

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE L-ARGININA NOS NÍVEIS DE ÓXIDO NÍTRICO E SULFETO DE HIDROGÊNIO EM CÃES COM HIPERTENSÃO PULMONAR PRÉ-CAPILAR

DIEGO F. G. RODRIGUEZ¹, LAYNE C. PEREIRA¹, CAIO N. DUARTE¹, MÁRCIA O. S. GOMES¹

¹Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo (FMVZ/USP)

Contato: garciacardiovet@gmail.com / Apresentador: LAYNE C. PEREIRA

Resumo: Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da suplementação de L-arginina sobre a produção plasmática de óxido nítrico (ON), sulfeto de hidrogênio (H₂S) e a pressão arterial pulmonar sistólica (PAPs) em cães com hipertensão arterial pulmonar (HAP) pré-capilar. Foram selecionados 16 cães com diagnóstico ecocardiográfico de HAP pré-capilar, alocados aleatoriamente em dois grupos: placebo (PLA, n=8) e L-arginina (ARG, n=8). Um grupo controle (CON, n=10), composto por cães saudáveis, também foi incluído. Após 30 dias de adaptação dietética, os grupos ARG e CON receberam capsulas de L-arginina (100 mg/kg, a cada 8 horas) durante 30 dias; o grupo PLA recebeu cápsulas inertes na mesma posologia. Amostras sanguíneas foram coletadas nos dias 0, 7 e 30 para dosagem de ON e H₂S, e a PAPs foi aferida nos mesmos momentos. A análise estatística considerou p<0,05 como nível de significância. Não foram observadas diferenças significativas nos níveis plasmáticos de ON e H₂S, nem redução da PAPs, sugerindo que, sob as condições avaliadas, a suplementação de L-arginina não apresentou impacto sobre esses parâmetros em cães com HAP pré-capilar.

PalavrasChaves: Aminoácido; Metabolismo; Sistema cardiovascular; Canino

EFFECT OF L-ARGININE SUPPLEMENTATION ON NITRIC OXIDE AND HYDROGEN SULFIDE LEVELS IN DOGS WITH PRE-CAPILLARY PULMONARY HYPERTENSION

Abstract: This study aimed to evaluate the effects of L-arginine supplementation on plasma production of nitric oxide (NO), hydrogen sulfide (H₂S), and systolic pulmonary arterial pressure (sPAP) in dogs with pre-capillary pulmonary arterial hypertension (PAH). Sixteen dogs with echocardiographic diagnosis of pre-capillary PAH were randomly allocated into two groups: placebo (PLA, n=8) and L-arginine (ARG, n=8). A control group (CON, n=10), consisting of healthy dogs, was also included. After a 30-day dietary adaptation period, the ARG and CON groups received oral L-arginine capsules (100 mg/kg every 8 hours) for 30 days, while the PLA group received inert capsules with the same dosage and frequency. Blood samples were collected on days 0, 7, and 30 for measurement of NO and H₂S, and sPAP was assessed at the same time points. Statistical analysis considered p<0.05 as the level of significance. No significant differences were observed in plasma levels of NO and H₂S, nor reductions in sPAP, suggesting that under the conditions evaluated, L-arginine supplementation did not demonstrate an impact on these parameters in dogs with pre-capillary PAH.

Keywords: Amino acid; Metabolism; Cardiovascular system; Canine

Introdução: A hipertensão arterial pulmonar (HAP) caracteriza-se por aumento da pressão nos vasos pulmonares e pode ser classificada como pré ou pós-capilar, conforme sua etiologia (Kellihan et al., 2010). O óxido nítrico (ON) é um potente vasodilatador que inibe a agregação plaquetária e a proliferação de células musculares lisas, sendo produzido por três isoformas da óxido nítrico sintase (NOS), a partir da L-arginina (Howell et al., 2009). O sulfeto de hidrogênio (H₂S), é um gasotransmissor com propriedades vasodilatadoras, antioxidantes e anti-inflamatórias (Chen et al., 2007), além de estimular a atividade da eNOS, forma endotelial da NOS, aumentando a produção e prolongando a meia-vida do ON (Altaany et al., 2013). Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar se a suplementação de L-arginina poderia modular a produção plasmática de ON, H₂S e reduzir a PAPs em cães com HAP pré-capilar.

Material e Métodos: Foram incluídos 16 cães, adultos de ambos os sexos, diagnosticados com HAP de origem pré-capilar, com base em achados ecocardiográficos e PAPs estimada pelo Doppler =35 mmHg. Os animais estavam clinicamente estáveis, sem tratamento prévio com inibidores de fosfodiesterase V, e foram aceitos aqueles com insuficiência valvar crônica mitral (IVCM) sem repercussão hemodinâmica, conforme critérios do consenso ACVIM (Reinero et al., 2019). O estudo seguiu um delineamento duplo-cego e os animais com HAP foram divididos aleatoriamente em dois grupos, placebo (PLA n=8) e L-arginina (ARG n=8). Um grupo controle foi estabelecido utilizando dez cães saudáveis (CON n=10). Todos os animais foram submetidos a um período de adaptação alimentar de 30 dias, durante o qual receberam a mesma dieta para padronização da ingestão de L-arginina. A necessidade energética de manutenção (NEM) foi calculada segundo a fórmula 95kcal x (peso corporal)^{0,75} (NRC, 2006). Após a adaptação, o manejo alimentar foi mantido de forma a atender a NEM, e os grupos ARG e CON foram suplementados com cápsulas de L-arginina na dose de 100 mg/kg, administradas a cada 8 horas por 30 dias, enquanto o grupo PLA recebeu cápsulas contendo substância inerte, na mesma posologia. Nos dias 0, 7 e 30 amostras de sangue foram coletadas para dosagem plasmática de ON e H₂S e a PAPs foi aferida. Os dados foram submetidos à análise estatística, avaliados inicialmente quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e posteriormente com testes apropriados à distribuição das variáveis, adotando-se p<0,05 como nível de significância.

Resultado e Discussão: As idades médias dos grupos foram de 9,25 ± 4,1 anos (ARG), 9,13 ± 2,5 anos (PLA) e 5,7 ± 2,4 anos (CON), corroborando com relatos de maior predisposição à hipertensão pulmonar em cães de meia-idade a mais velhos (Kellihan et al., 2010). Era esperado que a suplementação com L-arginina promovesse aumento dos níveis de ON nos grupos ARG e CON, o que não foi observado (Tabela 1). Uma das hipóteses é que a suplementação tenha induzido aumento rápido, porém transitório de ON, sem manutenção prolongada. Além disso, o desacoplamento da eNOS pode ter levado à produção de ânions superóxido, que neutralizam o ON (Zuckerbraun et al., 2011). Não foi observada diferença nas concentrações de

H₂S (Tabela 2), o que pode estar relacionado à codependência entre ON e H₂S. Coletta et al. (2012) demonstraram em ratos, que tanto o H₂S quanto o ON atuam de forma conjunta para promover a angiogênese; entretanto, a produção de um influencia diretamente a do outro, de modo que a supressão de um deles resulta na redução da produção do outro. Uma contribuição relevante deste estudo é o estabelecimento de valores de referência para H₂S em cães saudáveis, com concentração média de 1,53 µM, dados até então não disponíveis em literatura para a espécie. Não foi observada redução na PAPs (Figura 1), como inicialmente esperado ($p = 0,534$), possivelmente em decorrência da ausência de aumento significativo nos níveis plasmáticos de ON e H₂S.

Tabela 1. Dosagem de ON (µM) segundo os momentos de avaliação e o grupo de estudo

Grupo	Óxido Nítrico			
	Tempo			p ⁽¹⁾
	T0	T7	T30	
ARG	10.61 ± 6.29	10.47 ± 5.31	14.17 ± 17.65	0.417
PLA	9.71 ± 2.42	13.80 ± 11.45	20.81 ± 22.81	0.417
CON	8.36 ± 5.19	13.31 ± 15.91	7.16 ± 4.37	0.905
p ⁽²⁾	0.057	0.226	0.033	

Legenda: (1) Nível de probabilidade descritivo do teste não paramétrico de Friedman
(2) Nível descritivo de probabilidade do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis

Tabela 2. Dosagem de H₂S (µM) segundo os momentos de avaliação e o grupo de estudo

Grupo	Sulfeto de hidrogênio			
	Tempo			p ⁽¹⁾
	T0	T7	T30	
ARG	2,14 ± 1,94	2,33 ± 1,59	1,55 ± 1,01	0,541
PLA	2,50 ± 1,74	1,79 ± 0,77	2,03 ± 1,14	0,507
CON	1,53 ± 0,76	1,74 ± 0,79	1,75 ± 1,24	0,835
p ⁽²⁾	0,769	0,812	0,652	

Legenda: (1) Nível de probabilidade descritivo do teste não paramétrico de Friedman
(2) Nível descritivo de probabilidade do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis

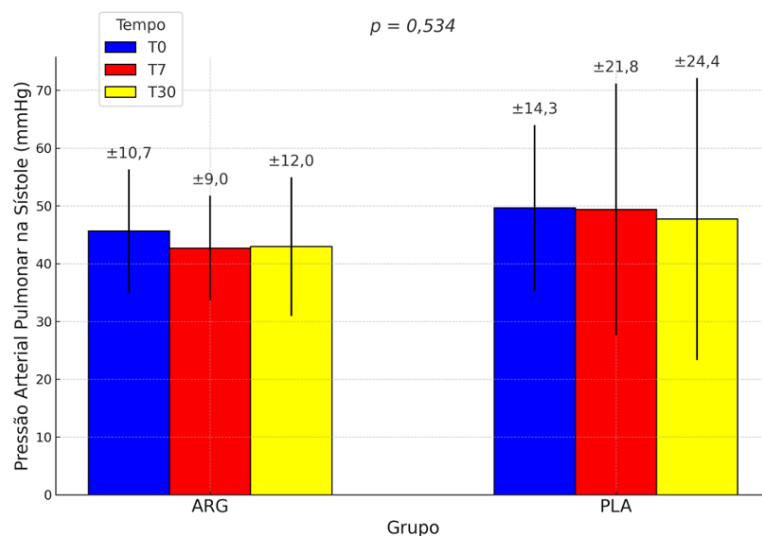


Figura 1. Aferição da pressão arterial pulmonar na sístole (mmHg) ao longo dos momentos nos grupos ARG e PLA

Conclusão: Neste estudo, a suplementação de L-arginina não promoveu aumento significativo dos níveis plasmáticos de ON e H₂S, nem reduziu a PAPs em cães com HAP pré-capilar. Como contribuição, foram estabelecidos valores de referência inéditos para H₂S em cães saudáveis, fornecendo dados relevantes para futuras investigações.

Agradecimentos: À empresa Premier Pet pelo auxílio financeiro. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Referências Bibliográficas: ALTAANY, Z. et al. Crosstalk between Hydrogen Sulfide and Nitric Oxide in Endothelial Cells. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, v.17, p. 879–888, 2013CHEN, C. Q.; XIN, H.; ZHU, Y. Z. Hydrogen sulfide: Third gaseous transmitter, but with great pharmacologicalCOLETTA, C. et al. Hydrogen sulfide and nitric oxide are mutually dependent in the regulation of angiogenesis and endothelium-dependent vasorelaxation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 109, n. 23, p. 9161–9166, 2012COSTELLO, C.M. et al. L-Arginine promotes angiogenesis in the chronically hypoxic lung: A novel mechanism ameliorating pulmonary hypertension. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*, v. 296, n. 6, p. 1042–1051, 2009KELLIHAN, H. B.; STEPIEN, R. L. Pulmonary hypertension in dogs: Diagnosis and therapy. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, v.40, n. 4, p. 623–641, 2010National Research Council. *Nutrient Requirements of Dogs and Cats*. 2nd. ed. Washington: The National Academies Press, 2006REINERO, C. et al. ACVIM consensus statement guidelines for the

diagnosis, classification, treatment, and monitoring of pulmonary hypertension in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 34, n. 2, p. 549–573, 2020

ZUCKERBRAUN, B. S. et al. Nitrite in pulmonary arterial hypertension: Therapeutic avenues in the setting of dysregulated arginine/nitric oxide synthase signalling. *Cardiovascular Research*, v. 89, n. 3, p. 542–552, 2011