



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA - FAMED

**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS EM
GASTROENTEROLOGIA E HEPATOLOGIA**

***Spirulina platensis* e marcadores inflamatórios em humanos:
uma revisão sistemática**

Caroline Schardong Boligon

Orientador. Prof Dr. Renato Borges Fagundes

**Dissertação apresentada como requisito parcial
para obtenção do título de Mestre em Medicina
Gastroenterologia e Hepatologia da Universidade Federal
do Rio Grande Do Sul. Programa de Pós Graduação
em Gastroenterologia e Hepatologia**

Porto Alegre

2015

CIP - Catalogação na Publicação

Schardong Boligon, Caroline
Efeitos da Spirulina Platensis como anti-
inflamatório em humanos: uma revisão / Caroline
Schardong Boligon. -- 2015.
33 f.

Orientador: Renato Borges Fagundes.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa
de Pós-Graduação em Ciências em Gastroenterologia e
Hepatologia, Porto Alegre, BR-RS, 2015.

1. Antiinflamatórios. 2. Spirulina Platensis. I.
Borges Fagundes, Renato, orient. II. Título.

DEDICATÓRIA

A minha mãe Geni Maria e ao meu pai Pedro José pelo amor, carinho e dedicação incansáveis. Sem o apoio deles nada disso seria possível.

A minha irmã Danessa que me acolheu em Porto Alegre e me incentivou do início ao fim sempre com carinho e paciência.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus por ter me dado a vida e tantas vezes renovado minha fé e esperança e, por ter colocado pessoas especiais no meu caminho.

A minha amiga, colega e confidente Maíra Perez que foi incansável no auxílio desta revisão, compartilhando seus conhecimentos, suas experiências e se dedicando junto comigo em cada etapa e em cada dificuldade, sempre com suas palavras de carinho e incentivo.

Ao meu orientador Prof. Dr. Renato Borges Fagundes por acreditar em meu potencial e pela paciência e auxílio dispensados durante as etapas do mestrado.

A minha família que, mesmo distante, me confortou com carinho, compreensão, e estímulo nos momentos difíceis.

A minha irmã Danessa e meu cunhado Marcelo por terem me acolhido em Porto Alegre com tanto carinho e dedicação.

A Prof. Dra. Sandra Vieira que sempre com um sorriso acolhedor e carinhoso me estimulou e instigou a acreditar em meu potencial.

Ao Serviço de Nutrição da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre pela compreensão nas inúmeras vezes que tinha aula em horário de trabalho.

As amigas queridas que compartilham comigo as angústias e dificuldades sempre me ouvindo e auxiliando: Estefânia Cazarolli, Cristiane Betinelli, Juliara Lorenzoni, Lana Treiguer, Ana Reginatto e Thaíssa Meller.

A amiga distante que muito auxiliou na busca de artigos Darli Massardo.

Agradeço a secretária do programa Moema Goulart que tantas vezes me auxiliou, ouviu e resolveu minhas dúvidas e pela amizade construída.

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

COX-2 - ciclooxigenase 2

FDA - Food and Drug Administration

HDL - lipoproteínas de alta densidade

ICAM - moléculas de adesão intercelular

IFN -- Interferon

IL - interleucinas

INOS- Inducible nitric oxide synthase

LDL - lipoproteínas de baixa densidade

NASA - National Aeronautics and Space Administration

NK - Natural Killer

OMS - Organização Mundial da Saúde

PCR - Proteína C Reativa

PCR-US - Proteína C reativa ultra sensível

SAA - Proteína Amilóide Sérica

TNF - Fator de Necrose Tumoral

VCAM - molécula de adesão da célula vascular

VLDL- lipoproteínas de muito baixa densidade

SUMÁRIO

RESUMO.....	07
ABSTRACT.....	08
1 - INTRODUÇÃO.....	09
2 - FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	10
2.1 <i>Spirulina platensis</i>	10
2.2 Inflamação.....	13
2.3 Marcadores Inflamatórios.....	14
3- JUSTIFICATIVA.....	16
4 - QUESTÃO DE PESQUISA.....	16
5 - HIPÓTESE.....	17
6 - OBJETIVOS.....	17
7 - ARTIGO CIENTÍFICO.....	17
8 - CONCLUSÕES.....	32
9 - PERSPECTIVAS.....	33
10 - REFERÊNCIAS DA FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	34

RESUMO

Objetivo: revisar sistematicamente os efeitos da *Spirulina platensis* em marcadores inflamatórios em humanos.

Métodos: foi realizada busca por ensaios clínicos randomizados, realizados em humanos adultos com o objetivo de verificar os efeitos da *Spirulina Platensis* sob marcadores inflamatórios. A busca foi efetuada até outubro de 2015 nas bases de dados Medline via Pubmed, Cochrane Central, Clinical Trials, Scielo, LILACS, banco de teses da CAPES, assim como em bancos de *grey literature*.

Resultados: Identificados vinte e oito estudos dos quais foram elegíveis três ensaios clínicos randomizados. A amostra foi constituída de 34 a 78 participantes, de ambos os sexos, com idade variando de 18 a 87 anos. Os marcadores inflamatórios avaliados foram: IL-2, IL-6, e TNF- α e a intervenção foi feita com cápsulas de *Spirulina platensis* versus placebo. A IL-2 foi avaliada em dois estudos porém, não foi possível realizar a metanálise, pois um dos artigos não descrevia os valores encontrados em seu grupo controle. A IL-6 ao ser analisada em conjunto, não demonstrou diferença significativa com o uso da *Spirulina platensis* [-0,36 (IC95%: -0,90 a 0,18), com I²=0%]. Quanto ao TNF- α não houve diferença significativa com o uso da *Spirulina platensis* [-0,03 (IC95%: -0,42 a 0,37)] com teste de inconsistência mostrando moderada heterogeneidade e insignificância estatística [I²= 31%, P= 0,23].

Conclusão: A informação disponível sobre o tema proposto é escassa e o efeito da *Spirulina platensis* sobre os marcadores inflamatórios se mostrou inconsistente. Ensaio clínicos randomizados adicionais com maior número de participantes e melhores avaliações dos marcadores são necessários para verificar o real papel anti-inflamatório da *Spirulina platensis*.

Palavras-chaves: *Spirulina platensis*. Anti-inflamatório. Marcadores inflamatórios.

ABSTRACT

Objective: Perform a systematic review on the anti-inflammatory effects of *Spirulina platensis* in humans.

Methods: A search was conducted in Medline via PubMed, Cochrane Central and Clinical Trials until October 2015 and dissertations published in CAPES, and gray literature banks for randomized controlled trials performed in adults to assess the anti-inflammatory effects of *Spirulina platensis*.

Results: The search identified twenty eight articles. Only three randomized clinical trials were eligible for this study. The sample ranged between 34 and 78 participants, both genders, with the age ranged from 18 to 78 years. The measurements of inflammatory outcome were assessed through IL-2, IL-6, and TNF- α . The intervention was capsules of *Spirulina platensis* versus placebo. The IL-2 was evaluated in two studies but it was not possible to evaluate the results together through meta-analysis because one of the articles did not describe the values in the control group. IL-6, when analyzed together, showed no significant difference between *Spirulina platensis* and placebo [-0.36 (95% CI: -0.90 to 0.18), with I² = 0%]. Regarding the TNF- α no significant difference was found [-0.03 (95% CI: -0.42 to 0.37)]. The inconsistency test showed moderate heterogeneity and no statistical significance [I² = 31%, P = 0.23].

Conclusion: The available information on anti-inflammatory effects of *S. platensis* is scarce. *Spirulina platensis* presented no significant effect on the inflammatory markers. Additional randomized clinical trials, with more participants and better markers assessments are needed to verify the real anti-inflammatory role of *Spirulina platensis*.

Keywords: *Spirulina platensis*. Anti-inflammatory. Inflammatory markers

1 - INTRODUÇÃO

A *Spirulina platensis* é uma cianobactéria filamentosa multicelular que vêm sendo utilizada na alimentação humana desde a pré-história (1) e apresenta elevado teor de proteína (até 70%), e quantidades elevadas de ácidos graxos essenciais, minerais, vitaminas (especialmente B12) e pigmentos com atividade antioxidante como os carotenoides (2,3,4)

Spirulina é considerada um produto nutracêutico com diversos efeitos benéficos e tem sido relatado que atua na prevenção de hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, algumas doenças inflamatórias, alergias, câncer, infecções virais, doenças cardiovasculares, diabetes e outras doenças metabólicas e em toxicidade induzida por drogas (2,5,6).

Deng e Chow (7) sugerem que a *Spirulina* apresenta atividades antioxidantes e / ou anti-inflamatórias no entanto, poucos ensaios clínicos em humanos foram efetuados até agora para confirmar tais atividades.

Vários mediadores participam ativamente da resposta inflamatória: quimiocinas, enzimas plasmáticas, mediadores lipídicos, citocinas (IL-1, IL-6 e TNF- α). Em alguns casos o processo inflamatório agudo não é completamente resolvido, e o mesmo se perpetua levando à inflamação crônica, (8) Sugere-se que a *Spirulina Platensis* poderia ter efeito em alguma etapa do processo inflamatório que é caracterizado por uma cascata de eventos fisiológicos que promovem proteção aos tecidos, restringindo os danos no local da infecção ou injúria, podendo ter efeitos deletérios quando utilizada de forma exacerbada. Em geral uma resposta inflamatória aguda é de curta duração e, além de uma reação local, ocorre também uma reação sistêmica (8).

O objetivo do presente estudo foi revisar sistematicamente os efeitos anti-inflamatórios da *Spirulina platensis* em seres humanos.

2 - FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 *Spirulina platensis*

O termo *Spirulina* se refere a um grande número de espécies de bactérias que pertencem ao filo Cyanobacteria. Trinta e cinco espécies já foram identificadas. As espécies mais comumente utilizadas na dieta são *S. máxima*, *S. platensis* e *S. fusiformes* (9).

A cianobactéria *Spirulina* vem sendo utilizada na alimentação humana por vários séculos. Quando os espanhóis conquistaram o México, descobriram que os astecas consumiam essa microalga na forma de molho à base de cereais conhecido como *chimolli*. Na África a comunidade étnica dos Kanembous colhia a *Spirulina* no lago Chad, desidratava e moldava em tabletes para a venda no mercado local. Os Kanembous também preparavam o *dihé*, um molho à base de *Spirulina*, salsa e pimenta, utilizado para acompanhar preparações à base de milho, carnes e peixes, sendo consumido em 70% das suas refeições (10; 11).

A *Spirulina* é legalmente autorizada como complemento alimentar nos Estados Unidos pelo FDA (Food and Drug Administration) e também na Europa e no Japão sem apresentar efeitos nocivos ao organismo (12). No Brasil a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) permite sua comercialização desde que o produto final no qual o microrganismo tenha sido adicionado esteja devidamente registrado (13).

A *Spirulina* apresenta alto conteúdo proteico (60 a 70% do seu peso seco) e é considerada uma das fontes mais ricas de pró-vitamina A (beta-caroteno) e de ferro absorvível, além de apresentar altos níveis de vitaminas e outros minerais, compostos fenólicos, ficocianina, ácido gama-linolênico e outros ácidos graxos essenciais (14,15).

As proteínas apresentam excelente qualidade com um índice balanceado de aminoácidos essenciais com digestibilidade de 70% (15). Entre os pigmentos que compõe a *Spirulina*, verifica-se a presença da ficocianina (20% do peso seco) e dos carotenoides (0,37%) (16). O ácido gama-linolênico se destaca entre os ácidos graxos e representa de 20 a 25% dos lipídios presentes na mesma (17). O β -caroteno compreende 80% do conteúdo de carotenoides da *Spirulina*. Um estudo com cinco mil crianças indianas que receberam uma dose diária de 1g de *Spirulina* demonstrou diminuição da

deficiência crônica de vitamina A de 80% para 10%, após cinco meses de tratamento (18).

A OMS (Organização Mundial da Saúde) classificou a *Spirulina* como um superalimento, devido ao seu alto teor nutritivo principalmente proteico. A NASA considera um excelente alimento para viagem espacial, pois uma pequena quantidade pode fornecer uma ampla variedade de nutrientes (19).

A *Spirulina* é considerada um alimento nutracêutico com diversos efeitos benéficos sobre uma variedade de doenças. Tem sido relatado que o consumo de *Spirulina* como suplemento na dieta atua na prevenção de hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, doenças inflamatórias, alergias, câncer, infecções virais, doenças cardiovasculares, diabetes e outras doenças metabólicas e na toxicidade induzida por drogas (2; 5; 6).

Deng e Chow, em 2010 descreveram alguns benefícios da *Spirulina* em modelo animal. Alguns estudos citados demonstram atividade hipolipemiante da *Spirulina* com redução do colesterol sérico total, LDL e VLDL. Em outros estudos foram demonstradas melhorias no perfil lipídico como aumento do HDL e redução nos triglicerídeos (7). Os benefícios hipolipemiantes da *Spirulina* foram demonstrados também em estudos com humanos. Em um estudo realizado com 36 voluntários saudáveis (16 do sexo masculino e 20 do sexo feminino) com idades entre 18 e 65 anos que ingeriram uma dose de 4,5 g por dia de *Spirulina* durante seis semanas, ocorreu redução do colesterol total e triglicerídeos de 10% e 28%, respectivamente. O colesterol HDL aumentou em 15%, enquanto que o colesterol LDL foi reduzido significativamente. Paralelamente a pressão arterial foi significativamente reduzida (3).

Benefícios hipolipemiantes e hipoglicemiantes foram demonstrados em pacientes com diabetes do tipo 2, em estudo randomizado e controlado com 25 pacientes. O grupo de estudo recebeu uma dose de 2 g / dia de *Spirulina* durante 2 meses e o grupo controle não recebeu qualquer intervenção. No final do estudo, o colesterol total no soro e a fração de LDL apresentaram-se reduzidos no grupo de estudo. O HDL esteve ligeiramente aumentado no grupo de estudo e níveis de jejum e pós-prandial de glicose apresentaram redução significativa. O nível de apolipoproteína B mostrou uma queda significativa com concomitante aumento do nível de apolipoproteína A1 no grupo controle. A conclusão do trabalho foi que em pacientes com diabetes do tipo 2 a *Spirulina* apresenta evidências de efeito

hipolipidêmico e hipoglicemiante (20).

Torres-Duran e colaboradores em 2007, estudaram além do efeito hipolipemiante o efeito da suplementação de *Spirulina* na hipertensão arterial em 36 indivíduos (16 homens e 20 mulheres com idade entre 18 e 65 anos) utilizando 4,5 g/dia de *Spirulina*, obtendo redução das pressões sanguínea sistólica e diastólica com o tratamento (3).

A *Spirulina* vem sendo utilizada no tratamento da desnutrição devido ao seu valor nutricional. Simpure et al, 2005 (21), realizaram na África um estudo comparativo sobre a recuperação nutricional de 170 crianças (84 HIV positivas e 86 HIV negativas) e demonstraram os benefícios da *Spirulina* no tratamento de crianças desnutridas, assim como um impacto positivo sobre a recuperação nutricional de crianças infectadas pelo HIV. Outro estudo realizado pelos mesmos autores comparou os benefícios nutricionais de dietas compostas de *Spirulina* para 550 crianças desnutridas menores de cinco anos observando melhora no peso corporal em todas as crianças (22).

A *Spirulina* apresenta alguns compostos responsáveis por ações antioxidantes, entre eles carotenoides, tocoferóis e compostos fenólicos. As propriedades quelantes de ferro apresentadas pela *Spirulina* foram identificadas quando células de neuroblastoma humano *in vitro* foram expostas a quantidades tóxicas de ferro, seguido de exposição à *Spirulina* sendo observada redução do estresse oxidativo induzido pelo ferro (23). Um estudo realizado com pacientes geriátricos aos quais foi administrada *Spirulina* por 16 semanas observou-se aumento dos níveis de antioxidante no plasma destes pacientes (24). Um estudo duplo-cego, controlado com placebo, com indivíduos após o exercício, demonstrou redução da creatina quinase, (indicador de desagregação muscular, dano muscular ou fadiga) no grupo suplementado com *Spirulina*. Além disso foi observado que o tempo de exaustão no exercício em esteira aumentou em 52 segundos no grupo tratado com *Spirulina* (25).

Os efeitos antioxidantes e também anti-inflamatórios da *Spirulina* são devido a alguns de seus componentes como ficocianina e β -caroteno. As propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias da ficocianina foram relatadas pela primeira vez em 1998. Ficocianina tem a capacidade de eliminar os radicais livres, incluindo alcoxil, hidroxilo e radicais peroxil. Ela também diminui a produção de nitrito e inibe a peroxidação lipídica. O mecanismo anti-inflamatório da ficocianina consiste na inibição da

formação de citocinas pró-inflamatórias, como TNF α , na supressão da expressão de COX-2 (cyclooxygenase-2) e redução da produção de prostaglandina E (7).

Com a administração de *Spirulina* foram observados efeitos importantes no sistema imunológico em estudos com animais. Em ratos houve redução significativa de IgE e aumento de IgA, assim como aumento da atividade fagocítica, aumento da proliferação de células do baço e aumento na produção de anticorpos. Em galinhas ocorreu aumento da atividade fagocitária, aumento das células NK e aumento na produção de anticorpos. Em gatos, em experimento in vitro, foi observado o aumento da atividade fagocitária (6).

O β -caroteno tem sido apontado, em alguns relatos, como responsável por atividades antioxidante e anti-inflamatórias. Em estudo que comparou β -caroteno, vitamina E, e óxido nítrico como antioxidantes na membrana, foi verificado que β -caroteno determinou proteção contra a peroxidação lipídica mediada por oxigênio. Outro estudo identificou que β -caroteno inibe a produção de ácido nítrico e óxido de prostaglandina E, e suprime a expressão de iNOS, inibidores de COX-2, TNF- α , e IL-1 β . Além disso, β -caroteno suprimiu a transcrição de citocinas inflamatórias incluindo IL-1 β , IL-6, e IL12 na linha celular de macrófagos estimuladas por lipopolissacarídeo (LPS) ou IFN-gama (7).

Embora a *Spirulina* seja considerada segura para consumo humano por sua longa história como fonte de alimento poucos ensaios clínicos em humanos foram efetuados até o momento presente para estudar suas propriedades antioxidantes e / ou anti-inflamatórias.

2.2 Inflamação

A inflamação pode ser definida como um conjunto de alterações bioquímicas, fisiológicas e imunológicas em resposta a estímulos agressivos ao organismo. Na resposta de fase aguda, que ocorre logo após a agressão há aumento do fluxo sanguíneo e da permeabilidade vascular, com recrutamento de leucócitos na região e liberação de mediadores inflamatórios. A transição para fase crônica é caracterizada pelo desenvolvimento da resposta humoral específica e da resposta imune celular. Embora possa suceder a inflamação aguda, a inflamação crônica, com frequência, começa de maneira insidiosa, como resposta de baixo grau, latente e, muitas vezes assintomática (26,27)

Tanto na resposta de fase aguda quanto na crônica, mediadores inflamatórios agem de maneira local ou sistêmica, ativando outras células envolvidas com o processo inflamatório (células endoteliais, fibroblastos e células do sistema fagocítico mononuclear), ampliando, assim, a resposta inicial ao agente lesivo. Pode ser verificada a ocorrência de febre, hipotensão, leucocitose, caquexia, além de alterações no metabolismo de lipídios e lipoproteínas (aumento dos níveis de triglicérides e da secreção de VLDL e supressão da oxidação de ácidos graxos) (26,27).

Vários mediadores inflamatórios têm sido utilizados na prática clínica e em estudos associados à patogênese do diabetes melitus tipo 2 (DM2), da hipertensão arterial, da obesidade e da aterosclerose. Entre estes marcadores, destacam-se as moléculas de adesão solúveis (por exemplo, E-selectina, P-selectina, molécula de adesão intracelular-1 (ICAM-1), molécula de adesão de célula vascular-1 -(VCAM-1)), as citocinas (por exemplo, fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), as interleucinas (por exemplo, IL-1-beta, -6, -8, -10), as proteínas de fase aguda (por exemplo, fibrinogênio, proteína amilóide sérica A (SAA), PCR ultra-sensível (PCR-US) e a contagem total de leucócitos. A SAA, a PCR-US e a contagem total de leucócitos são os marcadores mais estáveis. Este último se destaca, ainda, como aquele cujos níveis apresentam menor coeficiente de variação entre os estudos (28).

2.3 Marcadores Inflamatórios

As citocinas são proteínas de baixo peso molecular produzidas por diferentes tipos celulares do sistema imune. A produção de citocinas é desencadeada quando as células são ativadas por diferentes estímulos, como agentes infecciosos, tumores ou estresse. As citocinas atuam na comunicação entre as células, promovendo a indução ou regulação da resposta imune (29).

As citocinas dependem da ligação com receptores específicos da membrana celular para desempenharem sua função. Normalmente existe a necessidade da ação de mais de uma citocina para uma resposta imune, por isso elas agem em conjunto, formando uma rede complexa, na qual a produção de uma citocina influenciará a produção ou resposta de outras (31,32). Se a célula que produziu a citocina for um linfócito ativado, esta é chamada de linfocina. As interleucinas (IL), atualmente numeradas, são citocinas produzidas por células hematopoiéticas. Outros exemplos de citocinas são: interferons (IFN), fatores de necrose tumoral (TNF), fatores de crescimento e quimiocinas (31,32).

As citocinas influenciam a atividade, a diferenciação, a proliferação e a sobrevivência da célula imunológica, assim como regulam a produção e a atividade de outras citocinas, que podem aumentar (pró-inflamatórias) ou atenuar (anti-inflamatórias) a resposta inflamatória, dentre as consideradas pró-inflamatórias, temos as interleucinas (IL) 1,2,6,7 e TNF. As anti-inflamatórias são IL-4, IL-10, e IL-13 (33).

Cada interleucina atua sobre um grupo limitado e específico de células que expressam receptores adequados para cada uma delas (29). A IL-2 é produzida principalmente por células T ativadas, principalmente CD4+, sendo sintetizada em menor quantidade por células B e monócitos. A IL-2 contribui para a geração e a propagação de respostas imunológicas específicas do antígeno. Devido ao fato de sua meia-vida plasmática ser inferior a 10 minutos, a IL-2 normalmente não é detectada em lesões agudas (33)

A IL-6 pode ser produzida por vários tipos celulares, sendo as células B, T e monócitos as principais fontes, é uma citocina pleiotrópica que influencia respostas imunes antigênicas específicas e reações inflamatórias, sendo um dos maiores mediadores da fase aguda da inflamação. É considerado o marcador mais relevante do grau de lesão tecidual durante um procedimento cirúrgico, em que o aumento excessivo e prolongado está associado a uma maior morbidade pós-operatória (33).

A IL-6 é uma citocina pró-inflamatória que promove maturação e ativação de neutrófilos, maturação de macrófagos e diferenciação/manutenção de linfócitos-T citotóxicos e células "natural killer" (33).

O fator de necrose tumoral (TNF) é uma citocina envolvida em inflamações sistêmicas e é um membro de um grupo de citocinas que estimulam a reação de fase aguda. É secretada principalmente por macrófagos e está envolvida na regulação de um amplo espectro de processos biológicos incluindo proliferação celular, diferenciação, apoptose, metabolismo lipídico e coagulação. e tem sido implicada em uma variedade de doenças incluindo doenças autoimunes, infecções virais e câncer. O TNF alfa é o responsável pela Síndrome da Caquexia. Essa síndrome é caracterizada por consumo dos estoques de gordura corporal e perda progressiva do apetite (anorexia). Essa síndrome, encontrada em pacientes terminais de câncer ou AIDS, é o resultado da exposição contínua e prolongada do corpo a altas doses de TNF alfa. Esse regime de produção e liberação de TNF alfa é característico de doenças malignas e infecções virais (8,29).

O interferon (IFN) é produzido pelas células do organismo para defesa contra agentes externos como vírus, bactérias. Os interferons induzem um estado de resistência antiviral em células teciduais não infectadas. O vírus, ao replicar-se, vai ativar o gene codificante do interferon. Após a síntese proteica, a proteína sai da célula e entra na corrente sanguínea, até chegar às células vizinhas que ainda não foram atacadas. A proteína liga-se à membrana celular dessas células e ativa o gene codificante de proteínas antivirais. Estas proteínas antivirais, por sua vez, vão impedir a replicação do vírus. Os IFN são produzidos na fase inicial da infecção e constituem a primeira linha de resistência a muitas viroses. Um grupo de interferons (IFN-alfa e IFN-beta) é produzido por células infectadas por vírus, e outro grupo (IFN-gama) é sintetizado por determinadas células ou linfócitos T ativados (30).

3- JUSTIFICATIVA

3.1 JUSTIFICATIVA DA PESQUISA

Existem alguns estudos sobre *Spirulina platensis* e seus efeitos em animais e em seres humanos, com resultados controversos e contraditórios. Também existem muitas informações disponibilizadas em meios de comunicação impresso e eletrônico sugerindo efeitos positivos da *Spirulina platensis*, em seres humanos indicando que além das propriedades nutracêuticas a mesma apresenta propriedades terapêuticas no sistema imunológico. Em virtude do exposto este estudo se propõe a revisar sistematicamente e sintetizar os trabalhos científicos que estudaram os efeitos anti-inflamatórios da *Spirulina platensis* em seres humanos.

3.2 JUSTIFICATIVA DO DELINEAMENTO

A Revisão Sistemática da literatura é um estudo que tem por objetivo reunir estudos semelhantes, avaliando-os criticamente em sua metodologia e reunindo-os numa análise estatística, quando possível. Por sintetizar estudos primários semelhantes e de boa qualidade é considerada o melhor nível de evidência para tomadas de decisões em questões sobre a terapêutica ou estratégias de prevenção (28). A análise de ensaios clínicos randomizados e sua agregação em revisões sistemáticas permitem delimitar o conhecimento disponível e gerar novas hipóteses.

4- QUESTÃO DE PESQUISA

A *Spirulina platensis* apresenta ação anti-inflamatória em seres humanos?

5- HIPÓTESE

Existem evidências de que a *Spirulina platensis* apresenta efeitos anti-inflamatórios em humanos.

6- OBJETIVOS

6.1 Objetivo Geral

- Revisar sistematicamente os efeitos da *Spirulina Platensis* em marcadores inflamatórios em seres humanos.

6.2. Objetivo específico

- Revisar sistematicamente estudos com *Spirulina platensis* em humanos tendo como desfechos a mensuração de citocinas inflamatórias.
- Realizar metanálise dos dados

7- TARGET JOURNAL

Planta Médica

8 - ARTIGO CIENTÍFICO

Anti-inflammatory effects of *Spirulina platensis* in humans: a systematic review

Caroline Schardong Boligon^{1,2}, Máira Pereira Perez^{1,2}, Renato Borges Fagundes^{1,3}

Affiliation

¹ Programa de Pós-Graduação Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

² Hospital Mãe de Deus Porto Alegre, Brazil

³ Departamento de Clínica Médica, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Brazil.

Correspondent author

Renato B. Fagundes, MD, PhD

Avenida Grécia 1000, ap. 1002 Torre B 90350-070

Porto Alegre, RS, Brazil.

E-mail: fagundesrb@gmail.com

Phone: +55 5181018818

Abstract

The aim of this study was to perform a systematic review of the anti-inflammatory effects of *Spirulina platensis* (Spirulina) in humans. We searched for randomized clinical trials evaluating the anti-inflammatory effects of *S. platensis* in adults, published until October 2015, using the databases Medline/PubMed, Cochrane Central, Clinical Trials, SciELO, LILACS, CAPES and sources of grey literature. We found 28 studies on the subject, but only three were eligible. The number of participants ranged between 34 and 78, and their age between 18 and 87 years. The inflammatory markers assessed were IL-2, IL-6, and TNF- α . The intervention was Spirulina capsules versus placebo. Although IL-2 was evaluated in two studies, a meta-analysis was not possible due to missing data from the placebo group. There was no significant difference between Spirulina and placebo groups regarding IL-6 (-0.36; 95% CI = -0.90 to 0.18; $I^2 = 0\%$), and TNF- α (-0.03; 95% CI = -0.42 to 0.37). For TNF- α , the inconsistency test showed moderate heterogeneity and no statistical significance ($I^2 = 31\%$; $P = 0.23$). This systematic review found no evidence of significant anti-inflammatory effects of Spirulina. Comprehensive studies about this subject are scarce and further, and well-planned, clinical trials are needed.

Key words

Spirulina, *Spirulina platensis*, anti-inflammatory, inflammatory markers

Introduction

The inflammatory process is characterized by a cascade of physiological events that promote the protection of tissues and restrict the damage at the site of infection or injury. Several mediators participate in the inflammatory response, such as chemokines, plasma enzymes, lipid mediators and cytokines [1].

Spirulina (*Spirulina platensis*) is a nutritive, multicellular filamentous cyanobacteria used in the human diet since prehistoric times [2]. It is suggested Spirulina may affect the immune system through antioxidant and anti-inflammatory properties. Besides having a high nutritional value, due to high protein content (up to 70%), essential fatty acids, iron and B12 vitamin, Spirulina has carotenoids [3-5] and phycocyanin, which are elements with antioxidant activity. Phycocyanin has been known to have anti-inflammatory and antioxidant effects since 1998 [6].

Deng and Chow [7] reviewed the antioxidant and/or anti-inflammatory effects of Spirulina in animals, but there were few clinical trials evaluating such effects in humans. Here we performed a systematic review of these trials, to summarize the current knowledge of the anti-inflammatory effects of Spirulina in humans.

Results

Our search retrieved 28 articles, 17 of which were excluded after inspecting the title and abstract. After reading the full text of the remaining ten articles, seven were excluded due to the following reasons: two were systematic reviews [6,7], four studies did not address inflammatory markers [8-11], and one study was not performed with humans [12]. Therefore, three studies were included in the final analyses [13-15], and their main characteristics are listed in Table 1. All three studies were randomized clinical trials with sample sizes of 34 to 78 participants, males and females, with age ranging from 18 to 87 years. The markers IL-4 and IFN- γ were not included in the meta-analysis because they were addressed in only one study. The study conducted by Mao et al. [13] was included with the combination of the two intervention groups in one single group to be compared to the placebo. The group combination followed the Handbook for Systematic Reviews of Interventions guidelines (Part 3 Special Topics - 16.5.4 How to include multiple groups from one study)[16].

Risk of bias

Among the three studies included in this review, only one was blind for the participants, and in none of them the observers were blind to the outcomes. One of the studies described the random sequence generation and allocation. None conducted the intention-to-treat analysis. Only one study described losses and exclusion criteria. The evaluation of other biases was not possible due to lack of information. Risk of bias is shown in Table 2.

Spirulina effects on inflammatory markers

The three studies [13-15] performed an intervention using Spirulina capsules versus placebo. In all studies the intervention was conducted for 12 weeks. In two studies [14,15], patients received capsules with 8.0 g of Spirulina extract, and in the third study [13] the capsules had 1.0 and 2.0 g.

The IL-2 was evaluated in two studies [13,14]. In the study by Mao et al. [13] IL-2 was not affected by Spirulina, irrespective of dosage: even though the figures indicated a tendency of decreasing IL-2 with 2.0 g/day, the effect was not statistically significant. In Park et al. [14], the supplementation with Spirulina increased IL-2 concentration significantly in males ($p < 0.0001$). In females, however, IL-2 concentration increased in both groups (intervention and placebo), but only the difference between IL-2 levels before and after Spirulina was statistically significant ($p < 0.05$). A meta-analysis with these two studies was not possible because the values for placebo group were not mentioned in Mao et al. [13].

IL-6 was evaluated in the studies of Lee et al. [15] and Park et al. [14]. In the former, there were no differences in IL-6 concentration after 12 weeks of intervention, in both groups [15]. On the other hand, in Park et al. [14] the concentration of IL-6 decreased significantly ($p < 0.05$) in males using Spirulina, but not in females. Taken together, however, the result points to an overall non-significant effect (-0.36; 95% CI = -0.90 to 0.80) and heterogeneity was absent ($I^2 = 0\%$), as shown in Fig. 1.

Lee et al. [15] and Park et al. [14] also evaluated TNF- α . In both studies Spirulina did not affect TNF- α concentration. Taken together, the difference of -0.03 between the groups was not statistically significant (95% IC = -0.42 to 0.37). The inconsistency test (I^2) indicated a moderate heterogeneity ($I^2 = 31\%$), but it was not statistically significant ($P = 0.23$).

Discussion

The present review aimed to identify the anti-inflammatory effects of Spirulina in humans, using cytokines as inflammatory markers. Although we found 28 studies in the medical literature few of them were conducted with humans adults. The combined results of three clinical trials with humans included in this study clearly shows methodological inconsistencies.

Cytokines are proteins produced by lymphocytes, which control the behavior of immune cells. A study on human mononuclear peripheral blood cells demonstrated that Spirulina stimulated the production interleucin-1 β , IL-4, and interferon- γ , circa two, 3.3 and 13.6 times the basal levels, respectively [17]. In the non-academic literature Spirulina is often presented as a well-studied nutraceutical product with multiple properties, including anti-inflammatory properties. However, in our results there was no evidence that Spirulina has a modifier effect on IL-2, IL-6 or TNF- α .

Besides the inflammatory markers addressed here, other markers are routinely used in clinical practice: fibrinogen, serum amyloid A proteins, C-reactive protein, and the behavior of peripheral blood cells (leukocytes, monocytes and lymphocytes) [18]. Although important, these markers were not evaluated in any study [18]. The C-reactive protein, for instance, promotes the interaction between the humoral and cell immunity, and may be altered in patients with obesity, high blood pressure, chronic fatigue, depression, and diabetes, as well as in smokers and elderly people. Therefore, this protein should be considered as a marker in studies with diabetic and elderly patients, as in the studies included in the present review [14,15]. The inflammatory process is a very complex reaction, where markers may play multiple roles and present different metabolic routes. It is important to assess specific markers, or a set of markers, in a way that they can predict the risk of a disease in a given population presenting the clinical condition of interest.

Some studies addressed the benefits of Spirulina in patients with clinical conditions such as hypercholesterolemia, hyperglyceridemia, cardiovascular and inflammatory diseases, cancer and viral infections [4,6]. Studies with animal models showed evidences of hypolipidemic activity, and studies with humans indicated antioxidant effects. Although anti-inflammatory effects seem to occur in preclinical studies, the clinical trials available up to now are few and inconsistent to demonstrate this effect in humans.

To the best of our knowledge, this is the first systematic review and meta-analysis addressing

the effects of Spirulina on inflammatory markers. We tried to minimize the bias by following strictly the procedures for such kind of study. We not only searched the most relevant databases to identify potential studies, but also looked for unpublished studies in local data bank. We also examined manually all references lists from relevant studies. The inconsistency test showed moderate heterogeneity among the pooled studies although they presented some clinical heterogeneity and high risk of bias according to the Cochrane Collaboration's tool for assessment of bias risk [16]. Therefore, the lack of studies, data discrepancies, and inadequate methodologies were the main limitations of this review. The lack of evidence of Spirulina effect on the inflammatory markers we found in this study does not mean this effect does not exist. Absence of evidence is not the same of evidence of absence.

Spirulina is considered safe for human consumption due to its long-standing use and positive effects in animals. However, further clinical studies are needed to establish if it has anti-inflammatory benefits in human beings. Those clinical trials need to be well planned, with random selection of patients and controls, process of randomization clearly stated, standardized intervention dosage and defined outcomes.

Conclusion

In summary, this meta-analysis does not support the anecdotal information on the effects of Spirulina on inflammation. This study shows no evidence of Spirulina effects on anti-inflammatory markers. The current available information on this subject is scarce and discrepant. Well-planned randomized clinical trials are needed to ascertain the anti-inflammatory effects of Spirulina in human beings.

Materials and Methods

Search terms

We searched the Medline/Pubmed, Cochrane Central, Clinical Trials databases, and the Scientific Electronic Library (SciELO), Literature In The Health Sciences In Latin America And The Caribbean (LILACS), CAPES Database of Thesis and Dissertations (Brazil) and other sources of grey literature. No restrictions were made regarding the language or publication type (abstract, full text). The references within the search results were also considered as a possible source of articles.

The search terms were "spirulina"[MeSH Terms] OR "Spirulina"[All Fields], "anti-inflammatory agents"[All Fields] OR "anti-inflammatory agents"[MeSH Terms] OR "Antiinflammatory" [All Fields] OR "Antiinflammatory" [MeSH Terms], "interleukins"[MeSH Terms] OR "interleukins" [All Fields]. Terms related to the study method, which was the randomized clinical trial (RCT), were also included. The search limit date was set at May 2015.

This study was registered in the PROSPERO database (International Prospective Register of Systematic Reviews), under the number CRD42014014769.

Inclusion and exclusion criteria

All RCTs evaluating the anti-inflammatory effects of Spirulina in human adults, were included. The intervention type was the administration of Spirulina extracts in capsules in comparison with placebos. The outcomes of interest were the inflammatory markers IL-2, IL-4, IL-6, TNF- α , and IFN. The flow diagram of the selection process is shown in Fig. 2.

Study selection and data extraction

Two authors (CSB and MPP) analyzed independently the titles and abstracts of all articles retrieved by the search. All articles that did not meet the inclusion criteria were excluded. The remaining articles were analyzed upon reading the complete text, to identify the suitable ones. Discrepancies between the authors' evaluations were discussed until an agreement was reached. When necessary, a third author (RBF) arbitrated the disagreement. The data extraction was also performed independently by two authors. The variables extracted were target population, sample size, type, and duration of the intervention, and the results related to changes in the inflammatory process.

Quality assessment

To avoid bias and improve the quality of the results, the Cochrane Collaboration's tool for assessing the risk of bias [16] was used. The following items were included: random sequence generation, allocation concealment, blinding of participants and personnel, blinding of outcome assessment, selective reporting, and other biases. Each item was scored as "low risk of bias", "high risk of bias", or "unclear risk of bias", according to the guidelines of the Cochrane Collaboration's Handbook for Systematic Reviews of Interventions. The assessment of risk of bias was performed independently by two authors.

Data analysis

The meta-analysis used random effect models. The effect sizes were obtained using the outcome values of three markers separately, IL-2, IL-6 and TNF- α , in the comparison of Spirulina versus placebo. Alpha <0.05 was considered statistically significant. Statistical heterogeneity of the treatment effect was evaluated using Cochrane's Q test and inconsistency test (I^2), where values above 25% and 50% were considered as moderate and high heterogeneity, respectively. The sensitivity analysis was applied considering the differences in the Spirulina dosage used in the studies, and the meta-analysis was redone to include only the studies that fulfilled certain criteria.

Following the guidelines of the Cochrane Collaboration's Handbook for Systematic Reviews of Interventions (7.7.3.2 Obtaining standard deviations from standard errors and confidence intervals for group means), standard errors (SE) were converted to standard deviations (SD) using the formula $SE=SD/\sqrt{n}$ [16]. All statistical analysis were conducted using the Review Manager 5.1 software (The Cochrane Collaboration).

Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- ¹ *Eming SA, Krieg T, Davidson JF.* Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. *Journal of Investigative Dermatology* 2007; 127:514-525.
- ² *Ali SK, Saleh AM.* Spirulina An-Overview. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 2012; 4:9-15.
- ³ *Khan Z, Bhadouria P, Bisen PS.* Nutritional and therapeutic potential of Spirulina. *Curr Pharm Biotechnol* 2005; 6: 373–379.
- ⁴ *Torres-Duran PV, Ferreira-Hermosillo A, Juarez-Oropeza MA.* Antihyperlipemic and antihypertensive effects of Spirulina maxima in an open sample of mexican population: A preliminary report. *Lipids Health Dis* 2007; 6: 6–33.
- ⁵ *Capelli B, Cysewski GR.* Potential health benefits of spirulina microalgae. *Nutra Foods* 2010; 9:19–26.

- ⁶ *Kulshreshtha A, Zacharia AJ, Jarouliya U, Bhadauriya P, Prasad GB, Bisen PS.* Spirulina in health care management. *Curr Pharm Biotechnol* 2008; 9:400–405.
- ⁷ *Deng R, Chow T.* Hypolipidemic, antioxidante, and antiinflammatory activities of microalgae Spirulina. *Cardiovasc Ther* 2010; 28: 33–45.
- ⁸ *Kalafati M, Jamurtas AZ, Nikolaidis MG, Paschalis V, Theodorou AA, Sakellariou GK, Koutedakis Y, Kouretas D.* Ergogenic and antioxidante effects of spirulina supplementation in humans. *Med Sci Sports Exerc* 2010; 42:142–151.
- ⁹ *Samuels R, Mani UV, Iyer UM, Nayak, US.* Hypocholesterolemic Effect of *Spirulina* in patients with hyperlipidemic nephrotic syndrome. *J Med Food* 2002; 5: 91-96.
- ¹⁰ *Selmi C, Patrick SC, Fischer L, German B, Yang C, Kenny TP, Cysewski GR, Gershwin ME.* The effects Spirulina on anemia and imune function in senior citizens. *Cell Mol Immunol* 2011; 8: 248–254.
- ¹¹ *Shetty P, Shenai P, Chatra L, Rao PK.* Efficacy of Spirulina as on antioxidant adjuvante to corticosteroid injection in management of oral submucous fibrosis. *Indian J Dent Res* 2013; 24: 347–350.
- ¹² *Zheng J, Inoguchi T, Sasaki S, Maeda Y, McCarty MF, Fujii M, Ikeda N, Kobayashi K, Sonoda N, Takayanagi R.* Phycocyanin and phycocyanobilin from *Spirulina Platensis* protect against diabetic nephropathy by inhibiting oxidative stress. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2013; 304: 110–120.
- ¹³ *Mao TK, Van de Water J, Gershwin ME.* Effects of a Spirulina–Based dietary supplement on Cytokine production from allergic rhinitis patients. *J Med Food* 2005; 8: 27–30.
- ¹⁴ *Park HJ, Lee YJ, Ryu HK, Kim MH, Chung HW, Kim WY.* A randomized Double-blind, placebo-controlled study to establish the effects of Spirulina in elderly Koreans. *Ann Nutr Metab* 2008; 52: 322–328.
- ¹⁵ *Lee EH, Park J, Choi YJ, Huh KB, Kim WY.* A randomized study to establish the effects of Spirulina in type 2 diabetes mellitus patients. *Nutr Res Pract* 2008; 2: 295–300.
- ¹⁶ *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions version 5.1.0.* The Cochrane Collaboration, 2011. Available at: <http://community.cochrane.org/handbook>. Accessed August 16, 2015.
- ¹⁷ *Mao TK, Van de Water J, Gershwin ME.* Effect of Spirulina on the secretion of cytokines from peripheral blood mononuclear cells. *J Med Food* 2000; 3: 135–140.

¹⁸ *Elkind MSV, Luna JM, Coffey CS, McClure LA, Liu KM, Spitalnik S, Paik MC, Roldan A, White C, Hart R.* The levels of inflammatory markers in the treatment of stroke (LIMITS) study: Inflammatory biomarkers as risk predictors after lacunar stroke. *Int J Stroke* 2010; 5(2): 117-125.

Legends for figures

Fig 1 Analysis of the inflammatory markers between groups (Spirulina and placebo).

Fig 2 Flow diagram illustrating the selection of the studies included in this review.

Fig. 1

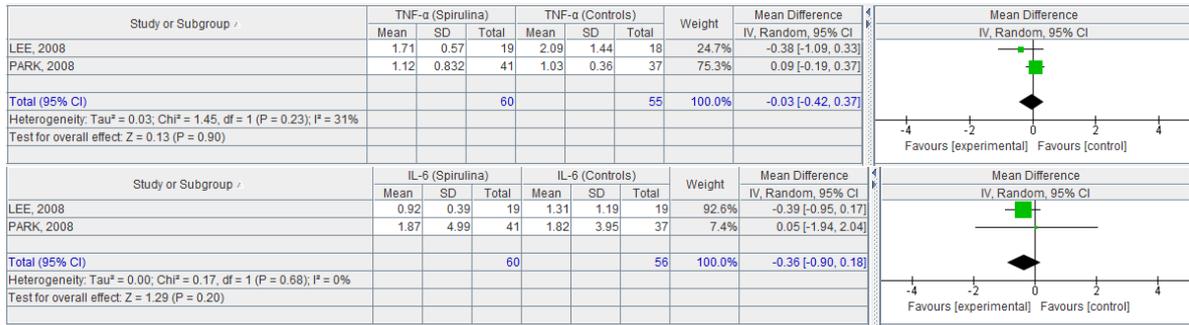


Fig 2

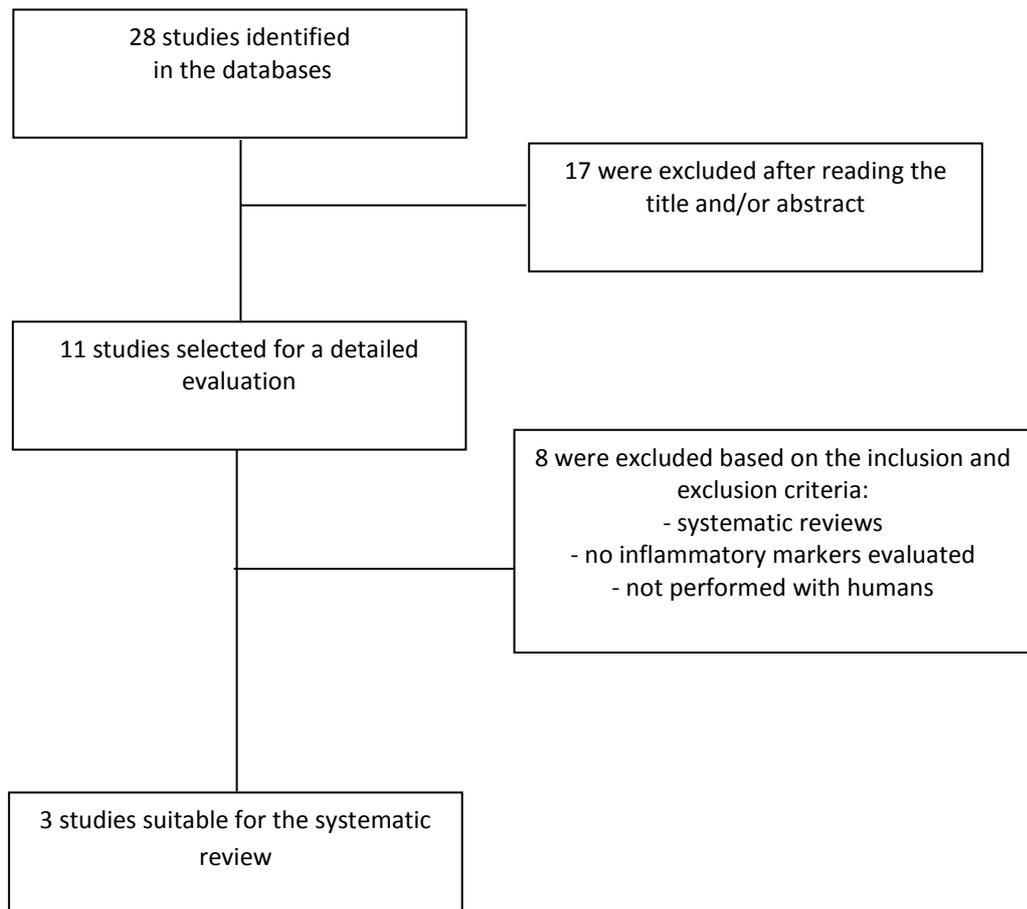


Table 1 Main characteristics of the studies included in this review.

Authors, year, location	Study type	Cases	Number of patients	Controls	Number of cases	Intervention (Spirulina extract)	Inflammatory markers accessed	OR (95% CI)
Park et al. [14] 2008, Seoul, Korea	RCT	Elderly patients (60-87 years old) Healthy, recruited through newspaper announcement.	78 35♀ 43♂	37 18♀ 19♂ (placebo)	41 17♀ 24♂	8.0 g/day for 12 weeks (40 capsules/day)	IL-2 IL-6 TNF-α MCP-1 C3	0.50 (-0.32 to 1.32) 0.05 (1.94 to 2.04) 0.09 (-0.19 to 0.37)
Lee et al. [15] 2008, Seoul, Korea	RCT	Elderly patients (50-56 years old) With Type II Diabetes, from a Diabetes Clinic in Seoul	37 17♀ 20♂	18 (placebo)	19	8.0 g/day for 12 weeks (40 capsules/day)	IL-6 TNF-α Adiponectina MDA	0.39 (-0.95 to 0.17) 0.38 (-1.09 to 0.33)
Mao et al. [13] 2005, California, USA	RCT	Adult patients (18-55 years old) With allergic rhinitis, no other health problem	34 divided in three groups (two intervention groups and one placebo group)	12 (placebo)	22 where: 12: 1.0 g/day 10: 2.0 g/day	1.0 g/day for 12 weeks (4 capsules/day) 2.0 g/day for 12 weeks (4 capsules/day)	IL-2 IL-4 IFN-γ	

Table 2. Risk of bias (Cochrane Risk of Bias Tool).

Study, Year	Random sequence generation	Allocation concealment	Blinding of participants and personnel	Blinding of outcome assessment	Intention-to-treat analysis	Description of inclusion and exclusion criteria
Park et al. [14], 2008	Not provided	Not provided	Low risk	Not provided	Not provided	Not provided
Lee et al. [15], 2008	Low risk	Low risk	Not provided	Not provided	Not provided	Not provided
Mao et al. [13], 2005	Not provided	Not provided	Not provided	Not provided	Not provided	Not provided

9 - CONCLUSÕES

- Os estudos existentes sobre Spirulina e sua ação anti-inflamatória são escassos e inconsistentes.
- Não existem evidências dos efeitos da Spirulina em marcadores inflamatórios em seres humanos
- Estudos futuros com delineamento adequado são importantes para identificar evidências dos efeitos anti-inflamatórios da Spirulina.

10 - PERSPECTIVAS

A importância de novos ensaios clínicos metodologicamente corretos fica evidente após a realização desta revisão. Atualmente estamos realizando um Ensaio Clínico Randomizado duplo cego e controlado com placebo, em pacientes portadores de Ca de cabeça e pescoço em tratamento quimioterápico e radioterápico concomitantes, com o objetivo de investigar o efeito da *Spirulina platensis* na incidência de mucosite. O projeto atualmente está na fase de coleta de dados.

11- REFERÊNCIAS DA FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

- 1 - Ali SK, Saleh AM. Spirulina An-Overview. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 2012; 4:9-15.
- 2- Khan Z, Bhadouria P, Bisen PS. Nutritional and therapeutic potential of Spirulina. Curr Pharm Biotechnol 2005; 6:373-379
- 3- Torres-Duran PV, Ferreira-Hermosillo A, Juarez-Oropeza MA. Antihyperlipemic and antihypertensive effects of Spirulina maxima in an open sample of mexican population: A preliminary report. Lipids Health Dis 2007; 6:1-8.
- 4 - Capelli B, Cysewski G R. Potential health benefits of spirulina microalgae. Nutra Foods 2010; 9(2):19 - 26
- 5 - Karkos PD, Leong SC, Karkos CD, Sivaji N, Assimakopoulos DA. Spirulina in clinical practice: Evidence-based human applications. Evid Based Complement Alternat Med 2008;1:14.
- 6 - Kulshreshtha A, Zacharia AJ, Jarouliya U, Bhadauriya P, Prasad GB, Bisen PS. Spirulina in health care management. Curr Pharm Biotechnol 2008; 9:400-405.
- 7- Deng R, Chow T. Hypolipidemic, antioxidante, and antiinflammatory activities of microalgae Spirulina. Cardiovascular Therapeutics 2010: 33-45.
- 8- Bilate A M B. Inflamação, citocinas, proteínas de fase aguda e implicações terapêuticas. Temas de Reumatologia Clínica 2007; 8(2): 47 - 51.
- 9 - Marles RJ, Barret ML, Barnes J, Gardiner P, Ko R, Mahady GB, et al. United States pharmacopeia safety evolution of Spirulina. Crit Ver Food Sci Nutr 2011; 51 (7): 593 - 604.
- 10- Habib MAB, Parvin M, Huntigton TC, Hasan MR. A review os culture, production and use of Spirulina as food humans and feeds for domestic animalss and fish. Food and agriculture Organization of the United Nations 2008; 1034: 1- 33.
- 11- Bertoldi FC, Sant'anna E, Oliveira JLB. Revisão: biotecnologia de microalgas. B Ceppa. 2008; 26 (1): 9-20.
- 12- FDA - Food and Drug Administration. Agency Response Letter GRAS Notice No. GRN 000127 CFSAN/Office Food aditive Safety. 2003. Disponível em: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fcn/fcnDetailNavigation.cfm?rpt=grasListing&id=127>
- 13- Brasil. Agência Nacional De Vigilância Sanitária. VII Lista dos novos ingredientes aprovados - Comissão Tecno - Científicas de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos. Disponível em URL: http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/novos_ingredientes.htm
- 14- Belay A, Ota Y, Miyakawa K, Shimamatsu H. Current knowledge on potencial health benefitss of Spirulina. J Appl Phycol 1993; 5 :235 - 41.
- 15- Von Der Weid D, Dillon JC, Falquet J. Malnutrition : a silente massacre. Geneve: atenna Technology 2000.
- 16- Ambrosi MA, Reinehr CO, Bertolin TE, Costa JAV, Colla LM. Propriedades de saúde de Spirulina spp. Ver. Ciênc. Farm. Básica Apl; 2008; 29 (2): 109 - 117.

- 17- Henrikson R. *Microalga Spirulina: super alimento del futuro*. Barcelona: Ediciones Urano S.A; 995.
- 18- Falquet J. *The nutritional aspects off Spirulina*. Antenna Technologies, 1997. Disponível em: http://antenna.ch/en/documents/AspectNut_UK.pdf
- 19- Khan Z, Bhadouria P, Bisen, OS. *Curr. Pharm. Biotechnol* 2005; 6: 373 - 379
- 20- Parikh P, Mani U, Iyer U. *Role of Spirulina in the Control of Glycemia and Lipidemia in Type 2 Diabetes Mellitus*. *J Med Food* 2001; 4:193-199.
- 21- Simpire J, Zongo F, Kabore F, Dansou D, Bere A, Nikiema JB, Pignatelli S, Biondi D, Ruberto G, Musumeci S. *Nutrition rehabilitation of HIV-infected and HIV-negative undernourished children utilizing Spirulina*. *Ann Nutr Metab* 2005; 49: 373-80.
- 22- Simpire J, Kabore F, Zongo F, Dansou D, Bere A, Pignatelli S, Biondi DM, Ruberto G, Musumeci S. *Nutrition rehabilitation of undernourished children utilizing Spiruline and Misola*. *Nutr J*. 2006; 5(3): 1-7.
- 23- Lobner M, Walsted A, Larsen R, Bendtzen K, Nielsen CH. *Enhancement of human adaptive immune responses by administration of ahigh-molecular-weight olysaccharide extract from the cyanobacterium Arthrospira platensis*. *J Med Food* 2008; 11(2): 313-322.
- 24- Subhashini J, Mahipal SV, Reddy MC, Mallikarjuna Reddy M, Rachamalla A, Reddanna P. *Molecular mechanisms in C-Phycocyanin induced apoptosis in human chronic myeloid leukemia cell line-K562*.*Biochem Pharmacol* 2004; 68(3):453-462.
- 25- Kalafati M, Jamurtas AZ, Nikolaidis MG, et al. *Ergogenic and antioxidante effects of spirulina supplementation in humans*. *Med Sci Sports Exerc* 2010; 42(1): 142-151.
- 26- Khovidhunkit W, Kim MS, Memon RA, Shigenaga JK, Moser AH, Feingold KR, et al. *Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: mechanisms and consequences to the host*. *J Lipid Res* 2004; 45:1169-96.
- 27- Kumar R, Clermont G, Vodovotz Y, Chow CC. *The dynamics of acute inflammation*. *J Theo Biol* 2004; 230:145-55.
- 28- Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO III, Criqui M, et al. *Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the centers for disease control and prevention and the american heart association*. *Circulation* 2003; 107:499-511.
- 29- Otto BA, Wenzel SE. *The role of cytokines in chronic rhinosinusitis with nasalpolyps*. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2008; 16(3): 270-4.
- 30- Randall, R. E.; Godbourn, S. *Interferons and viruses: an interplay between induction, signalling, antiviral responses and virus countermeasures*. *J. Gen. Virol. London* 2008; 89:1-47.
- 31- Male D, Roitt I. *Introdução ao sistema imune*. D. *Imunologia*. São Paulo: Manole 1999; 1- 11.
- 32- Collins T. *Inflamação aguda e crônica*. *Robbins Patologia estrutural e funcional*. Rio De Janeiro; Guanabara Koogan 2000; 45 - 78.
- 33 - Oliveira CMB, Sakata RK, Issy AM, Gerola LR, Salomão R. *Citocinas e dor* 2011;61 (2): 255-265.

