

4. RESULTADOS

4.1 Resultados em plaquetas

4.1.1 Transporte de L-arginina em plaquetas

Utilizando-se o aminoácido neutro L-leucina (10 mM) para isolar o sistema de transporte y^+L , pôde-se observar que o influxo de L-arginina ($V_{\max}$) nas plaquetas dos pacientes com AN ($14,2 \pm 1,6$ pmol/ 10^9 céls/min; $n = 8$) estava reduzido em relação aos controles ($21,6 \pm 2,9$ pmol/ 10^9 céls/min; $n = 8$) (Figura 6). O K_m do sistema y^+L para a L-arginina não se mostrou diferente nos pacientes com AN ($23,2 \pm 6,1$ μ mol/L vs $14,8 \pm 3,0$ μ mol/L).

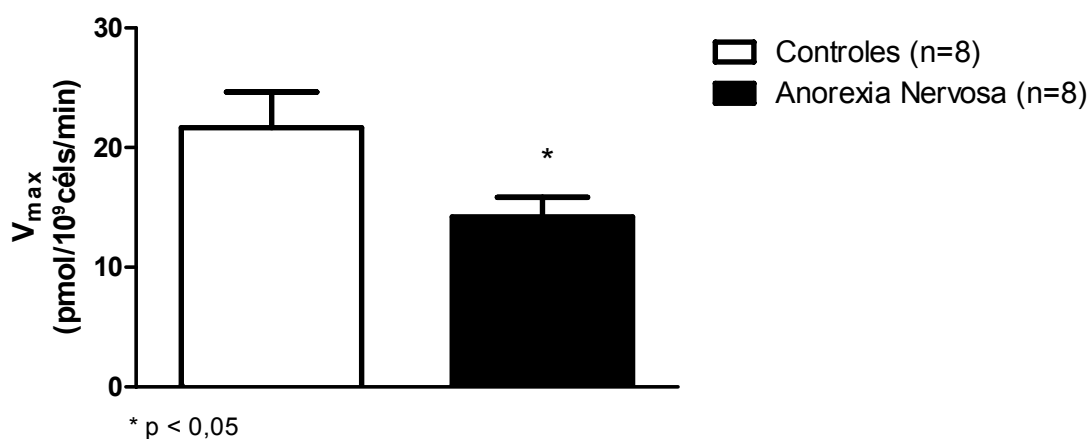


Figura 6. Transporte de L-arginina ($V_{\max}$) através do sistema y^+L em plaquetas de pacientes com AN e controles.

4.1.2 Concentração basal da GMPc Intraplaquetária

A concentração basal intraplaquetária de GMPc (pmol/ 10^8 céls) estava reduzida em plaquetas de pacientes com AN ($0,58 \pm 0,06$; $n=8$), comparada com a de controles ($0,95 \pm 0,11$; $n=8$) (Figura 7).

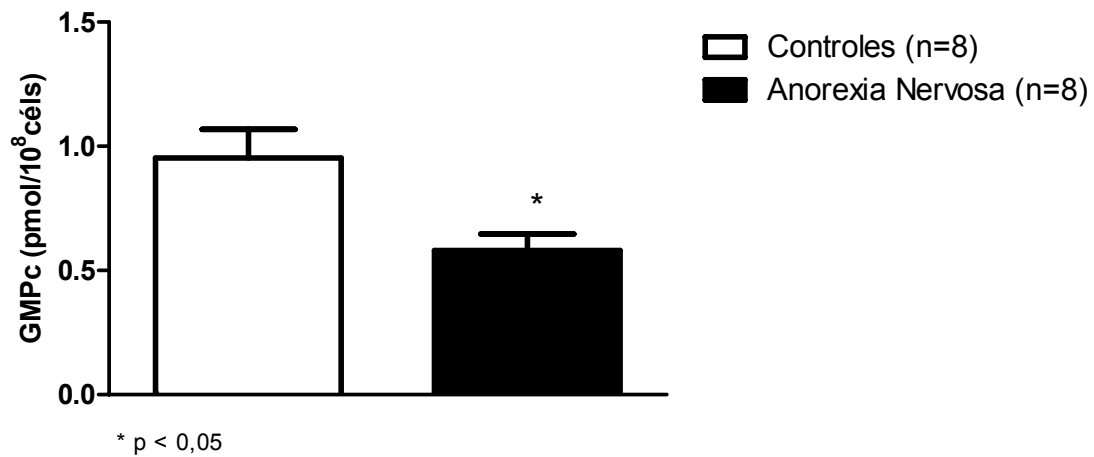


Figura 7. Concentração basal da GMPcíclico intraplaquetária em pacientes com AN e controles.

4.1.3 Atividade basal da NOS nas plaquetas

A atividade basal da NOS, avaliada através da produção basal de L-citrulina plaquetária, pmol/10⁸ céls, estava diminuída em pacientes com AN ($0,08 \pm 0$; n=8), em relação aos controles ($0,19 \pm 0,04$; n=8) (Figura 8).

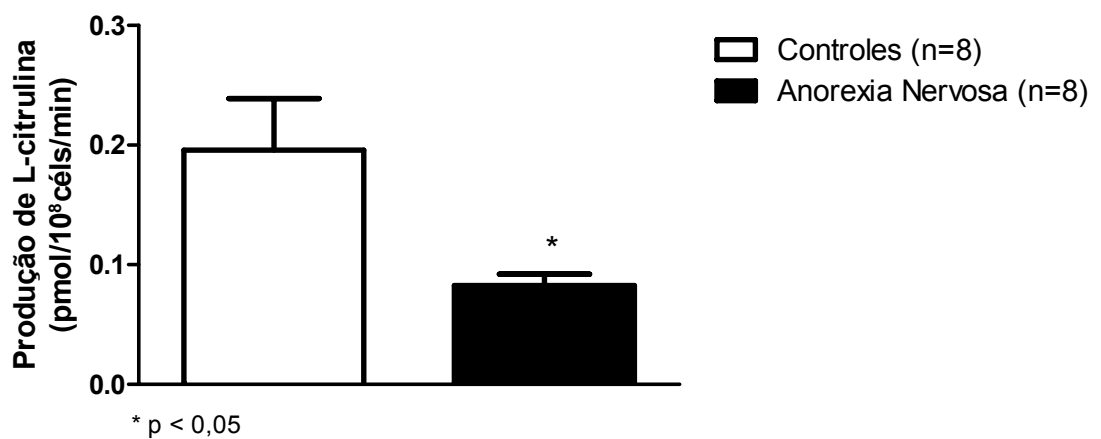


Figura 8. Produção basal de L-citrulina em plaquetas de pacientes com AN e controles.

4.1.4 Expressão das isoformas da NOS em plaquetas

A avaliação da expressão da enzima NOS endotelial realizada por western blotting, apresentada em unidades arbitrárias, mostra que as plaquetas humanas expressam essa enzima de forma constitutiva, e que não há diferença significativa entre pacientes com AN ($0,59 \pm 0,02$; $n=5$) e controles ($0,51 \pm 0,04$; $n=5$) (Figura 9).

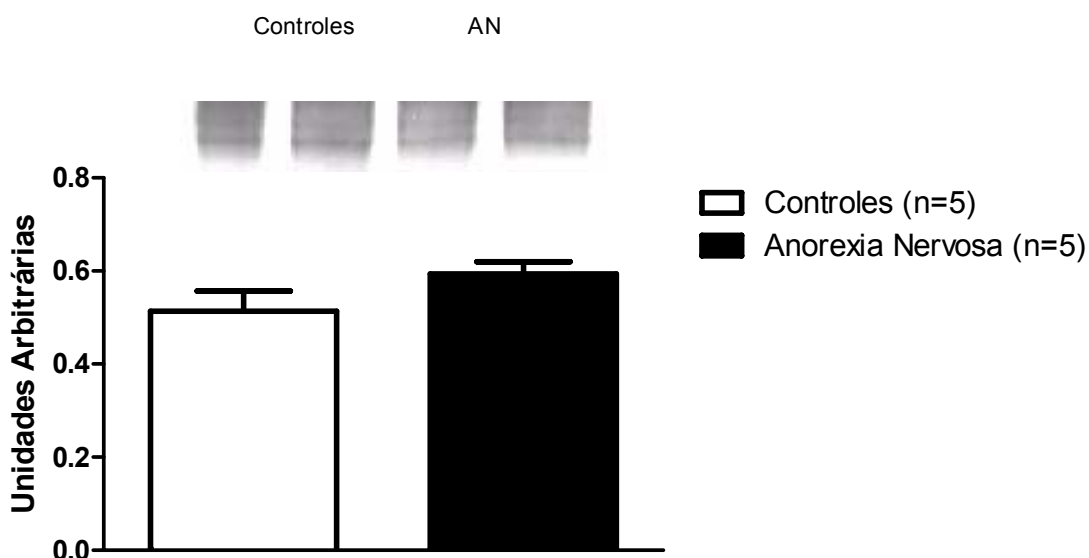


Figura 9. Expressão da NOS endotelial em plaquetas de pacientes com AN e controles.

O western blotting de lisado de plaquetas mostrou que tanto pacientes com AN como controles expressam a enzima NOS induzível e, da mesma forma que a isoforma endotelial, não há diferença significativa entre pacientes com AN ($1,17 \pm 0,10$) e controles ($0,83 \pm 0,17$) (Figura 10).

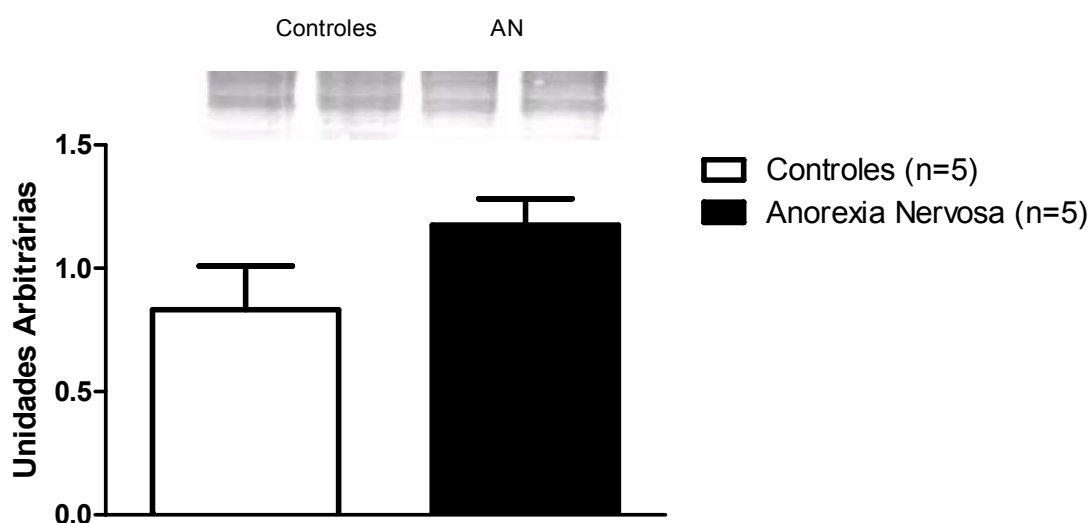


Figura 10. Expressão da NOS induzível em plaquetas de pacientes com AN e controles.

4.1.5 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em plaquetas

A formação de TBARS, um marcador de peroxidação lipídica, não mostrou diferença significativa nas plaquetas de pacientes com AN ($0,009 \pm 0,002$ nMol/mg de proteína; $n=8$), quando comparada aos controles ($0,011 \pm 0,001$ nMol/mg de proteína; $n=8$) (Figura 11).

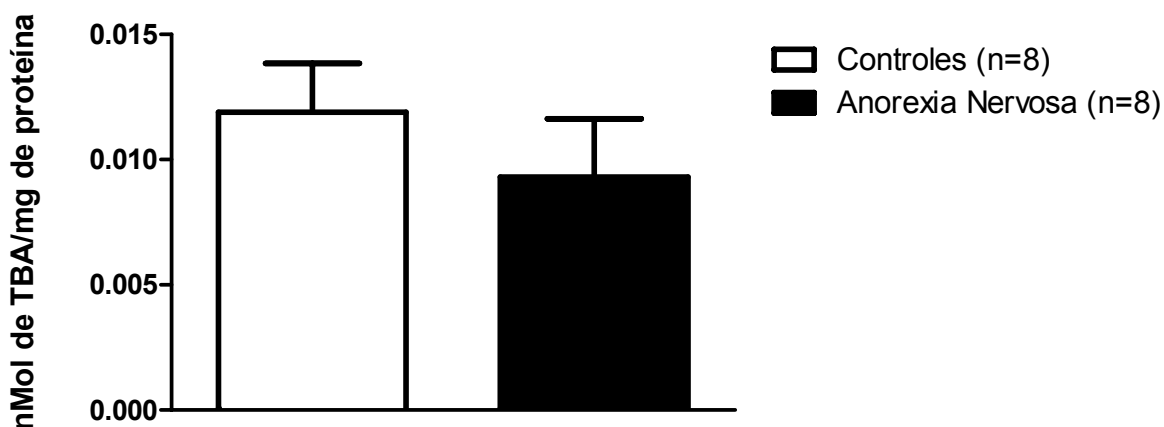


Figura 11. Formação de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) em plaquetas de pacientes com AN e controles.

4.1.6 Atividade da SOD nas plaquetas

A atividade da SOD, através da mensuração da inibição da auto-oxidação da adrenalina, mostrou-se reduzida nas plaquetas de pacientes com AN ($0,016 \pm 0,003$ U/mg de proteína; $n=8$), em relação aos controles ($0,042 \pm 0,011$ U/mg de proteína; $n=8$) (Figura 12).

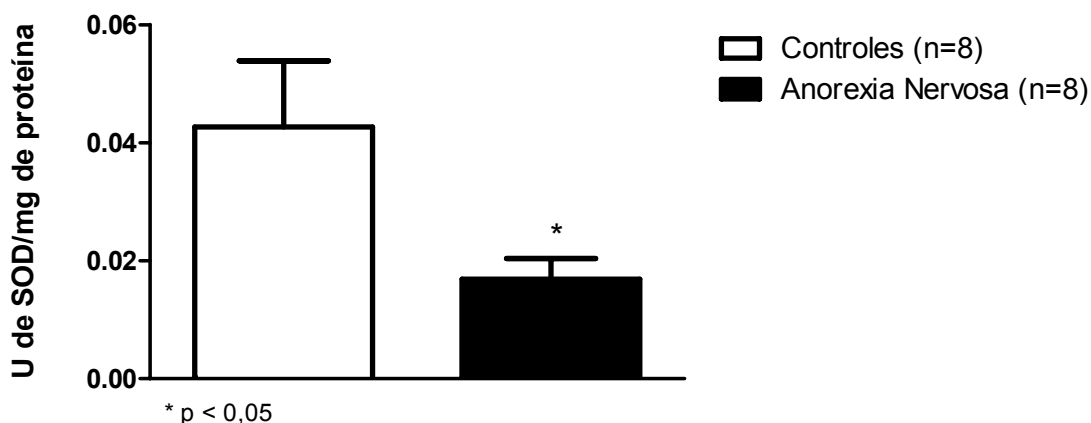


Figura 12. Atividade da SOD em plaquetas de pacientes com AN e controles.

4.1.7 Agregação plaquetária

A agregação plaquetária (%) em PRP induzida por concentrações crescentes de colágeno (2, 4 e 8 $\mu\text{g/mL}$) não se mostrou diferente nos pacientes com AN (61 ± 7 ; 70 ± 6 ; 83 ± 4 ; $n=8$), quando comparada aos controles (63 ± 7 ; 76 ± 2 ; 86 ± 1 ; $n=8$) (Figura 13).

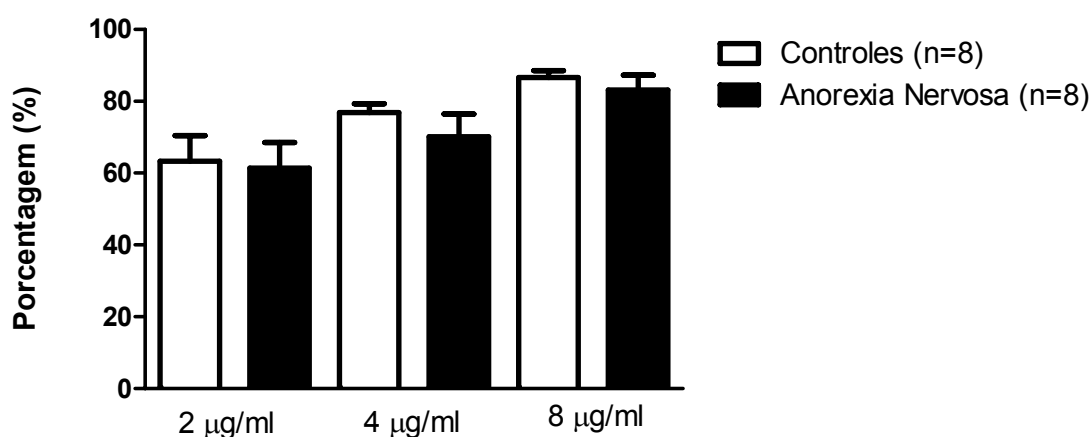


Figura 13. Agregação plaquetária induzida por diferentes concentrações de colágeno em plaquetas de pacientes com AN e controles.

4.2 Resultados em hemácias

4.2.1 Atividade basal da NOS nas hemácias

A atividade basal da NOS, avaliada através da produção basal de L-citrulina em hemácias, $\text{pmol}/10^8\text{cél/s}$, estava reduzida em pacientes com AN ($3,8 \pm 0,4$; $n=8$), em relação aos controles ($8,2 \pm 1,4$; $n=8$) (Figura 14).

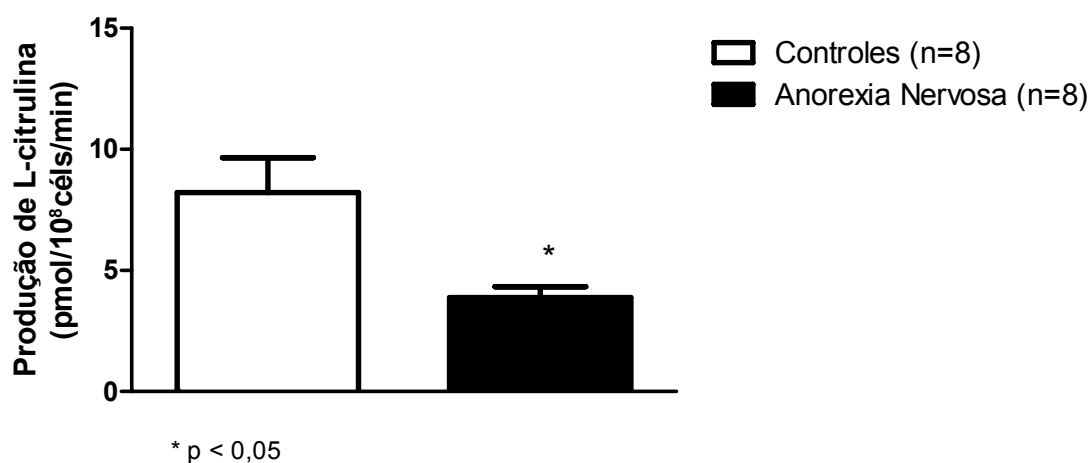


Figura 14. Produção basal de L-citrulina em hemácias de pacientes com AN e controles.

4.2.2 Expressão das isoformas da NOS em hemácias

A expressão da enzima NOS endotelial em hemácias, avaliada por western blotting, foi visualizada em 2 de 5 amostras tanto de pacientes com AN ($1,08 \pm 0,05$; $n=2$) como de controles ($0,74 \pm 0,14$; $n=2$). Nenhuma diferença foi observada entre os grupos (Figura 15).

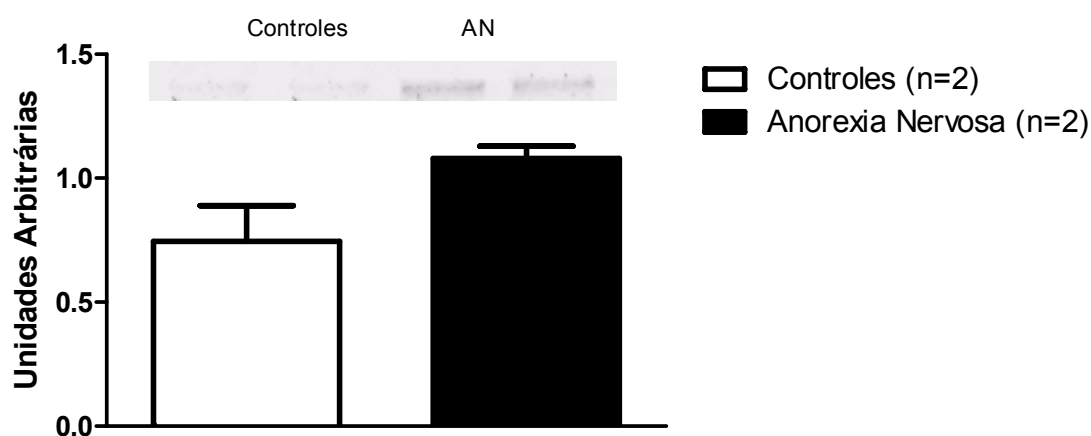


Figura 15. Expressão da NOS endotelial em hemácias de pacientes com AN e controles.

Da mesma forma que a isoforma endotelial, a isoforma induzível só foi visualizada em 2 de 5 amostras de hemácias de pacientes com AN ($0,85 \pm 0,11$; $n=2$) e controles ($0,86 \pm 0,09$; $n=2$). Também não se verificou diferença (Figura 16).

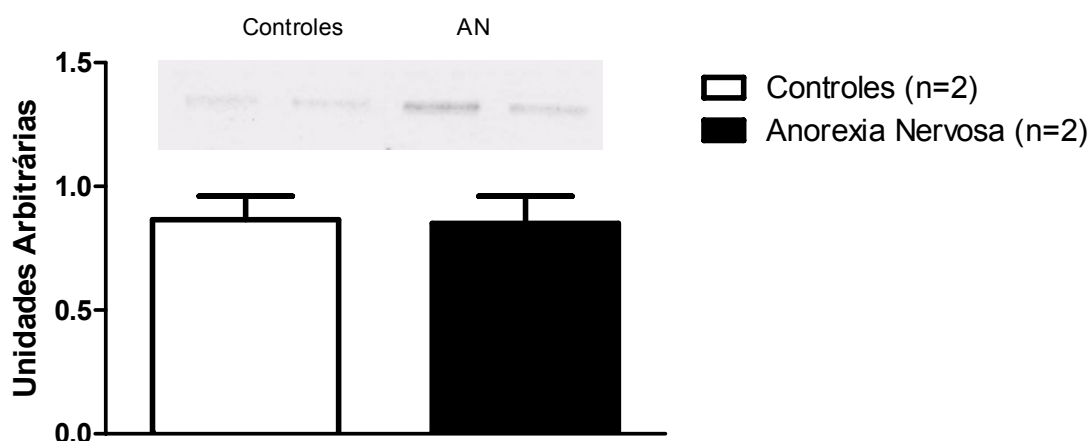


Figura 16. Expressão da NOS induzível em hemácias de pacientes com AN e controles.

4.2.3 Atividade da arginase em hemácias

A atividade da arginase (pmol uréia/mg proteína/2h), avaliada através da conversão da $[C^{14}]$ L-arginina em $[C^{14}]$ -uréia, mostrou-se elevada em plaquetas de pacientes com AN ($0,09 \pm 0,02$; $n=8$) em relação aos controles ($0,01 \pm 0,00$; $n=8$) (Figura 17).

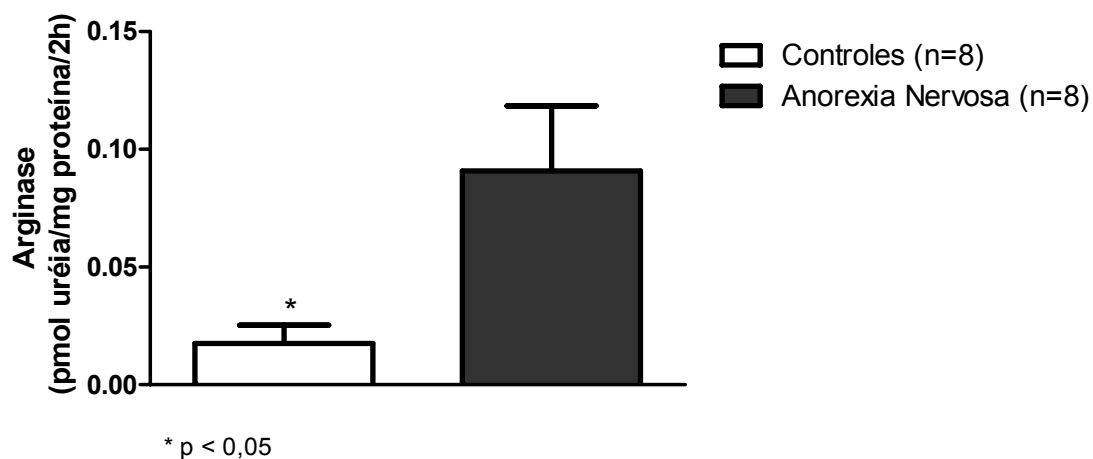


Figura 17. Atividade da arginase em hemácias de pacientes com AN e controles.

4.2.4 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em hemácias

A formação de TBARS em hemácias não mostrou diferença significativa nos pacientes com AN ($0,001 \pm 0,000$ nMol/mg de proteína; $n=8$), quando comparada aos controles ($0,003 \pm 0,001$ nMol/mg de proteína; $n=8$) (Figura 18).

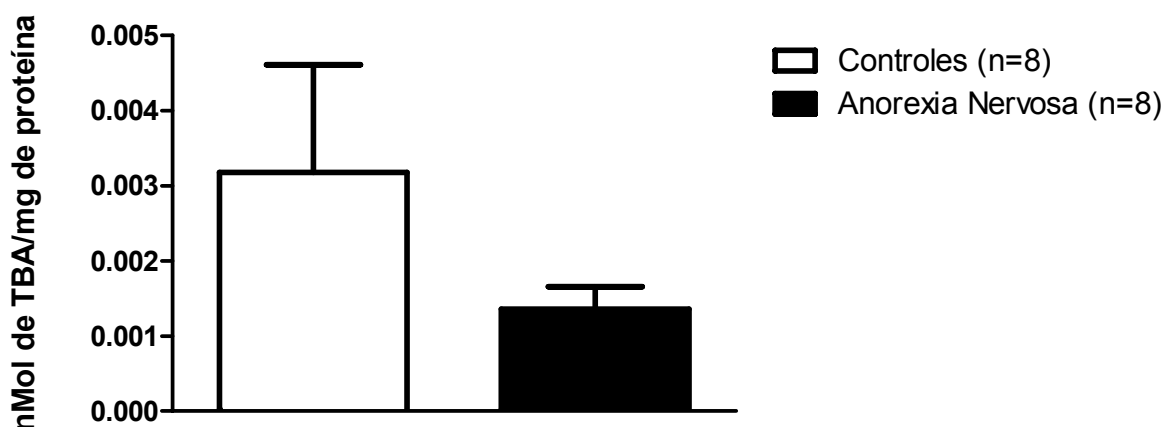


Figura 18. Formação de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) em hemácias de pacientes com AN e controles.

4.2.5 Atividade da SOD nas hemácias

A atividade da SOD nas hemácias, diferente das plaquetas, mostrou-se elevada em pacientes com AN ($0,42 \pm 0,07$ U/mg de proteína; n=8), em relação aos controles ($0,12 \pm 0,02$ U/mg de proteína; n=8) (Figura 19).

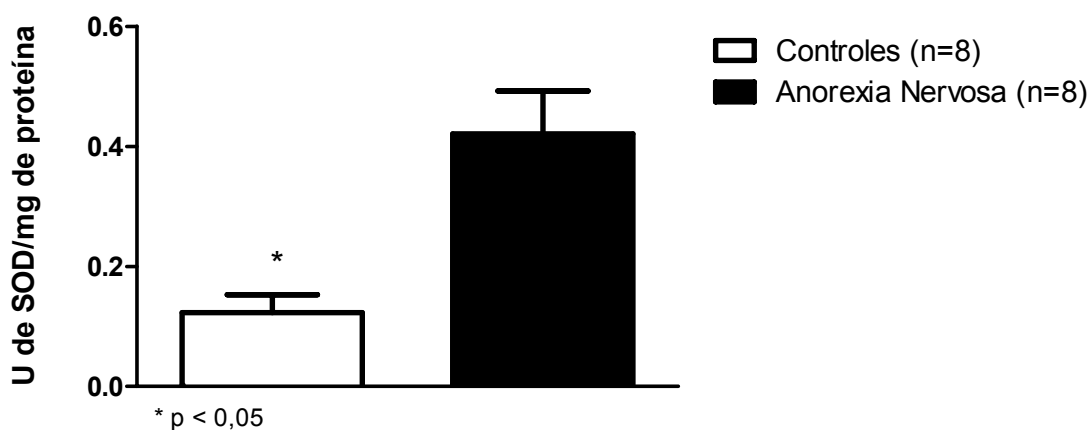


Figura 19. Atividade da SOD em hemácias de pacientes com AN e controles.

4.3 Resultados sistemicamente

4.3.1 Dosagem de aminoácidos

Foi analisado um total de 19 aminoácidos como mostra a Tabela 2, mas só o aminoácido arginina ($\mu\text{M/L}$) diferiu entre os grupos. Os pacientes com AN apresentaram concentração plasmática de arginina reduzida ($70,3 \pm 4,5$; $n=4$), quando comparados aos controles ($49,8 \pm 6,5$; $n=4$).

Tabela 2. Concentrações plasmáticas dos aminoácidos ($\mu\text{M/L}$) em indivíduos controles (n=4) e nos pacientes com AN (n=4).

Aminoácidos	Controles	Pacientes com AN
Ácido Aspártico	22,5 $\pm$ 4,7	17,5 $\pm$ 3,0
Ácido Glutâmico	62,2 $\pm$ 9,4	66,8 $\pm$ 14,1
Alanina	238,8 $\pm$ 30,1	310,0 $\pm$ 69,9
Arginina	70,3 $\pm$ 4,5	49,8 $\pm$ 6,5*
Asparagina	51,1 $\pm$ 5,9	60,3 $\pm$ 10,2
Fenilalanina	69,1 $\pm$ 4,5	68,3 $\pm$ 13,9
Glicina	244,5 $\pm$ 60,3	254,9 $\pm$ 83,4
Glutamina + Histidina	764,5 $\pm$ 31,3	679,8 $\pm$ 28,8
Isoleucina	82,4 $\pm$ 10,4	80,4 $\pm$ 5,7
Leucina	84,8 $\pm$ 6,3	105,1 $\pm$ 17,7
Lisina	145,8 $\pm$ 24,7	133,0 $\pm$ 9,8
Metionina	24,3 $\pm$ 7,1	33,3 $\pm$ 5,7
Ornitina	79,75 $\pm$ 18,7	62,1 $\pm$ 7,5
Serina	137,3 $\pm$ 27,2	153,8 $\pm$ 17,0
Taurina	129,2 $\pm$ 26,4	130,7 $\pm$ 36,0
Tirosina	56,0 $\pm$ 9,2	61,3 $\pm$ 14,6
Treonina	170,3 $\pm$ 45,9	144,7 $\pm$ 40,3
Triptofano	54,8 $\pm$ 6,0	64,7 $\pm$ 3,8
Valina	197,3 $\pm$ 30,9	180,3 $\pm$ 18,2

* $p<0,05$

4.3.2 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no soro

A formação de TBARS no soro, da mesma forma que nas plaquetas e nas hemácias, não mostrou diferença significativa nos pacientes com AN ($0,0010 \pm 0,0001$ nMol/mg de proteína; $n=8$), em relação aos controles ($0,0008 \pm 0,0000$ nMol/mg de proteína; $n=8$) (Figura 20).

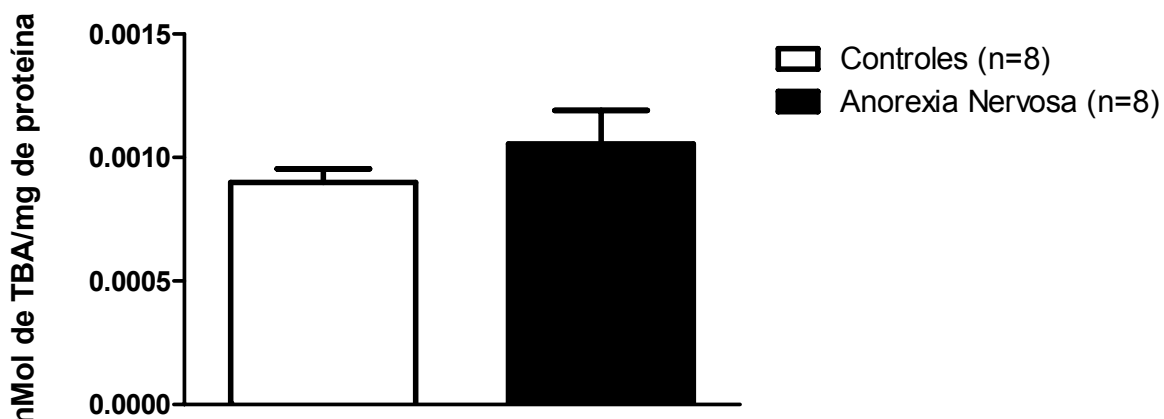


Figura 20. Formação de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) em soro de pacientes com AN e controles.

4.3.3 Atividade da SOD no soro

A atividade da SOD mostrou-se reduzida no soro de pacientes com AN ($3,87 \pm 0,45$ U/mg de proteína; $n=8$), em relação aos controles ($8,21 \pm 1,44$ U/mg de proteína; $n=8$) (Figura 21).

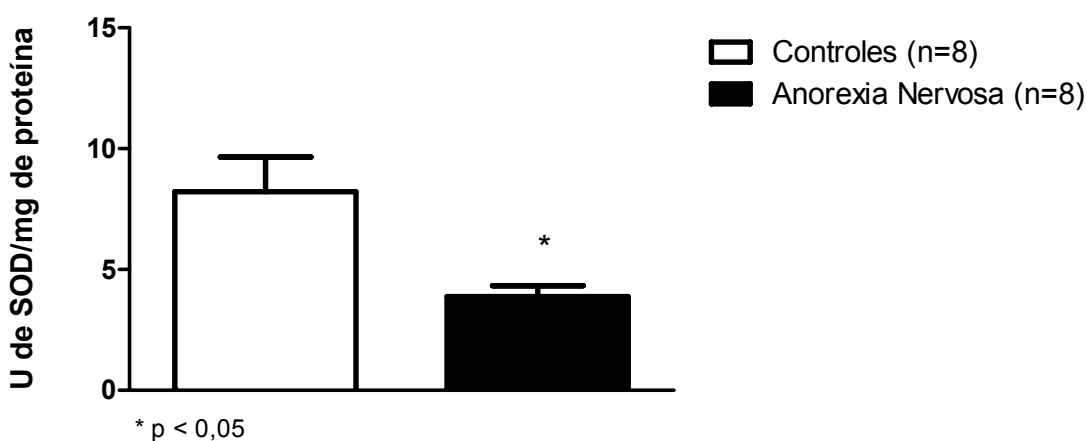


Figura 21. Atividade da SOD no soro de pacientes com AN e controles.

5. DISCUSSÃO

O NO é relativamente novo na farmacologia, já que seu papel fisiológico foi comprovado há apenas 25 anos atrás. Estudos relacionando o NO com a AN ainda são escassos. Sabe-se que as doenças cardiovasculares são representativas nas mortes de pacientes com AN. Dessa forma, o estudo da fisiopatologia desse transtorno é de grande importância para que novas terapêuticas possam ser empregadas a fim de reduzir morbidade e mortalidade.

No presente estudo através do IMC médio das pacientes anoréticas (Tabela 1), comprovou-se a grave condição de desnutrição que estas pacientes estão submetidas. Verificou-se também um estado de hipernatremia em tais pacientes, o qual já havia sido observado por Nogal *et al.* (2008). Esta hipernatremia pode ser justificada em parte pela desidratação presente nos pacientes com AN (HANNAN *et al.*, 1990; NOGAL *et al.*, 2008).

Os resultados desta dissertação fornecem a primeira evidência de que a produção de NO está diminuída na AN como evidenciado pela diminuída produção de citrulina e GMPc nas plaquetas e diminuída produção de citrulina nas hemácias de pacientes com AN, quando comparados a controles. Este achado contrasta com o estudo de Vannacci *et al.* (2006), que demonstraram uma produção aumentada de NO na AN. A divergência entre os resultados dos estudos, provavelmente, deve-se ao fato de Vannacci *et al.* terem usado como marcador da síntese de NO o nitrito plasmático, o qual pode ser afetado pelo estado catabólico severo dos pacientes com AN e pela dieta.

A produção diminuída de NO observada no presente estudo, pode ser explicada, em parte, por um reduzido influxo de L-arginina via sistema y+L em plaquetas. Entretanto, tal análise não foi realizada em hemácias. Um fator que pode limitar esta capacidade de transporte é a baixa concentração de L-arginina no plasma, a qual foi primeiramente evidenciada por Moyano *et al.* (1998) e confirmada neste presente estudo. Esta baixa concentração de L-arginina pode ser devido à baixa ingestão alimentar ou ao contínuo catabolismo protéico que estes pacientes sofrem. Sendo assim, uma menor concentração de L-arginina plasmática pode reduzir o transporte transmembrana e, conseqüentemente, o substrato intracelular para a NOS.

O transporte transmembrana da L-arginina, independente da concentração de L-arginina no interior da célula, é uma das condições essenciais para que ocorra a síntese do NO (BRUNINI *et al.*, 2007; MANN; YUDILEVICH; SOBREVIA, 2003), situação esta descrita anteriormente como “paradoxo da via L-arginina-NO”. Várias teorias foram propostas para tentar explicá-lo, entre elas a co-localização da eNOS e do transportador de L-arginina CAT1 em porções especializadas da membrana denominadas cavéolos (Shaul, 2003; MANN; YUDILEVICH; SOBREVIA 2003, McDonald *et al.*, 1997). Esta hipótese, porém, não explica a dependência do transporte de L-arginina da iNOS citosólica. Para responder essa questão, Closs *et al.*, em 2000, propuseram que as células endoteliais e os macrófagos possuiriam dois pools intracelulares de L-arginina, sendo um deles com capacidade de troca com o meio extracelular e o outro não. De acordo com o estudo, este segundo pool seria inacessível à NOS em macrófagos, sendo fundamental o transporte de L-arginina para a produção de NO, o que seria uma das possíveis explicações para o paradoxo da via L-arginina-NO (CLOSS *et al.*, 2000).

Em estudos prévios, nosso grupo demonstrou que o sistema y^+L é estimulado por um inibidor da Na^+/K^+ -ATPase, a ouabaína, e por mudanças no potencial de superfície, enquanto este sistema é inibido pela trombina e pela depleção intraplaquetária de aminoácido (*zero-trans*) (SIQUEIRA *et al.*, 2007). A depleção intraplaquetária de aminoácidos consiste na incubação das plaquetas, após serem isoladas, por um período de 40 minutos a 37°C (SIQUEIRA *et al.*, 2007) e visa minimizar a interferência dos aminoácidos localizados no interior da plaqueta na atividade do transportador y^+L , que funciona exclusivamente por troca (CHILLARÓN *et al.*, 1996). É possível que as plaquetas de pacientes com AN tenham uma função diminuída da bomba de Na^+ , levando a uma concentração intracelular de Na^+ diminuída e, conseqüentemente, uma troca reduzida entre a L-arginina e os aminoácidos neutros.

Outra correlação poderia ser feita com a expressão da NOS, enzima responsável por catalisar a conversão do aminoácido L-arginina em L-citrulina e NO. Entretanto, como evidenciado pelos experimentos de Western Blotting, os pacientes com AN, não apresentam alterações das isoformas iNOS e eNOS em suas plaquetas e em suas hemácias.

Tão importante quanto verificar a expressão da NOS é avaliar a atividade de tal enzima. Apesar de manter uma expressão inalterada nas plaquetas, esta enzima

apresenta uma atividade diminuída tanto nas plaquetas como nas hemácias de pacientes com AN. Isto foi demonstrado pela menor produção do aminoácido L-citrulina, o qual é um marcador indireto da produção de NO, já que pela ação da NOS são produzidas quantidades equimolares de L-citrulina e NO.

É importante ressaltar que, para a atividade da NOS são necessários vários co-fatores, como Ca^{2+} /calmodulina, tetrahidrobiopterina, flavina mononucleotídeo e flavina adenina dinucleotídeo (GENESTRA, 2008). Em consequência da desnutrição, os pacientes com AN, provavelmente, não possuem a concentração necessária de co-fatores para a ativação da NOS. Este fato poderia levar ao desacoplamento da NOS, acarretando uma menor produção de NO.

Além dos cofatores, a liberação de mediadores inflamatórios por leucócitos modula a atividade da NOS. O fator de necrose tumoral alfa ($\text{TNF-}\alpha$) pode coinduzir a iNOS e o transportador de L-arginina CAT-2B em células musculares lisas vasculares e macrófagos (MANN *et al.*, 2003). Entretanto, a baixa produção de $\text{TNF-}\alpha$ e IL-6 na AN pode refletir a combinação de uma nutrição precária e uma excessiva perda de peso (NOVA *et al.*, 2002). Esta baixa produção de mediadores inflamatórios na AN poderia ser também uma das justificativas para a baixa atividade da NOS nestes pacientes.

Outra possibilidade é uma reduzida biodisponibilidade da L-arginina, devido à utilização da mesma no ciclo da uréia pela arginase. Sabe-se que a NOS e a arginase competem pelo mesmo substrato e que um intermediário da síntese do NO, a N-hidroxi-L-arginina (NOHA), é um inibidor endógeno da arginase, demonstrando que essas vias estão fortemente inter-relacionadas (TOPAL *et al.*, 2006). Existem relatos na literatura sobre a atividade da arginase em plaquetas de animais e humanas (MENDEZ *et al.*, 1997; DELA PENA *et al.*, 2000), no entanto, não são encontrados dados sobre o estudo desta enzima em pacientes com AN. Nesta dissertação, foi demonstrada uma maior atividade da arginase nas hemácias de pacientes com AN.

Além da utilização da arginina em outras vias que não a via L-arginina-NO, outro fator que pode afetar a utilização da arginina pela NOS é a presença dos análogos da L-arginina, como o dimetil-L-arginina-assimétrica (ADMA) e o L-NMMA, que são inibidores das NOS e de transportadores de L-arginina presentes no sangue ou intracelularmente (TSIKAS; BÖGER; SANDMANN, 2000). O ADMA, um fator de risco isolado para doença coronariana (SCHULZE *et al.*, 2006; BOGER, 2005), age

como um inibidor competitivo das três isoformas da NOS (TSIKAS; BÖGER; SANDMANN, 2000) e se origina da degradação de proteínas metiladas do metabolismo protéico (MCBRIDE; SILVER, 2001). Quando administrado a voluntários saudáveis, o ADMA produz efeitos similares aos da inibição da NOS, como elevação da pressão arterial, vasoconstrição e aumento da resistência renovascular (KIELSTEIN *et al.*, 2004). Um estudo anterior do nosso grupo demonstrou que tanto o ADMA como o L-NMMA inibe o transporte da L-arginina e a atividade da NOS em plaquetas (BRUNINI *et al.*, 2004, DE MEIRELLES *et al.*, 2007). Uma vez que tais análogos podem estar em níveis mais elevados nos pacientes com AN, a mensuração dos mesmos está em fase de execução pelo nosso grupo.

Por fim, a biodisponibilidade de NO também pode ser afetada pela sua própria degradação, mediada por EROs. Estudos em hemácias mostraram reduzida proteção contra danos oxidativos em pacientes com AN em consequência da atividade diminuída de enzimas antioxidantes como a SOD e da concentração deficiente de α -tocoferol (MOYANO *et al.*, 1999). De forma intrigante, o presente estudo observou uma atividade diminuída da SOD em plaquetas e soro de pacientes com AN em comparação aos controles, mas, diferente do estudo de Moyano *et al.* (1999), observou uma atividade aumentada da SOD nas hemácias dos pacientes com AN. É possível que as hemácias estejam compensando a baixa produtividade da SOD pelas plaquetas e pelo soro, ou ainda que as hemácias possam funcionar como um mecanismo de antitoxicidade (RUSSELL *et al.*, 2005). Entre os mecanismos propostos, pode-se citar a atividade redox da membrana das hemácias, uma vez que os sistemas de transporte de elétrons da membrana reagem contra os radicais livres (KENNETT; KUCHEL, 2003).

Com relação ao conteúdo oxidante, mensurado pela formação de TBARS, nenhuma diferença foi vista nos pacientes com AN. Entretanto, devemos levar em consideração a dificuldade de se medir as EROs *in vivo* em humanos, devido às suas alta reatividade e meia-vida extremamente curta. As técnicas empregadas quantificam, portanto, as consequências das reações provocadas por eles. Como mencionado anteriormente, o estresse oxidativo é gerado pelo desequilíbrio entre as defesas antioxidantes e a produção de EROs.. Embora diante de uma baixa atividade da enzima antioxidante SOD nas plaquetas e no soro de pacientes com AN, não podemos afirmar que os pacientes com este transtorno estão ou não submetidos ao estresse oxidativo, devido à dificuldade de se mensurar as EROs.

Apesar da reduzida produção de NO, a função plaquetária dos pacientes com AN não se mostrou alterada, já que as plaquetas destes pacientes não apresentaram distúrbios de agregação. Esta agregação plaquetária inalterada na presença da síntese de NO diminuída nestes pacientes sugere um(s) mecanismo(s) antiagregante independente do NO. É possível que os nossos achados encontrados no presente estudo possam ser um marcador precoce da ocorrência da AN.

Em condições como a insuficiência renal crônica, nosso grupo encontrou uma ativação da via L-arginina-NO como um mecanismo compensatório presente nas plaquetas (DEMÉZIO DA SILVA *et al.*, 2005). Um melhor entendimento do hipotético efeito protetor da inativação plaquetária associada ao NO pode fornecer importantes ferramentas para o desenvolvimento de novas terapias para diminuir o risco de complicações cardiovasculares na AN.

6. CONCLUSÃO

Os principais resultados encontrados neste estudo são:

Em plaquetas:

1- O transporte de L-arginina pelo sistema y^+L em plaquetas está reduzido nos pacientes com AN.

2- A atividade da NOS está diminuída nas plaquetas dos pacientes com AN.

3- As concentrações intraplaquetárias de GMPc estão reduzidas nos pacientes com AN.

4- A expressão das isoformas iNOS e eNOS está inalterada nas plaquetas de pacientes com AN.

5- A atividade da SOD está reduzida nas plaquetas dos pacientes com AN.

6- A produção de TBARS nas plaquetas dos pacientes com AN não diferenciou dos controles.

7- A agregação plaquetária não está alterada nos pacientes com AN.

Em hemácias:

1- A atividade da NOS está diminuída nas hemácias dos pacientes com AN.

2- A expressão das isoformas iNOS e eNOS está inalterada nas hemácias de pacientes com AN.

3- A atividade da arginase está aumentada nas hemácias dos pacientes com AN.

4- A atividade da SOD está aumentada nas hemácias dos pacientes com AN.

5- A produção de TBARS nas hemácias dos pacientes com AN não diferenciou dos controles.

Sistemicamente:

1- A concentração de L-arginina plasmática está reduzida nos pacientes com AN.

2- A atividade da SOD está reduzida no soro dos pacientes com AN.

3- A produção de TBARS nos pacientes com AN não diferenciou dos controles.

Os resultados aqui apresentados demonstram que há uma baixa produção e, consequentemente, uma reduzida biodisponibilidade do NO nos pacientes com AN, apesar de a agregação plaquetária estar inalterada. Este fato sugere um ainda desconhecido mecanismo protetor das plaquetas independente do NO na AN, abrindo uma nova linha de investigação. Portanto, o presente estudo contribui para uma melhor compreensão da via L-arginina-NO na AN, podendo levar ao surgimento futuro de ferramentas terapêuticas para transtornos alimentares como a AN.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABREU, C.N.; FILHO, R.C. Anorexia Nervosa e bulimia nervosa – abordagem cognitivo-construtivista de psicoterapia. *Rev. Psiquiatr. Clín* 2004; 31 (4).
2. ALBRITTON, L.M. *et al.* The human cationic amino acid transporter (ARTC1): physical and genetic mapping to 13q12-q14. *Genomics* 1992; 12: 430-34.
3. AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. Practice guideline for the treatment of patients with eating disorders. 2000b; n.2.
4. ASH ED. Structure and function of arginases. *J. Nutr.* 2004; 134(10 Suppl): 2760S-2764S; discussion 2765S-2767S.
5. ASSUMPÇÃO, C.L.; CABRAL, M.D. Complicações clínicas da anorexia nervosa e bulimia nervosa. *Rev. Brás. Psiquiatr.* 2002; 24 (3):.29-33.
6. ASSUMPÇÃO, C.R. *et al.* Impact of the L-Arginine-Nitric Oxide Pathway and Oxidative Stress on the Pathogenesis of the Metabolic Syndrome. *Bioch. J.* 2008; 2:100-107.
7. AUSSON, P.L. Freud e a Mulher. Rio de Janeiro: Jorge Zahar, 1993.
8. BAHIA, L. *et al.* Endotélio na Síndrome Metabólica. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.* 2006; 50 (2):291-303.
9. BALLATORI, N. *et al.* Glutathione dysregulation and the etiology and progression of human diseases. *Biol. Chem.* 2009.
10. BANNISTER, J.V.; CALABRESE, L. Assays for superoxide dismutase. *Methods. Biochem. Anal.* 1987; 32: 279–312.
11. BARBOSA, K.B. *et al.* Influence of dietary intake on plasma biomarkers of oxidative stress in humans. *An. Sist. Sanit. Navar.* 2008;31(3):259-80.
12. BARBUL, A. Arginine: biochemistry, physiology and therapeutic implications. *J. Parent. Ent. Nut.* 1985; 10: 227-38.
13. BENZIE, I.F. Lipid peroxidation: A review of causes, consequences, measurement and dietary influences. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 1996;47(3):233-61.
14. BIRMINGHAM, C.L. *et al.* The mortality rate from anorexia nervosa. *Int. J. Eat. Disord.* 2005;38:143– 6.
15. BOGER, R.H. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and cardiovascular disease: insights from prospective clinical trials. *Vasc. Med.* 2005;10:S19-25
16. BOYD, C.A.R.; CRAWFORD, D.H. Activation of cationic amino acid transport through system y⁺ correlates with expression of T cell early antigen gene in human lymphocytes. *Plugers. Arch.* 1992; 422: 87-9.

17. BROWN, J.M.; MEHLER, P.S.; HARRIS, R.H. Medical complications occurring in adolescents with anorexia nervosa. *West. J. Med.* 2000; 172 (3).
18. BRUNINI, T.M. *et al.* Uremia, atherothrombosis and malnutrition: the role of L-arginine-nitric oxide pathway. *Cardiovasc. Hematol. Disord. Drug. Targets* 2006; 6(2): 133-40.
19. BRUNINI, T.M. *et al.* Increased nitric oxide synthesis in uraemic platelets is dependent on L-arginine transport via system y(+)L. *Pflügers. Arch.* 2003; 445(5): 547-50.
20. BRUNINI, T.M.C. *et al.* L-arginine availability as a pathological mechanism in essential hypertension, chronic renal failure and heart failure. *Vasc. Dis. Prev.* 2005; 2: 37-51.
21. BRUNINI, T.M.C. *et al.* Activation of L-arginine transport in undialysed chronic renal failure and continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2006; 33(1-2): 114-8.
22. BRUNINI, T.M. *et al.* Platelet nitric oxide synthesis in uremia and malnutrition: A role for L-arginine supplementation in vascular protection? *Cardiovasc. Res.* 2007; 73(2): 359-67.
23. BULIK, C.M. *et al.* Suicide Attempts in Anorexia Nervosa. *Psychosomatic Medicine* 2008; 70: 378-383.
24. CHEN, L.Y.; MEHTA, J.L. Evidence for the presence of L-arginine-nitric oxide pathway in human red blood cells: relevance in the effects of red blood cells on platelet function. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1998; 32: 57-61.
25. CHICOINE LG *et al.* Arginase inhibition increases nitric oxide production in bovine pulmonary arterial endothelial cells. *Am. J. Physiol. Lung. Cell Mol. Physiol.* 2004; 287(1): L60-8.
26. CLAUDINO, A.M.; ZANELLA, M.T. *Transtornos alimentares e obesidade.* Barueri, SP: Manole, 2005.
27. CLOSS, E.L. CATs, a family of three distinct mammalian cationic amino acid transporters. *Amino Acids* 1996; 11: 193-208.
28. CLOSS, E.L. *et al.* Human cationic amino acid transporters hCAT-1, hCAT-2A and hCAT-2B: three related carriers with distinct transport proteins. *Biochemistry* 1997; 36: 6462-8.
29. CLOSS, E.L. *et al.* Characterization of the third member of the MCAT family of cationic amino acid transporters. Identification of a domain that determines the transport properties of the MCAT proteins. *J. Biol. Chem.* 1993; 268: 20796-800.
30. CLOSS, E.L. *et al.* Substrate supply for nitric oxide in macrophages and endothelial cells, role of cationic amino acid transporters. *Mol. Pharmacol.* 2000; 57: 68-74.

31. CLOSS, E.I. *et al.* Plasma membrane transporters for arginine. *J. Nutr.* 2004; 134(10): 2752S-9S.
32. COOPER, Z. The development and maintenance of eating disorders. In: Brownell KD, Fairburn CG (editors). *Eating disorders and obesity: a comprehensive handbook.* The Guilford Press 1995;199-206.
33. CEREC, V. *et al.* Multiple pathways for cationic amino acid transport in rat seminiferous tubule cells. *Biol Reprod* 2006.
34. CEYLAN, E. *et al.* Evaluation of oxidative-antioxidative status and the L-arginine-nitric oxide pathway in asthmatic patients. *Respir. Med.* 2005; 99: 871-876.
35. CHILLARÓN, J. *et al.* Obligatory Amino Acid Exchange via Systems bo,1-like and y1L-like: a tertiary active transport mechanism for renal reabsorption of cystine and dibasic amino acids. *J. Biol. Chem.* 1996; 271(30): 17761-17770.
36. CHO, H.J. *et al.* Calmodulin is a subunit of nitric oxide synthase from macrophages. *J. Exp. Med.* 1992;176:599-604.
37. CHOI, Y.H. *et al.* Nitric oxide controls feeding behavior in the chicken. *Brain Res.* 1994; 654: 163-166.
38. CHRISTENSEN, H.N.; CULLEN, A.M. Synthesis of metabolism-resistant substrates for the transport system for cationic amino acids; their stimulation of the release of insulin and glucagon, and of the urinary loss of amino acids related to cystinuria. *Biochim. Biophys. Acta.* 1973;298(4):932-950.
39. CYLWIK, D.; MOGIELNICKI, A.; BUCZKO, W. L-arginine and cardiovascular system. *Pharmacol. Rep.* 2005; 57: 14-22.
40. DA LUZ, P.L. *Endotélio e Doenças Cardiovasculares.* Edição 2005, Editora Atheneu, Cidade São Paulo.
41. DE LA PENA, N.C. *et al.* Inhibition of platelet aggregation by putrescine, spermidine and spermine in hypercholesterolemic rabbits. *Arch Med Res.* 2000;31:546-550.
42. DELICONSTANTINOS, G. *et al.* Nitric oxide and peroxynitrite production by human erythrocytes: a causative factor of toxic anemia in breast cancer patients. *Anticancer. Res.* 1995; 15:1435-1446.
43. DE MEIRELLES, L.R. *et al.* Inhibitory effects of endogenous L-arginine analogues on nitric oxide synthesis in platelets: role in platelet hyperaggregability in hypertension. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2007; 34(12):1267-71.
44. DEMÉZIO DA SILVA, C. Effects of nutritional status on the L-arginine – nitric oxide pathway in platelets from hemodialysis patients. *Kidney. Int.* 2005; 68: 2173-2179.

45. DEMOUGEOT, C. *et al.* Arginase inhibition reduces endothelial dysfunction and blood pressure rising in spontaneously hypertensive rats. *J. Hypertens.* 2005;23(5):971-8.
46. DEVÉS, R.; CHAVEZ, P.; BOYD, C.A.R. Identification of a new transport system (y⁺L) in human erythrocytes that recognizes lysine and leucine with high affinity. *J. Physiol.* 1992; 454: 491-501.
47. DEVÉS, R.; BOYD, C.A.R. Transporters for cationic aminoacids in animal cells: discovery, structure and function. *Physiol. Rev.* 1998; 78: 487-545.
48. DRAPER, H.H. *et al.* A comparative evaluation of thiobarbituric acid methods for the determination of malondialdehyde in biological materials. *Free Radic. Biol. Med.* 1993; 15: 353–363.
49. DSM–IV-TR™ Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais. 4. ed. rev. Porto Alegre: Artes Médicas, 2002.
50. DURAK, I. *et al.* Erythrocyte nitric oxide metabolism in patients with chronic renal failure. *Clin. Nephrol.*, 2001;55:460-464.
51. DUSHESNE, M. Neuropsychology of eating disorders: a systematic review of the literature. *Rev. Bras. Psiquiatr.* 2004; 26 (2).
52. ELFERING, S.L.; SARKELA, T.M.; GIULIVI, C. Biochemistry of mitochondrial nitric oxide synthase, *J. Biol. Chem.* 2002;277:38079–38086.
53. ELLORY, J.C. Flux measurements. In: *Techniques in cellular physiology.* Ireland: Elsevier/North-Holland Scientific publishers Ltd; 1982. p. 1-11.
54. FEATHERSTON, W.R.; ROGERS, Q.R.; FREELAND, R.A. Relative importance of kidney and liver in synthesis of arginine by the rat. *Am. J. Physiol.* 1973;224:127-129.
55. FLEMING, I.; BUSSE, R. Signal transduction of eNOS activation. *Cardiovascular research.* 1999;43:532-41.
56. FRANKO, D.; KEEL, P. Suicidality in eating disorders: occurrence, correlates, and clinical implications. *Clin. Psychol. Rev.* 2006; 26: 769-782.
57. FRIDOVICH, I. Fundamental Aspects of Reactive Oxygen Species, or What's the Matter with Oxygen? *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1999, 893:13-18.
58. FURCHGOTT, R.F.; ZAWADSKI, J.V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288:373-376.
59. FURCHGOTT, R.F. *et al.* Endothelial cells as mediators of vasodilation of arteries. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1984; 6: 336-343.
60. GALETTA, F. *et al.* Early detection of cardiac dysfunction in patients with anorexia nervosa by tissue Doppler imaging. *Int. J. Cardiol.* 2005; 101:33-7.

61. GALETTA, F. *et al.* Heart rate variability and left ventricular diastolic function in anorexia nervosa. *J. Adolesc. Health.* 2003; 32:416-21.
62. GENESTRA M. Roles of tetrahydrobiopterin (BH₄) cofactor in nitric oxide synthase (nos) catalysis, *Cellular Signalling* 2008; doi: 10.1016/j.cellsig.2008.05.011
63. GHAFOURIFAR, P.; RICHTER, C. Nitric oxide synthase activity in mitochondria, *FEBS Lett.* 1997; 418: 291–296.
64. GILL, J. *et al.* Differential Changes in α - and β - Adrenoceptor Linked [⁴⁵Ca²⁺] Uptake in Platelets from Patients with Anorexia Nervosa. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1992; 74: 441-446.
65. GRYGLEWSKI, R.J.; PALMER, R.M.; MONCADA, S. Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor. *Nature.* 1986;320(6061):454-6.
66. GROSS, S.S. Nitric oxide sinthases and their cofactors. In: Goligorsky MS, Gross SS, eds. *Nitric oxide and the kidney: physiology and pathophysiology.* New York: Chapman and Hall, 1997; 52-65.
67. HALMI, K.A. The multimodal treatment of eating disorders. *Journal List. World Psychiatry* 2005; 4 (2).
68. HANNAN, J. *et al.* Assessment of body composition in anorexic patients. In: *In vivo Body Composition Study. Recent Advances.* S Yasumura, JE Harrison, KG McNeil, AV Woodhead, FA Dilmanian. 1990; 149-155.
69. HANSSEN, H. *et al.* Increased L-arginine transport in human erythrocytes in chronic heart failure. *Clinical Science* 1997; 94: 43-8.
70. HERZOG, D.B. *et al.* Patterns and predictors of recovery in anorexia nervosa. *J. Am. Acad. Child. Adolesc. Psychiatry* 1993; 32:835-842.
71. HOENICKA, M.; SCHMID, C. Cardiovascular effects of modulators of soluble guanylyl cyclase activity. *Cardiovasc. Hematol. Agents Med. Chem.* 2008; 6(4):287-301.
72. HOSOKAWA, H. *et al.* Cloning and characterization of a brain-specific cationic amino acid transporter. *J. Biol. Chem* 1997; 272: 8717-22.
73. HUSE, D.M.; LUCAS, A.R. Transtornos comportamentais que afetam a ingestão de alimentos: anorexia nervosa, bulimia nervosa e outras condições psiquiátricas. Em: Shils ME. *Tratado de Nutrição Moderna na Saúde e na Doença.* 9.ed. Manole:São Paulo, 2003; 2: 1621-1630.
74. HUYNH, N.N.; CHIN-DUSTING, J. Amino acids arginase and nitric oxide in vascular health. *Clin. Exp. Pharmacol.* 2006; 33: 1-8.

- 75.IGNARRO, L.J. *et al.* Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1987; 84:9265-9269.
- 76.IKEMOTO, M. *et al.* Purification and properties of human erythrocyte arginase. *Ann. Clin. Biochem.* 1989; 26(6): 547-553.
- 77.JENKINSON, C.P.; GRODY, W.W.; CEDERBAUM, S.D. Comparative properties of arginases. *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.* 1996;114(1):107-32.
- 78.JIANG, M. *et al.* Arginase-flotillin interaction brings arginase to red blood cell membrane. *FEBS Lett.* 2006; 580(28-29):6561-6564.
- 79.KANAI, A.J. *et al.* Identification of a neuronal nitric oxide synthase in isolated cardiac mitochondria using electrochemical detection. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2001;98:14126–14131.
- 80.KANG, E.S. *et al.* Normal circulating adult human red blood cells contain inactiveNOS proteins. *J. Lab. Clin. Med.* 2000; 135:444-451.
- 81.KENNETT, E.C.; KUCHEL, P.W. Redox reactions and electron transfer across the red cell membrane. *IUBMB Life* 2003;55(7):375-85.
- 82.KIELSTEIN, J.T. *et al.* Cardiovascular effects of systemic nitric oxide synthase inhibition with asymmetrical dimethylarginine in humans. *Circulation.* 2004;109(2):172-177.
- 83.KLEINBONGARD, P. *et al.* Red blood cells express a functional endothelial nitric oxide synthase. *Blood* 2006; 107(7): 2943-2951.
- 84.KOPÁNI, M. *et al.* Oxidative stress and electron spin resonance. *Clin. Chim. Acta.* 2006; 364(1-2):61-6.
- 85.KOPPLE, J.D. Distúrbios renais e nutrição. Em: Shils ME, Olson JA, Shike M, Ross AC (eds.) *Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença.* São Paulo: Editora Manole, 2003;1543-1578.
- 86.LI, H. *et al.* Regulatory role of arginase I and II in nitric oxide, polyamine, and proline syntheses in endothelial cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2001;280(1):E75-82.
- 87.LINCOLN, J.; HOYLE, C.H.V.; BURNSTOCK, G. Nitric oxide in health and disease. UK: Cambridge University Press, 1997; 12-25.
- 88.LORGERIL, M. Dietary arginine and the prevention of cardiovascular diseases. *Cardiovasc. Res.* 1997;37:560-3.
- 89.MACALLISTER, R.J.; VALLANCE, P. Endogenous inhibitors of nitric oxide synthesis: How important are they? *Exp. Nephrol.* 1998; 6: 195-199.

90. MACLEOD, C.L.; FINLEY, K.D.; KAKUDA, D.K. γ^+ -type cationic amino acid transport: expression and regulation of the mCAT genes. *Journal of Experimental Biology* 1994; 196: 109-21.
91. MAKINO, M.; TSUBOI, K.; DENNERSTEIN, L. Prevalence of eating disorders: A comparison of western and non-western countries. *Jal. list. MedGenMed*. 2004; 6 (3).
92. MANN, G.E.; YUDILEVICH, D.L.; SOBREVIA, L. Regulation of amino acid and glucose transporters in endothelial and smooth muscle cells. *Physiol. Rev*. 2003; 83(1): 182-252.
93. MCBRIDE, A.E.; SILVER, P.A. State of the arg: protein methylation at arginine comes of age. *Cell*. 2001;106(1):5-8.
94. MCDONALD, K.K. *et al*. A caveolar complex between the cationic amino acid transporter 1 and endothelial nitric oxide synthase may explain the "Arginine Paradox". *J. Biol. Chem*. 1997;272:31213-31216.
95. MELIN, P.; ARAÚJO, A.M. Transtornos alimentares em homens: um desafio diagnóstico. *Rev. Bras. Psiquiatr*. 2002; 24 (3).
96. MENDES RIBEIRO, A.C.; BRUNINI, T.M. L-arginine transport in disease. *Curr. Med. Chem. Cardiovasc. Hematol. Agents* 2004; 2(2): 123-31.
97. MENDES RIBEIRO, A.C. *et al*. Abnormalities of nitric oxide biosynthesis in chronic renal and heart failure. *Cardiovasc. Res*. 2001; 49: 697-712.
98. MENDES RIBEIRO, A.C. *et al*. Identification of system γ^+ L as the high-affinity transporter for L-arginine in human platelets: up-regulation of L-arginine influx in uraemia. *Pflugers. Arch*. 1999; 438(4): 573-5.
99. MENDES RIBEIRO, A.C. Transport of L-arginine and the nitric oxide inhibitor L-NMMA in human red blood cells in chronic renal failure. *Clinical Science* 1997; 93: 57-64.
100. MENDEZ, J.D.; ZARZOZA, E. Inhibition of platelet aggregation by L-arginine and polyamines in alloxan treated rats. *Biochem. Mol. Biol. Int*. 1997;43:311-318.
101. METHA, J.L. *et al*. Identification of constitutive and inducible forms of nitric oxide synthase in human platelets. *J. Lab. Clin. Med*. 1995; 125: 370-377.
102. MIKHAILIDIS, D.P. *et al*. Adrenaline-induced hyperaggregability of platelets and enhanced thromboxane release in anorexia nervosa. *Prostaglandins, Leukotrienes and Medicine* 2004; 24 (1): 27-34.
103. MILLER, M.N.; PUMARIEGA, A.J. Culture na eating disorders: a historical and cultural review. *Psychiatry* 2001; 64 (2).
104. MONCADA, S.; HIGGS, E.A. The discovery of nitric oxide and its role in vascular biology. *British Journal of Pharmacology* 2006; 147: S193–S201.

105. MONCADA, S. Nitric oxide in the vasculature: Physiology and pathophysiology. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1997;811:60-67.
106. MORGAN, C.M. Etiologia dos transtornos alimentares: aspectos biológicos, psicológicos e sócio-culturais. *Rev. Bras. Psiquiatr.* 2002; 24 (3).
107. MORLEY, J.E.; FLOOD, J.F. Effect of competitive antagonism of ON synthase on weight and food intake in obese and diabetic mice. *Am. J. Physiol.* 1994; 226:164-168.
108. MORRIS JR, S.M. Arginine: beyond protein. *Am. J. Clin. Nut.* 2006; 2: 508S-512S.
109. MORRIS JR, S.M. Recent advances in arginine metabolism. *Curr. Opin. Clin.Nutr. Metab. Care.* 2004;7(1):45-51.
110. MORRIS JR, S.M. Regulation of enzymes of urea and arginine synthesis. *Annu. Rev. Nutr.* 1992;12:81-101.
111. MORRIS JR, S.M.; BHAMIDIPATI, D.; KEPKA-LENHART, D. Human type II arginase: Sequence analysis and tissue-specific expression. *Gene.* 1997;193(2):157-61.
112. MOSS, M.B. *et al.* Diminished bioavailability in hypertension. *Clin. Sci.* 2004; 107: 391-397.
113. MOYANO, D. *et al.* Antioxidant status in anorexia nervosa. *Int. J. Eat. Disord.* 1999; 25(1): 99-103.
114. MOYANO, D. *et al.* Plasma amino acids in anorexia nervosa. *European Journal of Clinical Nutrition* 1998; 52: 684-689.
115. NAKAMURA, Y.K.; OMAE, S.T. Alpha-tocopherol modulates human umbilical vein endothelial cell expression of Cu/Zn superoxide dismutase and catalase and lipid peroxidation. *Nutr. Res.* 2008;28(10):671-80.
116. NARDI, A.E.; BUENO, J.R. Diagnóstico e tratamento em psiquiatria. 1.ed. Rio de Janeiro: MEDSI Editora Médica e Científica Ltda. 2000; 345-357.
117. NASEEM, K.M.; BRUCKDORFER, K.R. Hydrogen peroxide at low concentrations strongly enhances the inhibitory effect of nitric oxide on platelets. *Biochem. J.* 1995; 310: 149-153.
118. NELSON, R.J.; CHIAVEGATTO, S. Molecular basis of aggression. *Trends Neurosci.* 2001; 24: 713-719.
119. NISOLI, E. *et al.* Mitochondrial biogenesis in mammals: the role of endogenous nitric oxide. *Science* 2003; 299: 896-899.

120. NOGAL, P.; PNIEWSKA-SIARK, B.; LEWINSKI, A. Evaluation of selected clinical and diagnostic parameters in girls with anorexia nervosa. *Neuro Endocrinol. Lett.* 2008; 29(4):421-427.
121. NOVA, E. *et al.* Cytokine production by blood mononuclear cells from in-patients with anorexia nervosa. *Br. J. Nutr.* 2002; 88(2):183-188.
122. NUNES, M.A. *et al.* Transtornos Alimentares e Obesidade. 2. ed. Artmed, 2006.
123. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). Classificação de Transtornos mentais e de comportamento da CDI-10. Descrições clínicas e diretrizes diagnósticas. Porto Alegre: Artes Médicas, 1993.
124. PACKER, L. Oxidative stress and antioxidants: the antioxidant network, alpha-lipoic acid and diabetes, in: L. Packer, P. Rosen, H.J. Trtschler, G.L. King A, Azzi. *Antioxidants in Diabetes Management*, Marcel Dekker Inc., basel, Switzerland 2000; 1-15.
125. PAWLUCK, D.E.; GOREY, K.M. Secular trends in the incidence of anorexia nervosa: integrative review of population-based studies. *Int. J. Eat. Disord.* 1998; 23: 347-52.
126. POMPILI, M. *et al.* Suicide in Anorexia: a meta-analysis. *Int. J. Eating Disord.* 2004; 36: 99-103.
127. RADOMSKI, M.W.; PALMER, R.M.; MONCADA, S. An L-arginine/nitric oxide pathway present in human platelets regulates aggregation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1990; 85: 5193-5197.
128. RAGHAVACHARI, N. *et al.* Amplified Expression Profiling of Platelet Transcriptome Reveals Changes in Arginine Metabolic Pathways in Patients With Sick Cell Disease. *Circulation* 2007; 115(12):1551-62.
129. REYES, A.A.; KARL, I.; KLAHR, S. Role of L-arginine in health and in renal disease. *Am. J. Physiol.* 1994; 267: 331-346.
130. RODRIGUEZ, S. *et al.* Increased arginase activity in aorta of mineralocorticoid-salt hypertensive rats. *Cli. Exp. Hypertens* 2000; 22: 75-85.
131. ROEDIGER, W.E.W. New views on the pathogenesis of Kwashiorkor: Methionine and other amino acids. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 1995; 21: 130-136.
132. ROTHER, R.P. *et al.* The Clinical Sequelae of Intravascular Hemolysis and Extracellular Plasma Hemoglobin: A Novel Mechanism of Human Disease. *JAMA* 2005; 293(13):1653-62.
133. ROTMANN, A. *et al.* Activation of classical protein kinase C reduces the expression of human cationic amino acid transporter 3 (hCAT-3) in the plasma membrane. *Biochem. J.* 2006; 395(1):117-23.

134. ROYAL AUSTRALIAN AND NEW ZEALAND COLLEGE OF PSYCHIATRISTS. Australian and New Zealand clinical practice guidelines for the treatment of anorexia nervosa. Aust. N. Zeal. J. Psychiatry 2004;659-670.
135. SAIER, M.H. A Fuctional-Phylogenetic Classification System for Transmebrane Solute Transport. Microbiology and Molecular Biology Reviews 2000; 64: 354–411.
136. SALVADOR, R.B. Anorexia, bulimia e obesidade. 1. ed. Barueri, SP: Manole, 2004;1-269.
137. SCHEBENDACH, J.E.; ANDERSON, P.R. Nutrição nos distúrbios alimentares. Em: MAHAN, L.K.; ARLIN, M.T. Alimentos, nutrição e dietoterapia. 11. ed. São Paulo: Rocca, 2005; 568-588.
138. SCHEBENDACH, J.E. *et al.* Dietary energy density and diet variety as predictors of outcome in anorexia nervosa. Am. J. Clin. Nutr. 2008; 87:810–6.
139. SCHULZE, F. *et al.* Asymmetric dimethylarginine is an independent risk factor for coronary heart disease: results from the multicenter Coronary Artery Risk Determination investigating the Influence of ADMA Concentration (CARDIAC) study. Am. Heart. J. 2006;152(3):493.e1-8.
140. SEBASTIO, G. *et al.* A new gene (HCAAT-3) displays high homology with human cationic amino acids and maps to the critical region of velocardiofacial syndrome. Am. J. Hum. Gen. 1996; 59: A159.
141. SEBASTIO, G. *et al.* Isolation of a new gene (HCAAT-3) with a putative rike of cationic amino acid transporter. Med. Genet. 1997; 9: S131.
142. SEDDON, M.; LOOI, Y.H.; SHAH, A.M. Oxidative stress and redox signalling in cardiac hypertrophy and heart failure. Heart. 2007;93(8):903-7.
143. SHARDA, B. Free radicals: emerging challenge in environmental health research in childhood and neonatal disorders. Int. J. Environ. Res. Public. Health. 2006;3(3):286-91.
144. SHAUL, P.W. Endothelial nitric oxide synthase caveolae and the development of atherosclerosis. J. Physiol. 2003;547:21-33.
145. SIQUEIRA, M.A. *et al.* Modulation of the cationic amino acid transport system y⁺L by surface potential, ouabain and thrombin in human platelets: effects of uremia. Nephron. Exp.Nephrol. 2007; 107(4): 132-138.
146. SQUADRITO, F. *et al.* Anorectic activity of N^G-nitro-L-arginine, an inhibitor of brain nitric oxide synthase, in obese Zucker rats. Eur. J. Pharmacol. 1993; 230: 125-128.
147. STEIN, W.D. Carrier-mediated transport systems. In channels, carrier and pumps. London: Academic. Press. London 1996; 127-173.

148. STEINHAUSEN, H.C. The outcome of anorexia nervosa in the 20th century. *Am. J. Psychiatry* 2002; 159: 1284-1293.
149. STROBER, M.; FREEMAN, R.; MORRELL, W. The long-term course of severe anorexia nervosa in adolescents: survival analysis of recovery, relapse, and outcome predictors over 10–15 years in a prospective study. *Int. J. Eat. Disord.* 1997;22:339–60.
150. STUEHR, D.J. Enzymes of the L-arginine to nitric oxide pathway. *J. Nutr.* 2004; 134: 2748S-2751S.
151. STEUHR, D.J. Structure-function aspects in the nitric oxide synthases. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1997; 37:339-59.
152. TATOYAN, A. GIULIVI, C. Purification and characterization of a nitric-oxide synthase from rat liver mitochondria. *J. Biol. Chem.* 1998;273:11044–11048.
153. TONG, B.C.; BARBUL, A. Cellular and physiological effects of arginine. *Mini Rev. Med. Chem.* 2004; 4(8): 823-832.
154. TOPAL, G. *et al.* Mitochondrial arginase II modulates nitric-oxide synthesis through nonfreely exchangeable L-arginine pools in human endothelial cells. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* 2006;318(3)1368-1374.
155. TSIKAS, D. *et al.* Endogenous nitric oxide synthase inhibitors are responsible for the L-arginine paradox. *FEBS Lett* 2000; 478(1-2):1-3.
156. VALDEZ, L.B.; ZAOBORNYY, T.; BOVERIS, A. Mitochondrial metabolic states and membrane potential modulate mtNOS activity. *Biochim. Biophys. Acta.* 2006; 1757:166-172.
157. VAN DE POLL, M.C. *et al.* Elevated plasma arginase-1 does not affect plasma arginine in patients undergoing liver resection. *Clin. Sci (Lond).* 2008; 114(3):231-241.
158. VANNACCI, A. *et al.* Increased nitric oxide production in eating disorders. *Neuroscience Letters* 2006; 399: 230-233.
159. VAN WINKLE, L.J.; CAMPIONE, A.L.; GORMAN, J.M. Na⁺-independent transport of basic and zwitterionic amino acids in mouse blastocysts by a shared system and by processes which distinguish between these substrates. *J. Biol. Chem.* 1988; 63: 3150-63.
160. VERREY, F. *et al.* CATs and HATs: the SLC7 family of amino acid transporters. *Pflugers Archives* 2004;447:532-42.
161. VOZZO, R. *et al.* Effect of nitric oxide synthase inhibitors on short-term appetite and food intake in humans. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 1999; 276: 1562-1568.

162. WALSH, J.M.E. Detection, Evaluation, and Treatment of Eating Disorders The Role of the Primary Care Physician. *J. Gen. Intern. Med.* 2000; 15 (8): 577-590.
163. WANG, T.; KEBIR, D.E.; BLAISE, G. Inhaled nitric oxide in 2003: a review of its mechanisms of action. *Canadian Anesthesiology* 2003; 50(8): 839-846.
164. WU, G. *et al.* Arginine metabolism and nutrition in growth, health and disease. *Amino Acids* 2008; 23.
165. WU, G.; MEININGER, C.J. Arginine nutrition and cardiovascular function. *J. Nutr.* 2000; 130(11): 2626-2629.
166. WU, G.; MORRIS, S. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochem. J.* 1998; 336: 1-17.
167. YOSHIMOTO, T.; YOSHIMOTO, E.; MERUELO, D. Molecular cloning and characterization of a novel human gene homologous to the murine ecotropic retroviral receptor. *Virology* 1991; 185: 10-7.
168. YOUNG, G.A. *et al.* Anthropometry and plasma valine, amino acids and proteins in the nutritional assessment of hemodialysis patients. *Kidney Int.* 1982; 21: 492-499.
169. ZHANG, P. *et al.* NADPH Oxidase Contributes to Coronary Endothelial Dysfunction in the Failing Heart. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 2009.

8. ANEXOS

ANEXO 1



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PEDRO ERNESTO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



Rio de Janeiro, 23 de agosto de 2006

Do: Comitê de Ética em Pesquisa
Profª. Patrícia Maria C. O. Duque
Para: Prof. Antônio Cláudio Mendes Ribeiro

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto, após avaliação, considerou o projeto (1485-CEP/HUPE) "A VIA L-ARGININA-ÓXIDO NÍTRICO EM PLAQUETAS DE PACIENTES COM ANOREXIA NERVOSA" aprovado, encontrando-se este dentro dos padrões éticos da pesquisa em seres humanos, conforme Resolução n.º196 sobre pesquisa envolvendo seres humanos de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde, bem como o consentimento livre e esclarecido.

O pesquisador deverá informar ao Comitê de Ética qualquer acontecimento ocorrido no decorrer da pesquisa.

O Comitê de Ética solicita a V. Sª., que ao término da pesquisa encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto.


COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
HUPE / UERJ
Profª. Patrícia Maria C. O. Duque
Membro do Comitê de Ética em Pesquisa

ANEXO 2**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Título da pesquisa: O papel da via L-arginina-óxido nítrico em plaquetas de pacientes com Anorexia Nervosa

Pesquisadores participantes: Dr. Antônio Cláudio Mendes Ribeiro, Mestranda Natália Rodrigues Pereira

Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Departamento de Farmacologia e Psicobiologia

Laboratório de Transporte de Membrana

Tel.:(21)25876141

Eu, _____, CPF nº _____, abaixo assinado, concordo em participar da pesquisa acima como sujeito. Fui devidamente informado e esclarecido pela Mestranda Natália Rodrigues Pereira sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação, assim como as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Foi-me esclarecido ainda que, por ser uma participação voluntária e sem interesse financeiro, não terei direito a nenhuma remuneração. Foi-me garantido que poderei retirar meu consentimento a qualquer momento sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção do meu tratamento nesta instituição.

Rio de Janeiro, ____ de _____ de 200_.

Assinatura do sujeito ou responsável

Testemunha

Testemunha

ANEXO 3**PROTOCOLO DE AVALIAÇÃO DOS DISTÚRBIOS ALIMENTARES**

DATA DA COLETA: _____ PRONTUARIO: _____

DATA DE ADMISSÃO: / /

TELEFONE: _____

ENDEREÇO: _____

1- Nome: _____

2-Data de nascimento: / / Idade: _____ 3 – Sexo: () F () M

4- Raça: () Branca () Negra () Mestiça

5- Doenças associadas:

6- Fatores de Risco Cardiovascular:

() História Familiar Quem? _____

() Tabagismo Nº _____ Tempo _____ Quando Parou? _____

() Etilismo Qual? _____ Quantidade? _____

() Sedentarismo

() Dislipidemia

7-HF: _____

8- Avaliação Nutricional:

Peso = Altura = IMC =

Perda de peso : (Kg) _____ de _____ para _____ Período: _____

Peso mínimo para altura atual Peso máximo para altura atual

Pregas cutâneas (mm): Tríceps: Bíceps:

Subescapular: Suprailíaca:

9 - Medicamentos :

() laxante Quantidade/freqüência: _____

() diurético Quantidade/freqüência:

() anti-arritmico () antidepressivo () Cálcio () moderador de apetite

() outros: _____

10 - Função intestinal:

11 - Pressão arterial:

12 - Frequência cardíaca:

13-Tempo de tratamento: _____

14 - Imagem corporal:

15 - Alergias alimentares:

16 - Ingestão de líquidos:

17 - Suplementos vitamínicos/minerais/outras:

18 - Substitutos de açúcar e gorduras:

19- Ingestão excessiva de alimentos

Por dia: _____ Por semana: _____ Duração por episódio: _____

Alimentos preferidos: _____

20 - Auto indução de vômitos

Número de vezes por dia: _____

Método:

21 – Exercícios

Tipo: Minutos por dia: Vezes por semana:

22 – História gestacional: _____

23- História social :

24 – História do desenvolvimento: _____

25 – Histórico da menstruação: _____

Idade da menarca: _____ Última menstruação: _____

26- Exames Laboratoriais:

Data: _____

Hematócrito		Leucócitos	
Hemoglobina		Neu	
Creatinina		Linf	
Uréia		Eos	
K		Baso	
Na		Bastões	
Ca		Mono	
P		Plaquetas	
Mg		Acido Ur	
calciúria		Ptn total	
Albumina		Proteína C	
Glicose		Insulina	
TG		Col. Total	
LDL		HDL	
IL-6		IL-1	
TNF-alfa		Fibrinogênio	
T4		estradiol	
cortisol		TSH	
FSH		LH	
TGO		TGP	
GGT			

ANEXO 4**PROTOCOLO DO LABORATÓRIO DE TRANSPORTE DE MEMBRANA**

DATA DA COLETA: _____

1- Nome: _____

2 – Idade: _____

3 – Sexo: () F () M

4 – Raça: () Branca () Negra () Mestiça

5- Doenças associadas: _____

6- Fatores de Risco Cardiovascular:

() História Familiar Quem? _____

() Tabagismo Nº _____ Tempo _____ Quando Parou? _____

() Etilismo Qual? _____ Quantidade? _____

() Sedentarismo

() Dislipidemia

7 – Avaliação Nutricional:

Peso =

Altura =

IMC =

Circunferência Quadril =

Circunferência Cintura =

Relação Cintura-Quadril=

Diagnóstico Nutricional = _____

8 – Medicamentos :

9 – Exames Laboratoriais

Data: _____

Hematócrito		Leucócitos	
Hemoglobina		Neu	
Creatinina		Linf	
Uréia		Eos	
K		Baso	
Na		Bastões	
Ca		Mono	
P		Plaquetas	
Mg		Acido Ur	
calciúria		Ptn total	
Albumina		Proteína C	
Glicose		Insulina	
TG		Col. Total	
LDL		HDL	
IL-6		IL-1	
TNF-alfa		Fibrinogênio	
T4		estradiol	
cortisol		TSH	
FSH		LH	
TGO		TGP	
GGT			

ARTIGOS PUBLICADOS NO PERÍODO DE 2007 E 2008

1. SIQUEIRA, M A S; MARTINS, M A; PEREIRA, N R; MOSS, M B; SANTOS, S; MANN, G E; MENDES RIBEIRO, A C; BRUNINI, T M C. Modulation of cationic amino acid transport system γ +L by surface potential, ouabain and thrombin in human platelets: effects of uraemia. *Nephron Experimental Nephrology*, v.107, p.132 – 138, 2007.
2. PEREIRA NR, MOSS MB, ASSUMPÇÃO CRL, CARDOSO CB, MANN GE, BRUNINI TMC, MENDES-RIBEIRO AC. Diminished Intraplatelet L-Arginine-Nitric Oxide Pathway And Antioxidant Defense In Anorexia Nervosa. *Cardiovascular Research* – Submetido (Manuscript Number: 2009/78).
3. SIQUEIRA, MAS; MENDES-RIBEIRO, AC; PEREIRA, NR; MARTINS, MA; MOSS, MB; SANTOS, SFF; LUGON, JR; MANN, GE; BRUNINI, TMC. Is Conservative Treatment In Chronic Renal Failure A Stage Where L-Arginine Transport Is Paradoxically Reduced Compared To Patients On Dialysis? *Kidney International*-Submetido (Manuscript number: KI-02-09-0165).
4. PEREIRA NR, SIQUEIRA MAS, RESENDE AC, AGUILAR C, BRUNINI TMC, MENDES-RIBEIRO AC . Disturbances of the L-arginine-nitric oxide pathway in erythrocytes taken from patients with anorexia nervosa. EM FASE FINAL DE ELABORAÇÃO.

TRABALHOS APRESENTADOS EM EVENTOS CIENTÍFICOS NO PERÍODO DE 2007 E 2008

1. PEREIRA, N.R.; Assumpção, C.R.L.; Cardoso, C.; Marques, T.G.; Brunini, T.C.; Mendes Ribeiro, A.C. Via L-arginina-óxido nítrico e plaquetas em anorexia nervosa. In: XXII REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL FeSBE, 2007, Águas de Lindóia.
2. Orsini, T.F.; PEREIRA, N.R.; Siqueira, M.A.S.; Martins, M.A.; Mendes Ribeiro, A.C. A via L-arginina-óxido nítrico em plaquetas de pacientes com insuficiência renal crônica em tratamento conservador. In: 6ª JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIRIO, 2007, Rio de Janeiro.
3. Lima, R.A., Martins, M.A., PEREIRA, N.R., Moss, M.B., Siqueira, M.A.S., Brunini, T.M.C., Mendes Ribeiro, A.C. O papel da via L-arginina-óxido nítrico em plaquetas de pacientes com insuficiência renal crônica e sua correlação com o estado nutricional. In: 16ª SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA – SEMIC/UERJ, 2007, Rio de Janeiro.
4. PEREIRA, NR; Assumpção CRL; Cardoso, CB; Brunini, TMC; Mendes-Ribeiro, AC. O papel do óxido nítrico e sua relação com a função plaquetária em pacientes com anorexia nervosa. In: XII Congresso Brasileiro de Nutrologia, 2008, São Paulo.
5. Moss, VB; Martins, MA; Siqueira, MAS; PEREIRA, NR. Efeito da insuficiência renal em estágios moderados na via l-arginina-óxido nítrico em plaquetas e sua relação com a função plaquetária. In: 17ª SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA – SEMIC/UERJ, 2008, Rio de Janeiro.
6. Siqueira, MAS; Santos, SFF; Lugon, JR; Moss, MB; PEREIRA, NR; Martins, MA; Brunini, TMC; Mendes-Ribeiro, AC. Hiperatividade e expressão aumentada da óxido nítrico síntase plaquetária na insuficiência renal em tratamento conservador. In: XXIV Brasileiro de Nefrologia, 2008, Curitiba.
7. PEREIRA, NR; Assumpção CRL; Okinga, A; Cardoso, CB; Brunini, TMC; Mendes-Ribeiro, AC. Via L-arginina-óxido nítrico em anorexia nervosa. In: 40º Congresso Brasileiro de Farmacologia e Terapêutica Experimental, 2008, São Paulo.
8. Assumpção C.R., PEREIRA N.R., Martins M.A., Brunini T.M.C., Mendes-Ribeiro A.C. Intraplatelet L-arginine-nitric oxide pathway in obese adolescents. In: 13th International Congress of Endocrinology, 2008, Rio de Janeiro.