

## EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DO AMINOÁCIDO L-CITRULINA NA INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *LEISHMANIA INFANTUM* (SYN. *L. CHAGASI*)

Raniella Borges da Silva<sup>1</sup>; Raimundo Leoberto Torres de Sousa<sup>2</sup>

Fernando Aécio Amorim de Carvalho<sup>3</sup>; Michel Mualém de Moraes Alves<sup>4</sup>

João Victor Silva Araújo<sup>5</sup>; Clarisse Maria Barbosa Fonseca<sup>6</sup>; Gabriel Martins de Barros<sup>7</sup>

Roniele Araújo de Sousa<sup>8</sup>; Tarsia Giabardo Silva Mendonça<sup>9</sup>

Lidiane Pereira de Albuquerque<sup>10</sup>; Vagner José Mendonça<sup>11</sup>

**Destaques:** (1). A leishmaniose é uma doença hipercatabólica. (2). A suplementação de L-Citrulina antes da infecção preveniu perda de peso. (3). A suplementação da L-Citrulina durante infecção promoveu ganho de peso. (4). A suplementação da L-Citrulina pode ser benéfica em doenças hipercatabólicas.

PRE-PROOF

(as accepted)

Esta é uma versão preliminar e não editada de um manuscrito que foi aceito para publicação na Revista Contexto & Saúde. Como um serviço aos nossos leitores, estamos disponibilizando esta versão inicial do manuscrito, conforme aceita. O artigo ainda passará por revisão, formatação e aprovação pelos autores antes de ser publicado em sua forma final.

<http://dx.doi.org/10.21527/2176-7114.2024.49.15694>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Piauí, Departamento de Nutrição, Teresina/PI, Brasil. <https://orcid.org/0000-0002-7636-333X>

<sup>2</sup> Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro/RJ, Brasil. <https://orcid.org/0000-0002-2524-1703>

<sup>3</sup> Universidade Federal do Piauí, Departamento de Bioquímica e Farmacologia. Teresina/PI, Brasil. <https://orcid.org/0000-0002-0889-9968>

<sup>4</sup> Universidade Federal do Piauí, Departamento de Morfofisiologia Veterinária. Teresina/PI, Brasil. <https://orcid.org/0000-0003-4541-6096>

<sup>5</sup> Universidade Federal do Piauí, Departamento de Morfologia. Teresina/PI, Brasil. <https://orcid.org/0000-0001-6917-0639>

<sup>6</sup> Universidade Federal do Piauí, Departamento de Morfologia. Teresina/PI, Brasil. <https://orcid.org/0000-0002-7770-2591>

<sup>7</sup> Universidade Federal do Piauí, Departamento de Morfologia. Teresina/PI, Brasil. <https://orcid.org/0000-0003-2758-6200>

<sup>8</sup> Universidade Nova de Lisboa. Instituto de Higiene e Medicina Tropical. Lisboa, Portugal. <https://orcid.org/0000-0003-3104-5925>

<sup>9</sup> Universidade Federal do Piauí, Departamento de Morfologia. Teresina/PI, Brasil. <https://orcid.org/0000-0001-5213-8368>

<sup>10</sup> Universidade Federal do Piauí, Departamento de Bioquímica e Farmacologia. Teresina/PI, Brasil. <https://orcid.org/0000-0001-5844-4243>

<sup>11</sup> Universidade Federal do Piauí, Departamento de Parasitologia e Microbiologia. Teresina/PI, Brasil. <https://orcid.org/0000-0003-0838-6764>

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DO AMINOÁCIDO L-CITRULINA NA INFECÇÃO  
EXPERIMENTAL POR *LEISHMANIA INFANTUM* (SYN. *L. CHAGASI*)**

**Como citar:**

da Silva RB, de Sousa RLT, de Carvalho FAA, Alves MM de M, Araújo JFC, Fonseca CMB. et al. Efeitos da suplementação do aminoácido l-citrulina na infecção experimental por *Leishmania infantum* (Syn. *L. chagasi*). Rev. Contexto & Saúde, 2024;24(49): e15694

**RESUMO**

**Introdução:** A *Leishmania infantum* é o agente etiológico da leishmaniose visceral, doença que afeta milhões de pessoas ao redor do mundo. Este estudo explora o potencial terapêutico da suplementação do aminoácido L-Citrulina na modulação da resposta imune e atenuação da progressão dessa doença em modelos murinos. **Métodos:** Os animais do estudo (camundongos isogênicos BALB/c) foram divididos em dois grupos: Grupo A – suplementação iniciada 7 dias antes da infecção; Grupo B – suplementação iniciada no primeiro dia de infecção. A suplementação nos dois grupos ocorreu durante 7 dias ininterruptos com a dosagem de 0,03g do aminoácido dissolvido em 0,4mL de solução salina. A infecção experimental ocorreu com a inoculação, via intraperitoneal, de  $1 \times 10^6$  de promastigotas de *L. infantum*. O peso corporal dos camundongos foi aferido pelo mesmo avaliador em 3 momentos, a cada 7 dias, contados o início do experimento até a eutanásia (8º dia de infecção). Os demais parâmetros foram avaliados após eutanásia dos animais. Os valores foram tabulados e analisados estatisticamente. **Resultados:** Foi possível verificar que suplementação de L-Citrulina resultou em um maior percentual de ganho de peso corporal nos animais tanto infectados quanto não infectados nos períodos analisados. No grupo tratado sincronicamente com a infecção, os animais infectados apresentaram ganho de peso significativo quando comparado ao que receberam solução salina. **Conclusão:** A suplementação de L-Citrulina pode enquadrar-se como uma estratégia nutricional promissora durante tratamento da infecção por *L. infantum*, logo, torna-se interessante avaliar os efeitos do uso desse aminoácido em humanos e em outras doenças hipercatabólicas.

**Palavras-chave:** Leishmaniose visceral. Nutracêutico. Antropometria.

## EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DO AMINOÁCIDO L-CITRULINA NA INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *LEISHMANIA INFANTUM* (SYN. *L. CHAGASI*)

### INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral (LV) é uma doença infecciosa crônica causada por protozoários do gênero *Leishmania* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae)<sup>1</sup>. No Brasil é causada pela espécie *Leishmania infantum* cuja a transmissão ocorre principalmente pela picada de fêmeas de flebotomíneos da espécie *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae)<sup>2-4</sup>.

Na América Latina, a doença já foi descrita em pelo menos 12 países, sendo que 90% dos casos notificados concentram-se no Brasil, especialmente na região Nordeste. Entretanto, atualmente, é possível verificar a expansão da leishmaniose visceral em quase todo o território brasileiro, principalmente em municípios com crescente urbanização e alto índice de pobreza<sup>5,6</sup>. As notificações deixaram de ser centradas na região Nordeste e passaram a ser registradas com mais frequência nas regiões Norte, Centro-oeste e Sudeste do Brasil<sup>5</sup>. Logo, é uma zoonose parasitária que encontra-se em ascensão, merecendo destaque pela alta disseminação, com uma alta taxa de letalidade, em especial, quando associada a quadros de infecções e desnutrição<sup>7</sup>.

Estudos têm demonstrado que a infecção por *L. infantum* (Syn. *L. chagasi*) tem provocado a perda dos estoques corporais de proteínas, calorias, vitaminas e minerais, e por isso, necessita de uma dupla intervenção na desnutrição e na infecção, pois as deficiências nutricionais podem afetar adversamente os mecanismos imunológicos, deprimindo a função imunológica humoral e celular, reduzindo frações do sistema complemento e o número, proliferação e função dos linfócitos T circulantes, além de reprimir a produção de citocinas, alterando o reconhecimento de antígenos<sup>8,9</sup>.

Em 2022 a Organização Mundial da Saúde (OMS) lançou o primeiro relatório mundial sobre a prevenção e controle de infecções, apresentando o sistema imune como um mediador desta interação<sup>10</sup>. Logo, a ausência de uma intervenção nutricional adequada ao paciente com LV, com o intuito de controlar a perda de peso e melhorar o sistema imune, pode ser capaz de agravar o quadro clínico e reduzir a resposta ao tratamento farmacológico<sup>11</sup>.

Durante a infecção por *L. infantum*, o fígado sofre diversas alterações fisiopatológicas, como aumento volumétrico, congestão e esteatose<sup>12</sup>, e por ser um órgão responsável por inúmeras vias bioquímicas na produção, modificação e utilização de nutrientes e de outras substâncias metabolicamente ativas, a doença hepática crônica resulta em grande impacto nutricional, independentemente de sua etiologia<sup>12,13</sup>. Além disso, apesar da ingestão dietética reduzida ser considerada o principal fator da Desnutrição Energético Proteica (DEP) na doença hepática, há contribuição também da má digestão e má absorção<sup>13</sup>.

Tendo em vista que o fígado encontra-se com suas funções comprometidas durante

## EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DO AMINOÁCIDO L-CITRULINA NA INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *LEISHMANIA INFANTUM* (SYN. *L. CHAGASI*)

infecção por *L. infantum*<sup>8</sup>, e que o uso de um aminoácido que não tem passagem hepática pode ser capaz de fornecer de forma eficiente quantidades adequadas de nitrogênio para os tecidos periféricos, incluindo músculos e, assim, aumentar a síntese de proteínas em pacientes com LV, a suplementação do aminoácido L-Citrulina<sup>14</sup>, que atende a esses critérios, pode ser, portanto, uma boa alternativa para evitar a DEP durante a infecção.

Nesse sentido, o objetivo do presente trabalho foi avaliar *in vivo* os efeitos da suplementação do aminoácido L-Citrulina sobre a biometria corporal do camundongo BALB/c infectado por *L. infantum*.

### METODOLOGIA

#### Aspectos éticos na experimentação animal

O ensaio foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Piauí (UFPI), sob protocolo 544/2019. Todos os procedimentos foram realizados segundo as exigências éticas do Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA) e pela legislação nacional para vivissecção animal em vigor (Lei nº 11.794, de 8/10/08, Lei nº 9.605, de 12/02/98 e Resolução normativa nº 38, de 17/04/18).

#### Utilização de modelos murinos

Para atingir aos objetivos foram utilizados 40 animais da linhagem de camundongos isogênicos BALB/c, da espécie *Mus musculus*, Linnaeus, machos, com aproximadamente 10 semanas de vida, selecionados aleatoriamente e acondicionados na Sala de Infecção por *Leishmania* no Biotério Setorial I, onde ficavam alojados em caixas plásticas com telas de proteção contra a entrada de mosquitos, e mantidos em ambiente com temperatura controlada (24°C), com ciclo claro-escuro de 12 horas. Eles recebiam água filtrada e ração comercial padrão, à vontade. É válido destacar que os índices nutricionais exigidos para a ração de roedores do Biotério Central da UFPI são: umidade máxima de 13%, proteína bruta mínima de 20%, extrato etéreo de no máximo 5%, fibra bruta máxima de 5% e energia mínima de 3.88 kcal/g.

#### Suplementação e infecção experimental

Os camundongos do experimento foram divididos aleatoriamente em dois grupos (A e B), que foram agrupados de acordo com o período de início da suplementação do aminoácido

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DO AMINOÁCIDO L-CITRULINA NA INFECÇÃO  
EXPERIMENTAL POR *LEISHMANIA INFANTUM* (SYN. *L. CHAGASI*)**

L-Citrulina. No grupo A, a suplementação do aminoácido foi iniciada 7 dias antes da infecção experimental (Tratamento prévio) e no Grupo B, a suplementação da L-Citrulina ocorreu entre os dias 1 e 7 de infecção (Tratamento sincrônico). É válido destacar que o protocolo de experimentação ocorreu durante sete dias ininterruptos, ou seja, enquanto os animais da intervenção recebiam o aminoácido durante sete dias sem pausas (tratamento), os do subgrupo controle (sem intervenção/sem suplementação) receberam solução salina durante o mesmo período e condições.

Cada grupo (A e B) possuía 20 animais, que foram subdivididos igualmente (n=10) em animais infectados e saudáveis (não infectados), que distribuíam-se em subgrupos “Tratamento” - Intervenção com L-Citrulina/controle positivo e “Controle” - Sem suplementação do aminoácido/controle negativo; resultando em quatro subgrupos para o tratamento prévio e quatro para o tratamento sincrônico; formando subunidades experimentais com um número total de 5 animais em cada, numerados de I a IV, acompanhados da letra do seu repetitivo grupo, A ou B. Sendo I – Infecção e L-Citrulina; II – Infecção e solução salina; III – Não infecção e L-Citrulina e IV – Não infecção e solução salina (Quadro 1).

**Quadro 1.** Divisão dos grupos experimentais de acordo com o período de início da suplementação.

GRUPOS	SUBGRUPOS		
		Tratamento	Controle
<b>Tratamento prévio (Grupo A)</b> (n=20)	Infectados n=10	<b>IA</b> - Infecção e L-Citrulina (n=5)	<b>IIA</b> - Infecção e solução salina (n=5)
	Saudáveis n=10	<b>IVA</b> - Não infecção e L-Citrulina (n=5)	<b>IIIA</b> - Não infecção e solução salina (n=5)
<b>Tratamento sincrônico (Grupo B)</b> (n=20)	Infectados n=10	<b>IB</b> - Infecção e L-Citrulina (n=5)	<b>IIIB</b> - Infecção e solução salina (n=5)
	Saudáveis n=10	<b>IVB</b> - Não infecção e L-Citrulina (n=5)	<b>IIIB</b> - Não Infecção e solução salina (n=5)

No subgrupo de infectados, 5 animais foram suplementados (controle positivo) e 5 animais receberam apenas solução salina via oral (controle negativo); No subgrupo de

## EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DO AMINOÁCIDO L-CITRULINA NA INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *LEISHMANIA INFANTUM* (SYN. *L. CHAGASI*)

animais saudáveis (não infectados), 5 animais receberam a suplementação do aminoácido diluído em solução salina e 5 receberam apenas solução salina.

O protocolo de suplementação de L-Citrulina baseou-se na quantidade (g) de aminoácido utilizado por Batista e colaboradores<sup>15</sup>, assim, os animais do grupo de intervenção receberam 0,03g do aminoácido dissolvido em 0,4mL de solução salina para facilitar a administração oral (via gavagem), e o grupo controle negativo, por sua vez, recebeu apenas os 0,4mL de solução salina para simular as mesmas condições de estresse de administração do aminoácido do grupo controle positivo.

O dia da infecção experimental foi considerado como o dia 0 (zero) de infecção e aconteceu em uma segunda-feira. A suplementação do aminoácido foi iniciada na terça-feira (1º dia de infecção), e foi finalizada no 7º dia de infecção (segunda-feira subsequente). A eutanásia dos animais aconteceu no 8º dia de infecção (terça-feira subsequente).

O grupo B só foi manipulado diariamente durante os 7 dias prévios à infecção, sendo assim, após infecção, não receberam nenhum tipo de tratamento até a eutanásia (8º dia de infecção). Já o grupo A, não recebeu nenhum tratamento na semana que antecedia a infecção, e só passou a ser manipulado diariamente entre os dias 1 e 7 de infecção, período em que receberam o aminoácido (controle positivo/tratamento) ou a solução salina (controle negativo/sem intervenção) durante 7 dias sem interrupções.

Para a infecção experimental, foi utilizada cepas de promastigotas purificadas de *L. infantum* (MHOM/5745) obtidas em parceria com o Laboratório de Atividade Antileishmania da Universidade Federal do Piauí. As cepas foram cultivadas em meio Schneider's (Sigma, EUA), suplementado com 10% de soro fetal bovino (Sigma, EUA) e penicilina-estreptomicina 10.000 UI/10mg (Sigma, EUA) e mantidas em estufa de demanda bioquímica do oxigênio a 26°C. Os camundongos do grupo de infecção receberam, por via intraperitoneal, uma dose infectante de  $1 \times 10^6$  formas promastigotas metacíclicas em fase estacionária de crescimento suspensas em 100µL de solução tampão fosfato-salino, e os animais do grupo controle negativo de infecção, ou seja, não infectados (saudáveis), receberam apenas solução salina para simular as mesmas condições.

### **Acompanhamento da biometria corporal e avaliação clínica**

O peso corporal dos animais foi acompanhado em 3 momentos, sempre no mesmo horário, pelo mesmo avaliador e balança - 7 dias antes da infecção, no dia da infecção e no 8º dia de infecção, onde ocorreu a eutanásia. Eles eram pesados individualmente em uma balança

## EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DO AMINOÁCIDO L-CITRULINA NA INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *LEISHMANIA INFANTUM* (SYN. *L. CHAGASI*)

digital com precisão de duas casas decimais após o grama (centígrama). Cada aferição era realizada em triplicata e considerava-se a média das três pesagens como a massa corpórea do animal. Ao final, foram considerados para análise e comparação dos resultados, o peso médio das duas últimas pesagens de cada grupo (dia da infecção e dia da eutanásia).

No dia da eutanásia foram observados e tabulados os seguintes parâmetros clínicos nos animais de todos os grupos: coloração das mucosas (olho, boca e nariz); tamanho do baço e fígado; características dos pelos; e presença de ascite (aumento da região abdominal em decorrência do acúmulo de líquidos). Após a confirmação da ausência dos parâmetros vitais realizou-se a dissecação dos animais através de uma ampla incisão mediana abdominal em linha média ventral para remoção do fígado e baço, que em seguida foram pesados em balança analítica, um instrumento laboratorial projetado para medir a massa de pequenas amostras com alto grau de exatidão e precisão.

### **Análise estatística**

Os dados foram tabulados na planilha do Microsoft Office Excel® e analisados no programa Stata® versão 14 (StataCorp LP, College Station, EUA). Calculou-se a média, mediana e intervalo interquartil. Para verificar normalidade dos dados aplicou-se o teste de Shapiro-Wilk (número amostral) e para analisar a diferença entre duas variáveis utilizou-se Teste U de Mann-Whitney. Adotando-se o nível de significância menor ou igual a 5%, ( $P \leq 0,05$ ). Além disso, calculou-se o percentual de alteração de peso dos animais utilizando a seguinte fórmula: % de alteração de peso =  $([\text{Peso atual} - \text{peso inicial}]/\text{peso inicial} * 100)$ .

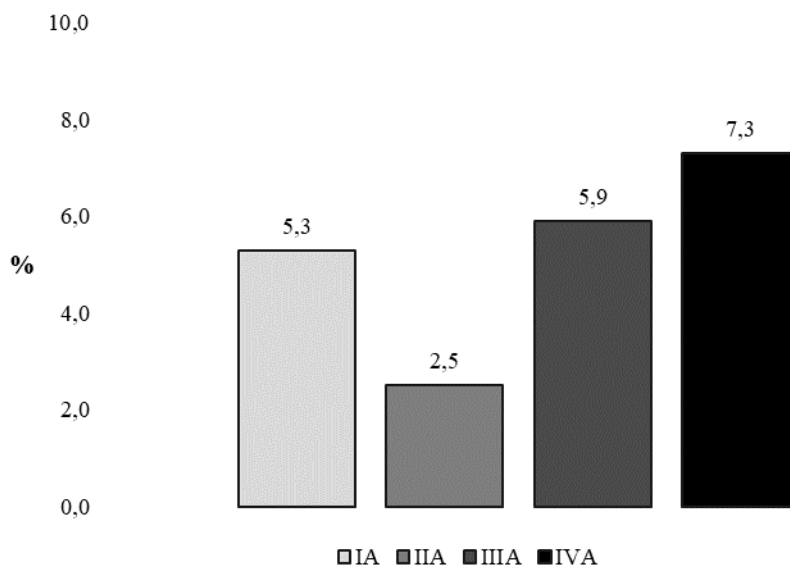
### **RESULTADOS**

A avaliação clínica dos camundongos demonstrou que eles apresentaram normalidade quanto aos parâmetros avaliados: Mucosa (olho, boca e nariz) rósea (normocorada), ausência de alopecia, e nenhum vestígio de hepatomegalia, esplenomegalia e ascite. Comparando as medianas referentes a peso (g), altura largura e profundidade (cm) do fígado e baço dos animais dos grupos A e B, verificou-se que nem a infecção e nem a suplementação provocaram alterações significativas entre as medidas aferidas nos animais experimentais e controle. Algo que confirma esses achados da avaliação clínica, onde os camundongos não apresentaram alteração no tamanho desses órgãos.

Todos os animais que receberam tratamento prévio (grupo A) apresentaram ganho ponderal na semana após infecção (Figura 1).

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DO AMINOÁCIDO L-CITRULINA NA INFECÇÃO  
EXPERIMENTAL POR *LEISHMANIA INFANTUM* (SYN. *L. CHAGASI*)

**Figura 1.** Percentual de ganho de peso médio dos camundongos do grupo A após uma semana de infecção.



**Fonte:** Dados da pesquisa. Legenda: IA - Infecção e L-Citrulina do dia 1º ao 7º de infecção; IIA - Infecção e solução salina do dia 1º ao 7º de infecção; IIIA - Saudáveis e com solução salina durante 7 dias; IVA - Saudáveis e com L-Citrulina durante 7 dias.

Nota-se que os camundongos que receberam suplementação de L-Citrulina (IA e IVA), apresentaram um percentual de ganho de peso médio maior que seu respectivo grupo controle (IIA e IIIA). Entretanto, essa diferença não foi estatisticamente significativa (Tabela 1).

**Tabela 1.** Comparação da variação do percentual de ganho de peso dos animais do grupo (A) após uma semana de infecção.

Subgrupos	Variação do percentual de ganho de peso (%)		
	Mediana	IQR*	P-valor
IA - Infecção e L-Citrulina	5,0	3,3	0,17
IIA - Infecção e solução salina	2,5	2,4	
IIIA - Solução salina	4,5	5,5	0,19
IVA - L-Citrulina	5,5	11,7	

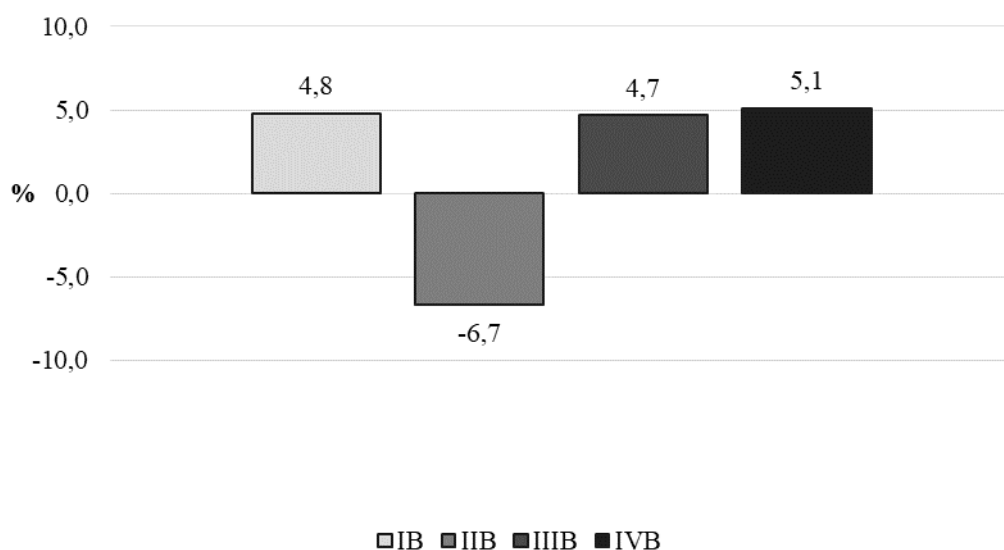
**Fonte:** Dados da pesquisa. \* Intervalo entre quartis.



## EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DO AMINOÁCIDO L-CITRULINA NA INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *LEISHMANIA INFANTUM* (SYN. *L. CHAGASI*)

No grupo B, correspondente aos animais que receberam o tratamento na semana de infecção, os camundongos infectados e suplementados com L-Citrulina tiveram aumento da variação do percentual de ganho de peso, enquanto que o grupo controle, que recebeu apenas solução salina, apresentou uma redução de 6,7% (Figura 2).

**Figura 2.** Percentual de ganho de peso médio dos camundongos do grupo B após uma semana de infecção.



**Fonte:** Dados da pesquisa. Legenda: IB - Infecção e L-Citrulina do dia 1º ao 7º de infecção; IIB - Infecção e solução salina do dia 1º ao 7º de infecção; IIIB - Saudáveis e com solução salina durante 7 dias; IVB - Saudáveis e com L-Citrulina durante 7 dias.

Ao comparar o percentual de variação de peso mediano de ambos os subgrupos (IB e IIB), verifica-se que há diferença significativa entre o peso dos animais infectados com e sem suplementação ( $p=0,028$ ) (Tabela 2).

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DO AMINOÁCIDO L-CITRULINA NA INFECÇÃO  
EXPERIMENTAL POR *LEISHMANIA INFANTUM* (SYN. *L. CHAGASI*)**

**Tabela 2.** Comparação da variação do percentual de ganho de peso dos animais do grupo B após uma semana de infecção.

Subgrupos	Variação do percentual de ganho de peso (%)		
	Mediana	IQR	P-valor
IB - Infecção e L-Citrulina	7,1	9,5	
IIB - Infecção e solução salina	- 6,3	- 2,2	0,028 <sup>#</sup>
IIIB - Solução salina	4,5	5,5	
IVB - L-Citrulina	5,5	11,7	0,190

Fonte: Dados da pesquisa. \* Intervalo entre quartis. <sup>#</sup>Diferença significativa.

## DISCUSSÃO

A suplementação de L-Citrulina resultou em uma maior taxa de ganho de peso em todos os grupos analisados. O estudo de Osowska e colaboradores encontrou resultados similares acerca da função anabólica da L-Citrulina, após investigar o efeito desse aminoácido sobre a homeostase do nitrogênio no envelhecimento em um modelo de ratos desnutridos e envelhecidos<sup>16</sup>.

Os resultados sobre o ganho ponderal evidenciado pela suplementação de L-Citrulina podem estar relacionados ao papel de aminoácidos na ativação direta de mTOR (mammalian target of rapamycin), uma proteína com papel central no crescimento, na proliferação e na manutenção das células<sup>17</sup>. Goron e colaboradores observaram que a L-Citrulina ativou a fosforilação do mTORC1 (Complexo 1 do mTOR) em miotubos cultivados. Quando ativado, o mTORC1 promove processos anabólicos, tais como síntese de proteínas, nucleotídeos e lipídios, e inibe os processos catabólicos<sup>18</sup>.

A ausência das manifestações clínicas nos animais deste estudo pode ser justificada pelo curto período de tempo do processo de infecção. Contudo, ao equiparar o grupo de camundongos infectados e não infectados, verificou-se que a infecção pela *L. infantum* apresenta correlação com o estado nutricional mesmo em um período inicial, pois o percentual de ganho de peso mostrou-se sempre maior nos animais não infectados.

Na semana de infecção, os animais do grupo que receberam tratamento prévio, foram poupados do desconforto e possível situação de estresse provocada pela administração forçada (gavagem), seja com L-Citrulina ou solução salina. No entanto, houve estresse da infecção somado ao da manipulação durante protocolo experimental para os animais do grupo B. Estes eventos podem justificar os resultados obtidos neste trabalho, pois os animais do grupo A, que

## EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DO AMINOÁCIDO L-CITRULINA NA INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *LEISHMANIA INFANTUM* (SYN. *L. CHAGASI*)

receberam apenas solução salina uma semana antes de infecção, apresentaram ganho de peso, ainda que pequeno, e já os do grupo B, sob mesmo tratamento, tiveram uma perda de peso significativa durante a infecção.

O estresse pode afetar a resposta imune, fazendo com que o organismo fique mais vulnerável quanto à sua defesa e, assim, mais susceptível a infecções causadas por microrganismos, visto que a resistência natural depende da habilidade das células em migrar para o sítio de infecção, e este mecanismo pode ser suprimido pelo estresse<sup>19</sup>.

Nesse sentido, a perda de peso dos animais infectados e que não receberam suplementação do aminoácido (subgrupo IIB) pode ser justificada tanto pela provável falta de apetite e processo inflamatório intenso após entrada do parasito no organismo, como pela possível influência da manipulação experimental no estresse e na redução do sistema imune dos animais infectados pela *L. infantum*, com conseqüente intensificação da infecção. A infecção, por sua vez, culmina com distúrbios do metabolismo energético, das proteínas, dos minerais e até das vitaminas. A síntese e a utilização destes nutrientes ocorrem simultaneamente. A primeira, representada pelo anabolismo e a última, pelo catabolismo. Em estados de inflamação, esse processo não é, entretanto, equilibrado, pois, há um desvio em favor do catabolismo. O resultado é a perda de peso, conseqüente ao consumo das reservas energéticas e proteicas<sup>20</sup>.

Nesse contexto, vale ressaltar que a L-Citrulina pode ter contribuído com a manutenção do peso corporal dos animais que faziam seu uso junto à infecção, por ser capaz de se converter em arginina, um aminoácido condicionalmente essencial, que por servir de substrato para células imunológicas, torna-se extremamente importante durante inflamação<sup>21</sup>. Portanto, ao manter os níveis sanguíneos adequados de arginina, a L-Citrulina detém a mobilização de proteínas corporais, conseguindo assim, evitar o balanço energético negativo, e conseqüentemente, a perda de peso observada no subgrupo IIB<sup>21,22</sup>.

Dessa forma, os dados sugerem que a obtenção exógena de L-Citrulina parece controlar o catabolismo proteico, e, assim, evitar a perda de peso nos grupos que receberam a suplementação do aminoácido antes e durante a primeira semana de infecção por *L. infantum*.

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DO AMINOÁCIDO L-CITRULINA NA INFECÇÃO  
EXPERIMENTAL POR *LEISHMANIA INFANTUM* (SYN. *L. CHAGASI*)**

**CONCLUSÃO**

A suplementação de L-Citrulina resultou em um maior percentual de ganho de peso corporal nos animais infectados ou não por *L. infantum* (Syn. *L. chagasi*). Além disso, evitou a perda de peso apresentada pelo grupo de animais infectados que não receberam o aminoácido na semana de infecção (controle negativo). Sendo assim, os resultados sugerem que o uso alternativo de nutracêuticos, tais como a L-Citrulina, podem ter o potencial de reduzir a perda de peso, e conseqüentemente, melhorar a resposta à infecção e ao tratamento da leishmaniose. Logo, torna-se interessante avaliar os efeitos do uso desse aminoácido em humanos e em outras doenças hipercatabólicas.

**AGRADECIMENTOS**

Aos colaboradores dos Laboratórios de Atividade Antileishmania, Morfologia e Parasitologia (UFPI), por todo suporte; aos funcionários do Biotério setorial I (UFPI) por todo apoio e incentivo; e a Enrike Borges da Silva, por toda assistência prestada durante as fases de experimentação e coleta dos dados.

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DO AMINOÁCIDO L-CITRULINA NA INFECÇÃO  
EXPERIMENTAL POR *LEISHMANIA INFANTUM* (SYN. *L. CHAGASI*)**

**REFERÊNCIAS**

1. Shaw JJ. New World Leishmaniasis: The Ecology of Leishmaniasis and the Diversity of Leishmanial Species in Central and South America. Em: Farrell JP, organizador. Leishmania [Internet]. Boston, MA: Springer US; 2002 [citado 26 de setembro de 2023]. p. 11–31. (World Class Parasites). Disponível em: [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-0955-4\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-0955-4_2)
2. Rangel EF, Vilela ML. Lutzomyia longipalpis (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. Cad Saúde Pública. dezembro de 2008;24:2948–52.
3. Brazil RP. The dispersion of Lutzomyia longipalpis in urban areas. Rev Soc Bras Med Trop. junho de 2013;46:263–4.
4. Lainson R, Rangel EF. Lutzomyia longipalpis and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil: a review. Mem Inst Oswaldo Cruz. dezembro de 2005;100:811–27.
5. Brasil. Situação epidemiológica da Leishmaniose Visceral [Internet]. Ministério da Saúde. 2023 [citado 14 de fevereiro de 2024]. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/l/leishmaniose-visceral/situacao-epidemiologica-da-leishmaniose-visceral>
6. Brasil - Ministério da Saúde. Guia de Vigilância em Saúde [Internet]. Brasília: Ministério da saúde; 2019 p. 740. Disponível em: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/junho/25/guiavigilancia-saude-volume-unico-3ed.pdf>
7. Costa CHN, Chang KP, Costa DL, Cunha FVM. From Infection to Death: An Overview of the Pathogenesis of Visceral Leishmaniasis. Pathogens. 24 de julho de 2023;12(7):969.
8. Oliveira AGL. Evolução do estado nutricional e caracterização do padrão alimentar de pacientes com leishmaniose tegumentar americana [Internet] [tese]. [Rio de Janeiro]: Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz; 2018. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/37727>
9. Katona P, Katona-Apte J. The Interaction between Nutrition and Infection. Clinical Infectious Diseases. 15 de maio de 2008;46(10):1582–8.
10. PAHO/WHO, Pan American Health Organization. OMS lança primeiro relatório mundial sobre prevenção e controle de infecções - OPAS/OMS | Organização Pan-Americana da Saúde [Internet]. 2022 [citado 19 de fevereiro de 2024]. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/6-5-2022-oms-lanca-primeiro-relatorio-mundial-sobre-prevencao-e-controle-infecoes>
11. Coelho LF. Análise morfológica do fígado e baço de camundongos Balb/c submetidos à desnutrição protéico-calórica e infectados com Leishmania infantum. [Internet] [Dissertação]. [Ouro Preto]: Universidade Federal de Ouro Preto; 2011. Disponível em: <http://www.repositorio.ufop.br/jspui/handle/123456789/3212>
12. Aguiar PF, Rodrigues RK. Leishmaniose Visceral no Brasil: Artigo de Revisão. Revista

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DO AMINOÁCIDO L-CITRULINA NA INFECÇÃO  
EXPERIMENTAL POR *LEISHMANIA INFANTUM* (SYN. *L. CHAGASI*)**

Unimontes Científica. 2017;19(1):192–204.

13. Maio R, Dichi JB, Burini RC. Conseqüências nutricionais das alterações metabólicas dos macronutrientes na doença hepática crônica. *Arq Gastroenterol.* janeiro de 2000;37:52–7.
14. Curis E, Nicolis I, Moinard C, Osowska S, Zerrouk N, Bénazeth S, et al. Almost all about citrulline in mammals. *Amino Acids.* 1o de novembro de 2005;29(3):177–205.
15. Batista MA. Efeitos da L-citrulina no processo de translocação bacteriana e na permeabilidade intestinal em modelo experimental de obstrução intestinal [Internet] [Dissertação]. [Minas Gerais]: Universidade Federal de Minas Gerais; 2010. Disponível em: <http://hdl.handle.net/1843/MBSA-8FMMFL>
16. Osowska S, Duchemann T, Walrand S, Paillard A, Boirie Y, Cynober L, et al. Citrulline modulates muscle protein metabolism in old malnourished rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* setembro de 2006;291(3):E582-586.
17. Bar-Peled L, Sabatini DM. Regulation of mTORC1 by amino acids. *Trends Cell Biol.* julho de 2014;24(7):400–6.
18. Goron A, Plénier S, Archambault E, Cynober L, Moinard C. Citrulline activates S6K1 and 4E-BP1 in muscle cells by both mTORC1-dependent and mTORC1-independent pathways. *Clin Nutr Suppl* 32:S118. *Clinical Nutrition.* 1o de setembro de 2013;32:S118.
19. Pagliarone AC, Sforcin JM. Estresse: revisão sobre seus efeitos no sistema imunológico. *Biosaúde.* 2009;11(1):57–90.
20. Cunha HFR da, Rocha EEM da, Hissa M. Necessidades proteicas, morbidade e mortalidade no paciente grave: fundamentos e atualidades. *Rev bras ter intensiva.* março de 2013;25:49–55.
21. Novaes MRCG, Pantaleão C de M. Arginina: bioquímica, fisiologia e implicações terapêuticas em pacientes com câncer gastrointestinal. *Revista de Ciências Médicas* [Internet]. 2005 [citado 19 de fevereiro de 2024];14(1). Disponível em: <https://periodicos.puc-campinas.edu.br/cienciasmedicas/article/view/1195>
22. Crenn P, Cynober L. Effect of intestinal resections on arginine metabolism: practical implications for nutrition support. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* janeiro de 2010;13(1):65–9.

Submetido em: 22/2/2024

Aceito em: 16/7/2024

Publicado em: 18/9/2024

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DO AMINOÁCIDO L-CITRULINA NA INFECÇÃO  
EXPERIMENTAL POR *LEISHMANIA INFANTUM* (SYN. *L. CHAGASI*)**

**Contribuições dos autores:**

Raniella Borges da Silva: Conceituação; Curadoria de dados; Análise Formal; Investigação; Metodologia; Redação do manuscrito original; Redação - revisão e edição.

Raimundo Leoberto Torres de Sousa: Análise Formal; Design da apresentação de dados; Redação - revisão e edição.

Fernando Aécio Amorim de Carvalho: Metodologia; Disponibilização de ferramentas; Supervisão.

Michel Mualém de Moraes Alves: Metodologia; Disponibilização de ferramentas.

João Victor Silva Araújo: Análise Formal; Investigação.

Clarisse Maria Barbosa Fonseca: Curadoria de dados; Análise Formal; Investigação.

Gabriel Martins de Barros: Análise Formal; Investigação.

Roniele Araújo de Sousa: Curadoria de dados; Análise Formal; Validação de dados e experimentos; Design da apresentação de dados.

Tarsia Giabardo Silva Mendonça: Investigação; Metodologia; Design da apresentação de dados.

Lidiane Pereira de Albuquerque: Design da apresentação de dados; Redação do manuscrito original.

Vagner José Mendonça: Conceituação; Análise Formal; Supervisão; Validação de dados e experimentos; Design da apresentação de dados; Redação - revisão e edição.

Todos os autores aprovaram a versão final do texto.

Conflito de interesse: Não há conflito de interesse.

**Financiamento:** Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica – PIBIC/CNPq/UFPI

**Autor correspondente:**

Vagner José Mendonça

Universidade Federal do Piauí, Departamento de Parasitologia e Microbiologia

Teresina/PI, Brasil

E-mail: [vagnerjose@ufpi.edu.br](mailto:vagnerjose@ufpi.edu.br)

Editor: Dr. Matias Nunes Frizzo

Editora chefe: Dra. Adriane Cristina Bernat Kolankiewicz

Este é um artigo de acesso aberto distribuído sob os termos da licença Creative Commons.

