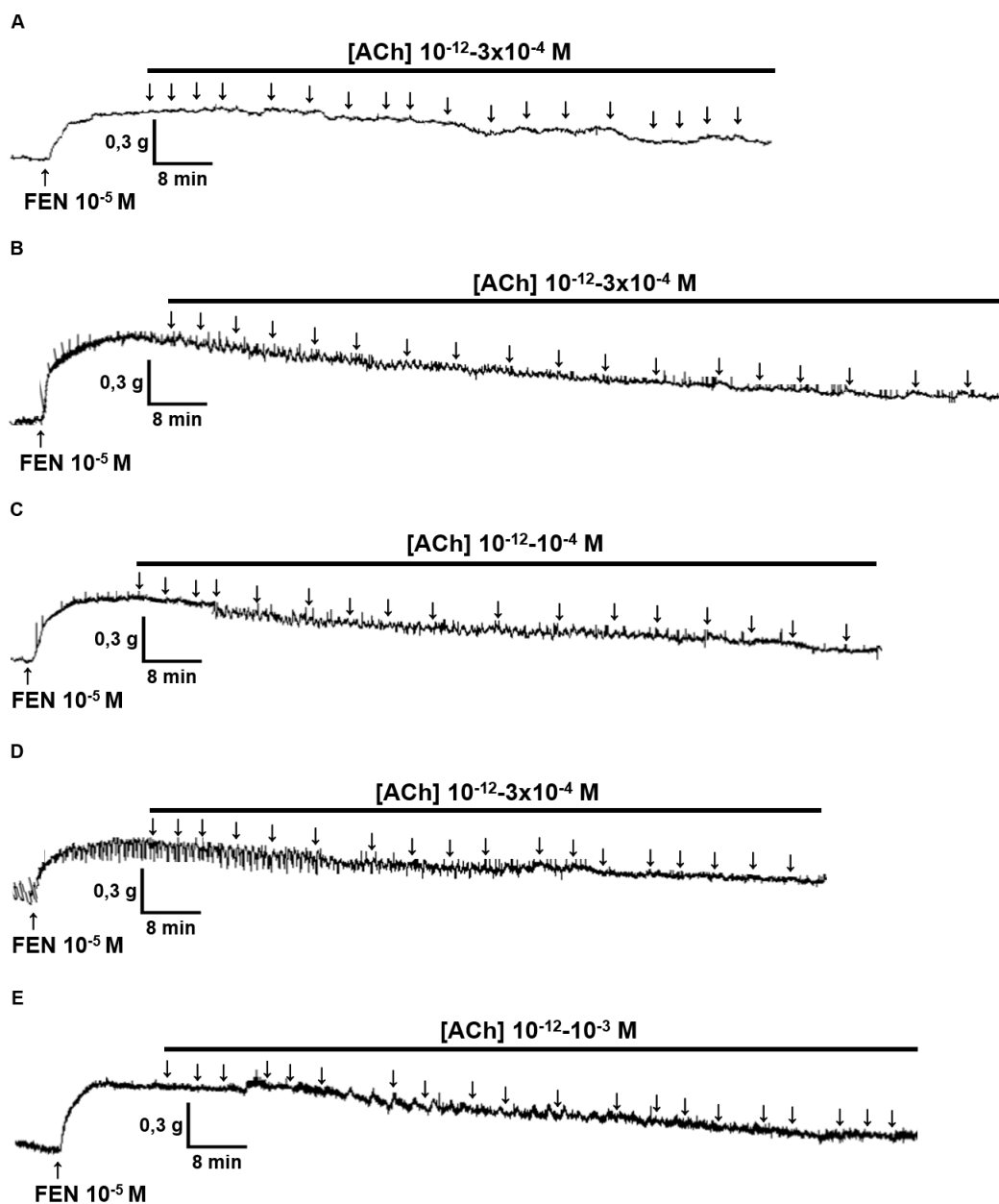
**Gráfico 21** – Curvas concentrações-resposta cumulativas ao NPS dos grupos GCS (■) e GOS (○) em corpo cavernoso isolado de rato.



Os símbolos e as barras verticais representam a média e o e.p.m., respectivamente (n = 5). NPS = nitroprussiato de sódio; GCS = grupo controle salina; GOS = grupo obeso salina.

Fonte: SOUZA, 2018.

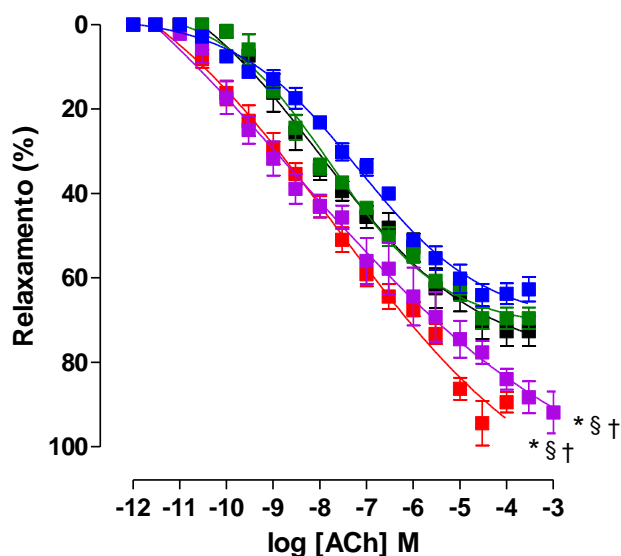
**Figura 39** – Registros representativos do efeito relaxante da ACh em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GCS (A), GC + SP25 (B), GC + SP50 (C), GC + SP100 (D) e GC + Sild (E).



As setas para baixo representam a adição cumulativa de ACh. FEN = fenilefrina; GCS = grupo controle salina; GC + SP25, GC + SP50 e GC + SP100 = grupos alimentados com dieta padrão e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GC + Sild = grupo alimentado com dieta padrão e tratado com sildenafila.

Fonte: SOUZA, 2018.

**Gráfico 22** – Curvas concentrações-resposta cumulativas à ACh dos grupos GCS (■), GC + SP25 (■), GC + SP50 (■), GC + SP100 (■) e GC + Sild (■) 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. \* $p < 0,05$  (GCS vs. GC + SP50 e GC + Sild); § $p < 0,05$  (GC + SP25 vs. GC + SP50 e GC + Sild) e † $p < 0,05$  (GC + SP100 vs. GC + SP50 e GC + Sild). GCS = grupo controle salina; GC + SP25, GC + SP50 e GC + SP100 = grupos alimentados com dieta padrão e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GC + Sild = grupo alimentado com dieta padrão e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

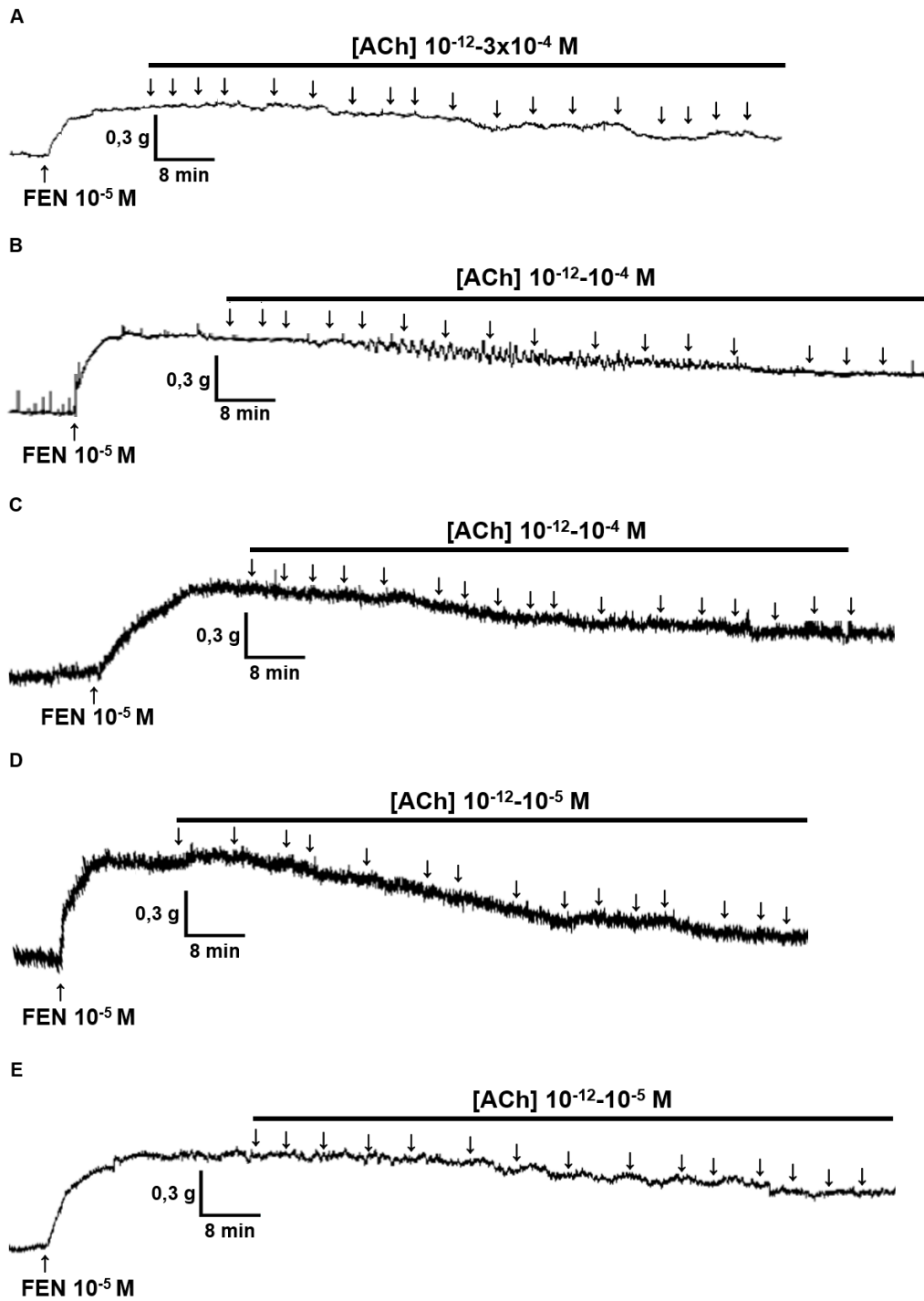
**Tabela 26** – Valores de  $E_{max}$  e de  $pD_2$  da ACh nos grupos GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild em corpo cavernoso isolado de rato.

Grupos	$E_{max}$ (%)	$pD_2$
GCS	72,7 ± 3,5	7,6 ± 0,1
GC + SP25	69,6 ± 2,5	7,7 ± 0,1
GC + SP50	94,4 ± 5,3*§†	7,7 ± 0,2
GC + SP100	64,1 ± 2,6	7,4 ± 0,2
GC + Sild	92,7 ± 3,1*§†	7,4 ± 0,3

ANOVA *one-way* seguido do pós-teste de Tukey. \* $p < 0,05$  (GCS vs. GC + SP50 e GC + Sild); § $p < 0,05$  (GC + SP25 vs. GC + SP50 e GC + Sild) e † $p < 0,05$  (GC + SP100 vs. GC + SP50 e GC + Sild) ( $n = 5$ ). GCS = grupo controle salina; GC + SP25, GC + SP50 e GC + SP100 = grupos alimentados com dieta padrão e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GC + Sild = grupo alimentado com dieta padrão e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

**Figura 40** – Registros representativos do efeito relaxante da ACh em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GCS (A), GOS (B), GO + SP25 (C), GO + SP50 (D), GO + SP100 (E) e GO + Sild (F).



(Continua)

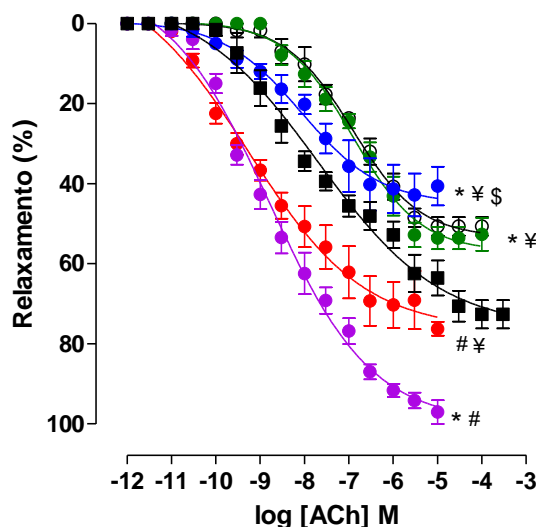
(Continuação)



As setas para baixo representam a adição cumulativa de ACh. FEN = fenilefrina; GCS = grupo controle salina; GOS = grupo obeso salina; GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GO + Sild = grupo alimentado com dieta hipercalórica e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

**Gráfico 23** – Curvas concentrações-resposta cumulativas à ACh dos grupos GCS (■), GOS (○), GO + SP25 (●), GO + SP50 (●), GO + SP100 (●) e GO + Sild (●) 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. \* $p < 0,05$  (GCS vs. GOS, GO + SP25, GO + SP100 e GO + Sild); # $p < 0,05$  (GOS vs. GO + SP50 e GO + Sild); \$ $p < 0,05$  (GO + SP50 vs. GO + SP100) e ¥ $p < 0,05$  (GO + Sild vs. GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100). GCS = grupo controle salina; GOS = grupo obeso salina; GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GO + Sild = grupo alimentado com dieta hipercalórica e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

**Tabela 27** – Valores de  $E_{max}$  e de  $pD_2$  da ACh nos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild em corpo cavernoso isolado de rato.

Grupos	$E_{max}$ (%)	$pD_2$
GCS	$72,7 \pm 3,5$	$7,6 \pm 0,1$
GOS	$50,7 \pm 2,3^*$	$7,0 \pm 0,1$
GO + SP25	$53,6 \pm 2,8^{*\$}$	$7,0 \pm 0,1$
GO + SP50	$70,3 \pm 5,7^{\#\$}$	$9,0 \pm 0,1^{*\#\&}$
GO + SP100	$44,4 \pm 4,3^{*\$¥}$	$7,9 \pm 0,3^{\#\&\$}$
GO + Sild	$97,6 \pm 2,4^{*\#}$	$8,6 \pm 0,1^{*\#\&}$

ANOVA *one-way* seguido do pós-teste de Tukey. \* $p < 0,05$  (GCS vs. GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild); # $p < 0,05$  (GOS vs. GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild); \$ $p < 0,05$  (GO + SP25 vs. GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild); ¥ $p < 0,05$  (GO + SP50 vs. GO + SP100) e & $p < 0,05$  (GO + Sild vs. GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100) ( $n = 5$ ). GCS = grupo controle salina; GOS = grupo obeso salina; GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GO + Sild = grupo alimentados com dieta hipercalórica e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

### 5.6.3.2 Efeito da suplementação com *S. platensis* sobre a curva cumulativa de ACh na ausência e na presença de apocinina, de tempol ou de catalase

Na avaliação da curva de ACh na presença da apocinina, inibidor do complexo NADPH oxidase, nos ratos alimentados com a dieta padrão do grupo GCS, não houve alteração da eficácia relaxante do agonista, mas evidenciou-se potencialização do relaxamento promovido pela ACh, em 19 vezes ( $E_{\max} = 66,5 \pm 3,6\%$ ;  $pD_2 = 8,9 \pm 0,2$ ) quando comparado a curva na ausência do inibidor ( $E_{\max} = 72,7 \pm 3,5\%$ ;  $pD_2 = 7,6 \pm 0,1$ ) (Figura 41, Gráfico 24A e Tabela 28,  $n = 5$ ).

Porém, a suplementação com 50 mg/kg da alga nos ratos que consumiram a dieta padrão potencializou 20 vezes o efeito relaxante da ACh na presença da apocinina ( $pD_2 = 9,0 \pm 0,1$ ) sem alteração do  $E_{\max}$  ( $E_{\max} = 81,2 \pm 2,5\%$ ) quando comparado a ausência do inibidor ( $pD_2 = 7,7 \pm 0,2$ ;  $E_{\max} = 94,4 \pm 5,3\%$ ) (Figura 42, Gráfico 22B e Tabela 28,  $n = 5$ ).

Nos ratos alimentados com a dieta padrão e tratados com sildenafil, não houve alteração do relaxamento promovido pela ACh na presença da apocinina ( $E_{\max} = 84,1 \pm 4,8\%$ ;  $pD_2 = 7,4 \pm 0,3$ ) em relação a curva obtida na ausência do inibidor ( $E_{\max} = 92,7 \pm 3,1\%$ ;  $pD_2 = 7,4 \pm 0,3$ ) (Figura 43, Gráfico 22C e Tabela 28,  $n = 5$ ).

Ao analisar a curva de ACh na presença do tempol, um minético da SOD, nos ratos alimentados com a dieta padrão do grupo GCS, não houve alteração da eficácia relaxante da ACh, mas observou-se potencialização no relaxamento induzido pelo agonista, em 13 vezes ( $E_{\max} = 68,5 \pm 7,5\%$ ;  $pD_2 = 8,8 \pm 0,2$ ) quando comparado a curva na ausência dessa substância ( $E_{\max} = 72,7 \pm 3,5\%$ ;  $pD_2 = 7,6 \pm 0,1$ ) (Figura 41, Gráfico 22A e Tabela 28,  $n = 5$ ).

Entretanto, a suplementação com 50 mg/kg da alga nos ratos que consumiram a dieta padrão potencializou 14 vezes o efeito relaxante da ACh na presença do tempol ( $pD_2 = 8,8 \pm 0,1$ ), sem alteração do efeito máximo ( $E_{\max} = 81,9 \pm 3,6\%$ ), quando comparado a ausência dessa substância

( $pD_2 = 7,7 \pm 0,2$ ;  $E_{max} = 94,4 \pm 5,3\%$ ) (Figura 42, Gráfico 22B e Tabela 28,  $n = 5$ ).

O tratamento dos ratos que consumiram a dieta padrão com sildenafil não alterou o relaxamento promovido pela ACh na presença do tempol ( $E_{max} = 92,0 \pm 3,9\%$ ;  $pD_2 = 8,1 \pm 0,3$ ) em relação a curva obtida na ausência dessa substância ( $E_{max} = 92,7 \pm 3,1\%$ ;  $pD_2 = 7,4 \pm 0,3$ ) (Figura 43, Gráfico 24C e Tabela 28,  $n = 5$ ).

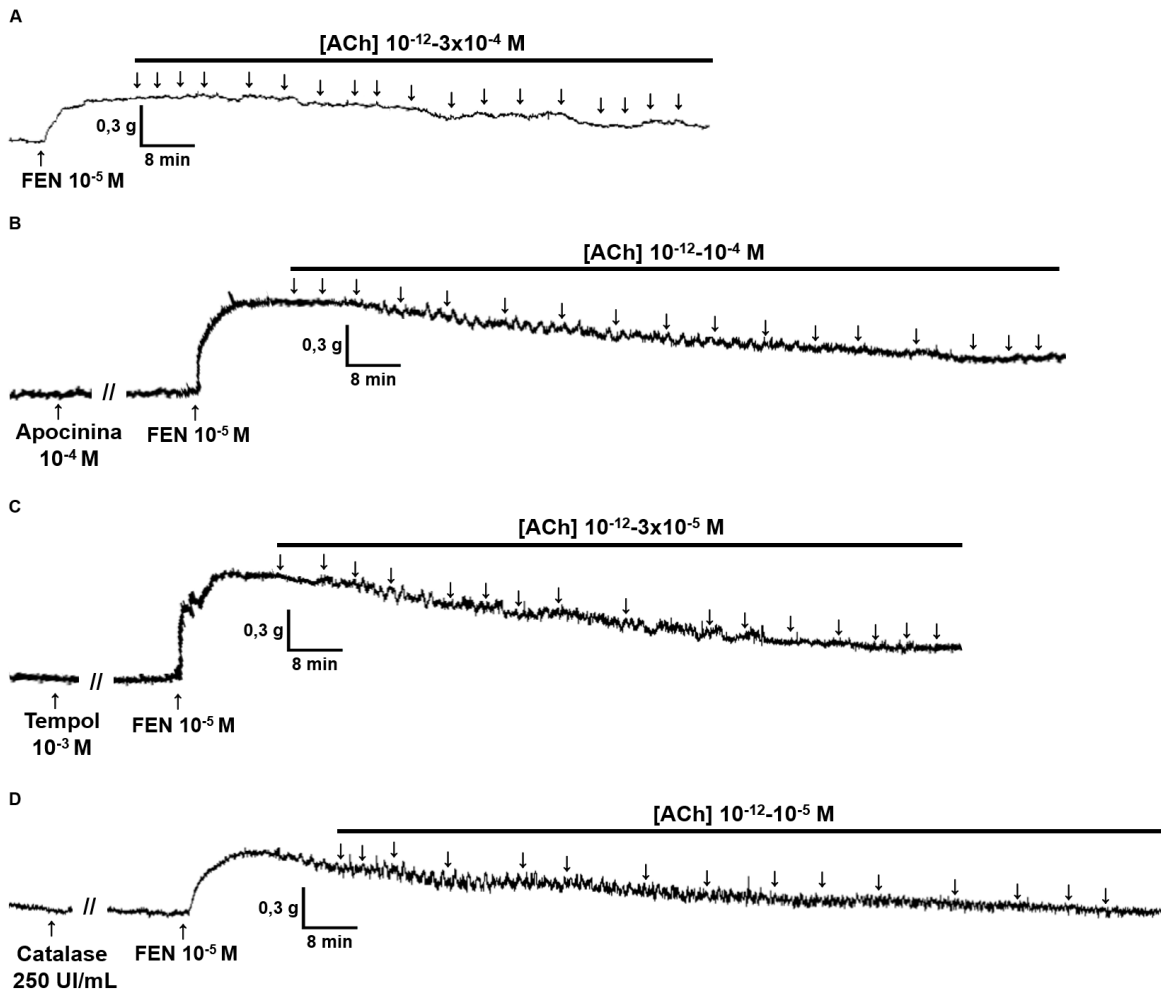
Na avaliação da curva de ACh na presença da catalase, enzima que decompõe o  $H_2O_2$ , nos ratos alimentados com a dieta padrão do grupo GCS, evidenciou-se potencialização do relaxamento promovido pela ACh, em 6 vezes ( $pD_2 = 8,6 \pm 0,1$ ) quando comparado a curva na ausência do inibidor ( $pD_2 = 7,6 \pm 0,1$ ), bem como aumento da eficácia relaxante do agonista ( $E_{max} = 100,0 \pm 0,0$  e  $72,7 \pm 3,5\%$ , respectivamente) (Figura 41, Gráfico 24A e Tabela 28,  $n = 5$ ).

A suplementação com 50 mg/kg da alga nos ratos que consumiram a dieta padrão potencializou 7 vezes o efeito relaxante da ACh na presença da catalase ( $pD_2 = 8,5 \pm 0,1$ ) sem alteração do  $E_{max}$  ( $E_{max} = 100,0 \pm 0,0\%$ ) quando comparado a ausência do inibidor ( $pD_2 = 7,7 \pm 0,2$ ;  $E_{max} = 94,4 \pm 5,3\%$ ) (Figura 42, Gráfico 22B e Tabela 28,  $n = 5$ ).

Nos ratos alimentados com a dieta padrão e tratados com sildenafil, não houve alteração do relaxamento promovido pela ACh na presença da catalase ( $E_{max} = 84,7 \pm 3,5\%$ ;  $pD_2 = 8,2 \pm 0,1$ ) em relação a curva obtida na ausência do inibidor ( $E_{max} = 92,7 \pm 3,1\%$ ;  $pD_2 = 7,4 \pm 0,3$ ) (Figura 43, Gráfico 22C e Tabela 28,  $n = 5$ ).



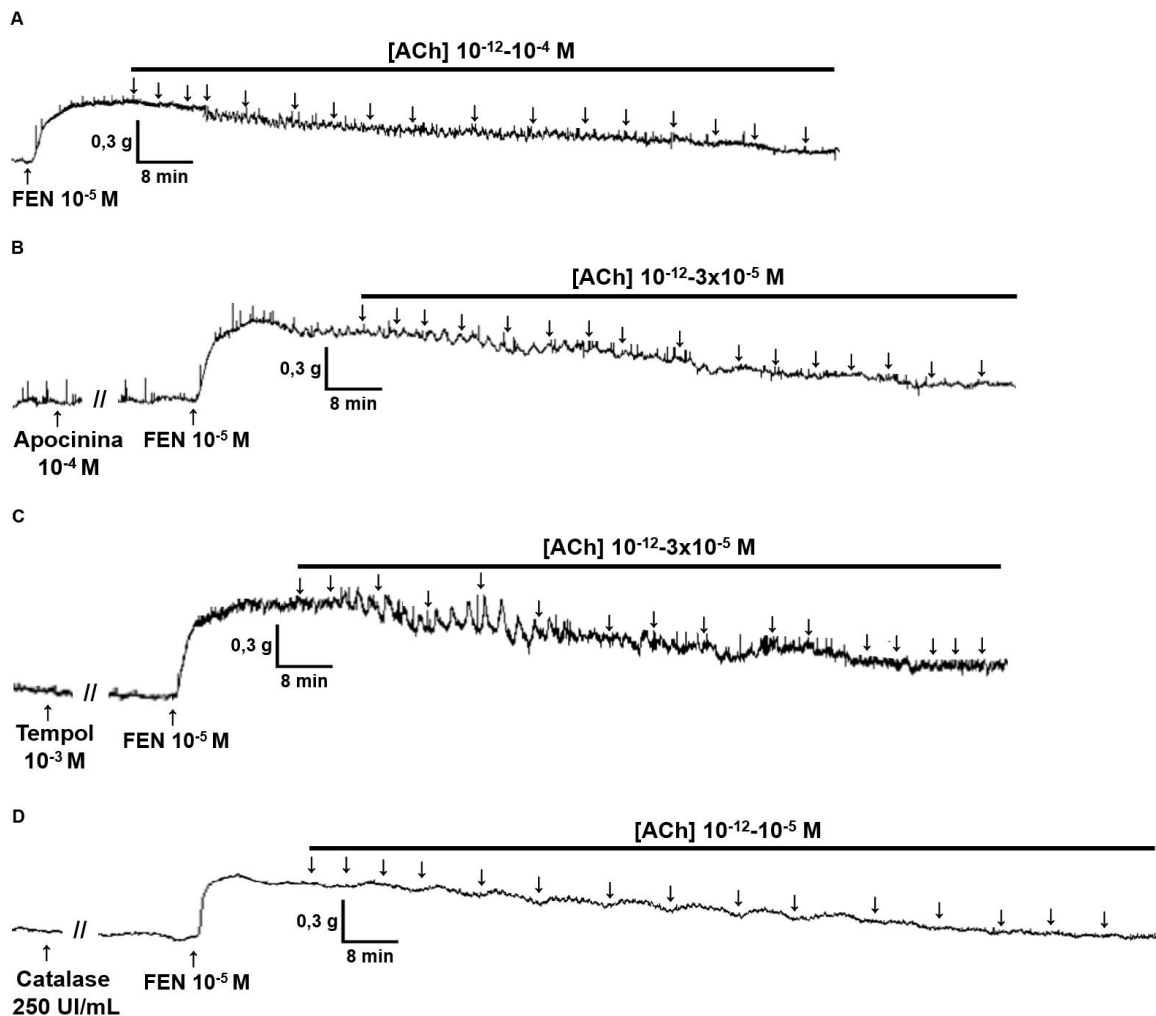
**Figura 41** – Registros representativos do efeito relaxante da ACh na ausência (A) e na presença de apocinina (B), de tempol (C) e de catalase (D) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GCS.



As setas para baixo representam a adição cumulativa de ACh. FEN = fenilefrina; GCS = grupo controle salina.

Fonte: SOUZA, 2018.

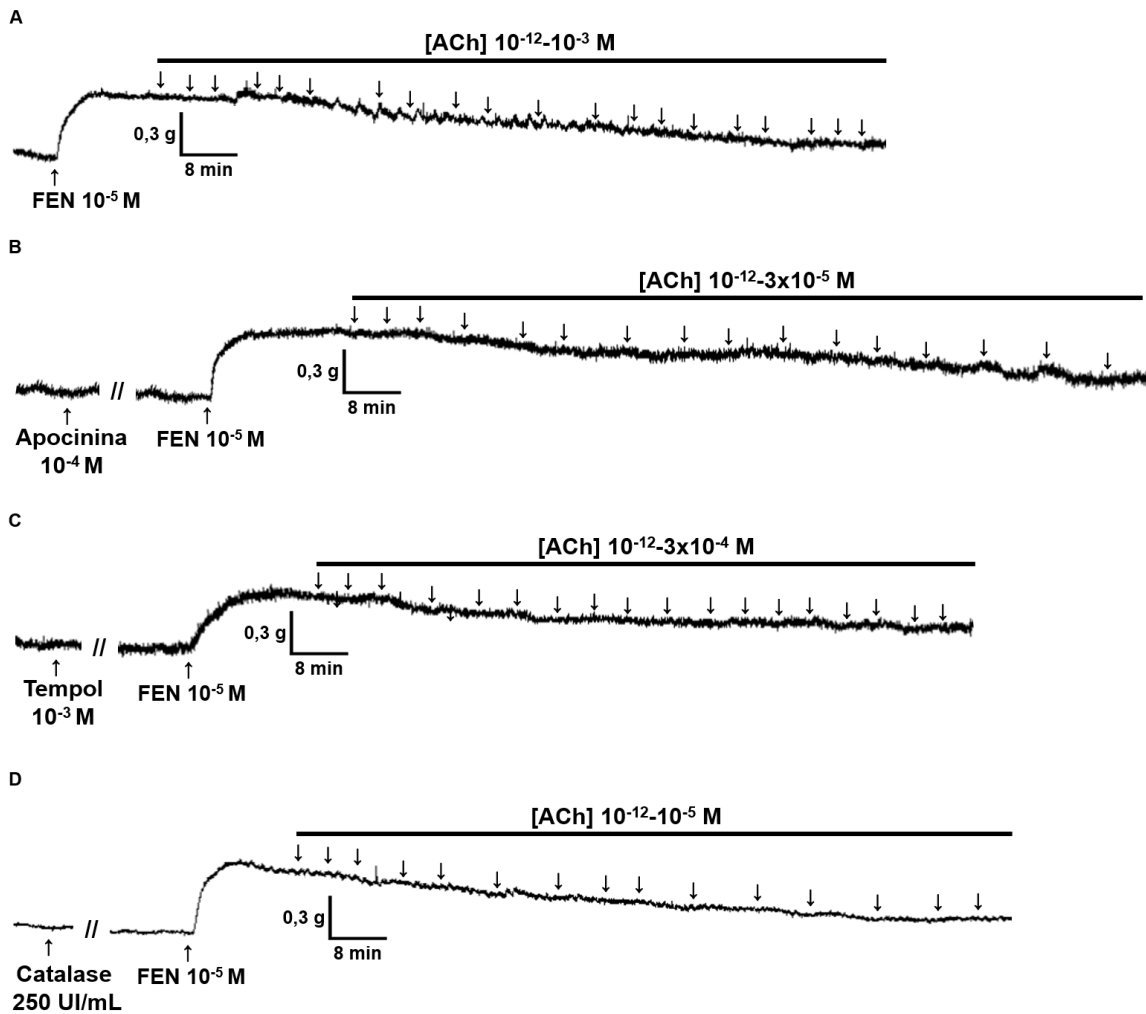
**Figura 42** – Registros representativos do efeito relaxante da ACh na ausência (A) e na presença de apocinina (B), de tempol (C) e de catalase (D) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GC + SP50.



As setas para baixo representam a adição cumulativa de ACh. FEN = fenilefrina; GC + SP50 = grupo alimentado com dieta padrão e suplementado com *S. platensis* 50 mg/kg.

Fonte: SOUZA, 2018.

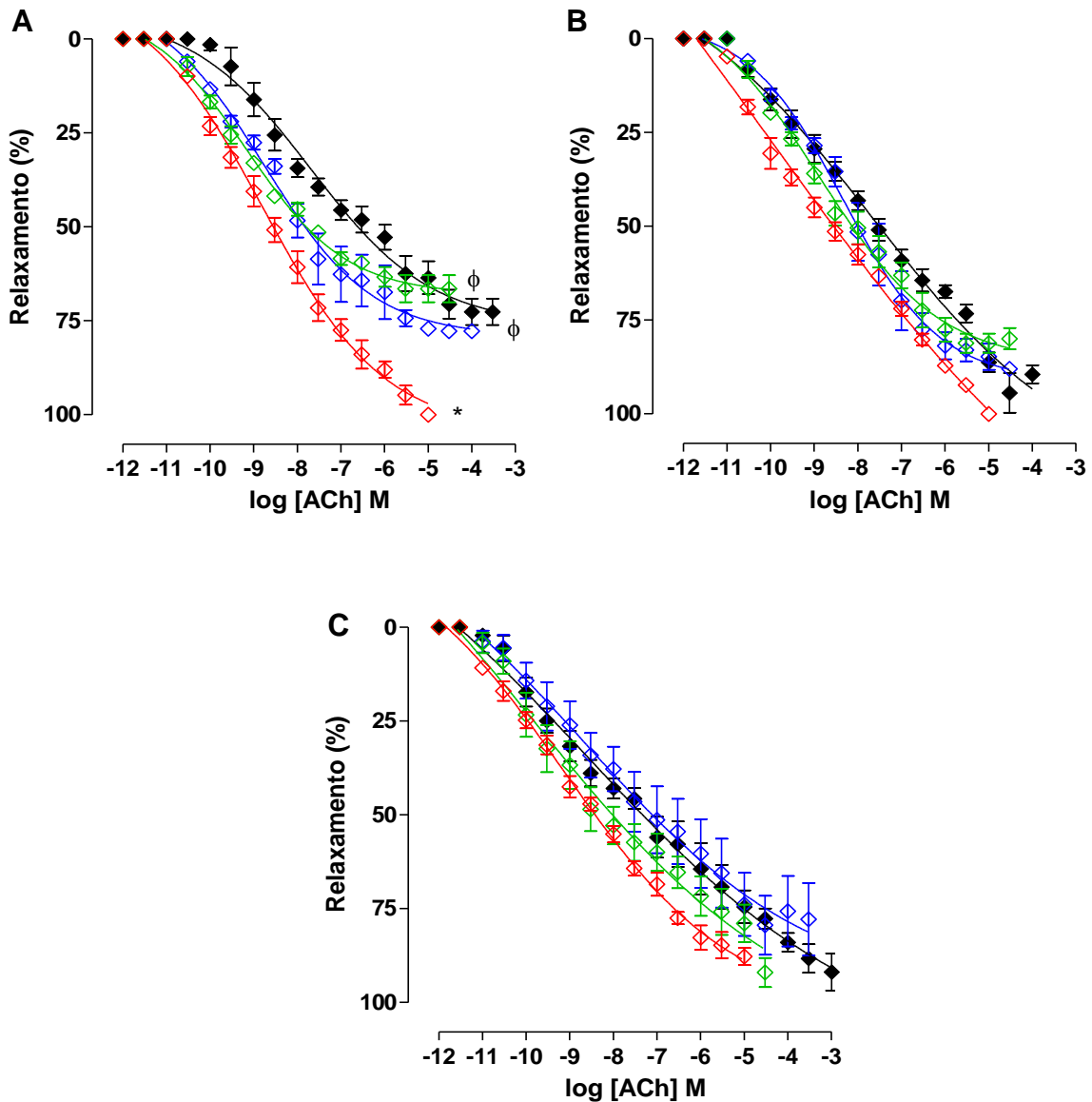
**Figura 43** – Registros representativos do efeito relaxante da ACh na ausência (A) e na presença de apocinina (B), de tempol (C) e de catalase (D) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GC + Sild.



As setas para baixo representam a adição cumulativa de ACh. FEN = fenilefrina; GC + Sild = grupo alimentado com dieta padrão e tratado com sildenafila.

Fonte: SOUZA, 2018.

**Gráfico 24** – Curvas concentrações-resposta cumulativas à ACh na ausência (◆) e na presença de apocinina (◇), de tempol (◇) e de catalase (◇) em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GCS (A), GC + SP50 (B) e GC + Sild (C).



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. catalase) e  $^{\phi}p < 0,05$  (catalase vs. tempol e apocinina). GCS = grupo controle salina; GC + SP50 = grupo alimentado com dieta padrão e suplementado com *S. platensis* 50 mg/kg; GC + Sild = grupo alimentado com dieta padrão e tratado com sildenafila.

Fonte: SOUZA, 2018.

**Tabela 28** – Valores de  $E_{max}$  e de  $pD_2$  da ACh na ausência e na presença de apocinina, de tempol e de catalase em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GCS, GC + SP50 e GC + Sild.

ACh	$E_{max}$ (%)	$pD_2$
GCS		
Ausência	72,7 ± 3,5	7,6 ± 0,1
Apocinina	66,5 ± 3,6 <sup>φ</sup>	8,9 ± 0,2*
Tempol	68,5 ± 7,5 <sup>φ</sup>	8,8 ± 0,2*
Catalase	100,0 ± 0,0*	8,6 ± 0,1*
GC + SP50		
Ausência	94,4 ± 5,3	7,7 ± 0,2
Apocinina	81,2 ± 2,5	9,0 ± 0,1*
Tempol	81,9 ± 3,6	8,8 ± 0,1*
Catalase	100,0 ± 0,0	8,5 ± 0,1
GC + Sild		
Ausência	92,7 ± 3,1	7,4 ± 0,3
Apocinina	84,1 ± 4,8	7,4 ± 0,3
Tempol	92,0 ± 3,9	8,1 ± 0,3
Catalase	84,7 ± 3,5	8,2 ± 0,1

ANOVA *one-way* seguido do pós-teste de Tukey. \* $p < 0,05$  (ausência vs. apocinina, tempol e catalase) e <sup>φ</sup> $p < 0,05$  (catalase vs. tempol e apocinina) ( $n = 5$ ). GCS = grupo controle salina; GC + SP50 = grupo alimentado com dieta padrão e suplementado com *S. platensis* 50 mg/kg; GC + Sild = grupo alimentado com dieta padrão e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

Ao analisar a curva da ACh na presença da apocinina, nos ratos que consumiram a dieta hipercalórica do grupo GOS, não houve alteração da eficácia contrátil desse agonista ( $E_{\max} = 58,2 \pm 6,1\%$ ), mas ocorreu potencialização da resposta relaxante da ACh, em 19 vezes ( $pD_2 = 8,3 \pm 0,2$ ) quando comparado a curva na ausência desse inibidor ( $E_{\max} = 50,7 \pm 2,3\%$ ;  $pD_2 = 7,0 \pm 0,1$ ) (Figura 44, Gráfico 25A e Tabela 29,  $n = 5$ ).

Porém, a suplementação com 50 mg/kg da alga nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica não deslocou a curva cumulativa à ACh ( $E_{\max} = 72,7 \pm 2,3\%$ ;  $pD_2 = 8,6 \pm 0,4$ ) quando comparado a ausência desse inibidor ( $E_{\max} = 70,3 \pm 5,7\%$ ;  $pD_2 = 9,0 \pm 0,1$ ) (Figura 45, Gráfico 25B e Tabela 29,  $n = 5$ ). Nos ratos que consumiram a dieta hipercalórica e foram suplementados com *S. platensis* na dose de 100 mg/kg, a presença da apocinina ( $E_{\max} = 55,2 \pm 1,6\%$ ;  $pD_2 = 7,6 \pm 0,3$ ) também não alterou a eficácia ou a potência relaxante promovida pela ACh na ausência do inibidor ( $E_{\max} = 44,4 \pm 4,3\%$ ;  $pD_2 = 7,9 \pm 0,3$ ) (Figura 46, Gráfico 25C e Tabela 29,  $n = 5$ ).

O tratamento com sildenafil não alterou o relaxamento promovido pela ACh nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica, na presença da apocinina ( $E_{\max} = 96,2 \pm 2,4\%$ ;  $pD_2 = 8,1 \pm 0,2$ ) em relação a curva obtida na ausência desse inibidor ( $E_{\max} = 97,6 \pm 2,4\%$ ;  $pD_2 = 8,6 \pm 0,1$ ) (Figura 47, Gráfico 25D e Tabela 29,  $n = 5$ ).

Adicionalmente, a avaliação da curva de relaxamento da ACh na presença do tempol, nos ratos que consumiram a dieta hipercalórica do grupo GOS, demonstrou que não houve alteração da eficácia relaxante desse agonista ( $E_{\max} = 69,1 \pm 5,6\%$ ), mas ocorreu potencialização da resposta relaxante da ACh, em 23 vezes ( $pD_2 = 8,5 \pm 0,1$ ) quando comparado a curva na ausência dessa substância ( $E_{\max} = 50,7 \pm 2,3\%$ ;  $pD_2 = 7,0 \pm 0,1$ ) (Figura 44, Gráfico 25A e Tabela 29,  $n = 5$ ).

Entretanto, a suplementação com 50 mg/kg da alga nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica potencializou 10 vezes o efeito contrátil da ACh na presença do tempol ( $pD_2 = 8,0 \pm 0,2$ ) com aumento do  $E_{\max}$  ( $E_{\max} = 95,7 \pm 1,9\%$ ) quando comparado a ausência dessa substância ( $pD_2 = 9,0 \pm 0,1$ ;  $E_{\max} = 70,3 \pm 5,7\%$ ) (Figura 45, Gráfico 25B e Tabela 29,

n = 5). Porém, nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* na dose de 100 mg/kg, a presença do tempol ( $E_{\max} = 49,9 \pm 6,4\%$ ;  $pD_2 = 8,2 \pm 0,2$ ) não alterou a eficácia ou a potência relaxante promovida pela ACh na ausência dessa substância ( $E_{\max} = 44,4 \pm 4,3\%$ ;  $pD_2 = 7,9 \pm 0,3$ ) (Figura 46, Gráfico 25C e Tabela 29, n = 5).

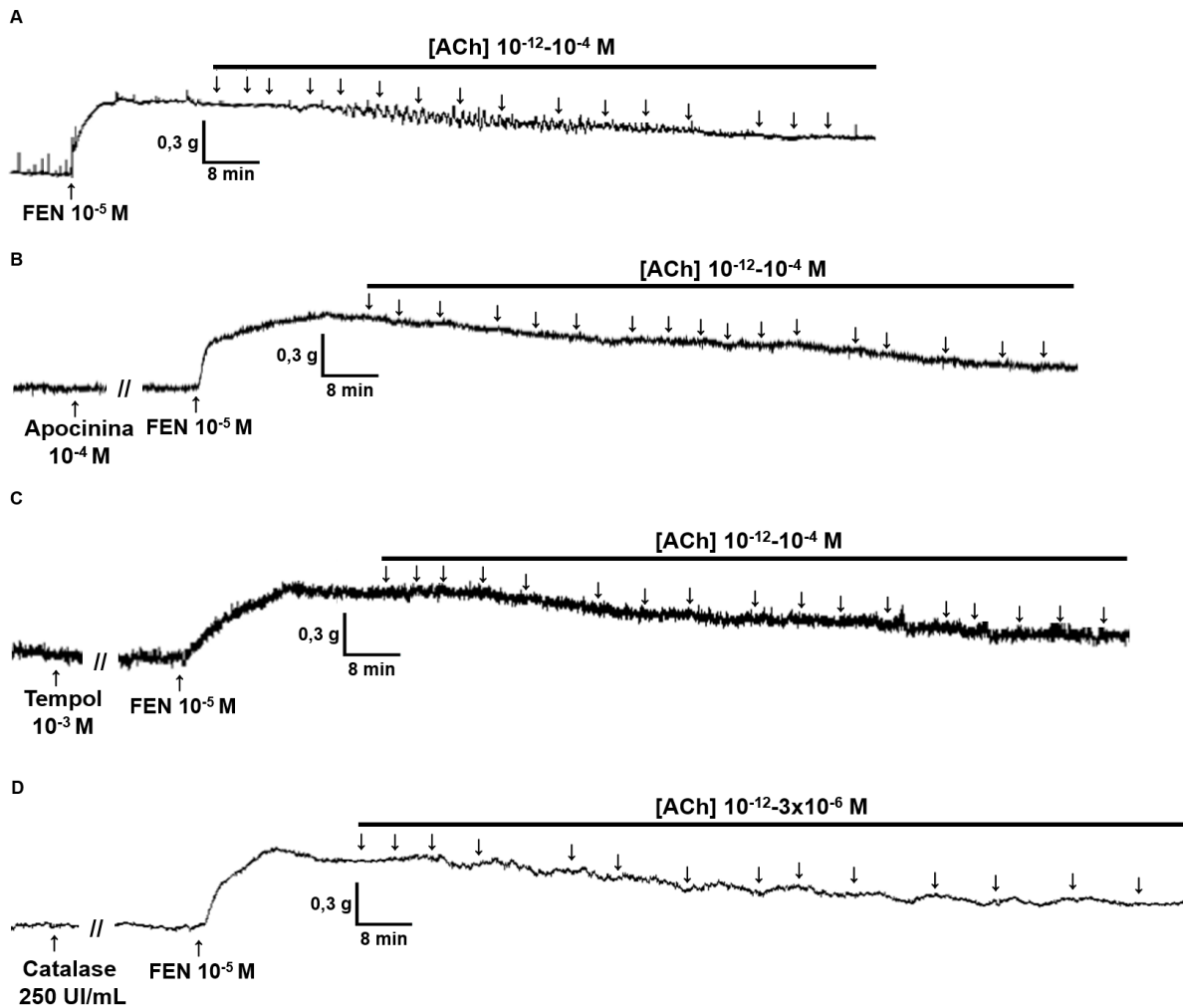
O tratamento com sildenafil não alterou o relaxamento promovido pela ACh nos ratos que consumiram a dieta hipercalórica na presença do tempol ( $E_{\max} = 90,9 \pm 4,7\%$ ;  $pD_2 = 7,9 \pm 0,2$ ) em relação a curva obtida na ausência dessa substância ( $E_{\max} = 97,6 \pm 2,4\%$ ;  $pD_2 = 8,6 \pm 0,1$ ) (Figura 47, Gráfico 25D e Tabela 29, n = 5).

Além disso, ao analisar a curva da ACh na presença da catalase, nos ratos que consumiram a dieta hipercalórica do grupo GOS, observou-se aumento na eficácia contrátil desse agonista ( $E_{\max} = 82,7 \pm 7,5\%$ ) e potencialização da resposta relaxante da ACh, em 140 vezes ( $pD_2 = 9,4 \pm 0,2$ ) quando comparado a curva na ausência desse inibidor ( $E_{\max} = 50,7 \pm 2,3\%$ ;  $pD_2 = 7,0 \pm 0,1$ ) (Figura 44, Gráfico 25A e Tabela 29, n = 5).

Entretanto, a suplementação com 50 mg/kg da alga nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica não deslocou a curva cumulativa à ACh na presença da catalase ( $pD_2 = 9,1 \pm 0,2$ ), mas, houve aumento do  $E_{\max}$  ( $E_{\max} = 100,0 \pm 0,0\%$ ) quando comparado a ausência dessa substância ( $pD_2 = 9,0 \pm 0,1$ ;  $E_{\max} = 70,3 \pm 5,7\%$ ) (Figura 45, Gráfico 25B e Tabela 29, n = 5). Porém, nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* na dose de 100 mg/kg, a presença da catalase ( $E_{\max} = 100,0 \pm 0,0\%$ ;  $pD_2 = 9,7 \pm 0,1$ ) aumentou a eficácia e a potência relaxante (108 vezes) promovida pela ACh na ausência dessa substância ( $E_{\max} = 44,4 \pm 4,3\%$ ;  $pD_2 = 7,9 \pm 0,3$ ) (Figura 46, Gráfico 25C e Tabela 29, n = 5).

O tratamento com sildenafil não alterou o relaxamento promovido pela ACh nos ratos que consumiram a dieta hipercalórica na presença da catalase ( $E_{\max} = 88,6 \pm 0,9\%$ ;  $pD_2 = 8,4 \pm 0,1$ ) em relação a curva obtida na ausência dessa substância ( $E_{\max} = 97,6 \pm 2,4\%$ ;  $pD_2 = 8,6 \pm 0,1$ ) (Figura 47, Gráfico 25D e Tabela 29, n = 5).

**Figura 44** – Registros representativos do efeito relaxante da ACh na ausência (A) e na presença de apocinina (B), de tempol (C) e de catalase (D) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GOS.

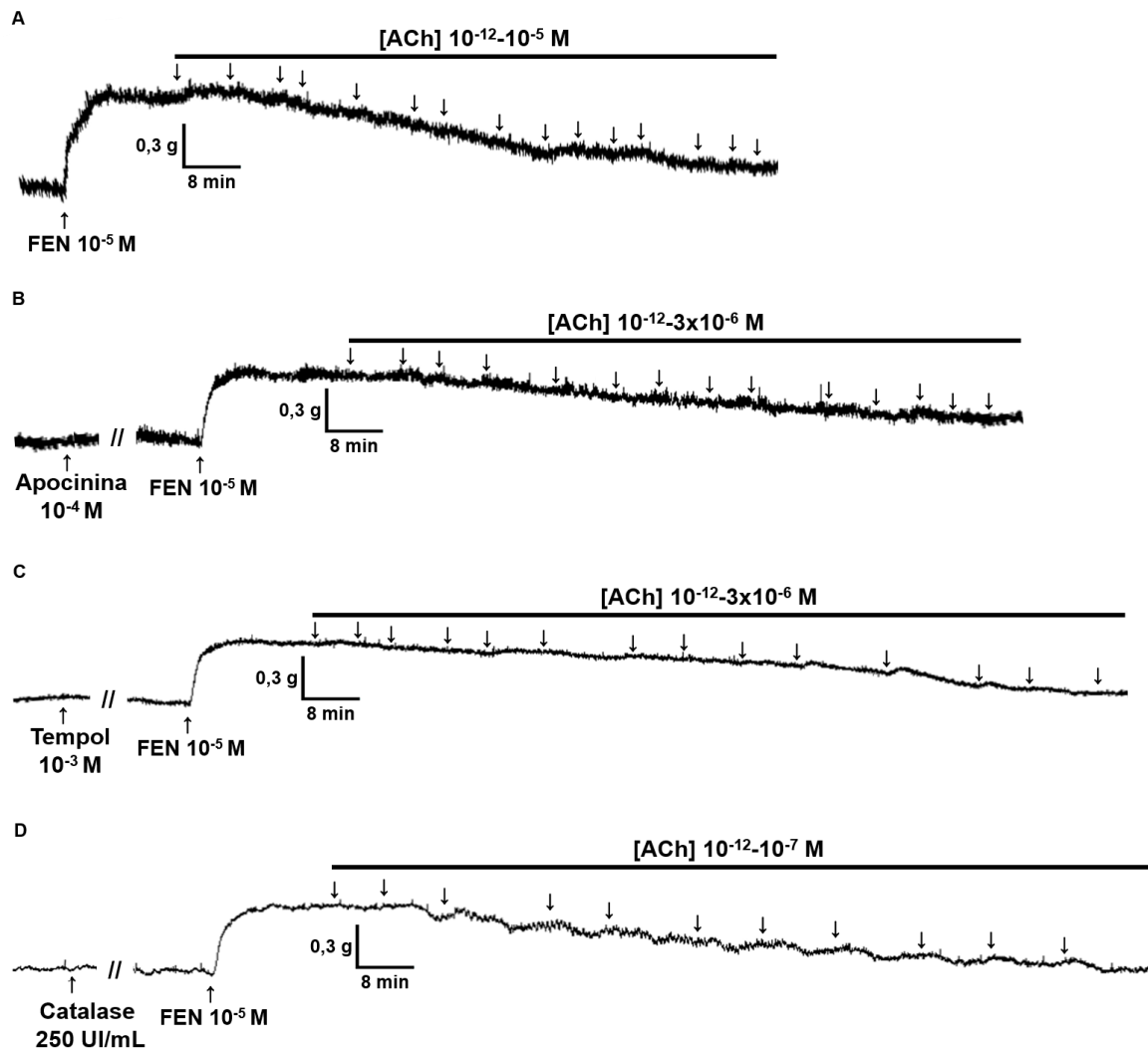


As setas para baixo representam a adição cumulativa de ACh. FEN = fenilefrina; GOS = grupo controle salina.

Fonte: SOUZA, 2018.



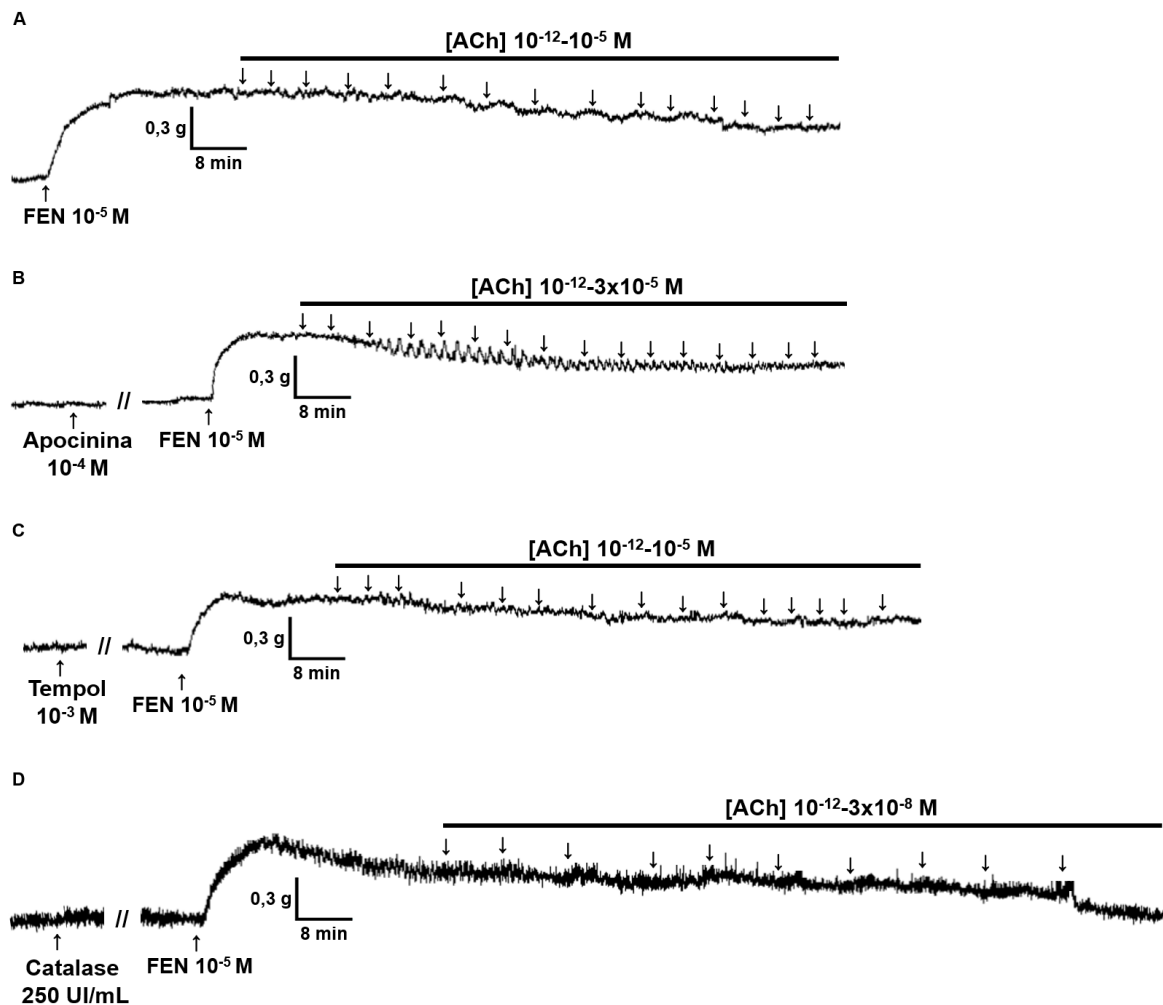
**Figura 45** – Registros representativos do efeito relaxante da ACh na ausência (A) e na presença de apocinina (B), de tempol (C) e de catalase (D) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GO + SP50.



As setas para baixo representam a adição cumulativa de ACh. FEN = fenilefrina; GO + SP50 = grupo alimentado com dieta hipercalórica e suplementado com *S. platensis* 50 mg/kg.

Fonte: SOUZA, 2018.

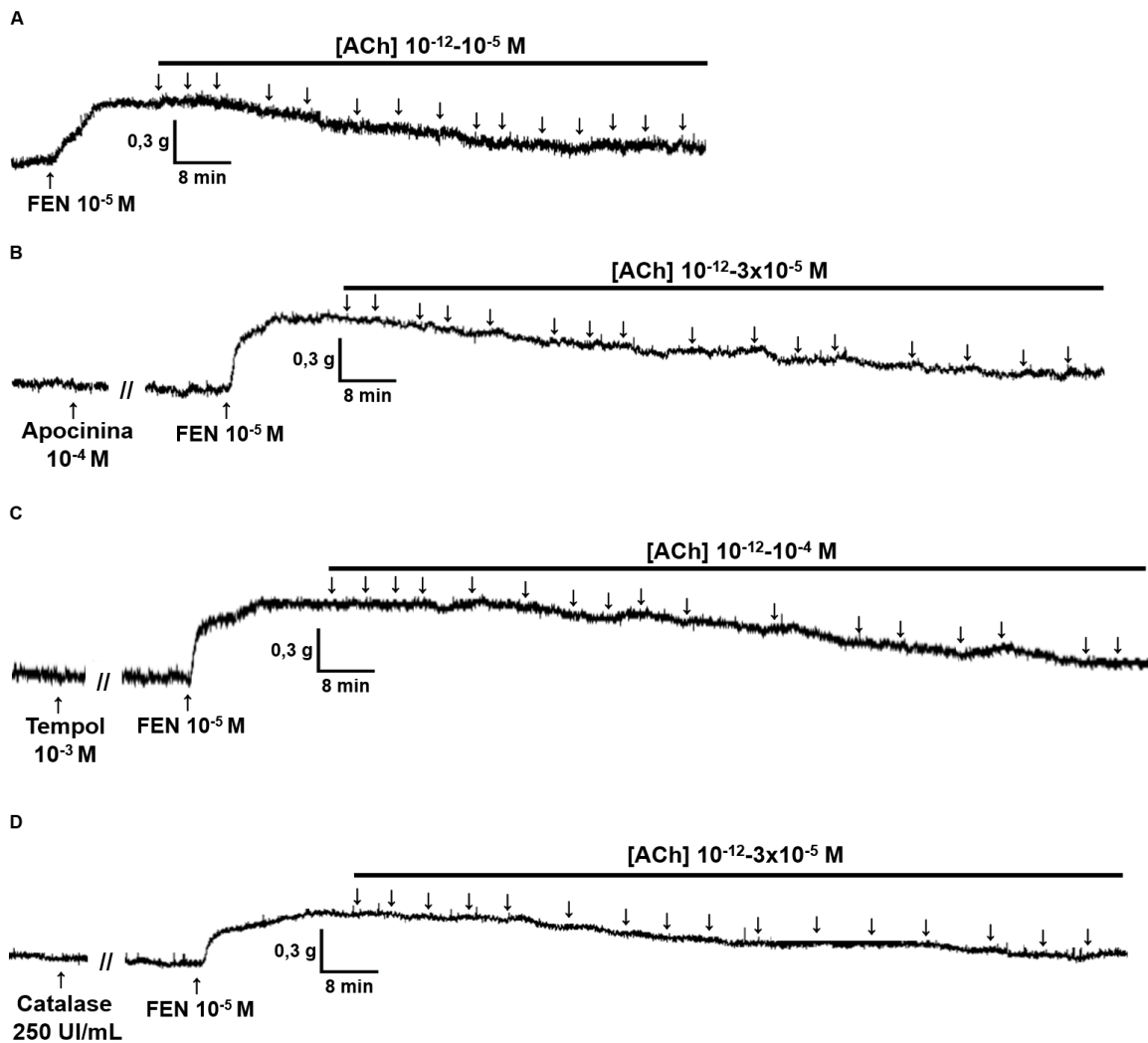
**Figura 46** – Registros representativos do efeito relaxante da ACh na ausência (A) e na presença de apocinina (B), de tempol (C) e de catalase (D) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GO + SP100.



As setas para baixo representam a adição cumulativa de ACh. FEN = fenilefrina; GO + SP100 = grupo alimentado com dieta hipercalórica e suplementado com *S. platensis* 100 mg/kg.

Fonte: SOUZA, 2018.

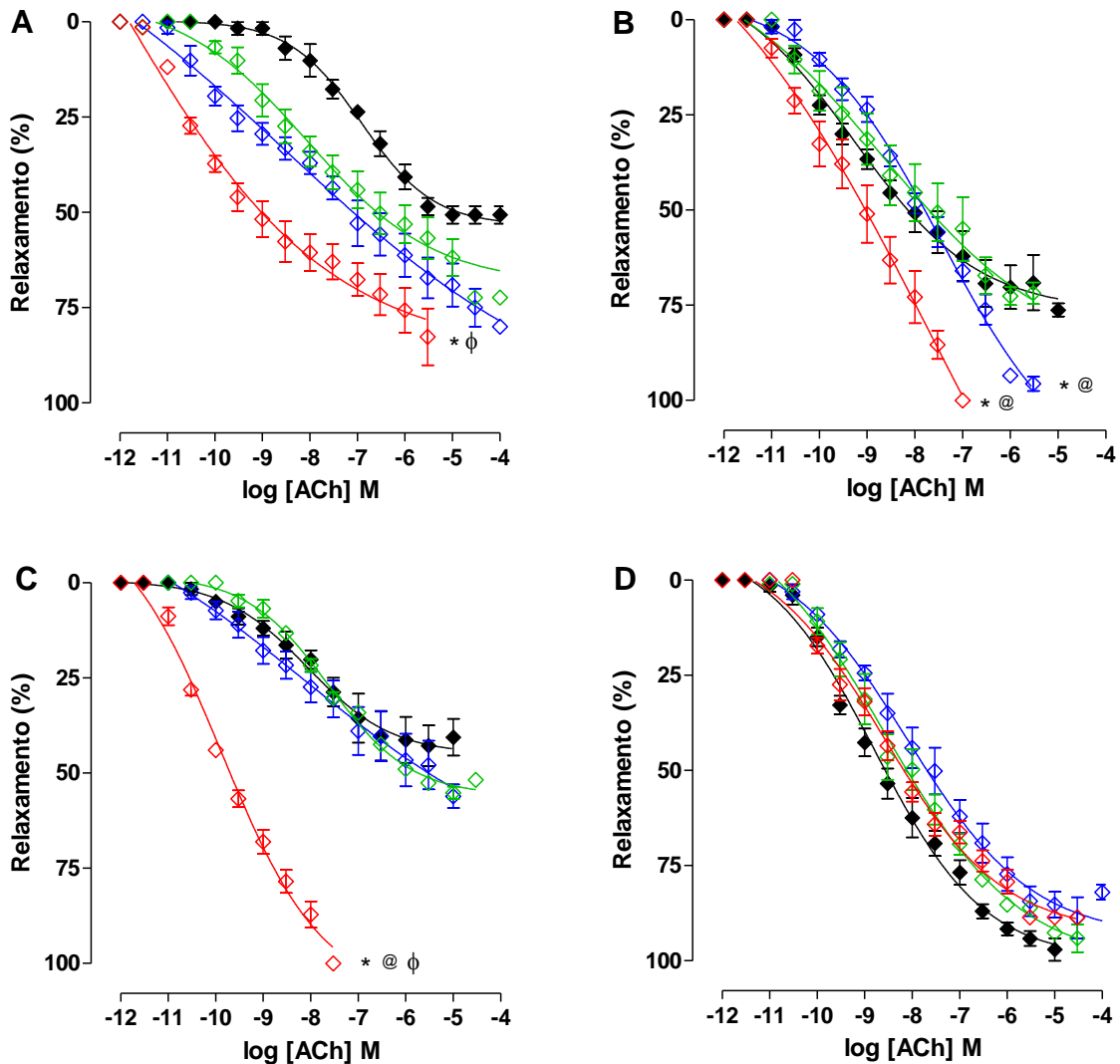
**Figura 47** – Registros representativos do efeito relaxante da ACh na ausência (A) e na presença de apocinina (B), de tempol (C) e de catalase (D) em corpo cavernoso isolado de rato do grupo GO + Sild.



As setas para baixo representam a adição cumulativa de ACh. FEN = fenilefrina; GO + Sild = grupo alimentado com dieta hipercalórica e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

**Gráfico 25** – Curvas concentrações-resposta cumulativas à ACh na ausência (◆) e na presença de apocinina (◇), de tempol (◇) e de catalase (◇) em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GOS (A), GO + SP50 (B), GO + SP100 (C) e GO + Sild (D).



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 catalase); @ $p < 0,05$  (apocinina vs. tempol e catalase) e  $\phi p < 0,05$  (tempol vs. catalase). GOS = grupo obeso salina; GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GO + Sild = grupo alimentado com dieta hipercalórica e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

**Tabela 29** – Valores de  $E_{max}$  e de  $pD_2$  da ACh na ausência e na presença de apocinina, de tempol e de catalase em corpo cavernoso isolado de rato dos grupos GOS, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild.

FEN	$E_{max}$ (%)	$pD_2$
GOS		
Ausência	50,7 ± 2,3	7,0 ± 0,1
Apocinina	58,2 ± 6,1	8,3 ± 0,2*
Tempol	69,1 ± 5,6	8,5 ± 0,1*
Catalase	82,7 ± 7,5* <sup>Φ</sup>	9,4 ± 0,2*
GO + SP50		
Ausência	70,3 ± 5,7	9,0 ± 0,1
Apocinina	72,7 ± 2,3	8,6 ± 0,4
Tempol	95,7 ± 1,9* <sup>@</sup>	8,0 ± 0,2*
Catalase	100,0 ± 0,0* <sup>@</sup>	9,1 ± 0,2
GO + SP100		
Ausência	44,4 ± 4,3	7,9 ± 0,3
Apocinina	55,2 ± 1,6	7,6 ± 0,03
Tempol	49,9 ± 6,4	8,2 ± 0,2
Catalase	100,0 ± 0,0* <sup>@Φ</sup>	9,7 ± 0,1* <sup>@Φ</sup>
GO + Sild		
Ausência	97,6 ± 2,4	8,6 ± 0,1
Apocinina	96,2 ± 2,4	8,1 ± 0,2
Tempol	90,9 ± 4,7	7,9 ± 0,2
Catalase	88,6 ± 0,9	8,4 ± 0,1

ANOVA *one-way* seguido do pós-teste de Tukey. \* $p < 0,05$  (ausência vs. apocinina, tempol e catalase), <sup>@</sup> $p < 0,05$  (apocinina vs. tempol e catalase) e <sup>Φ</sup> $p < 0,05$  (tempol vs. catalase) ( $n = 5$ ). GOS = grupo obeso salina; GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GO + Sild = grupo alimentado com dieta hipercalórica e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

#### 5.6.4 Efeito da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre o estresse oxidativo

##### 5.6.4.1 Efeito da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre os níveis de MDA no plasma, nos tecidos adiposos e no corpo cavernoso

Nos ratos alimentados com a dieta padrão, não foi observada diferença na concentração de MDA no plasma dos grupos GCS ( $5,3 \pm 0,2 \mu\text{mol/L}$ ), GC + SP25 ( $4,2 \pm 0,5 \mu\text{mol/L}$ ), GC + SP50 ( $5,1 \pm 0,1 \mu\text{mol/L}$ ), GC + SP100 ( $5,1 \pm 0,2 \mu\text{mol/L}$ ) e GC + Sild ( $4,0 \pm 0,3 \mu\text{mol/L}$ ) (Gráfico 26A, n = 5).

De maneira semelhante, a concentração de MDA nos tecidos adiposos epididimal, retroperitoneal e inguinal não diferiu entre os ratos alimentados com a dieta padrão dos grupos GCS ( $1,9 \pm 0,2$ ;  $1,8 \pm 0,2$  e  $3,1 \pm 0,3 \mu\text{mol/L}$ , respectivamente), GC + SP25 ( $2,3 \pm 0,1$ ;  $2,3 \pm 0,1$  e  $3,4 \pm 0,2 \mu\text{mol/L}$ , respectivamente), GC + SP50 ( $2,9 \pm 0,6$ ;  $2,6 \pm 0,5$  e  $4,0 \pm 0,2 \mu\text{mol/L}$ , respectivamente), GC + SP100 ( $3,2 \pm 0,4$ ;  $3,2 \pm 0,3$  e  $4,0 \pm 0,3 \mu\text{mol/L}$ , respectivamente) e GC + Sild ( $2,3 \pm 0,2$ ;  $1,9 \pm 0,3$  e  $2,9 \pm 0,4 \mu\text{mol/L}$ , respectivamente) (Gráfico 26B-D, n = 5).

No corpo cavernoso, a concentração de MDA não foi alterada nos ratos que consumiram a dieta padrão e foram suplementados com a alga nas doses de 25 ( $0,8 \pm 0,1 \mu\text{mol/L}$ ), 50 ( $0,9 \pm 0,1 \mu\text{mol/L}$ ) e 100 mg/kg ( $0,5 \pm 0,2 \mu\text{mol/L}$ ) ou tratados com sildenafil ( $0,7 \pm 0,1 \mu\text{mol/L}$ ) em relação ao grupo GCS ( $0,5 \pm 0,1 \mu\text{mol/L}$ ) (Gráfico 26E, n = 5).

Nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica, o grupo GOS ( $6,8 \pm 0,3 \mu\text{mol/L}$ ) apresentou aumento na concentração de MDA no plasma em relação ao grupo GCS ( $5,3 \pm 0,2 \mu\text{mol/L}$ ). Entretanto, a suplementação com *S. platensis* nas doses de 25 ( $3,9 \pm 0,1 \mu\text{mol/L}$ ), 50 ( $2,9 \pm 0,1 \mu\text{mol/L}$ ) e 100 mg/kg ( $3,9 \pm 0,3 \mu\text{mol/L}$ ), bem como o tratamento com sildenafil ( $2,8 \pm 0,6 \mu\text{mol/L}$ ) preveniram a alteração causada pelo consumo da dieta hipercalórica, uma vez que houve redução na concentração de MDA no plasma em relação ao grupo GOS, sendo observada a maior diminuição em ambos grupos GO + SP50 e GO + Sild (Gráfico 27A, n = 5).

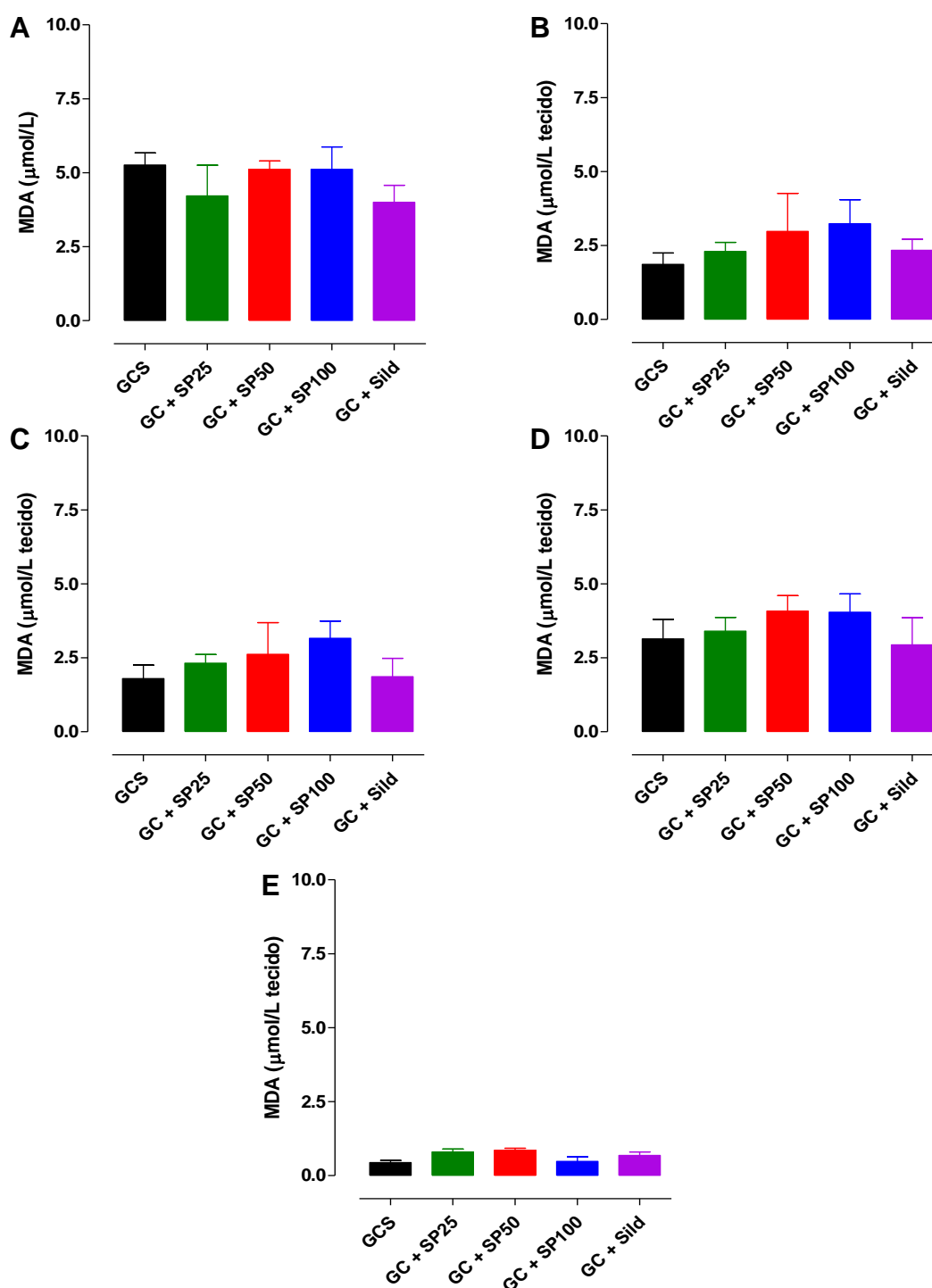
No tecido adiposo epididimal, o grupo GOS apresentou aumento na concentração de MDA de  $1,9 \pm 0,2 \mu\text{mol/L}$  (GCS) para  $3,3 \pm 0,3 \mu\text{mol/L}$ . Entretanto, os grupos que consumiram a dieta hipercalórica e foram suplementados com 25 ( $1,9 \pm 0,2 \mu\text{mol/L}$ ), 50 ( $1,5 \pm 0,1 \mu\text{mol/L}$ ) e 100 mg/kg da alga ( $1,6 \pm 0,2 \mu\text{mol/L}$ ), bem como o grupo tratado com sildenafil ( $2,0 \pm 0,2 \mu\text{mol/L}$ ) apresentaram diminuição na concentração de MDA em relação ao grupo GOS, não diferindo do grupo GCS (Gráfico 27B, n = 5).

No tecido adiposo retroperitoneal, o grupo GOS ( $3,2 \pm 0,2 \mu\text{mol/L}$ ) apresentou concentração de MDA superior ao grupo GCS ( $1,8 \pm 0,2 \mu\text{mol/L}$ ). Entre os ratos que consumiram a dieta hipercalórica e foram suplementados, GO + SP50 ( $1,7 \pm 0,3 \mu\text{mol/L}$ ) e GO + SP100 ( $1,5 \pm 0,1 \mu\text{mol/L}$ ), bem como o grupo tratado com sildenafil ( $2,2 \pm 0,2 \mu\text{mol/L}$ ) apresentaram redução nos níveis de MDA em relação ao grupo GOS. Além disso, GO + SP50 e GO + SP100 também apresentaram concentração de MDA inferior ao grupo GO + SP25 ( $2,7 \pm 0,2 \mu\text{mol/L}$ ) (Gráfico 27C, n = 5).

A concentração de MDA no tecido adiposo inguinal não diferiu entre os grupos GCS ( $3,1 \pm 0,3 \mu\text{mol/L}$ ), GOS ( $2,6 \pm 0,4 \mu\text{mol/L}$ ), GO + SP25 ( $2,5 \pm 0,1 \mu\text{mol/L}$ ), GO + SP50 ( $2,2 \pm 0,2 \mu\text{mol/L}$ ), GO + SP100 ( $2,7 \pm 0,2 \mu\text{mol/L}$ ) e GO + Sild ( $3,0 \pm 0,3 \mu\text{mol/L}$ ) (Gráfico 27D, n = 5).

No corpo cavernoso, o grupo GOS apresentou aumento na concentração de MDA de  $0,4 \pm 0,1 \mu\text{mol/L}$  (GCS) para  $1,5 \pm 0,2 \mu\text{mol/L}$ . Entretanto, a suplementação dos ratos que consumiram a dieta hipercalórica com *S. platensis* nas doses de 25 ( $0,2 \pm 0,1 \mu\text{mol/L}$ ), 50 ( $0,2 \pm 0,1 \mu\text{mol/L}$ ) e 100 mg/kg ( $0,3 \pm 0,1 \mu\text{mol/L}$ ) reduziu os níveis de MDA em relação a ambos grupos GOS e GO + Sild ( $0,9 \pm 0,2 \mu\text{mol/L}$ ), sem apresentar diferença para o grupo GCS (Gráfico 27E, n = 5).

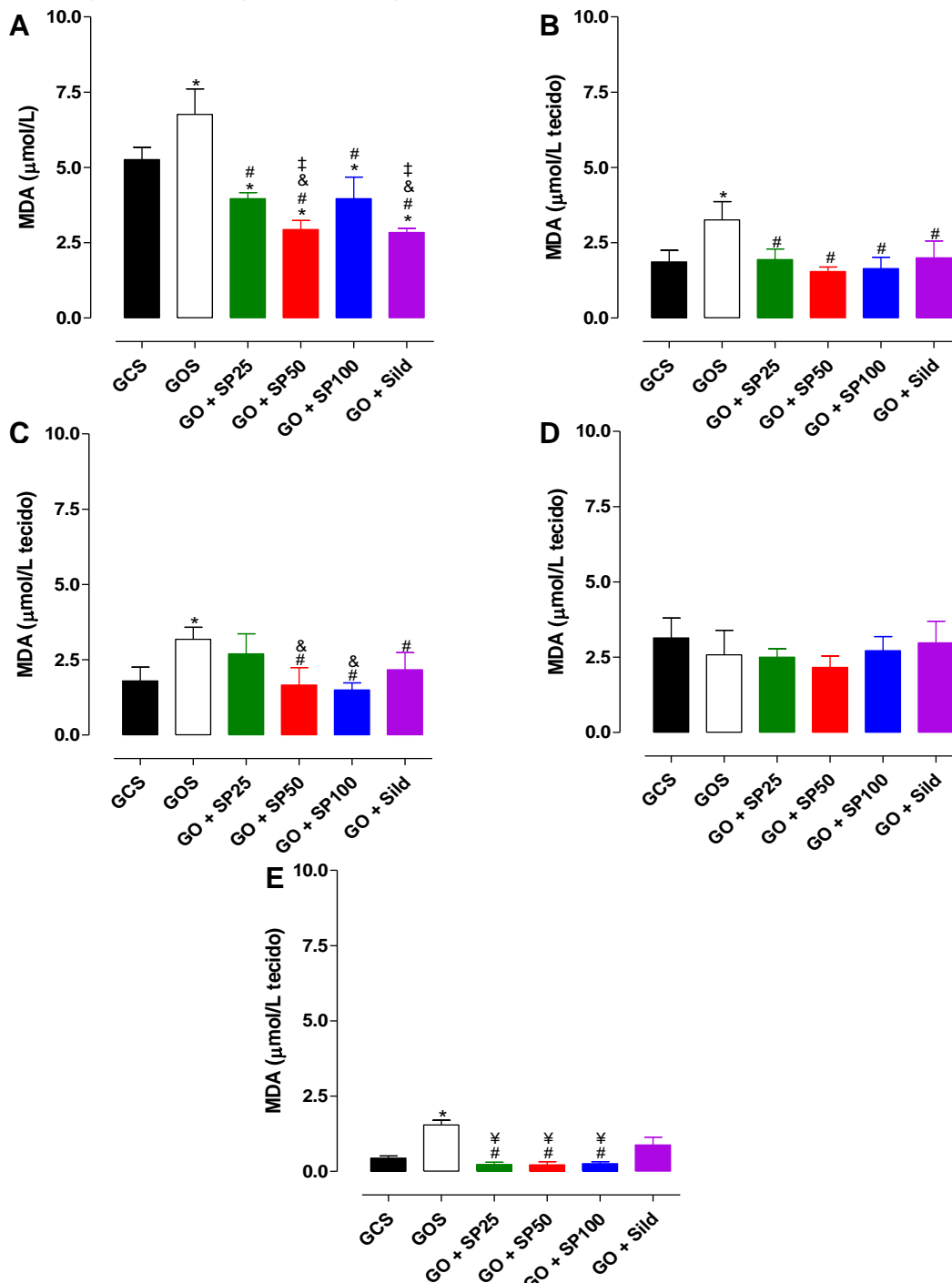
**Gráfico 26** – Concentração de MDA em plasma (A), em tecidos adiposos epididimal (B), retroperitoneal (C) e inguinal (D) e em corpo cavernoso (E) de rato dos grupos GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild.



Os símbolos e as barras verticais representam a média e o e.p.m., respectivamente (n = 5). MDA = malondialdeído; GCS = grupo controle salina; GC + SP25, GC + SP50 e GC + SP100 = grupos alimentados com dieta padrão e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GC + Sild = grupo alimentado com dieta padrão e tratado com sildenafil.



**Gráfico 27** – Concentração de MDA em plasma (A), em tecidos adiposos epididimal (B), retroperitoneal (C) e inguinal (D) e em corpo cavernoso (E) de rato dos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild.



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. \* $p < 0,05$  (GCS vs. GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild); # $p < 0,05$  (GOS vs. GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild); & $p < 0,05$  (GO + SP25 vs. GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild); † $p < 0,05$  (GO + SP100 vs. GO + SP50 e GO + Sild) e ‡ $p < 0,05$  (GO + Sild vs. GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100). GCS = grupo controle salina; GOS = grupo obeso salina; GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GO + Sild = grupo alimentado com dieta hipercalórica e tratado com sildenafil. Fonte: SOUZA, 2018.

#### 5.6.4.2 Efeito da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre a capacidade antioxidante total do plasma, dos tecidos adiposos e do corpo cavernoso

Nos ratos alimentados com a dieta padrão, não foi observada diferença na capacidade antioxidante total do plasma dos grupos GCS ( $44,4 \pm 1,2\%$ ), GC + SP25 ( $48,8 \pm 1,6\%$ ), GC + SP50 ( $45,6 \pm 1,6\%$ ), GC + SP100 ( $44,2 \pm 0,8\%$ ) e GC + Sild ( $49,8 \pm 2,5\%$ ) (Gráfico 28A, n = 5).

Entretanto, os ratos que consumiram a dieta padrão e foram suplementados com *S. platensis* na dose de 50 mg/kg ( $89,8 \pm 4,1\%$ ) apresentaram elevação na capacidade antioxidante total do tecido adiposo epididimal quando comparado aos grupos GCS ( $44,8 \pm 4,0\%$ ), GC + SP25 ( $57,6 \pm 4,2\%$ ), GC + SP100 ( $52,6 \pm 4,4\%$ ) e GC + Sild ( $60,0 \pm 1,6\%$ ) (Gráfico 28B, n = 5).

De maneira semelhante, no tecido adiposo retroperitoneal, o grupo que consumiu a dieta padrão e foi suplementado com 50 mg/kg da alga ( $68,6 \pm 4,0\%$ ) apresentou aumento na capacidade antioxidante total em relação ao grupo GCS ( $35,2 \pm 4,6\%$ ), apesar disso, não diferiu dos outros grupos suplementados com *S. platensis*, GC + SP25 ( $54,0 \pm 8,1\%$ ) e GC + SP100 ( $48,2 \pm 7,6\%$ ), bem como do grupo tratado com sildenafil ( $58,0 \pm 2,1\%$ ) (Gráfico 28C, n = 5).

No tecido adiposo inguinal, na capacidade antioxidante total não diferiu entre os ratos alimentados com a dieta padrão dos grupos GCS ( $52,0 \pm 5,7\%$ ), GC + SP25 ( $46,8 \pm 2,7\%$ ), GC + SP50 ( $61,8 \pm 5,6\%$ ), GC + SP100 ( $47,4 \pm 4,0\%$ ) e GC + Sild ( $61,4 \pm 2,5\%$ ) (Gráfico 28D, n = 5).

No corpo cavernoso, não foi observada diferença na capacidade antioxidante total entre os ratos alimentados com a dieta padrão dos grupos GCS ( $61,6 \pm 2,7\%$ ), GC + SP25 ( $61,8 \pm 6,7\%$ ), GC + SP50 ( $51,2 \pm 3,5\%$ ), GC + SP100 ( $54,6 \pm 5,9\%$ ) e GC + Sild ( $68,8 \pm 3,8\%$ ) (Gráfico 28E, n = 5).

Nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica, o grupo GOS ( $34,0 \pm 2,7\%$ ) apresentou redução na capacidade antioxidante total do plasma em relação ao grupo GCS ( $44,4 \pm 1,2\%$ ), não diferindo do grupo GO + SP25 ( $37,6 \pm 5,6\%$ ). Entretanto, os grupos suplementados com *S. platensis*,

GO + SP50 ( $52,0 \pm 3,4\%$ ) e GO + SP100 ( $50,4 \pm 4,5\%$ ), bem como o grupo tratado com sildenafil ( $52,2 \pm 3,1\%$ ) preveniram a alteração causada pelo consumo da dieta hipercalórica, uma vez que foi observado aumento da capacidade antioxidante total em relação ao grupo GOS, não diferindo do grupo GCS (Gráfico 29A,  $n = 5$ ).

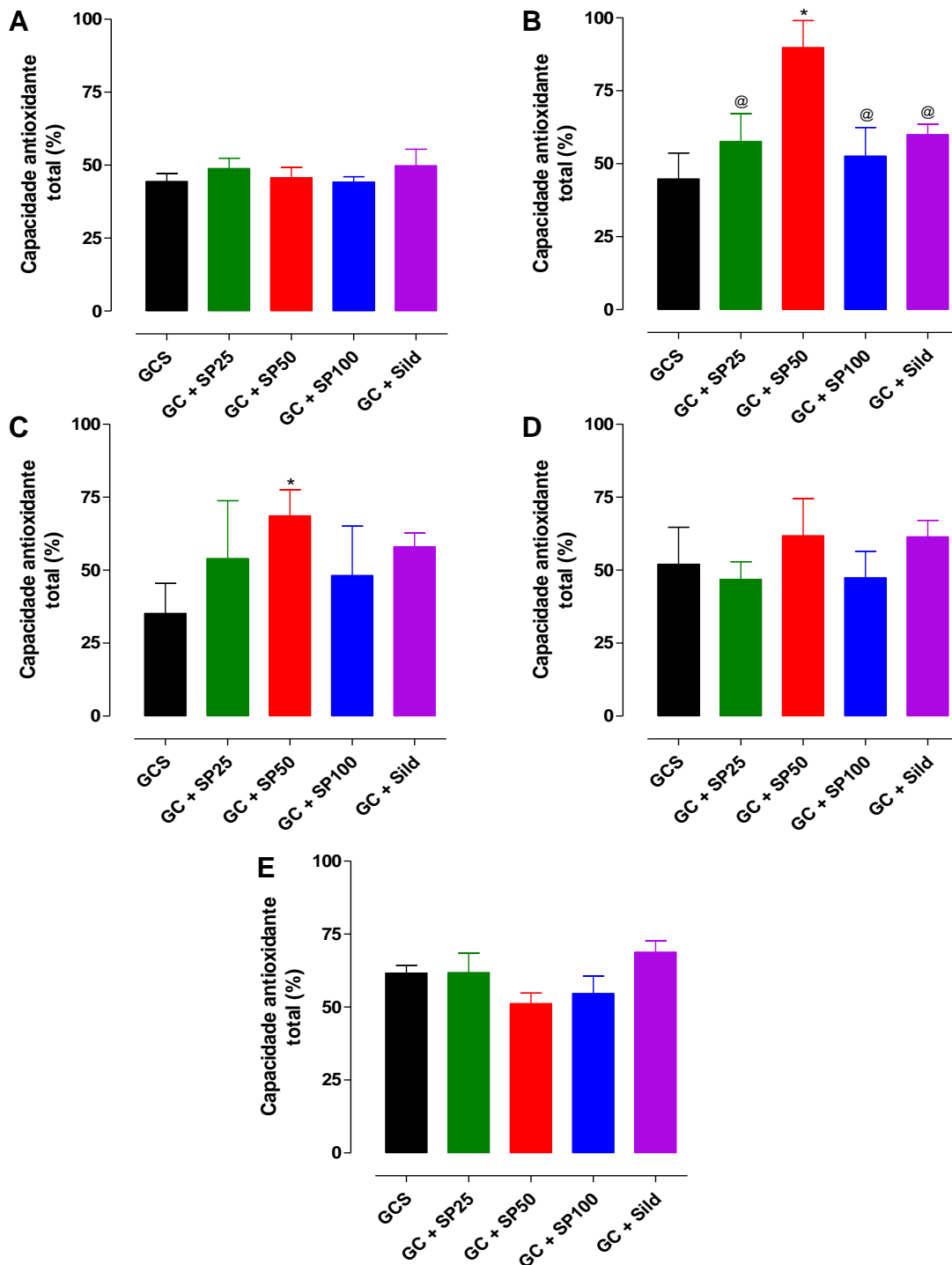
No tecido adiposo epididimal, os grupos GOS ( $30,6 \pm 2,2\%$ ) e GCS ( $44,8 \pm 4,0\%$ ) não apresentaram diferença entre a capacidade antioxidante total tecidual. Entre os grupos que consumiram a dieta hipercalórica e foram suplementados com a alga, GO + SP25 ( $42,6 \pm 4,3\%$ ) e GO + SP100 ( $47,4 \pm 4,3\%$ ) não diferiram do grupo GOS. Apesar disso, GO + SP50 ( $61,0 \pm 6,0\%$ ) e o grupo tratado com sildenafil ( $59,2 \pm 5,9\%$ ) apresentaram aumento na capacidade antioxidante total em relação ao grupo GOS (Gráfico 29B,  $n = 5$ ).

No tecido adiposo retroperitoneal, a capacidade antioxidante total do grupo GOS ( $32,8 \pm 3,6\%$ ) não apresentou diferença em relação ao grupo GCS ( $35,2 \pm 4,6\%$ ). Entre os grupos alimentados com a dieta hipercalórica, GO + SP100 ( $56,4 \pm 4,8\%$ ) e GO + Sild ( $53,8 \pm 5,7\%$ ) apresentaram um aumento na capacidade antioxidante total em relação aos grupos GCS, GOS e GO + SP25 ( $31,2 \pm 4,8\%$ ), não diferindo do grupo GO + SP50 ( $36,2 \pm 5,0\%$ ) (Gráfico 29C,  $n = 5$ ).

No tecido adiposo inguinal, não foi observada diferença entre a capacidade antioxidante total dos grupos GCS ( $52,0 \pm 5,7\%$ ) e GOS ( $52,4 \pm 2,5\%$ ). Entre os grupos que consumiram a dieta hipercalórica e foram suplementados com a alga, GO + SP25 ( $67,6 \pm 5,8\%$ ), GO + SP50 ( $47,6 \pm 4,5\%$ ) e GO + SP100 ( $46,4 \pm 5,1\%$ ), assim como o grupo tratado com sildenafil ( $63,4 \pm 5,9\%$ ), não houve alteração em relação ao grupo GOS (Gráfico 29D,  $n = 5$ ).

De maneira similar, os grupos GCS ( $61,6 \pm 2,6\%$ ), GOS ( $51,6 \pm 3,8\%$ ), GO + SP25 ( $55,6 \pm 6,3\%$ ), GO + SP50 ( $49,2 \pm 2,1\%$ ), GO + SP100 ( $47,0 \pm 1,9\%$ ) e GO + Sild ( $56,4 \pm 2,3\%$ ) não apresentaram diferença na capacidade antioxidante total no corpo cavernoso (Gráfico 29E,  $n = 5$ ).

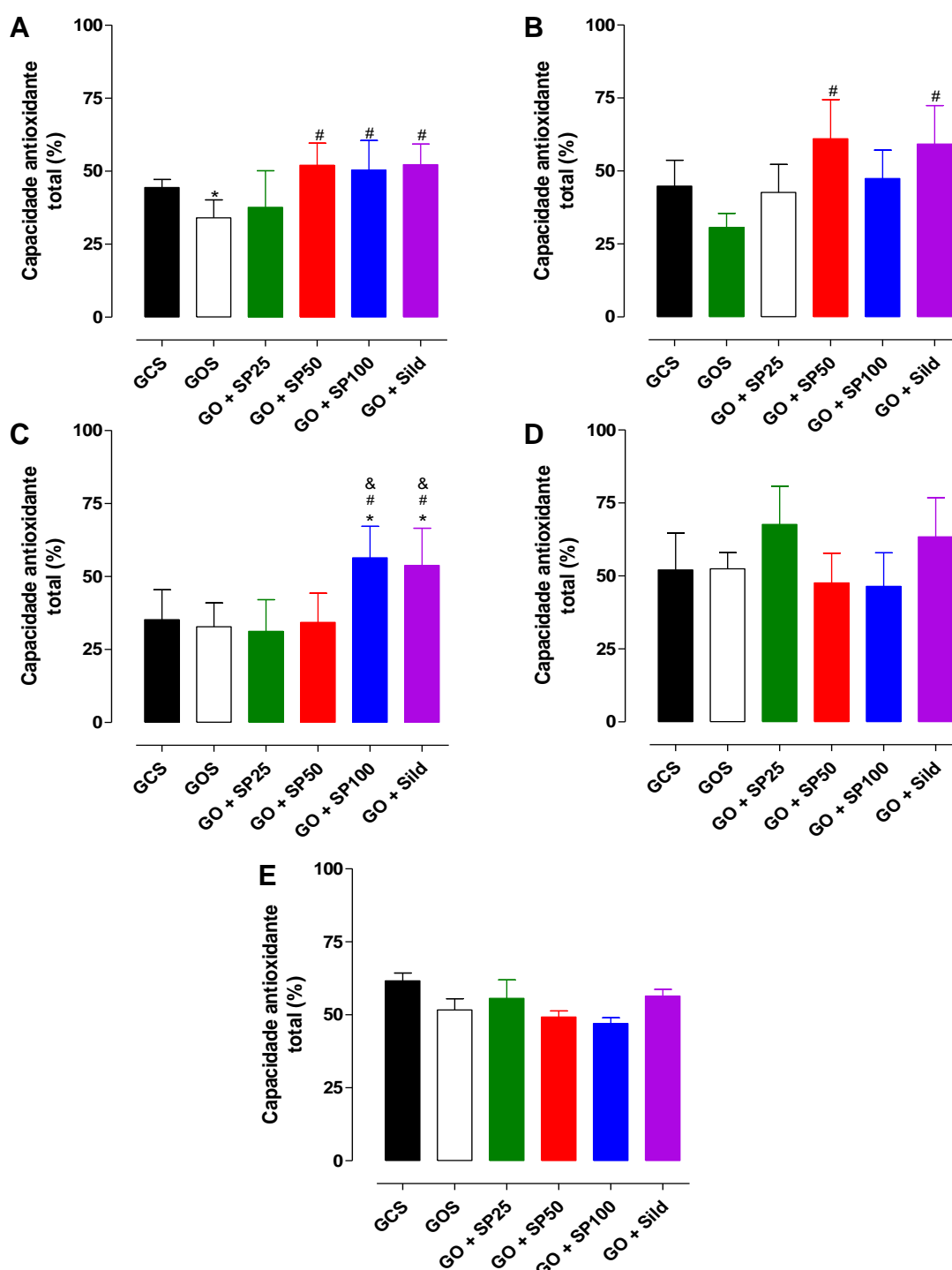
**Gráfico 28** – Capacidade antioxidante total no plasma (A), nos tecidos adiposos epididimal (B), retroperitoneal (C) e inguinal (D) e no corpo cavernoso (E) de rato dos grupos GCS, GC + SP25, GC + SP50, GC + SP100 e GC + Sild.



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. \* $p < 0,05$  (GCS vs. GC + SP50) e @ $p < 0,05$  (GC + SP50 vs. GC + SP25, GC + SP100 e GC + Sild); GCS = grupo controle salina; GC + SP25, GC + SP50 e GC + SP100 = grupos alimentados com dieta padrão e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GC + Sild = grupo alimentado com dieta padrão e tratado com sildenafil.

Fonte: SOUZA, 2018.

**Gráfico 29** – Capacidade antioxidante total no plasma (A), nos tecidos adiposos epididimal (B), retroperitoneal (C) e inguinal (D) e no corpo cavernoso (E) de rato dos grupos GCS, GOS, GO + SP25, GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild.

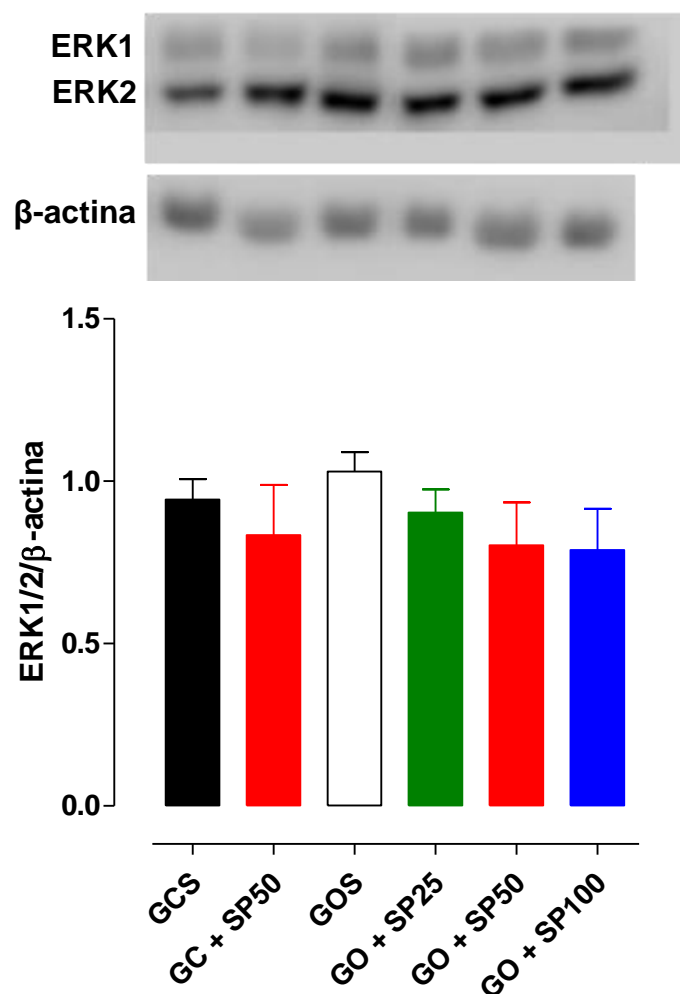


Os símbolos e as barras verticais representam a média e o e.p.m., respectivamente (n = 5). ANOVA *one-way* seguido do pós-teste de Tukey. \* $p < 0,05$  (GCS vs. GOS, GO + SP100 e GO + Sild), # $p < 0,05$  (GOS vs. GO + SP50, GO + SP100 e GO + Sild) e & $p < 0,05$  (GO + SP25 vs. GO + SP100 e GO + Sild). GCS = grupo controle salina; GOS = grupo obeso salina; GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente; GO + Sild = grupo alimentado com dieta hipercalórica e tratado com sildenafil. Fonte: SOUZA, 2018.

#### **5.6.4.3 Efeito da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre a expressão proteica de ERK1/2 no corpo cavernoso**

A expressão proteica da ERK1/2 no corpo cavernoso de rato foi semelhante entre os ratos alimentados com a dieta padrão dos grupos GCS ( $0,9 \pm 0,06$ ) e GC + SP50 ( $0,8 \pm 0,2$ ), bem como os ratos que consumiram a dieta hipercalórica dos grupos GOS ( $1,0 \pm 0,06$ ), GO + SP 25 ( $0,9 \pm 0,07$ ), GO + SP50 ( $0,8 \pm 0,1$ ) e GO + SP100 ( $0,8 \pm 0,1$ ) (Gráfico 30, n = 5).

**Gráfico 30** – Expressão proteica de ERK1/2 em corpo cavernoso de rato dos grupos GCS, GC + SP50, GOS, GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100.



Os símbolos e as barras verticais representam a média e o e.p.m., respectivamente (n = 5). GCS = grupo controle salina; GC + SP50 = grupo alimentado com dieta padrão e suplementado com *S. platensis* 50 mg/kg; GOS = grupo obeso salina; GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 = grupos alimentados com dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente.

Fonte: SOUZA, 2018.



## 6 Discussão



No presente estudo, foi padronizado e implantado um modelo de disfunção erétil associado ao consumo de dieta hipercalórica em ratos Wistar. Essa ingestão alimentar resultou no aumento da massa corporal final dos ratos e dos parâmetros relacionados à adiposidade corporal, bem como foi correlacionada à redução da função erétil, *in vivo*, aumento da resposta contrátil e redução do relaxamento do corpo cavernoso, *in vitro*, por mecanismos relacionados a via da RhoA/ROCK, do NO, dos prostanoídes e das ROS, além de promover aumento no estresse oxidativo sistêmico e tecidual. Interessantemente, esses efeitos foram prevenidos, nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica, pela suplementação alimentar com *S. platensis*.

O principal impacto da obesidade é a sua contribuição para o desenvolvimento de diferentes comorbidades, como a hipertensão arterial e a disfunção erétil, tornando-se um grave problema de saúde pública mundial (NASCIMENTO et al., 2008; CORONA et al., 2010). De fato, junto ao tabagismo, a obesidade é considerada uma das causas mais comuns evitáveis e, portanto, tratáveis de morte prematura (CORONA et al., 2014). Dessa forma, evidencia-se o interesse em compreender os processos bioquímicos e metabólicos que envolvem a fisiopatologia da obesidade para que se possa estabelecer um tratamento eficaz para essa doença, bem como reduzir o impacto das diversas doenças correlacionadas a ela (NAVES; PASCHOAL, 2007).

Recentemente, Oliveira et al. (2016) verificaram que ratos Wistar alimentados por oito semanas com dieta hipercalórica (417,0 kcal/100 g) apresentaram eficácia contrátil intestinal reduzida frente ao KCl e ao carbacol (CCh). Semelhantemente, ao utilizar a mesma dieta utilizada nesse estudo por 16 semanas, Ferreira (2017) demonstrou redução da reatividade intestinal contrátil e relaxante, além de aumento na peroxidação lipídica do tecido adiposo de rato Wistar. Interessantemente, após oito semanas de consumo alimentar da dieta hipercalórica (417,0 kcal/100 g), a suplementação alimentar com a alga *S. platensis* reverteu o aumento da adiposidade corporal, restaurou a reatividade contrátil intestinal e reduziu a peroxidação lipídica do tecido adiposo. Ademais, a suplementação com *S. platensis* também promoveu

redução da reatividade contrátil e melhora da reatividade relaxante em aorta de rato saudável (BRITO, 2014).

Nesse contexto, a *S. platensis*, que é uma alga verde-azulada com alto valor nutricional, tem despertado o interesse de pesquisadores como fonte potencial para o tratamento de diferentes doenças (MARCEL et al., 2011; ALI; BARAKAT; HASSAN, 2015; IBRAHIM; ABDEL-DAIM, 2015) e, uma vez que a suplementação alimentar com a alga promoveu efeitos benéficos em modelos de músculos lisos intestinal e vascular, decidiu-se avaliar o impacto que o consumo da dieta hipercalórica promoveria sobre a função erétil de ratos e verificar se a suplementação alimentar com a *S. platensis* preveniria o desenvolvimento das disfunções fisiológicas desencadeadas pela alteração dietética.

No delineamento experimental, os ratos Wistar foram alimentados com dieta padrão ou hipercalórica durante oito semanas, e receberam simultaneamente solução salina, suplementação com *S. platensis* nas doses de 25, 50 e 100 mg/kg/dia ou foram tratados com sildenafil na dose de 1,5 mg/kg/dia, droga padrão utilizada na terapia da disfunção erétil por humanos e em estudos pré-clínicos com ratos (WALKER et al., 1999; LEONI, 2016).

A limitação ética em estudar a susceptibilidade dos humanos às disfunções fisiológicas desencadeadas pela obesidade resultou na criação de modelos de obesidade animal baseados em lesão neural, anormalidades genéticas, alterações endócrinas e/ou alimentares (SCLAFANI; SPRINGER, 1976; PEREIRA; FRANCISCHI; LANCHA JR, 2003). Nesse estudo, induziu-se disfunções fisiológicas em ratos Wistar através da alteração dietética, processo que se assemelha a obesidade humana atual (MEGUID et al., 2004).

Nesse contexto, uma das principais problemáticas para a visualização do impacto que a alteração da ingestão alimentar promove nos animais consiste na determinação do período de consumo da dieta, que geralmente varia de quatro a mais de 20 semanas, com predomínio de oito semanas quando o animal utilizado é o rato (SILVA, 2014). Dessa forma, definiu-se que os ratos deste estudo seriam alimentados com as dietas diferenciadas durante oito semanas. Após esse período, entre os ratos alimentados com dieta padrão, o grupo GC + SP50 apresentou ingestão alimentar estimada e

quantidade calórica fornecida pela dieta inferior aos demais grupos (Tabelas 4 e 6). Nesse caso, a redução da ingestão alimentar dos ratos suplementados com a alga na dose de 50 mg/kg pode ter ocorrido em função da modulação positiva de hormônios que estimulam a saciedade, destacando-se a CCK e o GLP-1. A liberação desses hormônios na corrente sanguínea ocorre em função da presença de macronutrientes no duodeno, principalmente de proteínas, principais componentes da *S. platensis*. A redução das concentrações sanguíneas de CCK e GLP-1 já foram demonstradas em estudos clínicos que utilizaram a suplementação com proteínas do soro do leite (HALL et al., 2003; HARAGUCHI; ABREU; PAULA, 2006). Entretanto, são necessários estudos mais aprofundados para comprovar ou refutar essas conjecturações.

Comparando o consumo das diferentes dietas, o grupo GOS apresentou ingestão alimentar estimada e valor calórico fornecido pelo consumo da dieta inferior ao grupo GCS (Tabelas 4-7). Esses dados estão de acordo com diferentes pesquisas que utilizaram a mesma dieta hipercalórica (410,0 kcal/100 g) consumida pelos ratos deste estudo, proposta por Estadella et al. (2004), onde também houve redução nesses parâmetros para ratos ou ratas (BERNARDES et al., 2004; SILVA, 2010). Devido a elevada eficiência energética de dietas hiperlipídicas e hipercalóricas, é comum haver redução na ingestão alimentar dos animais em relação àqueles que consumiram dieta padrão (HARIRI; THIBAUT, 2010; MASAGO, 2011). Além disso, em dietas com alto percentual de lipídios, como a utilizada nesse estudo (16% vs. 4% da dieta padrão), essa diminuição do consumo alimentar também é atribuída ao aumento na secreção da CCK, hormônio que induz saciedade (HIMAYA et al., 1997; KONTUREK et al., 2004), fato que pode justificar as diferenças observadas nos consumos alimentares dos ratos dos grupos GOS e GCS (Tabelas 4-7).

Em decorrência das primeiras diferenças observadas pela ingestão de dietas com valor calórico e composição lipídica diferenciadas, e tomando como base que a *S. platensis* reduziu o consumo alimentar nos ratos alimentados com dieta padrão, decidiu-se verificar se esse efeito ocasionado pela alga seria reprodutível nos ratos que consumiram a dieta hipercalórica.

Curiosamente, entre os grupos que receberam simultaneamente a dieta hipercalórica e a suplementação com *S. platensis*, GO + SP25 e GO + SP100 apresentaram aumento no consumo alimentar estimado e no valor calórico fornecido pelo consumo da dieta, enquanto o grupo GO + SP50 não alterou esses parâmetros quando comparado ao grupo GOS (Tabelas 5 e 7). Resultados semelhantes foram observados por Ferreira (2017) em estudo com consumo de dieta hipercalórica (417,0 kcal/100 g) durante 16 semanas e suplementação iniciada na oitava semana com *S. platensis*. Diante desses dados, independente da utilização da suplementação alimentar com a alga com a proposta preventiva ou após o desenvolvimento das disfunções fisiológicas, há aumento da ingestão alimentar nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica. Nesse contexto, elucubra-se que o efeito da alga sobre a ingestão alimentar nos grupos que consumiram essa dieta pode ser associado à modulação negativa de hormônios que estimulam a saciedade, como a CCK e o GLP-1, mas, são necessários estudos mais aprofundados para comprovar esses dados.

Interessantemente, os efeitos da *S. platensis* sobre o consumo alimentar dos ratos variou a depender do tipo de dieta ingerida e da dose utilizada na suplementação, o que pode indicar um efeito dual da alga sobre as substâncias orexígeneas e anorexígenas em função da alteração dos determinantes fisiológicos do controle da ingestão alimentar desencadeada pelo consumo da dieta hipercalórica.

Os ratos que consumiram a dieta hipercalórica e foram tratados com sildenafil também apresentaram aumento na ingestão alimentar estimada e na quantidade calórica fornecida pela dieta (Tabelas 5 e 7), não correlacionado com o seu mecanismo de ação erectogênico, mas apontado como uma reação adversa em humanos (FDA, 2017).

É bem consolidado na literatura que o aumento ou a diminuição no consumo alimentar estão correlacionadas com o ganho ou a redução da massa corporal (ABESO, 2016). Diante disso, todos os grupos apresentaram faixa de massa corporal semelhante no início do protocolo experimental (Gráficos 1 e 2, Tabelas 8 e 9), a fim de comprovar que qualquer alteração no ganho de massa corporal dos ratos estaria associada ao consumo das diferentes dietas. Porém,

dentre os grupos alimentados com a dieta padrão, em decorrência do menor consumo alimentar apresentado pelo grupo GC + SP50, ao final do período de oito semanas, esses ratos apresentaram massa corporal final e ganho de massa corpórea inferior aos grupos GC + SP25, GC + SP100 e GC + Sild (Gráfico 1 e Tabela 8).

Ao comparar os grupos que consumiram as dietas padrão e hipercalórica e receberam a solução salina, o grupo GOS apresentou maior massa corporal final e ganho de massa que o grupo GCS (Gráfico 2 e Tabela 9), corroborando diferentes trabalhos que forneceram a mesma dieta usada nesse estudo a ratos (ESTADELLA et al., 2004; BORBA, 2008; NASCIMENTO et al., 2008; RAVAGNANI et al., 2012). Apesar disso, é comum encontrar estudos de disfunções fisiológicas desencadeadas pela alteração dietética onde não há alteração na massa corporal final dos animais após o consumo das diferentes dietas, apesar de haver aumento dos depósitos de tecido adiposo (FRANCO; CAMPOS; DEMONTE, 2009; SILVA, 2010, FERREIRA, 2017). Embora muitas vezes sigam a mesma fórmula para preparo da dieta, essa variação de resultados pode ser relacionada ao uso de ingredientes de marcas variadas no preparo das dietas, a susceptibilidade ou resistência dos animais a engordar ou diferenças no tempo de consumo das dietas.

Nos ratos que consumiram à dieta hipercalórica e receberam simultaneamente à suplementação com a alga, evidenciou-se uma redução na massa final e no ganho de massa corporal em relação ao grupo GOS (Gráfico 2 e Tabela 9), não diferindo do grupo GCS. Todavia, a utilização da suplementação com *S. platensis* após o desenvolvimento das disfunções fisiológicas, no modelo de consumo da dieta hipercalórica (417,0 kcal/100 g) por 16 semanas, não alterou a massa corporal dos ratos em relação ao grupo GOS (FERREIRA, 2017).

O aumento da ingestão alimentar e a redução do ganho de massa corporal dos ratos parece contraditório, entretanto, a composição proteica (65-70%) da *S. platensis* pode auxiliar no aumento da termogênese, fenômeno correspondente ao aumento da taxa de metabolismo corporal, uma vez que está relacionado com a energia gerada na forma de calor pelos tecidos corporais. Diferentes estudos sugerem que o aumento da ingestão de proteínas

desencadeia a perda de massa corporal e dificulta a sua recuperação, por aumento na síntese proteica e no consumo de ATP para a síntese de ligações peptídicas (FLATT, 1978; GARLICK; MCNURLAN; BALLMER, 1991; PORRINI et al., 1997; MIKKELSEN; TOUBRO; ASTRUP, 2000). Dessa forma, infere-se que apesar do aumento do consumo alimentar estimulado pela *S. platensis*, esta alga previne o aumento da massa corpórea.

Ademais, o tratamento com sildenafil nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica não alterou a massa final nem o ganho de massa corporal dos ratos, mesmo aumentando o consumo alimentar desses animais (Gráfico 2 e Tabela 9). Dados semelhantes foram observados por Leoni (2016), em ratos suplementados com a mesma dose utilizada nesse estudo. A capacidade da sildenafil elevar os níveis de cGMP favorece a ativação da PKG e, conseqüentemente, estimula a transdiferenciação dos adipócitos brancos no fenótipo intermediário *brite* (*brown-white*) ou *beige*, metabolicamente mais ativo. Em humanos, essa transdiferenciação é estimulada, principalmente, pelo frio ou pela exposição crônica às catecolaminas (MITSCHKE et al., 2013). Diante disso, mesmo consumindo mais ração, os ratos do grupo GO + Sild não apresentaram aumento na massa corporal final (Gráfico 2 e Tabela 9).

Existem diferentes fatores que influenciam o ganho de massa corporal de animais, como a capacidade de ingestão de alimentos; de transformar a dieta fornecida por meio da seleção do material ingerido; de aproveitar melhor o alimento ingerido ou o potencial genético para acúmulo de massa corporal (fator limitante) (FERNANDES et al., 2004). Diante dessas informações, destaca-se a avaliação de coeficientes como o CEA, o CCA e o CGPCC para determinar a eficiência do animal em converter a ração consumida em massa corporal. O CEA e o CGPCC, calculados ao se dividir o ganho de massa corporal do rato pelo consumo de ração em g ou kcal, respectivamente, demonstram qual animal utilizou melhor o alimento ingerido, e, quanto maior esses índices, maior o desempenho do animal. O CCA, calculado ao se dividir o consumo de ração em g pelo ganho de massa corporal do rato, demonstra qual animal aumentou sua massa corporal comendo menos ração, logo, quanto menor esse índice, maior o desempenho do animal (FERNANDES et al., 2004; LUPATINI, 2015).

Diante dessas premissas, a suplementação com *S. platensis* ou o tratamento com sildenafil não alterou o CEA, CCA ou CGPCC dos ratos que consumiram a dieta padrão (Tabela 10). Entretanto, o grupo GOS apresentou elevação no CEA e no CGPCC e redução no CCA quando comparado ao grupo GCS (Tabela 11), demonstrando um melhor desempenho na conversão da ração consumida em massa corporal, bem como justificando o aumento da massa corporal dos ratos, mesmo com uma ingestão calórica inferior. Além disso, a suplementação simultânea com a alga nas três doses reduziu o CEA e o CGPCC e aumentou o CCA dos ratos que consumiram a dieta hipercalórica quando comparado ao grupo GOS, não diferindo do grupo GCS (Tabela 11), sugerindo menor eficácia na conversão da ração consumida em massa corporal, o que pode fundamentar a diminuição de massa final e ganho de massa corporal nos grupos GO + SP25, GO + SP50 e GO + SP100 (Tabela 11).

Outrossim, o tratamento com sildenafil, no grupo GO + Sild reduziu o CEA comparado ao grupo GOS, não diferindo do grupo GCS (Tabela 11), demonstrando um menor aproveitamento da ração consumida, que, compensado pelo aumento do consumo alimentar desses ratos pode justificar a não alteração do ganho de massa corporal nesse grupo (Tabelas 5 e 7).

No presente estudo, o consumo de dietas diferenciadas promoveu diferença na massa corporal final entre os grupos GCS e GOS (Gráfico 2 e Tabela 9), indicando que os ratos que consumiram a dieta hipercalórica apresentaram alterações fisiológicas no controle dos processos de apetite e saciedade. Apesar disso, esse parâmetro não fornece informações sobre a composição corporal nem a distribuição do tecido adiposo. Com base nessas informações, decidiu-se analisar diferentes parâmetros com a finalidade de comprovar o desenvolvimento das disfunções fisiológicas como consequência da alteração dietética realizada nesse estudo, destacando-se os índices de Lee e de massa corporal, a medida das circunferências abdominal e torácica, a massa das reservas adiposas, o índice de adiposidade e o diâmetro dos adipócitos.

O Índice de Lee é calculado ao se dividir a raiz cúbica da massa corporal final pelo comprimento nasoanal do animal (LEE, 1929), e considera como

valor normal o índice de 0,30 g/cm para ratos Holtzman, os animais que apresentam maior valor nesse parâmetro estão propensos à obesidade (GOMES, 2009; MACEDO, 2010). No presente estudo não foram observadas diferenças entre o índice de Lee dos grupos experimentais (Tabelas 12 e 13), semelhante ao observado em diferentes estudos com obesidade animal induzida por ingestão excessiva de sacarose (300 g/L) ou de lipídios (42,9% de lipídios por kcal) (MALAFAIA et al., 2013; SILVA, 2014).

Devido a variação inconstante do índice de Lee em muitos estudos de obesidade, validou-se a correlação entre o IMC e a composição de lipídios da carcaça de ratos, demonstrando a importância desse índice na estimativa da gordura corporal, também em ratos (NOVELLI et al., 2007). Em humanos, o IMC é a principal medida antropométrica utilizada para diagnóstico da obesidade. Entretanto, pode apresentar menor precisão em idosos e ser superestimado em indivíduos musculosos, como fisiculturistas (ABESO, 2016).

Entre os grupos analisados nesse estudo, apenas os grupos GC + SP100 e GC + Sild apresentaram IMC superior ao grupo GC + SP50 (Tabelas 12), justificado pelo aumento da massa corporal final e ganho de massa desses grupos experimentais (Gráfico 1 e Tabela 8). O IMC dos animais variou de 0,53 a 0,61 g/cm<sup>2</sup>, dentro da faixa considerada normal para rato de 30 a 150 dias de idade (0,38-0,68 g/cm<sup>2</sup>) (NOVELLI et al., 2007). Nesse cenário, a alteração do comprimento nasoanal dos ratos, em decorrência dos animais estarem em fase de crescimento, pode ser correlacionada a não variação desses índices para a maioria dos grupos experimentais (Tabelas 12 e 13). Além disso, as mudanças murinométricas dos ratos associadas ao desenvolvimento da obesidade são observadas em tempo médio de 12 semanas de consumo de dietas hiperlipídicas ou hipercalóricas (NOVELLI et al., 2007).

Para alguns autores, a massa corporal e o comprimento do animal são medidas insatisfatórias para estimar a massa adiposa livre em animais com idade semelhante (STEPHENS, 1980; THIBAUT; WOODS; WESTERTER-PLANTENGA, 2004). Diante disso, outras medidas antropométricas são utilizadas para a caracterização das alterações fisiológicas malélicas causadas pelo consumo alimentar inadequado de alimentos



calóricos, como as medidas de circunferências de cintura (torácica) e quadril (abdominal), que refletem a distribuição do conteúdo de gordura visceral e, relacionam-se ao risco de comorbidades (ABESO, 2016).

Nesse sentido, avaliou-se os efeitos do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre as circunferências abdominal e torácica dos ratos. Nos ratos alimentados com dieta padrão, a suplementação alimentar com a alga não alterou a distribuição do tecido adiposo visceral. Entretanto, o grupo GC + Sild apresentou redução na circunferência abdominal e, conseqüentemente, na relação entre as circunferências medidas (Tabela 14). Uma vez que é estabelecido que a sildenafil estimula a transdiferenciação dos adipócitos brancos em *brites*, infere-se que a redução desses parâmetros pode ser relacionada a diminuição do depósito adiposo visceral em decorrência do aumento da termogênese local (MITSCHKE et al., 2013).

De maneira interessante, ao analisar os ratos que consumiram a dieta hipercalórica, não foi observada diferença entre as circunferências abdominal e torácica dos grupos GOS e GCS (Tabela 15). Com base nesses dados, evidencia-se que o aumento da massa corporal do grupo GOS deve estar associado ao acúmulo de tecido adiposo em regiões periféricas, logo, menos nocivo para os ratos (MAUER; HARRIS; BARTNESS, 2001; SANTOS, 2010). Adicionalmente, a suplementação com *S. platensis* nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica reduziu ambas circunferências abdominal e torácica quando comparado aos grupos GCS e GOS, sem alteração na relação entre essas medidas, prevenindo, dessa forma, o acúmulo de lipídios consumidos na região visceral, e esse fato pode ser correlacionado a diminuição da massa corporal final observada nesses grupos (Gráfico 2 e Tabela 15).

Apesar dessas conjecturações, a medida das circunferências abdominal e torácica representa uma metodologia preliminar para a determinação da distribuição das reservas adiposas (ABESO, 2016). Como consequência disso, outro aspecto que se destaca na determinação das disfunções fisiológicas decorrentes da ingestão de dietas hiperlipídicas ou hipercalóricas é a adiposidade, verificada através da quantificação direta das reservas adiposas visceral e subcutânea (THIBAULT; WOODS; WESTERTER-PLANTENGA,

2004). Os tecidos adiposos epididimal e retroperitoneal representam depósitos viscerais, situados na região intra-abdominal, composta pelos omentos maior e menor e pelo tecido adiposo mesentérico. Já o tecido adiposo inguinal representa o depósito subcutâneo localizado, principalmente, nas regiões glútea e femoral (SMITH et al., 2001; FRAYN, 2002).

As reservas adiposas visceral e subcutânea apresentam diferenças relacionadas ao seu papel fisiológico (KISSEBAH; KRAKOWER, 1994; WAJCHENBERG, 2000). Os adipócitos viscerais apresentam baixa taxa de lipólise basal, que pode ser aumentada pela estimulação de catecolaminas, uma vez que há elevada expressão de receptores adrenérgicos  $\beta$  em detrimento aos  $\alpha$  (MAURIEGE et al., 1987; HELLMER et al., 1992; VIKMAN et al., 1996). Além disso, eles possuem alta taxa de captação de ácidos graxos não esterificados e triglicerídios (MARIN et al., 1992; JENSEN et al., 2003) e secretam citocinas inflamatórias que induzem resistência hepática à insulina e inflamação sistêmica crônica (FRAYN, 2002; RAVUSSIN; SMITH, 2002). Em contrapartida, as citocinas secretadas pela reserva adiposa subcutânea exercem maior efeito sobre o desenvolvimento e função dos adipócitos a nível local, logo, são menos nocivas para o organismo (SOPASAKIS et al., 2004).

Nos ratos alimentados com a dieta padrão, observou-se redução do tecido adiposo inguinal no grupo suplementado com a dose de 100 mg/kg de *S. platensis* (Gráfico 3), demonstrando uma prevenção na deposição adiposa subcutânea, que pode estar relacionada a redução da captação dos triglicerídios.

Ademais, nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica, todos os depósitos adiposos do grupo GOS foram superiores ao grupo GCS (Gráfico 4), corroborando os resultados prévios que demonstraram o aumento da massa corporal final do grupo GOS em relação ao grupo GCS (Gráfico 2 e Tabela 9). Nesse cenário, o aumento da proporção de lipídios presentes na dieta hipercalórica (16% vs. 4% da dieta padrão) aumenta a sua eficiência alimentar devido ao baixo efeito térmico dos lipídios para serem metabolizados. Dessa forma, há maior deposição dos ácidos graxos que não são utilizados para a produção de energia, na forma de triglicerídios, nos adipócitos (CANI et al., 2008). Esses dados refutam a hipótese levantada a partir das medidas das

circunferências abdominal e torácica (Tabela 15) e, demonstram um acúmulo de tecido adiposo visceral e subcutâneo em decorrência do consumo da dieta hipercalórica.

Interessantemente, esse aumento das reservas adiposas representa cerca de 25% do aumento total da massa corporal dos ratos (Gráficos 1-4), sugerindo que há acúmulo e, conseqüentemente, pode haver o comprometimento de órgãos como o fígado, o coração, os rins, o pâncreas, entre outros, nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica. Além disso, pode haver acúmulo de tecido adiposo intramuscular, conforme demonstrado em estudos com ratos e humanos obesos (PAN et al., 1997; GOODPASTER et al., 2000). Diante dessas suposições, faz-se necessário avaliar, em estudos futuros, outros depósitos de tecido adiposo que decorrem do consumo da dieta hipercalórica.

Nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica e que receberam a suplementação com a alga, evidenciou-se apenas a redução da reserva adiposa inguinal quando comparado ao grupo GOS, não diferindo do grupo GCS (Gráfico 4C), sugerindo uma prevenção na deposição adiposa subcutânea, menos nociva ao organismo (MAUER; HARRIS; BARTNESS, 2001; SANTOS, 2010), que pode estar subjacente à redução da massa corporal final dos animais desses grupos em relação ao grupo GOS (Gráfico 2 e Tabela 9). Em outro estudo, a utilização da suplementação com *S. platensis* no modelo de consumo alimentar da dieta hipercalórica (417,0 kcal/100 g) por 16 semanas, reduziu o tecido adiposo epididimal e mobilizou os triglicerídios para o tecido adiposo inguinal (FERREIRA, 2017). Com base nesses resultados, demonstra-se uma possível atividade moduladora da *S. platensis* que previne, bem como reduz os depósitos adiposos de ratos alimentados com dieta hipercalórica.

Ao fazer uma correlação entre a massa corporal final e a massa dos tecidos adiposos corpóreos se obtém o índice de adiposidade do animal, que é considerado, por diversos autores, como o principal critério para a determinação da obesidade animal e de seu impacto sobre o organismo (NASCIMENTO et al., 2008; CAMPOS, 2010; PEREIRA, 2011).

Na avaliação desse parâmetro, o grupo GC + SP100 apresentou redução no índice de adiposidade quando comparado aos demais grupos alimentados com a dieta padrão (Gráfico 5), o que pode ser justificado pela redução do depósito adiposo inguinal. Entretanto, após o consumo de dietas diferenciadas, o grupo GOS apresentou esse parâmetro superior ao grupo GCS (Gráfico 6), devido ao aumento na deposição de lipídios em todos as reservas adiposas. Com a suplementação alimentar com *S. platensis* nas três doses, ocorreu redução desse índice em relação ao grupo GOS, não diferindo do grupo GCS (Gráfico 6), que pode ser atribuído a diminuição da massa do tecido adiposo inguinal (subcutâneo). Com base nesses resultados, respalda-se a eficácia dessa alga na prevenção das alterações fisiológicas induzidas na adiposidade corporal em ratos alimentados com a dieta hipercalórica. Além disso, Ferreira (2017) também demonstrou o efeito promissor da *S. platensis* em reverter o aumento da adiposidade corporal induzida em ratos Wistar alimentados com a mesma dieta utilizada nesse estudo após 16 semanas.

Uma vez observada alteração na massa dos tecidos adiposos e no índice de adiposidade de diferentes grupos experimentais, decidiu-se avaliar se haveria alteração no armazenamento de triglicerídios pelos adipócitos dessas reservas adiposas. Dessa forma, nos ratos alimentados com a dieta padrão, observou-se redução no diâmetro dos adipócitos do tecido adiposo inguinal no grupo suplementado com 100 mg/kg da alga (Gráfico 7C), demonstrando que a prevenção na deposição adiposa subcutânea pode estar relacionada a redução da captação dos triglicerídios, visto que houve redução no tamanho dos adipócitos desse tecido.

Além disso, nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica, o diâmetro dos adipócitos de todos os depósitos adiposos do grupo GOS foram superiores ao grupo GCS (Gráfico 8), corroborando os resultados prévios que demonstraram o aumento da massa corporal final e dos depósitos adiposos do grupo GOS em relação ao grupo GCS (Gráficos 2 e 4 e Tabela 9). Nesse contexto, indica-se uma maior deposição dos ácidos graxos, na forma de triglicerídios, nos adipócitos dos ratos que consumiram a dieta hipercalórica (CANI et al., 2008).

Nos ratos que consumiram a dieta hipercalórica e foram suplementados com a alga, observou-se redução do diâmetro dos adipócitos da reserva inguinal quando comparado ao grupo GOS, não diferindo do grupo GCS (Gráfico 8C), o que corrobora a redução da massa corporal final e da reserva adiposa inguinal dos ratos desses grupos em relação ao grupo GOS (Gráficos 2 e 4C e Tabela 9). Em outro estudo, a utilização da suplementação com *S. platensis*, no modelo de consumo da dieta hipercalórica (417,0 kcal/100 g) por 16 semanas, reduziu o diâmetro dos adipócitos dos tecidos adiposos epididimal, retroperitoneal e inguinal (FERREIRA, 2017). Diante disso, demonstra-se uma possível atividade moduladora da alga que previne, bem como reduz o armazenamento de triglicerídios nos adipócitos dos depósitos adiposos de ratos alimentados com dieta hipercalórica.

As alterações dietéticas podem estar correlacionadas ao aumento de parâmetros bioquímicos como glicemia e perfil lipídico em ratos que consumiram dietas hiperlipídicas ou hipercalóricas (FRANCISCHI et al., 2000; BORBA, 2008; SILVA, 2014). Dessa forma, verificou-se se o consumo da dieta hipercalórica ou a suplementação alimentar com a *S. platensis* alteraria o perfil bioquímico dos ratos Wistar, entretanto, não houve variação nesses parâmetros independente da dieta utilizada (Tabelas 16 e 17). Diante desse resultado, sugere-se que o consumo da dieta hipercalórica induz o aumento da adiposidade corporal sem promover alterações nos parâmetros bioquímicos dos ratos Wistar. Resultados semelhantes foram obtidos em outros estudos em que os ratos foram alimentados com dieta hipercalórica (JANG et al., 2003; WOODS et al., 2003; ESTADELLA et al., 2004; DOURMASHKIN et al., 2005; DUARTE et al., 2006).

Em suma, a alteração dietética adotada nesse estudo promoveu aumento da massa corporal final, do ganho de massa corporal, dos depósitos de tecidos adiposos, bem como do diâmetro dos adipócitos epididimal, retroperitoneal e inguinal de rato Wistar. Além disso, a suplementação alimentar com *S. platensis* preveniu as disfunções fisiológicas na adiposidade corporal dos ratos que consumiram a dieta hipercalórica. Nesse sentido, prosseguiu-se com a investigação do impacto da alteração dietética e da suplementação com a alga sobre possíveis alterações causadas na função

erétil desses ratos, uma vez que o aumento da adiposidade corporal é um fator de risco independente para o desenvolvimento de disfunções orgânicas que afetam a musculatura lisa, como constipação, asma, hipertensão arterial e disfunção erétil (ESPOSITO et al., 2006; ESPOSITO et al., 2008; KOTSIS et al., 2010; KIM; SUTHERLAND; GELFAND, 2014; MOHANAN et al., 2014; SKRYPNIK; BOGDANSKI; MUSIALIK, 2014; HALL et al., 2015).

Recentemente, Oliveira et al. (2016) evidenciaram a diminuição da reatividade contrátil intestinal em ratos alimentados por oito semanas com uma dieta hipercalórica (417,0 kcal/100 g). Além disso, Ferreira (2017) demonstrou uma redução nas reatividades contrátil e relaxante intestinal em ratos que receberam a mesma dieta por 16 semanas e, a suplementação alimentar com *S. platensis* reverteu as alterações intestinais desencadeadas pela alteração dietética.

Diante dessas premissas, hipotetizou-se que o consumo da dieta hipercalórica prejudicaria a função erétil de ratos Wistar, e que a suplementação alimentar com *S. platensis* preveniria esse efeito deletério. Para testar essa hipótese, iniciou-se os experimentos com ratos com oito semanas de idade, uma vez que entre a 8<sup>a</sup> e a 10<sup>a</sup> semana de vida os ratos atingem a maturidade sexual, sendo considerados adultos jovens (BAKER; LINDSEY; WEISBROTH, 1979), e após o consumo das dietas diferenciadas, foi avaliado o perfil das ereções penianas dos grupos experimentais.

No hipotálamo, o núcleo paraventricular e a área pré-óptica medial são as principais regiões supra-espinhais envolvidas no controle e na modulação da ereção peniana, além disso, neurônios dopaminérgicos centrais estão localizados na região incerto-hipotalâmica com projeções para essas regiões hipotalâmicas (CHEN et al., 1999; BASKERVILLE; DOUGLAS, 2008). A dopamina, neurotransmissor liberado por esses neurônios, atua em receptores *D<sub>1</sub>-like*, que compreendem os subtipos D<sub>1</sub> e D<sub>5</sub> (acoplados a proteína G<sub>s</sub>), e receptores *D<sub>2</sub>-like*, com subtipos D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> e D<sub>4</sub> (acoplados a proteína G<sub>i/o</sub>), sendo D<sub>2</sub> o mais abundante no SNC (JABER et al., 1996).

A R-(-)-apomorfina, o agente indutor da ereção peniana utilizado nesse estudo, é um agonista dopaminérgico não seletivo, que apresenta maior seletividade pelos receptores *D<sub>2</sub>-like* presentes nos neurônios ocitocinérgicos

do PVN (HSIEH et al., 2004). Com a ativação desses receptores ocorre aumento do influxo de  $Ca^{2+}$ , em resposta a estimulação da via de sinalização da fosfolipase  $C\beta_2$  pelo dímero  $\beta\gamma$  das proteínas  $G_{i/o}$ , com consequente ativação da enzima nNOS, e produção de NO. Através de um mecanismo ainda não esclarecido, o NO liberado ativa esses neurônios ocitocinérgicos, que liberam a ocitocina na região sacral (S2-S4) da medula espinal, ativando o fluxo parassimpático pró-erétil, levando a liberação de ACh nos corpos cavernosos do pênis, causando subsequente relaxamento do músculo liso cavernoso e ereção peniana (ALVES, 2007; BATISTA, 2012).

No protocolo que avalia a função erétil em ratos conscientes (acordados), esses receberam a R-(-)-apomorfina e as alterações da função erétil eram monitoradas por 30 minutos. Essa substância é rapidamente absorvida e transportada através do tecido cerebral, atinge níveis cerebrais máximos após 15 minutos e tem sua concentração plasmática reduzida à metade aproximadamente 20 minutos após sua administração (MELZACKA et al., 1979; URBA-HOLMGREN; BJORN; ANIAS, 1982, HSIEH et al., 2004; HANNAN et al., 2006).

Nesse estudo, a função erétil dos grupos alimentados com a dieta padrão foi similar na ausência ou presença da suplementação com a alga ou do tratamento com sildenafil (Gráfico 9), evidenciando que a *S. platensis* e a sildenafil não suprarregulam mecanismo erectogênicos. Por outro lado, o grupo GOS apresentou redução no número de ereções penianas e aumento na latência para iniciar a ereção quando comparado ao grupo GCS (Gráfico 10A-B), sugerindo o desenvolvimento da DE nesses ratos, pois, alguns dos principais sintomas dessa doença são a dificuldade para conseguir e/ou para manter uma ereção, bem como o aumento do tempo necessário para iniciar essa ereção peniana (ANDERSSON, 2011). Alterações nesses parâmetros, caracterizando a DE, também foram observadas em ratos submetidos a uma dieta rica em sódio (LEITOLIS, 2013), em ratos hipertensos, diabéticos, hipercolesterolêmicos (NEVES, 2011; CHOO et al., 2015) ou com hiperhomocisteinemia (JIANG et al., 2016).

Com base na análise do número de ereções penianas e na latência para a ereção, pode-se demonstrar um modelo de disfunção erétil causada pela

exposição dos ratos à dieta hipercalórica, fortalecendo a associação da DE ao aumento da adiposidade corporal (SOUZA et al., 2017).

Utilizando esse modelo de DE, realizou-se a análise da função erétil dos ratos suplementados com *S. platensis* e, observou-se aumento do número de ereções penianas na dose de 100 mg/kg (Gráfico 10A) e redução do tempo para iniciar a ereção peniana nas doses de 50 e 100 mg/kg (Gráfico 10B). Diante desses resultados, possivelmente os mecanismos centrais e/ou periféricos que servem de gatilho para iniciar e manter a ereção peniana são alterados pelo aumento da adiposidade corporal e, dessa forma, prevenidos pela ação da *S. platensis*, uma vez que não houve alteração nos ratos que consumiram a dieta padrão e foram suplementados com as mesmas doses da alga (Gráfico 9).

Ademais, o tratamento crônico com sildenafil, fármaco padrão para terapia da DE, no grupo GO + Sild, também promoveu aumento do número de ereções (Gráfico 10A) e redução da latência para a ereção peniana (Gráfico 10B), sugerindo prevenção do quadro de DE em ratos alimentados com a dieta hipercalórica, uma vez que todos os parâmetros também foram similares ao grupo GCS. Esses resultados são atribuídos a inibição das enzimas PDE5, levando ao aumento dos níveis intracelulares de cGMP nos corpos cavernosos do pênis, o que favorece o relaxamento cavernoso e a ereção peniana (CORBIN, 2004).

Com a finalidade de mensurar o grau de relação entre as alterações na função erétil dos ratos com os parâmetros afetados pelo consumo da dieta hipercalórica, utilizou-se a correlação de Pearson (TOLEDO; OVALLE, 1985; SPIEGEL, 1993). Segundo Dancey e Reidy (2006), os valores de correlação podem ser divididos em fraco, moderado ou forte, onde  $r = 0,10$  até  $0,39$  demonstra uma correlação fraca;  $r = 0,40$  até  $0,69$  aponta uma correlação moderada e  $r = 0,70$  até  $1$  evidencia uma correlação forte. Outrossim, uma correlação pode ser positiva, indicando que as duas variáveis se movem na mesma direção, ou negativa, onde as duas variáveis seguem direções opostas.

Nessa análise, o número de ereções penianas apresentou correlação negativa e moderada com o índice de adiposidade e o ganho de massa corporal dos ratos (Gráfico 11), demonstrando que a diminuição das ereções



penianas pode ser associada ao aumento da adiposidade corporal total, mas não a um depósito de tecido adiposo específico, bem como ao ganho excessivo de massa corporal. Além disso, o tempo necessário para o início da ereção peniana apresentou correlação positiva e fraca com o índice de adiposidade e o ganho de massa corporal dos ratos (Gráfico 12), ou seja, a latência aumenta com o aumento da adiposidade corporal total e do ganho de massa corporal dos ratos. Diante desses resultados, demonstra-se a modulação negativa da obesidade sobre o processo de ereção peniana dos ratos e, propõe-se que a suplementação alimentar com *S. platensis*, ao reduzir os parâmetros de obesidade experimental previne o dano à função erétil desses ratos. Entretanto, não se pode descartar a possibilidade da alga também modular alvos paralelos que resulte na melhora da função erétil desses ratos, como a reatividade das células musculares lisas cavernosas.

O modelo de ereção utilizado nesse estudo é apontado como um dos mais adequado para acompanhamento de variações da resposta erétil dos ratos, sendo a ereção peniana desencadeada por mecanismos centrais (BATISTA, 2012). Como o consumo da dieta hipercalórica e a suplementação com *S. platensis* ou o tratamento com sildenafil promoveram alterações na função erétil de ratos no modelo de indução de ereção com R-(-)-apomorfina, é interessante investigar possíveis efeitos maléficos ou benéficos sobre a performance sexual desses ratos.

Nesse contexto, sugere-se uma investigação futura no modelo de indução da resposta erétil por estimulação elétrica do gânglio pélvico maior, em ratos anestesiados, que é um modelo para estudos dos mecanismos periféricos da ereção peniana (GIULIANO et al., 1997; DAI et al., 2000; BEHR-ROUSSEL et al., 2003; COSTA-GONÇALVES et al., 2007). Além disso, pode-se avaliar variações no comportamento sexual dos ratos através das mudanças na motivação sexual (libido) e execução da cópula (potência sexual) (AGMO, 1997), pelos testes de monta – série de movimentos superficiais da pélvis (*thrusting*) dos ratos na região traseira das ratas; e de intromissão – o rato montado sobre a rata realiza movimentos profundos de penetração vaginal, seguidos de desmonta rápida e limpeza da genitália (ADLER; TONER, 1986; HULL; WOOD; MCKENNA, 2006).

Uma vez que foi verificada alteração na função erétil dos ratos através de estudos *in vivo*, como resultado do consumo de dietas diferenciadas, levantou-se a hipótese que o consumo da dieta hipercalórica poderia aumentar a reatividade contrátil e reduzir a resposta relaxante do corpo cavernoso de rato, pautado nos estudos que demonstram que o aumento da adiposidade corporal promove dano endotelial (ROSINI; SILVA; MORAES, 2012; OLIVEIRA, 2013). Além disso, conjectura-se que a suplementação com *S. platensis* previna as alterações causada pela ingestão da dieta hipercalórica sobre a musculatura lisa cavernosa.

O balanço entre a flacidez e a ereção peniana depende do sincronismo entre os processos de contração e de relaxamento das células musculares lisas cavernosas, que são controladas pelas inervações autonômicas. Dessa forma, a  $[Ca^{2+}]_i$  é o ponto central da regulação do tônus muscular liso cavernoso. Logo, o aumento da  $[Ca^{2+}]_i$  leva a contração dessas células musculares e, conseqüentemente, mantém o pênis no estado flácido, enquanto o relaxamento, que promove a ereção peniana, é mediado pela redução da  $[Ca^{2+}]_i$  (SOMLYO; SOMLYO, 1994; ANDERSSON; WAGNER, 1995).

Como a finalidade ulterior de analisar o efeito da ingestão da dieta hipercalórica e da suplementação com *S. platensis* sobre o acoplamento eletromecânico contrátil do músculo liso cavernoso, que promove contração em decorrência da alteração do potencial de membrana das células, inicialmente foram realizadas curvas concentrações-resposta cumulativas ao KCl.

Nesse estudo, a eficácia contrátil do KCl foi reduzida nos ratos alimentados com a dieta padrão e suplementados com a alga na dose de 100 mg/kg (Gráfico 13 e Tabela 18), indicando que a *S. platensis* possivelmente reduziria o influxo de  $Ca^{2+}$  pelos  $Cav$  e assim diminuiria a reatividade contrátil do corpo cavernoso.

A possível alteração promovida pelo consumo da dieta hipercalórica sobre o acoplamento eletromecânico de contração do corpo cavernoso de rato foi confirmada pela potencialização do efeito contrátil induzido pela adição cumulativa de KCl no grupo GOS, bem como pelo aumento do seu  $E_{max}$  em comparação ao grupo GCS (Gráfico 14 e Tabela 19). Com base nesses resultados, demonstra-se a influência deletéria da ingestão da dieta

hipercalórica sobre a funcionalidade sexual masculina, uma vez que o aumento da contração cavernosa evocada pelo acoplamento eletromecânico favorece a manutenção do pênis no seu estado flácido (FOVAEUS; ANDERSSON; HEDLUND, 1987; HÖPPNER et al., 1996).

Em virtude do aumento da reatividade contrátil do corpo cavernoso em ratos alimentado com a dieta hipercalórica e da redução do influxo de  $Ca^{2+}$  pelos  $Cav$  promovido pela suplementação com *S. platensis* em ratos que consumiram dieta padrão, o próximo passo desse estudo visou investigar se essa suplementação alimentar preveniria as alterações causadas pela ingestão da dieta hipercalórica sobre o acoplamento eletromecânico de contração da célula muscular lisa cavernosa.

De maneira interessante, a curva cumulativa de KCl, nos ratos que consumiram a dieta hipercalórica e foram suplementados com 25 mg/kg da alga, apresentou eficácia e potência contrátil semelhante ao grupo GCS. Além disso, a suplementação com *S. platensis* na dose de 100 mg/kg ou o tratamento com sildenafil reduziram a potência desse agente contrátil em comparação ao grupo GOS (Gráfico 14 e Tabela 19). A diminuição da potência contrátil do KCl pela sildenafil envolve a redução da abertura dos  $Cav$ , não sendo correlacionada a modificação da expressão desses canais (WERNER et al., 2008). Com base nos dados obtidos através dessa metodologia, sugere-se que a suplementação alimentar com a alga apresenta efeito preventivo sobre as alterações na contração desencadeada nas células musculares lisas cavernosas de ratos alimentados com dieta hipercalórica, através da redução do influxo de  $Ca^{2+}$  pelos  $Cav$ , o que favorece a ereção peniana.

Tendo em vista que há expressão dos  $Cav$  nas terminações nervosas que inervam os corpos cavernosos, bem como nas células musculares lisas que compõem esses tecidos, sugere-se que o consumo da dieta hipercalórica e a suplementação alimentar com a alga influenciem o influxo de  $Ca^{2+}$  através dos  $Cav$  no músculo liso cavernoso ou através da modulação da liberação de neurotransmissores que regulam os processos de contração e de relaxamento das células musculares lisas cavernosas.

Nas células musculares lisas, o influxo de  $Ca^{2+}$  ocorre através de canais pertencentes a subfamília dos  $Cav1$ . Entretanto, na transmissão sináptica o

influxo de  $\text{Ca}^{2+}$  ocorre através de canais pertencentes a subfamília dos Cav2 (VOGALIS; WARD; SANDERS, 1991; KURIYAMA; KITAMURA; NABATA, 1995; KNOT; BRAYDEN; NELSON, 1996; CATTERALL et al., 2011).

Uma vez que a ingestão da dieta hipercalórica e a suplementação com *S. platensis* alteraram a contração induzida pelo acoplamento eletromecânico em corpo cavernoso de rato, decidiu-se investigar se o acoplamento farmacomecânico de contração desse órgão também seria modificado por essas variáveis, o que poderia alterar o balanço entre a flacidez e a ereção peniana.

De acordo com dados da literatura, há um aumento na reatividade contrátil cavernosa à agonistas adrenérgicos  $\alpha_1$  em ratos e camundongos obesos, o que favorece o desenvolvimento da DE (SILVA, 2011; OLIVEIRA, 2013). Diante dessa premissa, para avaliar a resposta contrátil do corpo cavernoso de rato, foram realizadas curvas cumulativas à FEN, um agonista seletivo de receptores adrenérgicos  $\alpha_1$  (KARAKI; WEISS, 1988).

Nesse protocolo, dentre os ratos que consumiram a dieta padrão, apenas aqueles que receberam a suplementação com *S. platensis* na dose de 50 mg/kg apresentaram atenuação do efeito contrátil da FEN, entretanto, observou-se aumento da eficácia contrátil desse agonista (Gráfico 15 e Tabela 20). Com base nesse resultado, postula-se que a alga pode modular positivamente a via de sensibilização ao  $\text{Ca}^{2+}$ , o que favorece o aumento da eficácia contrátil da FEN. Apesar disso, não houve alteração na função erétil dos ratos dos grupos alimentados com a dieta padrão *in vivo* (Gráfico 9), o que sinaliza uma provável modulação positiva paralela da alga sobre vias que favorecem o relaxamento do corpo cavernoso e, dessa forma, há compensação desse efeito contrátil, de modo que o resultado final não prejudica a função erétil desses ratos.

Ainda analisando esse protocolo, ao se comparar a curva de FEN entre os grupos GOS e GCS, observou-se que a potência contrátil relativa do agonista foi atenuada no grupo GOS em relação ao grupo GCS. Entretanto, a resposta máxima contrátil da FEN foi aumentada no grupo GOS (Gráfico 16 e Tabela 21). Esses resultados podem estar associados ao aumento de mecanismos que favoreçam a contratilidade cavernosa, como o aumento da

expressão dos Cav e/ou modulação positiva da via RhoA/ROCK, e, conseqüentemente, a flacidez peniana. Aliado a esses resultados, há relatos do aumento da eficácia contrátil da FEN em corpo cavernoso associado à expressão da ROCK2 em camundongos obesos (TOQUE et al., 2010), ratos diabéticos (TOQUE et al., 2013) e idosos (SILVA et al., 2014).

Outrossim, a suplementação alimentar com todas as doses de *S. platensis* ou o tratamento com sildenafil potencializou o efeito contrátil da FEN, entretanto, resultou na redução da eficácia desse agente contrátil (Gráfico 16 e Tabela 21). Diante disso, sugere-se que as suplementações utilizadas nesse estudo podem reduzir passos de vias de contração cavernosa, bem como ativar passos de vias de sinalização que culminam no relaxamento do corpo cavernoso de rato e, nesse caso, previnem as alterações desencadeadas pelo consumo da dieta hipercalórica sobre a reatividade contrátil cavernosa.

Evidências apontam que além dos mecanismos miogênicos que mantêm o tônus do corpo cavernoso do pênis, a pequena GTPase RhoA e um dos seus efetores, a ROCK, por desempenharem papéis importantes na sensibilização ao  $Ca^{2+}$ , são responsáveis por modular a contratilidade dos músculos lisos de maneira independente da  $[Ca^{2+}]_i$  (KITAZAWA et al., 1989; SOMLYO; SOMLYO 2000; FUKATA; KAIBUCHI; AMANO, 2001). Nesse contexto, o potencial papel da via RhoA/ROCK na modulação da contração do músculo liso cavernoso tem sido explorado por diferentes pesquisadores (MILLS; CHITALEY; LEWIS, 2001; CHITALEY et al., 2001; JIN; BURNETT, 2006).

Recentemente, foi evidenciado que a RhoA, a ROCK1 e a ROCK2 são expressas em corpo cavernoso de humanos, ratos e camundongos (WALDKIRCH et al., 2012; KUMCU et al., 2016). Além disso, essa via de sinalização está envolvida na resposta contrátil induzida por KCl, NA e FEN em células musculares lisas cavernosas (GUR et al., 2012; KUMCU et al., 2016). Dessa forma, a via da RhoA/ROCK exerce um papel importante na manutenção da flacidez peniana e, diante disso, a sua suprarregulação tem sido associada ao desenvolvimento da DE (REES et al., 2001; ANDERSSON, 2003; TEIXEIRA et al., 2005; WALDKIRCH et al., 2012).

Diante dessa premissa, decidiu-se investigar o efeito do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação com *S. platensis* sobre a via da RhoA/ROCK em corpo cavernoso de rato. Para isso, o Y27632, um inibidor da ROCK (MILLS et al., 2001), era incubado nas preparações e, em seguida, eram induzidas contrações cumulativas à FEN. No grupo GCS, observou-se que a potência contrátil da FEN não alterada, entretanto, houve redução na eficácia contrátil desse agonista em cerca de 4 vezes, conforme confirmado pela análise da diferença da área sob a curva (AUC) (Gráfico 17A e Tabela 22), demonstrando a influência da via de sensibilização ao  $Ca^{2+}$  na contração do corpo cavernoso de rato, conforme descrito previamente (CHITALEY et al., 2001; KUMCU et al., 2016; AYDINOGLU; OGULENER, 2017).

Caso a suplementação alimentar com a alga na dose de 50 mg/kg não alterasse essa via de sinalização no corpo cavernoso dos ratos alimentados com a dieta padrão, a redução da eficácia contrátil da FEN deveria apresentar magnitude similar ao observado no grupo GCS (4 vezes). Entretanto, a redução da eficácia do agonista contrátil foi menor nos ratos suplementados com 50 mg/kg de *S. platensis* (2,5 vezes), dado confirmado pelo aumento na diferença da AUC (Gráfico 17B e Tabela 22). Diante desses resultados, observa-se que a mesma concentração do inibidor foi menos efetiva em reduzir as contrações induzidas pela FEN no corpo cavernoso dos ratos suplementados com a alga, sugerindo que a *S. platensis* promove aumento na expressão da ROCK ou na sua atividade na célula muscular lisa cavernosa.

Além disso, houve potencialização do efeito da FEN no grupo GC + SP50 (22 vezes), reforçando a hipótese de que o aumento da contração induzida pela FEN nesse grupo, quando comparado ao grupo GCS, pode ser associada a modulação positiva da via da RhoA/ROCK (Gráficos 15 e 17B).

Adicionalmente, analisando os ratos que consumiram a dieta hipercalórica, observou-se que na presença do Y27632, a curva de contração da FEN foi potencializada em 5 vezes, apresentando redução do efeito máximo (2,3 vezes) no grupo GOS, comparando-se a ausência desse inibidor (Gráfico 18A e Tabela 23). Como a diminuição do  $E_{max}$  do agente contrátil foi inferior (2,3 vezes) ao observado no grupo GCS (4 vezes) (Gráfico 17A e Tabela 22), sugere-se que nos ratos que alimentados com a dieta hipercalórica há uma

suprarregulação da ROCK e/ou o aumento da atividade dessa enzima, o que justifica a menor efetividade do Y27632 em reduzir a contração induzida pela FEN no corpo cavernoso de rato.

De maneira contrária ao observado nos ratos que consumiram a dieta padrão, a diferença da AUC da FEN foi menor nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica e suplementados com 25, 50 e 100 mg/kg de *S. platensis* (Gráfico 18B-D e Tabela 23) do que no grupo GOS. Dessa forma, sugere-se uma provável modulação negativa da *S. platensis* sobre a expressão e/ou atividade da ROCK no corpo cavernoso de rato alimentado com dieta hipercalórica. Recentemente, Ferreira (2017) demonstrou que a *S. platensis* promove modulação positiva da via RhoA/ROCK em músculo liso intestinal de ratos alimentado com dieta hipercalórica (417,0 kcal/100 g) por 16 semanas. Além disso, o tratamento dos ratos que consumiram a dieta hipercalórica com sildenafil reduziu a diferença da AUC da FEN em comparação ao grupo GOS, o que pode ser atribuído a inibição da via RhoA/ROCK, previamente descrito para essa substância (GUILLUY et al., 2005).

Diante dessas suposições, faz-se necessário avaliar, em estudos futuros, a expressão das proteínas chaves da via de sensibilização ao  $Ca^{2+}$ , através de metodologias moleculares, com a finalidade de comprovar os efeitos atribuídos ao consumo da dieta hipercalórica e à suplementação alimentar com a alga sobre esses alvos celulares.

Apesar desses dados nortear para um possível efeito maléfico da suplementação com a alga sobre o corpo cavernoso de rato alimentado com dieta padrão, do ponto de vista da disfunção erétil cujo agravamento é fortemente influenciado por aumento da via de sensibilização ao  $Ca^{2+}$ , deve-se analisar até que ponto isso pode ser danoso à função sexual dos ratos, uma vez que parece ser contrabalanceado pelo efeito da *S. platensis* em vias de sinalização que favorecem o relaxamento do muscular liso cavernoso, em virtude dos dados obtidos na avaliação das ereções penianas desses grupos experimentais (Gráficos 9 e 10).

Tomando esses dados como premissa, decidiu-se investigar se a reatividade contrátil cavernosa seria alterada pela presença de fatores derivados do endotélio, uma vez que os espaços cavernosos são revestidos

por células endoteliais, que modulam o processo de ereção peniana (BURNETT, 1995; ANDERSSON; STIEF, 1997), a fim de determinar se as alterações promovidas na responsividade contrátil do corpo cavernoso de rato, pela ingestão da dieta hipercalórica ou pela suplementação alimentar com a alga, estariam correlacionadas com a modulação das vias do NO e dos prostanoídes.

Dados já consolidados na literatura apontam que a liberação de NO no tecido cavernoso é o evento mais importante para o início da ereção peniana. O NO desponta como um neurotransmissor liberado por neurônios NANC e como potente vasodilatador derivado do endotélio (FURCHGOTT et al., 1983; IGNARRO et al., 1987; BULT et al., 1990). Ademais, é bem estabelecido que o NO derivado das terminações nervosas NANC (produzido pela nNOS) é responsável por iniciar a ereção, enquanto o NO produzido no endotélio, pela eNOS, contribui para a manutenção da ereção peniana (TRIGO-ROCHA et al., 1993).

Entretanto, a desregulação da produção do NO, que pode acontecer através da sua síntese intermitente pela iNOS, em situações de injúria, tem sido considerada danosa para a função sexual masculina (GONZALEZ-CADAVID; RAJFER, 2005). Além disso, a síntese do NO pode ser reduzida em decorrência do desacoplamento da eNOS, processo que ocorre quando essa enzima não está associada ao seu cofator ou ao seu substrato. Nesse caso, a formação do ânion superóxido a partir da L-arginina, substrato da NOS, na falta do cofator tetrahydrobiopterina, supera a formação de NO pela enzima. O ânion superóxido e o NO reagem e formam o radical livre peroxinitrito (LUO et al., 2014).

Parece contraditório haver aumento da síntese de NO pela iNOS e dano a funcionalidade sexual, porém, ocorre liberação de 8-iso-PGF<sub>2α</sub> a partir da peroxidação do ácido araquidônico da membrana pelo radical livre peroxinitrito (RADI et al., 1991; USHIYAMA et al., 2004; ZHANG et al., 2011). O 8-iso-PGF<sub>2α</sub> promove a contração do corpo cavernoso e, o aumento dos seus níveis intracelulares foi associado ao desenvolvimento da DE (VOSS; SIEMS, 2006; SHUKLA et al., 2009).



Diante dessas premissas, após a incubação das preparações com L-NAME, inibidor não seletivo de NOS (VIGNOZZI et al., 2006), evidenciou-se potencialização do efeito contrátil da FEN (2 vezes), bem como aumento na sua eficácia e na sua AUC no grupo GCS (Gráfico 19A e Tabela 24). Esses dados eram esperados e estão de acordo com estudos que demonstram o papel vasodilatador do NO (FURCHGOTT et al., 1983; JOYNER; DIETZ, 1997; SULLIVAN et al., 1999; CARTLEDGE; MINHAS; EARDLEY, 2001).

Para descartar o efeito da suplementação alimentar com a alga na dose de 50 mg/kg sobre essa via de sinalização no corpo cavernoso dos ratos alimentados com a dieta padrão, o aumento da eficácia contrátil e da AUC do agonista deveria apresentar magnitude similar ao observado no grupo GCS, na presença do L-NAME. Entretanto, verificou-se que os ratos suplementados com 50 mg/kg de *S. platensis* apresentaram menor diferença entre a AUC da FEN na presença do inibidor de NOS (Gráficos 19B e Tabela 24). Nessa análise, a mesma concentração de L-NAME não é eficaz em aumentar a contratilidade induzida pela FEN, indicando que a *S. platensis* pode modular positivamente passos da via do NO, como o aumento na produção do substrato da NOS, do próprio NO ou da expressão de NOS, e dessa forma, requer uma maior concentração de L-NAME para potencializar o efeito do agente contrátil.

Curiosamente, nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica do grupo GOS, a eficácia contrátil e a AUC da FEN foram reduzidas na presença do inibidor de NOS (Gráfico 20A e Tabela 25), o que indica que o consumo da dieta hipercalórica pode desencadear uma disfunção endotelial, onde a presença de radicais livre formados a partir do NO, sintetizado principalmente pela iNOS, contribui para a contratilidade induzida pela FEN, uma vez que a diminuição da produção de NO foi acompanhada pela redução da eficácia contrátil do agonista.

Se a suplementação alimentar com a alga não alterasse a via do NO no corpo cavernoso dos ratos alimentados com a dieta hipercalórica, esperar-se-ia que a eficácia contrátil e a AUC da FEN fossem reduzidas, na presença do L-NAME, como observado no grupo GOS. Entretanto, a eficácia e a AUC do agonista contrátil não foram alteradas nos ratos suplementados com 50 e 100 mg/kg de *S. platensis* ou tratados com sildenafil, e foram

umentadas no grupo GO + SP25 (Gráfico 20B-E e Tabela 25). Com base nesses dados, pressupõe-se que as alterações induzidas pelo consumo da dieta hipercalórica sobre a interface NO-ROS-peroxinitrito foram prevenidas nesse estudo, de modo que a contração promovida pela FEN foi mais efetiva nos ratos suplementados com a alga e tratados com sildenafil, na presença do L-NAME. Dessa forma, reforçando o papel da *S. platensis* na modulação positiva de via de sinalização do NO, como relatado previamente em nosso laboratório, em aorta de ratos saudáveis (BRITO, 2014).

Diante desses dados e das suposições levantadas a partir deles, faz-se necessário investigar futuramente os possíveis efeitos diretos da suplementação alimentar com a alga sobre a expressão das proteínas envolvidas na via NO/cGMP/PKG, a fim de determinar qual o(s) alvo(s) específico(s) modulados pela *S. platensis* em corpo cavernoso de rato.

Outrossim, outras substâncias são produzidas pelo endotélio e podem regular os processos de flacidez e ereção peniana. Nos corpos cavernosos e nas veias penianas há uma produção predominante de prostanoídes contráteis, como a PGF<sub>2α</sub> e o TXA<sub>2</sub> modulada pela tensão de O<sub>2</sub> e reduzida pela hipóxia (CHRIST et al., 1990; AZADZOI et al., 1992; DALEY et al., 1996; MARTÍNEZ et al., 2005). Porém, nas artérias penianas, há maior produção de prostanoídes relaxantes, como a PGI<sub>2</sub>, a PGE<sub>1</sub> e a PGE<sub>2</sub>, que modulam o tônus muscular liso cavernoso (PRIETO et al., 1998; SIMONSEN et al., 2001; ÂNGULO et al., 2002).

Apesar da disfunção endotelial ser primariamente causada por uma deficiência de NO, alterações no metabolismo do ácido araquidônico que levem ao desbalanço entre a produção de prostanoídes vasodilatadores e vasoconstrictores, por ambas COX-1 e COX-2, estão subjacentes ao dano endotelial e ao funcionamento anormal da reatividade muscular lisa de ratos e camundongos obesos (GOODWILL; JAMES; FRISBEE, 2008; XIANG et al., 2008).

Pautado nessas informações, a modulação dos prostanoídes sobre a contratilidade cavernosa nos ratos alimentados com as dietas padrão e hipercalórica, e suplementados com *S. platensis* foi avaliada utilizando a indometacina, inibidor não seletivo de COX (CARTLEDGE; EARDLEY;

MORRISON, 2000). Nos ratos alimentados com a dieta padrão do grupo GCS, a curva de contração da FEN não foi afetada pelo inibidor, uma vez que não foi observada diferença na AUC (Gráfico 19A e Tabela 24), sugerindo um equilíbrio entre a produção de prostanoídes contráteis e relaxantes, de modo que a resultante não afeta a contratilidade cavernosa.

Na avaliação do possível efeito da *S. platensis* sobre a via de sinalização do ácido araquidônico em corpo cavernoso de ratos alimentados com a dieta padrão, a sobreposição das curvas de FEN na ausência e na presença da indometacina descartaria a modulação dos prostanoídes pela alga. Porém, a suplementação dos ratos com 50 mg/kg de *S. platensis* promoveu redução da eficácia e da AUC do agonista contrátil na presença da indometacina (Gráfico 19B e Tabela 24), dessa forma, indica-se uma modulação sobre o balanço dos prostanoídes contráteis/relaxantes. Como a remoção desses mediadores lipídicos, através da inibição da COX, reduziu a contratilidade induzida pela FEN, supõe-se que a alga esteja aumentando a produção de prostanoíde contráteis em detrimento aos relaxantes, o que pode, aliado a ativação da via de sensibilização ao  $Ca^{2+}$ , justificar o aumento da eficácia contrátil da FEN no corpo cavernoso de rato alimentado com dieta padrão (Gráfico 9). Entretanto, não se pode descartar a probabilidade dessa diminuição da eficácia da FEN ser atribuída a modulação positiva da via NO/cGMP/PKG.

Com o consumo da dieta hipercalórica, no grupo GOS, evidenciou-se redução da eficácia contrátil e da AUC da FEN na presença da indometacina (Gráfico 20A e Tabela 25), sugerindo uma alteração no padrão de síntese e/ou liberação dos mediadores lipídicos, onde os prostanoídes contráteis parecem sobrepujar os relaxantes. No tocante ao aumento da adiposidade corporal, o estresse oxidativo associado a esse processo pode contribuir para o dano na produção das prostaciclina relaxantes e, dessa forma, estar envolvido na disfunção endotelial que prejudica a função erétil dos ratos. Especificamente, estudos demonstraram que a produção de  $PGI_2$  é reduzida pela nitração de resíduos de tirosina presente na sintase de  $PGI_2$ , em decorrência do aumento dos níveis intracelulares do ânion superóxido (ÁLVAREZ et al., 2007; MATSUMOTO et al., 2007; SHI; VANHOUTTE, 2008; VANHOUTTE et al., 2009).

Ainda utilizando esse protocolo, verificou-se que a eficácia e a AUC do agente contrátil no corpo cavernoso não foram alteradas pela indometacina nos ratos que consumiram a dieta hipercalórica e foram suplementados com as três doses de *S. platensis* ou foram tratados com sildenafil (Gráfico 20B-E e Tabela 25). Analisando esses resultados, demonstra-se que a mesma concentração do inibidor foi menos efetiva em diminuir a contração induzida pela FEN nesses grupos em comparação ao grupo GOS, o que indica que a alga promove aumento na síntese de prostanoídes que dificultam a contração. Dessa forma, a proporção entre os mediadores lipídicos pode ser alterada para o prevailecimento dos prostanoídes relaxantes sobre os contráteis. Nesse contexto, além da modulação positiva da via do NO, a *S. platensis* previne as alterações malélicas causadas pela ingestão da dieta hipercalórica sobre a via do ácido araquidônico, ressaltando o possível efeito benéfico dessa alga sobre a função erétil dos ratos (Gráfico 10).

O endotélio representa o principal local de *crosstalk* entre as vias de sinalização do NO e dos prostanoídes (HYSLOP; NUCCI, 1991; DAVIDGE et al., 1995). Em níveis basais, onde há a presença do NO, o balanço dos prostanoídes é favorável aos mediadores relaxantes, enquanto, após sua inibição, esse balanço é favorável aos mediadores contráteis (LAEMMEL et al., 2003).

Nesse sentido, existem diferentes mecanismos propostos para explicar essa relação direta entre o NO e os prostanoídes. Em uma das propostas, especula-se que o peroxinitrito interage com o ferro presente no grupo heme da COX e, dessa forma, gera um produto radicalar intermediário que acelera a reação enzimática (KARTHEIN et al., 1988; TSAI; PALMER; KULMACZ, 1992; MARNETT et al., 1999). Além disso, em situações de injúria, o peroxinitrito inibe seletivamente a sintase de PGI<sub>2</sub>, enquanto ativa a sintase de TXA<sub>2</sub> (ZOU; ULLRICH, 1996; ZOU; MARTIN; ULLRICH, 1997). Entretanto, o outro mecanismo proposto, refere-se a S-nitrosilação mediada pelo NO, processo que parece ser responsável pela ativação da COX (KENNEDY; SMITH; MARNETT, 1994; HAJJAR et al., 1995). Ainda nesse contexto, já foi demonstrado que a iNOS pode se ligar diretamente a COX e promover a sua S-nitrosilação e, conseqüente, ativação (KIM; HURI; SNYDER, 2005).

Diante dessas premissas, decidiu-se avaliar se as alterações promovidas na responsividade contrátil do corpo cavernoso de rato, pelo consumo da dieta hipercalórica ou pela suplementação alimentar com a alga, estão correlacionadas com a modulação do *crosstalk* entre as vias do NO e dos prostanoídes. Para isso, as preparações eram incubadas, simultaneamente, com L-NAME e indometacina e, em seguida, era induzida uma curva de contração com a FEN.

Nos ratos alimentados com a dieta padrão do grupo GCS, foi observada uma potencialização do efeito do agonista contrátil na presença simultânea dos bloqueadores (3,5 vezes), em relação a ausência de L-NAME + indometacina (Gráfico 19A e Tabela 24). Ao analisar os resultados observados com a incubação isolada de L-NAME (2 vezes) e indometacina (sem deslocamento) (Gráfico 19A e Tabela 24), é possível inferir um sinergismo do tipo potencialização, onde o efeito final é maior que a soma dos efeitos individuais (VELDSTRA,1956).

Curiosamente, no grupo GCS, a eficácia contrátil da FEN foi reduzida na presença simultânea dos bloqueadores quando comparado a presença isolada de L-NAME (Gráfico 19A e Tabela 24). Nesse contexto, a redução da atividade da NOS favorece a síntese e/ou liberação de prostanoídes contráteis (LAEMMEL et al., 2003), cuja presença pode ter contribuído para o aumento do  $E_{max}$  da FEN. Ademais, a incubação adicional da indometacina reduz os níveis desses mediadores lipídicos e, dessa forma, observa-se redução da contração máxima induzida pela FEN (Gráfico 19A e Tabela 24). Baseado nesse cenário, sugere-se que os prostanoídes podem estar modulando a contração do corpo cavernoso de rato, mesmo sem haver deslocamento na curva de FEN na ausência e na presença isolada de indometacina (Gráfico 19A e Tabela 24), uma vez que o efeito do agonista contrátil pode estar sendo contrabalanceado pelo aumento direto da síntese de  $PGI_2$  pela ação do NO presente no meio (DAVIDGE et al., 1995; HARDY et al., 1998).

Nos ratos alimentados com a dieta padrão e suplementados com 50 mg/kg da alga, evidenciou-se que não houve alteração da potência contrátil da FEN na presença isolada de L-NAME e indometacina, porém, o efeito contrátil desse agonista foi potencializado 38 vezes na presença simultânea

dos bloqueadores (Gráfico 19B e Tabela 24), indicando um sinergismo de potencialização e, dessa forma, demonstrando que o efeito da alga sobre a via do NO e dos prostanoídes pode alterar o *crosstalk* dessas vias de sinalização, com a prevalência da ação de mediadores relaxantes como resultante final. Adicionalmente, a eficácia contrátil da FEN também foi reduzida na presença simultânea dos bloqueadores quando comparado a presença isolada de L-NAME (Gráfico 19B e Tabela 24), fato que pode ser explicado pelo aumento na síntese de mediadores lipídicos contráteis quando há redução da atividade da NOS (LAEMMEL et al., 2003).

Ademais, nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica do grupo GOS, a presença isolada de L-NAME ou de indometacina não alterou a potência contrátil da FEN, entretanto, com a incubação simultânea desses bloqueadores foi verificado aumento de 4,5 vezes na potência do agonista contrátil, sem alteração na eficácia da FEN (Gráfico 20A e Tabela 25). Analisando esses dados, e tomando como base que quando há aumento da adiposidade corporal os prostanoídes contráteis sobrepõem os relaxantes, bem como há modulação direta da síntese desses mediadores lipídicos pelo NO (LAEMMEL et al., 2003), infere-se que a ingestão da dieta hipercalórica desencadeia alterações na interface das vias do NO e dos prostanoídes, uma vez que foi observado o sinergismo, do tipo potencialização, quando houve supressão simultânea da formação dessas substâncias.

Interessantemente, com a suplementação alimentar dos ratos que consumiram a dieta hipercalórica com 25, 50 e 100 mg/kg de *S. platensis*, observou-se sinergismo de potencialização, uma vez que o efeito contrátil da FEN foi aumentado (2,8, 2 e 5 vezes, respectivamente) na presença simultânea de L-NAME e indometacina em relação à ausência desses inibidores (Gráfico 20B-E e Tabela 25). Dessa forma, sugere-se que a alga previne as alterações causadas pelo consumo da dieta hipercalórica sobre a reatividade contrátil cavernosa mediante ações sobre a via do NO, dos prostanoídes e, especialmente, da conexão entre elas, culminando com a prevalência dos mediadores relaxantes sobre os contráteis.

Os resultados observados até aqui fornecem subsídios à hipótese de que a ingestão da dieta hipercalórica promove uma disfunção endotelial, com

consequente aumento da reatividade contrátil cavernosa, através da modulação positiva da via RhoA/ROCK, negativa da via do NO e do desbalanço entre a produção de prostanoídes contrateis e relaxantes, fato que pode estar associado ao dano na ereção peniana dos ratos (Gráfico 10). Adicionalmente, a suplementação alimentar com *S. platensis* emerge como uma alternativa preventiva para as alterações malélicas causadas pelo consumo da dieta hipercalórica sobre a reatividade contrátil cavernosa e, conseqüentemente, sobre a função sexual dos ratos (Gráfico 10).

Complementar aos mecanismos que controlam a contração das células musculares lisas cavernosas, alterações no relaxamento dos corpos cavernosos do pênis também modulam os processos de flacidez e de ereção peniana. Dessa forma, levantou-se a hipótese de que a ingestão da dieta hipercalórica poderia reduzir a reatividade relaxante do corpo cavernoso de rato e que a suplementação com *S. platensis* modularia positivamente o relaxamento e/ou preveniria as alterações causadas por esse consumo alimentar sobre a resposta relaxante cavernosa.

Apesar de alterações neurais e musculares serem complicações bem esclarecidas e correlacionadas ao desenvolvimento da DE, o principal dano associado a essa doença em indivíduos obesos é o vasculogênico, onde há insuficiência de fluxo sanguíneo arterial para o pênis ou disfunção veno-oclusiva, em decorrência da disfunção endotelial (MULHALL et al., 2006; MELLER et al., 2013).

Tomando como base essas premissas, inicialmente, com a finalidade de verificar se a DE desencadeada pelo consumo da dieta hipercalórica estaria associada a um dano no componente muscular liso cavernoso, utilizou-se um doador espontâneo de NO para avaliar as alterações da reatividade relaxante do corpo cavernoso de rato.

Logo, ao induzir o relaxamento independente de endotélio com o NPS, a resposta relaxante foi similar nos grupos GCS e GOS (Gráfico 21), indicando que não ocorreu dano às células musculares lisas cavernosas nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica e, com base nessas informações, sugere-se que a sensibilidade do músculo liso dos corpos cavernosos ao NO não é afetada pelo desenvolvimento da obesidade (TOQUE et al., 2010). Em

suma, a DE induzida nesse estudo não está associada a um dano muscular, oposto ao observado em modelo de DE neurogênica (LEE et al., 2002; USER et al., 2003; FERRINI et al., 2009).

Diante dos dados descritos previamente, fica claro que a disfunção endotelial que decorre do consumo da dieta hipercalórica representa um papel central na regulação da reatividade do corpo cavernoso de rato e pode influenciar diretamente a função sexual desses ratos. Nesse contexto, para verificar uma possível modulação da ingestão alimentar da dieta hipercalórica e da suplementação com *S. platensis* sobre a responsividade relaxante dependente de endotélio, foram realizadas curvas cumulativas de relaxamento com a ACh.

Os dados obtidos com essa metodologia demonstram que dentre os ratos que consumiram a dieta padrão, apenas aqueles que receberam a suplementação com *S. platensis* na dose de 50 mg/kg ou foram tratados com sildenafil apresentaram aumento na eficácia relaxante promovida pela ACh (Gráfico 22 e Tabela 26), indicando que através da modulação positiva de fatores relaxantes derivados do endotélio, a suplementação alimentar com a alga pode aumentar o relaxamento do corpo cavernoso de rato. Interessantemente, a suplementação dos ratos alimentados com a dieta padrão com 50 mg/kg de *S. platensis* promoveu aumento da eficácia contrátil à FEN, bem como aumento da potência relaxante à ACh (Gráficos 15 e 22).

Ademais, o tratamento dos ratos que consumiram a dieta padrão com sildenafil aumentou a eficácia relaxante promovida pela ACh, fato esperado em decorrência da ativação da via NO/cGMP/PKG (CORBIN; FRANCIS, 1999; PRIETO et al., 2006).

Ao comparar a curva de relaxamento da ACh obtida nos grupos GOS e GCS, evidenciou-se que a eficácia relaxante relativa do agonista foi diminuída no grupo GOS (Gráfico 23 e Tabela 27). Diferentes estudos demonstram a interconexão entre a disfunção endotelial e a redução do relaxamento dependente de endotélio no corpo cavernoso de camundongos obesos (TOQUE et al., 2010), ratos diabéticos (TOQUE et al., 2013) ou idosos (SILVA et al., 2014). Esses dados dão suporte a hipótese levantada sobre o



envolvimento da disfunção endotelial na fisiopatologia da DE em ratos alimentados com a dieta hipercalórica.

A suplementação alimentar com 50 e 100 mg/kg de *S. platensis* e o tratamento com sildenafil potencializaram o efeito relaxante da ACh em corpo cavernoso de ratos alimentados com dieta hipercalórica (Gráfico 23 e Tabela 27). Diante disso, sugere-se que essas suplementações podem modular passos das vias de sinalização do NO e/ou dos prostanoídes, fato que favorece o relaxamento do corpo cavernoso de rato e, nesse caso, previne as alterações desencadeadas pela ingestão da dieta hipercalórica sobre a reatividade relaxante cavernosa.

O aumento nas concentrações de ânion superóxido, como consequência da formação excessiva de ROS ou da diminuição das defesas antioxidantes contribui para a redução da biodisponibilidade do NO em animais obesos. Outrossim, o impacto deletério do aumento da adiposidade corporal sobre a função endotelial também foi associado à redução nos níveis de NO devido ao desacoplamento da eNOS (LOBATO et al., 2011). Ainda com relação à interface adiposidade-ROS-NO-DE, o aumento da produção do ânion superóxido pelo complexo NADPH oxidase resultou na redução da função endotelial de ratos obesos da linhagem Zucker (SERPILLON et al., 2009).

Uma vez que alterações no balanço dos prostanoídes contráteis/relaxantes e na via do NO já foram previamente comprovadas no modelo de DE em ratos que consumiram dieta hipercalórica desenvolvido nesse estudo, e tendo como base, que o papel integral do estresse oxidativo na gênese da DE tem ganhado interesse diante das evidências da influência dos radicais livres sobre a contratilidade e o relaxamento do músculo liso cavernoso (CASTELA et al., 2015; PRIVIERO et al., 2016), o próximo passo desse estudo foi verificar se o consumo da dieta hipercalórica e a suplementação com *S. platensis*, nas doses que potencializaram o efeito da ACh, alterariam o relaxamento dos corpos cavernosos do pênis, através da modulação das ROS.

O complexo NADPH oxidase representa a principal fonte para produção do ânion superóxido nos tecidos vasculares (BRANDES; KREUZER, 2005; KONIOR et al., 2014). Esse radical livre é altamente reativo e citotóxico, sendo,

espontaneamente ou enzimaticamente dismutado a um produto menos reativo, o  $\text{H}_2\text{O}_2$ , pela família de metaloproteínas da SOD (FRIDOVICH, 1995).

Isto posto, decidiu-se investigar a contribuição das ROS na redução do relaxamento induzido pela ACh em corpo cavernoso de ratos alimentados com a dieta hipercalórica e, evidenciar se o estresse oxidativo é um dos alvos modulados pela *S. platensis* para prevenir os danos desenvolvidos na função erétil dos ratos, como consequência dessa alteração dietética. Para isso, as preparações eram incubadas com a apocinina, um inibidor da NADPH oxidase (SOVARI; MORITA; KARAGUEUZIAN, 2008), previamente à indução do relaxamento com a ACh. Nos ratos que consumiram a dieta padrão do grupo GCS, observou-se que a curva cumulativa à ACh foi potencializada (19 vezes), entretanto, não houve aumento na eficácia relaxante desse agonista (Gráfico 24A e Tabela 28), demonstrando a influência deletéria do ânion superóxido, formado a partir do complexo NADPH oxidase, sobre o relaxamento do corpo cavernoso de rato, conforme demonstrado previamente (JIN; BURNETT, 2008; LIU et al., 2012; SILVA et al., 2013).

Caso a suplementação alimentar com a alga na dose de 50 mg/kg não alterasse a formação do ânion superóxido, por esse complexo enzimático, no corpo cavernoso dos ratos alimentados com a dieta padrão, a potencialização do efeito relaxante da ACh deveria apresentar magnitude similar ao observado no grupo GCS (19 vezes). Nesse cenário, a potencialização do relaxamento promovido por esse agonista foi similar nos ratos suplementados com 50 mg/kg de *S. platensis* (20 vezes), na presença do inibidor da NADPH oxidase (Gráfico 24B e Tabela 28). Diante desses resultados, descarta-se a possibilidade da suplementação com a alga reduzir a produção do ânion superóxido, através desse complexo enzimático, para melhorar a resposta relaxante da célula muscular lisa cavernosa do grupo alimentado com a dieta padrão.

Ademais, não houve potencialização do efeito da ACh no grupo GC + Sild, na presença da apocinina (Gráfico 24C e Tabela 28), demonstrando que o agonista foi menos potente em relaxar os corpos cavernosos, na presença do inibidor do complexo enzimático, em comparação aos grupos GCS e GC + SP50. Esses resultados são controversos quando se analisa dados da literatura acerca do efeito da sildenafil sobre a produção do ânion superóxido

pela NADPH oxidase. Diferentes estudos apontam a melhora do relaxamento induzido pela ACh em função da redução da formação de ROS por modulação negativa desse complexo enzimático (KOUPPARIS et al., 2005; PERK et al., 2008; BALARINI et al., 2013). Tomando como base essas informações, sugere-se que o tratamento com sildenafil, reduz a expressão e/ou a atividade da NADPH oxidase e, uma vez demonstrado que o ânion superóxido regula a contratilidade do músculo liso cavernoso, possivelmente há um aumento na produção de ROS através de vias não dependentes desse complexo enzimático, como a xantina oxidase e a eNOS desacoplada. Com isso, a potencialização do efeito relaxante da ACh pela apocinina pode ter sido mascarada pela presença de ROS provenientes de outras fontes intracelulares.

Adicionalmente, analisando os ratos que consumiram a dieta hipercalórica, observou-se que na presença da apocinina, a curva de relaxamento da ACh foi potencializada 19 vezes, sem alteração no efeito máximo, no grupo GOS, comparando-se a ausência desse inibidor (Gráfico 25A e Tabela 29). Como o aumento do  $pD_2$  do agente relaxante apresentou magnitude similar ao observado no grupo GCS (19 vezes) (Gráfico 24A e Tabela 28), sugere-se que o consumo da dieta hipercalórica não promove aumento da produção do ânion superóxido pelo complexo NADPH oxidase, entretanto, não se pode descartar a possibilidade da formação de ROS através de outras vias alternativas nos ratos do grupo GOS.

Nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica e suplementados com 50 e 100 mg/kg de *S. platensis* ou tratados com sildenafil, não foi verificada alteração da curva de relaxamento da ACh na presença ou na ausência da apocinina (Gráfico 25B-D e Tabela 29), refletindo que esse agonista foi menos potente em relaxar o corpo cavernoso de rato, mesmo com a redução da formação do ânion superóxido através da NADPH oxidase. Nesse caso, infere-se que a presença de ROS produzidas por outras vias independentes desse complexo enzimático pode mascarar a potencialização do efeito relaxante da ACh, na presença da apocinina, principalmente porque é relatado na literatura que o aumento da adiposidade corporal promove um aumento de ROS (FURUKAWA et al., 2004; MATSUDA; SHIMOMURA, 2013; MCMURRAY; PATTEN; HARPER, 2016), bem como foi previamente

demonstrado que nesse modelo de alteração dietética não há alteração da produção do ânion superóxido pelo complexo NADPH oxidase (Gráfico 25A e Tabela 29).

Tendo em vista que a presença de ROS reduz a reatividade relaxante do corpo cavernoso de rato, o próximo passo desse estudo consistiu na avaliação da influência do consumo da dieta hipercalórica e da suplementação com *S. platensis* sobre os níveis intracelulares do ânion superóxido, pautado nos estudos que demonstram o potencial antioxidante dessa alga (KARADENIZ et al., 2008; BRITO, 2014; IBRAHIM; ANEES; EL-DEIN, 2014; MAZZOLA et al., 2015). Para isso, as preparações eram incubadas com o tempol, um mimético da SOD (PEIXOTO et al., 2009) previamente à indução do relaxamento com ACh. Nos ratos alimentados com a dieta padrão do grupo GCS, observou-se que potência relaxante da ACh foi aumentada (13 vezes), entretanto, não houve aumento na eficácia relaxante desse agonista (Gráfico 24A e Tabela 28), respaldando a influência deletéria do ânion superóxido sobre o relaxamento do corpo cavernoso de rato, conforme demonstrado na literatura (JIN; BURNETT, 2008; LIU et al., 2012; SILVA et al., 2013).

Caso a suplementação alimentar com a alga na dose de 50 mg/kg não alterasse os níveis intracelulares de ânion superóxido no corpo cavernoso dos ratos alimentados com a dieta padrão, a potencialização do efeito relaxante da ACh deveria apresentar magnitude similar ao observado no grupo GCS (13 vezes). Nesse cenário, a potencialização do relaxamento promovido por esse agonista foi similar nos ratos suplementados com 50 mg/kg de *S. platensis* (14 vezes), na presença do mimético da SOD (Gráfico 24B e Tabela 28). Diante desses resultados, rejeita-se a hipótese da alga reduzir os níveis intracelulares basais do ânion superóxido, para melhorar a resposta relaxante da célula muscular lisa cavernosa observada previamente (Gráfico 22).

Além disso, não houve potencialização do efeito da ACh nos ratos que consumiram a dieta padrão e foram tratados com sildenafil, na presença do tempol (Gráfico 24C e Tabela 28), demonstrando que o agonista foi menos potente em relaxar os corpos cavernosos, na presença da mesma concentração do tempol, em comparação aos grupos GCS e GC + SP50. Com

base nesses dados, sugere-se que ocorre aumento na produção de ROS através de vias não dependentes da NADPH oxidase, em decorrência da modulação negativa da droga sobre esse complexo enzimático, e dessa forma, é necessária uma maior concentração do mimético da SOD para haver potencialização do efeito do agente relaxante.

Ao analisar os ratos que consumiram a dieta hipercalórica, observou-se que, na presença do tempol, a curva de relaxamento da ACh foi potencializada 23 vezes, sem alteração no efeito máximo, no grupo GOS, comparando-se a ausência desse inibidor (Gráfico 25A e Tabela 29). Como o aumento do  $pD_2$  do agente relaxante apresentou magnitude superior ao observado no grupo GCS (13 vezes) (Gráfico 24A e Tabela 28), sugere-se que nos ratos que consumiram a dieta hipercalórica, a presença do ânion superóxido atenua o relaxamento do corpo cavernoso de rato.

Se a suplementação alimentar com a alga 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 no grupo GOS, na presença do tempol (23 vezes). Entretanto, a potencialização do relaxamento promovido por esse agonista foi diminuída nos ratos suplementados com 50 (10 vezes) e 100 mg/kg (sem deslocamento) de *S. platensis* ou tratados com sildenafil (sem deslocamento), na presença do mimético da SOD (Gráfico 25B-D e Tabela 29), demonstrando a redução das concentrações basais da ROS. Diante desses resultados, infere-se que as suplementações utilizadas nesse estudo preveniram as alterações deletérias causadas pela ingestão alimentar da dieta hipercalórica sobre os níveis intracelulares do ânion superóxido e, dessa forma, modulam positivamente o relaxamento do corpo cavernoso de rato, fato que pode ser associado à melhora da função erétil desses ratos (Gráfico 10).

Enzimaticamente, há a geração do peróxido de hidrogênio a partir do ânion superóxido pela ação da SOD (YU, 1994; PIETTA, 2000). Curiosamente, é descrito na literatura um efeito bifásico para o  $H_2O_2$  em artéria mesentérica e em corpo cavernoso de ratos, que depende de sua concentração intracelular. Nesse contexto, a resposta contrátil do  $H_2O_2$  foi associada ao aumento da

síntese e/ou liberação do TXA<sub>2</sub>, enquanto o relaxamento foi correlacionado à ativação de canais de K<sup>+</sup> (GAO et al., 2003; CÔCO, 2012). Dessa forma, uma vez que o peróxido de hidrogênio modula a contração muscular lisa cavernosa, decidiu-se investigar a participação dessa ROS no relaxamento induzido pela ACh. Para isso, as preparações eram incubadas com a catalase, enzima que decompõe o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (YU, 1994; PIETTA, 2000), previamente à indução do relaxamento com a ACh. Nos ratos alimentados com a dieta padrão do grupo GCS, observou-se que a curva cumulativa à ACh foi potencializada (6 vezes), com aumento na eficácia relaxante desse agonista (Gráfico 24A e Tabela 28), demonstrando a influência deletéria do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sobre o relaxamento do corpo cavernoso de rato.

Caso a suplementação alimentar com a alga na dose de 50 mg/kg não alterasse a decomposição do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, por ação da catalase, no corpo cavernoso dos ratos alimentados com a dieta padrão, a potencialização do efeito relaxante da ACh deveria apresentar magnitude similar ao observado no grupo GCS (6 vezes). Nesse cenário, a potencialização do relaxamento promovido por esse agonista foi similar nos ratos suplementados com 50 mg/kg de *S. platensis* (7 vezes), na presença da catalase (Gráfico 24B e Tabela 28). Diante desses resultados, descarta-se a possibilidade da suplementação com a alga reduzir os níveis intracelulares basais do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, através dessa enzima, para melhorar a resposta relaxante da célula muscular lisa cavernosa do grupo alimentado com a dieta padrão.

Ademais, não houve potencialização do efeito da ACh no grupo GC + Sild, na presença da catalase (Gráfico 24C e Tabela 28), demonstrando que o agonista foi menos potente em relaxar os corpos cavernosos, na presença dessa enzima, em comparação aos grupos GCS e GC + SP50. Esses resultados podem estar relacionados, possivelmente, ao aumento na produção de ROS através de vias não dependentes do complexo NADPH oxidase, como a xantina oxidase e a eNOS desacoplada. Com isso, a potencialização do efeito relaxante da ACh pela catalase pode ter sido mascarada pela presença de grande quantidade de ânion superóxido e, conseqüentemente, de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Ao analisar os ratos alimentados com a dieta hipercalórica, observou-se que, na presença da catalase, a curva de relaxamento da ACh foi potencializada 140 vezes, com aumento no efeito máximo, no grupo GOS, comparando-se a ausência desse inibidor (Gráfico 25A e Tabela 29). Como o aumento do  $pD_2$  do agente relaxante apresentou magnitude superior ao observado no grupo GCS (6 vezes) (Gráfico 24A e Tabela 28), sugere-se que nos ratos que consumiram a dieta hipercalórica, a presença do  $H_2O_2$  atenua o relaxamento do corpo cavernoso de rato.

Se a suplementação alimentar com a alga não reduzisse os níveis basais do  $H_2O_2$  no corpo cavernoso dos ratos alimentados com a dieta hipercalórica, a potencialização do efeito relaxante da ACh deveria apresentar magnitude similar ao observado no grupo GOS, na presença da enzima (140 vezes). Entretanto, a potencialização do relaxamento promovido por esse agonista foi diminuída nos ratos suplementados com 50 (sem deslocamento) e 100 mg/kg (108 vezes) de *S. platensis* ou tratados com sildenafil (sem deslocamento), com aumento do efeito relaxante máximo, na presença da catalase (Gráfico 25B-D e Tabela 29), demonstrando a redução das concentrações basais do  $H_2O_2$  apenas com a suplementação alimentar com a alga na dose de 50 mg/kg ou com o tratamento com a sildenafil. Diante desses resultados, infere-se que a suplementação utilizada nesse estudo previne as alterações deletérias causadas pela ingestão alimentar da dieta hipercalórica sobre os níveis intracelulares do  $H_2O_2$ , de maneira não dependente de dose e, dessa forma, modula positivamente o relaxamento do corpo cavernoso de rato, fato que pode ser associado à melhora da função erétil desses ratos (Gráfico 10).

Diante dos dados descritos até aqui, infere-se que o modelo de disfunção erétil, desenvolvido a partir do consumo de dieta hipercalórica, promoveu alterações na reatividade cavernosa contrátil e relaxante, com resultante redução da função erétil dos ratos e que essas alterações foram prevenidas pela suplementação alimentar com *S. platensis*, uma vez que foi evidenciado que a alga não alterou a função erétil em ratos alimentados com a dieta padrão (Gráficos 9 e 10). Além disso, essas alterações estão correlacionadas com a modulação do cruzamento das vias da RhoA/ROCK, do

NO, dos prostanoides/isoprostanos e das ROS. Diante dessas premissas, o próximo passo desse estudo foi avaliar se o consumo da dieta hipercalórica e a suplementação com *S. platensis* modificariam o estresse oxidativo no plasma, bem como nos diferentes tecidos avaliados nesse estudo, com a finalidade ulterior de corroborar as observações funcionais.

Nesse contexto, a principal problemática relacionada ao aumento dos níveis intracelulares das ROS é a sua capacidade de interagir com os lipídios, o DNA, as proteínas e os carboidratos. Dentre as modificações que surgem com essas interações, algumas têm efeito direto sobre a função da molécula, como a inibição de enzimas, entretanto, outras refletem meramente o grau de estresse oxidativo local (RASMUSSEN et al., 2010). Nesse sentido, existem moléculas que são modificadas por essas interações das ROS com o microambiente e outras que pertencem ao sistema antioxidante, sendo alteradas em resposta ao aumento do estresse oxidativo, que coletivamente são consideradas marcadores desse processo (HO et al., 2013). O aumento desses marcadores no plasma demonstra um dano oxidativo sistêmico, enquanto um aumento nos tecidos reflete mais fielmente o estresse oxidativo local. Diante disso, são quantificados marcadores do estresse sistêmico (DAVIES; MELMAN, 2008; VLACHOPOULOS; IOAKEIMIDIS; STEFANADIS, 2015) ou teciduais (AZADZOI et al., 2010; KIMURA et al., 2012; SAVINI et al., 2013; MANNA; JAIN, 2015).

Nos estudos envolvendo estresse oxidativo, o MDA é o marcador sistêmico e tecidual mais frequentemente quantificado e, representa um composto formado através da decomposição oxidativa de ácidos graxos poliinsaturados da membrana (DEL RIO; STEWART; PELLEGRINI, 2005). Os níveis de MDA são quantificados através de uma reação colorimétrica, onde duas moléculas do ácido tiobarbitúrico se condensam com uma molécula de MDA e o produto final é detectado por espectrofotometria (GIERA; LINGEMAN; NIESSEN, 2012).

Utilizando essa metodologia, observou-se níveis similares de MDA no plasma e em todos os tecidos analisados nos grupos alimentados com a dieta padrão (Gráfico 26), demonstrando que a suplementação com a alga não reduz os níveis basais de ROS, fato interessante, uma vez que em condições



fisiológicas estas espécies reativas são responsáveis pela regulação de processos celulares, como a autofagia e a manutenção do tônus vascular (MANEA, 2010; SENA; CHANDEL, 2012).

Entretanto, analisando os ratos que consumiram a dieta hipercalórica, no grupo GOS, os níveis de MDA no plasma, nos tecidos adiposos epididimal e retroperitoneal e no corpo cavernoso foram superiores àqueles quantificados no grupo GCS, entretanto, não houve variação no tecido adiposo inguinal (Gráfico 27). O aumento nos níveis de MDA pode estar relacionado à produção de citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- $\alpha$ , a IL-1 e a IL-6, em decorrência do aumento da adiposidade corporal. É descrito na literatura que essas citocinas estimulam a produção das ROS por macrófagos. Adicionalmente, o TNF- $\alpha$  inibe a atividade de proteína C reativa, fato que aumenta a interação de elétrons com oxigênio para a geração de ânion superóxido (MORROW, 2003; FONSECA-ALANIZ et al., 2007). Como a capacidade metabólica do tecido adiposo varia em função da sua localização, sendo menor na reserva adiposa inguinal, infere-se que há menor geração e influência de ROS nesse local, o que justifica a semelhança nos níveis de MDA entre os grupos GCS e GOS (Gráfico 27).

Com a suplementação dos ratos alimentados com a dieta hipercalórica com *S. platensis*, verificou-se redução nos níveis de MDA no plasma, nos tecidos adiposos epididimal e retroperitoneal e no corpo cavernoso em relação ao grupo GOS, entretanto, não houve variação no tecido adiposo inguinal (Gráfico 27). Apesar da suplementação com *S. platensis* não reduzir a massa dos tecidos adiposos epididimal e retroperitoneal (Gráfico 4), houve a redução de marcadores do estresse oxidativo nesses tecidos, demonstrando um efeito preventivo da alga sobre o aumento do dano promovido pelo consumo da dieta hipercalórica sobre esses tecidos adiposos, o plasma e o corpo cavernoso dos ratos. Recentemente, Ferreira (2017) demonstrou que após a ingestão da dieta hipercalórica (417,0 kcal/100 g) durante 16 semanas, a suplementação com essa alga reduziu os danos oxidativos nas reservas adiposas. Diante desses dados, respalda-se o potencial benéfico da utilização da *S. platensis* sobre o estresse oxidativo sistêmico e local.

Além disso, o tratamento dos ratos que consumiram a dieta hipercalórica com sildenafil reduziu os níveis de MDA no plasma e nos tecidos adiposos epididimal e retroperitoneal em relação ao grupo GOS, entretanto, não variou no tecido adiposo inguinal nem no corpo cavernoso (Gráfico 27), o que sugere que a modulação negativa da produção do ânion superóxido pela sildenafil (KOUPPARIS et al., 2005; PERK et al., 2008) pode contribuir para esse resultado e, apesar de ter sido hipotetizado anteriormente que provavelmente há aumento da produção de ROS por outras fontes, isso não parece desenvolver um dano oxidativo, uma vez que os níveis de MDA foram inferiores ao grupo GOS.

Nos sistemas biológicos, o aumento da produção das ROS é contrabalanceado pela capacidade antioxidante corporal, que representa a habilidade do organismo de sequestrar os radicais livres através dos sistemas redox (BRIGHENTI et al., 2005). Com base nessas informações, foi avaliado se a ingestão da dieta hipercalórica e a suplementação com *S. platensis* alterariam a capacidade antioxidante sistêmica e tecidual dos ratos. Para isso, utilizou-se o método colorimétrico da redução do DPPH, que se fundamenta na habilidade da amostra em reduzir o radical DPPH, que apresenta coloração roxa, a 1,1-difenil-2-picril hidrazina, de cor transparente, detectada por espectrofotometria (FLOEGEL et al., 2011).

Nos grupos alimentados com a dieta padrão, a capacidade antioxidante total se manteve inalterado no plasma e na maioria dos os tecidos analisados, sendo aumentado apenas no grupo GC + SP50 nos tecidos adiposos epididimal e retroperitoneal (Gráfico 28). Esse resultado era esperado e pode ser correlacionado a não variação nos níveis de MDA nesses ratos (Gráfico 26), uma vez que os mecanismos de defesa antioxidante são potencializados quando há elevação na produção de radicais livres (ANTUS, 2016). Possivelmente o aumento da capacidade antioxidante pela suplementação com a alga na dose de 50 mg/kg pode ter sido estimulado e eficaz em reduzir o estresse oxidativo nos tecidos adiposos epididimal e retroperitoneal.

Entretanto, analisando os ratos alimentados com a dieta hipercalórica, no grupo GOS, a capacidade antioxidante do plasma foi inferior ao grupo GCS, entretanto, não houve variação nos tecidos adiposos epididimal, retroperitoneal

e inguinal e no corpo cavernoso (Gráfico 29). Dados bem consolidados na literatura demonstram que a perda do balanço homeostático entre ROS-defesas antioxidantes, com redução da capacidade antioxidante, leva ao estresse oxidativo. Diante disso, a redução da capacidade antioxidante total do plasma do grupo GOS fornece evidências de um desbalanço entre ROS-defesas antioxidantes, o que pode ser correlacionado ao aumento nos níveis de MDA plasmático nesses ratos (Gráfico 27). De maneira adicional, propõem-se que as defesas antioxidantes sistêmicas desses ratos auxiliam na remoção dos radicais livres teciduais e, dessa forma, diminuem os efeitos deletérios das ROS nos tecidos corporais dos ratos, baseado na semelhança observada entre a capacidade antioxidante tecidual dos grupos GCS e GOS e aumento de MDA tecidual no grupo GOS (Gráfico 27).

Nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica e suplementados com *S. platensis* nas doses de 50 e 100 mg/kg ou tratados com sildenafil, observou-se um aumento da capacidade antioxidante plasmática quando comparado ao grupo GOS (Gráfico 29A), o que justifica a redução dos níveis de MDA quantificados no plasma desses ratos (Gráfico 27A).

Ao analisar os tecidos adiposos epididimal e retroperitoneal, a suplementação com 50 mg/kg da alga aumentou a capacidade antioxidante da reserva epididimal, enquanto a dose de 100 mg/kg da alga aumentou a capacidade antioxidante do depósito retroperitoneal em relação ao grupo GOS. Adicionalmente, o tratamento com sildenafil aumentou a capacidade antioxidante desses dois tecidos adiposos quando comparado ao grupo GOS (Gráficos 29B-C), esses dados aliados ao aumento das defesas antioxidantes sistêmicas pela suplementação alimentar com a alga, podem ser correlacionados à redução dos níveis de MDA nesses tecidos e, dessa forma, diminuem os efeitos deletérios das ROS nas reservas adiposas (Gráfico 27B-C). De maneira similar ao observado com os níveis de MDA, a capacidade antioxidante do tecido adiposo inguinal não foi afetada pela suplementação com a alga ou o tratamento com sildenafil (Gráficos 27D e 29D).

Interessantemente, apesar da redução dos níveis de MDA no corpo cavernoso dos ratos alimentados com a dieta hipercalórica e suplementados

com a alga (Gráfico 27E), não foi verificada diferença entre a capacidade antioxidante nos ratos suplementados com a *S. platensis* ou tratados com sildenafila (Gráfico 29E), o que indica que o aumento das defesas antioxidantes sistêmicas pela alga ou pela sildenafila estão correlacionadas à remoção dos radicais livres nesse tecido e, dessa forma, diminuem os efeitos deletérios das ROS no corpo cavernoso de rato.

Ainda nesse cenário, os radicais livres são importantes reguladores em diversos processos celulares, incluindo a ativação de fatores de transcrição, a expressão gênica e a proliferação celular (SUENAGA; KAMATA, 2003; LIU.; SHEPHERD; NELIN, 2007). Nesse contexto, foi descrito que a via de sinalização de ROS pode estar subjacente ao aumento da expressão e/ou atividade de MAPKs (GAITANAKI et al., 2003; SCHAEFFER et al., 2003). Dentre as MAPKs, ERK1/2 emergem como potenciais alvos responsáveis pelo desenvolvimento da DE, uma vez que a expressão de ERK1/2 foi evidenciada no corpo cavernoso de humanos e, detectou-se maior expressão dessas MAPKs em homens com essa doença do que em indivíduos saudáveis (SOMMER et al., 2002; NUNES et al., 2011; NUNES; WEBB, 2012).

Essas cinases são mais expressas no endotélio do que nas células musculares lisas cavernosas (SOMMER et al., 2002) e, quando ativadas fosforilam os resíduos de serina<sup>1179</sup> da eNOS, inativando-a (LIN et al., 2003). Além disso, por meio de um mecanismo ainda não esclarecido, a ativação de ERK1/2 aumenta a atividade da arginase, enzima que catalisa a reação de conversão da L-arginina em L-ornitina no ciclo da ureia e, dessa forma, reduz o substrato da eNOS (NUNES et al., 2011; CALDWELL et al., 2015). Essas ações da ERK1/2 reduzem a biodisponibilidade do NO. Adicionalmente, ERK1/2 fosforilam os resíduos de serina<sup>88</sup> e treonina<sup>100</sup> na RhoA, ativando-a, com isso, há sustentação de contração muscular lisa (TONG et al., 2016). Em conjunto, essa interação ROS-ERK1/2-NO-RhoA favorece a redução da responsividade relaxante e aumenta a resposta contrátil do corpo cavernoso, e pode comprometer a funcionalidade sexual peniana.

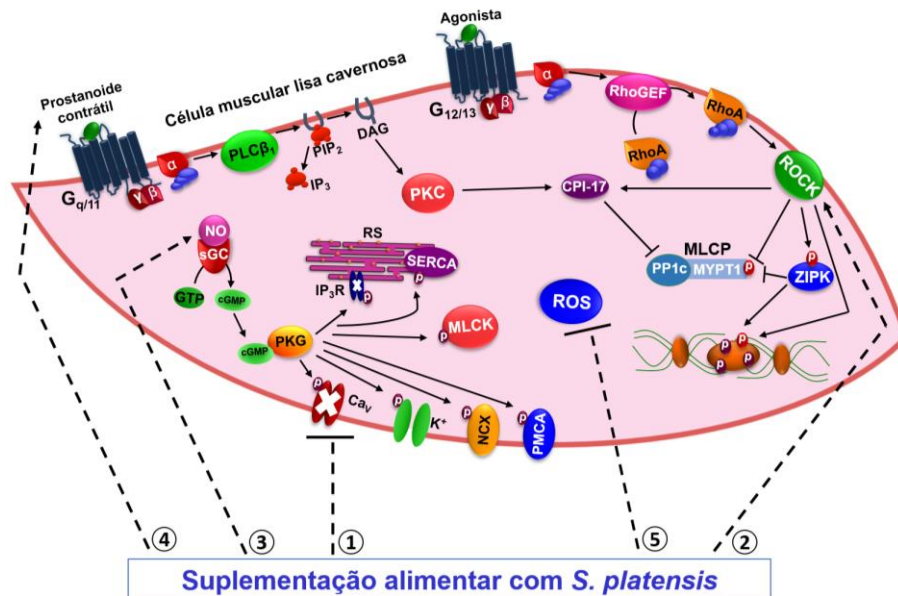
À vista do papel primordial das ERK1/2 no controle da função erétil peniana, foi avaliado se o consumo da dieta hipercalórica e a suplementação com *S. platensis* modulariam a expressão de ERK1/2, em função do aumento

e/ou redução de ROS, para promover os efeitos previamente descritos através de metodologias funcionais. Entretanto, não foi observada variação na expressão dessas cinases nos grupos avaliados (Gráfico 30). Apesar disso, há a possibilidade da ingestão alimentar com a dieta hipercalórica e da suplementação alimentar com a alga modularem a atividade da ERK1/2 e, dessa forma, são necessários estudos mais aprofundados para confirmar ou descartar o envolvimento dessas MAPKs nas alterações evidenciadas sobre a reatividade cavernosa dos ratos alimentados com a dieta hipercalórica.

Conforme relatado na literatura, a *S. platensis* aumenta a expressão das enzimas SOD, CAT e GSH em testículo de ratos, o que demonstra seu potencial antioxidante (BASHANDY et al., 2016). Ademais, a alga é composta por carotenoides, vitaminas do complexo B e vitamina E, relatadas como reguladoras das enzimas SOD e CAT e responsáveis pela captação de radicais livres (BHAT et al., 2000; CUVÉLIER, 2001). Com base na literatura e nos resultados apresentados pela suplementação com a alga em ratos alimentados com a dieta hipercalórica, respalda-se o potencial da *S. platensis* na prevenção do estresse oxidativo, fato que pode ser associado à potencialização da reatividade relaxante cavernosa e, conseqüentemente, à melhora da função erétil desses ratos (Gráficos 10 e 23).

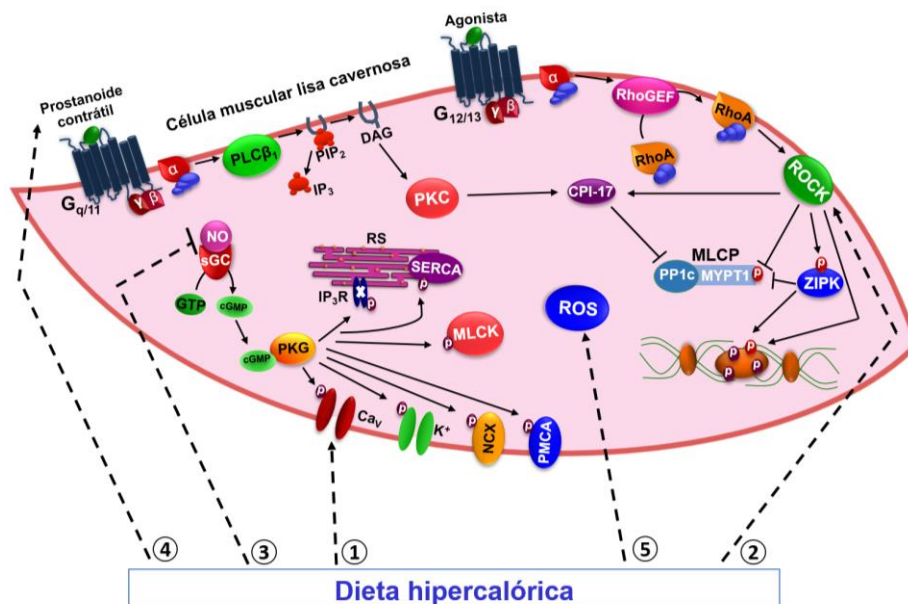
Como desfecho final, baseado nos pontos analisados nesse estudo, sendo as alterações na reatividade cavernosa sumarizados nos mapas conceituais (Figuras 48-50), propõem-se a realização de investigações adicionais, em nível funcional e molecular, bem como ensaios clínicos, para verificar se esses dados são transponíveis para seres humanos, uma vez que baseado na relação da área de superfície corporal (NAIR; JACOB, 2016), as suplementações alimentares utilizadas nesse 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, dessa forma, confirmar o potencial benéfico da suplementação alimentar com *S. platensis* sobre o desenvolvimento da disfunção erétil associada à ingestão alimentar da dieta hipercalórica.

**Figura 48** – Mapa conceitual da modulação da reatividade cavernosa promovida pela suplementação alimentar com *Spirulina platensis* em ratos Wistar alimentados com dieta padrão.



A modulação da reatividade cavernosa pela *S. platensis* em ratos alimentados com dieta padrão envolve: 1. redução do influxo de  $\text{Ca}^{2+}$  pelo  $\text{Ca}_v$ ; 2. ativação da via da RhoA/ROCK; 3. ativação da via do NO; 4. ativação da via dos prostanóides contráteis; e 5. redução das ROS. As definições das abreviaturas estão presentes na lista de abreviaturas e no texto. Fonte: SOUZA, 2018.

**Figura 49** – Mapa conceitual da modulação da reatividade cavernosa promovida pelo consumo da dieta hipercalórica por ratos Wistar.



A modulação da reatividade cavernosa pelo consumo da dieta hipercalórica pelos ratos envolve: 1. aumento do influxo de  $\text{Ca}^{2+}$  pelo  $\text{Ca}_v$ ; 2. ativação da via da RhoA/ROCK; 3. inibição da via do NO; 4. ativação da via dos prostanóides contráteis; e 5. aumento das ROS. As definições das abreviaturas estão presentes na lista de abreviaturas e no texto. Fonte: SOUZA, 2018.





## 7 Conclusões



Na avaliação dos efeitos da suplementação alimentar com *Spirulina platensis* em ratos Wistar que consumiram a dieta padrão, conclui-se que há redução da adiposidade corporal sem alterações na função erétil, *in vivo*, ou no estresse oxidativo dos ratos. Adicionalmente, observa-se efeito dual sobre a reatividade contrátil cavernosa, com redução da contração pelo acoplamento eletromecânico e aumento pelo farmacomecânico, bem como potencialização da resposta relaxante do corpo cavernoso de rato.

Além disso, conclui-se que o consumo da dieta hipercalórica promove aumento da adiposidade corporal, danos às ereções penianas, *in vivo*, e aumento do estresse oxidativo sistêmico e tecidual em ratos Wistar. Ademais, há aumento da contratilidade cavernosa, comprometendo ambos acoplamentos eletro- e farmacomecânico, bem como atenuação da responsividade cavernosa.

Interessantemente, os danos correlacionados ao consumo da dieta hipercalórica são prevenidos pela suplementação alimentar com *Spirulina platensis*, uma vez que a alga promove:

- Aumento da ingestão alimentar, porém, previne o aumento da adiposidade corporal;
- Aumento do número e redução do tempo para o início das ereções penianas, *in vivo*;
- Redução da reatividade contrátil cavernosa, *in vitro*, através dos acoplamentos eletro- e farmacomecânico, bem como, potencialização da responsividade relaxante;
- Efeitos benéficos sobre a reatividade cavernosa, *in vitro*, através da modulação positiva dos fatores relaxantes derivados do endotélio e da redução das ROS, apesar da ativação da via da RhoA/ROCK;
- Redução do estresse oxidativo sistêmico e tecidual.



## Referências

ABESO. Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. **Diretrizes Brasileiras de Obesidade**. 4a edição. São Paulo, 2016.

ADLER, N. T.; TONER, J. P. The effects of copulatory behavior on sperm transport and fertility in rats. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 474, p. 21-32, 1986.

AGMO, A. Male sexual behavior (Protocol). **Brain Research Protocols**, v. 1, p. 203-209, 1997.

AGUILAR, H. N.; MITCHELL, B. F. Physiological pathways and molecular mechanisms regulating uterine contractility. **Human Reproduction Update**, v. 16, n. 6, p. 725-744, 2010.

ALI, E.; BARAKAT, B. M.; HASSAN, R. Antioxidant and angiostatic effect of *Spirulina platensis* suspension in complete Freund's adjuvant-induced arthritis in rats. **PloS One**, v. 10, n. 4, p. e0121523, 2015.

ALTHOF, S. E.; ROSEN, R. C.; PERELMAN, M. A.; RUBIO-AURIOLES, E. Standard operating procedures for taking a sexual history. **The Journal of Sexual Medicine**, v. 10, n. 1, p. 26-35, 2013.

ÁLVAREZ, Y.; PÉREZ-GIRÓN, J. V.; HERNANZ, R.; BRIONES, A. M.; REDONDO, A. G.; BELTRÁN, A.; ALONSO, M. J.; SALAICES, M. Losartan reduces the increased participation of cyclooxygenase-2-derived products in vascular responses of hypertensive rats. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 321, n. 1, p. 381-388, 2007.

ALVES, C. R.; MELLO, M. A. R.; VOLTARELLI, F. A. *Spirulina* como fonte protéica na recuperação de ratos desnutridos: efeitos sobre o músculo esquelético. **Revista Digital – Buenos Aires**, v.10, n. 86, p. 12-18, 2005.

ALVES, L. D. S.; VELLOSSO, A. P. D. S. Tratamento da disfunção erétil. **Revista Médica de Minas Gerais**, v. 15, p. 110-113, 2005.

ALVES, M. A. S. G.; QUEIROZ, T. M.; MEDEIROS, I. A. Fisiologia peniana e disfunção erétil: uma revisão de literatura. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 16, p. 439-444, 2012.

ALVES, P. S. B. R.; Interferência da moxidectina na motivação sexual e ereção peniana de ratos: envolvimento de neurotransmissores hipotalâmicos e estriatais. **Tese (Doutorado em Neurociências e Comportamento)**. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

AMBROSI, M. A.; REINEHR, C. O.; BERTOLIN, T. E.; COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M. Propriedades de saúde de *Spirulina* spp. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, n. 2, p. 109-117, 2009.

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.

ANGULO, J.; CUEVAS, P.; LA FUENTE, J. M.; POMERAL, J. M.; RUIZ-CASTAÑÉ, E.; PUIGVERT, A.; GABANCHO, S.; FERNÁNDEZ, A.; NEY, P.; TEJADA, I. S. Regulation of human penile smooth muscle tone by prostanoid receptors. **British Journal of Pharmacology**, v. 136, n. 1, p. 23-30, 2002.

ANTUS, B. Oxidative stress markers in sputum. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, p. 1-12, 2016.

ARACKAL, B. S.; BENEGAL, V. Prevalence of sexual dysfunction in male subjects with alcohol dependence. **Indian Journal of Psychiatry**, v. 49, n. 2, p. 109, 2007.

ARGIOLAS, A.; MELIS, M. R. Central control of penile erection: role of the paraventricular nucleus of the hypothalamus. **Progress in Neurobiology**, v. 76, n. 1, p. 1-21, 2005.

ARGIOLAS, A.; MELIS, M. R. The role of oxytocin and the paraventricular nucleus in the sexual behaviour of male mammals. **Physiology & Behavior**, v. 83, n. 2, p. 309-317, 2004.

ASMATHUNISHA, N.; KATHIREZAN, K. A. A Review on biosynthesis of nanoparticles by marine organisms. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 103, p. 283-287, 2012.

AVERSA, A.; ROSSI, F.; FRANCOMANO, D.; BRUZZICHES, R.; BERTONE, C.; SANTIEMMA, V.; SPERA, G. Early endothelial dysfunction as a marker of vasculogenic erectile dysfunction in young habitual cannabis users. **International Journal of Impotence Research**, v. 20, n. 6, p. 566-573, 2008.

AYDINOGLU, F.; OGULENER, N. The role of arachidonic acid/cyclooxygenase cascade, phosphodiesterase IV and Rho-kinase in H<sub>2</sub>S-induced relaxation in

the mouse corpus cavernosum. **Pharmacological Reports**, v. 69, n. 4, p. 610-615, 2017.

AZADZOI, K. M.; GOLABEK, T.; RADISAVLJEVIC, Z. M.; YALLA, S. V.; SIROKY, M. B. Oxidative stress and neurodegeneration in penile ischaemia. **BJU International**, v. 105, n. 3, p. 404-410, 2010.

AZADZOI, K. M.; KIM, N.; BROWN, M. L.; GOLDSTEIN, I.; COHEN, R. A.; SAENZ, D. T. I. Endothelium-derived nitric oxide and cyclooxygenase products modulate corpus cavernosum smooth muscle tone. **The Journal of Urology**, v. 147, n. 1, p. 220-225, 1992.

BADO, A.; LEVASSEUR, S.; ATTOUB, S.; KERMORGANT, S.; LAIGNEAU, J. P.; BORTOLUZZI, M. N.; MOIZO, L.; LEHY, T.; GUERRE-MILLO, M.; LE, M. B. Y.; LEWIN, M. J. The stomach is a source of leptin. **Nature**, v. 394, p. 790-793, 1998.

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.

BAKER, H.; LINDSEY J.; WEISBROTH, S. (Eds.). The Laboratory Rat. **New York: Academic Press**, 1979.

BALARINI, C. M.; LEAL, M. A.; GOMES, I. B.; PEREIRA, T. M.; GAVA, A. L.; MEYRELLES, S. S.; VASQUEZ, E. C. Sildenafil restores endothelial function in the apolipoprotein E knockout mouse. **Journal of Translational Medicine**, v. 11, n. 3, p. 1-8, 2013.

BARRETT, P.; MERCER, J. G.; MORGAN, P. J. Preclinical models for obesity research. **Disease Models & Mechanisms**, v. 9, n. 11, p. 1245-1255, 2016.

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.; IBRAHIM, M. A. Antioxidant potential of *Spirulina platensis* mitigates oxidative stress and reprotoxicity induced by sodium arsenite in male rats. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v.16, p.122-130, 2016.

BASKERVILLE, T. A.; ALLARD, J.; WAYMAN, C.; DOUGLAS, A. J. Dopamine-oxytocin interactions in penile erection. **European Journal of Neuroscience**, v. 30, n. 11, p. 2151-2164, 2009.

BASKERVILLE, T. A.; DOUGLAS, A. J. Interactions between dopamine and oxytocin in the control of sexual behaviour. **Progress in Brain Research**, v. 170, p. 277-290, 2008.

BATISTA, K. F. Efeito da angiotensina-(1-7) livre ou incorporada à ciclodextrina e do análogo não peptídico ave-0991 sobre a ereção peniana de ratos.

**Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)**. Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2012.

BATTERHAM, R. L.; COWLEY, M. A.; SMALL, C. J.; HERZOG, H.; COHEN, M. A.; DAKIN, C. L.; WREN, A. M.; BRYNES, A. E.; LOW, M. J.; GHATEI, M. A.; CONE, R. D.; BLOOM, S. R. Gut hormone PYY<sub>(3-36)</sub> physiologically inhibits food intake. **Nature**, v. 418, p. 650-654, 2002.

BAUMANN, H.; GAULDIE, J. Regulation of hepatic acute phase plasma protein genes by hepatocyte stimulating factors and other mediators of inflammation. **Molecular Biology & Medicine**, v. 7, n. 2, p. 147-159, 1990.

BECKER, A. J.; UCKERT, S.; STIEF, C. G.; TRUSS, M. C.; HARTMANN, U.; JONAS, U. Systemic and cavernosal plasma levels of endothelin (1-21) during different penile conditions in healthy males and patients with erectile dysfunction. **World Journal of Urology**, v. 19, n. 5, p. 371-376, 2001.

BECKER, E. W.; JAKOBER, B.; JUFT, D.; SCHMILLING, R. W. Clinical and biochemical evaluations of *Spirulina* with regard to its application in the treatment of obesity. **Nutrition Report International**, v. 33, n.4, p. 565-569, 1986.

BEHR-ROUSSEL, D.; CHAMIOT-CLERC, P.; BERNABE, J.; MEVEL, K.; ALEXANDRE, L.; SAFAR, M. E.; GIULIANO, F. Erectile dysfunction in spontaneously hypertensive rats: pathophysiological mechanisms. **American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 284, p. R682-R688, 2003.

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

BERNARDES, D.; MANZONI, M. S. J.; SOUZA, C. O.; TENÓRIO, N.; DÂMASO, A. R. Efeitos da dieta hiperlipídica e do treinamento de natação sobre o metabolismo de recuperação ao exercício em ratos. **Revista Brasileira de Educação Física**, v. 18, n. 2, p. 191-200, 2004.

BERNLOHR, D. A.; JENKINS, A. E.; BENNAARS, A. A. Adipose tissue and lipid metabolism. In: **Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes**. 4th ed. VENCE, J. E.; VENCE, D (eds.). Elsevier Science, Amsterdam, p. 263-89, 2002.

BERRIDGE, M. J. Cell Signalling Pathways. In: **Cell Signalling Biology**. Portland Press Limited, p. 1-118, 2009.

BERRIDGE, M. J. Smooth muscle cell calcium activation mechanisms. **The Journal of Physiology**, v. 586, n. 21, p. 5047-5061, 2008.

BERTHOUD, H. R.; MORRISON, C. The brain, appetite and obesity. **The Annual Review of Psychology**, v. 59, p. 55-92, 2008.

BHAT, V. B.; MADYASTHA, K. M. C-phycoyanin: a potent peroxy radical scavenger in vivo and in vitro. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 275, p. 20-25, 2000.

BIERHALS, V. S.; MACHADO, V. G.; ECHEVENGUÁ, W. O.; COSTA, J. A. V.; FURLONG, E. B. Compostos fenólicos totais, atividade antioxidante e antifúngica de multimisturas enriquecidas com a microalga *Spirulina platensis*. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 68, n.1, p.42-48, 2009.

BIERI, J. G. AIN-76 diet. **The Journal of Nutrition**, v. 109, n. 5, p. 925, 1979.

BILLINGTON, C. K.; PENN, R. B. Signaling and regulation of G protein-coupled receptors in airway smooth muscle. **Respiratory Research**, v. 4, n. 1, p. 2-12, 2003.

BING, C.; WANG, W.; PICKAVANCE, L.; WILLIAMS, G. The central regulation of energy homeostasis: roles of neuropeptide Y and other brain peptides. **Biochemical Society Transactions**, v. 24, p. 559-565, 1996.

BISHOP, M.; ZUBECK, H. M. Evaluation of microalgae for use as nutraceuticals and nutritional supplements. **Journal of Nutrition & Food Sciences**, v. 2, p. 147-154, 2012.

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 Diego, 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.

BORBA, A. J.; Efeito da dieta hiperlipídico-protéica no metabolismo de ratos Wistar adultos. **Dissertação (Mestrado em Farmacologia)**. Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, Minas Gerais, 2008.

BOSSHARDT, R. J.; FARWERK, R.; SIKORA, R.; SOHN, M.; JAKSE, G. Objective measurement of the effectiveness, therapeutic success and dynamic mechanisms of the vacuum device. **BJU International**, v. 75, n. 6, p. 786-791, 1995.

BOUTIN, P.; FROGUEL, P. Genetics of human obesity. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 15, n. 3, p. 391-404, 2001.

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, 2004.

BRACKETT, N. L.; LYNNE, C. M.; IBRAHIM, E.; OHL, D. A.; SONKSEN, J. Treatment of infertility in men with spinal cord injury. **Nature Reviews Urology**, v. 7, n. 3, p. 162-172, 2010.

BRANDES, R. P.; KREUZER, J. Vascular NADPH oxidases: molecular mechanisms of activation. **Cardiovascular Research**, v. 65, n. 1, p. 16-27, 2005.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Conselho Nacional de Experimentação Animal. **Guia Brasileiro de Produção, Manutenção ou Utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica: fascículo 1: introdução geral**. Brasília – DF, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) no. 16 de 30 de abril de 1999. **Regulamento técnico para procedimentos para registro de alimentos e ou novos ingredientes**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília – DF, 1999a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) no. 17 de 30 de abril de 1999. **Regulamento técnico para estabelecimento das diretrizes básicas para a avaliação de risco e segurança dos alimentos**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília – DF, 1999b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia para comprovação da segurança de alimentos e ingredientes**, 2013.

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.

BRIGHENTI, F.; VALTUENA, S.; PELLEGRINI, N.; ARDIGO, D.; DEL RIO, D.; SALVATORE, S.; PIATTI, P.; SERAFINI, M.; ZAVARONI, I. Total antioxidant capacity of the diet is inversely and independently related to plasma concentration of high-sensitivity C-reactive protein in adult Italian subjects. **British Journal of Nutrition**, v. 93, n. 5, p. 619-625, 2005.

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.

BROBERGER, C. Brain regulation of food intake and appetite: molecules and networks. **Journal of Internal Medicine**, v. 258, n. 4, p. 301-327, 2005.

BROBERGER, C.; LECEA, L.; SUTCLIFFE, J. G.; HÖKFELT, T. Hypocretin/orexin- and melanin-concentrating hormone-expressing cells form distinct populations in the rodent lateral hypothalamus: relationship to the neuropeptide Y and agouti gene-related protein systems. **Journal of Comparative Neurology**, v. 402, p. 460-474, 1998.

BROCK, G. Oral agents: first-line therapy for erectile dysfunction. **European Urology Supplements**, v. 1, n. 8, p. 12-18, 2002.

BROINIZI, P. R. B.; ANDRADE-WARTHA, E. R. S.; SILVA, A. M. O.; TORRES, R. P.; AZEREDO, H. M. C.; ALVES, R. E.; MANCINI-FILHO, J. Propriedades antioxidantes em subproduto do pedúnculo de caju (*Anacardium occidentale* L.): efeito sobre a lipoperoxidação e o perfil de ácidos graxos poliinsaturados em ratos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 4, p.773-771, 2008.

BRUBAKER, P. L.; ANINI, Y. Direct and indirect mechanisms regulating secretion of glucagonlike peptide-1 and glucagon-like peptide-2. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 81, p. 1005-1012, 2003.

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

BUETTNER, R.; SCHÖLMERICH, J.; BOLLHEIMER, L. C. High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. **Obesity**, v. 15, n. 4, p. 798-808, 2007.

BULT, H.; BOECKXSTAENS, G. E.; PELCKMANS, P. A.; JORDAENS, F. H.; VAN MAERCKE, Y. M.; HERMAN, A. G. Nitric oxide as an inhibitory

non-adrenergic non-cholinergic neurotransmitter. **Nature**, v. 345, n. 6273, p. 346-347, 1990.

BURNETT, A. L. Role of nitric oxide in the physiology of erection. **Biology of Reproduction**, v. 52, n. 3, p. 485-489, 1995.

BURNETT, A. L.; STRONG, T. D.; TROCK, B. J.; JIN, L.; BIVALACQUA, T. J.; MUSICKI, B. Serum biomarker measurements of endothelial function and oxidative stress after daily dosing of sildenafil in type 2 diabetic men with erectile dysfunction. **The Journal of Urology**, v. 181, n. 1, p. 245-251, 2009.

BURNETT, A. L.; TILLMAN, S. L.; CHANG, T. S.; EPSTEIN, J. I.; LOWENSTEIN, C. J.; BREDT, D. S.; SOLOMON, H. S.; WALSH, P. C. Immunohistochemical localization of nitric oxide synthase in the autonomic innervation of the human penis. **The Journal of Urology**, v. 150, n. 1, p. 73-76, 1993.

BURRIDGE, K.; WENNERBERG, K. Rho and Rac take center stage. **Cell**, v. 116, n. 2, p. 167-179, 2004.

BUTLER, A. A.; KESTERSON, R. A.; KHONG, K.; CULLEN, M. J.; PELLEYMOUNTER, M. A.; DEKONING, J.; BAETSCHER, M.; CONE, R. D. A unique metabolic syndrome causes obesity in the melanocortin-3 receptor-deficient mouse. **Endocrinology**, v. 141, p. 3518-3521, 2000.

CALDWELL, R. B.; TOQUE, H. A.; NARAYANAN, S. P.; CALDWELL, R. W. Arginase: an old enzyme with new tricks. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 36, n. 6, p. 395-405, 2015.

CALLE, E. E.; THUN, M. J. Obesity and cancer. **Oncogene**, v. 23, n. 38, p. 6365-6378, 2004.

CAMPBELL, J. A. Method for determination of PER and NPR. In: **Food and nutrition board. Committee on Protein Quality. Evaluation of protein quality**. Washington: [s.n.], p. 31-32, 1963.

CAMPOS, D. H. S. Influência da oxidação de glicose sobre a função miocárdica de ratos obesos. **Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia em Clínica Médica)**. Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho, São Paulo, 2010.

CANI, P. D.; BIBILONI, R.; KNAUF, C.; WAGET, A.; NEYRINCK, A. M.; DELZENNE, N. M. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. **Diabetes**, v. 57, n. 6, p. 1470-1481, 2008.

CARTLEDGE, J. J.; EARDLEY, I.; MORRISON, J. F. Impairment of corpus cavernosal smooth muscle relaxation by glycosylated human haemoglobin. **British Journal of Urology**, v. 85, p. 735-741, 2000.

CARTLEDGE, J.; MINHAS, S.; EARDLEY, I. The role of nitric oxide in penile erection. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 2, n. 1, p. 95-107, 2001.

CASTELA, A.; GOMES, P.; DOMINGUES, V. F.; PAÍGA, P.; COSTA, R.; VENDEIRA, P.; COSTA, C. Role of oxidative stress-induced systemic and cavernosal molecular alterations in the progression of diabetic erectile dysfunction. **Journal of Diabetes**, v. 7, n. 3, p. 393-401, 2015.

CATTERALL, W. A. Voltage-gated calcium channels. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 11, p. 1-24, 2011.

CHAMORRO, G.; SALAZAR, M.; FAVILA, L.; BOURGES, H. Pharmacology and toxicology of *Spirulina* alga. **Revista de Investigación Clínica**, v. 48, p. 389-399, 1996.

CHAO, C. H.; WEN, Z. H.; WU, Y. C.; YEH, H. C.; SHEU, J. H. Cytotoxic and anti-inflammatory cembranoids from the soft coral *Lobophytum crassum*. **Journal of Natural Products**, v. 71, n. 11, p. 1819-1824, 2008.

CHEN, K. K.; CHAN, J. Y.; CHANG, L. S. Dopaminergic neurotransmission at the paraventricular nucleus of hypothalamus in central regulation of penile erection in the rat. **Journal of Urology**, v. 162, p. 237-242, 1999.

CHITALEY, K.; WINGARD, C. J.; WEBB, R. C.; BRANAM, H.; STOPPER, V. S.; LEWIS, R. W.; MILLS, T. M. Antagonism of Rho-kinase stimulates rat penile erection via a nitric oxide-independent pathway. **Nature Medicine**, v. 7, n. 1, p. 119-122, 2001.

CHOO, S. H.; SUNG, H. H.; CHAE, M. R.; KANG, S. J.; HAN, D. H.; PARK, J. K.; SO, I.; LEE, S. W. Comparisons of apomorphine-induced erection and spontaneous erection in rats by telemetric assessment of intracavernosal pressure. **Andrology**, v. 3, p. 309-314, 2015.

CHRIST, G. J.; LUE, T. Physiology and biochemistry of erections. **Endocrine**, v. 23, n. 2, p. 93-100, 2004.

CHRIST, G. J.; MAAYANI, S.; VALCIC, M.; MELMAN, A. Pharmacological studies of human erectile tissue: characteristics of spontaneous contractions and alterations in  $\alpha$ -adrenoceptor responsiveness with age and disease in isolated tissues. **British Journal of Pharmacology**, v. 101, n. 2, p. 375-381, 1990.

CHRISTODOULOU, D.; KUDO, S.; COOK, J. A.; KRISHNA, M. C.; MILES, A.; GRISHAM, M. B.; MURUGESAN, R.; FORD, P. C.; WINK, D. A. Electrochemical methods for detection of nitric oxide. **Methods in Enzymology**, v. 268, p. 69-83, 1996.

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

CINTI, S. Transdifferentiation properties of adipocytes in the adipose organ. **American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism**, v. 297, n. 5, p. E977-E986, 2009.

CINTI, S.; FREDERICH, R. C.; ZINGARETTI, M. C.; MATTEIS, R.; FLIER, J. S.; LOWELL, B. B. Immunohistochemical localization of leptin and uncoupling protein in white and brown adipose tissue. **Endocrinology**, v. 138, p. 797-804, 1997.

CLAUDINO, M. A.; PRIVIERO, F. B.; TEIXEIRA, C. E.; DE NUCCI, G.; ANTUNES, E.; ZANESCO, A. Improvement in relaxation response in corpus cavernosum from trained rats. **Urology**, v. 63, p. 1004-1008, 2004.

CLEMENT, P.; GIULIANO, F. Anatomy and physiology of genital organs-men. **Handbook of Clinical Neurology**, v. 130, p. 19-37, 2015.

CÔCO, H. Consequência da hiperhomocisteinemia sobre a resposta à endotelina-1 e fenilefrina em corpo cavernoso de ratos. **Dissertação (Mestrado em Farmacologia)**. Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

CÔCO, H.; PERNOMIAN, L.; MARCHIA, K. C.; GOMES, M. S.; ANDRADE, C. R.; RAMALHO, L. N. Z.; TIRAPELLI, C. R.; OLIVEIRA, A. M. Consequence of hyperhomocysteinaemia on  $\alpha$ 1-adrenoceptor-mediated contraction in the rat corpus cavernosum: the role of reactive oxygen species. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 68, p. 63-75, 2016.

CODEVILLA, C. F.; CASTILHOS, T. S.; BERGOLD, A. M. A review of analytical methods for the determination of four new phosphodiesterase type 5 inhibitors in biological samples and pharmaceutical preparations. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 29, p. 1-11, 2013.

COELHO, M.; OLIVEIRA, T.; FERNANDES, R. Biochemistry of adipose tissue: an endocrine organ. **Archives of Medical Science**, v. 9, n. 2, p. 191-200, 2013.

CONE, R. D. Anatomy and regulation of the central melanocortin system. **Nature Neuroscience**, v. 8, p. 571-578, 2005.

CONSIDINE, R. V.; SINHA, M. K.; HEIMAN, M. L.; KRIAUCIUNAS, A.; STEPHENS, T. W.; NYCE, M. R.; OHANNESIAN, J. P.; MARCO, C. C.; MCKEE, L. J.; BAUER, T. L.; CARO, J. F. Serum immunoreactive leptin concentrations in normal weight and obese humans. **The New England Journal of Medicine**, v. 334, n. 5, p. 292-295, 1996.

CORBIN, J. D. Mechanisms of action of PDE5 inhibition in erectile dysfunction. **International Journal of Impotence Research**, v. 16, n. S1, p. S4, 2004.

CORBIN, J. D.; FRANCIS, S. H. Cyclic GMP phosphodiesterase-5: target of sildenafil. **Journal of Biological Chemistry**, v. 274, n. 20, p. 13729-13732, 1999.

CORNET, J. F.; DUBERTRET, G. The cyanobacterium *Spirulina* in the photosynthetic compartment of the MELISSA artificial ecosystem. In: **Workshop on Artificial Ecological Systems**, p. 24-26, 1990.

CORONA, G.; MONAMI, M.; BODDI, V.; BALZI, D.; MELANI, C.; FEDERICO, N.; BALZI, D.; SFORZA, A.; ROTELLA, C. M.; FORTI, G.; MANNUCCI, E.; MAGGI, M. In obesity a further cardiovascular risk factor in patients with erectile dysfunction. **Journal of Sexual Medicine**, v. 7, p. 2538-2546, 2010.

CORONA, G.; RASTRELLI, G.; FILIPPI, S.; VIGNOZZI, L.; MANNUCCI, E.; MAGGI, M. Erectile dysfunction and central obesity: an Italian perspective. **Asian Journal of Andrology**, v. 16, p. 581-591, 2014.

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.

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

COSTA-GONÇALVES, A. C.; LEITE, R.; FRAGA-SILVA, R. A.; PINHEIRO, S. V.; REIS, A. B.; REIS, F. M.; TOUYZ, R. M.; WEBB, R. C.; ALENINA, N.; BADER, M.; SANTOS, R. A. Evidence that the vasodilator angiotensin-(1-7)-Mas axis plays an important role in erectile function. **American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology**, v. 293, p. H2588-H2596, 2007.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Natural products: A continuing source of novel drug leads. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1830, p. 3670-3695, 2013.

CRAIG, J. R.; JENKINS, T. G.; CARRELL, D. T.; HOTALING, J. M. Obesity, male infertility, and the sperm epigenome. **Fertility and Sterility**, v. 107, n. 4, p. 848-859, 2017.

CUMMINGS, D. E. Ghrelin and the short-and long-term regulation of appetite and body weight. **Physiology & Behavior**, v. 89, n. 1, p. 71-84, 2006.

CUMMINGS, D. E.; PURNELL, J. Q.; FRAYO, R. S.; SCHMIDOVA, K.; WISSE, B. E.; WEIGLE, D. S. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. **Diabetes**, v. 50, n. 8, p. 1714-1719, 2001.

CUVELIER, M. E. Antioxidants in: functional foods and introductory course. **Universidade Católica Portuguesa – Escola Superior de Biotecnologia, Porto**, 2001.

CYPESS, A. M.; LEHMAN, S.; WILLIAMS, G.; TAL, I.; RODMAN, D.; GOLDFINE, A. B.; KUO, F. C.; PALMER, E. L.; TSENG, Y. H.; DORIA, A.; KOLODNY, G. M.; KAHN, C. R. Identification and importance of brown adipose

tissue in adult humans. **New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 15, p. 1509-1517, 2009.

D'ALESSIO, D. A.; PRIGEON, R. L.; ENSINCK, J. W. Enteral enhancement of glucose disposition by both insulin-dependent and insulin-independent processes. A physiological role of glucagon-like peptide I. **Diabetes**, v. 44, p.1433-1437, 1995.

DAI, Y.; POLLOCK, D. M.; LEWIS, R. L.; WINGARD, C. J.; STOPPER, V. S.; MILLS, T. M. Receptor-specific influence of endothelin-1 in the erectile response of the rat. **American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 279, p. R25-R30, 2000.

DALEY, J. T.; BROWN, M. L.; WATKINS, M. T.; TRAISH, A. M.; HUANG, Y. H.; MORELAND, R. B.; TEJADA, I. S. Prostanoid production in rabbit corpus cavernosum: I. regulation by oxygen tension. **The Journal of Urology**, v. 155, n. 4, p. 1482-1487, 1996.

DANCEY, C. P.; REIDY, J. Análise de correlação: o r de Pearson. In: DANCEY, C. P.; REIDY, J. **Estatística sem matemática para psicologia**. Porto Alegre: Artemed; Cap. 5, p. 178-216, 2006.

DAVIDGE, S. T.; BAKER, P. N.; MCLAUGHLIN, M. K.; ROBERTS, J. M. Nitric oxide produced by endothelial cells increases production of eicosanoids through activation of prostaglandin H synthase. **Circulation Research**, v. 77, n. 2, p. 274-283, 1995.

DAVIES, K. P.; MELMAN, A. Markers of erectile dysfunction. **Indian Journal of Urology: Journal of the Urological Society of India**, v. 24, n. 3, p. 320, 2008.

DEAN, R. C.; LUE, T. F. Physiology of penile erection and pathophysiology of erectile dysfunction. **The Urologic Clinics of North America**, v. 32, n. 4, p. 379, 2005.

DEGEN, L.; OESCH, S.; CASANOVA, M.; GRAF, S.; KETTERER, S.; DREWE, J.; BEGLINGER, C. Effect of peptide YY<sub>3-36</sub> on food intake in humans. **Gastroenterology**, v. 129, p. 1430-1436, 2005.

DELLIS, O.; DEDOS, S. G.; TOVEY, S. C.; TAUFIQ-UR-RAHMAN; DUBEL, S. J.; TAYLOR, C. W. Ca<sup>2+</sup> entry through plasma membrane IP<sub>3</sub> receptors. **Science**, v. 313, n. 5784, p. 229-233, 2006.

DEL RIO, D.; STEWART, A. J.; PELLEGRINI, N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 15, n. 4, p. 316-328, 2005.

DONAHUE, R. P.; ABBOTT, R. D.; BLOOM, E.; REED, D. M.; YANO, K. Central obesity and coronary heart disease in men. **Lancet**, v. 1, p. 821-824, 1987.

DOURMASHKIN, J. T.; CHANG, G. Q.; GAYLES, E. C.; HILL, J. O.; FRIED, S. K.; JULIEN, C.; LEIBOWITZ, S. F. Different forms of obesity as a function of diet composition. **International Journal of Obesity**, v. 9, p. 1-11, 2005.

DRAPER, H. H.; SQUIRES, E. J.; MAHMOODI, H.; WU, J. AGARWAL, S.; HADLEY, M. A comparative evaluation of thiobarbituric acid methods for the determination of malondialdehyde in biological materials. **Free Radical Biology and Medicine**, v.15, n.4, p.353-63, 1993.

DREWES, S. E.; GEORGE, J.; KHAN, F. Recent findings on natural products with erectile dysfunction activity. **Phytochemistry**, v. 62, p. 1019-1025, 2003.

DUARTE, A.; FONSECA, D. F.; MANZONI, M. S. J.; SOAVE, C. F.; SENE, F. M.; DÂMASO, A. R. High fat diet and secretory capacity of insulin in rat. **Revista de Nutrição**, v. 19, p. 341-348, 2006.

DUCIMETIERE, P.; RICHARD, J.; CAMBIEN, F. The pattern of subcutaneous fat distribution in middle-aged men and the risk of coronary heart disease: the Paris Prospective Study. **International Journal of Obesity**, v. 10, p. 229-240, 1986.

EARDLEY, I.; DONATUCCI, C.; CORBIN, J.; EL-MELIEGY, A.; HATZIMOURATIDIS, K.; MCVARY, K.; MUNARRIZ, R.; LEE, S. W. Pharmacotherapy for erectile dysfunction. **The Journal of Sexual Medicine**, v. 7, n. 1, p. 524-540, 2010.

EARDLEY, I.; SETHIA, K. **Erectile dysfunction: Current investigation and management**. Elsevier Health Sciences, 2003.

EBERLEIN, G. A.; EYSSELEIN, V. E.; SCHAEFFER, M.; LAYER, P.; GRANDT. D.; GOEBELL, H.; NIEBEL, W.; DAVIS, M.; LEE, T. D.; SHIVELY, J. E. A new molecular form of PYY: structural characterization of human PYY<sub>(3-36)</sub> and PYY<sub>(1-36)</sub>. **Peptides**, v. 10, p. 797-803, 1989.

EKMEKÇIOĞLU, O.; INCI, M.; DEMIRCI, D.; TATLIŞEN, A. Effects of sildenafil citrate on ejaculation latency, detumescence time, and refractory period: placebo-controlled, double-blind, crossover laboratory setting study. **Urology**, v. 65, n. 2, p. 347-352, 2005.

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.

ERIKSEN, N. T. Production of phycocyanin-a pigment with applications in biology, biotechnology, foods and medicine. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 1, p. 1-14, 2008.

ESPOSITO, K.; CIOTOLA, M.; GIUGLIANO, F.; MAIORINO, M. I.; AUTORINO, R.; SIO, M.; GIUGLIANO, G.; NICOLETTI, G.; D'ANDREA, F.; GIUGLIANO, D. Effects of intensive lifestyle changes on erectile dysfunction in men. **The Journal of Sexual Medicine**, v. 6, n. 1, p. 243-250, 2009.

ESPOSITO, K.; GIUGLIANO, D. Lifestyle/dietary recommendations for erectile dysfunction and female sexual dysfunction. **Urologic Clinics of North America**, v. 38, n. 3, p. 293-301, 2011.

ESPOSITO, K.; GIUGLIANO, F.; CIOTOLA, M.; SIO, M.; D'ARMIENTO, M.; GIUGLIANO, D. Obesity and sexual dysfunction, male and female. **International Journal of Impotence Research**, v. 20, p. 358-365, 2008.

ESPOSITO, K.; GIUGLIANO, F.; SIO, M.; CARLEO, D.; DI PALO, C.; D'ARMIENTO, M.; GIUGLIANO, D. Dietary factors in erectile dysfunction. **International Journal of Impotence Research**, v. 18, p. 370-374, 2006.

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**, v. 291, n. 24, p. 2978-2984, 2004.

ESTADELLA, D.; OYAMA, L. M.; DÂMASO, A. R.; RIBEIRO, E. B.; NASCIMENTO, C. M. O. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. **Nutrition**, v. 20, p. 218-224, 2004.

FARMER, S. R. Brown fat and skeletal muscle: unlikely cousins? **Cell**, v. 134, n. 5, p. 726-727, 2008.

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

FAZIO, L.; BROCK, G. Erectile dysfunction: management update. **Canadian Medical Association Journal**, v. 170, n. 9, p. 1429-1437, 2004.

FDA. Viagra and increased appetite – FDA reports. <http://www.ehealthme.com/ds/viagra/increased%20appetite/#print> (acessado em 17 de março de 2017).

FELDMAN, H. A.; JOHANNES, C. B.; DERBY, C. A.; KLEINMAN, K. P.; MOHR, B. A.; ARAUJO, A. B.; MCKINLAY, J. B. Erectile dysfunction and coronary risk factors: prospective results from the Massachusetts male aging study. **Preventive Medicine**, v. 30, n. 4, p. 328-338, 2000.

FENICAL, W. Marine pharmaceuticals: Past, present and future. **Oceanography**, v. 19, n. 2, p. 110-119, 2006.

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



FENTON, P. F.; DOWLING, M. T. Studies in obesity. Nutritional obesity in mice. **Journal of Nutrition**, v. 49, p. 319-331, 1953.

FERMINO, S. L.; CLAUDINO, M. A.; TIRAPELLI, C. R.; MORGUETI, M.; TIRAPELLI, D. P. C.; BATALHÃO, M. E.; CARNIO, E. C.; QUEIROZ, R. H.; EVORA, P. R. B.; TUCCI JR., S.; COLOGNA, A.; ANTUNES, E.; MARTINS, A. C. P.; TIRAPELLI, L. F. Chronic ethanol consumption induces cavernosal smooth muscle dysfunction in rats. **Urology**, v. 74, p. 1250-1256, 2009.

FERNANDES, H. J.; PAULINO, M. F.; MARTINS, R. G. R.; VALADARES FILHO; S. C.; TORRES, R. A.; PAIVA, L. M.; MORAIS, G. F. B. K. Ganho de peso, conversão alimentar, ingestão diária de nutrientes e digestibilidade de garrotes não-castrados de três grupos genéticos em recria e terminação. **Revista Brasileira de Zootecologia**, v. 33, n. 6, p. 2403-2411, 2004.

FERNANDEZ-REAL, J. M.; VAYREDA, M.; RICHART, C.; GUTIERREZ, C.; BROCH, M.; VENDRELL, J.; RICART, W. Circulating interleukin 6 levels, blood pressure, and insulin sensitivity in apparently healthy men and women. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 86, n. 3, p. 1154-1159, 2001.

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.

FERRINI, M. G.; KOVANEZ, I.; SANCHEZ, S.; UMEH, C.; RAJFER, J.; GONZALEZ, C. N. F. Fibrosis and loss of smooth muscle in the corpora cavernosa precede corporal veno-occlusive dysfunction (CVOD) induced by experimental cavernosal nerve damage in the rat. **The Journal of Sexual Medicine**, v. 6, p. 415-428, 2009.

FILIPPI, S.; LUCONI, M.; GRANCHI, S.; NATALI, A.; TOZZI, P.; FORTI, G.; LEDDA, F.; MAGGI, M. Endothelium-dependency of yohimbine-induced corpus cavernosum relaxation. **International Journal of Impotence Research**, v. 14, n. 4, p. 295-307, 2002.

FINKEL, T.; HOLBROOK, N. J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. **Nature**, v. 408, n. 6809, p. 239-247, 2000.

FLATT, J. P. The biochemistry of energy expenditure. In: Bray GA, ed. Recent advances in obesity research. **London: Newman**, p. 211-228, 1978.

FLETCHER, G. L.; SHEARS, M. A.; KING, M. J.; DAVIES, P. L.; HEW, C. L. Evidence for antifreeze protein gene transfer in Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 45, n. 2, p. 352-357, 1988.

FLIER, J. S. Obesity wars: molecular progress confronts an expanding epidemic. **Cell**, v. 116, p. 337-350, 2004.

FLOEGEL, A.; KIM, D. O.; CHUNG, S. J.; KOO, S. I.; CHUN, O. K. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 7, p. 1043-1048, 2011.

FONSECA-ALANIZ, M. H.; TAKADA, J.; ALONSO-VALE, M. I. C.; LIMA, F. B. O tecido adiposo como centro regulador do metabolismo. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo**, v. 50, n. 2, p. 216-229, 2006.

FONSECA-ALANIZ, M. H.; TAKADA, J.; ALONSO-VALE, M. I. C.; LIMA, F. B. Adipose tissue as an endocrine organ: From theory to practice. **Journal of Pediatrics**, v. 83, p.192-203, 2007.

FÖRSTERMANN, U.; SESSA, W. C. Nitric oxide synthases: regulation and function. **European Heart Journal**, v. 33, n. 7, p. 829-837, 2011.

FOVAEUS, M.; ANDERSSON, K. E.; HEDLUND, H. Effects of some calcium channel blockers on isolated human penile erectile tissues. **The Journal of Urology**, v. 138, n. 5, p. 1267-1272, 1987.

FRAGA-SILVA, R. A.; COSTA-FRAGA, F. P.; FAYE, Y.; STURNY, M.; SANTOS, R. A.; SILVA, R. F.; STERGIOPULOS, N. An increased arginase activity is associated with corpus cavernosum impairment induced by hypercholesterolemia. **The Journal of Sexual Medicine**, v. 11, n. 5, p. 1173-1181, 2014.

FRANCIS, M. E.; KUSEK, J. W.; NYBERG, L. M.; EGGERS, P. W. The contribution of common medical conditions and drug exposures to erectile dysfunction in adult males. **The Journal of Urology**, v. 178, n. 2, p. 591-596, 2007.

FRANCIS, S. H.; TURKO, I. V.; CORBIN, J. D. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: relating structure and function. **Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology**, v. 65, p. 1-52, 2000.

FRANCISCHI, R. P. P.; PEREIRA, L. O.; FREITAS, C. S.; KLOPFER, M.; SANTOS, R. C.; VIEIRA, P.; LANCHÁ JÚNIOR, A. H. Obesidade: atualização sobre sua etiologia, morbidade e tratamento. **Revista de Nutrição**, v. 13, n. 1, p. 17-28, 2000.

FRANCO, L. D. P.; CAMPOS, J. A. D. B.; DEMONTE, A. Teor lipídico da dieta, lipídios séricos e peso corporal em ratos exercitados. **Revista de Nutrição**, v. 22, n. 3, p. 359-366, 2009.

FRAYN, K. N. Adipose tissue as a buffer for daily lipid flux. **Diabetologia**, v. 45, p. 1201-1210, 2002.

FREEMAN, M. E.; KNOBIL, E.; NEILL, J. D. The neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. In **The Physiology of Reproduction**. Raven Press: New York, p. 613-58, 1994.

FRIDOVICH, I. Superoxide radical and superoxide dismutases. **Annual Review of Biochemistry**, v. 64, n. 1, p. 97-112, 1995.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, v. 18, n. 6, p. 499-502, 1972.

FRÜHBECK, G.; GÓMEZ-AMBROSI, J.; MURUZÁBAL, F. J.; BURRELL, M. A. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. **American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism**, v. 280, p. 827-847, 2001.

FUKATA, Y.; KAIBUCHI, K.; AMANO, M. Rho-Rho-kinase pathway in smooth muscle contraction and cytoskeletal reorganization of non-muscle cells. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 22, n. 1, p. 32-39, 2001.

FULLSTON, T.; TEAGUE, E. M. C. O.; PALMER, N. O.; DEBLASIO, M. J.; MITCHELL, M.; CORBETT, M.; PRINT, C. G.; OWENS, J. A.; LANE, M. Paternal obesity initiates metabolic disturbances in two generations of mice with incomplete penetrance to the F2 generation and alters the transcriptional profile of testis and sperm microRNA content. **The FASEB Journal**, v. 27, n. 10, p. 4226-4243, 2013.

FURCHGOTT, R. F.; CHERRY, P. D.; ZAWADZKI, J. V.; JOTHIANANDAN, D. Endothelial cells as mediators of vasodilation of arteries. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 6, p. S336-S343, 1983.

FURUKAWA, S.; FUJITA, T.; SHIMABUKURO, M.; IWAKI, M.; YAMADA, Y.; NAKAJIMA, Y.; NAKAYAMA, O.; MAKISHIMA, M.; MATSUDA, M.; SHIMOMURA, I. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. **Journal of Clinical Investigation**, v. 114, n. 12, p. 1752, 2004.

GAITANAKI, C.; KONSTANTINA, S.; CHRYSA, S.; BEIS, I. Oxidative stress stimulates multiple MAPK signalling pathways and phosphorylation of the small HSP27 in the perfused amphibian heart. **Journal of Experimental Biology**, v. 206, n. 16, p. 2759-2769, 2003.

GANDAGLIA, G.; BRIGANTI, A.; JACKSON, G.; KLONER, R. A.; MONTORSI, F.; MONTORSI, P.; VLACHOPOULOS, C. A systematic review of the association between erectile dysfunction and cardiovascular disease. **European Urology**, v. 65, n. 5, p. 968-978, 2014.

GAO, Y. J.; HIROTA, S.; ZHANG, D. W.; JANSSEN, L. J.; LEE, R. M. Mechanisms of hydrogen-peroxide-induced biphasic response in rat mesenteric artery. **British Journal of Pharmacology**, v. 138, n. 6, p. 1085-1092, 2003.

GARLICK, P. J.; MCNURLAN, M. A.; BALLMER, P. E. Influence of dietary protein intake on whole-body protein turnover in humans. **Diabetes Care**, v.14, p.1189-1198, 1991.

GEARY, N. Endocrine controls of eating: CCK, leptin, and ghrelin. **Physiology & Behavior**, v. 81, p. 719-733, 2004.

GHANEM, H. M.; SALONIA, A.; MARTIN-MORALES, A. Physical examination and laboratory testing for men with ED. **The Journal of Sexual Medicine**, v. 10, n. 1, p. 108-110, 2012.

GIERA M.; LINGEMAN H.; NIESSEN W. M. A. Recent advancements in the LC- and GC-based analysis of malondialdehyde (MDA): a brief overview. **Chromatographia**, v. 75, n. 9-10, p. 433-440, 2012.

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, 2000.

GLINA, S.; COHEN, D. J.; VIEIRA, M. Diagnosis of erectile dysfunction. **Current Opinion in Psychiatry**, v. 27, n. 6, p. 394-399, 2014.

GOMES, R. M. Efeito do exercício físico moderado sobre a obesidade induzida por dieta hiperlipídica em ratos wistar. **Monografia (Licenciatura em Educação Física)**. Universidade Estadual de Maringá, Paraná, 2009.

GONÇALVES, N. B. Efeitos do ácido alfa-linolênico em modelo animal de resistência insulínica. **Dissertação (Mestrado em Clínica Médica)**. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

GONZALEZ-CADAVID, N. F.; IGNARRO, L. J.; RAJFER, J. Nitric oxide and the cyclic GMP system in the penis. **Molecular Urology**, v. 3, n. 2, p. 51-59, 1999.

GONZALEZ-CADAVID, N. F.; RAJFER, J. The pleiotropic effects of inducible nitric oxide synthase (iNOS) on the physiology and pathology of penile erection. **Current Pharmaceutical Design**, v. 11, n. 31, p. 4041-4046, 2005.

GOODPASTER, B. H.; THERRIault, R.; WATKINS, S. C.; KELLEY, D. E. Intramuscular lipid content is increased in obesity and decreased by weight loss. **Metabolism**, v. 49, n. 4, p. 467-472, 2000.

GOODWILL, A. G.; JAMES, M. E.; FRISBEE, J. C. Increased vascular thromboxane generation impairs dilation of skeletal muscle arterioles of obese Zucker rats with reduced oxygen tension. **American Journal of Physiology, Heart and Circulatory Physiology**, v. 295, n. 4, p. H1522-H1528, 2008.

GRAY, S. L.; VIDAL-PUIG, A. J. Adipose tissue expandability in the maintenance of metabolic homeostasis. **Nutrition Reviews**, v. 65, n. 1, p. S7-S12, 2007.

GREGOIRE, F. M.; SMAS, C. M.; SUL, H. S. Understanding adipocyte differentiation. **Physiological Reviews**, v. 78, n. 3, p. 783-809, 1998.

GROAT, W. C.; BOOTH, A. M. Neural control of penile erection. **The Autonomic Nervous System**, v. 3, p. 467-524, 1993.

GRUENWALD, I.; LEIBA, R.; VARDI, Y. Effect of sildenafil on middle-aged sexually active males with no erectile complaints: a randomized placebo-controlled double-blind study. **European Urology**, v. 55, n. 4, p. 969-978, 2009.

GUILLEY, C.; SAUZEAU, V.; ROLLI-DERKINDEREN, M.; GUÉRIN, P.; SAGAN, C.; PACAUD, P.; LOIRAND, G. Inhibition of RhoA/Rho kinase pathway is involved in the beneficial effect of sildenafil on pulmonary hypertension. **British Journal of Pharmacology**, v. 146, n. 7, p. 1010-1018, 2005.

GUR, S.; KADOWITZ, P. J.; SIKKA, S. C.; BIVALACQUA, T. J.; HELLSTROM, W. J. Inhibition of sympathetic neuroeffector transmission in human corpus cavernosum. **BJU International**, v. 110, n. 6, p. 856-862, 2012.

HAHN, T. M.; BREININGER, J. F.; BASKIN, D. G.; SCHWARTZ, M. W. Coexpression of AgRP and NPY in fasting-activated hypothalamic neurons. **Nature Neuroscience**, v. 1, p. 271-272, 1998.

HAJJAR, D. P.; LANDER, H. M.; PEARCE, S. F. A.; UPMACIS, R.; POMERANTZ, K. B. Nitric oxide enhances prostaglandin-H synthase-1 activity by a heme-independent mechanism: evidence implicating nitrosothiols. **Journal of the American Chemical Society**, v. 117, n. 12, p. 3340-3346, 1995.

HALL, J. E.; CARMO, J. M.; SILVA, A. A.; WANG, Z.; HALL, M. E. Obesity-induced hypertension: interaction of neurohumoral and renal mechanisms. **Hypertension Compendium**, v. 116, n. 6, p. 991-1006, 2015.

HALL, W. L.; MILLWARD, D. J.; LONG, S. J.; MORGAN, L. M. Casein and whey exert different effects on plasma amino acids profiles, gastrointestinal hormone secretion and appetite. **British Journal of Nutrition**, v. 89, n. 2, p. 239-248, 2003.

HALLIWELL, B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. **Plant Physiology**, v. 141, n. 2, p. 312-322, 2006.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radical in biology and medicine**. 3<sup>a</sup> ed. Oxford: Oxford University, p. 704-740, 2007.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. 5ª ed. Oxford University Press, USA, 2015.

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.

HARAGUCHI, F. K.; ABREU, W. C.; PAULA, H. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 4, p. 479-488, 2006.

HARDY, P.; ABRAN, D.; HOU, X.; LAHAIE, I.; PERI, K. G.; ASSELIN, P.; VARMA, D. R.; CHEMTOB, S. A major role for prostacyclin in nitric oxide-induced ocular vasorelaxation in the piglet. **Circulation Research**, v. 83, n. 7, p. 721-729, 1998.

HARIRI, N.; THIBAUT, L. High-fat diet-induced obesity in animal models. **Nutrition Research Reviews**, v. 23, p. 270-299, 2010.

HARO, A. M.; ARTACHO, R.; VIQUE, C. C. Ácido linoleico conjugado: interes actual em nutrición humana. **Medical Clinics**, v. 127, n. 13, p. 508-515, 2006.

HATZICHRISTOU, D.; ROSEN, R. C.; DEROGATIS, L. R.; LOW, W. Y.; MEULEMAN, E. J.; SADOVSKY, R.; SYMONDS, T. Recommendations for the clinical evaluation of men and women with sexual dysfunction. **The Journal of Sexual Medicine**, v. 7, n. 1, p. 337-348, 2010.

HATZIMOURATIDIS, K.; HATZICHRISTOU, D. G. A comparative review of the options for treatment of erectile dysfunction. **Drugs**, v. 65, n. 12, p. 1621-1650, 2005.

HEATON, J. M. The distribution of brown adipose tissue in the human. **Journal of Anatomy**, v. 112, p. 35, 1972.

HELLMER, J.; MARCUS, C.; SONNENFELD, T.; ARNER, P. Mechanisms for differences in lipolysis between human subcutaneous and omental fat cells. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 75, p. 15-20, 1992.

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

HENRIQUES, G. S.; MARTINO, H. S. D.; PELUZIO, M. C. G.; COSTA, N. M. B. **Nutrição Experimental: Teoria e Prática**. Rio de Janeiro: Editora Rubio, Ed. 1, p. 1-178, 2014.

HIMAYA, A.; FANTINO, M.; ANTOINE, J. M.; BRONDEL, L.; LOUISSYLVESTRE, A. Satiety power of dietary fat: a new appraisal. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.65, n.5, p.1410-1418, 1997.

HO, E.; GALOUGAHI, K. K.; LIU, C. C.; BHINDI, R.; FIGTREE, G. A. Biological markers of oxidative stress: applications to cardiovascular research and practice. **Redox Biology**, v. 1, n. 1, p. 483-491, 2013.

HOLLAND, W. L.; MILLER, R. A.; WANG, Z. V.; SUN, K.; BARTH, B. M.; BUI, H. H.; DAVIS, K. E.; BIKMAN, B. T.; HALBERG, N.; RUTKOWSKI, J. M.; WADE, M. R.; TENORIO, V. M.; KUO, M. S.; BROZINICK, J. T.; ZHANG, B. B.; BIRNBAUM, M. J.; SUMMERS, S. A.; SCHERER, P. E. Receptor-mediated activation of ceramidase activity initiates the pleiotropic actions of adiponectin. **Nature Medicine**, v. 17, n. 1, p. 55-63, 2011.

HOLMAN, B. W. B.; MALAU-ADULI, A. E. O. *Spirulina* as a livestock supplement and animal feed. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 97, n. 4, p. 615-623, 2013.

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.

HORI, M.; KARAKI, H. Regulatory mechanisms of calcium sensitization of contractile elements in smooth muscle. **Life Science**, v. 62, p. 1689-1633, 1998.

HOWARD, D. W., LEWIS, E. J., KELLER, B. J., SMITH, C. S. 2a ed. **Histological Techniques for Marine Bivalve Molluscs and Crustaceans**. p. 218, 2004.

HSIEH, C. H.; LIU, S. P.; HSU, G. L.; CHEN, H. S.; MOLODYSKY, E.; CHEN, Y. H.; YU, H. J. Advances in understanding of mammalian penile evolution, human penile anatomy and human erection physiology: clinical implications for physicians and surgeons. **International Medical Journal of Experimental and Clinical Research**, v. 18, n. 7, p. RA118, 2012.

HSIEH, G. C.; HOLLINGSWORTH, P. R.; MARTINO, B.; CHANG, R.; TERRANOVA, M. A.; O'NEILL, A. B.; LYNCH, J. J.; MORELAND, R. B.; DONNELLY-ROBERTS, D. L.; KOLASA, T.; MIKUSA, J. P.; MCVEY, J. M.; MARSH, K. C.; SULLIVAN, J. P.; BRIONI, J. D. Central mechanisms regulating penile erection in conscious rats: the dopaminergic systems related to the proerectile effect of apomorphine. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 308, p. 330-338, 2004.

HUDA, M. S. B.; WILDING, J. P. H.; PINKNEY, J. H. Appetite regulatory peptides. Gut peptides and the regulation of appetite. **Obesity Reviews**, v. 7, p.163-182, 2006.

HULL, E. M.; LORRAIN, D. S.; DU, J.; MATUSZEWICH, L.; LUMLEY, L. A.; PUTNAM, S. K.; MOSES, J. Hormone-neurotransmitter interactions in the control of sexual behavior. **Behavioural Brain Research**, v. 105, n. 1, p. 105-116, 1999.

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, 2006.

HURT, K. J.; MUSICKI, B.; PALESE, M. A.; CRONE, J. K.; BECKER, R. E.; MORIARITY, J. L.; SNYDER, S. H.; BURNETT, A. L. Akt-dependent phosphorylation of endothelial nitric-oxide synthase mediates penile erection. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 99, n. 6, p. 4061-4066, 2002.

HUSZAR, D.; LYNCH, C. A.; FAIRCHILD-HUNTRESS, V.; DUNMORE, J. H.; FANG, Q.; BERKEMEIER, L. R.; GU, K.; KESTERSON, R. A.; BOSTON, B. A.; CONE, R. D.; SMITH, F. J.; CAMPFIELD, L. A.; BURN, P.; LEE, F. Targeted disruption of the melanocortin-4 receptor results in obesity in mice. **Cell**, v. 88, p. 131-141, 1997.

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.

HYSLOP, S.; NUCCI, G. The mechanisms and significance of the coupled release of endothelium-derived relaxing factor (EDRF) and prostacyclin (PGI<sub>2</sub>) from endothelial cells. **Wiener Klinische Wochenschrift**, v. 103, n. 14, p. 422-434, 1991.

IBRAHIM, A. E.; ABDEL-DAIM, M. M. Modulating effects of *Spirulina platensis* against tilmicosin-induced cardiotoxicity in mice. **Cell Journal (Yakhteh)**, v. 17, n. 1, p. 137, 2015.

IBRAHIM, R. M.; ANEES, L. M.; EL-DEIN, E. K. Effect of *Spirulina platensis* on oxidative stress induced by gamma radiation and *H. pylori* infected rats. **International Journal of Research Studies in Science, Engineering and Technology**, v. 1, n. 7, p. 28-37, 2014.

IGNARRO, L. J.; BUGA, G. M.; WOOD, K. S.; BYRNS, R. E.; CHAUDHURI, G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 84, n. 24, p. 9265-9269, 1987.

INGLE, D. J. A simple means of producing obesity in the rat. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 72, n. 3, p. 604-605, 1949.

JABER, M.; ROBINSON, S. W.; MISSALE, C.; CARON, M. G. Dopamine receptors and brain function. **Neuropharmacology**, v. 35, n. 11, p. 1503-1519, 1996.

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



JAIN, P.; RADEMAKER, A. W.; MCVARY, K. T. Testosterone supplementation for erectile dysfunction: results of a meta-analysis. **The Journal of Urology**, v. 164, n. 2, p. 371-375, 2000.

JANG, I.; HWANG, D.; LEE, J.; CHAE, K.; KIM, Y.; KANG, T. Physiological difference between dietary obesity-susceptible and obesity resistant Sprague Dawley rats in response to moderate high fat diet. **Experimental Animals**, v. 52, p. 99-107, 2003.

JENKINS, T. G.; ASTON, K. I.; HOTALING, J. M.; SHAMSI, M. B.; SIMON, L.; CARRELL, D. T. Teratozoospermia and asthenozoospermia are associated with specific epigenetic signatures. **Andrology**, v. 4, n. 5, p. 843-849, 2016.

JENSEN, M. D.; SARR, M. G.; DUMESIC, D. A.; SOUTHORN, P. A.; LEVINE, J. A. Regional uptake of meal fatty acids in humans. **American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism**, v. 285, p. 1282-1288, 2003.

JEQUIER, E.; TAPPY, L. Regulation of body weight in humans. **Physiological Research**, v.79, p. 451-480, 1999.

JESUS RAPOSO, M. F.; MORAES, R. M. F. C; MORAES, A. M. M. B. Health applications of bioactive compounds from marine microalgae. **Life Sciences**, v. 93, p. 479-486, 2013.

JIANG, W.; XIONG, L.; YANG, B.; LI, W.; ZHANG, J.; ZHOU, Q.; WU, Q.; LI, T.; ZHANG, C.; ZHANG, M.; XIA, X. Hyperhomocysteinaemia in rats is associated with erectile dysfunction by impairing endothelial nitric oxide synthase activity. **Scientific Reports**, v. 6, p. 1-9, 2016.

JIN, L.; BURNETT, A. L. NADPH oxidase: recent evidence for its role in erectile dysfunction. **Asian Journal of Andrology**, v. 10, n. 1, p. 6-13, 2008.

JIN, L.; BURNETT, A. L. RhoA/Rho-kinase in erectile tissue: mechanisms of disease and therapeutic insights. **Clinical Science**, v. 110, n. 2, p. 153-165, 2006.

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.

JOHNSON, J. M.; BIVALACQUA, T. J.; LAGODA, G. A.; BURNETT, A. L.; MUSICKI, B. eNOS-uncoupling in age-related erectile dysfunction. **International Journal of Impotence Research**, v. 23, n. 2, p. 43, 2011.

JOYNER, M. J.; DIETZ, N. M. Nitric oxide and vasodilation in human limbs. **Journal of Applied Physiology**, v. 83, n. 6, p. 1785-1796, 1997.

JUÁREZ-OROPEZA, M. A.; MASCHER, D.; TORRES-DURÁN, P. V.; FARIAS, J. M.; PAREDES-CARBAJAL, M. C. Effects of dietary *Spirulina* on vascular reactivity. **Journal of Medicinal Food**, v. 12, n. 1, p. 15-20, 2009.

JUNG, A.; SCHILL, W. B. Male infertility. Current life style could be responsible for infertility. **Fortschritte der Medizin**, v. 142, n. 37, p. 31-33, 2000.

JUNG, J.; JO, H. W.; KWON, H.; JEONG, N. Y. Clinical neuroanatomy and neurotransmitter-mediated regulation of penile erection. **International Neurourology Journal**, v. 18, n. 2, p. 58, 2014.

JÚNIOR, J. L. M.; OLIVEIRA, F. A.; SILVA, P. C.; FURRIEL, A.; SAMPAIO, F. J. B.; GREGÓRIO, B. M. Lard and/or canola oil-rich diets induce penile morphological alterations in a rat model. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 29, p. 39-44, 2014.

KANDEEL, F. R.; KOUSSA, V. K. T; SWERDLOFF, R. S. Male sexual function and its disorders: physiology, pathophysiology, clinical investigation and treatment. **Endocrine Reviews**, v. 22, n. 3, p. 342-388, 2001.

KARADENIZ, A.; YILDIRIM, A.; SIMSEK, N.; KALKAN, Y.; CELEBI, F. *Spirulina platensis* protects against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. **Phytotherapy Research**, v. 22, n. 11, p. 1506-1510, 2008.

KARAKI, H.; MITSUI-SAITO, M.; AMANO, K.; HARADA, K.; MIYAMOTO, S.; NAKAZAWA, H.; WON, K.; SATO, K. Calcium movements, distribution, and functions in smooth muscle. **Pharmacological Reviews**, v. 49, n. 2, p.157-230, 1997.

KARAKI, H.; WEISS, G. B. Calcium release in smooth muscle. **Life Science**, v. 42, p. 111-122, 1988.

KARELIS, A. D.; ST-PIERRE, D. H.; CONUS, F.; RABASA-LHORET, R.; POEHLMAN, E. T. Metabolic and body composition factors in subgroups of obesity: what do we know? **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 89, n. 6, p. 2569-2575, 2004.

KARTHEIN, R.; DIETZ, R.; NASTAINCZYK, W.; RUF, H. H. Higher oxidation states of prostaglandin H synthase. **The FEBS Journal**, v. 171, n. 1-2, p. 313-320, 1988.

KELLY, D. A. Expansion of the tunica albuginea during penile inflation in the nine-banded armadillo (*Dasypus novemcinctus*). **Journal of Experimental Biology**, v. 202, n. 3, p. 253-265, 1999.

KENNEDY, T. A.; SMITH, C. J.; MARNETT, L. J. Investigation of the role of cysteines in catalysis by prostaglandin endoperoxide synthase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 269, n. 44, p. 27357-27364, 1994.

KIM, S. F.; HURI, D. A.; SNYDER, S. H. Inducible nitric oxide synthase binds, S-nitrosylates, and activates cyclooxygenase-2. **Science**, v. 310, n. 5756, p. 1966-1970, 2005.

KIM, S. H.; SUTHERLAND, E. R.; GELFAND, E. W. Is there a link between obesity and asthma? **Allergy, Asthma and Immunology Research**, v. 6, n. 3, p. 189-195, 2014.

KIM, S. K. **Marine nutraceuticals: prospects and perspectives**. Boca Raton: CRC Press, 2013.

KIMURA, K.; ITO, M.; AMANO, M.; CHIHARA, K.; FUKATA, Y.; NAKAFUKU, M.; YAMAMORI, B.; FENG, J.; NAKANO, T.; OKAWA, K.; IWAMATSU, A.; KAIBUCHI, K. Regulation of myosin phosphatase by Rho and Rho-associated kinase (Rho-kinase). **Science**, v. 273, p. 248-254, 1996.

KIMURA, M.; RABBANI, Z. N.; ZODDA, A. R.; YAN, H.; JACKSON, I. L.; POLASCIO, T. J.; DOMATUCCI, C. F.; MOUL, J. W.; VUJASKOVIC, Z.; KOONTZ, B. F. Role of oxidative stress in a rat model of radiation-induced erectile dysfunction. **The Journal of Sexual Medicine**, v. 9, n. 6, p. 1535-1549, 2012.

KISSEBAH, A. H.; KRAKOWER, G. R. Regional adiposity and morbidity. **Physiological Reviews**, v. 74, p. 761-811, 1994.

KITAZAWA, T.; ETO, M.; WOODSOME, T. P.; BRAUNTINGAM, D. L. Agonists trigger G-protein mediated activation of the CPI-17 inhibitor phosphoprotein of myosin light chain phosphatase to enhance vascular smooth muscle contractility. **Journal of Biological Chemistry**, v. 275, p. 9897-9900, 2000.

KITAZAWA, T.; KOBAYASHI, S.; HORIUTI, K.; SOMLYO, A. V.; SOMLYO, A. P. Receptor-coupled, permeabilized smooth muscle. Role of the phosphatidylinositol cascade, G-proteins, and modulation of the contractile response to  $Ca^{2+}$ . **Journal of Biological Chemistry**, v. 264, n. 10, p. 5339-5342, 1989.

KLINGENSPOR, M.; HERZIG, S.; PFEIFER, A. Brown fat develops a bright future. **Obesity Facts**, v. 5, n. 6, p. 890-896, 2012.

KNOT, H. T.; BRAYDEN, E. J.; NELSON, M. T. Calcium channels and potassium channels. In BÁRÁNY, M. Biochemistry of smooth muscle contraction, San Diego, **Academic Press**, p. 203-219, 1996.

KONIOR, A.; SCHRAMM, A.; CZESNIKIEWICZ-GUZIĆ, M.; GUZIĆ, T. J. NADPH oxidases in vascular pathology. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 20, n. 17, p. 2794-2814, 2014.

KONTUREK, S. J.; KONTUREK, J. W.; PAWLIK, T.; BRZOZOWKI, T. Brain-gut axis and its role in the control of food intake. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v.55, p.137-154, 2004.

KOTSIS, V.; STABOULI, S.; PAPAKATSIKA, S.; RIZOS, Z.; PARATI, G. Mechanisms of obesity-induced hypertension. **Hypertension Research**, v. 35, n. 5, p. 386-393, 2010.

KOUPPARIS, A. J.; JEREMY, J. Y.; MUZAFFAR, S.; PERSAD, R.; SHUKLA, N. Sildenafil inhibits the formation of superoxide and the expression of gp47phox NAD[P]H oxidase induced by the thromboxane A<sub>2</sub> mimetic, U46619, in corpus cavernosal smooth muscle cells. **BJU International**, v. 96, n. 3, p. 423-427, 2005.

KU, C. S.; YANG, Y.; PARK, Y.; LEE, J. Health benefits of blue-green algae: prevention of cardiovascular disease and nonalcoholic fatty liver disease. **Journal of Medicinal Food**, v. 16, n. 2, p. 103-111, 2013.

KUDDUS, M.; SINGH, P.; THOMAS, G.; AL-HAZIMI, A. Recent developments in production and biotechnological applications of C-phycoerythrin. **BioMed Research International**, v. 19, p. 1-9, 2013.

KULSHRESHTHA, A.; ZACHARIA, A. J.; JAROULIYA, U.; BHADAURIYA, P.; PRASAD, G. B.; BISEN, P. S. *Spirulina* in health care management. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 9, n. 5, p. 400-405, 2008.

KUMCU, E. K.; AYDINOGLU, F.; ASTARCI, E.; OGULENER, N. The effect of sub-chronic systemic ethanol treatment on corpus cavernosal smooth muscle contraction: the contribution of RhoA/Rho-kinase. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 389, n. 3, p. 249-258, 2016.

KUPELIAN, V.; LINK, C. L.; MCKINLAY, J. B. Association between smoking, passive smoking, and erectile dysfunction: results from the Boston Area Community Health (BACH) Survey. **European Urology**, v. 52, n. 2, p. 416-422, 2007.

KURIYAMA, H.; KITAMURA, K.; NABATA, H. Pharmacological and physiological significance of ion channels and factors that modulate them in vascular tissues. **Pharmacological Reviews**, v. 47, n. 3, p. 387-573, 1995.

KUSMINSKI, C. M.; BICKEL, P. E.; SCHERER, P. E. Targeting adipose tissue in the treatment of obesity-associated diabetes. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 15, n. 9, p. 639-660, 2016.

LAEMMEL, E.; BONNARDEL-PHU, E.; HOU, X.; SEROR, J.; VICAUT, E. Interaction between nitric oxide and prostanoids in arterioles of rat cremaster muscle in vivo. **American Journal of Physiology, Heart and Circulatory Physiology**, v. 285, n. 3, p. H1254-H1260, 2003.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v. 227, n. 5259, p. 680-685, 1970.

LAMB, D. J.; LIPSHULTZ, L. I. Male infertility: recent advances and a look towards the future. **Current Opinion in Urology**, v. 10, n. 4, p. 359-362, 2000.

LAPIDUS, L.; BENGTSSON, C.; LARSSON, B.; PENNERT, K.; RYBO, E.; SJOSTROM, L. Distribution of adipose tissue and risk of cardiovascular disease and death: a 12 year follow up of participants in the population study of women in Gothenburg, Sweden. **British Medical Journal**, v. 289, p. 1257-1261, 1984.

LARSSON, B.; SVARDSUDD, K.; WELIN, L.; WILHELMSEN, L.; BJORNTORP, P.; TIBBLIN, G. Abdominal adipose tissue distribution, obesity, and risk of cardiovascular disease and death: 13 year follow up of participants in the study of men born in 1913. **British Medical Journal**, v. 288, p. 1401-1404, 1984.

LATIMER, G. W. Official methods of analysis of AOAC International. **AOAC international**, 2012.

LE LAY, S.; KRIEF, S.; FARNIER, C.; LEFRÈRE, I.; LE LIEPVRE, X.; BAZIN, R.; FERRÉ, P.; DUGAIL, I. Cholesterol, a cell size-dependent signal that regulates glucose metabolism and gene expression in adipocytes. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 20, p. 16904-16910, 2001.

LEE, M. C.; EL-SAKKA, A. I.; GRAZIOTTIN, T. M.; HO, H. C.; LIN, C. S.; LUE, T. F. The effect of vascular endothelial growth factor on a rat model of traumatic arteriogenic erectile dysfunction. **The Journal of Urology**, v. 167, p. 761-710, 2002.

LEE, M. O. Determination of the surface area of the white rat with its application to the expression of metabolic results. **American Journal of Physiology**, v. 89, p. 24-33, 1929.

LEGAN, S. J.; KARSCH, F. J. A daily signal for the LH surge in the rat. **Endocrinology**, v. 96, n. 1, p. 57-62, 1975.

LEITOLIS, A. Ingestão excessiva de sódio causa alterações na reatividade do corpo cavernoso *in vitro* e disfunção erétil em ratos. **Dissertação (Mestrado em Farmacologia)**. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

LEONI, L. A. B. Influência do uso prolongado da sildenafil no comportamento e desempenho físico de ratos treinados. **Tese (Doutorado em Educação Física)**. Universidade São Judas Tadeu, São Paulo, 2016.

LEUNG, Y. M.; KWAN, C. Y. Dual vascular effects of leptin via endothelium: hypothesis and perspective. **China Journal of Physiology**, v. 51, n. 1, p. 1-6, 2008.

LEWIS, R. W.; FUGL-MEYER, K. S.; BOSCH, R.; FUGL-MEYER, A. R.; LAUMANN, E. O. E.; LIZZA, M. A. **Definitions, classification and epidemiology of sexual dysfunction**. Paris: Health Publications, p. 37-72, 2004.

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.

LICHTENBELT, W. D. V. M.; VANHOMMERIG, J. W.; SMULDERS, N. M.; DROSSAERTS, J. M.; KEMERINK, G. J.; BOUVY, N. D.; SCHRAUWEN, P.; TEULE, G. J. Cold-activated brown adipose tissue in healthy men. **New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 15, p. 1500-1508, 2009.

LIN, H. C.; TAYLOR, I. L. Release of peptide YY by fat in the proximal but not distal gut depends on an atropine-sensitive cholinergic pathway. **Regulatory Peptides**, v. 117, p. 73-76, 2004.

LIN, M. I.; FULTON, D.; BABBITT, R.; FLEMING, I.; BUSSE, R.; PRITCHARD, K. A.; SESSA, W. C. Phosphorylation of threonine 497 in endothelial nitric-oxide synthase coordinates the coupling of L-arginine metabolism to efficient nitric oxide production. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 45, p. 44719-44726, 2003.

LINET, O. I.; OGRINC, F. G. Efficacy and safety of intracavernosal alprostadil in men with erectile dysfunction. **New England Journal of Medicine**, v. 334, n. 14, p. 873-877, 1996.

LIU, K.; LIU, X. S.; XIAO, L.; SHANG, J.; LI, M. C.; XU, Y. J.; LIU, H. G. NADPH oxidase activation: a mechanism of erectile dysfunction in a rat model of sleep apnea. **Journal of Andrology**, v. 33, n. 6, p. 1186-1198, 2012.

LIU, Y.; SHEPHERD, E. G.; NELIN, L. D. MAPK phosphatases-regulating the immune response. **Nature Reviews Immunology**, v. 7, n. 3, p. 202-212, 2007.

LOBATO, N. S.; FILGUEIRA, F. P.; AKAMINE, E. H.; DAVEL, A. P. C.; ROSSONI, L. V.; TOSTES, R. C.; CARVALHO, M. H. C.; FORTES, Z. B. Obesity induced by neonatal treatment with monosodium glutamate impairs microvascular reactivity in adult rats: role of NO and prostanoids. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 21, n. 10, p. 808-816, 2011.

LOLMÈDE, K.; DURAND, S. F. V.; GALITZKY, J.; LAFONTAN, M.; BOULOUMIÉ, A. Effects of hypoxia on the expression of proangiogenic factors in differentiated 3T3-F442A adipocytes. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders**, v. 27, p. 1187-1193, 2003.

LUE, T. F. Erectile dysfunction. **New England Journal of Medicine**, v. 342, n. 24, p. 1802-1813, 2000.

LUE, T. F. Physiology of penile erection and pathophysiology of erectile dysfunction and priapism. **Campbell's Urology**, v. 2, p. 1155-1180, 2002.

LUGG, J.; NG, C.; RAJFER, J.; GONZALEZ-CADAVID, N. Cavernosal nerve stimulation in the rat reverses castration-induced decrease in penile NOS activity. **American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism**, v. 271, n. 2, p. E354-E361, 1996.

LUMENG, C. N.; BODZIN, J. L.; SALTIEL, A. R. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. **Journal of Clinical Investigation**, v. 117, n. 1. p. 175-184, 2007.

LUO, S.; LEI, H.; QIN, H.; XIA, Y. Molecular mechanisms of endothelial NO synthase uncoupling. **Current Pharmaceutical Design**, v. 20, n. 22, p. 3548-3553, 2014.

LUPATINI, F. Avaliação do efeito de variáveis produtivas na conversão alimentar de frangos de corte. **Dissertação (Mestrado em Zootecnia)**. Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2015.

LUTZ, T. A.; WOODS, S. C. Overview of animal models of obesity. **Current Protocols in Pharmacology**, v. 18, p. 5-61, 2012.

MACEDO, I. C. Estresse crônico associado a dieta hipercalórica em ratos Wistar: parâmetros ponderais e bioquímicos. **Mestrado (Ciências Biológicas e Fisiologia)**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

MACRINI, D. J. Obesidade e reprodução: efeitos da privação alimentar materna na prole de ratos machos. **Tese (Doutorado em Patologia Ambiental e Experimental)**. Universidade Paulista, São Paulo, 2014.

MAFFEI, M.; HALAAS, J.; RAVUSSIN, E.; PRATLEY, R. E.; LEE, G. H.; ZHANG, Y.; FEI, H.; KIM, S.; LALLONE, R.; RANGANATHAN, S. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. **Nature Medicine**, v. 1, p. 1155-1161, 1995.

MAGGI, M.; FILIPPI, S.; LEDDA, F.; MAGINI, A.; FORTI, G. Erectile dysfunction: from biochemical pharmacology to advances in medical therapy. **European Journal of Endocrinology**, v. 143, n. 2, p. 143-154, 2000.

MAIORINO, M. I.; BELLASTELLA, G.; ESPOSITO, K. Lifestyle modifications and erectile dysfunction: what can be expected? **Asian Journal of Andrology**, v. 17, n. 1, p. 5, 2015.

MAKHLOUF, G. M.; MURTHY, K. S. Signal transduction in gastrointestinal smooth muscle. **Cellular Signalling**, v. 9, n. 3, p. 269-276, 1997.

MALAFAIA, A. B.; NASSIF, P. A. N.; RIBAS, C. A. P. M. R.; ARIEDE, B. L.; SUE, K. N.; CRUZ, M. A. Indução de obesidade com sacarose em ratos. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, v. 26, p. 17-21, 2013.

MANCINA, R.; FILIPPI, S.; MARINI, M.; MORELLI, A.; VIGNOZZI, L.; SALONIA, A.; MONTORSI, F.; MONDAINI, N.; DONATI, S.; LOTTI, F.; FORTI, G.; MAGGI, M. Expression and functional activity of phosphodiesterase type 5 in human and rabbit vas deferens. **Molecular Human Reproduction**, v. 11, n. 2, p. 107-115, 2005.

MANEA, A. NADPH oxidase-derived reactive oxygen species: involvement in vascular physiology and pathology. **Cell and Tissue Research**, v. 342, n. 3, p. 325-339, 2010.

MANNA, P.; JAIN, S. K. Obesity, oxidative stress, adipose tissue dysfunction, and the associated health risks: causes and therapeutic strategies. **Metabolic Syndrome and Related Disorders**, v. 13, n. 10, p. 423-444, 2015.

MARCEL, A. K.; EKALI, L. G.; EUGENE, S.; ARNOLD, O. E.; SANDRINE, E. D.; VON DER WEID, D.; GBAGUIDI, E.; NGOGANG, J.; MBANYA, J. C. The effect of *Spirulina platensis* versus soybean on insulin resistance in HIV-infected patients: a randomized pilot study. **Nutrients**, v. 3, n. 7, p. 712-724, 2011.

MARLES, R. J.; BARRETT, M. L.; BARNES, J.; CHAVEZ, M. L.; GARDINER, P.; KO, R.; MAHADY, G. B.; LOW DOG, T.; SARMA, N. D.; GIANCASPRO, G. I.; SHARAF, M.; GRIFFITHS, J. United States pharmacopeia safety evaluation of *Spirulina*. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. v. 15, n. 7, p. 593-604, 2011.

MARIN, P.; ANDERSSON, B.; OTTOSSON, M.; OLBE, L.; CHOWDHURY, B.; KVIST, H.; HOLM, G.; SJOSTROM, L.; BJORNTORP, P. The morphology and metabolism of intraabdominal adipose tissue in men. **Metabolism**, v. 41, p. 1242-1248, 1992.

MARLISS, E. Endocrinology, metabolism and nutrition: obesity. Disponível em: [mmiweb.mmi.mcgill.ca/Dev/Unit4/Marlistt](http://mmiweb.mmi.mcgill.ca/Dev/Unit4/Marlistt). Acesso em 03/05/2017.

MARNETT, L. J.; ROWLINSON, S. W.; GOODWIN, D. C.; KALGUTKAR, A. S.; LANZO, C. A. Arachidonic acid oxygenation by COX-1 and COX-2 Mechanisms of catalysis and inhibition. **Journal of Biological Chemistry**, v. 274, n. 33, p. 22903-22906, 1999.

MARQUES, C.; MEIRELES, M.; NORBERTO, S.; LEITE, J.; FREITAS, J.; PESTANA, D.; FARIA, A.; CALHAU, C. High-fat diet-induced obesity rat model: a comparison between Wistar and Sprague-Dawley Rat. **Adipocyte**, v. 5, n. 1, p. 11-21, 2016.

MARTÍNEZ, A. C.; PRIETO, D.; HERNÁNDEZ, M.; RIVERA, L.; RECIO, P.; GARCÍA-SACRISTÁN, A.; BENEDITO, S. Endothelial mechanisms underlying responses to acetylcholine in the horse deep dorsal penile vein. **European Journal of Pharmacology**, v. 515, n. 1, p. 150-159, 2005.

MARTINS, A.; VIEIRA, H.; GASPAR, H.; SANTOS, S. Marketed marine natural products in the pharmaceutical and cosmeceutical industries: tips for success. **Marine Drugs**, v. 12, n. 2, p. 1066-1101, 2014.

MAS, M.; ESCRIG, A.; GONZALEZ-MORA, J. L. In vivo electrochemical measurement of nitric oxide in corpus cavernosum penis. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 119, n. 2, p. 143-150, 2002.



MASAGO, F. Avaliação preliminar do efeito da *Physalis angulata* L. sobre a obesidade induzida por dieta hipercalórica. **Monografia (Bacharel em Ciências Biológicas)**. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, São Paulo, 2011.

MASUZAKI, H.; OGAWA, Y.; SAGAWA, N.; HOSODA, K.; MATSUMOTO, T.; MISE, H.; NISHIMURA, H.; YOSHIMASA, Y.; TANAKA, I.; MORI, T.; NAKAO, K. Nonadipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. **Nature Medicine**, v. 3, p. 1029-1033, 1997.

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.

MATSUMOTO, T.; KAKAMI, M.; NOGUCHI, E.; KOBAYASHI, T.; KAMATA, K. Imbalance between endothelium-derived relaxing and contracting factors in mesenteric arteries from aged OLETF rats, a model of Type 2 diabetes. **American Journal of Physiology, Heart and Circulatory Physiology**, v. 293, n. 3, p. H1480-H1490, 2007.

MATSUZAWA-NAGATA, N.; TAKAMURA, T.; ANDO, H.; NAKAMURA, S.; KURITA, S.; MISU, H.; OTA, T.; YOKOYAMA, M.; HONDA, M.; MIYAMOTO, K. I.; KANEKO, S. Increased oxidative stress precedes the onset of high-fat diet-induced insulin resistance and obesity. **Metabolism**, v. 57, n. 8, p. 1071-1077, 2008.

MATTSON, M. P. Perspective: does brown fat protect against diseases of aging? **Ageing Research Reviews**, v. 9, n. 1, p. 69-76, 2010.

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.

MAURIEGE, P.; GALITZKY, J.; BERLAN, M.; LAFONTAN, M. Heterogeneous distribution of beta and alpha-2 adrenoceptor binding sites in human fat cells from various fat deposits: functional consequences. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 17, p. 156-165, 1987.

MAYER, A. M.; GLASER, K. B.; CUEVAS, C.; JACOBS, R. S.; KEM, W.; LITTLE, R. D.; MCINTOSH, J. M.; NEWMAN, D. J.; POTTS, B. C.; SHUSTER, D. E. The odyssey of marine pharmaceuticals: a current pipeline perspective. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 31, n. 6, p. 255-265, 2010.

MAZO, V. K.; GMOSHINSKII, I. V.; ZILOVA, I. S. Microalgae *Spirulina* in human nutrition. **Voprosy Pitaniia**, v. 73, n. 1, p. 45-53, 2004.

MAZOKOPAKIS, E. E.; STARAKIS, I. K.; PAPADOMANOLAKI, M. G.; MAVROEIDI, N. G.; GANOTAKIS, E. S. The hypolipidaemic effects of *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) supplementation in a Cretan population: a prospective

study. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 3, p. 432-437, 2014.

MAZZOLA, D.; FORNARI, F.; VIGANO, G.; ORO, T.; COSTA, J. A. V.; BERTOLIN, T. E. *Spirulina platensis* enhances the beneficial effect of exercise on oxidative stress and the lipid profile in rats. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 58, n. 6, p. 961-969, 2015.

MCCABE, M. P.; ALTHOF, S. E. A systematic review of the psychosocial outcomes associated with erectile dysfunction: Does the impact of erectile dysfunction extend beyond a man's inability to have sex?. **The Journal of Sexual Medicine**, v. 11, n. 2, p. 347-363, 2014.

MCCARTY, M. F. Clinical potential of *Spirulina* as a source of phycocyanobilin. **Journal of Medicinal Food**, v. 10, n. 4, p. 566-570, 2007.

MCHALE, N.; HOLLYWOOD, M.; SERGEANT, G.; THORNBURY, K. Origin of spontaneous rhythmicity in smooth muscle. **The Journal of Physiology**, v. 570, n. 1, p. 23-28, 2006.

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.

MCPHERSON, N. O.; FULLSTON, T.; BAKOS, H. W.; SETCHELL, B. P.; LANE, M. Obese father's metabolic state, adiposity, and reproductive capacity indicate son's reproductive health. **Fertility and Sterility**, v. 101, n. 3, p. 865-873, 2014.

MEGUID, M. M.; RAMOS, E.; SUZUKI, S.; XU, Y.; ZACHARIAH, G. M.; UNDURTI, N. D.; HUGHES, K. A. A. S.; QUINN, R. D. V. M.; CHEN, C.; MARX, W.; CUNNINGHAM, P. R. G. A surgical rat model of human Roux-en-Y gastric bypass. **Journal of Gastrointestinal Surgery**, v. 8, n. 5, p. 621-630, 2004.

MEIS, L.; ARRUDA, A. P.; COSTA, R. M.; BENCHIMOL, M. Identification of a Ca<sup>2+</sup>-ATPase in brown adipose tissue mitochondria regulation of thermogenesis by ATP and Ca<sup>2+</sup>. **Journal of Biological Chemistry**, v. 281, n. 24, p. 16384-16390, 2006.

MELDRUM, D. R.; MORRIS, M. A.; GAMBONE, J. C. Obesity pandemic: causes, consequences, and solutions-but do we have the will? **Fertility and Sterility**, v. 107, n. 4, p. 833-839, 2017.

MELLER, S. M.; STILP, E.; WALKER, C. N.; MENA-HURTADO, C. The link between vasculogenic erectile dysfunction, coronary artery disease, and peripheral artery disease: role of metabolic factors and endovascular therapy. **The Journal of Invasive Cardiology**, v. 25, n. 6, p. 313-319, 2013.

MELZACKA, M.; WISZNIOWSKA, G.; DANIEL, W.; VETULANI, J. Behavioral effects and cerebral pharmacokinetics of apomorphine in the rat: dependence

upon the route of administration. **Polish Journal of Pharmacology and Pharmacy**, v. 31, p. 309-317, 1979.

MENESES, B. S.; AUGUSTO, M. M. M. Ácido linoleico conjugado. **Vetor**, v. 24, n. 2, p. 14-23, 2014.

MENUCCI, M; BURMAN, K. D. Endocrine changes in obesity. **Endotext**, v. 1, p. 1-36, 2013.

MERCER, J. G.; ARCHER, Z. A. Putting the diet back into diet-induced obesity: diet-induced hypothalamic gene expression. **European Journal of Pharmacology**, v. 585, n. 1, p. 31-37, 2008.

MERCHENTHALER, I.; LANE, M.; SHUGHRUE, P. Distribution of prepro-glucagon and glucagonlike peptide-1 receptor messenger RNAs in the rat central nervous system. **Journal of Comparative Neurology**, v. 403, p. 261-280, 1999.

MICHALAKIS, K.; MINTZIORI, G.; KAPRARA, A.; TARLATZIS, B. C.; GOULIS, D. G. The complex interaction between obesity, metabolic syndrome and reproductive axis: a narrative review. **Metabolism**, v. 62, n. 4, p. 457-478, 2013.

MIKKELSEN, P. B.; TOUBRO, S.; ASTRUP, A. Effect of fat-reduced on 24-h energy expenditure: comparisons between animal protein, vegetable protein and carbohydrate. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 72, p. 1135-1141, 2000.

MILLS, T. M.; CHITALEY, K.; LEWIS, R. W. Vasoconstrictors in erectile physiology. **International Journal of Impotence Research**, v. 13, n. 6, 2001.

MILLS, T. M.; CHITALEY, K.; WINGARD, C. J.; LEWIS, R. W.; WEBB, R. C. Effect of Rho-kinase inhibition on vasoconstriction in the penile circulation. **Journal of Applied Physiology**, v. 91, n. 3, p. 1269-1273, 2001.

MILLS, T. M.; LEWIS, R. W.; STOPPER, V. S. Androgenic maintenance of inflow and veno-occlusion during erection in the rat. **Biology of Reproduction**, v. 59, n. 6, p. 1413-1418, 1998.

MITSCHE, M.; HOFFMANN, L.; GNAD, T.; SCHOLZ, D.; KRUITHOFF, K.; MAYER, P.; HAAS, B.; SASSMANN, A.; PFEIFER, A.; KILIC, A. Increased cGMP promotes healthy expansion and browning of white adipose tissue. **The FASEB Journal**, v. 27, p. 1-10, 2013.

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.

MOCZ, G. Fluorescent proteins and their use in marine biosciences, biotechnology, and proteomics. **Marine Biotechnology**, v. 9, n. 3, p. 305-328, 2007.

MOHANAN, S.; TAPP, H.; MCWILLIAMS, A.; DUBLIN, M. Obesity and asthma: pathophysiology and implications for diagnosis and management in primary care. **Experimental Biology and Medicine**, v. 239, n. 11, p. 1531-1540, 2014.

MOLDERINGS, G. J.; VAN AHLEN, H.; GOTHERT, M.; PORST, H. Modulation of noradrenaline release in human corpus cavernosum by presynaptic prostaglandin receptors. **International Journal of Impotence Research**, v. 4, p. 19-25, 1992.

MOLINSKI, T. F.; DALISAY, D. S.; LIEVENS, S. L.; SALUDES, J. P. Drug development from marine natural products. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 8, n. 1, p. 69, 2009.

MOORE, B. J. The cafeteria diet-an inappropriate tool for studies of thermogenesis. **The Journal of Nutrition**, v. 117, n. 2, p. 227-231, 1987.

MORAIS, M. G.; MIRANDA, M. Z.; COSTA, J. A. V. Biscoitos de chocolate enriquecidos com *Spirulina platensis*: Características físicoquímicas, sensoriais e digestibilidade. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 17, n. 3, p. 323-328, 2009.

MOREIRA, E. D.; LBO, C. F. L.; DIAMENT, A.; NICOLOSI, A.; GLASSER, D. B. Incidence of erectile dysfunction in men 40 to 69 years old: results from a population-based cohort study in Brazil. **Urology**, v. 61, n. 2, p. 431-436, 2003.

MORELAND, R. B.; KIM, N.; NEHRA, A.; GOLDSTEIN, I.; TRAISH, A. Functional prostaglandin E (EP) receptors in human penile corpus cavernosum. **International Journal of Impotence Research**, v. 15, n. 5, p. 362-368, 2003.

MORGANROTH, J.; ILSON, B. E.; SHADDINGER, B. C.; DABIRI, G. A.; PATEL, B. R.; BOYLE, D. A.; SETHURAMAN, V.; MONTAGUE, T. H. Evaluation of vardenafil and sildenafil on cardiac repolarization. **The American Journal of Cardiology**, v. 93, n. 11, p. 1378-1383, 2004.

MORROW, J. D. Is oxidant stress a connection between obesity and atherosclerosis? **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 23, p. 368-370, 2003.

MULHALL, J.; TELOKEN, P.; BROCK, G.; KIM, E. Obesity, dyslipidemias and erectile dysfunction: a report of a subcommittee of the Sexual Medicine Society of North America. **The Journal of Sexual Medicine**, v. 3, n. 5, p. 778-786, 2006.

MUNDINGER, T. O.; CUMMINGS, D. E.; TABORSKY JR, G. J. Direct stimulation of ghrelin secretion by sympathetic nerves. **Endocrinology**, v. 147, n. 6, p. 2893-2901, 2006.

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.

NAGAMINE, I.; SUNAGAWA, K.; KURIWAKI, J.; SHINJO, A. Changes in single unit activity in the lateral hypothalamic area of goats during feeding. **Journal of Animal Science**, v. 81, n. 2, p. 529-536, 2003.

NAGAOKA, S.; SHIMIZU, K.; KANEKO, H.; SHIBAYAMA, F.; MORIKAWA, K.; KANAMARU, Y.; OTSUKA, A.; HIRASHI, T.; KATO, T. A novel protein cphycocyanin plays a crucial role in the hypocholesterolemic action of *Spirulina platensis* concentrates in rats. **Journal of Nutrition**, v.135, p. 2425-2430, 2005.

NAIR, A. B.; JACOB, S. A simple practice guide for dose conversion between animals and human. **Journal of Basic and Clinical Pharmacy**, v. 7, n. 2, p. 27-31, 2016.

NAM, S. Y. Obesity-related digestive diseases and their pathophysiology. **Gut and Liver**, v. 11, n. 3, p. 323-334, 2017.

NANGLE, M. R.; COTTER, M. A.; CAMERON, N. E. Effects of the peroxyntirite decomposition catalyst, FeTMPyP, on function of corpus cavernosum from diabetic mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 502, n. 1, p. 143-148, 2004.

NASCIMENTO, A. F.; SUGIZAKI, M. M.; LEOPOLDO, A. S.; LIMA-LEOPOLDO, A. P.; LUVIZOTTO, R. A. M.; NOGUEIRA, C. R.; CICOGNA, A. C. A hypercaloric pellet-diet cycle induces obesity and co-morbidities in Wistar rats. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 52, p. 968-974, 2008.

NAVES, A.; PASCHOAL, V. Regulação funcional da obesidade. **Conscientia e Saúde**, v.6, n.1, p.189-199, 2007.

NEEL, J. V. Diabetes mellitus: a "thrifty" genotype rendered detrimental by "progress"? **American Journal of Human Genetics**, v. 14, n. 4, p. 353-363, 1962.

NEELS, J. G.; OLEFSKY, J. M. Inflamed fat: what starts the fire? **Journal of Clinical Investigation**, v. 116, n. 1, p. 33-35, 2006.

NEUBIG, R. R.; SPEDDING, M.; KENAKIN, T.; CHRISTOPOULOS, A. International union of pharmacology committee on receptor nomenclature and drug classification. XXXVIII. Update on terms and symbols in quantitative pharmacology. **Pharmacological Reviews**, v. 55, n. 4, p. 597-606, 2003.

NEVES, N. C. V. Manipulação do eixo "ECA2/angiotensina-(1-7)/receptor MAS" no tratamento da disfunção erétil de ratos hipertensos e diabéticos. **Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)**. Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2011.

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, 2005.

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, 2003.

NIH. National Institutes of Health. Consensus development conference statement. Impotence. **International Journal of Impotence Research**, v. 5, p. 181-284, 1993.

NILSSON, C.; RAUN, K.; YAN, F. F.; LARSEN, M. O.; TANG-CHRISTENSEN, M. Laboratory animals as surrogate models of human obesity. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 33, n. 2, p. 173-181, 2012.

NOVELLI, E. L. B.; DINIZ, Y. S.; GALHARDI, C. M.; EBAID, G. M. X.; RODRIGUES, H. G.; MANI, F.; FERNANDES, A.; CIGOGNA, A. C.; NOVELLI FILHO, J. L. V. B. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. **Laboratory Animals**, v. 41, p. 111-119, 2007.

NUNES, K. P.; TOQUE, H. A.; CALDWELL, R. B.; CALDWELL, R. W.; WEBB, R. C. Extracellular signal-regulated kinase (ERK) inhibition decreases arginase activity and improves corpora cavernosal relaxation in streptozotocin (STZ)-induced diabetic mice. **The Journal of Sexual Medicine**, v. 8, n. 12, p. 3335-3344, 2011.

NUNES, K. P.; WEBB, R. C. Mechanisms in erectile function and dysfunction: an overview. In: **Erectile Dysfunction-Disease-Associated Mechanisms and Novel Insights into Therapy**. InTech, 2012.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxidation in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, p. 351-358, 1979.

OHLSON, L. O.; LARSSON, B.; SVARDSUDD, K.; WELIN, L.; ERIKSSON, H.; WILHELMSSEN, L.; BJORNTORP, P.; TIBBLIN, G. The influence of body fat distribution on the incidence of diabetes mellitus. 13.5 years of follow-up of the participants in the study of men born in 1913. **Diabetes**, v. 34, p. 1055-1058, 1985.

OKAFOR, O. Y.; ERUKAINURE, O. L.; AJIBOYE, J. A.; ADEJOBI, R. O.; OWOLABI, F. O.; KOSOKO, S. B. Modulatory effect of pineapple peel extract on lipid peroxidation, catalase activity and hepatic biomarker levels in blood plasma of alcohol-induced oxidative stressed rats. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 1, n. 1, p. 12-14, 2011.

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 Brazillian Congress of Pharmacology and Experimental Therapeutics and The 21st Latin American Congress of Pharmacology (SBFTE), Foz do Iguacu, 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 ingesta de frutose. **Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde)**. Universidade São Francisco, Bragança Paulista, São Paulo 2013.

OLLMANN, M. M.; WILSON, B. D.; YANG, Y. K.; KERNS, J. A.; CHEN, Y.; ANTZ, I.; BARSH, G. S. Antagonism of central melanocortin receptors in vitro and in vivo by agouti-related protein. **Science**, v. 278, p. 135-138, 1997.

OMS. Organização Mundial de Saúde. **Global Health Observatory Data Repository - Obesity**. 2016.

OMS. Organização Mundial de Saúde. **Health Topics - Obesity**. 2017a.

OMS. Organização Mundial de Saúde. **Library of Evidence for Nutrition Actions (eLENA)**. 2017b.

ONU. Organização das Nações Unidas. **Outcomes on food**. 2017.

PAJVANI, U. B.; HAWKINS, M.; COMBS, T. P.; RAJALA, M. W.; DOEBBER, T.; BERGER, J. P.; WAGNER, J. A.; WU, M.; KNOPPS, A.; XIANG, A. H.; UTZSCHNEIDER, K. M.; KAHN, S. E.; OLEFSKY, J. M.; BUCHANAN, T. A.; SCHERER, P. E. Complex distribution, not absolute amount of adiponectin, correlates with thiazolidinedione-mediated improvement in insulin sensitivity. **Journal of Biological Chemistry**, v. 279, n. 13, p. 12152-12162, 2004.

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. Assessment of the antibacterial activity of microalgae *Spirulina platensis*. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 30, n. 3, p. 297-301, 2009.

PATSOURIS, D.; LI, P. P.; THAPAR, D.; CHAPMAN, J.; OLEFSKY, J. M.; NEELS, J. G. Ablation of CD11c-positive cells normalizes insulin sensitivity in obese insulin resistant animals. **Cell Metabolism**, v. 8, n. 4, p. 301-309, 2008.

PEIXOTO, E. B.; PESSOA, B. S.; BISKWAS, S. K.; FARIA, J. B. L. Antioxidant SOD mimetic prevents NADPH oxidase-induced oxidative stress and renal damage in the early stage of experimental diabetes and hypertension. **American Journal of Nephrology**, v. 29, p. 309-318, 2009.

PEREIRA, L. O.; FRANCISCHI, R. P.; LANCHA JR, A. H. Obesidade: hábitos nutricionais, sedentarismo e resistência à insulina. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 47, p. 111-127, 2003.

PEREIRA, P. C. Efeitos da obesidade induzida por dieta sobre a resposta vascular adaptativa ao estresse agudo em ratos. **Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas)**. Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho, São Paulo, 2011.

PERIMENIS, P.; KONSTANTINOPOULOS, A.; PERIMENI, P. P.; GYFTOPOULOS, K.; KARTSANIS, G.; LIATSIKOS, E.; ATHANASOPOULOS, A. Long-term treatment with intracavernosal injections in diabetic men with erectile dysfunction. **Asian Journal of Andrology**, v. 8, n. 2, p. 219-224, 2006.

PERK, H.; ARMAGAN, A.; NAZIROĞLU, M.; SOYUPEK, S.; HOSCAN, M. B.; SÜTCÜ, R.; OZORAK, A.; DELIBAS, N. Sildenafil citrate as a phosphodiesterase inhibitor has an antioxidant effect in the blood of men. **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**, v. 33, n. 6, p. 635-640, 2008.

PHAM, T. X.; PARK, Y. K.; LEE, J. Y. Anti-Inflammatory effects of *Spirulina platensis* extract via the modulation of histone deacetylases. **Nutrients**, v. 8, p. 381-393, 2016.

PHANG, S. M.; MIAH, M. S.; YEOH, B. G.; HASHIM, M. A. *Spirulina* cultivation in digested sago starch factory wastewater. **Journal of Applied Phycology**, v. 12, n. 3, p. 395-400, 2000.

PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **Journal Nature Products**, v. 63, p. 1035-1042, 2000.

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.

PLUM, L.; BELGARDT, B. F.; BRUNING, J. C. Central insulin action in energy and glucose homeostasis. **Journal of Clinical Investigation**, v. 116, p. 1761-1766, 2006.



POLSKY, J. Y.; ARONSON, K. J.; HEATON, J. P.; ADAMS, M. A. Smoking and other lifestyle factors in relation to erectile dysfunction. **BJU International**, v. 96, n. 9, p. 1355-1359, 2005.

PORRINI, M.; SANTANGELO, A.; CROVETTI, R.; RISO, P.; TESTOLIN, G.; BLUNDELL, J. E. Weight, protein, fat and timing of preloads affect food intake. **Physiology Behavior**, v. 62, p. 563-570, 1997.

PORST, H. The rationale for prostaglandin E1 in erectile failure: a survey of worldwide experience. **The Journal of Urology**, v. 155, n. 3, p. 802-815, 1996.

POWLEY, T. L.; PHILLIPS, R. J. Gastric satiation is volumetric, intestinal satiation is nutritive. **Physiology & Behavior**, v. 82, p. 69-74, 2004.

PRENTICE, A. M.; RAYCO-SOLON, P.; MOORE, S. E. Insights from the developing world: thrifty genotypes and thrifty phenotypes. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 64, n. 2, p. 153-161, 2005.

PRIETO, D. Physiological regulation of penile arteries and veins. **International Journal of Impotence Research**, v. 20, n. 1, p. 17, 2008.

PRIETO, D.; RIVERA, L.; RECIO, P.; RUBIO, J. L. R.; HERNÁNDEZ, M.; GARCÍA-SACRISTÁN, A. Role of nitric oxide in the relaxation elicited by sildenafil in penile resistance arteries. **The Journal of Urology**, v. 175, n. 3, p. 1164-1170, 2006.

PRIETO, D.; SIMONSEN, U.; HERNÁNDEZ, M.; GARCÍA-SACRISTÁN, A. Contribution of K<sup>+</sup> channels and ouabain-sensitive mechanisms to the endothelium-dependent relaxations of horse penile small arteries. **British Journal of Pharmacology**, v. 123, n. 8, p. 1609-1620, 1998.

PRIVIERO, F. B.; TOQUE, H. A.; NUNES, K. P.; PRIOLLI, D. G.; TEIXEIRA, C. E.; WEBB, R. C. Impaired corpus cavernosum relaxation is accompanied by increased oxidative stress and up-regulation of the rho-kinase pathway in diabetic (Db/Db) Mice. **PloS One**, v. 11, n. 5, p. e0156030, 2016.

PUROHIT, R. C.; BECKETT, S. D. Penile pressures and muscle activity associated with erection and ejaculation in the dog. **American Journal of Physiology-Legacy Content**, v. 231, n. 5, p. 1343-1348, 1976.

RADI, R.; BECKMAN, J. S.; BUSH, K. M.; FREEMAN, B. A. Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation: the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 288, n. 2, p. 481-487, 1991.

RADMANN, E. M.; COSTA, J. A. V. Conteúdo lipídico e composição de ácidos graxos de microalgas expostas aos gases CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub> e NO. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1609-1612, 2009.

RAMPIN, O.; JEROME, N.; SUAUDEAU, C. Proerectile effects of apomorphine in mice. **Life Sciences**, v. 72, p. 2329-2336, 2003.

RASMUSSEN, H. H.; HAMILTON, E. J.; LIU, C. C.; FIGTREE, G. A. Reversible oxidative modification: implications for cardiovascular physiology and pathophysiology. **Trends in Cardiovascular Medicine**, v. 20, n. 3, p. 85-90, 2010.

RAVAGNANI, F. C. P.; RAVAGNANI, C. F. C.; NETO, J. A. B.; VOLTARELLI, F. A.; ZAVALA, A. A. Z.; HABITANTE, C. A.; INOUE, C. M. Efeito de dietas hiperlipídicas com extrato de baru e chocolate sobre a área de adipócitos de ratos submetidos ao exercício físico. **Sociedade Brasileira de Medicina do Exercício e do Esporte**, v. 18, n. 3, p. 190-194, 2012.

RAVUSSIN, E.; SMITH, S. R. Increased fat intake, impaired fat oxidation, and failure of fat cell proliferation result in ectopic fat storage, insulin resistance, and type 2 diabetes mellitus. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 967, p. 363-378, 2002.

RAYBOULD, H. E.; GLATZLE, J.; FREEMAN, S. L.; WHITED, K.; DARCEL, N.; LIOU, A.; BOHAN, D. Detection of macronutrients in the intestinal wall. **Autonomic Neuroscience**, v. 125, p. 28-33, 2006.

REES, R. W.; RALPH, D. J.; ROYLE, M.; MONCADA, S.; CELLEK, S. Y-27632, an inhibitor of Rho-kinase, antagonizes noradrenergic contractions in the rabbit and human penile corpus cavernosum. **British Journal of Pharmacology**, v. 133, n. 4, p. 455-458, 2001.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY JR, G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **Journal of Nutrition**, v. 123, n. 11, p. 1939-1951, 1993.

REHFELD, J. F. A centenary of gastrointestinal endocrinology. **Hormone and Metabolic Research**, v. 36, p. 735-741, 2004.

REMBOLD, C. M. Electromechanical and pharmacomechanical coupling. In: Bárány; M. **Biochemistry of Smooth Contraction**. San Diego, Academic Press, p. 227-239, 1996.

REMBOLD, C. M. Regulation of contraction and relaxation in arterial smooth muscle. **Hypertension**, v. 20, n. 2, p. 129-137, 1992.

RICCIONI, G.; D'ORAZIO, N.; FRANCESCHELLI, S.; SPERANZA, L. Marine carotenoids and cardiovascular risk markers. **Marine Drugs**, v. 9, p. 1166-1175, 2011.

RITZEL, R.; ORSKOV, C.; HOLST, J. J.; NAUCK, M. A. Pharmacokinetic, insulinotropic, and glucagonostatic properties of GLP-1 [7-36 amide] after

subcutaneous injection in healthy volunteers. Dose-response relationships. **Diabetologia**, v. 38, p. 720-725, 1995.

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.

ROSEBERRY, A. G.; LIU, H.; JACKSON, A. C.; CAI, X.; FRIEDMAN, J. M. Neuropeptide Y-mediated inhibition of proopiomelanocortin neurons in the arcuate nucleus shows enhanced desensitization in ob/ob mice. **Neuron**, v. 41, p. 711-22, 2004.

ROSEN, E. D.; SPIEGELMAN, B. M. What we talk about when we talk about fat. **Cell**, v. 156, n. 1, p. 20-44, 2014.

ROSEN, R. C.; CAPPELLERI, J. C.; GENDRANO, N. 3rd. The International Index of Erectile Function (IIEF): a state-of-the-science review. **International Journal of Impotence Research**, v. 14, n. 4, p. 226, 2002.

ROSEN, R. C.; CAPPELLERI, J. C.; SMITH, M. D.; LIPSKY, J.; PENA, B. M. Development and evaluation of an abridged, 5-item version of the International Index of Erectile Function (IIEF-5) as a diagnostic tool for erectile dysfunction. **International Journal of Impotence Research**, v. 11, n. 6, p. 319-326, 1999.

ROSENWALD, M.; PERDIKARI, A.; RÜLICHE, T.; WOLFRUM, C. Bi-directional interconversion of brite and white adipocytes. **Nature Cell Biology**, v. 15, n. 6, p. 659-667, 2013.

ROSINI, T. C.; SILVA, A. S. R.; MORAES, C. Obesidade induzida por consumo de dieta: modelo em roedores para o estudo dos distúrbios relacionados com a obesidade. **Revista de Associação Médica Brasileira**, v. 58, n. 3, p. 383-387, 2012.

ROTHWELL, N. J.; STOCK, M. J. The cafeteria diet as a tool for studies of thermogenesis. **The Journal of Nutrition**, v. 118, n. 8, p. 925-928, 1988.

ROWE, P. J. **WHO manual for the standardized investigation, diagnosis, and management of the infertile male**. Cambridge, UK: Cambridge University Press; 2000.

RUSSELL, S.; NEHRA, A. The physiology of erectile dysfunction. **Herz**, v. 28, n. 4, p. 277-283, 2003.

SACHS, B. D.; MEISEL, R. L. The physiology of male sexual behavior. **The Physiology of Reproduction**, v. 2, p. 1393-1485, 1988.

SAELY, C. H.; GEIGER, K.; DREXEL, H. Brown versus white adipose tissue: a mini-review. **Gerontology**, v. 58, n. 1, p. 15-23, 2010.

SALAS-HUETOS, A.; BULLÓ, M.; SALAS-SALVADÓ, J. Dietary patterns, foods and nutrients in male fertility parameters and fecundability: a systematic review of observational studies. **Human Reproduction Update**, v. 1, p. 1-19, 2017.

SALAZAR, M.; MARTINEZ, E.; MADRIGAL, E.; RUIZ, L. E.; CHAMORRO, G. A. Subchronic toxicity study in mice fed *Spirulina maxima*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 62, n. 3, p. 235-241, 1998.

SAMPAIO, R. C.; MORAES, C. Estresse oxidativo e envelhecimento: papel do exercício físico motriz. **Revista de Educação Física**, v. 16, p. 506-515, 2010.

SAMUELS, R.; MANI, U. V.; NAYAK, U. S. Hypocholesterolemic effect of *Spirulina* in patients with hyperlipidemic nephrotic syndrome. **Journal of Medicinal Food**, v. 5, p. 91-96, 2002.

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.

SANTOS, C. F. Agonistas PPAR (Rosiglitazona, Bezafibrato e Fenofibrato) e alterações bioquímicas e estruturais em órgãos-alvo de camundongos C57BL/6 alimentados com dieta hiperlipídica rica em sacarose. **Tese (Doutorado em Biologia Humana e Experimental)**. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

SAVINI, I.; CATANI, M. V.; EVANGELISTA, D.; GASPERI, V.; AVIGLIANO, L. Obesity-associated oxidative stress: strategies finalized to improve redox state. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 5, p. 10497-10538, 2013.

SCHAEFFER, C.; VANDROUX, D.; THOMASSIN, L.; ATHIAS, P.; ROCHETTE, L.; CONNAT, J. L. Calcitonin gene-related peptide partly protects cultured smooth muscle cells from apoptosis induced by an oxidative stress via activation of ERK1/2 MAPK. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research**, v. 1643, n. 1, p. 65-73, 2003.

SCHEMMEL, R.; MICKELSEN, O.; MOTAWI, K. Conversion of dietary to body energy in rats as affected by strain, sex and ration. **The Journal of Nutrition**, v. 102, n. 9, p. 1187-1197, 1972.

SCHERER, P. E. Adipose tissue: from lipid storage compartment to endocrine organ. **Diabetes**, v. 55, p. 1537-1545, 2006.

SCHIRRA, J.; GOKE, B. The physiological role of GLP-1 in human: incretin, ileal brake or more? **Regulatory Peptides**, v. 128, p. 109-115, 2005.

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.

SCHUMACHER, M.; KELKEL, M.; DICATO, M.; DIEDERICH, M. Gold from the sea: marine compounds as inhibitors of the hallmarks of cancer. **Biotechnology Advances**, v. 29, n. 5, p. 531-547, 2011.

SCHWARTZ, M. W.; WOODS, S. C.; PORTE, D.; SEELEY, R. J.; BASKIN, D. Central nervous system control of food intake. **Nature**, v. 404, n. 6778, p. 661-671, 2000.

SCLAFANI, A.; SPRINGER, D. Dietary obesity in adult rats: similarities to hypothalamic and human obesity syndromes. **Physiology & Behavior**, v. 17, p. 461-471, 1976.

SELPH, J. P.; CARSON, C. C. Penile prosthesis infection: approaches to prevention and treatment. **Urologic Clinics of North America**, v. 38, n. 2, p. 227-235, 2011.

SENA, L. A.; CHANDEL, N. S. Physiological roles of mitochondrial reactive oxygen species. **Molecular Cell**, v. 48, n. 2, p. 158-167, 2012.

SENTHILKUMAR, K. Brown seaweed fucoidan: biological activity and apoptosis, growth signaling mechanism in cancer. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 60, p.366-374, 2013.

SENTHILKUMAR, K.; KIM, S. K. Marine invertebrate natural products for anti-inflammatory and chronic diseases. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 1-10, 2013.

SERPILLON, S.; FLOYD, B. C.; GUPTA, R. S.; GEORGE, S.; KOZICKY, M.; NEITO, V.; RECCHIA, F.; STANLEY, W.; WOLIN, M. S.; GUPTA, S. A. Superoxide production by NAD(P)H oxidase and mitochondria is increased in genetically obese and hyperglycemic rat heart and aorta before the development of cardiac dysfunction. The role of glucose-6-phosphate dehydrogenase-derived NADPH. **American Journal of Physiology, Heart and Circulatory Physiology**, v. 297, n. 1, p. H153-H162, 2009.

SETHI, J. K.; VIDAL-PUIG, A. J. Thematic review series: adipocyte biology. Adipose tissue function and plasticity orchestrate nutritional adaptation. **Journal of Lipid Research**, v. 48, n. 6, p. 1253-1262, 2007.

SHAFIK, A.; OLFAT, S. Lipectomy in the treatment of scrotal lipomatosis. **BJU International**, v. 53, n. 1, p. 55-61, 1981.

SHAH, J. Erectile dysfunction through the ages. **BJU International**, v. 90, n. 4, p. 433-441, 2002.

SHAMLOUL, R.; GHANEM, H. Erectile dysfunction. **The Lancet**, v. 381, n. 9861, p. 153-165, 2013.

SHERWIN, C. M.; CHRISTIANSEN, S. B.; DUNCAN, I. J. H.; ERHARD, H. W.; LAY, D. C.; MENCH, J. A.; O'CONNOR, C. E.; PETHERICK, C. J. Guidelines for the ethical use of animals in applied animal behaviour research. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 81, p. 291-305, 2003.

SHI, Y.; VANHOUTTE, P. M. Oxidative stress and COX cause hyper-responsiveness in vascular smooth muscle of the femoral artery from diabetic rats. **British Journal of Pharmacology**, v. 154, n. 3, p. 639-651, 2008.

SHUKLA, N.; ROSSONI, G.; HOTSTON, M.; SPARATORE, A.; DEL SOLDATO, P.; TAZZARI, V.; PERSAD, R.; ANGELINI, G. D.; JEREMY, J. Y. Effect of hydrogen sulphide-donating sildenafil (ACS6) on erectile function and oxidative stress in rabbit isolated corpus cavernosum and in hypertensive rats. **BJU International**, v. 103, n. 11, p. 1522-1529, 2009.

SILVA, D. C.; CERCHIARO, G.; HONÓRIO, K. M. Relações patofisiológicas entre estresse oxidativo e arteriosclerose. **Química Nova**, v. 34, p. 300-305, 2011.

SILVA, F. H. Caracterização da disfunção erétil em camundongos obesos tratados com dieta hiperlipídica. **Dissertação (Mestrado em Farmacologia)**. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

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.

SILVA, F. H.; MÓNICA, F. Z.; BÁU, F. R.; BRUGNEROTTO, A. F.; PRIVIERO, F.; TOQUE, H. A.; ANTUNES, E. Superoxide anion production by NADPH oxidase plays a major role in erectile dysfunction in middle-aged rats: Prevention by antioxidant therapy. **The Journal of Sexual Medicine**, v. 10, n. 4, p. 960-971, 2013.

SILVA, K. M. F. Efeitos da obesidade sobre parâmetros imunológicos, hematológicos e bioquímicos em ratos endotoxêmicos. **Dissertação (Mestrado em Nutrição)**. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2010.

SILVA, K. M. F. Obesidade induzida por dieta em diferentes tempos: efeitos sobre análises murinométricas, hematológicas e imunológicas de ratas. **Tese (Doutorado em Nutrição)**. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2014.

SIMONSEN, U.; CONTRERAS, J.; GARCÍA-SACRISTÁN, A.; MARTINEZ, A. C. Effect of sildenafil on non-adrenergic non-cholinergic neurotransmission in bovine penile small arteries. **European Journal of Pharmacology**, v. 412, n. 2, p. 155-169, 2001.

SIMONSEN, U.; PRIETO, D.; HERNANDEZ, M.; TEJADA, I. S.; GARCIA-SACRISTAN, A. Prejunctional alpha sub 2-adrenoceptors inhibit nitrenergic neurotransmission in horse penile resistance arteries. **The Journal of Urology**, v. 157, n. 6, p. 2356-2360, 1997.

SKRYPNIK, D.; BOGDAŃSKI, P.; MUSIALIK, K. Obesity – significant risk factor for erectile dysfunction in men. **Polski Merkuriusz Lekarski**, v. 36, n. 212, p. 137-141, 2014.

SMITH, G. E. **Papyrus ebers. English translation**. Chicago: Ares Publishers, 1974.

SMITH, S. R.; LOVEJOY, J. C.; GREENWAY, F.; RYAN, D.; DE LA BRETONNE, J.; VOLAFOVA, J.; BRAY, G. A. Contributions of total body fat, abdominal subcutaneous adipose tissue compartments, and visceral adipose tissue to the metabolic complications of obesity. **Metabolism**, v. 50, n. 4, p. 425-435, 2001.

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.; SOMLYO, A. V. Ca<sup>2+</sup> sensitivity of smooth muscle and nonmuscle myosin II: modulated by G proteins, kinases, and myosin phosphatase. **Physiological Reviews**, v. 83, n. 4, p. 1325-1358, 2003.

SOMLYO, A. P.; SOMLYO, A. V. Signal transduction and regulation in smooth muscle. **Nature**, v. 372, n. 6503, p. 231-236, 1994.

SOMLYO, A. P.; SOMLYO, A. V. Signal transduction by G-proteins, Rho-kinase and protein phosphatase to smooth muscle and non-muscle myosin II. **The Journal of Physiology**, v. 522, n. 2, p. 177-185, 2000.

SOMMER, F.; KLOTZ, T.; STEINRITZ, D.; SCHMIDT, A.; ADDICKS, K.; ENGELMANN, U.; BLOCH, W. MAP kinase 1/2 (Erk 1/2) and serine/threonine specific protein kinase Akt/PKB expression and activity in the human corpus cavernosum. **International Journal of Impotence Research**, v. 14, n. 4, p. 217, 2002.

SOPASAKIS, V. R.; SANDQVIST, M.; GUSTAFSON, B.; HAMMARSTEDT, A.; SCHMELZ, M.; YANG, X.; JANSSON, P. A.; SMITH, U. High local concentrations and effects on differentiation implicate interleukin-6 as a paracrine regulator. **Obesity Research**, v. 12, p. 454-460, 2004.

SOPKO, N. A.; HANNAN, J. L.; BIVALACQUA, T. J. Understanding and targeting the Rho kinase pathway in erectile dysfunction. **Nature Reviews Urology**, v. 11, n. 11, p. 622-628, 2014.

SOUBRY, A.; SCHILDKRAUT, J. M.; MURTHA, A.; WANG, F.; HUANG, Z.; BERNAL, A.; KURTZBERG, J.; JIRTLE, A.; MURPHY, S. K.; HOYO, C. Paternal obesity is associated with IGF2 hypomethylation in newborns: results

from a Newborn Epigenetics Study (NEST) cohort. **BMC Medicine**, v. 11, n. 1, p. 29, 2013.

SOUZA, I. L. L. A ação espasmolítica do óleo essencial de *Xylopiia frutescens* Aubl. envolve a redução dos níveis citosólicos de cálcio em íleo de cobaia. **Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos)**. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2014.

SOUZA, I. L. L.; BARROS, B. C.; OLIVEIRA, G. A.; VASCONCELOS, L. H. C.; SILVA, M. C. C.; ANDRADE, L. F. L. I.; CAVALCANTE, F. A.; SILVA, B. A. **Hyperlipidic diet establish a rat model of erectile dysfunction: mechanisms underlying the endotelial damage**. 48th Brazillian Congress of Pharmacology and Experimental Therapeutics and The 21st Latin American Congress of Pharmacology (SBFTE), Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil, 2016.

SOUZA, I. L. L.; BARROS, B. C.; OLIVEIRA, G. A.; QUEIROGA, F. R.; TOSCANO, L. T.; SILVA, A. S.; SILVA, P. M.; INTERAMINENSE, L. F. L.; CAVALCANTE, F. A.; SILVA, B. A. Hypercaloric diet establishes erectile dysfunction in rat: mechanisms underlying the endothelial damage. **Frontiers in Physiology**, v. 8, p.1-15, 2017.

SOVARI, A. A.; MORITA, N.; KARAGUEUZIAN, H. S. Apocynin: a potent NADPH oxidase inhibitor for the management of atrial fibrillation. **Redox Report**, v. 13, n. 6, p. 242-245, 2008.

SPALDING, K. L.; ARNER, E.; WESTERMARK, P. O.; BERNARD, S.; BUCHHOLZ, B. A.; BERGMANN, O.; BLOMGVIST, L.; HOFFSTEDT, J.; NÄSLUND, E.; BRITTON, T.; CONCHA, H.; HASSAN, M.; RYDÉN, M.; FRISÉN, J.; ARNER, P. Dynamics of fat cell turnover in humans. **Nature**, v. 453, n. 7196, p. 783-787, 2008.

SPEAKMAN, J. R. Obesity: the integrated roles of environment and genetics. **Journal of Nutrition**, v. 134, p. 2090-2015, 2004.

SPEAKMAN, J. R. Thrifty genes for obesity and the metabolic syndrome-time to call off the search? **Diabetes and Vascular Disease Research**, v. 3, n. 1, p. 7-11, 2006.

SPEAKMAN, J. R.; HAMBLY, C.; MITCHELL, S.; KRÓL, E. Animal models of obesity. **Obesity Reviews**, v. 8, n. s1, p. 55-61. 2007.

SPERLING, H.; LORENZ, A.; KREGE, S.; ARNDT, R.; MICHEL, M. C. An extract from the bark of *Aspidosperma quebracho blanco* binds to human penine  $\alpha$ -adrenoceptors. **Journal of Urology**, v. 168, p. 160-163, 2002.

SPIEGEL, M. R. Correlação de Pearson. **Estatística**. 3 ed. São Paulo, Pearson Makron Books, 1993.

STANDRING, S. **Gray's Anatomy E-Book: The Anatomical Basis of Clinical Practice**. Elsevier Health Sciences, 2015.



STANLEY, S.; WYNNE, K.; MCGOWAN, B.; BLOOM, S. Hormonal regulation of food intake. **Physiological Reviews**, v. 85, n. 4, p. 1131-1158, 2005.

STEAD, P.; HISCOX, S.; ROBINSON, P. S.; PIKE, N. B.; SIDEBOTTOM, P. J.; ROBERTS, A. D.; TAYLOR, N. L.; WRIGHT, A. E.; POMPONI, S. A.; LANGLEY, D. Eryloside F, a novel penasterol disaccharide possessing potent thrombin receptor antagonist activity. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 10, n. 7, p. 661-664, 2000.

STEERS, W. D. Neural pathways and central sites involved in penile erection: neuroanatomy and clinical implications. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 24, n. 5, p. 507-516, 2000.

STEFANO, G. B. G. Disfunção sexual erétil. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 69, n. 12, p. 110-113, 2012.

STEIN, C. J.; COLDITZ, G. A. The epidemic of obesity. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 89, p. 2522-2525, 2004.

STEINBERG, H. O.; TARSHOBY, M.; MONESTEL, R.; HOOK, G.; CRONIN, J.; JOHNSON, A.; BAYAZEED, B.; BARON, A. D. Elevated circulating free fatty acid levels impair endothelium-dependent vasodilation. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 100, p. 1230-1239, 1997.

STEPHENS, D. N. Does the Lee obesity index measure general obesity? **Physiology Behavior**, v. 25, n. 2, p. 313-315, 1980.

STIEF, C. G. Central mechanisms of erectile dysfunction: what a clinician may want to know. **International Journal of Impotence Research**, v. 15, n. S2, p. S3, 2003.

STRISSEL, K. J.; STANCHEVA, Z.; MIYOSHI, H.; PERFIELD, J. W.; DEFURIA, J.; JICK, Z.; GREENBERG, A. S.; OBIN, M. S. Adipocyte death, adipose tissue remodeling, and obesity complications. **Diabetes**, v. 56, n. 12, p. 2910-2918, 2007.

STUNKARD, A. J.; WADDEN, T. A. **Obesity: theory and therapy**. New York: Raven Press 2nd ed., v.1, 1993.

SUENAGA, H.; KAMATA, K. Lysophosphatidylcholine activates extracellular-signal-regulated protein kinase and potentiates vascular contractile responses in rat aorta. **Journal of Pharmacological Sciences**, v. 92, n. 4, p. 348-358, 2003.

SULLIVAN, M. E.; THOMPSON, C. S.; DASHWOOD, M. R.; KHAN, M. A.; JEREMY, J. Y.; MORGAN, R. J.; MIKHAILIDIS, D. P. Nitric oxide and penile erection: is erectile dysfunction another manifestation of vascular disease? **Cardiovascular Research**, v. 43, n. 3, p. 658-665, 1999.

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.

TAL, R.; TELOKEN, P.; MULHALL, J. P. Erectile function rehabilitation after radical prostatectomy: practice patterns among AUA members. **The Journal of Sexual Medicine**, v. 8, n. 8, p. 2370-2376, 2011.

TANG, G.; SUTER, P. M. Vitamin A, nutrition, and health values of algae: *Spirulina*, *Chlorella* and *Dunaliella*. **Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences**, v. 1, n. 2, p. 111-118, 2011.

TAPSCOTT, A. H.; HAKIM, L. S. Office-based management of impotence and Peyronie's disease. **Urologic Clinics of North America**, v. 40, n. 4, p. 521-543, 2013.

TARTAGLIA, L. A.; DEMBSKI, M.; WENG, X.; DENG, N.; CULPEPPER, J.; DEVOS, R.; RICHARDS, G. J.; CAMPFIELD, L. A.; CLARK, F. T.; DEEDS, J.; MUIR, C.; SANKER, S.; MORIARTY, A.; MOORE, K. J.; SMUTKO, J. S.; MAYS, G. G.; WOOL, E. A.; MONROE, C. A.; TEPPER, R. I. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. **Cell**, v. 83, n. 7, p. 1263-1271, 1995.

TCHOUKALOVA, Y. D.; VOTRUBA, S. B.; TCHKONIA, T.; GIORGADZE, N.; KIRKLAND, J. L.; JENSEN, M. D. Regional differences in cellular mechanisms of adipose tissue gain with overfeeding. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 42, p. 18226-18231, 2010.

TEIXEIRA, C. E.; JIN, L.; YING, Z.; PALMER, T.; WEBB, R. C. Ca<sup>2+</sup> sensitization and the regulation of contractility in rat anococcygeus and retractor penis muscle. **Biochemical Pharmacology**, v. 69, n. 10, p. 1483-1492, 2005.

TEJADA, I. S.; CARSON, M. P.; DE LAS MORENAS, A.; GOLDSTEIN, I.; TRAISH, A. M. Endothelin: localization, synthesis, activity, and receptor types in human penile corpus cavernosum. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 261, n. 4, p. H1078-H1085, 1991.

THALER, J. P.; GUYENET, S. J.; DORFMAN, M. D.; WISSE, B. E.; SCHWARTZ, M. W. Hypothalamic inflammation: marker or mechanism of obesity pathogenesis? **Diabetes**, v. 62, p. 2629-2634, 2013.

THIBAUT, L.; WOODS, S. C.; WESTERTERP-PLANTENGA, M. S. The utility of models of human energy homeostasis. **British Journal of Nutrition**, v. 92, p. S41-S45, 2004.

THOMAS, J. A. Pharmacological aspects of erectile dysfunction. **The Japanese Journal of Pharmacology**, v. 89, n. 2, p. 101-112, 2002.

TOLEDO, G. L.; OVALLE, I. I. **Estatística básica**. 2 ed. São Paulo, Atlas, 1985.

TONG, J.; LI, L.; BALLERMANN, B.; WANG, Z. Phosphorylation and activation of RhoA by ERK in response to epidermal growth factor stimulation. **PloS One**, v. 11, n. 1, p. e0147103, 2016.

TONTONOZ, P.; HU, E.; SPIEGELMAN, B. M. Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR $\gamma$ 2, a lipid-activated transcription factor. **Cell**, v. 79, n. 7, p. 1147-1156, 1994.

TOQUE, H. A.; NUNES, K. P.; YAO, L.; LIAO, J. K.; WEBB, C.; CALDWELL, R. B.; CALDWELL, W. Activated Rho kinase mediates diabetes-induced elevation of vascular arginase activation and contributes to impaired corpora cavernosa relaxation: possible involvement of p38 MAPK activation. **Journal of Sexual Medicine**, v. 10, n. 6, p. 1502-1515, 2013.

TOQUE, H. A.; SILVA, F. H.; CALIXTO, M. C.; LINTOMEN, L.; SCHENKA, A. A.; SAAD, M. J.; ZANESCO, A.; ANTUNES, E. High-fat diet associated with obesity induces impairment of mouse corpus cavernosum responses. **BJU International**, v. 107, p. 1628-1634, 2010.

TOQUE, H. A.; TOSTES, R. C.; YAO, L.; XU, Z.; WEBB, R. C.; CALDWELL, R. B.; CALDWELL, R. W. Arginase II deletion increases corpora cavernosa relaxation in diabetic mice. **The Journal of Sexual Medicine**, v. 8, n. 3, p. 722-733, 2011.

TOUW, I. P.; KONING, J. P.; WARD, A. C.; HERMANS, M. H. Signaling mechanisms of cytokine receptors and their perturbances in disease. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 160, p. 1-9, 2000.

TOWBIN, H.; STAEBELIN, T.; GORDON, J. A method has been devised for the electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets. **Biotechnology**, v. 24, p. 145-149, 1992.

TRAYHURN, P.; BEATTIE, J. H. Physiological role of adipose tissue: white adipose tissue as an endocrine and secretory organ. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 60, n. 3, p. 329-339, 2001.

TRIGO-ROCHA, F.; ARONSON, W. J.; HOHENFELLNER, M. A. R. K. U. S.; IGNARRO, L. J.; RAJFER, J. A. C. O. B.; LUE, T. F. Nitric oxide and cGMP: mediators of pelvic nerve-stimulated erection in dogs. **American Journal of Physiology, Heart and Circulatory Physiology**, v. 264, n. 2, p. H419-H422, 1993.

TRINCONE, A. **Marine enzymes for biocatalysis: sources, biocatalytic characteristics and bioprocesses of marine enzymes**. Elsevier, 2013.

TROST, L. W.; MCCASLIN, R.; LINDER, B.; HELLSTROM, W. J. Long-term outcomes of penile prostheses for the treatment of erectile dysfunction. **Expert Review of Medical Devices**, v. 10, n. 3, p. 353-366, 2013.

TSAI, A. L.; PALMER, G.; KULMACZ, R. J. Prostaglandin H synthase. Kinetics of tyrosyl radical formation and of cyclooxygenase catalysis. **Journal of Biological Chemistry**, v. 267, n. 25, p. 17753-17759, 1992.

TSCHÖP, M.; HEIMAN, M. L. Rodent obesity models: an overview. **Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes**, v. 109, n. 6, p. 307-319, 2001.

TSCHÖP, M.; SMILEY, D. L.; HEIMAN, M. L. Ghrelin induces adiposity in rodents. **Nature**, v. 407, n. 6806, p. 908-913, 2000.

ÜCKERT, S.; MAYER, M. E.; STIEF, C. G.; JONAS, U. The future of the oral pharmacotherapy of male erectile dysfunction: things to come. **Expert Opinion on Emerging Drugs**, v. 12, n. 2, p. 219-228, 2007.

URBA-HOLMGREN, R.; BJORN, B. H.; ANIAS, J. Pre and post-synaptic dopaminergic receptors involved in apomorphine-induced yawning. **Acta Neurobiologiae Experimentalis**, v. 42, p. 115-125, 1982.

USER, H. M.; HAIRSTON, J. H.; ZELNER, D. J.; MCKENNA, K. E.; MCVARY, K. T. Penile weight and cell subtype specific changes in a post-radical prostatectomy model of erectile dysfunction. **The Journal of Urology**, v. 169, p. 1175-1179, 2003.

USHIYAMA, M.; MORITA, T.; KURAMOCHI, T.; YAGI, S.; KATAYAMA, S. Erectile dysfunction in hypertensive rats results from impairment of the relaxation evoked by neurogenic carbon monoxide and nitric oxide. **Hypertension Research**, v. 27, n. 4, p. 253-261, 2004.

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.

VAGUE, J. La différenciation sexuelle, facteur déterminant des formes de l'obésité. **La Presse Médicale**, v. 55, p. 339-340, 1947.

VAISSE, C.; HALAAS, J. L.; HORVATH, C. M.; DARNELL, J. E.; STOFFEL, M.; FRIEDMAN, J. M. Leptin activation of Stat3 in the hypothalamus of wild-type and *ob/ob* mice but not *db/db* mice. **Nature Genetics**, v. 14, p. 95-97, 1996.

VANHOUTTE, P. M.; SHIMOKAWA, H.; TANG, E. H.; FELETOU, M. Endothelial dysfunction and vascular disease. **Acta Physiologica**, v. 196, n. 2, p. 193-222, 2009.

VELDSTRA, H. Synergism and potentiation. **Pharmacological Reviews**, v. 8, n. 4, p. 484-484, 1956.

VERDICH, C.; TOUBRO, S.; BUEMANN, B.; MADSEN, J. L.; HOLST, J. J.; ASTRUP, A. The role of postprandial releases of insulin and incretin hormones

in meal-induced satiety-effect of obesity and weight reduction. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders**, v. 25, p. 1206-1214, 2001.

VERMEULEN, A.; KAUFMAN, J. M.; DESLYPERE, J. P.; THOMAS, G. Attenuated luteinizing hormone (LH) pulse amplitude but normal LH pulse frequency, and its relation to plasma androgens in hypogonadism of obese men. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 76, n. 5, p. 1140-1146, 1993.

VIGNOZZI, L.; MORELLI, A.; FILIPPI, S.; VANNELLI, G. B.; MUNGAI, S.; MARINI, M.; BODDI, V.; FORTI, G.; MAGGI, M. Effect of sildenafil administration on penile hypoxia induced by cavernous neurotomy in the rat. **International Journal of Impotence Research**, v. 20, p. 60-67, 2006.

VIKMAN, H. L.; SAVOLA, J. M.; RAASMAJA, A.; OHISALO, J. J. Alpha 2 $\alpha$ -adrenergic regulation of cyclic AMP accumulation and lipolysis in human omental and subcutaneous adipocytes. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders**, v. 20, p. 185-189, 1996.

VIRAG, R.; SHOUKRY, K.; FLORESCO, J.; NOLLET, F.; GRECO, E. Intracavernous self-injection of vasoactive drugs in the treatment of impotence: 8-year experience with 615 cases. **The Journal of Urology**, v. 145, n. 2, p. 287-292, 1991.

VIRTANEN, K. A.; LIDELL, M. E.; ORAVA, J.; HEGLIND, M.; WESTEREGREN, R.; NIEMI, T.; TAITTONEN, M.; LAINE, J.; SAVISTO, N. J.; ENERBÄCK, S.; NUUTILA, P. Functional brown adipose tissue in healthy adults. **New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 15, p. 1518-1525, 2009.

VLACHOPOULOS, C.; IOAKEIMIDIS, N.; STEFANADIS, C. Biomarkers, erectile dysfunction, and cardiovascular risk prediction: the latest of an evolving concept. **Asian Journal of Andrology**, v. 17, n. 1, p. 17, 2015.

VO, T. S.; NGO, D. H.; VAN, T. A.; KIM, S. K. Marine organisms as a therapeutic source against herpes simplex virus infection. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 44, n. 1, p. 11-20, 2011.

VOGALIS, F.; WARD, S. M.; SANDERS, K. M. Correlation between electrical and morphological properties of canine pyloric circular. **American Journal of Physiology Gastrointestinal Liver Physiology**, v. 260, p. 390-398, 1991.

VON DIEMEN, V.; TRINDADE, E. N.; TRINDADE, M. R. M. Experimental model to induce obesity in rats. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 21, n. 6, p. 425-429, 2006.

VOSS, P.; SIEMS, W. Clinical oxidation parameters of aging. **Free Radical Research**, v. 40, n. 12, p. 1339-1349, 2006.

WAJCHENBERG, B. L. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. **Endocrine Reviews**, v. 21, p. 697-738, 2000.

WALDKIRCH, E. S.; ÜCKERT, S.; SOHN, M.; KUCZYK, M. A.; HEDLUND, P. Rho kinase (ROK)-related proteins in human cavernous arteries: An immunohistochemical and functional approach. **The Journal of Sexual Medicine**, v. 9, n. 5, p. 1337-1343, 2012.

WALKER, D. K.; ACKLAND, M. J.; JAMES, G. C.; MUIRHEAD, G. J.; RANCE, D. J.; WRIGHT, P. A. Pharmacokinetics and metabolism of sildenafil in mouse, rat, rabbit, dog and man. **Xenobiotica**, v. 29, n. 3, p. 297-310, 1999.

WEBB, R. C. Smooth muscle contraction and relaxation. **Advances in Physiology Education**, v. 27, p. 201-206, 2003.

WEI, N.; QUARTERMAN, J.; JIN, Y. S. Marine macroalgae: an untapped resource for producing fuels and chemicals. **Trends in Biotechnology**, v. 31, n. 2, p. 70-77, 2013.

WEIN, A. J.; KAVOUSSI, L. R.; NOVICK, A. C.; PARTIN, A. W.; PETERS, C. A. **Campbell-Walsh Urology: Expert Consult Premium Edition: Enhanced Online Features and Print**, 4-Volume Set. Elsevier Health Sciences, 2011.

WEISBERG, S. P.; MCCANN, D.; DESAI, M.; ROSENBAUM, M.; LEIBEL, R. L.; FERRANTE, A. W. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 112, n. 12, p. 1796-1808, 2003.

WERNER, M. E.; MEREDITH, A. L.; ALDRICH, R. W.; NELSON, M. T. Hypercontractility and impaired sildenafil relaxations in the BK Ca channel deletion model of erectile dysfunction. **American Journal of Physiology, Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 295, n. 1, p. R181-R188, 2008.

WHITTLE, A.; RELAT-PARDO, J.; VIDAL-PUIG, A. Pharmacological strategies for targeting BAT thermogenesis. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 34, n. 6, p. 347-355, 2013.

WOODRUM, D. A.; BROPHY, C. M. The paradox of smooth muscle physiology. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 177, p. 135-143, 2001.

WOODS, S. C.; SEELEY, R. J. Insulin as an adiposity signal. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders**, v. 25, p. S35-S38, 2001.

WOODS, S. C.; SEELEY, R. J.; PORTE JR, D.; SCHWARTZ, M. W. Signals that regulate food intake and energy homeostasis. **Science**, v. 280, p. 1378-1383, 1998.

WOODS, S. C.; SEELEY, R. J.; RUSHING, P. A.; D'ALESSIO, D. A.; TSO, P. A. A controlled high-fat diet induces an obese syndrome in rats. **Journal of Nutrition**, v. 133, n. 4, p. 1081-1087, 2003.

WRAY, S.; JONES, K.; KUPITTAYANANT, S.; LI, Y.; MATTHEW, A.; MONIR BISHTY, E.; NOBLE, K.; PIERCE, S. J.; QUENBY, S.; SHMYGOL, A. V. Calcium signaling and uterine contractility. **Journal of the Society for Gynecologic Investigation**, v. 10, p. 252-264, 2003.

WU, J.; BOSTRÖM, P.; SPARKS, L. M.; YE, L.; CHOI, J. H.; GIANG, A. H.; KHANDEKAR, M.; NUUTILA, P.; SCHAARTE, G.; HUANG, K.; TU, H.; LICHTENBELT, W. D. V. M.; HOEKS, J.; ENERBÄCK, S.; SCHRAUWEN, P.; SPIEGELMAN, B. M. Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human. **Cell**, v. 150, n. 2, p. 366-376, 2012.

XIANG, L.; DEARMAN, J.; ABRAM, S. R.; CARTER, C.; HESTER, R. L. Insulin resistance and impaired functional vasodilation in obese Zucker rats. **American Journal of Physiology, Heart and Circulatory Physiology**, v. 294, n. 4, p. H1658-H1666, 2008.

XIAO, M.; DING, J.; WU, L.; HAN, Q.; WANG, H.; ZUO, G.; HU, G. The distribution of neural nitric oxide synthase-positive cerebrospinal fluid-contacting neurons in the third ventricular wall of male rats and coexistence with vasopressin or oxytocin. **Brain Research**, v. 1038, n. 2, p. 150-162, 2005.

YAFI, F. A.; JENKINS, L.; ALBERSEN, M.; CORONA, G.; ISIDORI, A. M.; GOLDFARB, S.; MAGGI, M.; NELSON, C. J.; PARISH, S.; SALONIA, A.; TAN, R.; MULHALL, J. O.; HELLSTROM, W. J. G. Erectile dysfunction. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 2, p. 1-47, 2016.

YAMAMOTO, H.; KISHI, T.; LEE, C. E.; CHOI, B. J.; FANG, H.; HOLLENBERG, A. N.; DRUNCKER, D. J.; ELMQUIST, J. K. Glucagon-like peptide-1-responsive catecholamine neurons in the area postrema link peripheral glucagon-like peptide-1 with central autonomic control sites. **Journal of Neuroscience**, v. 23, p. 2939-2946, 2003.

YAMAUCHI, T.; KAMON, J.; ITO, Y.; TSUCHIDA, A.; YOKOMIZO, T.; KITA, S.; SUGIYAMA, T.; MIYAGISHI, M.; HARA, K.; TSUNODA, M.; MURAKAMI, K.; OHTEKI, T.; UCHIDA, S.; TAKEKAWA, S.; WAKI, H.; TSUNI, N. H.; SHIBATA, Y.; TERAUCHI, Y.; FROGUEL, P.; TOBE, K.; KOYASU, S.; TAIRA, K.; KITAMURA, T.; SHIMIZU, T.; NAGAI, R.; KADOWAKI, T. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. **Nature**, v. 423, n. 6941, p. 762-769, 2003.

YAMAZAKI, H.; SUMILAT, D. A.; KANNO S.; UKAI, K.; ROTINSULU, H.; WEWENGKANG, D. S.; ISHIKAWA, M.; MANGINDAAN, R. E. P.; NAMIKOSHI, M. A polybromodiphenyl ether from an Indonesian marine sponge *Lamellodysidea herbacea* and its chemical derivatives inhibit protein tyrosine phosphatase 1B, an important target for diabetes treatment. **Journal of Natural Medicines**, v. 67, n. 4, p. 730-735, 2013.

YASWEN, L.; DIEHL, N.; BRENNAN, M. B.; HOCHGESCHWENDER, U. Obesity in the mouse model of pro-opiomelanocortin deficiency responds to peripheral melanocortin. **Nature Medicine**, v. 5, p. 1066-1070, 1999.

YE, R.; SCHERER, P. E. Adiponectin, driver or passenger on the road to insulin sensitivity? **Molecular Metabolism**, v. 2, n. 3, p. 133-141, 2013.

YU, B. P. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. **Physiology Review**, v. 74, p. 139-161, 1994.

YUAN, J.; ZHANG, R.; YANG, Z.; LEE, J.; LIU, Y.; TIAN, J.; QIN, X.; REN, Z.; DING, H.; CHEN, Q.; MAO, C.; TANG, J. Comparative effectiveness and safety of oral phosphodiesterase type 5 inhibitors for erectile dysfunction: a systematic review and network meta-analysis. **European Urology**, v. 63, n. 5, p. 902-912, 2013.

ZEINALIAN, R.; FARHANGI, M. A.; 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 Complementary and Alternative Medicine**, v. 17, n. 1, p. 225, 2017.

ZELEFSKY, M. J.; SHASHA, D.; BRANCO, R. D.; KOLLMEIER, M.; BASER, R. E.; PEI, X.; ENNIS, R.; STOCK, R.; BAR-CHAMA, N.; MULHALL, J. P. Prophylactic sildenafil citrate improves select aspects of sexual function in men treated with radiotherapy for prostate cancer. **The Journal of Urology**, v. 192, n. 3, p. 868-874, 2014.

ZEMEL, P. Sexual dysfunction in the diabetic patient with hypertension. **The American Journal of Cardiology**, v. 61, n. 16, p. H27-H33, 1988.

ZHANG, W.; WANG, Y.; YANG, Z.; QIU, J.; MA, J.; ZHAO, Z.; BAO, T. Antioxidant treatment with quercetin ameliorates erectile dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 112, n. 3, p. 215-218, 2011.

ZOU, M. H.; MARTIN, C.; ULLRICH, V. Tyrosine nitration as a mechanism of selective inactivation of prostacyclin synthase by peroxynitrite. **Biological Chemistry**, v. 378, n. 7, p. 707-714, 1997.

ZOU, M. H.; ULLRICH, V. Peroxynitrite formed by simultaneous generation of nitric oxide and superoxide selectively inhibits bovine aortic prostacyclin synthase. **FEBS Letters**, v. 382, n. 1-2, p. 101-104, 1996.





**Apêndice**

## Apêndice A – Artigo publicado referente à tese.



ORIGINAL RESEARCH  
published: 04 October 2017  
doi: 10.3389/fphys.2017.00760



## Hypercaloric Diet Establishes Erectile Dysfunction in Rat: Mechanisms Underlying the Endothelial Damage

Iara L. L. de Souza<sup>1</sup>, Bárbara C. Barros<sup>2</sup>, Giulliana A. de Oliveira<sup>2</sup>, Fernando R. Queiroga<sup>1</sup>, Lydlane T. Toscano<sup>3</sup>, Alexandre S. Silva<sup>3</sup>, Patrícia M. Silva<sup>4</sup>, Leylliane F. L. Interaminense<sup>5</sup>, Fabiana de Andrade Cavalcante<sup>1,6</sup> and Bagnólia A. da Silva<sup>1,7\*</sup>

### OPEN ACCESS

**Edited by:**  
Pan-Shan Ge,  
Wenzhou Medical University, China

**Reviewed by:**  
Chak-Lam Cho,  
Kwong Wah Hospital, Hong Kong

<sup>1</sup> Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brazil, <sup>2</sup> Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brazil, <sup>3</sup> Departamento de Educação Física, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brazil, <sup>4</sup> Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brazil, <sup>5</sup> Departamento de Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brazil, <sup>6</sup> Departamento de Fisiologia e Patologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brazil, <sup>7</sup> Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brazil



**Anexos**

Anexo A – Certificado da *Spirulina platensis*.

**Dongtai Spirulina  
Bio-engineering Co., Ltd.**

Add: 4001 B-Building New World Center 88 Zhujiang Road Nanjing China Zip: 210008  
Tel: +86-25-8 4732011 Fax: +86-25-84730935 or 84732012 FHL (Mobile): 13585177320  
http://www.chinaspirulina.com http://www.dongtai.com Email: sales@chinaspirulina.com

**MATERIAL SAFETY DATA SHEET**

**Manufacturer's Name:** Dongtai Top Bio-engineering Co., Ltd.  
**Manufacturer's Address:** No.88 Zhujiang Road, Nanjing, 210008, China  
**Responsible Person in Charge and Signature:**  
**Jiang yong**  
**Telephone No.:** +86-25-84732011  
**Fax No.:** +86-25-84730935  
**Website:** www.chinaspirulina.com

**Section 1. Product Identification**

Common Name	Chemical Name	Contents
Spirulina Powder	Arthrospira	Moisture 6%; Protein 60%; Carbohydrate 15%; Crude Fat 8%; Crude Fiber 3%; Crude Ash 9%

**Section 2. Hazardous Ingredients**  
None

**Section 3. Physical & Chemical Characteristics**

Boiling Point	Gravity	Vapor Pressure (mmHg)
N/A	0.4-0.5 (Bulk Density)	N/A
Percent Volatile by Volume	Vapor Density	Evaporation Rate
5%	N/A	N/A
Appearance and Odor		
Dark blue-green in color. A smell specific to dried seaweed		
Flash Point	Extinguisher Media	
N/A	Water from the upstream side of the prevailing winds, CO <sub>2</sub>	
Auto Ignition Temperature	Unusual Fire and Explosion Hazards	
N/A	N/A	

**Section 4. Physical Hazards**

Stability	Incompatibility	Hazardous Decomposition Products
Stable	N/A	Ammonia
Hazardous Polymerization		
Will not occur		

**Section 5. Health Hazards**

Threshold Limit Value	Acute Overexposure			
N/A	N/A			
Chronic Overexposure	Medical	Condition	Generally	Aggravated by
N/A	Exposures			
N/A	N/A			

(Continua)

(Continuação)

## Dongtai Spirulina Bio-engineering Co.,Ltd.

Add: 4001 B-Building New World Center 88 Zhujiang Road Nanjing China Zip:210008  
 Tel: +86-25-8 4732011 Fax: +86-25-84730935 or 84732012 T/F: (Mobile) : 13586177320  
<http://www.chinaspirulina.com> <http://www.eibiofarm.com> Email:sales@chinaspirulina.com

OSHA Permissible Exposure Limit	ACGIH Threshold Limit Value
N/A	N/A
<b>Over Exposure Limit Used</b>	
N/A	
<b>Emergency and First Aid Procedure</b>	
Eye contact: Since scarring on the eyeball could take place, don't rub. Wash out with water.	
Skin contact: Wash out with water.	
Inhalation: Do gargling or wash out with water.	
Ingestion: Wash the inside of the mouth out with water, if necessary.	
<b>Section 6. Special Protection Information</b>	
<b>Respiratory Protection</b>	
Seek professional advice prior to respirator selection and use	
<b>Ventilation</b>	
Provide general and local exhaust ventilation systems to maintain minimum airborne concentrations that promote worker safety and productivity. Local exhaust ventilation is preferred since it prevents contaminant dispersion into the work area by controlling it as its source.	
<b>Protective Gloves</b>	
Put on protective gloves.	
<b>Eye Protection</b>	
Wear protective eyeglasses or chemical safety goggles.	
<b>Other Protective Clothing or Equipment</b>	
Put on protective shoes, protective cap.	
<b>Section 7. Special Precaution and Leak Procedures</b>	
<b>Precaution to be Taken in Handling and Storage</b>	
Make available washing facilities. Do gargling and wash hands and face with water after handling. Store the products in storage temperature NMT 25 °C. Dry and dark, designated storage area to maintain the maximum stability of the product quality.	
<b>Other Precaution</b>	
Avoid contact with water	
<b>Step to be Taken in case Material is Released or Spilled</b>	
Sweep up the released powder and recover it all into a container.	
<b>Disposal</b>	
Incinerable discarded products. Follow applicable regulations.	



Anexo B – Certificado de análise do pó de *Spirulina platensis*.

**Galena** LABORATÓRIO DE CONTROLE DA QUALIDADE

**Certificado de Análise**  
Nr.Ctrl.: 0000324/201504G060319801

**SPIRULINA NATURAL PO - 1,000 KG**

Página: 01

---

**Data de Fabricação:** 10/11/2014      **Lote de Fabricação:** 2014007  
**Data de Validade:** 09/11/2016      **País de Origem:** CHINA  
**Lote Galena (CIQ):** 1504023402      **Ordem Fracionamento (OF):** 00692001001

**Dados do Requisitante**  
**Requisitante:** Galena Quimica e Farmaceutica Ltda      **CNPJ:** 57.442.774/0001-90      **Fone:** 0800 7714 270  
**Endereço:** Rua Pedro Stancato, 860      **Cidade:** Campinas/SP      **CEP:** 13.082/050  
**Classe Terapêutica:** Suplemento alimentar

**Informações Complementares:** Nome Botânico: Spirulina maxima, Spirulina platensis  
Distribuição Geográfica: Spirulina cresce em alguns lagos, principalmente aqueles ricos em sais, na América do Sul, América Central e África. Também é cultivada ao ar livre especificamente para serem colhidas para suplementos nutricionais.

**Armazenamento:** ARMAZ.TEMP.AMB.CONTROLADA, FECHADO, PROTEGIDO DA LUZ E UMIDADE

Análises/Componentes	Especificações	Incerteza de Medição (U)	Resultados das Análises
<b>LABORATORIO FISICO-QUIMICO</b>			
- PERDA POR DESSECACAO (0)	Não mais que 7,0 %	0,17 %	5 %
- CINZAS (0)	Não mais que 7,0 %	0,08 %	6,3 %
- ARSENIO * (0)	Nao mais que 0,4 ppm		0,32ppm
- CADMIO * (0)	Nao mais que 0,2 ppm		0,16ppm
- CHUMBO * (0)	Nao mais que 2,0 ppm		1,2ppm
- MERCURIO * (0)	Nao mais que 0,05 ppm		0,034ppm
- DENSIDADE APARENTE (0)	0,40 g/mL a 0,60 g/mL		0,46 g/mL
- DENSIDADE COMPACTADA (0)	0,60 g/mL a 0,90 g/mL		0,68 g/mL
- TAMANHO DE PARTICULAS * (0)	100 % passa por 80 mesh		Conforme
- ODOR (0)	Característico		Caracteristic
- SABOR (0)	Característico		Caracteristic
- IDENTIFICACAO POR TLC * (0)	Positivo		Positiv
- PROTEINA * (0)	Não menos que 60,0 %		63,8 %
- ASPECTO (7)	Po fino		Po fir
- COR (7)	Azul escuro a verde		Verc
<b>LABORATORIO MICROBIOLÓGICO</b>			
- CONTAGEM TOTAL (0)	Nao mais que 1000 UFC/g	71	110 UFC
- BOLORES E LEVEDURAS (0)	Nao mais que 100 UFC/g	35	10 UFC
- E. COLI (0)	Ausente		Ausen
- S. AUREUS (0)	Ausente		Ausen
- SALMONELLA SP (0)	Ausente		Ausen
- COLIFORMES * (0)	Nao mais que 90 UFC/g		Conform
- SHIGELLA SPP * (0)	Ausente		Negati

**Observações**  
- Os resultados presentes neste Certificado de Análise tem seus valores restritos a este lote.

\* - Análises de acordo com o certificado de análise do fabricante.

- As demais análises foram realizadas no Laboratório de Controle da Qualidade Galena.

Referências: (0)CONFORME METODOLOGIA PROPRIA DO FORNECEDOR; (7)CONFORME METODOLOGIA INTERNA GALENA

- A incerteza expandida de medição relatada é declarada como a incerteza padrão da medição multiplicada pelo fator de abrangência K. Para o ensaio Água por Karl Fisher K=2,52; pH K=2,37; Ponto de Fusão K=2,65; Perda por Dessecação K=2,10; para os demais testes do escopo, K=2, que, para uma distribuição normal, corresponde a uma probabilidade de 95%.  
A incerteza padrão de medição foi determinada de acordo com a publicação EA-4/02.

(Continua)

(Continuação)

## CERTIFICADO DE ANÁLISE

Análise	Especificação Técnica	Resultado
Substância: ESPIRULINA(36-BR) Lote: 2014007		
Fornecedor: GALENA QUIMICA FARMACEUTICA LTDA Qtde. Amostras: 0,2G		
Dta.Análise: 20/05/2015 Fabricação: 10/11/2014 Validade: 09/11/2016 CAS:		
Farmacêutico Responsável: NATALIA BRAGA CRF: 0000		
FORMULA MOLECULAR	Sem especificação	-
PESO MOLECULAR	Sem especificação	-
REVISAO	SEM ESPECIFICAÇÃO	-
PAIS DE ORIGEM	CHINA	-
CATEGORIA	Suplemento nutricional fitoterápico	-
CARACTERES ORGANOLÓGICOS	Pó fino azul-esverdeado escuro com odor característico	De acordo
ESPECIFICAÇÃO	Sem especificação	-
SOLUBILIDADE	Sem especificação	-
PONTO DE FUSAO	Sem especificação	-
DENSIDADE	Sem especificação	-
DENSIDADE APARENTE	Sem especificação	-
PH	Sem especificação	-
IDENTIFICACAO A	Sem especificação	-
IDENTIFICACAO B	Sem especificação	-
IDENTIFICACAO UV	Sem especificação	-
ACIDEZ	Sem especificação	-
DOSEAMENTO	Sem especificação	-
CONSERVAÇÃO	Manter em recipiente hermeticamente fechado, ao abrigo da luz e umidade	-
OUTROS	SEM ESPECIFICAÇÃO	-
REF. BIBLIOGRÁFICA	Certificado de Análise do Fornecedor	-
MÉTODO DE ANÁLISE	SEM ESPECIFICAÇÃO	-
MATERIAIS ESTRANHOS	SEM ESPECIFICAÇÃO	-
CONTAMINACAO MICROBIOLÓGICA	SEM ESPECIFICAÇÃO	-
UMIDADE	SEM ESPECIFICAÇÃO	-
CINZAS TOTAIS	SEM ESPECIFICAÇÃO	-
CARACTERES MACROSCÓPICOS	SEM ESPECIFICAÇÃO	-
CARACTERES MICROSCÓPICOS	SEM ESPECIFICAÇÃO	-
VOLUME	SEM ESPECIFICAÇÃO	-

Resultado Final: APROVADO ( X ) REPROVADO ( )

Assinatura do Responsável: Natalia Braga

**Anexo C – Certificado de aprovação do projeto na Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFPB).**



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE BIOTECNOLOGIA  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



**COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**

**CERTIDÃO**

João Pessoa, 6 de março de 2014.

CEUA Nº 0201/14

Ilmo(a). **Bagnólia Araújo da Silva**  
Departamento Ciências Farmacêuticas - CCS - UFPB

Orientando(a): **Iara Leão Luna de Souza, (Doutorado)**

O presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba após consultar relator responsável, **Prof Dr. Ulrich Vasconcelos da Rocha Gomes** e parte interessada, **Bagnólia Araújo da Silva** considerou e **APROVOU ad referendum** a execução do projeto **Efeito da 4',5,7-triidroxi-3,6-dimetoxiflavona, flavonoide isolado de Piptadenia stipulacea (Benth.) Ducke (Fabaceae), sobre a reatividade do corpo cavernoso de ratos não obesos e obesos.**

Com previsão de empregar **150 Ratos WISTAR - ANIMAIS DO BIOTÉRIO Prof. Thomas George.**

Para serem utilizados no período de **07/03/2014 a 31/01/2018**

Atenciosamente,

Prof. Dr. Luis Cezar Rodrigues  
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animal do CBiotec/UFPB



**Anexo D** – Certificado de aprovação de mudança do projeto na Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFPB).



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAL (CEUA)



**CERTIDÃO**

João Pessoa, 15 de Junho de 2015.  
CEUA nº **0201/14**.

Ilmo(a): **Profa. Dra. Bagnólia Araújo da Silva**  
Departamento de Ciências Farmacêuticas – CCS – UFPB

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba analisou e **APROVOU** a execução do projeto **Efeito da *Spirulina platensis* sobre a reatividade do corpo cavernoso de ratos não obesos e obesos.**

Com previsão de empregar **150 ratos Wistar**;  
Animais do **Biotério Prof. Thomas George**;  
Para serem utilizados no período de **07/03/2014** a **31/01/2018**.

Atenciosamente,

*Islania Giselia Albuquerque Gonçalves*  
Profa. Dra. Islania Giselia Albuquerque Gonçalves  
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais da UFPB