



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CEILÂNDIA
CURSO DE FARMÁCIA**

GIOVANNA LÊDO DA SILVA

**EFEITO DA L-ARGININA NA RESPOSTA INFLAMATÓRIA: UMA REVISÃO
INTEGRATIVA**

BRASÍLIA, 2023



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CEILÂNDIA
CURSO DE FARMÁCIA**

GIOVANNA LÊDO DA SILVA

**EFEITO DA L-ARGININA NA RESPOSTA INFLAMATÓRIA: UMA REVISÃO
INTEGRATIVA**

Monografia de Conclusão de Curso apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Farmacêutico, na Universidade de Brasília, Faculdade de Ceilândia.

ORIENTADOR: PROFA. DRA. FABIANE HIRATSUKA VEIGA DE SOUZA

BRASÍLIA, 2023

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Le Lêdo da Silva, Giovanna
EFEITO DA L-ARGININA NA RESPOSTA INFLAMATÓRIA: UMA
REVISÃO INTEGRATIVA / Giovanna Lêdo da Silva; orientador
FABIANE HIRATSUKA VEIGA DE SOUZA. -- Brasília, 2023.
30 p.

Monografia (Graduação - Farmácia) -- Universidade de
Brasília, 2023.

1. Inflamação. 2. Óxido nítrico. 3. L-arginina. I.
HIRATSUKA VEIGA DE SOUZA, FABIANE, orient. II. Título.

GIOVANNA LÊDO DA SILVA

**EFEITO DA L-ARGININA NA RESPOSTA INFLAMATÓRIA: UMA REVISÃO
INTEGRATIVA**

BANCA EXAMINADORA

Fabiane H. V. de Souza

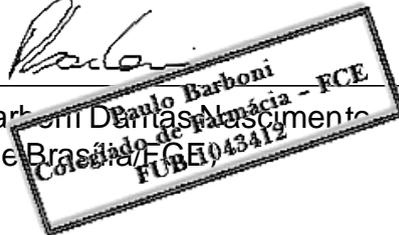


Fabiane H. Veiga de Souza
Professora, Dra.
Faculdade de Ceilândia
1035517 - FUB

Orientador (a): Profa. Dra. Fabiane Hiratsuka Veiga de Souza
(Universidade de Brasília/FCE)

Paulo Barboni

Prof. Dr. Paulo Gustavo Barboni Dentista - FCE
(Universidade de Brasília/FCE)



Esp. Gabriela Luna Soares de Sousa
(Universidade de Brasília/UnB)

BRASÍLIA, 2023

“Se você quer transformar o mundo, experimente primeiro promover o seu aperfeiçoamento pessoal e realizar inovações no seu próprio interior. Estas atitudes se refletirão em mudanças positivas no seu ambiente familiar. Deste ponto em diante, as mudanças se expandirão em proporções cada vez maiores. Tudo o que fazemos produz efeito, causa algum impacto.”

Dalai Lama

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, quero agradecer ao meu bom Deus pela minha vida e pela vida de todos que estiveram e estão comigo nessa jornada de alguma forma, agradeço também por todas as portas abertas e fechadas para mim, com certeza todas tiveram sua importância para que eu chegasse até aqui.

Agradeço aos meus pais Eulina e Élio, também minhas irmãs Hiolanda e Joanne, por todo o apoio, incentivo, carinho, força e compreensão, sem vocês nada eu seria. Agradeço ao meu esposo Christian que não mede esforços para arrancar um sorriso meu e sempre me incentiva a conquistar meus sonhos, além de me dar o meu presente mais valioso, meu filho.

Agradeço ao meu filho que ainda tão pequeno me revelou coisas extraordinárias, um amor puro, uma força de leoa e a esperança em dias melhores.

Em seguida, agradeço com todo o meu coração minha tia Neuza e meu tio Aurino por tudo o que fizeram por mim, desde a minha infância até os dias de hoje, quem me deu abrigo e oportunidades desde que cheguei em Brasília, muito obrigada.

Agradeço aos meus avós, Marcos, Melânia e Lindaura que sempre foram exemplo de honestidade, amor, fé e alegria por onde passaram. Não poderia deixar de agradecer meus amigos, eles que viram minhas lágrimas e risos durante a graduação e me ajudaram a prosseguir com mais leveza e gratidão.

E por último, mas não menos importante, agradeço à Universidade de Brasília pela oportunidade e por ter me dado a honra de conhecer profissionais incríveis e que nos inspiram todos os dias, como minha orientadora de PIBIC e TCC, professora Fabiane Hiratsuka Veiga de Souza, que sempre demonstrou carinho, respeito e empatia por mim e por todos ao seu redor, agradeço também ao professor Pandossio, professora Dayane Galato, professor Paulo Barboni e as doutorandas/mestranda do grupo de pesquisa Bruna Rafaela, Gabriela Luna, Natália Carvalho e Debóra Alves.

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT	9
ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES	10
ÍNDICE DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	11
1 INTRODUÇÃO.....	13
1.1 Inflamação	14
1.2 L-arginina e NO	16
2 JUSTIFICATIVA.....	19
3 OBJETIVOS	20
3.1 Objetivos gerais	20
3.2 Objetivos específicos	20
4 METODOLOGIA	21
4.1 Estratégia e base de dados	21
4.2 Seleção de artigos.....	21
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
5.1 Resultado seleção dos artigos	22
5.2 Expressão das enzimas i-NOS e arginase após o tratamento com a L-arginina.....	24
5.3 Papel da L-arginina na via NF-Kb/MyD88, no sistema Fas/FasI e a consequente redução da apoptose celular	24
5.4 Ação da L-arginina na expressão de citocinas pró-inflamatórias e enzimas antioxidantes.....	25
6 CONCLUSÃO	28
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29

RESUMO

A inflamação é decorrente da resposta do organismo frente a microrganismos, substâncias consideradas estranhas pelo corpo ou lesões, e pode ser classificada como aguda ou crônica, a depender da duração, intensidade e danos. Os indutores inflamatórios produzem uma cascata de eventos celulares que visa limitar os efeitos causados por esses agentes ou lesões e diminuir os impactos dos mesmos sobre o organismo, sendo considerado um evento fisiológico, porém pode haver efeitos deletérios. Esses danos são vistos em situações em que há aumento na produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, ocasionando estresse oxidativo e nitrosativo, o que pode gerar morte celular, danos no DNA e outros. O óxido nítrico (NO) é um importante mediador desse processo, sendo capaz de causar impactos fisiológicos e patológicos ao organismo, o mesmo é obtido por meio da oxidação da L-arginina, aminoácido semi-essencial. Evidências indicam que, apesar de promover aumento na oferta de NO, a L-arginina possui papel anti-inflamatório ao aumentar a atividade do sistema enzimático antioxidante e promover a redução de citocinas inflamatórias. Utilizando dados da literatura, a presente revisão integrativa visa melhorar o entendimento sobre como a L-arginina atua no controle da resposta inflamatória.

Palavras-chave: Inflamação; óxido nítrico; L-arginina.

ABSTRACT

Inflammation is a consequence of the body's response to microorganisms, foreign substances or injuries, and can be classified as acute or chronic depending on its duration, intensity and damage. Inflammation inducers trigger a cascade of cellular events that aim to limit the effects of these agents or injuries and reduce their impact on the body, and are considered a physiological event, but there may be harmful effects. This damage occurs in situations where there is an increase in the production of reactive oxygen and nitrogen species, which cause oxidative and nitrosative stress, which can lead to cell death and DNA damage, among other things. Nitric oxide (NO) is an important mediator in this process, as it can have physiological and pathological effects on the organism; it is obtained through the oxidation of L-arginine, a semi-essential amino acid. There is evidence that L-arginine, despite promoting increased NO supply, plays an anti-inflammatory role by increasing the activity of the antioxidant enzyme system and promoting the reduction of inflammatory cytokines. Using data from the literature, this integrative review aims to better understand the action of L-arginine in controlling the inflammatory response.

Keywords: inflammation; nitric oxide; L-arginine.

ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Evolução da inflamação aguda	15
Figura 2: Rotas do metabolismo da arginina	16
Figura 3: . Fluxograma de seleção dos artigos (2012-2022) para a revisão integrativa.....	22
Quadro 1: Artigos incluídos na revisão	23

ÍNDICE DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ACOX-1 - Acil-CoA oxidase
- ADC – Arginina descarboxilase
- AGAT - Arginina: glicina amidinotransferase
- ALP- Fosfatase alcalina
- ASL - Argininosuccinato liase
- ASS - Argininossuccinato sintetase
- CAT – Catalase
- DAMP - Padrões moleculares associados a danos
- DMEM - Meio eagle dulbecco modificado
- DNA – Ácido desoxirribonucleico
- e-NOS – Óxido nítrico sintase endotelial
- ERs – Espécies reativas
- FAP - Fator de ativação plaquetária
- FAS - Ácido graxo sintase
- FAS- CD95
- FASL- CD178
- FBS – Soro bovino fetal
- GSHPx – Glutathione peroxidase
- HbNO - Hemoglobina nitrosilada
- IL-1 – Interleucina – 1
- IL-1 β – Interleucina -1 -Beta
- IL-4 – Interleucina – 4
- IL-6 – Interleucina – 6
- IL-8- Interleucina- 8
- IL-18 – Interleucina -18
- IL-10 – Interleucina – 10
- Ikka – Proteína quinase alfa de IKB
- Ikky – Subunidade regulatória da proteína quinase de IKB
- iNOS – Óxido nítrico sintase induzível
- IPEC-J2 - Células epiteliais intestinais de linhagem suína IPEC-J2

- LPS – Lipopolissacarídeo
- M1- Macrófago do tipo 1
- M2 – Macrófago do tipo 2
- mRNA – Ácido ribonucleico mensageiro
- MyD88 – Fator de diferenciação mielóide 88
- NO – Óxido Nítrico
- n-NOS – Óxido nítrico neuronal
- NOS – Óxido Nítrico Sintase
- NF- κ B - Fator nuclear kappa B
- PAMP - Padrões moleculares associados a patógenos
- ROS – Espécies reativas de oxigênio
- RNA – Ácido ribonucleico
- SOD – Superóxido dismutase
- SG – Sleeve gástrico
- TNF- α – Fator de necrose tumoral alfa
- VICs - Células intersticiais da válvula aórtica bovinas

1 INTRODUÇÃO

A inflamação é uma resposta fisiológica a danos ocasionados no organismo, podendo ser uma lesão tecidual ou celular, por meio mecânico ou por invasão de patógenos [1]. Esta resposta se dá por meio da produção de mediadores inflamatórios, tais como citocinas, prostaglandinas e óxido nítrico (NO), além de alguns sinais físicos característicos do processo inflamatório, como dor, rubor, calor, edema e uma possível perda de função. Toda a maquinaria envolvida na inflamação possui o intuito de limitar e proteger os danos causados no corpo [1,2].

Pode-se classificar a inflamação como aguda ou crônica, a depender do tempo de instalação. A inflamação aguda é de curta duração, durando tipicamente poucos dias. Trata-se de uma rápida resposta frente aos danos e que geralmente não envolve perda de função, enquanto a crônica é um processo de maior duração, podendo durar semanas e meses, cuja intensidade evolui gradualmente e advém de doenças complexas ou de frequente inflamações agudas, o que pode gerar perda de função do tecido ou órgão afetado [1].

Estudos demonstram que durante o processo inflamatório tanto agudo quanto crônico, há a produção de NO [3]. Esse radical livre gasoso é obtido por meio da oxidação do aminoácido semi-essencial, L-arginina, processo realizado pelas enzimas NO sintases (NOS). A depender da quantidade de NO em células/tecidos o transmissor pode apresentar funções fisiológicas ou patológicas no organismo. Apesar de promover aumento na oferta de NO, evidências apontam que a L-arginina possui um importante papel na inibição da produção de citocinas pró-inflamatórias e da NOS induzida (i-NOS), o que promove ação anti-inflamatória [3,4,5,6].

O metabolismo da L-arginina ainda é pouco compreendido, porém sabe-se que a mesma, além de ser o único precursor para a produção de NO, está presente em outras vias como substrato para a síntese de moléculas imunes e na produção de enzimas [7,8]. Uma das principais vias é o ciclo da ureia, no qual a L-arginina é clivada pela enzima arginase, causando assim a liberação da ureia e ornitina. A ornitina por sua vez promove a síntese de poliaminas e prolina, moléculas de extrema importância para o sistema imune [8].

O envolvimento da L-arginina em outras vias metabólicas, além da síntese de NO, pode estar relacionada com a atividade anti-inflamatória apresentada, porém, por

estar relacionada a diversas sínteses de proteínas e em vários tipos celulares, o metabolismo do aminoácido ainda é um desafio para os pesquisadores [8].

1.1 Inflamação

O processo inflamatório se dá pela resposta do organismo frente a uma lesão, com o intuito de restaurar a homeostase corporal, para isso são liberados mediadores que promovem alterações bioquímicas, celulares e vasculares, ocasionando uma cascata complexa de eventos celulares. Eventos esses que causam sinais clínicos, como rubor, calor, edema, dor e a depender do grau da inflamação, pode haver perda de função tecidual [1,9,10].

A inflamação pode ser desencadeada por diversos fatores, podendo ser de natureza biológica, tais como os padrões moleculares associados a patógenos (PAMP), química, física, ou do próprio organismo, tais como os padrões moleculares associados a danos (DAMP) além de possuir caráter agudo ou crônico, a depender do tempo de instalação [1].

O processo agudo ocorre pela liberação de mediadores por células do sistema imune. Os principais mediadores liberados são as, aminas vasoativas (histamina e serotonina), prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos, fator de ativação plaquetária (FAP), quimiocinas, fator de necrose tumoral (TNF), e citocinas, que podem ser tanto pró-inflamatórias (IL-1, TNF- α , IL-6, IL-18), quanto anti-inflamatórias (IL-10, TGF- β , IL-4) [1]. A cascata inflamatória ocorre com a liberação de substâncias essenciais, com o intuito de reduzir ou cessar danos causados pelo estímulo inflamatório. Uma das ações da cascata é o aumento da permeabilidade vascular, isso faz com que células, como leucócitos e macrófagos cheguem de forma mais rápida ao interstício para o reparo tecidual ou celular [1].

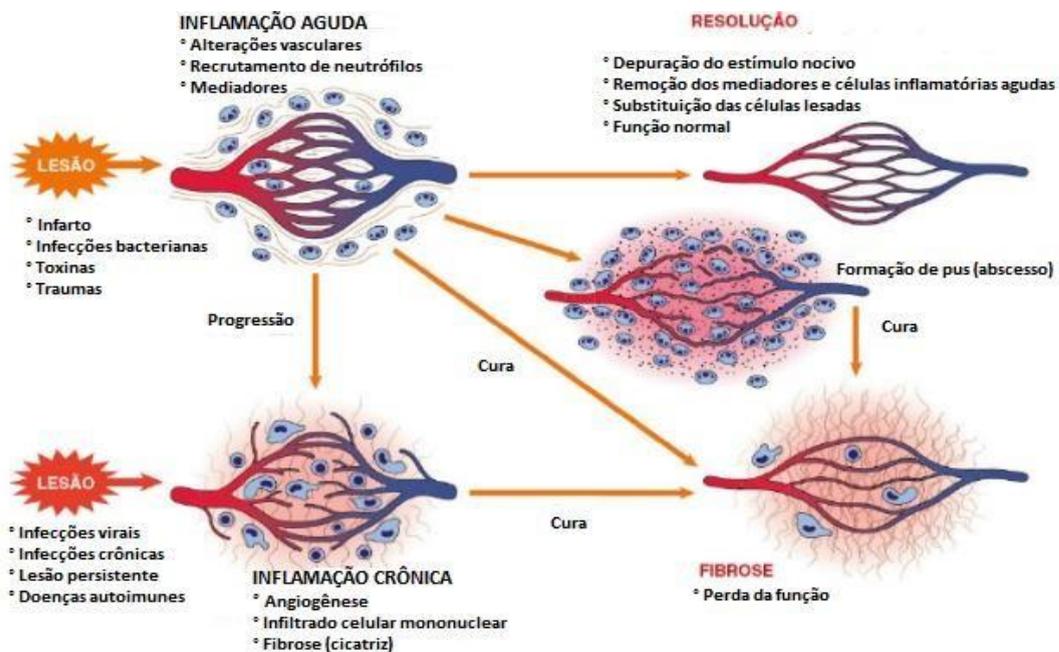
Os macrófagos são divididos em M1 e M2, onde M1 está presente no início da resposta inflamatória, pois possui caráter pró-inflamatório, enquanto M2 é encontrado após a fase de reparo com perfil anti-inflamatório [11,12]. Geralmente, após a resposta inflamatória há o retorno da homeostase, além da extinção do causador da irritação. Entretanto, se houver persistência no quadro, pode-se evoluir para inflamação crônica [13].

A inflamação crônica, pode durar meses ou anos, como nos casos de doenças

autoimunes ou infecções persistentes. Nesse caso, geralmente há fibrose tecidual e consequentemente perda de função, além de outros danos a longo prazo, como por exemplo, um aumento na tendência a desenvolvimento de neoplasias, uma vez que há o processo de remodelação tecidual, angiogênese e fibrose, além de liberação contínua de mediadores [14].

O processo crônico, pode ser ocasionado pela persistência das inflamações agudas (Figura 1), o que ocasiona uma amplificação da resposta, com a liberação de maior quantidade de citocinas, aumento do exsudato inflamatório, migração de células do sistema imune para o local inflamado e maior produção de linfócitos. Geralmente, em casos de inflamações crônicas a quantidade de citocinas pró-inflamatórias é maior que as citocinas anti-inflamatórias após o início do processo inflamatório, enquanto em uma inflamação aguda, maiores quantidades de citocinas anti-inflamatórias podem cessar o quadro pela inibição de citocinas pró-inflamatórias [1,12,14]

Figura 1: Evolução da inflamação aguda



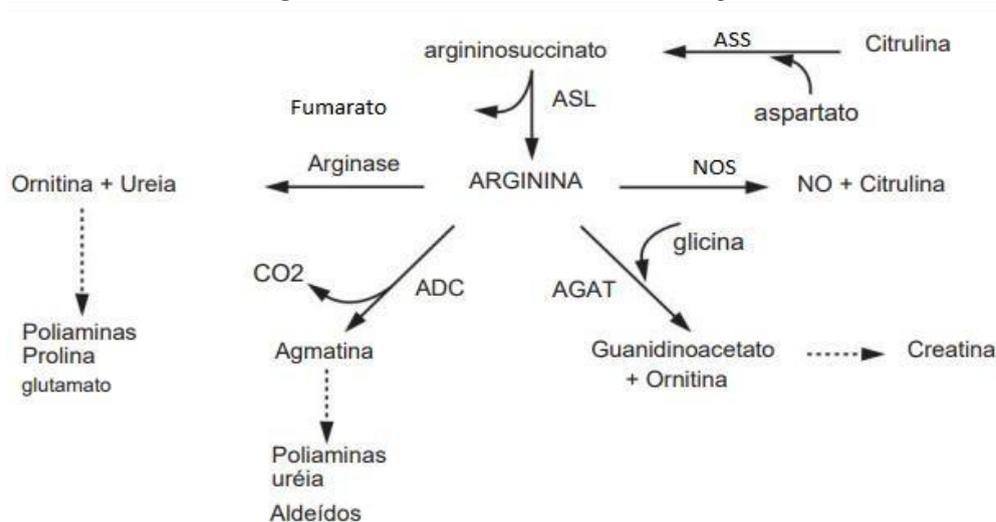
A inflamação aguda pode evoluir de três formas diferentes, com a resolução da inflamação, onde há a substituição de células danificadas e sua função é restabelecida, evolução para a fibrose, substituição do tecido conjuntivo e consequentemente a perda de função e por fim, a inflamação crônica que leva a angiogênese e fibrose tecidual. Fonte: adaptado de ABBAS, A.K. e colab. (2005).

1.2 L-arginina e NO

A L-arginina é um aminoácido classificado como semi-essencial, porque as necessidades fisiológicas da mesma variam em relação ao estágio do desenvolvimento humano e mudanças metabólicas, o que ocorre, por exemplo, em condições de trauma ou infecção. Já em adultos saudáveis, a arginina é considerada não essencial, uma vez que é sintetizada de forma endógena por meio de uma colaboração entre as células epiteliais do intestino delgado e os túbulos proximais do rim [8].

O metabolismo da arginina é complexo e ainda bastante investigado, pois a mesma é precursora na síntese de proteínas e utilizada como substrato para a produção de enzimas, as quais algumas possuem diferentes isoformas como a NO sintases (NOSs), que são divididas entre NOS induzível, i-NOS, e constitutivas, e-NOS (tipo III) e n-NOS (tipo I), enzimas arginases, arginase tipo 1 e tipo 2, e as demais, a arginina:glicina amidinotransferase (AGAT) e a arginina descarboxilase (ADC) (Figura 2) [8].

Figura 2: Rotas do metabolismo da arginina



A arginina é utilizada como precursor de diversas proteínas e enzimas, como mostra o diagrama, dando origem assim a vários produtos que atuarão em vias diferentes, não necessariamente o metabolismo da arginina ocorrerá de maneira simultânea. No diagrama temos a síntese da arginina com a saída do fumarato enzima argininosuccinato liase (ASL), onde a arginina dará início à produção do óxido nítrico (NO) e citrulina a partir da óxido nítrico sintase (NOS), formação da ureia e ornitina com a enzima arginase, síntese da agmatina pela enzima arginina descarboxilase (ADC) e a formação de guanidinoacetato e ornitina realizada pela enzima arginina:glicina amidinotransferase (AGAT). Fonte: adaptado de MORRIS Jr. (2004).

Dentre as importantes vias em que a L- arginina está envolvida, podemos destacar a síntese do NO, que se trata de um radical livre na forma de gás, que surge pela oxidação do seu precursor, L-arginina. A reação de oxidação da L-arginina se dá pela enzima NO sintase (NOS), que catalisa o aminoácido em NO e L-citrulina [7].

O NO atua como sinalizador de processos biológicos em diversas condições como, neurotransmissão, regulação da pressão arterial, regulação imune e regulação térmica. Entretanto, o seu papel é dual, ou seja, a depender da quantidade no organismo pode exercer funções fisiológicas ou patológicas [4,5,6].

Em situações de isquemia e reperfusão, o NO pode se tornar prejudicial, pois sua produção se torna maior que seu consumo, o que ocasiona a reação com o radical superóxido e forma o ânion peroxinitrito, uma molécula altamente reativa que, por sua vez, pode reagir com grupos de proteínas, lipídios ou ácidos nucleicos, dando origem a danos nas membranas celulares e DNA [15,16].

Quando o organismo se encontra em desequilíbrio, em condições patológicas, o NO é removido por difusão através dos tecidos para os glóbulos vermelhos, onde é convertido em nitrato ao reagir com a oxihemoglobina. Esse processo de transferência para eritrócitos controla a biodisponibilidade de NO no plasma e dá origem a hemoglobina nitrosilada (HbNO), como um mecanismo de defesa contra o estresse nitrosativo [17].

O estresse nitrosativo é um fenômeno que ocorre frequentemente em quadros inflamatórios, pois há o desequilíbrio entre a produção de espécies reativas (ERs) e o sistema antioxidante, mecanismo de defesa contra estresse oxidativo e nitrosativo. Ao iniciar o processo inflamatório, com uma lesão tecidual, por exemplo, substâncias são produzidas, dentre elas as ERs, que ocasionam a ativação fatores nucleares, como o NF-κB e conseqüentemente levam a síntese de moléculas como citocinas, que provocam a inflamação de uma forma mais ampla, ou seja, as ERs são indispensáveis para o início da cascata da inflamação [17,18,19].

Apesar do NO possuir papel dual, alguns estudos têm demonstrado que a utilização do seu precursor, em quadros inflamatórios induzidos por lipopolissacarídeo (LPS), componente da membrana externa de bactéria gram negativa, possui atividade anti-inflamatória pois diminui consideravelmente a expressão de citocinas pró-inflamatórias, tanto em modelos *in vitro* quanto em modelos *in vivo* [8,20,21]. Além de atuar no sistema antioxidante, reduzindo os estresse nitrosativo pelo aumento das

expressões das enzimas antioxidantes, como catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e glutathiona peroxidase (GSHPx) [21].

2 JUSTIFICATIVA

A literatura tem demonstrado uma possível ação anti-inflamatória da L-arginina, uma vez que a mesma inibe de forma significativa a expressão de citocinas pró-inflamatórias, reduz a apoptose celular e aumenta a expressão de enzimas antioxidantes, culminando num perfil anti-inflamatório [8,20,21].

Entretanto, a multiplicidade de enzimas que metabolizam a arginina e seus padrões de expressão variados em diferentes tipos de células, tornam desafiador o entendimento dos mecanismos envolvidos [8]. Assim, faz-se necessário a busca de evidências aprofundadas sobre esse aminoácido, com o intuito de compreender melhor seus efeitos e possivelmente torná-lo um alvo de pesquisa para o tratamento da inflamação.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivos gerais

O estudo tem como objetivo geral avaliar o papel da L-arginina na resposta inflamatória.

3.2 Objetivos específicos

- Analisar os efeitos da L-arginina sobre parâmetros inflamatórios;
- Avaliar a eficácia e segurança do tratamento com a L-arginina em diferentes situações de inflamação;
- Descrever os mecanismos que contribuem para a ação anti-inflamatória da arginina, afim de torná-la um possível alvo de estudo terapêutico.

4 METODOLOGIA

4.1 Estratégia e base de dados

A pesquisa foi realizada por meio de levantamento de publicações sobre a L-arginina em situações de inflamação dos últimos dez anos (2012-2022), com o auxílio de bases dados *PubMed* e *Scopus*. Foram utilizadas palavras-chaves como “*L-arginine and inflammation*”, “*Nitricoxide and inflammation*”, “*L-arginine*” e “*Inflammatory process and Nitric oxide*”.

4.2 Seleção de artigos

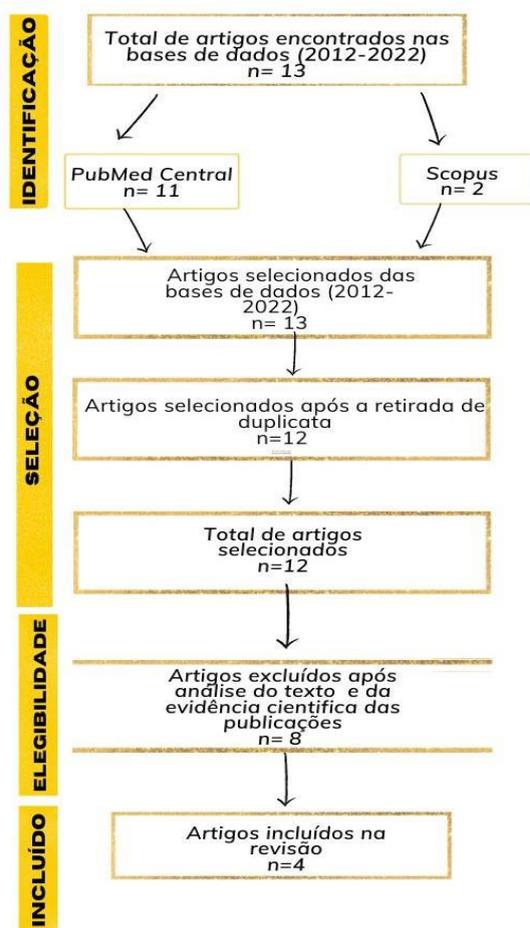
Para critério de seleção, os textos foram avaliados individualmente pelo título, conteúdo e ano. Foram incluídos textos em inglês e excluídos textos que apresentem resultados duvidosos e/ou fogem do tema, e artigos duplicados. O que totalizou a inclusão de quatro artigos ao final, sendo três dos artigos de acesso livre e um de acesso pago. Após a seleção dos textos, as referências foram gerenciadas.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Resultado seleção dos artigos

Com a busca feita nas bases de dados *PubMed Central* e *Scopus*, foram encontrados 13 artigos. Porém, ao aplicar os critérios de seleção e elegibilidade, restaram um total de quatro artigos. Onde os demais, eram duplicados ou ao final da leitura não condizia com a ideia buscada.

Figura 3: Fluxograma de seleção dos artigos (2012-2022) para a revisão integrativa.



Os artigos incluídos na revisão foram publicados nos últimos dez anos (2012-2022) e se tratam de estudos pré-clínicos onde houve a suplementação de L-Arginina em situação de inflamação. Sendo três deles originados da China e um da Itália, porém, todos em inglês e disponíveis nas bases de dados utilizadas para a pesquisa.

Os textos selecionados encontram-se ordenados no Quadro 1.

Quadro 1: Artigos incluídos na revisão

Autores	Ano de publicação	Tipo de estudo	Amostra	Administração L-arginina	Principais Resultados
Rattazi et al.	2020	Pré-clínico: <i>In vitro</i>	Células intersticiais da válvula aórtica(VICs)	5, 50, 100 mM em placas incubadas por 12 dias.	a L-Arginina inibiu a diferenciação pró-calcificação de VICs e reduziu a calcificação da matriz extracelular (MEC)
Ya- Ling et al.	2022	Pré-clínico: <i>In vivo</i>	Camundongos machos C57BL/6 obesos pós bariátrica	Dose única 300 mg/kg 1 hora após a cirurgia.	Arginina melhorou os perfis metabólicos na inflamação após a cirurgia bariátrica
Yuequin Qiu et al.	2019	Pré-clínico: <i>In vitro</i>	Células epiteliais intestinais de suíno (IPEC-J2)	0, 100, 250 ou 500 µM em placas incubadas por 24h.	L-Arginina demonstrou capacidade de reduzir a resposta inflamatória induzida por LPS além da capacidade antioxidante
Zheng H. et al.	2019	Pré-clínico: <i>In vitro</i>	Leucócitos detilápia	0,4 Mm em cada placa em 3h, 24h e 72h de incubação.	L-Arginina demonstrou ser capaz de inibir apoptose celular com a regulação de vias inflamatórias e aumento da expressão de enzimas antioxidantes

5.2 Expressão das enzimas i-NOS e arginase após o tratamento com a L-arginina

Ya-Ling Chen et al., (2022) realizaram experimentos onde trataram ratos C57BL/6 machos e obesos, após cirurgia bariátrica, com L-arginina em dose única 300 mg/kg 1 hora após o procedimento. O estudo teve como objetivo de avaliar os efeitos da L-arginina intravenosa na resposta inflamatória e nos perfis metabólicos [22].

Os animais foram divididos em cinco grupos em que, um grupo não realizou o sleeve gástrico (SG) e quatro que realizaram, dois salinas (controle) e dois tratados com L-arginina, tanto o grupo salina quanto a L-arginina, foram avaliados em 1 ou 3 dias após a cirurgia [22].

Os grupos salina e L-arginina tiveram a indução da expressão de i-NOS e arginase após o SG, quando comparado ao grupo que não realizou o procedimento. Os grupos salinas (1 e 3 dias) tiveram aumento significativo na expressão de i-NOS, o que não ocorreu na expressão da arginase [22].

Entretanto, os grupos tratados com a L-arginina (1 e 3 dias) tiveram uma indução significativa na expressão da enzima arginase, enquanto na enzima i-NOS, os grupos tiveram a expressão significativamente menor que os grupos salina, ou seja, com a diminuição da expressão de i-NOS após o tratamento com a L-arginina, a expressão da enzima arginase aumentou [22].

5.3 Papel da L-arginina na via NF-Kb/MyD88, no sistema Fas/FasI e a consequente redução da apoptose celular

Zheng H. et al., (2019) realizaram um estudo com o objetivo de analisar se a L-arginina seria capaz de inibir a apoptose celular induzida por LPS, mais especificamente em leucócitos de peixes, por meio da regulação da via NF-kB e da síntese de NO [21].

O LPS é um indutor de inflamação bastante utilizado em experimentos, uma vez que o mesmo é capaz de gerar uma grande variedade de efeitos fisiopatológicos, incluindo apoptose celular, já a L-arginina vem sendo bastante utilizada para o tratamento de inflamações, incluindo de LPS, estudos demonstram que o aminoácido possui caráter protetor em situações inflamatórias [21].

Os animais foram mantidos normalmente em aquários sem nenhum tratamento prévio, sendo eutanasiados no início do procedimento experimental e logo após

dissecados para o isolamento celular e início do tratamento com LPS (15 mg/ml) e/ou L-arginina (0,04 mM) [21].

Após o experimento os pesquisadores observaram que a via inflamatória NF-kB/MyD88 foi inibida significativamente nas células tratadas com L-arginina, Zheng H. et al., (2019) identificaram a via como uma das principais vias da apoptose celular. Observou-se que nos grupos tratados com L-arginina, tanto na presença do LPS, quanto na ausência houve a redução da expressão dos genes NF-kB, MyD88, Ikka e Ikky em 3h, 24h e 72h. Enquanto nos grupos tratados somente com LPS, em 24 e 72h, observou-se o aumento da expressão desses genes, ou seja, houve o estímulo da via inflamatória [21].

Além disso, a inflamação induzida por LPS pode ativar o sistema Fas/FasL, uma via importante da apoptose celular, e conseqüentemente ocasiona a ativação da caspase 8 e 9 e caspase 3, efetora da morte celular, com isso, Zheng H. et al., (2019) avaliaram também a expressão genes das caspases 3, 7, 8 e 9 em 3h, 24h e 72h [21]. Os resultados demonstraram que o LPS induziu de forma significativa a expressão das caspases 8 e 9 sem o tratamento com L-arginina. No entanto, com a suplementação da L-arginina, observou-se a inibição significativa da expressão das caspases 3, 7 e 9 em 72h [21].

Além dos dados obtidos nas análises citadas acima, foi realizada a análise de TUNEL, para detectar fragmentos de DNA, com isso, foi constatada a diminuição da apoptose celular com a suplementação da L-arginina nos grupos tratados com LPS em 24 e 72h, enquanto com o grupo tratado somente com LPS houve aumento da morte celular programada [21].

5.4 Ação da L-arginina na expressão de citocinas pró-inflamatórias e enzimas antioxidantes

Rattazzi M. et al., (2020) avaliaram a expressão de citocinas pró-inflamatórias em células intersticiais da válvula aórtica bovinas (VICs) tratadas com L-arginina e LPS, com o objetivo de observar se a L-arginina possui papel preventivo na diferenciação e pró-calcificação das células intersticiais.

As células foram semeadas e tratadas por 12 dias com meio DMEM (4,5 g/L de glicose, 5% de FBS, 100 U/mL de penicilina e 100 g/L mL de estreptomicina)

suplementadas com LPS (500 ng/mL) e L-arginina (5-50–100 mM). Logo após realizou-se a extração de RNA para a análise de expressão gênica [20].

O experimento demonstrou que após o tratamento com LPS, as células apresentaram um fenótipo pró-calcificado com altos níveis de expressão da fosfatase alcalina (ALP), enzima de suma importância no processo de calcificação, e calcificação de uma matriz de colágeno, tipo I. Os dados do experimento demonstraram que, a suplementação da L-arginina inibiu a expressão de ALP de forma dose-dependente, ou seja, quanto maior a dose, maior a supressão de ALP, ocasionando a inibição da calcificação da matriz celular [20].

As VICs tratadas com LPS revelaram que a inflamação pode ocasionar a diferenciação celular osteogênica e iniciar o processo indutor de calcificação celular, com isso, avaliou-se as expressões de mediadores inflamatórios, tais como, TNF- α , IL-1 β e IL-6. O grupo tratado apenas com LPS, como já esperado, obteve o aumento significativo dos mediadores, enquanto o grupo tratado com a L-arginina, além do LPS, teve a expressão das citocinas inibida [20].

Além disso, Rattazzi M. et al., (2020) demonstraram que a L-arginina foi capaz de inibir a expressão de mRNA xantina oxidase, enzima que gera espécies reativas de oxigênio, porém estudos complementares são necessários para avaliar se a regulação da enzima pode prevenir a diferenciação pró-calcificação celular [20].

Em estudos anteriores, foi visto que as citocinas pró-inflamatórias estão ligadas diretamente no fenótipo da VICs e na diferenciação osteogênica, o que leva a crer que a L-arginina, ao inibir a expressão desses mediadores, conseqüentemente reduzirá a deposição de cálcio nas células e a diferenciação celular [20].

Ya-Ling Chen et al., (2022) observaram que os animais submetidos à cirurgia bariátrica tiveram um aumento nos níveis das citocinas, porém, o grupo tratado com a L-arginina após a cirurgia, teve redução da inflamação nos adipócitos com a diminuição da produção de TNF- α , IL-6 e IL-1, quando comparado ao grupo salina. Houve também a diminuição da expressão de ácido graxo sintase (FAS) e aumento da acil-CoA oxidase (ACOX-1), o que ocasiona maior oxidação de gordura no fígado e por fim uma menor taxa de infiltração de macrófagos nas células lipídicas [22]. Além disso, Ya-Ling Chen et al., (2022) observaram o aumento da concentração de prolina e glutamina em níveis plasmáticos, ambos aminoácidos possuem papel importante na inflamação [22].

Yuequin Qiu et al., (2019) executaram o experimento com células IPEC-J2 com

o objetivo de analisar se a L-arginina seria capaz de inibir a resposta inflamatória e o estresse oxidativo induzido por LPS [7]. Para o experimento, diferentes doses de L-arginina (0, 100, 250 ou 500 μ M) e/ou LPS (0 ou 100 ng/ml) foram utilizadas para o tratamento das células durante 24 horas. Ao fim, as células foram coletadas para as análises [7].

Assim como os demais estudos, Yuequin Qiu e colaboradores., (2019) observaram a diminuição significativa da expressão de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6, IL- 8 e TNF- α , com o tratamento da L-arginina (500 μ M), assim como também houve o aumento da expressão das mesmas nos grupos tratados somente com LPS [7].

Durante o processo inflamatório, as ERs em excesso podem ocasionar efeitos deletérios em células, pois o sistema antioxidante se encontra sobrecarregado e se torna insuficiente para conter os danos causados. Diversas enzimas fazem parte desse sistema, como catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e glutathione peroxidase (GPx), com o intuito de diminuir ERs. Entretanto, em situações patológicas há o desequilíbrio entre produção e consumo. Rattazzi M. et al., (2020), Zheng H. et al., (2019), Yuequin Qiu et al., (2019) obtiveram dados em seus estudos que indicam o aumento tanto na expressão, quanto na atividade das enzimas antioxidantes, podendo ser um dos possíveis mecanismos anti-inflamatórios da L-arginina, a melhorar do maquinário antioxidante [7, 20, 21].

Rattazzi M. et al., (2020), Zheng H. et al., (2019), Yuequin Qiu et al., (2019) e Ya-Ling Chen et al., (2022) demonstraram em seus estudos que a L-arginina apresenta um possível papel protetor em situações de inflamação ao reduzir a expressão de citocinas pró- inflamatórias, i-NOS, xantina oxidase e reduzir apoptose celular, além de aumentar concomitantemente a atividade e a expressão das enzimas dos sistema antioxidante e da arginase, o que nos leva a pensar que o aminoácido pode atuar atenuando a resposta inflamatória por diversos mecanismos, desenvolvendo assim um possível perfil protetor em situações patológicas [7, 20, 21, 22].

6 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

- Busca em apenas duas bases de dados;
- Estratégia de busca ampla;
- Maior parte dos estudos feito *in vitro*;
- 50 % dos artigos utilizaram apenas uma dose de L-arginina.

7 CONCLUSÃO

A L-arginina é um aminoácido participante de diversas outras vias, sendo substrato e precursor de enzimas e proteínas, como prolina e poliaminas, moléculas envolvidas na ação anti-inflamatória. O que nos leva a pensar que, a atividade protetora da L-arginina está ligada à sua participação em outras vias, além da via de síntese do NO.

A revisão feita demonstrou que, em diversos estudos realizados tanto *in vitro* quanto *in vivo*, a L-arginina apresentou um possível caráter protetor ao modular a inflamação, com a diminuição da expressão gênica de citocinas pró-inflamatórias, o aumento da atividade do sistema antioxidante e redução da apoptose celular, além demonstrar uma possível segurança e eficácia para o uso em quadros inflamatórios.

Porém, os dados obtidos demonstraram esse provável perfil benéfico na resposta inflamatória em estudos com situação controlada, o que nos leva a observar um papel modulador da L-arginina, que pode levar a um possível efeito anti-inflamatório.

Desta forma, os dados obtidos corroboram a hipótese desenvolvida anteriormente pelo nosso grupo que, a L-arginina possui um provável efeito protetor na resposta inflamatória, porém, estudos complementares são necessários para uma melhor investigação do efeito da L-arginina em situações de inflamações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ETIENNE, R.; Viegas, F. P. D.; VIEGAS Jr., C.* Aspectos Fisiopatológicos da Inflamação e o Planejamento de Fármacos: uma Visão Geral Atualizada. **Rev. Virtual Quim.**, 2021, v.13 n. 1, p. 167-191,2020.
- [2] STEINER, A. A. Bacterial lipopolysaccharide fever is initiated via Toll-like receptor 4 on hematopoietic cells. **Blood**. v. 107, n. 10, p.4000-4002, 2006.
- [3] U. Shefa, S.G. Yeo, M.S. Kim, I.O. Song, J. Jung, N.Y. Jeong, Y. Huh, **Role of Gasotransmitters in Oxidative Stresses, Neuroinflammation, and Neuronal Repair**. Biomed. Res. Int. 168934, 2017.
- [4] SOROKIN, A. Nitric Oxide Synthase and Cyclooxygenase Pathways: A Complex Interplay in Cellular Signaling. **Curr Med Chem**. v. 23, p. 2559-2578, 2016.
- [5] CERQUEIRA, N.F.; YOSHIDA, W.B. Óxido nítrico: revisão. **Acta Cir Bras** [serial online] v. 17, n.6, p. 417-423, Nov-Dez, 2002.
- [6] WU T, WANG C, DING L, SHEN Y, CUI H, WANG M, WANG H: Arginine relieves the inflammatory response and enhances the casein expression in bovine mammary epithelial cells induced by lipopolysaccharide. **Mediators Inflamm**. V. 2016, p. 1-10, 2016.
- [7] Qiu, Y. et al. L-Arginine inhibited inflammatory response and oxidative stress induced by lipopolysaccharide via arginase-1 signaling in IPEC-J2 Cells. **Int. J. Mol. Sci**. V. 20, p. 1800, 2019.
- [8] Morris, Sidney M Jr. Recent advances in arginine metabolism. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**. V. 7, p. 45-51, January 2004.
- [9] WIDGEROW, A. D. Cellular resolution of inflammation—catabasis. **Wound Repair and Regeneration**, v. 20, n. 1, p. 2-7, 2012
- [10] DE SOUZA, F. C. B.; DA SILVA, M. Z. M. Controle do processo inflamatório na odontologia com antiinflamatorios não-esteroidais. **REVISTA UNINGÁ REVIEW**, v. 20, n. 2, 2018.
- [11] AKIRA, S. et al. Biology of multifunctional cytokines: IL 6 and related molecules (IL 1 and TNF). **The FASEB journal**, v. 4, n. 11, p. 2860-2867, 1990
- [12] FRENZEL, L.; HERMINE, O. Mast cells and inflammation. **Joint Bone Spine**, v. 80, n. 2, p. 141-145, 2013.
- [13] ESTRADA, H. A. G.; RUIZ, K. N. G.; MEDINA, J. D. Actividad antiinflamatoria de productos naturales. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y aromáticas**, v. 10, n. 3, 2011.

- [14] AOKI, T.; NARUMIYA, S. Prostaglandins and chronic inflammation. **Trends in pharmacological sciences**, v. 33, n. 6, p. 304-311, 2012.
- [15] PACHER, P.; BECKMAN, J. S.; LIAUDET, L. Nitric Oxide and Peroxynitrite in Health and Disease. **Physiological Reviews**, v. 87, n. 1, p. 315–424, 1 jan. 2007.
- [16] KURUTAS, E. B. The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. **Nutrition Journal**, v. 15, n. 1, p. 71, 25 dez. 2015.
- [17] GOMES, BRB. Estudo do estresse nitrosativo durante a febre a antipirese em ratos. Qualificação de doutorado. Patologia Molecular – Universidade de Brasília, 2019.
- [18] CLOSA, D.; FOLCH-PUY, E. Oxygen free radicals and the systemic inflammatory response. **IUBMB Life**, v. 56, n. 4, p. 185–191, 2004.
- [19] Seyedsadjadi, N.; Grant, R. The Potential Benefit of Monitoring Oxidative Stress and Inflammation in the Prevention of Non-Communicable Diseases (NCDs). **Antioxidants**, v. 10, n. 15, 2021.
- [20] Rattazzi M, Donato M, Bertacco E, Million R, Franchin C, Mortarino C. et al. L-Arginine prevents inflammatory and pro-calcific differentiation of interstitial aortic valve cells. **Atherosclerosis**, v. 298 p.27-35, 2020.
- [21] ZHENG H., Guo Q., Duan X., Xu Z., Wang Q. L-arginine inhibited apoptosis of fish leukocytes via regulation of NFκB-mediated inflammation, NO synthesis, and antioxidant capacity. **Biochimie**, v. 158, p. 62–72, 2019.
- [22] Ya-Ling Chen ., Ming-Tsan Lin ., Wan-Hsuan Wang ., Sung-Ling Yeh ., Chiu-Li Yeh . Intravenous Arginine Administration Attenuates the Inflammatory Response and Improves metabolic Profiles in Diet-Induced Obese Mice after Sleeve Gastrectomy. **Metabolites**, v. 12, n. 2, p. 153, 2022.
- [23] ABBAS, A. K. ; LICHTMAN, A. H. & POBER, J.S. *Imunologia celular e molecular*. 5ª ed., Rio de Janeiro, **Elsevier**, p.580, 2005.