

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

FLÁVIO HENRIQUE VALICELLI

**Efeitos da infusão de nitroprussiato de sódio em baixas doses sobre a modulação
autônômica cardíaca em pacientes com insuficiência cardíaca: estudo piloto, duplo cego,
controlado com placebo**

RIBEIRÃO PRETO

2023

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

Efeitos da infusão de nitroprussiato de sódio em baixas doses sobre a modulação autonômica cardíaca em pacientes com insuficiência cardíaca: estudo piloto, duplo cego, controlado com placebo

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Clínica Médica.

Área de concentração: Clínica Médica

Orientador: Prof. Dr. Marcus Vinicius Simões

RIBEIRÃO PRETO - SP

2023

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo de Publicação
Serviço de Biblioteca e Documentação
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

Insuficiência Cardíaca, Nitroprussiato de Sódio, Modulação Autonômica

Valicelli, Flávio Henrique

Efeitos da infusão de nitroprussiato de sódio em baixas doses sobre a modulação autonômica cardíaca em pacientes com insuficiência cardíaca: estudo piloto, duplo cego, controlado com placebo / Flávio Henrique Valicelli; orientador, Marcus Vinicius Simões. - 2023.

81f:15il

Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) - Programa de Pós-graduação em Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

Versão original

1. Insuficiência Cardíaca. 2. Nitroprussiato de Sódio. 3. Modulação Autonômica.

Nome: VALICELLI, Flávio Henrique

Título: Efeitos da infusão de nitroprussiato de sódio em baixas doses sobre a modulação autonômica cardíaca em pacientes com insuficiência cardíaca: estudo piloto, duplo cego, controlado com placebo.

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Clínica Médica.

Área de concentração: Clínica Médica

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

À Deus, pelo seu amor, tudo é para sua honra e para sua glória.

À meus pais, José e Helenir, por dedicarem sua vida à minha, por serem exemplos.

À minha noiva, Joyrelle, por me completar, por todo seu amor e compreensão neste processo.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo seu amor por nós, pela sua compaixão, pelo seu sacrifício e por abençoar toda a minha formação. Somos o meio de manifestação de seu poder na vida das pessoas.

À meus pais por dedicarem a suas vidas para a construção da minha. São exemplos de caráter, amor e entrega. Honrarei-os para sempre.

À minha noiva, Joyrelle, pela sua compreensão e colaboração, por ser entusiasta e incentivadora de cada passo que dou. Amo-te para sempre. Somos um.

Ao Professor Doutor Marcus Vinicius Simões, por toda orientação, disponibilidade e instrução desde o começo da minha trajetória na cardiologia e durante esta pós-graduação.

Aos Professores Doutor Jaime Eduardo Cecílio Hallak e Doutor Rubens Fazan Junior por todo o auxílio e orientação na construção, elaboração e conclusão deste projeto.

À enfermeira Sheila Carrara Hermann pela sua contribuição e empenho na realização deste estudo e, principalmente, pela sua amizade desde minha chegada em Ribeirão Preto.

Aos Doutores Júlio César Crescêncio e Denise Mayumi Tanaka pela disponibilidade e companheirismo aos longo do período de elaboração deste trabalho.

Aos colegas médicos assistentes da divisão de cardiologia e aos colegas residentes em cardiologia que contribuíram e deram suporte para a realização deste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

Valicelli, Flávio Henrique. **Efeitos da infusão de nitroprussiato de sódio em baixas doses sobre a modulação autonômica cardíaca em pacientes com insuficiência cardíaca: estudo piloto, duplo cego, controlado com placebo.** 2023. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

A insuficiência cardíaca (IC) é uma doença em que ocorre remodelamento cardíaco marcado pela dilatação das câmaras cardíacas, perda da função sistólica e lesão de órgãos-alvo. A ativação neuro-humoral é um fator chave no círculo vicioso que determina agravamento da lesão tecidual e remodelamento miocárdico. A hiperatividade simpática é o componente mais precoce e mais intenso da ativação reflexa dos neuro-hormônios deletérios na IC. Pacientes com IC tem alterações importantes dos centros reguladores no sistema nervoso central (SNC) envolvidos na perpetuação da hiperatividade simpática que pode estar envolvida na progressão da IC. O núcleo paraventricular do hipotálamo (NPV) contém neurônios envolvidos na regulação do tônus simpático. Estudos experimentais sugerem que a exaustão funcional de grupos neuronais inibitórios, cuja sinalização é dependente de óxido nítrico (NO), localizados no NPV, está envolvida no aumento da descarga simpática na IC. Esses estudos mostram que a injeção intracerebral de nitroprussiato de sódio (NPS), um doador de NO, é capaz de reduzir a atividade eferente simpática. Neste contexto, o presente estudo tem como hipótese de que a infusão periférica de baixa dose de NPS, não associada a alterações hemodinâmicas diretas ou reflexas, possa associar-se à redução da atividade simpática reflexa em pacientes com IC, mediante ação desta droga em restabelecer a atividade neuronal de vias de transmissão NO-dependentes no SNC, além de melhora de sintomas psicopatológicos. Foram recrutados 16 pacientes com insuficiência cardíaca com fração de ejeção reduzida (ICFER) estáveis, em seguimento ambulatorial, sintomáticos em classe funcional II-III da NYHA, com fenótipo clínico de cardiomiopatia dilatada de diversas etiologias, em ritmo sinusal, sem uso crônico ou atual de hidralazina e nitrato. Os pacientes foram distribuídos aleatoriamente em 2 grupos experimentais, NPS (n=8) e placebo (n=8), submetidos a avaliação médica e laboratorial inicial, orientados a esvaziar a bexiga e, em seguida, encaminhados para a sala de fisiologia do exercício na Seção de Cardiologia do Hospital das

Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, onde permaneceriam por 5 horas, monitorizados, para infusão de NPS ou placebo. Ao término deste período, os pacientes foram orientados a esvaziar novamente a bexiga para quantificação da diurese e, em seguida, liberados com agendamento de reavaliação clínica e laboratorial em 96 horas. A modulação autonômica cardiovascular foi avaliada, indiretamente, por meio do cálculo de índices de variabilidade das séries de sucessivos intervalos RR, bem como dos valores, batimento-a-batimento, da pressão arterial (PA) sistólica. A sensibilidade barorreflexa espontânea foi avaliada por meio da técnica da sequência. Os sintomas psicopatológicos foram avaliados por meio do inventário de ansiedade de Beck e da escala de depressão de Hamilton. A infusão de NPS não causou queda significativa da PA dos pacientes, nem alteração significativa no índice cardíaco. Portanto, julgamos que o protocolo utilizado foi adequado no sentido de empregar uma dose de NPS que não produzisse alterações reflexas da atividade autonômica. Os pacientes do grupo controle apresentaram uma pequena, mas significativa redução da frequência cardíaca (FC) ao longo da infusão do placebo quando comparada com os valores basais. Efeito não foi observado no grupo NPS. Quanto aos índices da variabilidade da frequência cardíaca, tanto no domínio tempo, como da frequência, bem como aqueles oriundos da análise simbólica (não-linear), observamos alterações nos pacientes do grupo controle durante a infusão de solução salina. Houve aumento da RMSSD, da potência do espectro do intervalo RR na faixa HF (arritmia respiratória), e também na ocorrência de padrões simbólicos tipo 2UV. Esses 3 índices estão associados à modulação vagal cardíaca. O mesmo comportamento foi observado na avaliação da sensibilidade do barorreflexo espontâneo, que mostrou aumento significativo no grupo placebo. Não houve diferença no volume de diurese apresentado pelos pacientes dos dois grupos após 4 horas de infusão. A infusão de NPS também não mostrou ação expressiva sobre o grau de ativação neuro-humoral, com manutenção dos níveis séricos de NT-proBNP, nem alteração significativa da pontuação nos questionários de sintomas psicopatológicos durante o período avaliado. Não observamos diferença significativa dos índices de percepção de dispneia pelos pacientes em ambos os grupos. Assim, em pacientes com ICFER estáveis e ambulatoriais, a infusão periférica de NPS em baixa dose, quando comparada ao placebo, apesar de segura, associou-se a efeito paradoxal de impedir o aumento da sensibilidade do barorreflexo e do

tônus vagal sobre o controle da FC, efeitos espontâneos observados no grupo controle e induzidos, provavelmente, por condições ambientais favoráveis.

Palavras - chave: Insuficiência Cardíaca, Nitroprussiato de Sódio, Modulação Autonômica

ABSTRACT

VALICELLI, Flávio Henrique. **Effects of low-dose sodium nitroprusside infusion on cardiac autonomic modulation in patients with heart failure: a double-blind, placebo-controlled pilot study.** 2023. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

Heart failure (HF) is a disease in which cardiac remodeling occurs marked by dilation of cardiac chambers, loss of systolic function and damage to target organs. Neurohumoral activation is a key factor in the vicious circle that determines tissue injury worsening and myocardial remodeling. Sympathetic hyperactivity is the earliest and most intense component in this process of reflex activation of deleterious neurohormones in HF. Patients with HF have important alterations in the regulatory centers in the central nervous system (CNS) involved in the perpetuation of the sympathetic hyperactivity that may be involved in the progression of HF. The paraventricular nucleus of the hypothalamus (PVN) contains neurons involved in the regulation of sympathetic tone. Experimental studies suggest that the functional exhaustion of inhibitory neuronal groups, whose signaling is dependent on nitric oxide (NO), located in the PVN, is involved in the increase of sympathetic discharge in HF. These studies show that intracerebral injection of sodium nitroprusside (SNP), a NO donor, is capable of reducing sympathetic efferent activity. In this context, the present study has the hypothesis that low-dose peripheral infusion of NPS, not associated with direct or reflex hemodynamic changes, may be associated with the reduction of reflex sympathetic activity in patients with HF, through the action of this drug to restore the neuronal activity of NO-dependent transmission pathways in the CNS, in addition to the improvement of psychopathological symptoms. Sixteen patients with stable heart failure with reduced ejection fraction (HFREF) were recruited, in NYHA functional class II-III, with clinical phenotype of dilated cardiomyopathy of various etiologies, in sinus rhythm, without chronic or current use of hydralazine and nitrate. Patients were randomly distributed into 2 experimental groups, SNP (n=8) and placebo (n=8), submitted to initial medical and laboratory evaluation, instructed to empty the bladder and then referred to the exercise physiology room in the Cardiology Section of the Hospital das Clínicas, Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo, where they would remain for 5 hours, monitored, for infusion of SNP or placebo. At

the end of this period, the patients were instructed to empty the bladder again to quantify the diuresis and then released with a clinical and laboratory reassessment scheduled in 96 hours. Cardiovascular autonomic modulation was assessed, indirectly, by calculating the variability indices of the series of successive RR intervals, as well as the beat-to-beat values of systolic blood pressure (BP). Spontaneous baroreflex sensitivity was assessed using the sequence technique. Psychopathological symptoms were assessed using the Beck Anxiety Inventory and the Hamilton Depression Scale. The infusion of SNP did not cause a significant drop in the BP of the patients, nor a significant change in the cardiac index. Therefore, we believe that the protocol used was adequate in the sense of employing a dose of SNP that did not produce reflex changes in autonomic activity. Patients in the control group showed a small but significant reduction in heart rate (HR) during the placebo infusion when compared with baseline values. Effect was not observed in the SNP group. As for the indices of heart rate variability, both in the time and frequency domains, as well as those arising from the symbolic (non-linear) analysis, we observed changes in patients in the control group during the infusion of saline solution. There was an increase in RMSSD, in the power of the spectrum of the RR interval in the HF band (respiratory arrhythmia), and also in the occurrence of symbolic patterns like 2UV. These 3 indices are associated with cardiac vagal modulation. The same behavior was observed in the assessment of spontaneous baroreflex sensitivity, which showed a significant increase in the placebo group. There was no difference in the volume of diuresis presented by patients in both groups after 4 hours of infusion. The infusion of SNP also did not show significant action on the degree of neurohumoral activation, with maintenance of serum levels of NT-proBNP, nor significant change in the score on the questionnaires of psychopathological symptoms during the evaluated period. We did not observe any significant difference in the rates of perception of dyspnea by patients in both groups. Thus, in patients with stable HFREF, peripheral infusion of SNP at a low dose, when compared to placebo, despite being safe, was associated with the paradoxical effect of preventing the increase in baroreflex sensitivity and vagal tone on the control of HR, spontaneous effects observed in the control group and probably induced by favorable environmental conditions.

Keywords: Heart Failure, Sodium Nitroprusside, Autonomic Modulation

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Vias neuronais envolvidas na ativação simpática na IC.

Figura 2 - Representação esquemática do protocolo experimental.

Figura 3 - Captura de tela da correção dos artefatos no programa computacional PyBioS.

Figura 4 - Ilustração do processo de conversão de uma série de intervalos RR em uma série de símbolos (A) e exemplos de sequências para cada família da análise simbólica (B).

Figura 5 - Exemplo de cálculo da sensibilidade do barorreflexo pelo método de sequência.

Figura 6 - Gráficos de barras com valores (média \pm EPM) da FC (painel superior) e da PA sistólica (painel inferior) nos 30 minutos que antecedem (Basal), bem como durante a infusão de NSP ou veículo.

Figura 7 - Gráficos de barra com valores (média \pm EPM) na variabilidade total da FC, representada pelo desvio padrão da média de valores do intervalo RR (SDNN, painel superior) e pela raiz quadrada da média do quadrado de sucessivas diferenças entre intervalos RR (RMSSD, painel inferior) nos 30 minutos que antecedem (Basal) e durante a infusão de NPS ou veículo.

Figura 8 - Gráficos de barra com valores (média \pm EPM) da potência dos espectros das séries de intervalos RR integrados nas bandas de LF (painel superior) e HF (painel inferior) nos 30 minutos que antecedem (Basal) e durante a infusão de NPS ou veículo.

Figura 9 - Gráficos de barra com valores (média \pm EPM) da porcentagem de ocorrência de sequências de símbolos tipo 0V (painel superior) e 2UV (painel inferior) nos 30 minutos que antecedem (Basal) e durante a infusão de NPS ou veículo.

Figura 10 - Gráficos de barra com valores (média \pm EPM) da variabilidade total da PA, batimento-a-batimento, expressa pelo desvio padrão (SD) dos valores de PA sistólica (painel superior), da potência do espectro da PA integrada na banda LF (painel central), e da porcentagem da ocorrência de sequências de símbolos do tipo 0V (análise simbólica da PA, painel inferior) nos 30 minutos que antecedem (Basal) e durante a infusão de NPS ou veículo.

Figura 11 - Gráficos de barra com valores (média \pm EPM) do índice de efetividade (BEI, painel superior) e sensibilidade (painel inferior) do barorreflexo arterial calculados pelo método da sequência nos 30 minutos que antecedem (Basal) e durante a infusão de NPS ou veículo.

Figura 12 - Inventário de ansiedade de Beck.

Figura 13 - Escala de depressão de Hamilton.

Figura 14 - Escala visual analógica.

Figura 15 - Escala de Likert de 7 pontos.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados demográficos, clínicos e laboratoriais.

Tabela 2 - Resultado das medidas de volume urinário.

Tabela 3 - Resultados das medidas de índice cardíaco.

LISTA DE SIGLAS

AHA = American Heart Association

ARM = antagonista do receptor mineralocorticoide

BRA = bloqueador do receptor de angiotensina II

CF = classe funcional

DDVE = diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo

ECG = eletrocardiograma

IC = insuficiência cardíaca

ICFER = insuficiência cardíaca com fração de ejeção reduzida

IECA = inibidor da enzima conversora de angiotensina

INRA = inibidor da neprilisina e do receptor da angiotensina

iSGLT2 = inibidores do cotransportador de sódio e glicose tipo 2

FC = frequência cardíaca

FEVE = fração de ejeção do ventrículo esquerdo

FFT = Transformada Rápida de Fourier

GABA = ácido gama-aminobutírico

GMPC = guanosina monofosfato cíclico

HAM-D = Hamilton Depression Rating Scale

HF = alta frequência

iRR = intervalo entre sucessivas ondas R

LF = baixa frequência

NMDA = N-metil D-aspartato

nNOS = óxido nítrico sintase neuronal

NO = óxido nítrico

NPS = nitroprussiato de sódio

NPV = núcleo paraventricular do hipotálamo

NT-próBNP = fragmento N-terminal do peptídeo natriurético tipo B

NYHA = New York Heart Association

PA = pressão arterial

RMSSD = raiz quadrada da média do quadrado de sucessivas diferenças entre intervalos RR

SBR = sensibilidade espontânea do barorreflexo

SDNN = desvio padrão da média de valores do intervalos RR

SNAS = sistema nervoso autonômico simpático

SNC = sistema nervoso central

SRAA = sistema renina angiotensina aldosterona

VFC = variabilidade da frequência cardíaca

VLF = muito baixa frequência

VPA = variabilidade da pressão arterial

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. OBJETIVOS	28
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS	29
3.1. Delineamento geral do estudo	29
3.2. Critérios de inclusão	29
3.3. Critérios de exclusão	30
3.4. Protocolo de estudo	30
3.5. Cegamento dos investigadores e procedimentos de randomização	31
3.6. Preparo para o estudo	31
3.7. Avaliação clínica e laboratorial	31
3.8. Infusão de NPS ou placebo e parâmetros de monitorização	32
3.9. Variáveis registradas e analisadas	33
3.10. Análise dos dados	34
3.11. Análise estatística	39
4. RESULTADOS	40
4.1. Descrição da casuística	40
4.2. Avaliação do controle autonômico cardíaco	42
4.3. Avaliação do volume urinário	51
4.4. Avaliação do nível sérico de NT-proBNP	51
4.5. Avaliação de manifestações de ansiedade e depressão	51
4.6. Avaliação de dispneia	53
4.7. Avaliação do índice cardíaco	54
5. DISCUSSÃO	56
5.1. Considerações sobre a casuística	56
5.2. Efeitos sobre a hemodinâmica	57
5.3. Sobre os métodos de avaliação do controle autonômico cardíaco	57
5.4. Resultados da avaliação da modulação cardíaca	60
5.5. Avaliação da diurese	64
5.6. Avaliação dos níveis séricos de NT-proBNP	64

5.7.Avaliação das manifestações de ansiedade e depressão-----	65
5.8.Avaliação da melhora de dispneia -----	66
5.9.Avaliação de efeitos adversos-----	66
6. CONCLUSÃO-----	67
REFERÊNCIAS -----	68
ANEXOS -----	76
ANEXO A - Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa -----	76
ANEXO B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido-----	80

1. INTRODUÇÃO

A insuficiência cardíaca (IC) é uma síndrome clínica composta por sintomas e/ou sinais, atuais ou anteriores, causados por uma anormalidade cardíaca estrutural e/ou funcional e corroborada por níveis elevados de peptídeos natriuréticos e/ou evidência objetiva de congestão pulmonar ou sistêmica de origem cardiogênica (BOZKURT *et al.*, 2021).

A IC é, na maioria das vezes, uma doença progressiva em que ocorre remodelamento cardíaco marcado pela dilatação das câmaras cardíacas, perda da função sistólica e lesão de outros órgãos-alvo, como o rim. Trata-se de um grave problema de saúde pública, considerada uma nova epidemia, com elevada morbimortalidade (COMITÊ COORDENADOR DA DIRETRIZ DE INSUFICIÊNCIA CARDÍACA, 2018; MANN *et al.*, 2015). Dados recentes da American Heart Association (AHA) estimam que 6 milhões de americanos com mais de 20 anos apresentam diagnóstico de IC (TSAO *et al.*, 2022). É a principal causa de hospitalização de aproximadamente 50% da população da América do Sul (BOCCHI, 2013). Excetuando-se causas externas, as doenças do aparelho circulatório são a principal causa de óbito, seguido pelas neoplasias (DATASUS, 2019). No Brasil, dados da DATASUS mostram que de 2008 a 2016 foram realizadas 2.206.023 internações por IC com 247.221 óbitos neste mesmo período.

Com base no I Registro Brasileiro de Insuficiência Cardíaca, as principais etiologias da IC em pacientes hospitalizados por IC agudamente descompensada são a cardiopatia isquêmica, seguida da cardiopatia hipertensiva e da cardiomiopatia dilatada, sendo os idosos a faixa etária que corresponde ao maior número de internações. A principal causa de descompensação da IC é a má aderência ao tratamento, observando-se elevada taxa de mortalidade intra-hospitalar (ALBUQUERQUE, 2015).

Pacientes com insuficiência cardíaca com fração de ejeção reduzida (ICFER) são aqueles que apresentam sinais e sintomas de IC associados à elevação de biomarcadores e à fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE) menor que 40%, com elevadas taxas de internações e mortalidade, apesar dos novos avanços no tratamento medicamentoso (COMITÊ COORDENADOR DA DIRETRIZ DE INSUFICIÊNCIA CARDÍACA, 2018; MANN *et al.*, 2015; PONIKOWSKI, VOORS, 2016).

O tratamento atual da ICFER baseia-se, fundamentalmente, no antagonismo dos efeitos deletérios da ativação neuro-hormonal reflexa, consistindo do bloqueio do sistema

nervoso autônomo simpático (SNAS) com uso de betabloqueadores, bloqueio do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) com o uso de inibidores da enzima conversora de angiotensina (IECA) ou bloqueadores dos receptores da angiotensina II (BRA) e uso de antagonistas dos receptores mineralocorticoides (ARM), sendo a espironolactona o medicamento disponível no Brasil (COMITÊ COORDENADOR DA DIRETRIZ DE INSUFICIÊNCIA CARDÍACA, 2018; PONIKOWSKI, VOORS, *et al.*, 2016; YANCY; JESSUP, 2017).

O estudo CONSENSUS foi o pioneiro em avaliar o uso de enalapril, um IECA, na modulação neuro-hormonal cardiovascular. A associação deste medicamento ao tratamento convencional da IC em pacientes em classe funcional IV da NYHA reduziu a mortalidade em 40% nos primeiros 6 meses e em 31% em 1 ano (SWEDBERG, 1987). Em seguida, verificou-se o benefício do enalapril sobre outros vasodilatadores, como a associação de hidralazina e nitrato (COHN, 1991), no tratamento da insuficiência cardíaca crônica, independente da classe funcional (YUSUF, 1991).

A terapia com betabloqueadores representou um grande avanço no tratamento da ICFER. Inicialmente, o tartarato de metoprolol preveniu a deterioração clínica, melhorou sintomas e a função cardíaca em paciente com cardiomiopatia dilatada (WAAGSTEN, 1993). Posteriormente, mostrou-se que o carvedilol reduziu o risco de morte por qualquer causa e a hospitalização por causa cardiovascular em paciente com ICFER sintomáticos (PACKER, 1996; PACKER, 2001). Efeitos semelhantes foram verificados com o succinato de metoprolol (FAGERBERG, 1999) e o bisoprolol (CIBIS-II, 1999).

O uso de beta-bloqueadores está embasado em dois principais aspectos fisiopatológicos da IC, ambos relacionados com a ativação do SNAS: *downregulation* dos receptores adrenérgicos cardíaco β_1 e aumento expressivo da secreção de norepinefrina por fibras adrenérgicas cardíacas (HASKING *et al.*, 1986). Os beta-bloqueadores exercem seus efeitos favoráveis na IC principalmente pela inibição do impulso adrenérgico aumentado no miocárdio, causando uma melhora dependente do tempo na estrutura e função ventricular. Entre os efeitos favoráveis relacionados direto ou indiretamente à simpatoinibição, a reversão da remodelamento cardíaco bem como a prevenção de arritmias cardíacas potencialmente fatais, desempenham um papel predominante (COMITÊ COORDENADOR DA DIRETRIZ DE INSUFICIÊNCIA CARDÍACA, 2018; PONIKOWSKI, VOORS, *et al.*, 2016).

O sistema renina-angiotensina também pode interferir na função simpática. A angiotensina II, quando infundida por via intracerebral em animais experimentais, desencadeia uma potencialização da vasoconstrição simpática (GUSTAFFSSON, HOLESTEIN-RATHLOU, 1999). A ocorrência dessas interações, tanto no nível neural central quanto no periférico, foi confirmada ao longo dos anos por uma série de estudos que mostram os efeitos simpatoinibitórios associados ao bloqueio farmacológico do eixo renina-angiotensina-aldosterona via IECA e BRA, uma vez que reduzem a descarga neural simpática central na IC e também podem causar efeitos simpatoinibitórios nos terminais nervosos periféricos, reduzindo a taxa de liberação de norepinefrina e melhorando sua depuração tecidual (DIBNER-DUNLAP, *et al.*, 1996; GRASSI, *et al.*, 1997; KASAMA, *et al.*, 2006; BLANCHET, *et al.*, 2005; AZEVEDO, *et al.*, 2017). Portanto, os IECA e os BRA também podem melhorar o controle barorreflexo simpático e vagal do sistema cardiovascular, restaurando parcialmente o controle cardiovascular reflexo funcional (DIBNER-DUNLAP, *et al.*, 1996; GRASSI, *et al.*, 1997).

A espironolactona é o ARM com evidências sólidas de propriedades simpatoinibitórias na IC. Através da cintilografia miocárdica com ¹²³I-metaiodobenzilguanidina demonstrou-se que a espironolactona, quando administrada isoladamente ou associada ao tratamento medicamentoso convencional, foi capaz de reduzir o impulso neural simpático miocárdico (KASAMA, 2007, 2013).

A adição da espironolactona à terapia padrão da ICFER reduziu em 30% a mortalidade na IC por todas as causas, além de reduzir morte cardíaca, diminuir o número de hospitalizações por causas cardíacas e levar a melhora da classe funcional (PITT, 1999).

Recentemente, o lançamento de uma nova classe de medicamento moduladores neurohormonais, o inibidor da neprilisina e do receptor da angiotensina (INRA), sacubitril/valsartana, representou um avanço substancial no tratamento da ICFER e melhora do prognóstico da IC, haja vista as reduções significativas de morte cardiovascular, morte por qualquer causa, hospitalização por IC e melhora nos sintomas com uso dessa nova droga quando comparada ao enalapril (McMURRAY, 2014).

Os inibidores do cotransportador de sódio e glicose tipo 2 (iSGLT2), inicialmente desenvolvidos para o tratamento de diabetes melito, são a mais recente novidade para o tratamento da IC, independente da presença dessa condição. Dapagliflozina e empagliflozina

reduziram de forma substancial mortalidade e hospitalizações por IC em pacientes com ICFER e tratamento medicamentoso otimizado, incluindo betabloqueador, IECA ou BRA ou INRA, e ARM (McMURRAY, 2019; PACKER, 2020). Há um número substancial de hipóteses que tentam elucidar os benefícios dos iSGLT2 na prevenção e tratamento das doenças cardiovasculares. Observou-se que os iSGLT2 são capazes de reduzir a pressão arterial (PA) sem aumento da frequência cardíaca (FC), sugerindo uma redução indireta na atividade do SNAS através de possível inibição da renovação de norepinefrina no tecido adiposo marrom, redução da produção de tirosina hidroxilase e redução do estresse renal com inibição da ativação simpática aferente renal (LOPASCHUK; VERMA, 2020).

É fato que o tratamento atual da ICFER tem melhorado substancialmente a qualidade de vida e a sobrevida dos pacientes. Entretanto, até o momento, não temos outras medicações com eficácia comprovada no antagonismo dos sistemas neuro-humorais, na medida em que estudos mais recentes que buscam acrescentar maior inibição neuro-hormonal ao tratamento convencional não têm mostrado resultados entusiasmantes (MANN, 2015). A moxonidina é um antagonista do receptor de imidazolina de ação central que bloqueia o SNAS. O ensaio clínico MOXCON avaliou o benefício da moxonidina de liberação prolongada na redução de mortalidade em pacientes com ICFER sintomática, sendo interrompido prematuramente por aumento de mortalidade e morbidade com o uso deste medicamento, sugerindo que a inibição central do SNAS possa não ser segura em pacientes com IC (COHN *et al.*, 2003).

Um corpo volumoso de evidências indica que a ativação neuro-humoral, com aumento dos níveis séricos de angiotensina II, arginina-vasopressina e norepinefrina, é um fator chave no círculo vicioso que determina agravamento da lesão tecidual e remodelamento miocárdico, com perda progressiva da função cardíaca (XU; LI, 2015).

A hiperatividade simpática é o componente mais precoce e mais intenso neste processo de ativação reflexa dos neuro-hormônios deletérios na IC. A diminuição da contratilidade e do débito cardíaco que ocorrem nessa doença estão fortemente associados à "redução da sensibilidade" do barorreflexo arterial e à ativação do quimiorreflexo. Em algumas formas de IC, a hipóxia miocárdica também pode ser observada e isso pode ser responsável por estímulos da aferência simpática cardíaca e pela ativação do quimiorreflexo. Esses estímulos periféricos são integrados no sistema nervoso central e causam aumento da descarga simpática e aumento da frequência de disparo das fibras eferentes simpáticas de

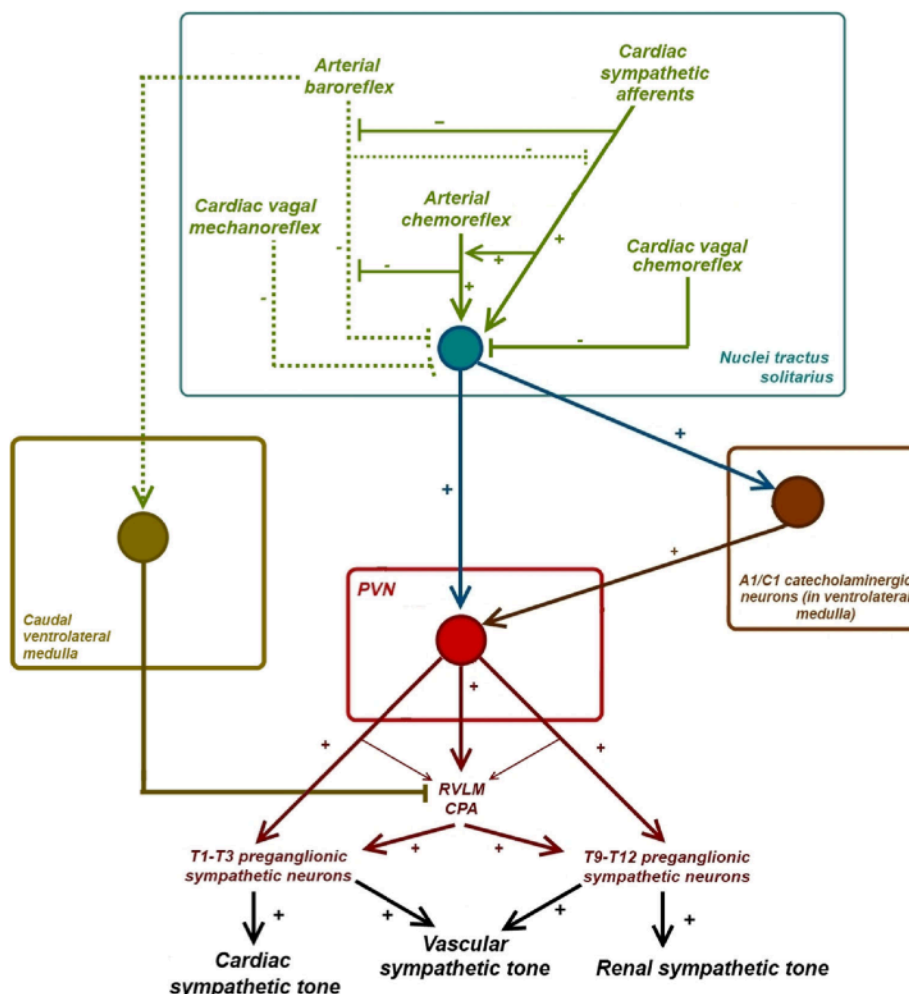
grandes troncos nervosos, como o nervo renal e os gânglios estrelados da cadeia paravertebral (PINTO, 2014). Essas alterações do controle reflexo cardiovascular estão certamente envolvidas na hiperatividade simpática que acompanha a IC.

A atividade do SNAS está aumentada desde os estágios iniciais da IC. Em pacientes com IC leve a moderada, há um aumento na norepinefrina cardíaca, principalmente secundário a uma deficiência nos mecanismos de captação deste neurotransmissor nas junções neuroefetoras, resultando em um impulso adrenérgico cardíaco aumentado (RUNDQVIST *et al.*, 1997). Em um subestudo do SOLVD, a norepinefrina plasmática foi medida em 54 indivíduos controle, 151 pacientes com disfunção ventricular esquerda, mas sem evidência de IC, e 81 pacientes com disfunção ventricular esquerda e IC. Os valores médios de norepinefrina plasmática foram significativamente maiores em pacientes com disfunção ventricular esquerda em comparação com os indivíduos normais. Os níveis também foram significativamente maiores em pacientes com IC em comparação àqueles com disfunção ventricular esquerda assintomática (FRANCIS; BENEDICT; JOHNSTONE, 1990). Os altos níveis de norepinefrina na IC estão relacionados com uma maior liberação deste neuro-hormônio na corrente sanguínea e com uma redução na sua depuração (DAVIS; BAILY; ZELIS, 1988).

Um dos mecanismos associados à hiperatividade simpática nos pacientes com IC é a redução do barorreflexo. A sensibilidade barorreflexa deprimida em pacientes com IC também reduz a sobrevida. Em um estudo com pacientes com ICFER em uso de beta-bloqueador e sem seu uso, a sensibilidade barorreflexa reduzida foi associada à CF III ou IV, à regurgitação mitral severa, ao intervalo RR, ao desvio padrão dos intervalos RR normais a normais (SDNN) e à elevação de uréia. Entretanto, estas variáveis explicam menos de 50% da redução da sensibilidade barorreflexa, independente do tratamento com beta-bloqueador, uma vez que esta alteração, quando menor que 3,0 ms/mmHg, esteve associada a eventos cardíacos nos dois grupos, independente dos fatores de risco e do tratamento (LA ROVERE *et al.*, 2009).

Evidências recentes tem indicado que os pacientes com IC tem alterações importantes dos centros reguladores no SNC que estão envolvidos na perpetuação da hiperatividade simpática que pode estar envolvida na progressão da IC apesar dos modernos tratamentos voltados para o bloqueio dos mecanismos periféricos de ativação neurohormonal (figura 1) (TRIPOSKIADIS *et al.*, 2009).

Figura 1 - Vias neuronais envolvidas na ativação simpática na IC.



Esquema que ilustra aferências cardíacas e vasculares que interagem entre si e fazem sinapse no núcleo do trato solitário, que, por sua vez, se projeta para o núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN), direta e indiretamente (ativando os neurônios noradrenérgicos A1/C1 na região ventrolateral da medula). Conseqüentemente, os neurônios no PVN aumentam o tônus simpático cardíaco, vascular e renal, projetando (e estimulando) neurônios simpáticos pré-ganglionares direta e indiretamente (por sinapse com neurônios na medula rostral ventrolateral - RVLM - e na área pressora caudal - CPA).
Fonte: Adaptado de Pinto *et al.*, 2014.

O núcleo paraventricular do hipotálamo (NPV) contém neurônios excitatórios e inibitórios, envolvidos na regulação do tônus simpático. Os neurônios liberadores de glutamato e angiotensina II induzem efeitos simpatoexcitatórios, enquanto os neurônios liberadores de ácido gama-aminobutírico (GABA) e óxido nítrico (NO) induzem efeitos simpatoinibitórios. Em condições não patológicas, os neurônios de NPV estão sob forte controle inibitório mediado por GABA e NO. Este controla a expressão de receptores N-metil D-aspartato (NMDA) através de uma alça de feedback negativo. A IC está associada à ruptura deste feedback, uma vez que a expressão da óxido nítrico sintase neuronal (nNOS) e,

consequentemente, a síntese de NO estão diminuídas. Assim, há um aumento na estimulação glutamatérgica dos receptores NMDA nos neurônios pré-sinápticos, o que resulta em um tônus simpático aumentado (LI; MAYHAN; PATEL, 2001; LI, 2006; ZHENG, 2011; SHARMA, 2012).

Alterações na ativação dos neurônios do NPV provavelmente estão relacionados a anormalidades na produção de vasopressina, regulação do volume sanguíneo e simpatoexcitação na IC. Além disso, o NO neuronal dentro do NPV, que está envolvido na mediação do fluxo simpático por meio de um mecanismo GABA, pode ser deficiente na inibição do fluxo simpático geral, levando ao fluxo simpático exagerado comumente observado na IC (PATEL, 2000).

Em um estudo experimental com ratos, micro-injeções no NPV de nitroprussiato de sódio (NPS), um doador de NO, produziu uma queda significativa da pressão arterial média, mostrando que o NO exerce um papel significante na regulação do controle do SNC sobre o sistema cardiovascular por meio de ações dentro do NPV (HORN *et al.*, 1994).

Com o objetivo de avaliar o papel do NO dentro do NPV na regulação da atividade do nervo simpático renal, Zhang e cols. realizaram micro-injeções no NPV de inibidores da síntese de NO e micro-injeções de NPS em ratos, e concluíram que o NPS foi capaz de reduzir a atividade do nervo simpático renal, além de reduzir a PA e a FC. Os inibidores da síntese de NO promoveram aumento da atividade do nervo simpático renal. Assim, o NO age no NPV regulando o fluxo simpático por mecanismos inibitórios (ZHANG; MAYHAN; PATEL, 1997).

Em estudo experimental com modelos de ratos com IC, verificou-se uma redução da expressão do RNA mensageiro de nNOS no hipotálamo, ponte dorsal e medula dorsal, associada a um aumento significativo na concentração plasmática de norepinefrina desses ratos com IC, mostrando a relação entre a produção reduzida de NO neuronal com o aumento da descarga simpática para a periferia, presente na IC (PATEL *et al.*, 1996).

Ramchandra e cols. investigaram os efeitos do aumento de NO no NPV sobre a atividade do nervo simpático cardíaco, sobre o controle barorreflexo da atividade do nervo simpático cardíaco e sobre a FC em ovinos com IC. Infusão intracerebroventricular de NPS inibiu a atividade do nervo simpático cardíaco e restaurou o controle barorreflexo da FC. A infusão intracerebroventricular de um inibidor da NO sintase reduziu a atividade do nervo

simpático cardíaco em ovinos saudáveis, mas não em ovinos com IC. Esses achados indicam que o NO endógeno no cérebro fornece tônus excitatório para aumentar a atividade nervo simpático cardíaco no estado normal. Em contraste, o NO administrado exogenamente inibiu a atividade nervo simpático cardíaco tanto no grupo normal como no grupo com IC por meio de ação em outros locais além do NPV (RAMCHANDRA; HOOD; MAY, 2014).

Dessa forma, é plausível a hipótese de que a exaustão de vias neuronais NO-dependentes possam participar da perpetuação do tônus simpático aumentado e que eventuais intervenções terapêuticas voltadas para restaurar essas vias neuronais pudessem ter efeito benéfico em reduzir a hiperatividade simpática nos pacientes com IC. Contudo, todo o embasamento racional dessa hipótese repousa em estudos experimentais pré-clínicos. Dessa forma, há uma grande lacuna nessa área de conhecimento relativa a estudos em humanos usando alguma estratégia farmacológica para testar essa hipótese. Uma possibilidade ainda não explorada seria o uso de infusão periférica de NPS, um doador de NO.

Recentemente, estudos voltados para testar o efeito de infusão periférica de baixas doses de NPS sobre sintomas em pacientes com esquizofrenia têm mostrado que o NPS pode ultrapassar a barreira hematoencefálica em humanos, com potencial de restabelecer a transmissão neuronal dependente de NO (HALLAK, 2013).

Na esquizofrenia, além do acometimento clássico da neurotransmissão de dopamina, a disfunção glutamatérgica também está presente, com redução de NO e de guanosina monofosfato cíclico (GMPc) (LIN; LANE; TSAI, 2012). Um estudo de prova de conceito com 20 pacientes com esquizofrenia mostrou que uma única infusão periférica de NPS a 0,5 mcg/kg/min por 4 horas associou-se a efeitos benéficos nas manifestações clínicas de esquizofrenia, com melhora dos sintomas nas primeiras horas e mantendo-se por até 28 dias, sugerindo que esta droga, ao ultrapassar a barreira hemato-encefálica, possa agir na restauração dos processos de transmissão neuronal no sistema nervoso central (SNC) que dependem de sinalização via NO. Além disso, a baixa dose utilizada de NPS não se associou a impacto significativo na PA, FC e saturação sanguínea de oxigênio, destacando a segurança desse protocolo (HALLAK, 2013). Dessa forma, os estudos de HALLAK et col. abrem a possibilidade de usarmos infusão periférica de NPS para testarmos os potenciais efeitos dessa estratégia de restauração de processos de transmissão neuronal no SNC via NO sobre a hiperatividade simpática em pacientes com IC.

Por outro lado, os transtornos depressivos e ansiosos são frequentes em pacientes com IC e associam-se a desfechos adversos, como menor adesão ao tratamento, taxas elevadas de hospitalização e mortalidade. Apesar do impacto adverso desses distúrbios, a ansiedade e a depressão permanecem subdiagnosticadas e subtratadas nestes pacientes (CELANO, 2018).

Em vista da sobreposição entre sintomas cardíacos e psiquiátricos, o diagnóstico preciso destes transtornos pode ser um desafio em pacientes com IC. O cumprimento dos critérios diagnósticos formais e a entrevista clínica são os melhores métodos no processo de avaliação. As evidências sobre a eficácia farmacológica e psicoterápica são limitadas nos pacientes com IC (CELANO, 2018). Tanto a depressão como os transtornos de ansiedade estão associados ao desenvolvimento e à progressão da IC, com aumento da mortalidade, provavelmente mediadas por mecanismos fisiopatológicos e comportamentais.

Não há estudos prévios mostrando um vínculo fisiopatológico entre a exaustão de vias neuronais NO-dependentes e o desenvolvimento de sintomas ansiosos ou depressivos nos pacientes com IC. Contudo, esse vínculo é plausível e poderia ser adicionalmente explorado, de forma análoga ao realizado no estudo em pacientes com esquizofrenia, em um protocolo experimental utilizando infusão periférica de NPS.

Vale lembrar que o uso terapêutico do NPS foi descrito pela primeira vez no final de 1800 (DAVIDSOHN, 1887) e está em uso clínico desde 1929 para tratamento de hipertensão grave (JOHNSON, 1929). Na ICFER, seu benefício hemodinâmico em aumentar o volume sistólico e o débito cardíaco, associado à redução das pressões de enchimento do ventrículo esquerdo foi demonstrado em 1975 (MILLER, 1975). Na IC aguda descompensada com baixo débito cardíaco, o uso de NPS, além de promover melhora hemodinâmica com segurança, foi associado à redução de mortalidade geral, independente do tratamento com bloqueadores neuro-humorais (MULLENS, 2008). Além da ação vasodilatadora do NPS na ICFER, é plausível supor que a redução de mortalidade observada com uso de NPS poderia estar também associada à sua ação no SNC reduzindo a hiperatividade simpática, característica da ICFER e intensificada em descompensações. Ainda que seja plausível, frente ao conhecimento fisiopatológico da ativação simpática da IC, não há estudos prévios testando essa hipótese.

Baseados nesses aspectos, lançamos a hipótese de que a infusão periférica de baixas doses de NPS, não associadas a alterações hemodinâmicas diretas ou reflexas significativas,

possa associar-se à redução da atividade simpática reflexa em pacientes com IC, mediante ação central desta droga em restabelecer a atividade neuronal de vias de transmissão NO-dependentes no SNC, além de melhora de eventuais sintomas e psicopatológicos.

2. OBJETIVOS

Avaliar os efeitos da infusão periférica de NPS em baixa dose sobre a modulação autonômica cardíaca e sobre manifestações psiquiátricas de ansiedade e depressão em pacientes com ICFER estáveis.

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1. Delineamento geral do estudo

Trata-se de estudo piloto, prospectivo, de intervenção farmacológica, de cunho fisiopatológico, em que foram prospectivamente incluídos pacientes ambulatoriais com ICFER, distribuídos aleatoriamente em 2 grupos experimentais: NPS (n=8) e placebo (n = 8). O tamanho amostral foi definido por conveniência, uma vez que se trata de estudo piloto, sem parâmetros anteriormente descritos para balizar o cálculo do tamanho amostral. No desenho inicial do estudo, planejava-se a inclusão de 12 pacientes no grupo NPS e 12 pacientes no grupo placebo. O estudo foi realizado de modo "cego" pelo experimentadores, ou seja, não havia conhecimento dos mesmo sobre o grupo experimental (controle ou NPS) a que cada paciente pertencia. Após a aplicação do protocolo experimental em 16 pacientes (8 no grupo NPS e 8 no grupo placebo), o velamento foi quebrado e realizadas as análises preliminares dos dados. Neste momento, não foram encontrado diferenças significativas nos principais resultados obtidos. Após avaliação por todos os colaboradores/investigadores e considerando a situação da pandemia na época em que o estudo foi realizado, com exposição dos pacientes aos riscos de vir ao hospital para realização do protocolo, associado à ausência de benefício da intervenção, optou-se pela interrupção do estudo antes que a casuística completa fosse incluída.

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo com o número do parecer 3.711.149.

3.2. Critérios de inclusão

Foram investigados pacientes portadores de ICFER (FEVE < 40%), clinicamente estáveis (sem internação hospitalar nos últimos 3 meses ou progressão sintomas/classe funcional), sintomáticos em classe funcional (CF) II-III da NYHA, com fenótipo clínico de cardiomiopatia dilatada de diversas etiologias, incluindo quadros primários (cardiomiopatia dilatada idiopática) ou secundários (e.g. isquêmica, hipertensiva), em ritmo sinusal, sem uso crônico ou atual de hidralazina e nitrato.

3.3. Critérios de exclusão

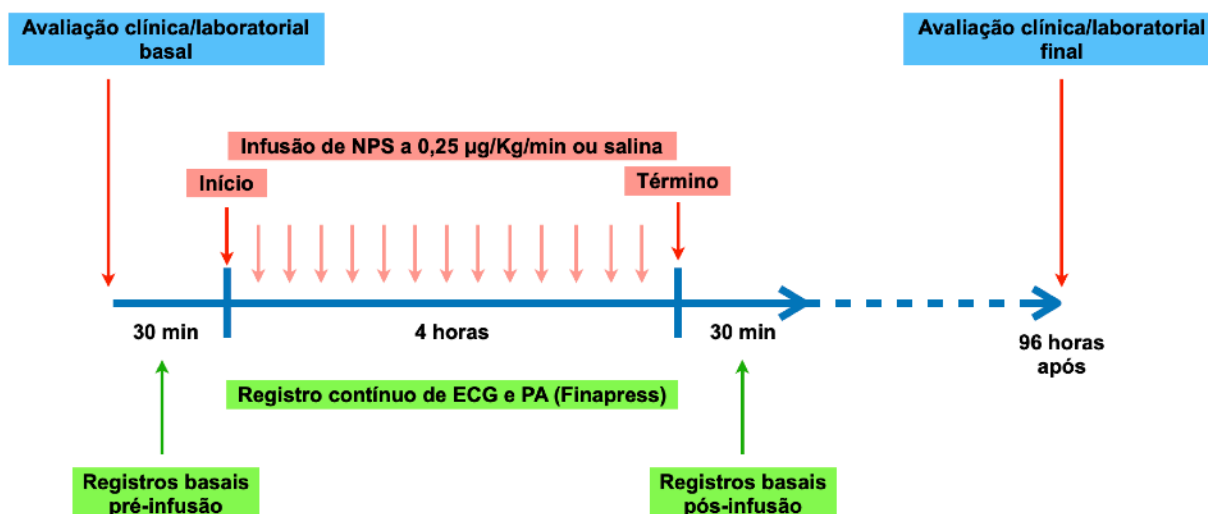
Foram excluídos os pacientes:

- Com diagnóstico de colagenose ou outra doença sistêmica associada à grave disautonomia;
- Com diagnóstico de IC por cardiomiopatia restritiva ou por pericardiopatia;
- Portador de Doença de Chagas;
- Com IC valvar co lesão de estenose grave (mitral ou aórtica);
- Portador de hiper ou hipo-tireoidismo não controlado;
- Apresentando fibrilação atrial ou flutter atrial;
- Exibindo arritmia frequente que prejudique a análise da VFC;
- Portador de dispositivo de controle de ritmo cardíaco (marca-passo convencional, marca-passo multissítio, cardiodesfibrilador implantável);
- Em uso de hidralazina e nitrato;
- Em uso de bloqueadores da atividade simpática central (bloqueadores alfa central, e.g. atensina);
- Insuficiência renal grave, ainda que pré-dialítica, ou em diálise.

3.4. Protocolo de estudo

Uma apresentação esquemática do protocolo experimental está resumidamente apresentada na figura 2 abaixo. O paciente foi apresentado ao protocolo do estudo e, após assinar duas vias do termo de consentimento livre e esclarecido, foi submetido a avaliação médica e laboratorial inicial, orientado a esvaziar a bexiga e, em seguida, era encaminhado para a sala de fisiologia do exercício na Seção de Cardiologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, onde permaneceria por 5 horas, monitorizado, para infusão de NPS ou placebo. Ao término deste período, paciente foi orientado a esvaziar novamente a bexiga para quantificação da diurese e, em seguida, liberado com agendamento de reavaliação clínica e laboratorial em 96 horas.

Figura 2 - Representação esquemática do protocolo experimental.



3.5. Cegamento dos investigadores e procedimentos de randomização

A aleatorização da alocação dos pacientes nos 2 grupos experimentais (salina x NPS) foi feita através de método de randomização em blocos permutados. Foram montados 4 blocos com 6 pacientes/bloco, com diferentes sequências de alocação em cada bloco. Um investigador não cego foi responsável pelo sorteio do bloco e de alocação dos pacientes a ser utilizado ao longo do estudo e os voluntários eram sequencialmente alocados para um dos braços do estudo, salina ou NPS, conforme definido em cada bloco. O investigador não cego manteve sigilo deste procedimento em relação aos demais membros da equipe. A aparência externa do sistema de infusão de drogas a ser montado foi idêntica no caso da infusão de salina ou NPS, incluindo o equipo de infusão, aspecto externo da solução a ser infundida, volume, proteção da luz. Esse investigador não cego não participou na coleta ou análise dos resultados da investigação.

3.6. Preparo para o estudo

Não foi necessário jejum prévio. Os pacientes mantiveram o uso das medicações habituais, inclusive na manhã do dia do estudo.

3.7. Avaliação clínica e laboratorial

Os pacientes foram submetidos na condição basal (antes do início da infusão de NPS ou salina) e 96 horas após a intervenção à avaliação clínica (antropometria, caracterização da

CF da NYHA, exame físico, peso corpóreo, sinais vitais), avaliação psiquiátrica de manifestações de ansiedade e depressão, bioquímica do sangue (uréia, creatinina, sódio, potássio), dosagem dos níveis séricos do fragmento N-terminal do peptídeo natriurético tipo B (NT-próBNP).

Durante a avaliação clínica, foram submetidos aos seguintes instrumentos de avaliação subjetiva das manifestações de ansiedade e depressão:

- ***Inventário de ansiedade de Beck (BAI)*** - versão traduzida e adaptada para o português do Brasil (CUNHA, 2001). Instrumento autoaplicativo para avaliação dos aspectos gerais de ansiedade, composto por 21 itens pontuados em uma escala de Likert de 4 pontos. O escore total é o resultado da soma dos escores dos itens individuais e permite a classificação em níveis de intensidade da ansiedade. Considerando-se os escores 0-10: ansiedade mínima; 11-19: ansiedade leve; 20-30: ansiedade moderada e 31-63: ansiedade grave.
- ***Escala de depressão de Hamilton*** - foi utilizada a versão de 17 itens da HAM-D (Hamilton Depression Rating Scale - HAM-D Hamilton) (HAMILTON, 1960), traduzida e adaptada para o português, com guia de entrevista estruturada (MORENO; MORENO, 2000) para avaliar mudanças na gravidade dos sintomas depressivos. Para este fim, a HAM-D foi aplicada imediatamente antes e após a administração de NPS ou do placebo. A pontuação da escala varia de 0 a 52 pontos e, embora o autor não tenha proposto um ponto de corte padrão, considera-se na prática que escores acima de 25 identifiquem pacientes em episódio depressivo grave; entre 18 e 24 episódio depressivo moderado; entre 7 e 17, episódio depressivo leve.

Logo após a avaliação basal, os sujeitos da pesquisa foram orientados a esvaziar a bexiga, procedendo-se a novo esvaziamento vesical após término do período de infusão do NPS/placebo, para que se possa aferir o volume urinário produzido durante a duração da intervenção, de forma padronizada.

3.8. Infusão de NPS ou placebo e parâmetros de monitorização

Após avaliação basal, os pacientes foram submetido à venoclise em veia periférica e posicionados na mesa de exame no Laboratório de Fisiologia do Exercício, da Divisão de Cardiologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. A seguir,

recebeu eletrodos cutâneos para registro contínuo do eletrocardiograma (ECG) e colocação de manguito pneumático/sensor na extremidade do quirodátilo adequado para monitorização contínua indireta da PA por método fotoplestimográfico (Finapress).

A seguir, foi iniciado o registro simultâneo do ECG e PA em um IBM/PC, por meio da interface analógico/digital DI-720 (Dataq, Akrom, Ohio, EUA). Após 30 minutos de registro basal, foi iniciada a infusão contínua de NTPS na dose de 0,25 mcg/kg/min, por 4 horas, ou igual volume e taxa de infusão de solução salina 0,9%, em veia periférica.

O registro contínuo do ECG e da PA pulsátil foi feito durante todo o período de infusão (4 horas) e por 30 minutos adicionais após terminada a mesma.

Os índices de variabilidade da FC e da PA foram avaliados a partir de séries temporais de intervalo RR e da PA sistólica, a cada 30 minutos, desde o período que antecedeu a infusão de NPS, ou veículo, até o final do experimento. A média dos valores dos índices de VFC e VPA, calculados a cada 30 minutos, durante a infusão (4 horas) foi utilizado para comparação com o período basal (pré-infusão).

Logo após o término do período de registro, a linha venosa foi retirada e o paciente esvaziou novamente a bexiga, com medida do volume urinário produzido ao longo do experimento (5 horas de duração).

3.9. Variáveis registradas e analisadas

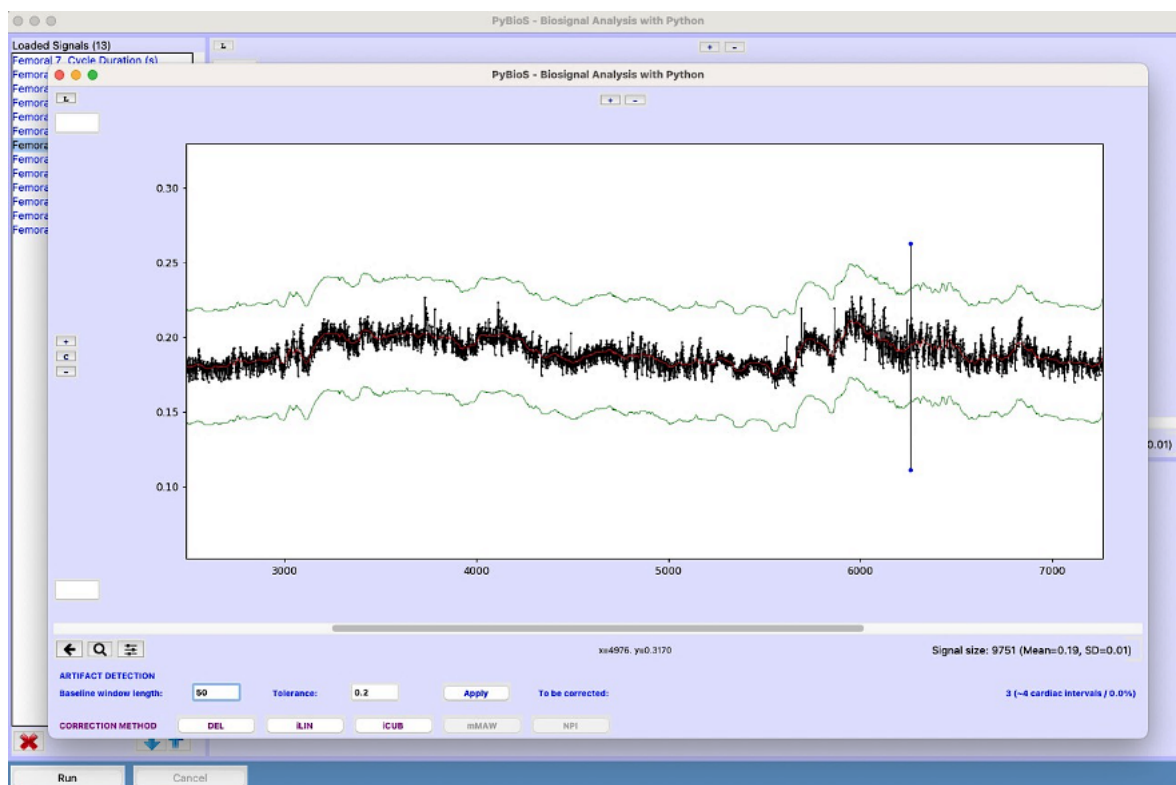
- ECG e PA;
- Índices de VFC e VPA: variabilidade total (domínio do tempo), potência das oscilações de baixa e alta frequência (análise espectral), dinâmica simbólica proposta por Porta e colaboradores (PORTA *et al.*, 2007);
- Sensibilidade e efetividade do barorreflexo arterial espontâneo (método da sequência);
- Avaliação do débito cardíaco pelo ecocardiograma transtorácico: basal e nos últimos 15 minutos para o término da infusão de NPS ou de placebo;
- Variação dos níveis sérios de uréia, creatinina, sódio, potássio e NT-proBNP: basal e 96 horas;
- Variação do peso corporal entre o basal e 96 horas após infusão;
- Volume total de diurese durante a infusão;

- Avaliação de dispneia pela escala visual analógica e escala de Likert de 7 pontos: basal, após 4 horas e 96 horas;
- Avaliação de sintomas psiquiátricos através do inventário de ansiedade de Beck, da escala de depressão de Hamilton: basal, após 4 horas e 96 horas.

3.10. Análise dos dados

Os arquivos com registro do ECG e da PA foram processados em programas computacionais (Blood Pressure e ECG Modules for LabChart, ADInstruments, Dunedin, Nova Zelândia) para geração de séries temporais de valores, batimento a batimento, de intervalo entre sucessivas ondas R (iRR) e valores de PA sistólica. O processo de detecção automático das ondas R do ECG, ou dos valores de PA sistólica, foi acompanhado visualmente e transientes, decorrentes de batimentos prematuros ou artefatos de registro, passam por um processo de correção, usando o programa computacional PyBioS, desenvolvido no Laboratório de Fisiologia Cardiovascular do Departamento de Fisiologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (SILVA, FAZAN JUNIOR, MARIN-NETO, 2020). Este processo consiste em, primeiramente, calcular a linha de base das séries através de uma mediana móvel (tamanho definido pelo usuário). Na sequência, a linha de base é deslocada para cima e para baixo em uma porcentagem (definida pelo usuário) do valor médio da linha de base, formando os limiares superior e inferior de tolerância para valores normais. Então, valores das séries acima do limiar superior, ou abaixo do limiar inferior, foram marcados como artefatos e corrigidos por interpolação linear (figura 3). Séries onde as remoções excedem 3% do número total de valores não foram utilizadas no estudo (SILVA *et al.*, 2017; SOLER, 2018).

Figura 3 - Captura de tela da correção dos artefatos no programa computacional PyBioS.



O gráfico mostra o sinal original (em preto), a curva da linha de base (em vermelho) e os dois limiares de tolerância (em verde). Os pontos da série original qualificados para correção são destacados em azul.

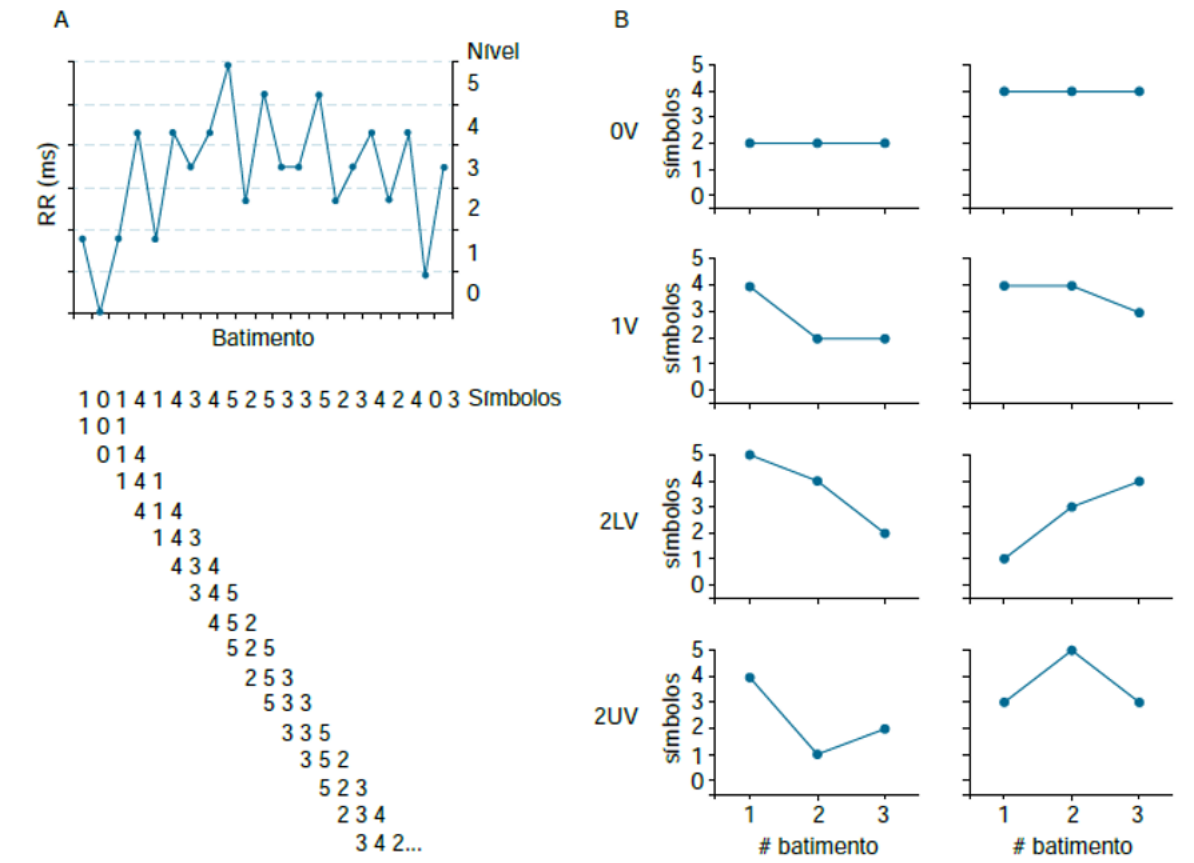
A séries temporais corrigidas foram utilizadas para o cálculo dos parâmetros de interesse da VCF e da VPA. Todos os cálculos foram realizados com auxílio dos programas computacionais de uso livre CardioSeries e PyBioS (SILVA, FAZAN JUNIOR, MARINETO, 2020), desenvolvidos no Laboratório de Fisiologia Cardiovascular do Departamento de Fisiologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo e disponíveis na rede mundial de computadores.

Análise espectral: as séries com valores de RR e PA foram re-amostradas em 3 Hz (1 valor a cada 333 ms) por interpolação cúbica do tipo *spline*, para regularização dos intervalos de tempo entre batimentos. As séries com valores interpolados foram divididas em segmentos com 512 valores cada, com sobreposição de 50% (protocolo de Welch). Cada segmento estacionário teve seu espectro calculado pela Transformada Rápida de Fourier (FFT), após janelamento do tipo *Hanning*. Os espectros de intervalo cardíaco foram integrados em bandas

de baixa (LF: 0,04 a 0,15 Hz) e alta frequência (HF: 0,15 a 0,50 Hz). A média dos valores das potências dos espectros do intervalo cardíaco, em ambas as bandas de frequência (LF e HF) foram utilizadas para expressar a potência das oscilações de LF e HF do espectro de RR e PA para cada indivíduo. A potência relativa (unidades normalizadas) dos espectros RR (mas não da PA) em cada banda de frequência, bem como a razão entre as potências de LF e HF (LF/HF) dos mesmos, foram determinadas.

Análise simbólica: este método, proposto por Porta e colaboradores (PORTA *et al.*, 2007) busca por padrões de alterações entre sucessivos valores iRR, classifica estas alterações em classes e quantifica a ocorrência das mesmas. Para tanto, as séries temporais, batimento a batimento, com valores de RR tiveram os valores máximos e mínimos, as quais contemplarão todo o intervalo de variação dos valores da série temporal. Mantendo a distribuição cronológica original dos valores na série temporal, o programa computacional inspecionará sequências de 3 valores (com sobreposição dos últimos 2 da sequência anterior), em busca de alterações entre as faixas as quais cada valor pertence (figura 4). Quatro diferentes famílias de padrão podem ser identificadas: 0V: padrão sem variação e com símbolos iguais; 1V: padrão com 1 variação, com dois símbolos consecutivos iguais; 2LV: padrão com 2 variações, o segundo e o terceiro símbolos mudam em relação ao anterior com mesmo sinal; 2UV: padrão com 2 variações, o segundo e o terceiro símbolos mudam em relação ao anterior, com sinais opostos. A frequência de ocorrência de cada padrão é analisada e indicada como 0V%, 1V%, 2LV% e 2UV%. Interessam como indicadores da modulação autonômica cardiocirculatória a frequência percentual das variações do tipo 0V (simpática) e 2V (vagal).

Figura 4 - Ilustração do processo de conversão de uma série de intervalos RR em uma série de símbolos (A) e exemplos de seqüências para cada família da análise simbólica (B).



Gráficos ilustrando o processo de análise simbólica: em (A), a faixa total de valores de intervalos RR é dividida em seis níveis, onde em cada nível está associado a um símbolo de 0 a 5. Em seguida, todas as seqüências de três símbolos são criadas a partir da série convertida. Em (B) são ilustradas duas seqüências arbitrárias de cada família de análise simbólica. Fonte: Adaptado de Guzzetti *et al.* 2005 e Porta *et al.* 2007.

Análise do barorreflexo arterial espontâneo pela técnica da seqüência: o método da seqüência, proposto por Di Rienzo e colaboradores (BERTINIERI *et al.*, 1988) baseia-se na relação linear entre rampas de PA, que ocorre espontaneamente, e alterações reflexas na FC.

Esse método utiliza séries temporais com valores, batimento-a-batimento, da PA sistólica e intervalo RR para análise da sensibilidade do barorreflexo (SBR). Assim como quando alterações na PA são induzidas farmacologicamente para avaliação do barorreflexo arterial, o método da seqüência permite a avaliação da SBR identificando aumento ou reduções da PA, mas que ocorrem espontaneamente. Para isso, as séries temporais são

inspecionadas, automaticamente, em busca de sequência com três, ou mais, valores onde existam variações progressivas da PA e do iRR na mesma direção. Quando as sequências de PA sistólica e do iRR apresentam relação linear significativa com $R < 0,8$, elas são consideradas sequências barorreflexas. A mediana dos coeficientes angulares das sequências obtidas em um dado período representa a SBR do período em questão (figura 5).

Figura 5 - Exemplo de cálculo da sensibilidade do barorreflexo pelo método de sequência.

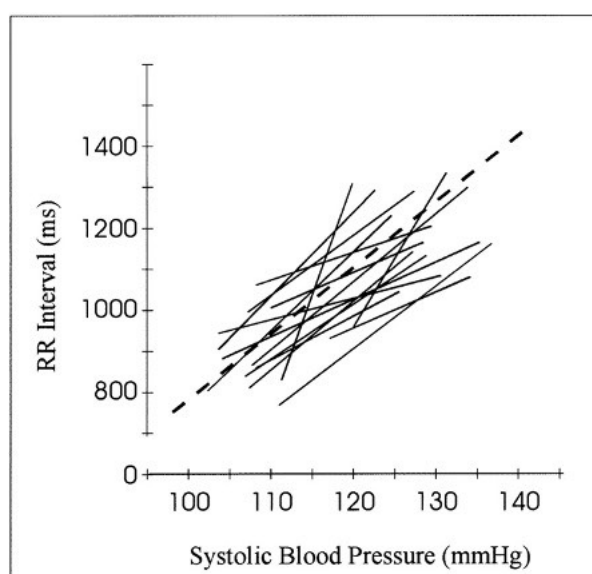


Gráfico ilustrando o processo de análise da SBR espontânea. Cada linha representa a inclinação da regressão de uma sequência na qual os intervalos RR e PA sistólica aumentam ou diminuem simultaneamente. A linha pontilhada é a inclinação média da regressão (SeqBRS). Fonte: Adaptado de Pitzalis *et al.*, 1998.

As alterações do intervalo cardíaco são, realmente, respostas reflexas frente a flutuações espontâneas da PA, uma vez que a denervação dos barorreceptores reduz em quase 90% a quantidade de sequências barorreflexas espontâneas (BERTINIERI *et al.*, 1988). Além disso, numa demonstração de que as oscilações de PA e iRR (sequências barorreflexas) não decorrem do acaso, Blaber e colaboradores (BLABER; YAMAMOTO; HUGHSON, 1995) aplicaram o método da sequência a séries de valores de PA e intervalo cardíaco de indivíduos saudáveis, antes e após “embaralhar” os valores no tempo (*surrogate data*), demonstrando que as sequências barorreflexas foram quase abolidas nas séries *surrogate*. Entretanto, nem sempre rampas (elevações ou quedas), que ocorrem naturalmente entre sucessivos valores de PA correlacionam-se com variações reflexas do intervalo cardíaco. Em humanos, apenas 20 a

30% das rampas de PA geram sequências barorreflexas (DiRIENZO *et al.*, 2001). Desse modo, o método da sequência permite, além do cálculo da SBR, determinar o que conhecemos como efetividade do barorreflexo (BEI: Baroreflex Effectiveness Index), ou seja, a razão entre o número total de rampas de PA e o número de sequências barorreflexas. Um baixo valor de BEI é tido como um preditor de risco de mortalidade independente em pacientes hipertensos e com doença renal crônica (JOHANSSON *et al.*, 2007).

3.11. Análise estatística

Os resultados de variáveis contínuas são apresentados como média \pm desvio padrão da média (ou erro padrão da média), para variáveis com distribuição Gaussiana, ou representados pela mediana e intervalo interquartil para as variáveis com distribuição não Gaussiana. As variáveis nominais foram expressas como frequência absoluta (n) e relativa (%).

O teste de Shapiro-Wilk e Kolmogorov-Smirnov foram empregados para testar-se a distribuição amostral Gaussiana das variáveis. O teste T de Student foi aplicado para comparações das médias entre variáveis paramétricas e o teste de Mann-Whitney para comparação entre variáveis não paramétricas. A análise de variância de 2 vias para medidas repetidas (ANOVA 2-way) foi utilizado para avaliação dos efeitos grupo (veículo e NPS) e tempo (período basal e de infusão ou basal e 96 horas). Quando diferenças foram encontradas, os dados foram comparados pelo pós-teste de Tukey. A distribuição das frequências para variáveis nominais foi testada utilizando-se o teste de Qui-Quadrado.

Estabeleceu-se como nível de significância um valor de $p < 0,05$, bicaudal.

4. RESULTADOS

4.1. Descrição da casuística

Na tabela 1 encontram-se os dados demográficos, clínicos e laboratoriais dos pacientes investigados.

Tabela 1 - Dados demográficos, clínicos e laboratoriais.

Características	Total (n = 16)	NPS (n = 8)	Placebo (n = 8)	
<i>Dados demográficos</i>				
Gênero masculino	10 (62,5%)	6 (75%)	4 (50%)	
Etnia				
Branco	8 (50%)	5 (62,5%)	3 (37,5%)	
Negro	8 (50%)	3 (37,5%)	5 (62,5%)	
Idade (média, DP)	56 ±10	57 ±11	55 ±10	p = 0,6585*
<i>Etiologia - insuficiência cardíaca</i>				
Isquêmico	10 (62,5%)	5 (62,5%)	5 (62,5%)	
Hipertensiva	2 (12,5%)	1 (12,5%)	1 (12,5%)	
Alcoólica	2 (12,5%)	0	2 (25%)	
Cardiotoxicidade	1 (6,25%)	1 (12,5%)	0	
Idiopática	1 (6,25%)	1 (12,5%)	0	
<i>Dados clínicos</i>				
<i>Classe funcional (NYHA)</i>				
II	7 (43,75%)	4 (50%)	3 (37,5%)	
III	9 (56,25%)	4 (50%)	5 (62,5%)	
Peso (Kg) (média, DP)	84,7 ±15,1	85,3 ±16,4	84,1 ±14,7	p = 0,8837*
FC (bpm) (média, DP)	61,8 ±9,45	63,6 ±10	60 ±9,1	p = 0,4620*
PAS (mmHg) (média, DP)	113 ±19,9	114 ±27,2	112 ±10,3	p = 0,85*
PAD (mmHg) (média, DP)	69,1 ±12	70,5 ±15,3	67,6 ±9,7	P = 0,6608*
PAM (mmHg) (média, DP)	83,1 ±14,7	84 ±19,4	82,1 ±9,4	p = 8103*

Características	Total (n = 16)	NPS (n = 8)	Placebo (n = 8)	
<i>Dados ecocardiográficos</i>				
FEVE (%) (média, DP)	26 ± 5,4	25 ± 5,0	28 ± 5,7	p = 0,2618*
DDVE (mm) (média, DP)	64 ± 6,5	64 ± 7,6	65 ± 5,8	p = 0,6767*
Índice cardíaco (L/min/m ²) (média, DP)	2,08 ± 0,49	1,98 ± 0,55	2,18 ± 0,45	p = 0,4408*
<i>Exames bioquímicos</i>				
Hb (g/dL) (média, DP)	13 ± 1,27	12,71 ± 1,44	13,24 ± 1,11	p = 0,4289*
Ht (%) (média, DP)	39,3 ± 3,4	38,5 ± 3,66	40 ± 3,16	p = 0,3958*
Creatinina (mg/dL) (mediana, IQ)	0,85 (0,76-1,47)	0,91 (0,77-1,6)	0,83 (0,71-1,12)	p = 0,5054†
Uréia (mg/dL) (média, DP)	47,6 ± 32	58,85 ± 42,6	36,28 ± 9,6	p = 0,1835*
Sódio (mmol/L) (média, DP)	141 ± 2,76	139,8 ± 2,39	141,5 ± 3,02	p = 0,2464*
Potássio (mmol/L) (mediana, IQ)	4,6 (4,4-4,8)	4,69 (4,4-4,8)	4,43 (4,2-5,0)	p = 0,4634†
Glicemia (mg/dL) (mediana, IQ)	111 (93-136)	96,01 (90-135)	119,5 (96-136)	p = 0,4418†
TSH (μIU/mL) (média, DP)	2,694 ± 1,652	2,771 ± 1,467	2,617 ± 1,919	p = 0,8599*
NT-proBNP (pg/mL) (mediana, IQ)	583 (177-1135)	851,5 (533-2245)	250,5 (101-586)	p = 0,0499†
<i>Comorbidades</i>				
HAS	9 (56,25%)	5 (62,5%)	4 (50%)	
DM2	11 (68,75%)	5 (62,5%)	6 (75%)	
DLP	14 (87,5%)	7 (87,5%)	7 (87,5%)	
IAM	8 (50%)	4 (50%)	4 (50%)	
Hipotireoidismo	2 (12,5%)	1 (12,5%)	1 (12,5%)	
Hipertireoidismo	1 (6,25%)	1 (12,5%)	0	
DPOC	2 (12,5%)	1 (12,5%)	1 (12,5%)	
<i>Medicações</i>				
Beta-bloqueador	16 (100%)	8 (100%)	8 (100%)	
IECA/BRA/ ARNI	16 (100%)	8 (100%)	8 (100%)	
Espironolactona	14 (87,5%)	6 (75%)	8 (100%)	

Características	Total (n = 16)	NPS (n = 8)	Placebo (n = 8)
iSGLT2	2 (12,5%)	0	2 (25%)
Ivabradina	2 (12,5%)	0	2 (25%)
Digoxina	3 (18,75%)	1 (12,5%)	2 (25%)
Furosemida	13 (81,25%)	5 (62,5%)	8 (100%)
Amiodarona	1 (6,25%)	1 (12,5%)	0
Varfarina	4 (25%)	2 (25%)	2 (25%)

NPS = nitroprussiato de sódio; DP = desvio padrão da média; NYHA = New York Heart Association; Kg = Kilograma; FC = frequência cardíaca; bpm = batimentos por minuto; PAS = pressão arterial sistólica, mmHg = milímetros de mercúrio; PAD = pressão arterial diastólica; PAM = pressão arterial média; FEVE = fração de ejeção do ventrículo esquerdo; DDVE = diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo; L/min/m² = litros por minuto por metro quadrado; Hb = hemoglobina; g/dL = gramas por decilitro; Ht = hematócrito; % = porcentagem; mg/dL = miligrama por decilitro; IG = intervalo interquartil; mmol/L = milimol por litro; TSH = hormônio estimulador da tireóide; μ IU/mL = micro Unidades Internacionais por mililitro; NT-proBNP = fragmento N-terminal do peptídeo natriurético tipo B; pg/mL = picogramas por mililitro; HAS = hipertensão arterial sistêmica; DM2 = diabetes mellitus tipo 2; DLP = dislipidemia; IAM = infarto agudo do miocárdio; DPOC = doença pulmonar obstrutiva crônica; IECA = inibidor da enzima conversora da angiotensina; BRA = bloqueador do receptor da angiotensina; ARNI = inibidor da neprilisina e antagonista do receptor da angiotensina; iSGLT2 = inibidor do transportador de sódio e glicose tipo 2

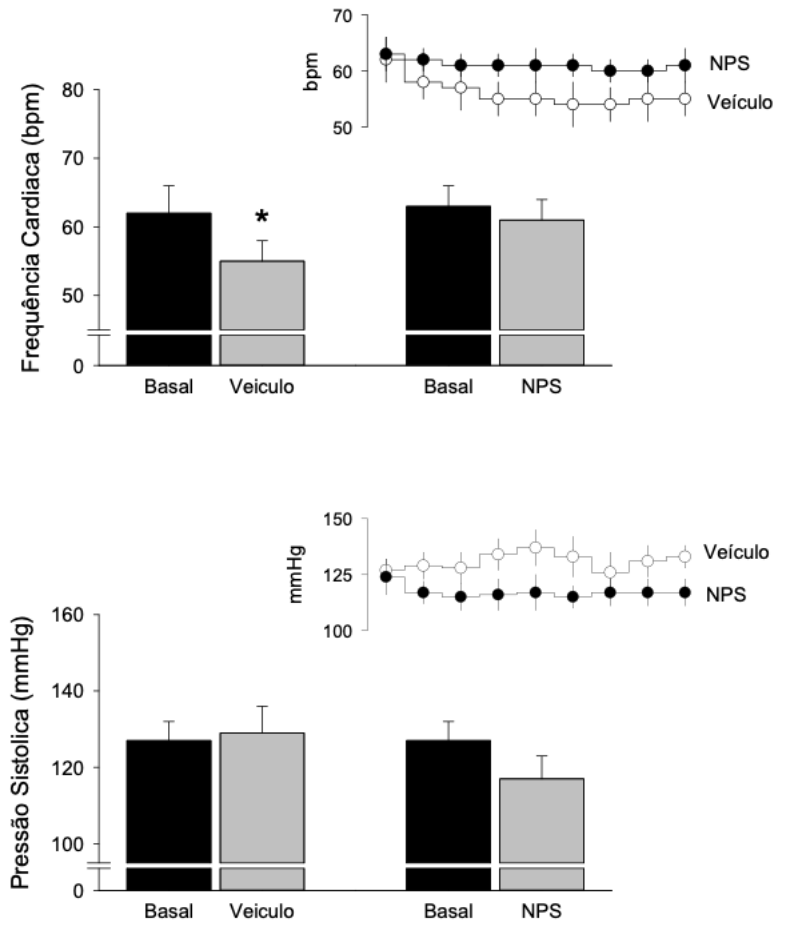
* Teste de Welch. † Teste de Mann-Whitney

4.2. Avaliação do controle autonômico cardíaco

A modulação autonômica cardiovascular foi avaliada, indiretamente, por meio do cálculo de índices de variabilidade das séries de sucessivos intervalos RR, bem como dos valores, batimento-a-batimento, da PA sistólica.

A figura 6 mostra os valores médios da FC e da PA sistólica no período basal (30 minutos), bem como durante as 4 horas de infusão de NPS ou veículo.

Figura 6 - Gráficos de barras com valores (média ± EPM) da FC (painel superior) e da PA sistólica (painel inferior) nos 30 minutos que antecedem (Basal), bem como durante a infusão de NPS ou veículo.

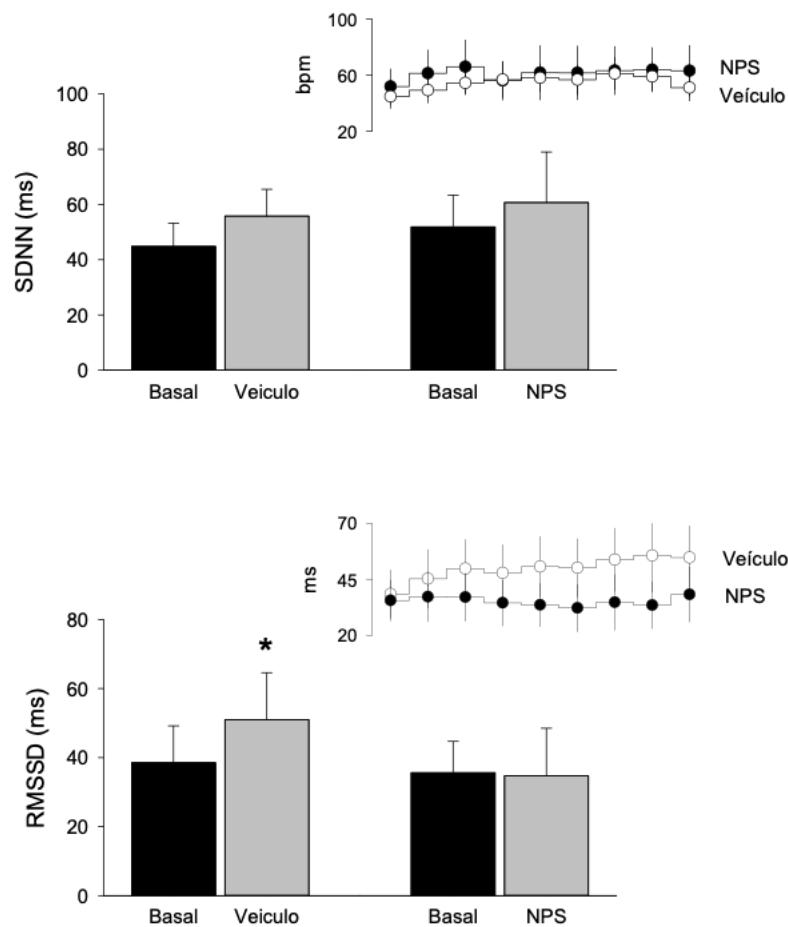


Os gráficos de linha inseridos acima e à direita de cada gráfico de barra mostra os valores da FC (ou da PA) calculados a cada 30 minutos durante os registros. O primeiro valor de cada gráfico mostra os 30 minutos que antecederam as infusões e os valores sucessivos correspondem a cada 30 minutos de infusão, até o final desta. As barras pretas (Basal) correspondem à análise dos 30 minutos que antecederam a infusão. As barras cinzas (Veículo ou NPS) mostram o valor médio do parâmetro durante o período de infusão (4 horas). * $p < 0,05$ comparado ao período basal. EPM = erro padrão da média.

Note que ambos os grupos partiram de valores semelhantes de FC basal, e nos indivíduos do grupo controle houve uma notável bradicardia durante o período de infusão de salina. Entretanto, no grupo que recebeu NPS não houve alteração da FC. A PA basal também foi semelhante entre os grupos e, apesar de uma discreta hipotensão, não significativa, durante a infusão de NPS, não houve alteração da PA durante o período de infusão, que de NPS, quer de salina isotônica.

A figura 7 mostra índices de VFC calculados no domínio tempo no período basal (30 minutos), bem como durante as 4 horas de infusão de NPS ou veículo.

Figura 7 - Gráficos de barra com valores (média \pm EPM) na variabilidade total da FC, representada pelo desvio padrão da média de valores do intervalo RR (SDNN, painel superior) e pela raiz quadrada da média do quadrado de sucessivas diferenças entre intervalos RR (RMSSD, painel inferior) nos 30 minutos que antecedem (Basal) e durante a infusão de NPS ou veículo.



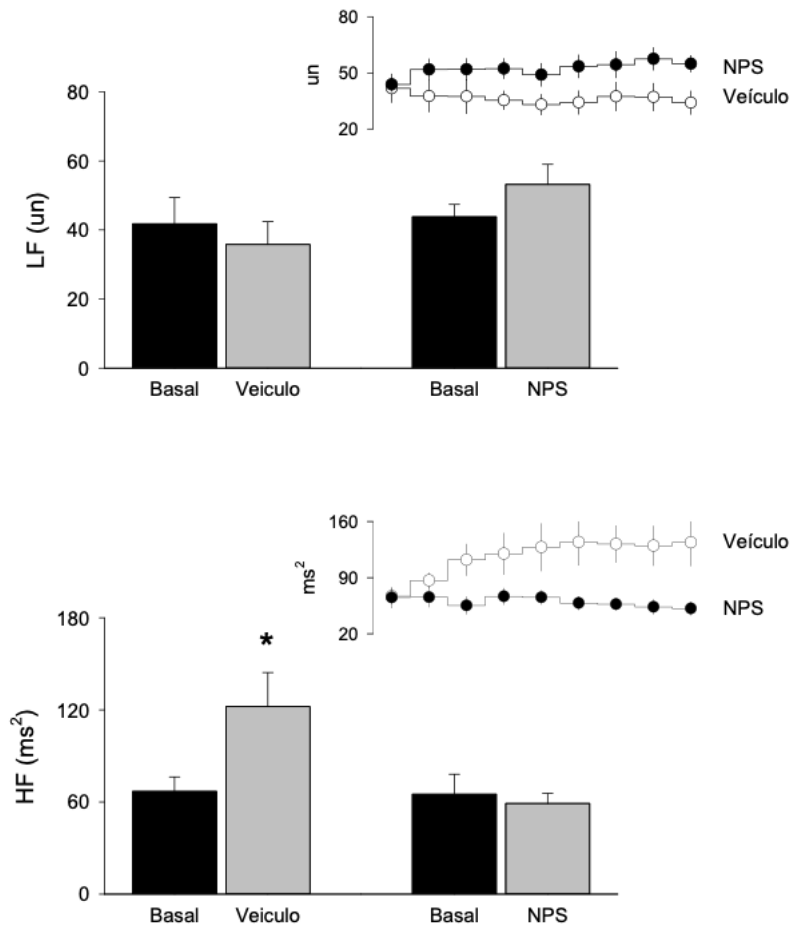
Os gráficos de linha inseridos acima e à direita de cada gráfico de barra mostram os valores do SDNN (ou RMSSD) calculados a cada 30 minutos. O primeiro valor de cada gráfico mostra os 30 minutos que antecederam as infusões e os valores sucessivos correspondem a cada 30 minutos de infusão, até o final desta. As barras pretas (Basal) correspondem à análise dos 30 minutos que antecederam a infusão. As barras cinzas (Veículo ou NPS) mostram o valor médio do parâmetro durante o período de infusão (4 horas). * $p < 0,05$ comparado ao período basal. EPM = erro padrão da média.

Note que os valores de SDNN foram semelhantes entre os grupos (controle e NPS) tanto no período basal, como durante as infusões. A RMSSD, índice que expressa as

diferenças entre sucessivos valores dos intervalos RR, fortemente associado à modulação vagal cardíaca, sofreu um aumento ao longo da infusão de salina (veículo). Entretanto, o aumento da RMSSD não foi observado nos pacientes infundido com NPS.

A figura 8 mostra os índices de VFC calculados no domínio da frequência, por análise espectral, das séries de intervalo RR, no período basal (30 minutos) e durante as 4 horas de infusão de NPS ou veículo.

Figura 8 - Gráficos de barra com valores (média \pm EPM) da potência dos espectros das séries de intervalos RR integrados nas bandas de LF (painel superior) e HF (painel inferior) nos 30 minutos que antecedem (Basal) e durante a infusão de NPS ou veículo.



Os gráficos de linha inseridos acima e à direita de cada gráfico de barra mostram os valores das potências dos espectros da FC em LF, ou HF, calculados a cada 30 minutos. O primeiro valor de cada gráfico mostra os 30 minutos que antecederam as infusões e os valores sucessivos correspondem a cada 30 minutos de infusão, até o final desta. A potência do espectro da FC em LF está expressa em unidades normalizadas, enquanto a banda de HF está expressa em unidades absolutas de potência (ms²). As barras pretas (Basal) correspondem à análise dos 30 minutos que antecederam a infusão. As barras cinzas (Veículo ou NPS) mostram o valor médio do parâmetro durante o período de infusão (4 horas). * $p < 0,05$ comparado ao período basal. EPM = erro padrão da média.

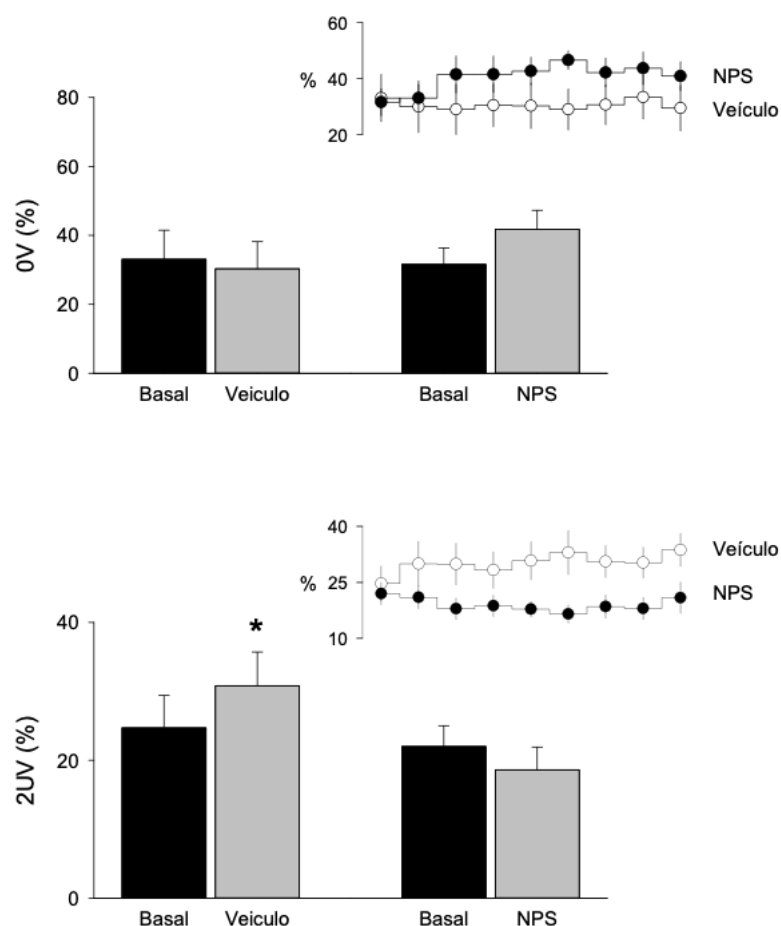
A potência do espectro das séries de intervalo RR na banda de baixa frequência (LF), expressa em unidades normalizadas, índice associado à modulação simpática da atividade cronotrópica do coração, não foi diferente entre os grupos estudados, tanto no período basal dos registros, como durante as infusões de NPS ou veículo.

Por outro lado, a potência da VFC na faixa de alta frequência (HF, uma medida do fenômeno de arritmia sinusal respiratória), que resulta da influência vagal cardíaca, foi

marcadamente aumentada durante a infusão de salina isotônica nos pacientes do grupo controle, mas não naqueles que receberam NPS.

A figura 9 traz os índices de VFC calculados por meio da análise simbólica proposta por Porta e colaboradores (PORTA *et al.*, 2007), no período basal (30 minutos) e durante as 4 horas de infusão de NPS ou veículo.

Figura 9 - Gráficos de barra com valores (média \pm EPM) da porcentagem de ocorrência de seqüências de símbolos tipo 0V (painel superior) e 2UV (painel inferior) nos 30 minutos que antecedem (Basal) e durante a infusão de NPS ou veículo.

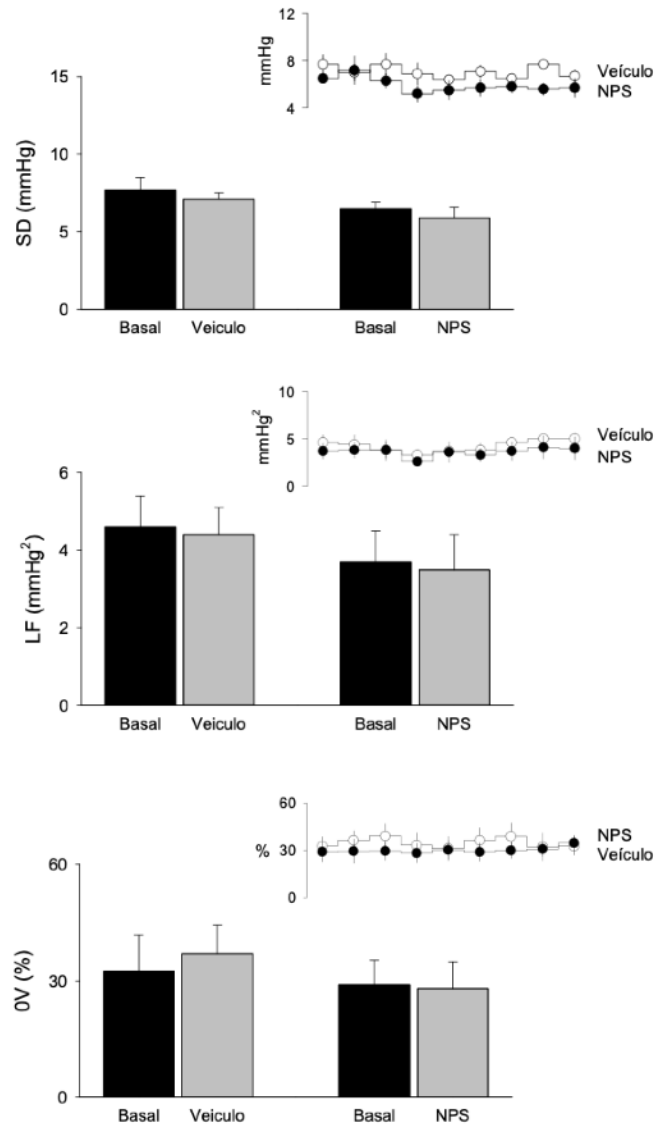


Os gráficos de linha inseridos acima e à direita de cada gráfico de barra mostram os valores da ocorrência de padrões 0V (ou 2UV) calculados a cada 30 minutos. O primeiro valor de cada gráfico mostra os 30 minutos que antecederam as infusões e os valores sucessivos correspondem a cada 30 minutos de infusão, até o final desta. As barras pretas (Basal) correspondem à análise dos 30 minutos que antecederam a infusão. As barras cinzas (Veículo ou NPS) mostram o valor médio do parâmetro durante o período de infusão (4 horas). * $p < 0,05$ comparado ao período basal. EPM = erro padrão da média.

O modelo de análise simbólica utilizado neste estudo, assim como a análise espectral da VFC, tem como objetivo avaliar o efeito modulatório das duas divisões autonômicas (simpático e parassimpático) na atividade cronotrópica cardíaca. Isso se dá, como descrito na metodologia desta técnica, pela simbolização dos valores do intervalo RR e análise dos padrões de variação dos símbolos. A porcentagem de ocorrência de sequências de símbolos sem variações, ou seja, tipo 0V, está associada ao simpático e, como observado na figura 9, não foi diferente entre os grupos nas duas situações avaliadas (basal e durante as infusões). Por outro lado, observamos um aumento significativo na ocorrência de padrões de símbolos com duas variações em direções opostas, ou seja, tipo 2UV, durante a infusão do veículo no pacientes do grupo controle. Padrões tipo 2UV estão fortemente associados à modulação vagal cardíaca e o aumento observado durante a infusão do veículo não ocorreu nos pacientes que receberam NPS.

A figura 10 mostra os índices de variabilidade da PA nos períodos basal (30 minutos) e durante a infusão de NPS ou veículo.

Figura 10 - Gráficos de barra com valores (média \pm EPM) da variabilidade total da PA, batimento-a-batimento, expressa pelo desvio padrão (SD) dos valores de PA sistólica (painel superior), da potência do espectro da PA integrada na banda LF (painel central), e da porcentagem da ocorrência de seqüências de símbolos do tipo 0V (análise simbólica da PA, painel inferior) nos 30 minutos que antecedem (Basal) e durante a infusão de NPS ou veículo.



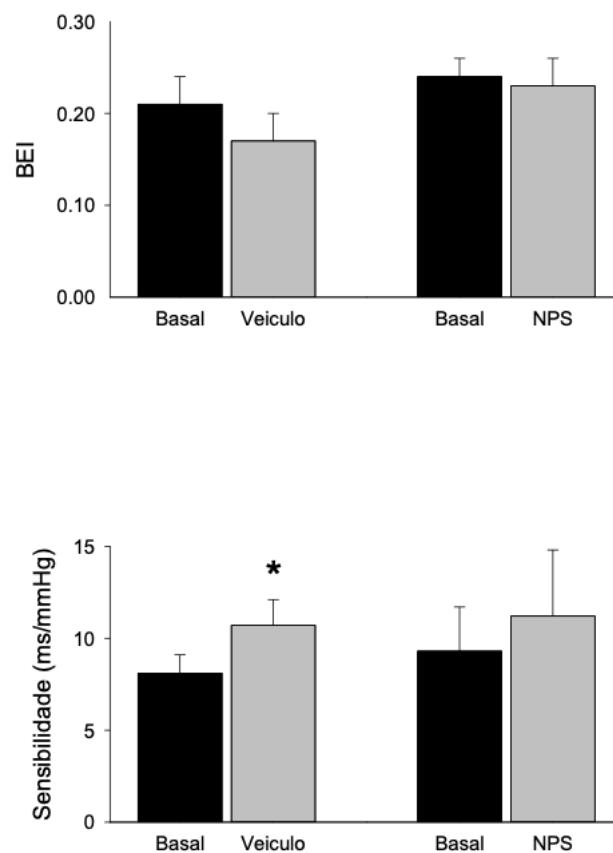
Os gráficos de linha inseridos acima e à direita de cada gráfico de barra mostram os valores do SD, potência da PA em LF e da ocorrência de padrões 0V calculados a cada 30 minutos. O primeiro valor de cada gráfico mostra os 30 minutos que antecederam as infusões e os valores sucessivos correspondem a cada 30 minutos de infusão, até o final destas. As barras pretas (Basal) correspondem à análise dos 30 minutos que antecederam a infusão. As barras cinzas (Veículo ou NPS) mostram o valor médio do parâmetro durante o período de infusão (4 horas). EPM = erro padrão da média.

Como mostra a figura 10, nenhum índice de variabilidade dos valores da PA sistólica, batimento-a-batimento, foi diferente entre pacientes do grupo controle ou que receberam NPS.

A variabilidade total da PA, ou seja, o SD dos valores da PA sistólica, bem como os dois índices relacionados à modulação simpática vascular, ou seja, a potência de espectro de PA na banda de LF e a ocorrência de padrões 0V de símbolos de pressão foram semelhantes entre pacientes dos dois grupos no período basal e não sofreram qualquer modificação pela infusão tanto de salina como de NPS.

A figura 11 mostra os índices calculados para avaliar a sensibilidade barorreflexa espontânea, por meio da técnica da sequência, no período basal (30 minutos) e durante a infusão de NPS ou veículo.

Figura 11 - Gráficos de barra com valores (média \pm EPM) do índice de efetividade (BEI, painel superior) e sensibilidade (painel inferior) do barorreflexo arterial calculados pelo método da sequência nos 30 minutos que antecedem (Basal) e durante a infusão de NPS ou veículo.



As barras pretas (Basal) correspondem à análise dos 30 minutos que antecederam a infusão. As barras cinzas (Veículo ou NPS) mostram o valor médio do parâmetro durante o período de infusão (4 horas). * $p < 0,05$ comparado ao período basal. EPM = erro padrão da média.

O método da sequência, introduzido por Di Rienzo e colaboradores (BERTINIERI *et al.*, 1988), permite a avaliação da função do barorreflexo arterial por meio da relação entre variações espontâneas da PA e respectivas respostas reflexas na FC. O índice de efetividade do barorreflexo (BEI), que expressa a quantidade de rampas espontâneas da PA que efetivamente levam a alterações reflexas do intervalo RR, não foi diferente entre os grupos estudados. Por outro lado, a sensibilidade, ou ganho, do barorreflexo, que mede a relação entre as magnitudes das mudanças na PA e no intervalo RR, foi semelhante entre os grupos no período basal, mas aumentou durante a infusão de salina isotônica nos pacientes do grupo controle. A sensibilidade do barorreflexo não se alterou nos pacientes que receberam NPS.

4.3. Avaliação do volume urinário

Na tabela 2 encontram-se os volumes urinários dos pacientes ao término da infusão de NPS ou solução salina.

Tabela 2 - Volume urinário.

Característica	NPS (n = 8)	Placebo (n = 8)	
Volume urinário (mL) (média, DP)	443,8 ± 295,7	568,8 ± 260,4	p=0,3850*
Volume urinário (mL/ Kg/h) (média, DP)	1,3 ± 0,8	1,8 ± 1	p=0,2792†

NPS = nitroprussiato de sódio; mL= mililitro; DP = desvio padrão da média.

* Teste de Welch. † Teste T não pareado

4.4. Avaliação do nível sérico de NT-proBNP

Não houve diferença na variação do NT-proBNP entre os grupos NPS e placebo quando avaliado pelo tempo ($p = 0,7872$), pela intervenção ($p = 0,3211$) e pela associação tempo e intervenção ($p = 0,2774$).

4.5. Avaliação de manifestações de ansiedade e depressão

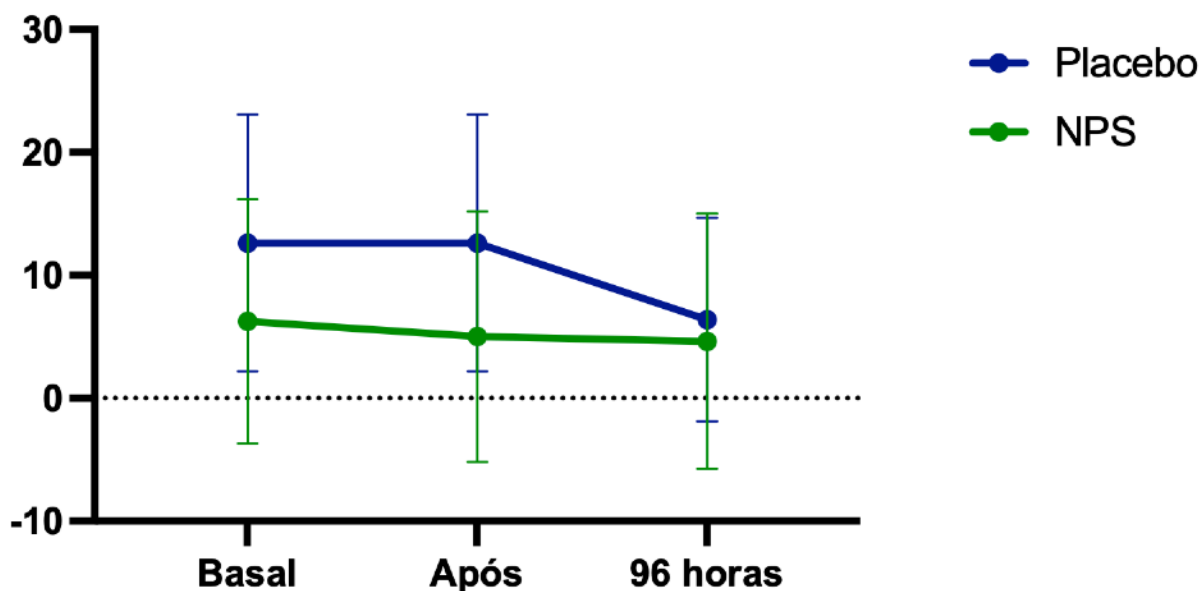
De acordo com o inventário de ansiedade de Beck, a maioria dos pacientes apresentavam ansiedade na categoria mínima a leve em ambos os grupos, sendo que um paciente no grupo NPS apresentava ansiedade moderada e um paciente no grupo placebo

apresentava ansiedade grave. Não houve alteração da pontuação nesta escala durante todo o período de avaliação, mostrando que a infusão de NPS na dose utilizada nesse estudo não foi capaz de melhorar estes sintomas, figura 12.

Em relação aos sintomas de depressão, somente 2 pacientes no grupo NPS foram classificados como episódio depressivo moderado, sendo que os outros 6 pacientes não pontuaram para episódio depressivo. No grupo placebo, um paciente não apresentava episódio depressivo moderado e 4 pacientes apresentavam episódio depressivo leve, sendo que 3 pacientes não pontuaram para episódio depressivo. De forma semelhante ao observado com os sintomas de ansiedade, os valores da escala de depressão de Hamilton não mostraram diferenças entre os grupos em resposta à infusão de NPS ou placebo.

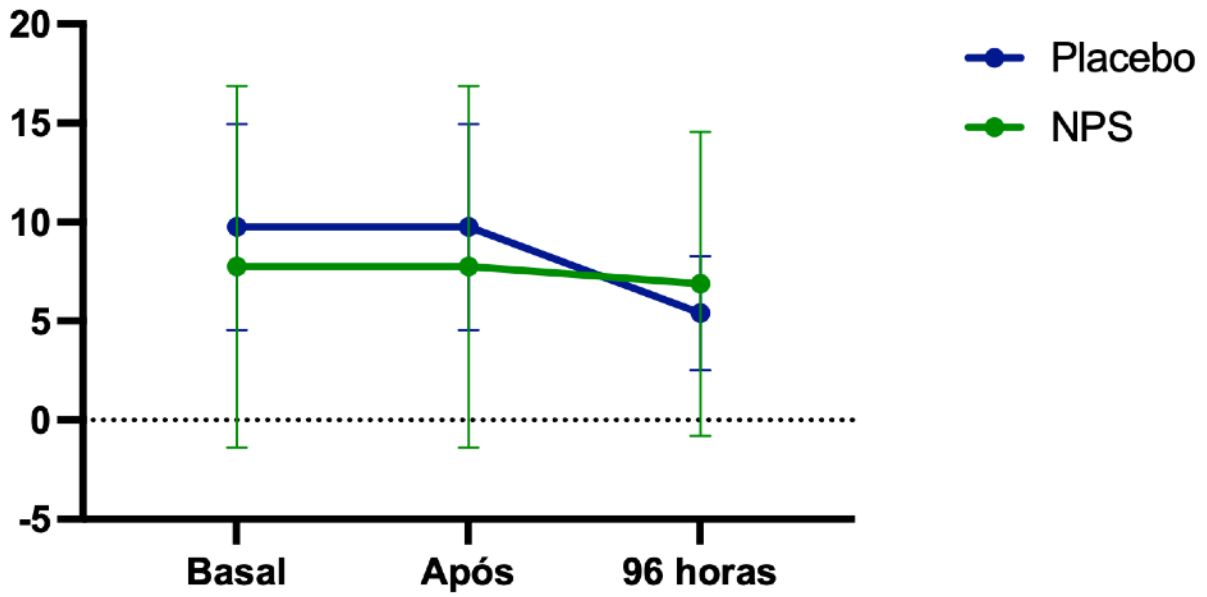
A figura 12 mostra a média dos valores do inventário de ansiedade de Beck na avaliação basal, após o término da infusão de NPS ou solução salina e após 96 horas da infusão da mesma.

Figura 12 - Inventário de ansiedade de Beck.



A figura 13 mostra a média dos valores da Escala de depressão de Hamilton na avaliação basal, após o término da infusão de NPS ou solução salina e após 96 horas da infusão da mesma.

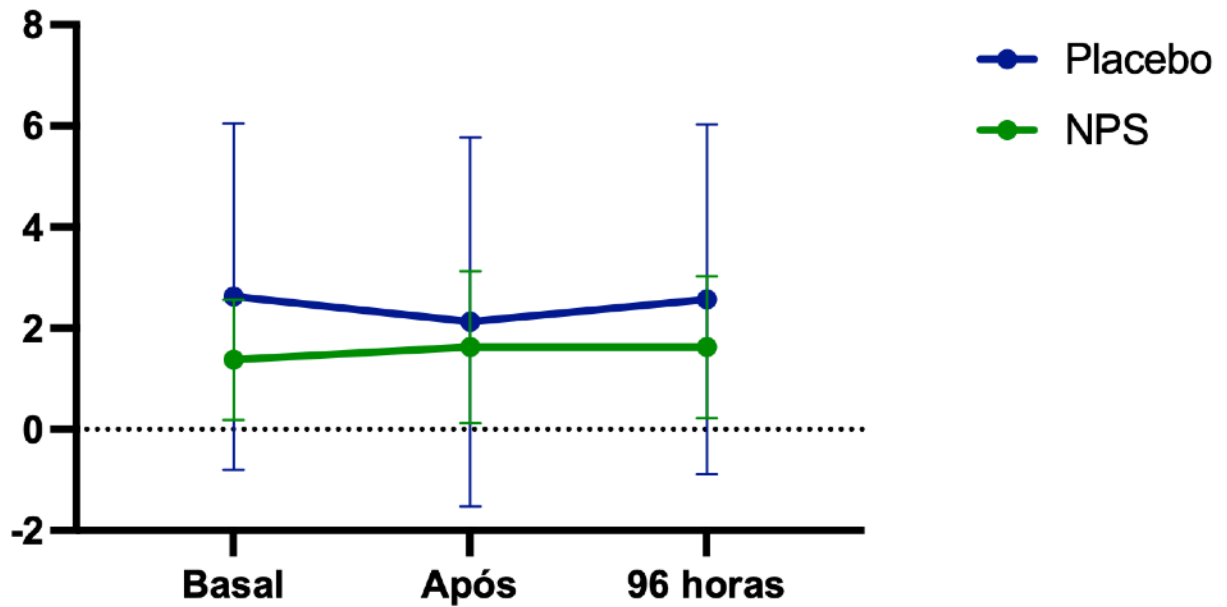
Figura 13 - Escala de depressão de Hamilton.



4.6. Avaliação de dispneia

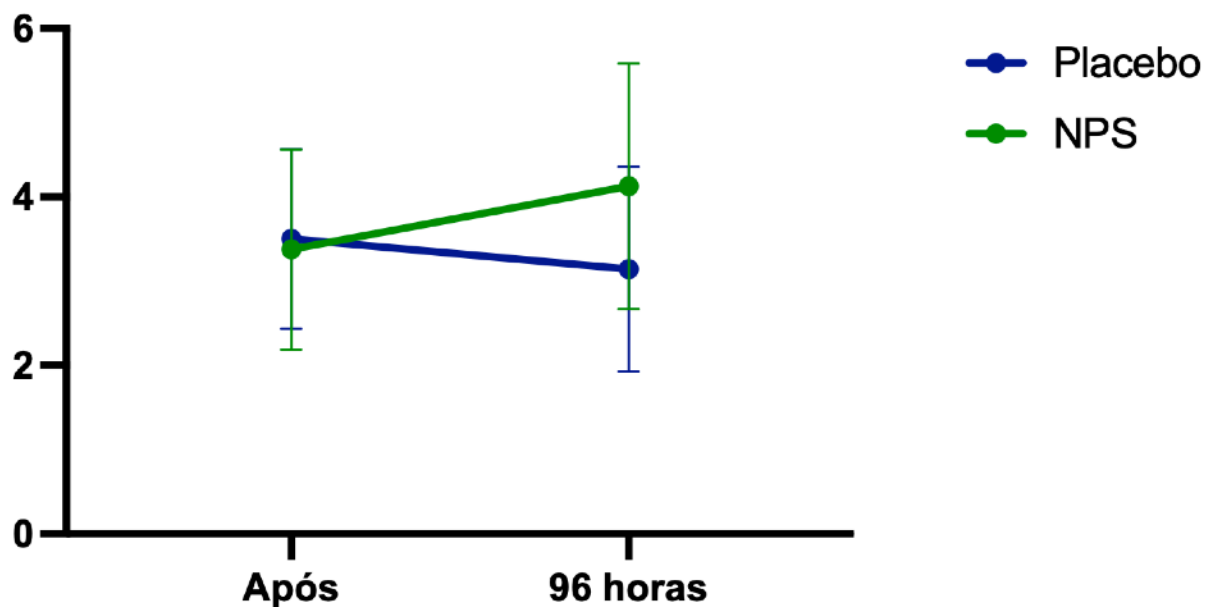
A figura 14 mostra a média da escala visual analógica para dispneia na avaliação basal, após o término da infusão de NPS ou solução salina e após 96 horas da infusão da mesma.

Figura 14 - Escala visual analógica.



A figura 15 apresenta a média da escala de Likert de 7 pontos para dispneia na avaliação basal, após o término da infusão de NPS ou solução salina e após 96 horas da infusão da mesma.

Figura 15 - Escala de Likert de 7 pontos.



4.7. Avaliação do índice cardíaco

O índice cardíaco foi semelhante nos 2 grupos, além de não apresentar variação significativa quando comparado aos índice cardíaco inicial, antes da infusão de NPS ou placebo.

Na tabela 3 encontram-se os valores médios do índice cardíaco dos pacientes ao término da infusão de NPS ou solução salina.

Tabela 3 - Índice cardíaco.

Característica	NPS (n = 8)	Placebo (n = 8)	
Índice cardíaco (L/min/m²) (média, DP)	1,98 ± 0,55	2,18 ± 0,44	p=0,4408*

NPS = nitroprussiato de sódio; L/min/m² = litros por minutos por metro quadrado; DP = desvio padrão da média.

* Teste de Welch

5. DISCUSSÃO

5.1. Considerações sobre a casuística

O presente estudo investigou pacientes com ICFER estáveis, em seguimento ambulatorial, com fenótipo de miocardiopatia dilatada, com presença de sintomas leves a moderados, com proporção de pacientes nas classes funcionais da NYHA II e III semelhante ao que se observa em outros estudos clínicos envolvendo pacientes com ICFER estável ambulatorial.

Chama a atenção que as características principais retratando a gravidade da disfunção cardíaca, como FEVE e o DDVE, foram semelhantes entre os pacientes alocados para o grupo NPS e placebo, refletindo provavelmente um efetivo processo de alocação aleatória dos pacientes nos grupos experimentais. Exceção ocorreu em relação aos valores de NT-ProBNP, biomarcador que reflete simultaneamente o grau de aumento das pressões de enchimento das cavidades cardíacas, e, portanto, a gravidade da disfunção cardíaca, como também estima a intensidade da ativação neurohormonal nos pacientes com IC. Os pacientes alocados para o grupo NPS exibiram valores aumentados em relação àqueles alocados no grupo placebo, sugerindo maior gravidade da síndrome de IC nos primeiros.

Os pacientes em ambos os grupos se encontravam em tratamento medicamentoso regular e otimizado, mas sem uso de vasodilatadores diretos, hidralazina e nitratos.

A associação de hidralazina com dinitrato de isossorbida integra o tratamento da ICFER desde meados da década de 1980, com melhora hemodinâmica promovida pela vasodilatação arteriolar e venosa periférica, associada à redução de mortalidade, principalmente na população afro-americana (COHN *et al.*, 1986; TAYLOR *et al.*, 2004). A hidralazina é um vasodilatador direto arteriolar. Embora o mecanismo de ação não seja completamente compreendido, está associado à homeostase do cálcio intracelular, inibindo a liberação de cálcio do retículo sarcoplasmático das células musculares lisas e a fosforilação da miosina no músculo liso arterial (McCOMB; CHAO; NG, 2016). Isso reduz a resistência vascular periférica e leva a uma liberação compensatória de epinefrina e norepinefrina mediada pelos barorreceptores, aumentando o retorno venoso e o débito cardíaco (McCOMB; CHAO; NG, 2016). O dinitrato de isossorbida é um nitrato que exerce seu efeito farmacológico pela liberação de NO produzido no endotélio vascular. Ele sofre bioativação no

retículo endoplasmático através das enzimas do citocromo P450 para liberar NO, que ativa a enzima guanilil ciclase solúvel nos músculos lisos vasculares (BALASUBRAMANIAN, CHOWDHURY, 2022). Com base nestes mecanismos de ação, que pode envolver aumento da oferta de NO em tecidos, os pacientes em uso da combinação de hidralazina e dinitrato de isossorbida foram excluídos deste estudo.

5.2. Efeitos sobre a hemodinâmica

A infusão de NPS, na dose utilizada no estudo, não causou queda significativa da PA dos pacientes, apesar de ter havido uma pequena hipotensão, que não foi significativa estatisticamente, durante o período de infusão dessa droga. Dessa forma, julgamos que o protocolo de estudo utilizado foi adequado no sentido de empregar uma dose de NPS que não produzisse queda significativa da PA para evitar alterações reflexas da atividade autonômica.

Por outro lado, também não foi observado efeito significativo da infusão de NPS sobre o índice cardíaco, cumprindo novamente a premissa de utilizarmos uma dose de NPS que não se associasse a alterações hemodinâmicas, como aumento do índice cardíaco secundário à vasodilatação arteriolar periférica, que pudesse induzir mudanças reflexas no tônus simpático.

5.3. Sobre os métodos de avaliação do controle autonômico cardíaco

Avaliar a atividade eferente autonômica para os diversos órgãos, entre eles o sistema cardiovascular, não é uma tarefa trivial. As ferramentas disponíveis para avaliação da função autonômica são quase sempre indiretas, de difícil interpretação e não isentas de risco. Mesmo em nível experimental (animais de experimentação), a avaliação dos reflexos cardiovasculares e da atividade autonômica, simpática e parassimpática, é uma tarefa desafiadora. Nesse contexto, em meados dos anos 80, o estudo da variabilidade da frequência cardíaca (VFC), e posteriormente da pressão arterial (VPA), surgem como um valioso instrumento para avaliação da modulação neural da circulação. As últimas décadas testemunharam intensa investigação nesta área, que se tornou uma linha de investigação atrativa e promissora (PAGANI, 1986; MALLIANI, 1991; TASK FORCE, 1996; MALLIANI, 2000). A análise da VFC é uma ferramenta com o grande mérito de ser totalmente não-invasiva, e de fornecer uma resposta global, embora indireta, das condições fisiológicas e clínicas, da modulação autonômica cardíaca (MALLIANI, 1991, 2000).

VFC é o termo utilizado para descrever a variabilidade entre sucessivos valores de intervalo entre batimentos cardíacos, e pode ser analisada no domínio do tempo, da frequência, ou por métodos não-lineares. A análise da VFC no domínio do tempo extrai características estatísticas das séries obtidas a partir de sucessivos valores dos intervalos entre batimentos cardíacos (TASK FORCE, 1996), sendo muito utilizada para quantificação da variabilidade total da FC. Embora seja a maneira mais simples de análise do controle autonômico cardíaco, os índices da VFC e da VPA calculados no domínio do tempo proporcionam sólidas informações sobre o estado do organismo e são importantes preditores de risco em diversas doenças cardíacas e sistêmicas (KLEIGER *et al.*, 1987; TASK FORCE, 1996; MALIK *et al.*, 2017).

A análise da variabilidade cardiovascular no domínio da frequência, cujo método mais conhecido é a análise espectral, baseia-se na identificação e quantificação de ritmos presentes em séries de intervalos entre batimentos cardíacos e/ou da PA pulsátil. As diferenças funcionais entre as duas divisões do sistema nervoso autonômico (simpático e parassimpático) induzem diferentes padrões de variabilidade, os quais podem ser evidenciados quando se avalia a VFC no domínio da frequência (i.e., pelos seus respectivos espectros). Os componentes oscilatórios da VFC são, primariamente, associados à modulação autonômica (vagal e simpática) do coração (TASK FORCE, 1996). No entanto, as influências não autonômicas, como as propriedades das células de marca-passo cardíaco e fatores humorais, foram reconhecidos, mais recentemente, como sendo de grande importância para a gênese da VFC (TASK FORCE, 1996; YANIV; LYASHKOV; LAKATTA, 2014).

O espectro da VFC, ou da VPA, mostra a presença de oscilações desses parâmetros em três faixas de frequências distintas de oscilação: muito lentas (<0,05 Hz) ou de muito baixa frequência (VLF: < 0,05 Hz); lentas, ou de baixa frequência (LF: 0,05 - 0,15 Hz); e rápidas, ou de alta frequência (HF: 0,15 e 0,25 Hz) (TASK FORCE, 1996; PAGANI, 1986; MONTANO, 1994; ZAZA; LOMBARDI, 2001).

Fatores humorais como óxido nítrico, fator natriurético atrial, catecolaminas da adrenal, e, sobretudo, o sistema renina-angiotensina, participam na gênese da variabilidade da FC na banda de VLF. Além disso, existem evidências de que mecanismos neurais reflexos, mediados principalmente pelos barorreceptores arteriais, também participam na modulação dessas oscilações. As oscilações cardiovasculares em LF são uma expressão da modulação

simpática sobre os vasos e o coração (PAGANI, 1986; TASK FORCE, 1996; ZAZA; LOMBARDI, 2001; MAYER, 1876). As oscilações rápidas da FC são, intrinsecamente, ligadas ao ritmo da respiração, e por isso são comumente chamadas de arritmia sinusal respiratória. Esse fenômeno é inteiramente mediado pela inervação vagal cardíaca, sendo um índice, seguro, da modulação parassimpática do coração (MALLIANI, 1991; TASK FORCE, 1996). Já as oscilações rápidas da PA são um reflexo das alterações mecânicas do retorno venoso, impostas pela mecânica respiratória e, portanto, não guardam relação com a modulação autonômica vascular ou cardíaca.

A análise do comportamento linear da variabilidade de parâmetros cardiovasculares fornece informações valiosas sobre a modulação autonômica cardiovascular, sendo, portanto, largamente utilizada, tanto no âmbito clínico como experimental. Porém, estudos mostram que métodos que avaliam características de dinâmicas não lineares da FC também possuem uma enorme relevância. Os métodos de análise não lineares baseiam-se na estrutura complexa dos sinais de variabilidade para extrair deles informações de relevância fisiológica e clínica. Os índices obtidos por meio da análise das características não-lineares da variabilidade da FC e da PA, em sua maioria, não estão associados especificamente à modulação neural cardíaca, mas sim com a “saúde” do sistema cardiovascular como um todo, estando fortemente associados ao risco de eventos cardiovasculares graves (GOLDBERGER, 1996; GOLDBERGER *et al.*, 2000; GUZZETTI *et al.*, 2005; PORTA, 2007; VOSS *et al.*, 2009).

Um método de análise não-linear, idealizado para obtenção de informações sobre a modulação autonômica cardiovascular foi introduzido, mais recentemente, por Porta e colaboradores (PORTA *et al.*, 2007). Esse método baseia-se na simbolização dos valores de intervalo cardíaco, ou de PA, e posterior análise da dinâmica de distribuição dos símbolos. Portanto, ele é conhecido como análise simbólica da VFC. A matemática por trás da análise simbólica é bem diferente da análise espectral, onde nenhuma linearidade é assumida e, portanto, esse método é capaz de quantificar características não lineares existentes no controle autonômico do coração e dos vasos. É importante destacar que a análise simbólica é capaz de identificar alterações não recíprocas na modulação simpática e parassimpática. A idéia de que sempre haverá uma retirada vagal na mesma intensidade em que houver um aumento simpático (ou vice-versa) já foi demonstrada não se aplicar em todas as situações.

Estudos comparando a análise simbólica com a análise espectral mostram, em cenários clínicos (PERSEGUINI *et al.*, 2011; DANTAS *et al.*, 2015) e experimentais (TOBALDINI *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2017) que os índices oriundos da dinâmica simbólica são superiores àqueles obtidos pela análise espectral na determinação do controle autonômico cardiovascular.

Enfim, a variabilidade de sinais cardiovasculares é um assunto dinâmico e novos métodos surgem constantemente. E, está bem estabelecido que nenhum deles é capaz de descrever as características do sistema cardiovascular sozinho, revelando a importância de analisar a variabilidade por diferentes técnicas.

5.4. Resultados da avaliação da modulação cardíaca

O primeiro resultado a ser notado é que na condição basal, todas as variáveis utilizadas para avaliar o controle autonômico cardíaco mostraram valores comparáveis entre os grupos placebo e NPS, novamente sugerindo que os grupos fossem homogêneos em relação à gravidade da cardiopatia e uso de medicamentos para tratamento do IC.

Os pacientes do grupo controle, apresentaram uma pequena, mas significativa redução da FC ao longo da infusão do placebo quando comparada com os valores basais. Efeito que não foi observado no grupo NPS. Como esses pacientes receberam apenas solução salina isotônica, e em volume muito pequeno (em média de 6,3 ml/h em 4 horas, totalizando 25,2 ml em média), insuficiente para induzir aumento da pressão de enchimento que elevasse o débito cardíaco pelo efeito de Frank-Starling, é pouco provável que a infusão propriamente dita tenha determinado qualquer efeito reflexo na sua atividade cronotrópica. Vale lembrar que conceitos modernos mostram que os pacientes com ICFER usualmente “trabalham” numa faixa de relação pressão de enchimento/volume sistólico ventricular esquerdo em rampa descendente ou em plateau, ou seja, em que aumentos da pressão de enchimento ventricular esquerda se associam, na verdade, com queda do volume de ejeção. Esse aspecto contribuiu para reforçar a noção de que a infusão do discreto volume de salina nos pacientes do grupo placebo não tenha causado aumento do índice cardíaco e redução reflexa da FC. Por outro lado, a falta de variação significativa do índice cardíaco nos nossos pacientes, medido de forma não invasiva pelo ecocardiograma, também corrobora essa noção.

Outro aspecto que deve ser levado em conta é o potencial efeito de medicamentos de uso crônico presentes nos pacientes do grupo placebo que possam associar-se a maior

bradicardia em repouso. Chama a atenção que 2 pacientes (25%) do grupo placebo estavam em uso de ivabradina, enquanto nenhum paciente do grupo NPS vinha em uso desse medicamento. A ivabradina é um agente bradicardizante puro, agindo pela inibição da corrente iônica I_f no nó sinusal. Seria possível supor que uma maior bradicardia no grupo placebo pudesse estar associada a esse efeito nos 2 pacientes em uso de ivabradina e assim “contaminando” o resultado de todo o grupo. Contudo, a FC basal foi semelhante entre os dois grupos e o grau de redução da FC nos 2 pacientes em uso de ivabradina (-3,0 bpm) foi numericamente inferior ao observado nos pacientes que não usavam essa medicação (-6,4 bpm). Esse conjunto de observações não indica um efeito significativo da ivabradina que possa ter levado aos resultados obtidos. Dessa forma, julgamos que não seja possível imputar à ivabradina o comportamento observado de redução da FC no grupo placebo.

Dessa forma, nos resta a hipótese de que o longo período de infusão (4 horas), em um ambiente confortável e monótono, pode ter levado à redução da FC por uma situação comportamental favorável de repouso e relaxamento.

Quanto aos índices da VFC, tanto no domínio tempo, como da frequência, bem como aqueles oriundos da análise simbólica (não-linear), observamos alterações nos pacientes do grupo controle durante a infusão de solução salina. Houve aumento da RMSSD, da potência do espectro do intervalo RR na faixa HF (arritmia respiratória), e também na ocorrência de padrões simbólicos tipo 2UV. Esses 3 índices que sofreram aumento durante a infusão do veículo nos pacientes do grupo controle estão fortemente associados à modulação vagal cardíaca. O mesmo comportamento foi observado na avaliação da sensibilidade do barorreflexo espontâneo, que mostrou aumento significativo no grupo placebo. Resultado que se alinha com o observado com os demais resultados da análise da VFC.

A RMSSD reflete a variação do intervalo cardíaco entre batimentos sucessivos, sendo uma medida bastante representativa da modulação vagal cardíaca (SHAFFER; McCRATY; ZERR, 2014). Essa associação entre a modulação parassimpática e altos valores de RMSSD baseia-se nas características da neurotransmissão colinérgica cardíaca. A ligação da acetilcolina aos receptores muscarínicos M2 leva à abertura direta de canais para potássio, sem depender da ação de segundos mensageiros, enquanto a ação noradrenérgica do simpático, por outro lado, depende da ação de segundo mensageiros sendo, portanto, bem mais lenta (STAUSS; PERSSON, 2006). Assim, valores baixos da RMSSD acontecem em

situações de hiperatividade simpática e o contrário ocorre quando o vago é ativado (TASK FORCE, 1996).

Por outro lado, a potência do espectro do intervalo RR na banda de HF (frequência respiratória) é um indicativo sólido da modulação vagal cardíaca (TASK FORCE, 1996; MALLIANI *et al.*, 1991, SHAFFER; McCRATY; ZERR, 2014). Está bem estabelecido que a arritmia sinusal respiratória acontece devido ao acoplamento entre a atividade neural da respiração e eferências cardíacas vagais. O aumento da FC observado durante a inspiração é devido à inibição de neurônios vagais, ocasionada pela atividade de neurônios motores inspiratórios que se projetam para núcleos pré-ganglionares do vago (MACHADO; ZOCCAL; MORAES, 2017).

Por fim, a porcentagem de aparecimento de padrões de símbolos do tipo 2UV na análise simbólica (PORTA *et al.*, 2007) é um marcador não-linear da atividade parassimpática ao coração. A vantagem desse índice em relação à RMSSD e à potência de HF do espectro da VFC está em não considerar a série de intervalos RR como resultado de um sistema linear.

As respostas da FC mediadas pelo barorreflexo arterial às alterações da PA induzidas por drogas estão diminuídas em pacientes com IC. Em um estudo com 19 pacientes com ICFER grave, em CF III ou IV da NYHA, 17 pacientes com IC com fração de ejeção levemente reduzida em CF I ou II da NYHA, e 17 pacientes controles saudáveis, a infusão intravenosa de fenilefrina (estimulador dos barorreceptores) reduziu progressivamente a FC e a atividade nervosa simpática muscular. Já a infusão de NPS promoveu o aumento progressivo da FC e da atividade nervosa simpática muscular. Em comparação aos indivíduos controle, as respostas foram acentuadamente reduzidas em pacientes com ICFER grave, mas também sendo observado um comprometimento importante em pacientes com IC (GRASSI *et al.*, 1995).

Então, considerando o exposto acima, podemos associar a bradicardia observada no grupo controle como decorrente de um aumento da modulação vagal em relação à atividade simpática ao coração. Numa rápida consulta à literatura, encontramos diversos estudos que associam padrões comportamentais relacionados a situações de calma ou tédio à redução da atividade simpática e/ou aumento da atividade vagal cardíaca (DHURI; BODHE; VAIDYA, 2013; BRADT; DILEO; POTVIN, 2013; WARTH *et al.*, 2015). Estudos que avaliaram a VFC em situações de meditação (BLASE; VAN WANING, 2019), em participantes de yoga

(IBARAJ, 2022) ou em indivíduos em tratamento de ansiedade com musicoterapia (WARTH *et al.*, 2015) mostram aumento marcantes em índices da VFC associados à modulação vagal do coração.

Além disso, é bem estabelecido que a atividade parassimpática aumenta durante o sono (BOUDREAU *et al.*, 2013; TOBALDINI *et al.*, 2013) com mudanças dos índices de VFC semelhantes às encontradas no presente estudo. Embora o nosso protocolo experimental não tenha monitorado o estado de sono/vigília dos pacientes avaliados, é bastante provável que durante o longo período de infusão de salina, ou NPS, os indivíduos tenham experimentado períodos de sono.

Dessa forma, podemos considerar que os estudos apresentados acima sustentam a hipótese de que a situação comportamental de relaxamento e repouso que os pacientes foram submetidos podem ser responsáveis pelas alterações na VFC observadas nos pacientes do grupo controle.

Vale ressaltar aqui que os pacientes que receberam NPS estavam também submetidos às mesmas condições ambientais daqueles infundidos com salina. Entretanto, curiosamente, as alterações da FC e da VFC apresentadas pelos pacientes do grupo controle não foram observadas naqueles que receberam NPS.

Assumindo que a bradicardia e as alterações na VFC observadas nos pacientes infundidos com veículo foram oriundas de um aumento da modulação parassimpática, o NPS, por mecanismos não definidos, afetou a modulação autonômica cardíaca no sentido contrário ao esperado, ou seja, não permitindo o aumento da sensibilidade barorreflexa e o aumento do tônus vagal que foi observado no grupo controle.

Apesar da extensa busca na literatura médica não encontramos menção de mecanismo farmacológico ou fisiopatológico que possa explicar esse efeito paradoxal do NPS. É relativamente consensual nos diferentes estudos e revisões sobre o assunto que o NPS deva se associar a efeitos positivos de reduzir o tônus simpático e favorecer o aumento do tônus vagal em pacientes com IC.

Kaye *et al.* demonstraram o poder do NPS em modular indiretamente o SNS. Em pacientes com ICFER grave com pressões pulmonares elevadas em avaliação para transplante cardíaco, a infusão periférica de NPS reduziu a taxa de liberação de norepinefrina cardíaca, confirmando que a distensão de barorreceptores intracardíacos resulta em aumento do impulso

simpático para o coração em falência, fenômeno que pode ser reduzido ou antagonizado pelo efeito do NPS ao reduzir as presões de enchimento cardíacas (KAYE *et al.*, 1998).

Como verificado em estudos em pacientes com esquizofrenia, o NPS é capaz de atravessar a barreira hematoencefálica e repor NO em vias neuronais deficitárias (HALLAK, 2013). Partindo desta premissa e considerando diminuição do efeito simpatoinibitório do NO em vias neuronais em pacientes com IC, hipotetizou-se que a infusão periférica de baixas doses de NPS pudesse associar-se à redução da atividade simpática em pacientes com IC, mediante ação central desta droga em restabelecer a atividade neuronal de vias de transmissão NO-dependentes no SNC, culminando com melhora clínica e psicopatológica. Contudo, os resultados obtidos no presente estudo não corroboraram essa hipótese.

5.5. Avaliação da diurese

A IC está associada a um aumento da atividade simpática eferente generalizada e órgão-específica, com as maiores ações dirigidas para o coração e os rins (HASKING *et al.*, 1986).

O aumento da atividade simpática renal eferente causa liberação de renina, com subsequente ativação do SRAA, levando à elevação da PA, ao aumento da retenção tubular de sódio e à redução do fluxo sanguíneo renal que cursa com redução do débito urinário (BELLO-REUSS; TREVINO; GOTTSCHALK, 1976; KIRCHHEIM; EHMKE; PERSSON, 1989).

Em nosso estudo, esperávamos que a infusão periférica de NPS fosse capaz de modular a atividade simpática a nível central, reduzindo, conseqüentemente, a hiperatividade das vias simpáticas eferentes renais, culminando com aumento do volume de diurese. Entretanto, nossos resultados não confirmaram essa hipótese, uma vez que não houve diferença no volume de diurese apresentado pelos pacientes dos dois grupos, após 4 horas de infusão de NPS ou solução salina. Esses resultados, por outro lado, estão alinhados com os demais resultados da avaliação do controle autonômico cardíaco que também falharam em mostrar efeito favorável do NPS.

5.6. Avaliação dos níveis séricos de NT-proBNP

De forma semelhante ao observado nos demais resultados aqui analisados, a infusão de NPS em dose baixa não mostrou ação expressiva sobre o grau de ativação neuro-humoral, com manutenção dos níveis séricos de NT-proBNP.

Vale lembrar que o aumento dos níveis séricos de NT-proBNP não está relacionado somente com a ativação neuro-humoral, mas fundamentalmente reflete o grau de distensão das fibras miocárdicas causada pelo aumento da pressão de enchimento das cavidades cardíacas (GOETZE; BRUNEAU; RAMOS, *et al.*, 2020). Dessa forma, o efeito neutro do NPS sobre os níveis de NT-proBNP também devem refletir a ausência de efeito hemodinâmico significativo da baixa dose de NPS empregada no nosso estudo.

5.7. Avaliação das manifestações de ansiedade e depressão

Nossos resultados mostram uma prevalência considerável de sintomas de ansiedade e depressão na população estudada, em taxas comparáveis às relatadas em outros estudos da literatura médica.

Nos pacientes com IC, os transtornos de ansiedade e depressão são comuns, com prevalência marcadamente maior do que a população geral (CELANO, *et al.*, 2018). Uma meta-análise com 36 estudos mostrou que 21,5% dos pacientes com IC apresentam sintomas depressivos significantes, com um terço dos pacientes com IC relatando sintomas depressivos em questionários de avaliação e 19% preenchendo critérios para transtorno depressivo (RUTLEDGE, *et al.*, 2006). Essas taxas de prevalência são similares em pacientes hospitalizados e em nível ambulatorial (RUTLEDGE *et al.*, 2006), e são aproximadamente duas a três vezes maiores quando comparadas com a população geral (KESSLER, *et al.*, 2003). Os transtornos de ansiedade também prevalentes nesta população, com 13% dos pacientes com IC preenchendo critérios formais para transtorno de ansiedade e cerca de 30% dos pacientes apresentam níveis elevados de ansiedade (EASTON, *et al.*, 2016).

Nossos resultados não mostraram alteração significativa da pontuação do inventário de ansiedade de Beck durante todo o período de avaliação, mostrando que a infusão de NPS na dose utilizada nesse estudo não foi capaz de melhorar estes sintomas.

O mesmo foi observado na aplicação da escala de depressão de Hamilton. A infusão de NPS na dose pré-estabelecida não foi capaz de melhorar os sintomas de depressão, uma vez

que não houve diferença entre os grupos e não houve alteração das escalas do mesmo paciente ao longo de todo o período de avaliação.

Vale lembrar que nos estudos originais de HALLAK et col., que demonstrou os efeitos benéficos do NPS sobre sintomas psiquiátricos de ansiedade e depressão, a dose utilizada de NPS foi de 0,5 µg/Kg/min, mais elevada do que a utilizada no presente estudo. Portanto é plausível supor que a ausência de efeito significativo sobre sintomas de ansiedade e depressão possam se dever à dose reduzida utilizada. Também é possível supor que a ausência de efeito possa se dever a menor gravidade das manifestações psiquiátricas nos grupos investigados no nosso estudo, não permitindo que se observasse efeito mensurável da intervenção utilizada. Por fim, é plausível também supor que o efeito neutro observada possa indicar que as manifestações de ansiedade e depressão nos pacientes com IC não estejam fisiopatologicamente vinculadas à exaustão de vias neuronais no SNC NO-dependentes.

5.8. Avaliação da melhora de dispneia

Não observamos diferença significativa dos índices de percepção de dispneia pelos pacientes em ambos os grupos. Esses resultados sugerem que não houve efeito hemodinâmico significativo do NPS em reduzir as pressões de enchimento do ventrículo esquerdo, o principal mecanismo associado à congestão pulmonar e dispneia nos pacientes com IC. Esse aspecto também é reforçado pela ausência de efeito do NPS sobre a pressão arterial.

5.9. Avaliação de efeitos adversos

Ao longo deste estudo, verificou-se também a segurança deste protocolo através da avaliação do índice cardíaco no final da infusão. Constatou-se que o índice cardíaco foi semelhante nos 2 grupos, além de não apresentar variação relevante quando comparado aos índice cardíaco inicial, antes da infusão de NPS ou placebo. Além disso, durante todos os procedimentos, não se registrou sinais e sintomas de baixo débito cardíaco ou hipotensão arterial sintomática.

6. CONCLUSÃO

Em pacientes com ICFER estáveis e ambulatoriais, a infusão periférica de NPS em baixa dose, quando comparada ao placebo, apesar de mostrar-se segura, associou-se a efeito paradoxal de impedir o aumento da sensibilidade do barorreflexo e do tônus vagal sobre o controle da FC, efeitos espontâneos observados no grupo controle e induzidos, provavelmente, por condições ambientais favoráveis.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, D.C. *et al.* **I Registro brasileiro de insuficiência cardíaca - aspectos clínicos, qualidade assistencial e desfechos hospitalares (BREATHE).** Arq Bras Cardiol. 2015;104(6):433-442.

AZEVEDO, E.R. *et al.* **Acute effects of angiotensin-converting enzyme inhibition versus angiotensin II receptor blockade on cardiac sympathetic activity in patients with heart failure.** Am J Physiol. 2017;313: R410-R417.

BALASUBRAMANIAN, S.; CHOWDHURY, Y.S. **Isossorbide.** 2022 Jul 3. In: StatPearls [internet]. Treasure Island (FL): StatPearl Publishing; 2022 Jan-. PMID: 3249171.

BELLO-REUSS, E.; TREVIBNO, D.L.; GOTTSCHALK, C.W. **Effect of renal sympathetic nerve stimulation on proximal water and sodium reabsorption.** J Clin Invest. 1976;57(4):1104-1107.

BERTINIERI, G. *et al.* **Evaluation of baroreceptor reflex by blood pressure monitoring in unanesthetized cats.** Am J Physiol. 1988;254 (2 Pt 2): H377-83.

BLABER, A.P.; YAMAMOTO, Y.; HUGHSON, R.L. **Methodology of spontaneous baroreflex relationship assessed by surrogate data analysis.** Am J Physiol. 1995;268: H1682-H1687.

BLANCHET, M. *et al.* **Effects of angiotensin-converting enzyme inhibitor plus irbesartan on maximal and submaximal exercise capacity and neurohumoral activation in patients with congestive heart failure.** Am Heart J. 2005; 149: 938.e1-938.e7.

BLASE, K.L.; VAN WANING, A. **Heart rate variability, cortisol and attention focus during Shamatha Quiescence meditation.** Appl Psychophysiol Biofeedback. 2019; 44(4): 331-342.

BOUDREAU, P. *et al.* **Circadian variation of heart rate variability across sleep stages.** Sleep. 2013; 36(12): 1919-28.

BOZKURT, B. *et al.* **Universal definition and classification of heart failure.** J Card Fail. 2021;27(4): 387-413.

BRADT, J.; DILEO, C.; POTVIN, N. **Music for stress and anxiety reduction in coronary heart disease patients.** Cochrane Database Syst Rev. 2013(12): CD006577.

CELANO, C.M. *et al.* **Depression and anxiety in heart failure: a review.** Harv Rev Psychiatry. 2018 Jul/Aug;26(4): 175-184. doi: 10.1097/HRP.000000000000162.

CIBIS-II Writers. **The cardiac insufficiency bisoprolol study II (CIBIS-II): a randomised trial.** The Lancet. 1999; 353(9146): 9-13.

COHN, J.N. *et al.* **Adverse mortality effect of central sympathetic inhibition with sustained-release moxonidine in patients with heart failure (MOXCON).** Eur J Heart Fail. 2003; 5(5):659-67.

COHN, J. N. *et al.* **A comparison of enalapril with hydralazine-isosorbide dinitrate in the treatment of chronic congestive heart failure.** N Engl J Med. 1991;325: 303-310.

COHN, J. N. *et al.* **Effect of vasodilator therapy on mortality in chronic congestive heart failure.** N Engl J Med. 1986;314: 1547-52.

COMITÊ COORDENADOR DA DIRETRIZ DE INSUFICIÊNCIA CARDÍACA. **Diretriz brasileira de insuficiência cardíaca crônica e aguda.** Arq Bras Cardiol, 2018,111(3): 436-539.

CUNHA, J.A. **Manual da versão em português das escalas de Beck.** São Paulo: Casa do Psicólogo, 2001.

DANTAS, E.M. *et al.* **Comparison between symbolic and spectral analyses of short-term heart rate variability in a subsample of the ELSA-Brasil study.** Physiol Meas. 2015 ;36(10): 2119-34.

DATASUS. **Ministério da Saúde.** Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sim/cnv/obt10uf.def>

DAVIDSOHN, K. **Versuche uber die Wirkung des Nitroprussidnatrium.** Königsber, Prussia: Albertus-Universitat; 1887.

DAVIS, D.; BAILY, R.; ZELIS, R. **Abnormalities in systemic norepinefrine kinetics in human congestive heart failure.** Am J Physiol. 1988; 254(suppl E):760-766.

DIBNER-DUNLAP, M.E. *et al.* **Enalaprilat augments arterial and cardiopulmonary baroreflex control of sympathetic nerve activity in patients with heart failure.** J Am Coll Cardiol. 1996;27: 358-364.

DiRIENZO, M. *et al.* **Baroreflex effectiveness index: an additional measure of baroreflex control of heart rate in daily life.** Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2001 Mar;280(3): R744-51.

DHURI, K.D.; BODHE, P.V.; VAIDYA, A.B. **Shirodhara: A psycho-physiological profile in healthy volunteers.** J Ayurveda Integr Med. 2013; 4(1): 40-4.

EASTON, K. *et al.* **Prevalence and measurement of anxiety in samples of patients with heart failure: meta-analysis.** J Cardiovasc Nurs. 2016;31: 367-79.

FAGERBER, B. *et al.* **Effect of metoprolol CR/XL in chronic heart failure: metoprolol CR/XL randomised intervention trial in congestive heart failure (MERIT-HF).** The Lancet. 1999; 353(9169): 2001-2007.

FRANCIS, G.S.; BENEDICT, C.; JOHNSTONE, D.E. *et al.* **Comparison of neuroendocrine activation in patients with left ventricular dysfunction with and without congestive heart failure.** *Circulation.* 1990; 82:1724-1729.

GOETZE, J.P.; BRUNEAU, B.G.; RAMOS, H.R. *et al.* **Cardiac natriuretic peptides.** *Nat Rev Cardiol.* 2020;17: 698-717.

GOLDBERGER, A.L. **Non-linear dynamics for clinicians: chaos theory, fractals, and complexity at the bedside.** *Lancet.* 1996; 347(9011): 1312-4.

GOLDBERGER, A.L. *et al.* **PhysioBank, PhysioToolkit, and PhysioNet: components of a new research resource for complex physiologic signals.** *Circulation.* 2000; 101(23): E215-20.

GRASSI, G. *et al.* **Effects of chronic ACE-inhibition on sympathetic nerve traffic and baroreflex control of circulation in heart failure.** *Circulation.* 1997;96: 1173-1179.

GRASSI, G. *et al.* **Sympathetic activation and loss of reflex sympathetic control in mild congestive heart failure.** *Circulation.* 1995;92: 3206-3211.

GUSTAFFSSON, F.; HOLESTEIN-TATHLOU, N.H. **Angiotensin II modulates conducted vasoconstriction to norepinephrine and local electrical stimulation in rat mesenteric arterioles.** *Cardiovasc Res.* 1998;44: 176-184.

GUZZETTI, S. *et al.* **Symbolic dynamics of heart rate variability: a probe to investigate cardiac autonomic modulation.** *Circulation.* 2005; 112(4): 465-70.

HALLAK, J.E.C. *et al.* **Rapid improvement of acute Schizophrenia symptoms after intravenous sodium nitroprusside – A randomized, double-blind, placebo-controlled trial.** *JAMA Psychiatry.* 2013.

HAMILTON, M. **A rating scale for depression.** *Journal of neurology, neurosurgery and psychiatry.* 1960;23: 56-62.

HASKING, G.J. *et al.* **Norepinephrine spillover to plasma in patients with congestive heart failure: evidence of increased overall and cardiorenal sympathetic nervous activity.** *Circulation.* 1986; 73(4): 615-621.

HORN, T. *Et al.* **Nitric oxide actions in paraventricular nucleus: cardiovascular and neurochemical implications.** *Am J Physiol.* 1994;266: R306-R313.

IBARAJ, G. *et al.* **Immediate effects of OM Chanting on heart rate variability measures compared between experienced and inexperienced yoga practitioners.** *Int J Yoga.* 2022;15(1): 52-58.

JOHANSSON, M. *et al.* **Baroreflex effectiveness index and baroreflex sensitivity predict all-cause mortality and sudden death in hypertensive patients with chronic renal failure.** *J Hypertens.* 2007;25(1): 163-168.

JOHNSON, C.C. **The actions and toxicity of sodium nitroprusside.** *Arch Int Pharmacodyn Ther.* 1929; 35:489-496.

KAYE, D.M. *et al.* **Differential effect of acute baroreceptor unloading on cardiac and systemic sympathetic tone in congestive heart failure.** *J Am Coll Cardiol.* 1998;31: 583-7.

KASAMA, S. *et al.* **Additive effects of spironolactone and candesartan on cardiac sympathetic nerve activity and left ventricular remodeling in patients with heart failure.** *J Nucl Med.* 2007;48: 1993-2000.

KASAMA, S. *et al.* **Comparative effects of valsartan and enalapril on cardiac sympathetic nerve activity and plasma brain natriuretic peptide in patients with congestive heart failure.** *Heart.* 2006;92: 625-630.

KASAMA, S. *et al.* **Effects of mineral corticoid receptor antagonist spironolactone on cardiac sympathetic nerve activity and prognosis in patients with chronic heart failure.** *Int J Cardiol.* 2013;167: 244-249.

KESSLER, R.C. *et al.* **The epidemiology of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R).** *JAMA.* 2003;289: 3095-105.

KLEIGER, R.E. *et al.* **Decreased heart rate variability and its association with increased mortality after acute myocardial infarction.** *Am J Cardiol.* 1987 Feb 1;59(4): 256-62.

LA ROVERE, M.T. *et al.* **Prognostic implications of baroreflex sensitivity in heart failure patients in the beta-blocking era.** *J Am Coll Cardiol.* 2009;53: 193-9.

KIRCHHEIM, H.; EHMKE, H.; PERSSON, P. **Sympathetic modulation of renal hemodynamics, renin release and sodium excretion.** *Klin Wochenschr.* 1989 Sep 1;67(17): 858-64.

LI, Y.F. *et al.* **Interaction between glutamate and GABA systems in the integration of sympathetic outflow by the paraventricular nucleus of the hypothalamus.** *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2006; 291(6):H2847–H2856.

LI, Y.F.; MAYHAN, W.G.; PATEL, K.P. **NMDA-mediated increase in renal sympathetic nerve discharge within the PVN: role of nitric oxide.** *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2001; 281(6):H2328– H2336.

LIN, C.H.; LANE, H.Y.; TSAI, G.E. **Glutamate signaling in the pathophysiology and therapy of schizophrenia.** *Pharmacol Biochem Behav.* 2012; 100(4):665-677.

LOPASCHUK, G.D.; VERMA, S. **Mechanisms of cardiovascular benefits of sodium glucose co-transporter 2 (SGLT2) inhibitors.** J Am Coll Cardiol Trans Science. 2020;5(6): 632-44.

MACHADO, B.H.; ZOCCAL, D.B.; MORAES, D.J.A. **Neurogenic hypertension and the secrets of respiration.** Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2017 Jun 1;312(6): R864-R872.

MALIK, M. *et al.* **The purpose of heart rate variability measurements.** Clin Auton Res. 2017;27(3): 139-140.

MALLIANI, A. *et al.* **Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain.** Circulation. 1991; 84(2): 482-92.

MALLIANI, A. **Principles of cardiovascular neural regulation in health and disease.** Berlin: Springer Science & Business Media; 2000. 248p.

MANN, D.L. *et al.* **Braunwald's Heart Disease - A textbook of cardiovascular medicine.** 10th edition. Elsevier Saunders, 2015.

MAYER, S. **Studien zur physiologie des herzens und der blutgefäße: 5. Abhandlung: Uber spontane Blutdruck-schwankungen.** Sber Akad Wiss Wien. 1876; 74: 281-307.

McCOMB, M.N.; CHAO, J.Y.; NG, T.M. **Direct vasodilators and sympatholytic agents.** J Cardiovasc Pharmacol Ther. 2016 Jan;21(1): 3-19.

McMURRAY, J.J.V. *et al.* **Angiotensin-Neprilysin inhibition versus enalapril in heart failure.** N Engl J Med. 2014;371: 993-1004.

McMURRAY, J.J.V. *et al.* **Dapagliflozin in patients with heart failure and reduced ejection fraction.** N Engl J Med. 2019;381: 1995-2008.

MILLER, R.R. *et al.* **Clinical use of sodium nitroprusside in chronic ischemic heart disease.** Circulation. 1975 Feb; 51(2): 328-36.

MONTANO, N. *et al.* **A Power spectrum analysis of heart rate variability to assess the changes in sympathovagal balance during graded orthostatic tilt.** Circulation. 1994; 90(4): 1826-31.

MORENO, R.A.; MORENO, D.H. **Guia da entrevista estruturada para a escala para avaliação de depressão de Hamilton.** In: Goresntein, C.; Andrade, L.H.S.G.; Zuardi, A.W., editors. Escala de avaliação clínicas em psiquiatria e psicofarmacologia. São Paulo: Lemos; 2000: 69-75.

MULLENS, W. *et al.* **Sodium nitroprusside for advanced low-output heart failure.** J Am Coll Cardiol. 2008; 52:200-7.

PACKER, M. *et al.* **Cardiovascular and renal outcomes with empagliflozin in heart failure.** N Engl J Med. 2020; 383: 1413-1424.

PACKER, M. *et al.* **Effect of carvedilol on survival in severe chronic heart failure.** N Engl J Med. 2001; 344: 1651-1658.

PACKER, M. *et al.* **The effect of carvedilol on morbidity and mortality in patients with chronic heart failure.** N Engl J Med. 1996; 334: 1349-1355.

PAGANI, M. *et al.* **Power spectral analysis of heart rate and arterial pressure variabilities as a marker of sympatho-vagal interaction in man and conscious dog.** Circ Res. 1986; 59(2): 178- 93.

PATEL, K.P. *et al.* **Decreased gene expression of neuronal nitric oxide synthase in hypothalamus and brainstem of rats in heart failure.** Brain Res. 1996;734: 109-115.

PATEL, K.P. **Role of paraventricular nucleus in mediating sympathetic outflow in heart failure.** Heart Fail Rev. 2000;5: 73-86.

PERSEGUINI, N.M. *et al.* **Spectral and symbolic analysis of the effect of gender and postural change on cardiac autonomic modulation in healthy elderly subjects.** Braz J Med Biol Res. 2011; 44(1): 29-37.

PINTO, B.S.P. *et al.* **Central nervous system circuits modified in heart failure: pathophysiology and therapeutic implications.** Heart Fail Rev. 2014.

PITT, B. *et al.* **The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure.** N Engl J Med. 1999; 341: 709-717.

PITZALIS, M.V. *et al.* **Comparison between noninvasive indices of baroreceptor sensitivity and the phenylephrine method in post-myocardial infarction patients.** Circulation. 1998;97: 1362-1367.

PONIKOWSKI, P.;VOORS, A.A. *et al.* **2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: the task force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failures of the European Society of Cardiology (ESC). Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC.** Eur Heart J. 2016; 37: 2129-2200.

PORTA, A. *et al.* **Assessment of cardiac autonomic modulation during graded head-up tilt by symbolic analysis of heart rate variability.** Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2007; 293(1): H702-8.

RAMCHANDRA, R.; HOOD, S.G.; MAY, C.N. **Central exogenous nitric oxide decreases cardiac sympathetic drive and improves baroreflex control of heart rate in ovine heart failure.** Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2014;307: R271-R280.

RUNDQVIST, B. *et al.* **Increased cardiac adrenergic drive precedes generalized sympathetic activation in human heart failure.** *Circulation*. 1997 Jan 7;95(1): 169-75.

RUTLEDGE, T. *et al.* **Depression in heart failure a meta-analytic review of prevalence, intervention effects, and associations with clinical outcomes.** *J Am Coll Cardiol*. 2006;48: 1527-37.

SHAFFER, F.; McCRAITY, R.; ZERR, C.L. **A healthy heart is not a metronome: an integrative review of the heart's anatomy and heart rate variability.** *Front Psychol*. 2014 Sep 30;5:1040. Doi: 10.3389/fpsyg.2014.01040.

SHARMA, N.M. *et al.* **Nitric oxide inhibits the expression of AT1 receptors in neurons.** *Am J Physiol Cell Physiol*. 2012; 302(8):C1162–C1173.

SILVA, L.E.V. *et al.* **Comparison between spectral analysis and symbolic dynamics for heart rate variability analysis in the rat.** *Sci Rep*. 2017; 7(1): 8428.

SILVA, L.E.V.; FAZAN JUNIOR, R.; MARIN-NETO; J.A. **PyBioS: a freeware computer software for analysis of cardiovascular signals.** *Comput Methods Programs Biomed*. 2020 Dec;197:105781. Doi: 10.1016/j.cmob.2020.105718. Epub 2020 Aug 23.

SOLER, A.I.R. *et al.* **The impact of artifact correction methods of RR series on heart rate variability parameters.** *J Appl Physiol*. 2018;214: 646-652.

STAUSS, H.M.; PERSSON, P.B. **Cardiovascular variability and the autonomic nervous system.** *J Hypertens*. 2006; 24(9): 1902-1904.

SWEDBERG, K., *et al.* **Effects of enalapril on mortality in severe congestive heart failure – Results of the Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study (CONSENSUS).** *N Engl J Med*. 1987;316: 1429-1435.

TASK FORCE. **Heart rate variability: Standards of measurement, physiological interpretation and clinical use.** Task Force of the European Society of Cardiology and North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Circulation*. 1996; 93(5): 1043-65.

TAYLOR, A.L., *et al.* **Combination of isosorbide dinitrate and hydralazine in black with heart failure.** *N Engl J Med*. 2004;351: 2049-57.

TOBALDINI, E. *et al.* **Symbolic analysis detects alterations of cardiac autonomic modulation in congestive heart failure rats.** *Auton Neurosci*. 2009; 150(1-2): 21-6.

TOBALDINI, E. *et al.* **Heart rate variability in normal and pathological sleep.** *Front Physiol*. 2013; 4:294.

TSAO, C. W. *et al.* **Heart disease and stroke statistics - 2022 update: a report from the American Heart Association.** *Circulation*. 2022; 145:e153-e639.

TRIPOSKIADIS, F. *et al.* **The sympathetic nervous system in heart failure. Physiology, pathophysiology, and clinical implications.** J Am Coll Cardiol. 2009;54:1747-62.

VOSS, A. *et al.* **Methods derived from nonlinear dynamics for analyzing heart rate variability.** Philos Trans A Math Phys Eng Sci. 2009 Jan 28;367(1887): 277-96.

WAAGSTEN, F. *Et al.* **Beneficial effects of metoprolol in idiopathic cardiomyopathy.** The Lancet. 1993; 342: 1441-1446.

WARTH, M. *et al.* **Effects of vibroacoustic stimulation in music therapy for palliative care patients: a feasibility study.** BMC Complement Altern Med. 2015; 15(1): 436.

XU, B., LI, H. **Brain mechanisms of sympathetic activation in heart failure: roles of the renin-angiotensin system, nitric oxide and pro-inflammatory cytokines (Review).** Molecular Medicine Reports. 2015;12: 7823-7829.

YANCY, C.W.; JESSUP, M. *et al.* **2017 ACC/AHA/HFSA Focused Update of the 2013 ACCF/AHA Guideline for the Management of Heart Failure. A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association. Task Force on Clinical Practice Guidelines and Heart Failure Society of America. Developed in collaboration with the American Academy of Family Physicians, American College of Chest Physicians, and International Society of Heart Failure and Lung Transplantation.** JACC. 2017;17: 776-803.

YANIV, Y.; LYASHKOV, A.E.; LAKATTA, E.G. **Impaired signaling intrinsic to sinoatrial node pacemaker cells affects heart rate variability during cardiac disease.** J Clin Trials. 2014; 4(1): 152.

YUSUF, S. *et al.* **Effect of enalapril on survival in patients with reduced left ventricular ejection fraction and congestive heart failure.** N Engl J Med. 1991; 325(5): 293-302.

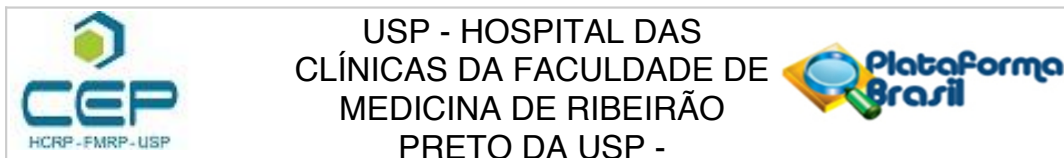
ZAZA, A.; LOMBARDI, F. **Autonomic index based on the analysis of heart rate variability: a view from the sinus node.** Cardiovasc Res. 2001; 50(3): 434-42.

ZHANG, K.; MAYHAN, W.G.; PATEL, K.P. **Nitric oxide within the paraventricular nucleus mediates changes in renal sympathetic nerve activity.** Am J Physiol. 1997;273: R864-R872.

ZHENG, H. *et al.* **Gene transfer of neuronal nitric oxide synthase to the paraventricular nucleus reduces the enhanced glutamatergic tone in rats with chronic heart failure.** Hypertension. 2011; 58(5):966-973.

ANEXOS

ANEXO A - Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: EFEITOS DA INFUSÃO DE NITROPRUSSIATO DE SÓDIO EM BAIXAS DOSES SOBRE A MODULAÇÃO AUTONÔMICA CARDÍACA EM PACIENTES COM INSUFICIÊNCIA CARDÍACA: ESTUDO PILOTO, DUPLO CEGO, CONTROLADO COM

Pesquisador: FLAVIO HENRIQUE VALICELLI

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 24097219.4.0000.5440

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP -

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.711.149

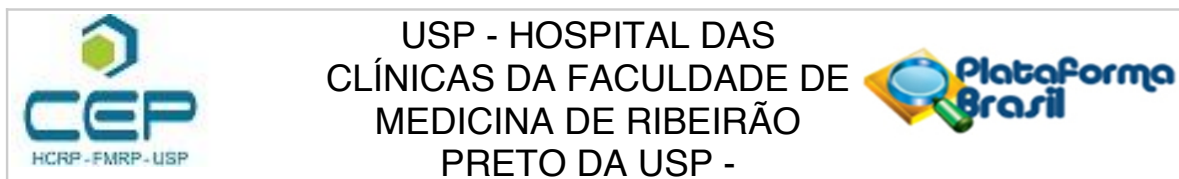
Apresentação do Projeto:

Trata-se do projeto a ser desenvolvido na Divisão de Cardiologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, pelo pós-graduando Flávio Henrique Valicelli, sob orientação do Prof. Dr. Marcus Vinicius Simões, com colaboração do Prof. Dr. Jaime E. C. Hallak e do Prof. Rubens Fazan Júnior. A pesquisa pretende avaliar os efeitos da infusão periférica de NTPS em baixa dose sobre a modulação autonômica cardíaca em pacientes com IC, estáveis, mediante análise da variabilidade da frequência cardíaca (FC), do volume de diurese e da ativação neurohumoral. Trata-se de um estudo piloto, prospectivo, de intervenção farmacológica, de cunho fisiopatológico, em que serão prospectivamente incluídos pacientes ambulatoriais com IC crônica, distribuídos aleatoriamente em 2 grupos experimentais: NTPS (n=15) e Placebo (n=15).

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo principal é avaliar os efeitos da infusão periférica de NTPS em baixa dose sobre a modulação autonômica cardíaca, em pacientes com IC de fração de ejeção reduzida, estáveis. É objetivo secundário avaliar os efeitos da infusão periférica do NTPS sobre as manifestações psiquiátricas de ansiedade e depressão. É objetivo específico investigar se a infusão de NTPS em dose baixa, insuficiente para induzir hipotensão arterial, é capaz de: (a) Modificar o controle

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE **CEP:** 14.048-900
UF: SP **Município:** RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 **Fax:** (16)3633-1144 **E-mail:** cep@hcrp.usp.br



Continuação do Parecer: 3.711.149

autônomo cardíaco, associando-se à redução da FC em repouso e redução do componente simpático sobre o balanço autonômico cardíaco, avaliado mediante análise da variabilidade da FC e da sensibilidade do barorreflexo espontâneo; (b) Reduzir a atividade simpática para os rins, associando-se a aumento do volume da diurese; (c) Reduzir o grau de ativação neuro-humoral associando-se à redução dos níveis séricos de NT-pró-BNP; e (d) Reduzir as manifestações psiquiátricas de ansiedade e de depressão.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Não há riscos à saúde relacionados à anamnese, ao exame físico e à aplicação dos questionários. A venóclise periférica poderá causar leve dor ou desconforto e pequeno sangramento, que pode ser facilmente controlado, sem riscos à saúde.

Benefícios:

Os pesquisadores alegam que a participação na pesquisa oportuniza um seguimento com a equipe médica mais próximo, contribuindo com o entendimento sobre a insuficiência cardíaca, facilitando o cuidado e a adesão ao tratamento e, dessa forma, contribuindo com uma melhor evolução.

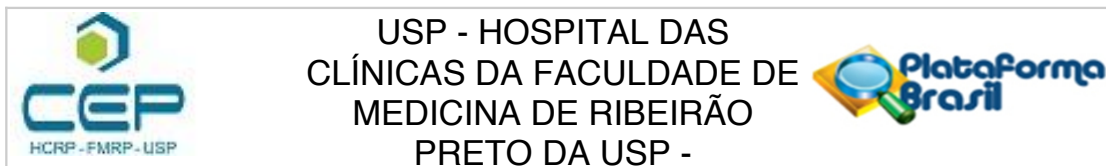
Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Serão investigados pacientes ambulatoriais portadores de IC crônica com fração de ejeção reduzida (FEVE abaixo de 40%), clinicamente estáveis (sem internação hospitalar nos últimos 3 meses ou progressão de classe sintomas/classe funcional), sintomáticos em CF II-III da NYHA, com fenótipo clínico de cardiomiopatia dilatada de diversas etiologias, incluindo quadros primários (cardiomiopatia dilatada idiopática) ou secundários (e.g. isquêmica, hipertensiva), em ritmo sinusal, sem uso crônico ou atual de hidralazina/nitrato.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os pesquisadores encaminham os seguintes documentos: Folha de Rosto, orçamento e sua aprovação pela unidade de pesquisa clínica local, Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Recomenda-se a aprovação do projeto de pesquisa e a versão atual do correspondente TCLE.

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE **CEP:** 14.048-900
UF: SP **Município:** RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 **Fax:** (16)3633-1144 **E-mail:** cep@hcrp.usp.br



Continuação do Parecer: 3.711.149

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Diante do exposto e à luz da Resolução CNS 466/2012, o projeto de pesquisa, assim como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido Versão 4.0 de 11 de novembro de 2019, podem ser enquadrados na categoria APROVADO.

Considerações Finais a critério do CEP:

Projeto Aprovado: Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP, relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final ao término do trabalho. Qualquer modificação do projeto original deve ser apresentada a este CEP em nova versão, de forma objetiva e com justificativas, para nova apreciação.

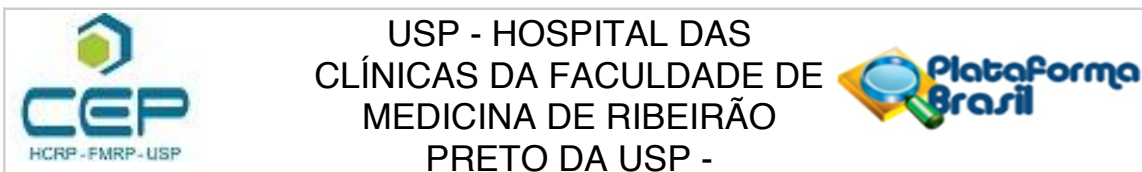
Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_1432383.pdf	12/11/2019 09:38:01		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_Consentimento_Livre_e_Esclarecido_V4_0.pdf	11/11/2019 22:50:13	FLAVIO HENRIQUE VALICELLI	Aceito
Outros	CARTA_AO_CEP.pdf	09/11/2019 08:55:20	FLAVIO HENRIQUE VALICELLI	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_Consentimento_Livre_e_Esclarecido.pdf	23/10/2019 15:48:54	FLAVIO HENRIQUE VALICELLI	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto.pdf	23/10/2019 15:45:05	FLAVIO HENRIQUE VALICELLI	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_Mestrado.pdf	16/10/2019 22:58:49	FLAVIO HENRIQUE VALICELLI	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Aprovacao_UPC.pdf	16/10/2019 22:57:28	FLAVIO HENRIQUE VALICELLI	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
 Bairro: MONTE ALEGRE CEP: 14.048-900
 UF: SP Município: RIBEIRAO PRETO
 Telefone: (16)3602-2228 Fax: (16)3633-1144 E-mail: cep@hcrp.usp.br



Continuação do Parecer: 3.711.149

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIBEIRAO PRETO, 18 de Novembro de 2019

Assinado por:
MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
(Coordenador(a))

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE **CEP:** 14.048-900
UF: SP **Município:** RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 **Fax:** (16)3633-1144 **E-mail:** cep@hcrp.usp.br

ANEXO B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



Universidade de São Paulo
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da pesquisa: **Efeitos da infusão de nitroprussiato de sódio em baixas doses sobre a atividade simpática cardíaca em pacientes com insuficiência cardíaca: estudo piloto, duplo cego, controlado com placebo.**

Pesquisador: Flávio Henrique Valicelli; flaviovalicelli@hotmail.com; (16) 99726-2539.

Orientador: Prof. Dr. Marcus Vinicius Simões.

Instituição: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP. Av. Bandeirantes, 3900, Monte Alegre, Ribeirão Preto – SP.

Nós, FLÁVIO HENRIQUE VALICELLI, Prof. Dr. MARCUS VINÍCIUS SIMÕES, Prof. Dr. JAIME E.C. HALLAK e Prof. RUBENS FAZAN JÚNIOR, convidamos o(a) Sr(a) a participar da pesquisa que estamos desenvolvendo, com o objetivo de avaliar os efeitos da infusão periférica de nitroprussiato de sódio (NTPS) em baixas doses sobre a modulação autonômica cardíaca e sobre a ativação neuro-humoral em paciente com insuficiência cardíaca com fração de ejeção reduzida (ICFER).

O(a) Sr(a) está sendo convidado para esta pesquisa, inicialmente, por ser portador de insuficiência cardíaca, ou seja, seu coração está com uma força de bombeamento de sangue reduzida e isso acarreta uma série de alterações no seu organismo, além de causar cansaço, fadiga e falta de ar. Entre essas alterações, a insuficiência cardíaca causa mudanças na forma como o seu sistema nervoso controla a função do coração e dos vasos sanguíneos. Acredita-se que essas alterações possam ser reduzidas ou controladas com emprego de medicamentos, como o nitroprussiato de sódio, que agem no sistema nervoso recuperando a função de certos núcleos nervosos que estão funcionando mal no cérebro. Por isso, tivemos a iniciativa de testar o uso deste medicamento, e verificar se há efeitos positivos ou benefícios, em pacientes com insuficiência cardíaca, semelhante ao seu caso.

Para alcançar este objetivo, o(a) Sr(a) será submetido à avaliação clínica composta de anamnese (entrevista), exame físico, 3 questionários e coleta de exames laboratoriais antes da realização da infusão do medicamento. A anamnese e exame físico serão realizados por um médico e irá abranger uma avaliação de falta de ar através de uma escala visual analógica e escala de Likert de 7 pontos, da capacidade funcional definida pela *New York Heart Association*, e por um outro método denominado *Specific Activity Scale* contendo perguntas sobre os possíveis sintomas que o(a) Sr(a) apresenta para realizar as atividades diárias habituais, e avaliação de sinais de descompensação aguda de insuficiência cardíaca e outras doenças. Três questionários serão aplicados por um médico psiquiatra. O primeiro questionário irá abranger uma avaliação de sintomas de ansiedade (inventário de ansiedade de Beck), o segundo questionário abordará sintomas de depressão (escala de depressão de Hamilton) e o terceiro avaliará sintomas de mania (escala de mania de Young). A seguir, o(a) Sr(a) será submetido à punção de veia periférica (venóclise) em um dos braços por uma enfermeira da Divisão de Cardiologia e serão coletados os seguintes exames laboratoriais: ureia, creatinina, sódio, potássio e dosagens de níveis séricos de NT-Pro-BNP. Todo este processo de avaliação clínica e aplicação dos questionários acarretará em um breve prolongamento de sua estadia no hospital (entre 20 e 30 minutos), sem ocasionar dor ou desconforto. Não há riscos à saúde relacionados à anamnese, ao exame físico e à aplicação destes questionários. A venóclise periférica poderá causar leve dor ou desconforto e pequeno sangramento, que pode ser facilmente controlado, e sem riscos à saúde.

Após a realização desta avaliação inicial, o(a) Sr(a) será orientado a esvaziar a bexiga para que se possa aferir o volume urinário produzido durante a intervenção, de forma padronizada. A seguir, o(a) Sr(a) será orientado a deitar-se na mesa de exame do Laboratório de Fisiologia do Exercício, da Divisão de Cardiologia, serão colocados eletrodos para registro contínuo eletrocardiográfico (ECG), e colocação de manguito pneumático/sensor em extremidade de dedo da mão adequado para monitorização contínua da pressão arterial (PA) por método fotoplestimográfico (Finapres). Em seguida, serão coletados os registros basais por 30 minutos e após será iniciada a infusão de NTPS na dose de 0,25 mcg/kg/min por 4 horas ou igual volume e taxa de infusão de solução salina 0,9%, em veia periférica. Registro contínuo do ECG e da PA física persistirão durante todo o período de infusão (4 horas) e por 30 minutos adicionais após terminada a infusão. Durante estes 30 minutos, os inventários de ansiedade de Beck, a escala de depressão de Hamilton e a escala de mania de Young serão aplicadas novamente por um médico psiquiatra. Após o término do período de registro de 30 minutos após o término da infusão de NTPS/placebo, a punção de veia periférica em braço será retirada e o(a) Sr(a) deverá esvaziar novamente a bexiga, com medida do volume urinário produzido ao longo do experimento (5 horas de duração).

O NTPS é um potente vasodilatador. Seu efeito sobre os vasos sanguíneos começa imediatamente após o início da infusão, é fácil de ser controlado e cessa logo depois do término da infusão. Trata-se de um pró-fármaco que

é rapidamente metabolizado a óxido nítrico e cianeto pelo fígado, não causa arritmias cardíacas, não cria alterações eletrolíticas significativas e raramente é tóxico (doses superiores a 2 mcg/kg/min). A dose inicial de uso na prática clínica é de 0,5 mcg/kg/min. Nesta pesquisa, a dose utilizada durante todo o período de infusão será de 0,25 mcg/kg/min, ou seja, 50% menor, metade do que a dose mínima utilizada, diminuindo, assim, a incidência de efeitos adversos. As queixas mais comuns com o NTPS são náusea, desconforto abdominal e alterações no humor, mas considerando a dose baixa a ser utilizada, a chance de que esses desconfortos aconteçam é muito pequena. O risco de hipotensão arterial, tanto sintomática quanto assintomática, e de baixo débito cardíaco levando a perda transitória da consciência estão minimizados devido à baixa dose utilizada. Esses dados configuram critérios de segurança para este estudo e baixos índices de efeitos adversos.

Após 96 horas (4 dias) da intervenção, o(a) Sr(a) será submetido a nova avaliação clínica composta de anamnese (entrevista), exame físico e coleta de exames laboratoriais. Novamente, a anamnese e exame físico serão realizados por um médico e irá abranger uma avaliação da capacidade funcional e perguntas sobre os possíveis sintomas que o(a) Sr(a) apresenta para realizar as atividades diárias habituais, semelhantes à avaliação inicial. A seguir, o(a) Sr(a) será submetido à punção de veia periférica (venóclise) em um dos braços por uma enfermeira da Divisão de Cardiologia e serão coletados os seguintes exames laboratoriais: ureia, creatinina, sódio, potássio e dosagens de níveis séricos de NT-Pro-BNP. Todo este processo de avaliação clínica e coleta de exames acarretarão em um breve prolongamento de sua estadia no hospital (entre 20 e 30 minutos). Não há riscos à saúde relacionados à anamnese, ao exame físico e à aplicação destes questionários. A venóclise periférica poderá causar leve dor ou desconforto e pequeno sangramento, que pode ser facilmente controlado, sem riscos à saúde. Após o término desta segunda avaliação, o(a) Sr(a) será liberado.

Não será necessário jejum. O(a) Sr(a) deverá manter o uso das medicações habituais, inclusive na manhã do dia do estudo.

Os dados coletados serão analisados estatisticamente.

Não há risco de possível quebra de sigilo e confidencialidade dos dados.

Caso o(a) Sr(a) aceite participar, o(a) Sr(a) será beneficiado, pois terá um seguimento com a equipe médica mais próximo, contribuindo com o seu entendimento sobre a insuficiência cardíaca, facilitando o cuidado e a adesão ao tratamento e, dessa forma, contribuindo com uma melhor evolução. Além disso, com a sua participação, o(a) Sr(a) estará contribuindo para o entendimento mais profundo desta doença, dos seus mecanismos de ação e para a descoberta de uma nova maneira de avaliar e tratar de forma precisa e correta os pacientes com insuficiência cardíaca, algo que poderá beneficiar tanto o(a) Sr(a) como muitos outros pacientes com esta doença.

Uma vez concordando em participar da pesquisa o(a) Sr(a) deverá assinar este termo em duas (2) vias idênticas – uma que lhe será entregue e outra ficará com o pesquisador responsável.

Se depois de consentir sua participação o(a) Sr(a) desistir de continuar participando, tem o direito e a liberdade de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa independente do motivo e sem nenhum prejuízo a sua pessoa.

Caso o(a) Sr(a) não aceite participar não haverá penalização ou prejuízo ao seu cuidado. O(a) Sr(a) não terá nenhuma despesa e também não receberá nenhuma remuneração ou ressarcimento pela participação.

Os resultados da pesquisa serão analisados e poderão ser publicados em eventos científicos e periódicos, mas sua identidade não será divulgada, sendo guardada em sigilo. O(a) Sr(a) terá o direito a receber esclarecimentos a qualquer momento e acesso aos resultados da pesquisa.

Um Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) é composto por um grupo de pessoas que são responsáveis por supervisionarem pesquisas em seres humanos que são realizadas na instituição e tem a função de proteger e garantir os direitos, a segurança e o bem-estar de todos os participantes de pesquisa que se voluntariam a participar da mesma. O CEP do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto é localizado no subsolo do hospital e funciona de segunda a sexta-feira, das 8:00 às 17:00hs, telefone de contato (016) 3602-2228.

Nome do participante: _____

Assinatura: _____ **Data:** ____/____/____

Nome do pesquisador: _____

Assinatura: _____ **Data:** ____/____/____

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
Versão 4.0 de 11 de novembro de 2019

Rúbrica do Participante/Responsável: _____
Rúbrica do Pesquisador: _____