



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA

CLÁUDIA REGINA DA SILVA ARAÚJO

**FUNÇÃO ENDOTELIAL, RIGIDEZ ARTERIAL E VARIABILIDADE DA
FREQUÊNCIA CARDÍACA DE ADULTOS COM DOENÇAS
CARDIOVASCULARES HOSPITALIZADOS PELA COVID-19**

Recife
2022

CLÁUDIA REGINA DA SILVA ARAÚJO

**FUNÇÃO ENDOTELIAL, RIGIDEZ ARTERIAL E VARIABILIDADE DA
FREQUÊNCIA CARDÍACA DE ADULTOS COM DOENÇAS
CARDIOVASCULARES HOSPITALIZADOS PELA COVID-19**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Fisioterapia.

Área de concentração: Fisioterapia na atenção à Saúde - Desempenho físico-funcional e qualidade de vida

Orientador (a): Daniella Cunha Brandão

Coorientador (a): Armèle de Fátima Dornelas de Andrade

Juliana Fernandes de Souza Barbosa

Recife

2022

A663f Araújo, Cláudia Regina da Silva
Função endotelial, rigidez arterial e variabilidade da frequência cardíaca de adultos com doenças cardiovasculares hospitalizados pela COVID-19 / Cláudia Regina da Silva Araújo. - 2022.
109 f. : il.

Orientadora: Daniella Cunha Brandão.
Coorientadora: Armêle de Fátima Dornelas de Andrade.
Coorientadora: Juliana Fernandes de Souza Barbosa.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências da Saúde. Programa de pós-graduação em Fisioterapia. Recife, 2022.
Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Endotélio. 2. Rigidez arterial. 3. COVID-19. 4. Doença cardiovascular. I. Brandão, Daniella Cunha (orientadora). II. Andrade, Armêle de Fátima Dornelas de (coorientadora). III. Barbosa, Juliana Fernandes de Souza. (coorientadora) IV. Título.

615.8 CDD (23.ed.) UFPE (CCS 2023- 007)

CLÁUDIA REGINA DA SILVA ARAÚJO

**FUNÇÃO ENDOTELIAL, RIGIDEZ ARTERIAL E VARIABILIDADE DA
FREQUÊNCIA CARDÍACA DE ADULTOS COM DOENÇAS
CARDIOVASCULARES HOSPITALIZADOS PELA COVID-19**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Fisioterapia.

Área de concentração: Fisioterapia na atenção à Saúde - Desempenho físico-funcional e qualidade de vida

Aprovada em: 13/07/2022

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Shirley Lima Campos (Presidente)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dra. Maria Inês Remígio de Aguiar (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dra. Maria da Glória Rodrigues Machado (Examinador Externo)
Faculdade de Ciências Médicas de Minas Gerais (FCM-MG)

Dedico este trabalho aos voluntários que participaram deste projeto e a todos aqueles acometidos pela COVID-19 que enfrentaram a doença e lutaram por suas vidas. Mesmo diante da incerteza da evolução da doença e do desconhecimento de suas consequências, puderam contribuir para o melhor conhecimento sobre a infecção, permitindo que os profissionais da linha de frente pudessem aprimorar os cuidados a futuros pacientes. Àqueles que não resistiram à doença, meus sinceros sentimentos aos seus familiares.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, que abençoou todo o caminho até aqui. Gratidão a ele por todas as graças alcançadas, por ter colocado pessoas de luz nessa trajetória, por aumentar a minha fé e fazer acreditar que apesar da dificuldade que possa aparecer, o segredo é seguir em frente pois ele está no controle de tudo.

À minha família, minha base e minha força. Em especial, aos meus pais (Luzinete Araújo e Cláudio Araújo), por sempre me dar todo o apoio para estudar, por mostrar a importância do estudo para construir um futuro e pela confiança e o amor que depositam todos os dias. Ao meu irmão (Ronilson Araújo), que é meu refúgio e meu momento de descontração. É por vocês que tento dar o meu melhor dia a dia.

Ao meu parceiro de vida (Paulo Fonseca) que é meu refúgio. Obrigada por ajudar a renovar as forças quando queria fraquejar, por segurar minha ansiedade de alguns momentos, por mostrar outros pontos de vista, compartilhar comigo todo o crescimento pessoal e profissional e caminhar junto da forma mais leve possível.

À minha orientadora Daniella Cunha, por quem sou total gratidão. Agradeço pela condução de todo o meu mestrado, pelo apoio diário, pela paciência, pelo ombro amigo e pela palavra de apoio de todas as reuniões: “Vai dar certo. Confie!”. Obrigada, de verdade, pela confiança e, principalmente, pela dedicação naquilo que se propõe a fazer. Você é inspiração.

À co-orientadora Armele Andrade, exemplo de profissional, pesquisadora e fisioterapeuta, por todos os ensinamentos, desde as aulas até as dicas na escrita, na qualificação e na condução deste projeto.

A todo corpo docente do PPG Fisioterapia pelos conhecimentos expostos, pela organização e readaptação das aulas e do conteúdo programático para uma época difícil que foi a pandemia. Vocês, sem sombra de dúvidas, mesmo com a mudança de rotina conduziram de uma forma didática as aulas virtuais e lançaram mão de diferentes estratégias para o processo de ensino e aprendizagem, ficando de uma forma leve.

À amiga, Juliana Andrade, por toda a seu apoio durante esses 2 anos. Obrigada pela paciência, ajuda em qualquer hora e soluções. Você foi peça fundamental para conclusão desse trabalho.

Aos colegas da minha turma do mestrado, que embora quase sempre de forma virtual, tornaram a caminhada mais tênue e prazerosa. Obrigada pela ajuda nas

atividades, nos lembretes, na passagem de informações e nos estudos. Continuemos com nossa frase: “Ninguém solta a mão de ninguém. Vamos juntos!”.

À minha banca de qualificação, nas pessoas de Maria da Glória e Armele Dornelas, por todas as considerações, alertas e orientações para aprimoramento deste trabalho. Vocês são referências para mim.

À pré-branca (Cyda Reinaux e Juliana Fernandes) agradeço imensamente pela atenção com esse trabalho. Sou grata demais pelas correções e propostas. Com certeza, foram peças-chave para o resultado final.

À banca que avaliou este trabalho (Maria da Glória, Shirley Campos e Inês Remígio), agradeço pela disponibilidade para avaliar este trabalho. Foi muito proveitoso escutar vocês.

Ao programa de pós-graduação em fisioterapia, que me deu a oportunidade de partilhar tantas coisas boas, de trocar conhecimentos e evoluir profissionalmente.

À Niége por tomar a frente de toda a burocracia deste processo, por ser salvação nas potenciais perdas de prazo, por ser intermédio sempre com resolutividade, empatia e bastante prestatividade.

Aos nossos voluntários, pela paciência nas avaliações e contribuição para que este projeto fosse viável. Sem vocês não seria possível.

Por fim, agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) pelo auxílio financeiro. O presente trabalho foi realizado com apoio da CAPES – Código de Financiamento 001.

“Quanto mais aumenta nosso conhecimento, mais evidente fica nossa
ignorância”. (KENNEDY, 1962)

RESUMO

A COVID-19 é uma doença sistêmica caracterizada por estado pró-inflamatório, pró-oxidativo, pró-trombótico, excesso de citocinas circulantes, desregulação do sistema renina-angiotensina, disfunção autonômica e lesões teciduais, podendo causar alterações na função endotelial, na estrutura vascular e exacerbação de doenças cardiovasculares prévias. Assim, pacientes com fatores de risco cardiovasculares subjacentes estão propensos à maior gravidade da doença e pior prognóstico. O objetivo desse estudo é avaliar a função endotelial, rigidez arterial e variabilidade da frequência cardíaca (VFC) de adultos com DCV hospitalizados pela COVID-19. Estudo transversal realizado de julho de 2020 a fevereiro de 2021 no Hospital Agamenon Magalhães, Pernambuco, Brasil. Foi selecionada uma amostra por conveniência de adultos de ambos os sexos, com 40 a 60 anos, hospitalizados com COVID-19 e DCV prévia. Foram analisados dados pessoais, comorbidades, exames laboratoriais admissionais, além dos desfechos clínicos e possíveis complicações clínicas durante o internamento hospitalar. A função endotelial, rigidez arterial e VFC foram avaliadas, através da tonometria arterial periférica. A amostra foi categorizada de acordo com a disfunção endotelial e a significância estatística foi fixada em 5%. Quatorze dos vinte (51,8%) e sete adultos incluídos apresentavam disfunção endotelial (mediana do logaritmo natural do índice de hiperemia reativa de 0,29, intervalo interquartil entre 0,06 e 0,42). O índice de aumento normalizado para a frequência cardíaca (75 batimentos por minuto) foi significativamente alto em pacientes com função endotelial preservada ($p < 0,01$), sugerindo uma alta taxa de rigidez arterial. Pacientes com disfunção endotelial apresentaram maiores valores de alta frequência ($p < 0,03$) de VFC. Este estudo evidencia que a função endotelial avaliada pelo PAT parece ser um importante marcador de disfunção endotelial, rigidez arterial e VHF em pacientes com DCV hospitalizados pelo COVID-19.

Palavras-chave: endotélio; rigidez arterial; COVID-19; doença cardiovascular.

ABSTRACT

COVID-19 is a systemic disease characterized by pro-inflammatory, pro-oxidative, prothrombotic state, excess circulating cytokines, dysregulation of the nine-year-old system, autonomic dysfunction and tissue lesions, which may cause changes in endothelial function, vascular structure and exacerbation of previous cardiovascular diseases. Thus, patients with underlying cardiovascular risk factors are prone to greater severity of the disease and worse prognosis. This study aimed to evaluate the endothelial function, arterial stiffness and heart rate variability (HRV) of adults with CVD hospitalized by COVID-19. Cross-sectional study conducted from July 2020 to February 2021 at Hospital Agamenon Magalhães, Pernambuco, Brazil. A convenience sample of adults of both sexes, aged 40 to 60 years, hospitalized with COVID-19 and previous CVD was selected. Personal data, comorbidities, admission laboratory tests, in addition to clinical outcomes and possible clinical complications during hospitalization were analyzed. Endothelial function, arterial stiffness and HRV were evaluated by peripheral arterial tonometry. The sample was categorized according to endothelial dysfunction and statistical significance was set at 5%. Fourteen of the twenty (51.8%) and seven adults included had endothelial dysfunction (median natural logarithm of the reactive hyperemia index of 0.29, interquartile interval between 0.06 and 0.42). The rate of increase normalized for heart rate (75 beats per minute) was significantly high in patients with preserved endothelial function ($p < 0.01$), suggesting a high rate of arterial stiffness. Patients with endothelial dysfunction had higher values of high frequency ($p < 0.03$) of HRV. This study shows that the endothelial function assessed by PAT seems to be an important early marker of endothelial dysfunction, arterial stiffness and VhF in patients with CVD hospitalized by COVID-19.

Keywords: Endothelium; arterial stiffness; COVID-19; cardiovascular disease.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

DISSERTAÇÃO

Figura 1 - Execução da avaliação da função endotelial por tonometria arterial periférica através do Endopat®.....	28
Figura 2 - Registro de onda de pulso em aorta proximal em um ciclo cardíaco através da Tonometria arterial	31
Quadro 1 – Categorização das variáveis clínicas	41
Quadro 2 - Categorização das variáveis de controle	44

ARTIGO

Figure A.1 - Endothelial function. A) Endothelial function assessed by the natural logarithm of reactive hyperemia (LnRHI) in the normal endothelial function and dysfunction groups. B) Comparison between endothelial function and the adjusted index of augmentation for the heart rate of 75 beats per minute (Aix@75%) expressed in median and interquartile interval.....	86
---	----

LISTA DE TABELAS

ARTIGO

Table A.1 – Sample characteristics as to anthropometric data, vital signs, laboratory tests, cardiovascular diseases prevalence, comorbidities, and adverse cardiac events and other complications between groups 87

Table A.2 – Comparison of the assessment of heart rate variability between groups 90

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ag	Angiotensina
AIx	Aumengtation index ou Índice de aumento
AIx@75	Índice de aumento ajustado para frequência cardíaca de 75 batimentos/minuto
AT1	Receptor 1 da angiotensina
BNP	Peptídeo natriurético cerebral
BPM	Batimentos por minuto
COVID-19	Doença do novo coronavírus
DAC	Doença arterial coronariana
DCV	Doenças cardiovasculares
ECA	Enzima conversora de angiotensina
ECA2	Enzima conversora de angiotensina 2
EROs	Espécies reativas de oxigênio
GM-CSF	Fator estimulador de colônia de granulócitos-macrófagos
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HF	High frequency (alta frequência)
IAM	Infarto agudo do miocárdio
IFN	Interferons
IL	Interleucina
IPM	Incurções por minuto
IRH	Índice de hiperemia reativa
LF	Low frequency (baixa frequência)
LF/HF	Razão entre a baixa e a alta frequência
LnRHI	Logaritmo do índice de hiperemia reativa
MeanNN	Média entre os intervalos NN
NN	Intervalos normais no ritmo sinusal normal
OMS	Organização mundial de Saúde
NO	Nitric oxide (óxido nítrico)
PaO ₂ /FiO ₂	Razão entre a pressão arterial de oxigênio e a fração inspirada de oxigênio
PAT	Peripheral artery tonometry (Tonometria arterial periférica)
pNN50	Percentual de intervalos NN sucessivos
RMSSD	Raiz quadrada média de intervalo NN sucessivos
SARS-COV-2	Coronavírus 2 da Síndrome respiratória aguda grave
SDNN	Desvio padrão dos intervalos normais

SDRA	Síndrome do desconforto respiratório agudo
SpO ₂	Saturação periférica de oxigênio
SRA	Sistema Renina-Angiotensina
SRAG	Síndrome respiratória aguda grave
TNF α	Fator de necrose tumoral α
VFC	Variabilidade da frequência cardíaca

SUMÁRIO

1	APRESENTAÇÃO	16
2	INTRODUÇÃO	17
2.1	COVID-19	17
2.2	DADOS EPIDEMIOLÓGICOS	17
2.3	PATOGÊNESE DA COVID-19	18
2.4	ESTÁGIOS CLÍNICOS DA COVID-19	20
2.5	COVID-19 E O SISTEMA CARDIOVASCULAR	21
2.6	COVID-19 E O ENDOTÉLIO VASCULAR	24
2.7	AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO ENDOTELIAL	26
2.8	ALTERAÇÃO DO SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO NA COVID-19	30
2.9	AVALIAÇÃO DA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA	32
3	OBJETIVOS	34
3.1	GERAL	34
3.2	ESPECÍFICOS	34
4	METODOLOGIA	35
4.1	DESENHO DO ESTUDO	35
4.1.1	Local e período do estudo	35
4.1.2	População e Amostra	35
4.1.3	Crterios de elegibilidade	35
4.1.4	Captação e seleção dos pacientes	36
4.2	COLETA DE DADOS	36
4.2.1	Procedimentos e instrumentos da coleta de dados	37
4.2.1.1	Coleta de dados pessoais	37
4.2.1.2	Avaliação antropométrica	37
4.2.1.3	Mensuração dos sinais vitais	37
4.2.1.4	Avaliação da função endotelial e rigidez arterial	38
4.2.1.5	Análise da variabilidade da frequência cardíaca	39
4.2.1.6	Registro de exames laboratoriais	39
4.2.1.7	Eventos adversos e desfechos clínicos	40
4.3	DEFINIÇÃO E CATEGORIZAÇÃO DAS VARIÁVEIS	40
4.4	ASPECTOS ÉTICOS	44

4.5	ANÁLISE DOS DADOS	46
4.6	CONFLITO DE INTERESSES	47
5	RESULTADOS	48
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	49
	REFERÊNCIAS	50
	APÊNDICE A – FICHA DE AVALIAÇÃO INDIVIDUAL	58
	APÊNDICE B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E	61
	ESCLARECIDO	
	APÊNDICE C – ARTIGO	65
	ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA	91
	ANEXO B – NORMAS DA REVISTA	97

1 APRESENTAÇÃO

Esta dissertação pertence à área de concentração da “Fisioterapia na atenção à Saúde” integrando a linha de pesquisa “Desempenho físico-funcional e qualidade de vida” do Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Fisioterapia. O trabalho foi realizado no Hospital Agamenon Magalhães, Recife – PE, em parceria com o Laboratório de Fisioterapia Cardiopulmonar (LACAP), pertencente ao Departamento de Fisioterapia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

O formato de dissertação escolhido foi o modelo 1, formato artigo, o qual exige como elementos textuais: Introdução, Objetivos, Metodologia, Resultados e Considerações finais. Este exemplar teve como produto o artigo intitulado **“Endothelial function, arterial stiffness, and heart rate variability of patients with cardiovascular diseases hospitalized due to COVID-19”**, o qual foi publicado (DOI: doi.org/10.1016/j.hrtlng.2022.12.016) no jornal Heart & Lung: The Journal of Cardiopulmonary and Acute Care, classificado com Qualis B1 (Quadriênio 2013 – 2016) para a área de Educação Física, fator de impacto 2021 3,149.

2 INTRODUÇÃO

2.1 COVID-19

A doença do novo coronavírus (COVID-19) surge a partir de um surto de pneumonia inexplicável em Wuhan, na China, em dezembro de 2019. Através de investigações, o vírus foi isolado no epitélio respiratório destes pacientes e denominado coronavírus 2 da Síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV-2)(PERICO L, BENIGNI A, CASIRAGHI F, NG LFP, RENIA L, 2021). A condição patogênica chegou a atingir vários países e regiões do mundo, e em março de 2020, a Organização Mundial de Saúde (OMS) declarou a pandemia da COVID-19(KERBL; ZEPP, 2021).

Transmitido por gotículas respiratórias, o SARS-CoV-2 tem um período de incubação de 5-6 dias e pode causar um espectro clínico que varia de formas assintomáticas ou oligossintomáticas até condições clínicas críticas(PERICO L, BENIGNI A, CASIRAGHI F, NG LFP, RENIA L, 2021). Na maior parte dos casos, apresenta-se clinicamente com febre, fadiga, mialgias, conjuntivite, anosmia, disgeusia, dor de garganta, congestão nasal, tosse, dispneia, náusea, vômito e/ou diarreia. Nos casos mais graves, a doença evolui para a Síndrome respiratória aguda grave (SRAG) até manifestações multiorgânicas e sistêmicas em termos de sepse com resposta inflamatória descontrolada de citocinas, choque séptico e síndrome da disfunção de múltiplos órgãos(STAWICKI SP, JEANMONOD R, 2020).

2.2 DADOS EPIDEMIOLÓGICOS

Desde que foi declarada pandemia global pela OMS, a COVID-19 se espalhou para 223 países com mais de 531 milhões de casos, resultando em mais de 6 milhões de mortes relatadas globalmente até junho de 2022, emergindo como a crise de saúde global mais conseqüente desde a era da pandemia de influenza de 1918(CASCELLA M, RAJNIK M, 2022; SAÚDE, 2022).

Os Estados Unidos da América experimentam o maior número de infecções por SARS-CoV-2 e mortes relacionadas ao COVID-19, seguidos pela Índia e Brasil. De acordo com o boletim epidemiológico do Ministério da Saúde do Brasil, publicado em

06 de junho de 2022, foram confirmadas cerca de 661 mil mortes por COVID-19 no Brasil, obtendo uma taxa de mortalidade acumulada de 315 óbitos por 100 mil habitantes. O Brasil lidera o *ranking* com maior número de mortes da América Latina e Caribe, e segundo maior do mundo, chamando a atenção das autoridades sanitárias pela alta letalidade(SAÚDE, 2022).

A taxa de mortalidade de casos é afetada por fatores que incluem idade, condições pré-existentes subjacentes e gravidade da doença e varia significativamente entre os países. Pacientes com idade ≥ 60 anos e com comorbidades médicas subjacentes (Obesidade, Doença cardiovascular, Doença renal crônica, Diabetes, Doença pulmonar crônica, Tabagismo, Câncer, Transplante de órgãos sólidos ou células-tronco hematopoiéticas) têm um risco aumentado de desenvolver a COVID-19 grave(CASCELLA M, RAJNIK M, 2022). A maior taxa de mortalidade pela COVID-19 entre os idosos, provavelmente se dá, não só pela presença de outras doenças, mas também por um sistema imunológico mais fragilizado ou simplesmente por estado geral de saúde debilitado, permitindo assim uma progressão mais rápida da infecção(DEL TURCO et al., 2020).

2.3 PATOGÊNESE DA COVID-19

O SARS-CoV-2, agente etiológico da COVID-19, atinge as células dos hospedeiros através dos receptores da enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2) abundante no epitélio respiratório, principalmente nas células epiteliais alveolares do tipo II. Sendo uma enzima constituinte do Sistema Renina-Angiotensina (SRA), além do epitélio respiratório, a ECA2, também está expressa em outros tecidos corporais, principalmente, nos enterócitos do íleo, nas células miocárdicas, no endotélio das artérias coronárias, nas células tubulares do rim proximal e nas células uroteliais da bexiga, podendo ser infectados diretamente pelo vírus(CASCELLA M, RAJNIK M, 2022; DEL TURCO et al., 2020).

Após a fixação viral na membrana das células epiteliais, a subunidade S2 da proteína *spike* da superfície do vírus é clivada pela protease transmembranar serina 2 do hospedeiro (TMPRSS2) o que causa a entrada do vírus na célula por fusão direta

com a célula hospedeira ou por endocitose, resultando subsequentemente, na replicação viral(CASCELLA M, RAJNIK M, 2022).

Para haver a replicação viral e ter acesso às células corporais, o vírus inativa a expressão da ECA2 no Sistema Renina-Angiotensina. A regulação negativa da ECA2, causa: diminuição da transformação da Angiotensina 1 (Ag I) em Angiotensina 1-9 (Ag 1-9); diminuição da transformação da Angiotensina 2 (Ag II) em Angiotensina 1-7 (Ag 1-7) ou Ag 1-9; aumento da atividade e expressão da ECA, e conseqüentemente, aumento da produção de Ag II (vasoconstritora e pró-inflamatória)(JIN et al., 2020). Vale lembrar que a ECA2 atua como uma peptidase capaz de contrarregular a ação da ECA, modulando o equilíbrio entre vasoconstritores e vasodilatadores. Além disso, é a responsável pelas clivagens $\text{Ag I} \rightarrow \text{Ag 1-9}$ e $\text{Ag II} \rightarrow \text{Ag 1-7}$ (potente efeito vasodilatador, anti-inflamatório e antifibrótico). Logo, o acúmulo de Ag II devido a inativação da ECA2 causa não só uma rápida vasoconstrição, aumento da permeabilidade vascular, edema pulmonar e inflamação, como também aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs)(DEL TURCO et al., 2020).

A inativação da ECA2 ainda aumenta o estímulo dos receptores AT1a presentes no pulmão, os quais, ao interagir com a Ag II, propiciam a lesão pulmonar. As células epiteliais sofrem morte celular apoptótica como parte do ciclo de sua replicação, causando extravasamento do conteúdo vascular para dentro dos alvéolos. Ocorre então a primeira onda de inflamação local (dano tecidual direto mediado pelo vírus) e recrutamento de células imunes para os pulmões com objetivo de eliminar o vírus extracelular e destruir as células infectadas. Vem então a segunda fase, quando as células hospedeiras infectadas desencadeiam uma resposta imune recrutando linfócitos T, monócitos e neutrófilos que liberam citocinas como fator de necrose tumoral α (TNF α), fator estimulador de colônia de granulócitos-macrófagos (GM-CSF), interleucinas (IL) (IL-1, IL-6, IL-1 β , IL-8, IL-12) e interferon (IFN)(CASCELLA M, RAJNIK M, 2022; PERICO L, BENIGNI A, CASIRAGHI F, NG LFP, RENIA L, 2021).

O aumento destas citocinas pró-inflamatórias no pulmão propaga ainda mais a resposta inflamatória local subjacente à pneumonia intersticial bilateral atípica formada, podendo causar mais lesão de pneumócitos, dano alveolar difuso, edema e hemorragia alveolar, além da, presença de infiltrados inflamatórios intersticiais. É durante esta fase inflamatória nos pulmões que a doença pode progredir rapidamente

para a Síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA)(PERICO L, BENIGNI A, CASIRAGHI F, NG LFP, RENIA L, 2021). Por fim, ainda há a ligação do SARS-CoV-2 ao Toll-Like Receptor (TLR) que induz a liberação de mais IL-1 β ativa, mediando a inflamação pulmonar até a fibrose(CASCELLA M, RAJNIK M, 2022).

Em suma, o aumento da permeabilidade vascular e o desenvolvimento subsequente de edema pulmonar e das complicações pulmonares nestes pacientes graves são explicados pelos mecanismos: a) endotelite como resultado de lesão viral direta e inflamação perivascular levando à microtrombos, b) desregulação do SRA, c) ativação da via caliceína-bradicinina (aumento da permeabilidade vascular), d) aumento da contração das células epiteliais causando inchaço das células e perturbação das junções intercelulares(CASCELLA M, RAJNIK M, 2022).

Além disso, na COVID-19 grave, há ainda a superativação do sistema imunológico resultando em uma “tempestade de citocinas” na circulação, especialmente IL-6 e TNF- α , causando não só uma resposta inflamatória local, como também sistêmica.

2.4 ESTÁGIOS CLÍNICOS DA COVID-19

A partir da necessidade de implantação e investigação de terapias direcionadas para o tratamento da COVID-19, tornou-se cada vez mais importante o entendimento dos estágios e progressão da doença. Era fundamental que os sistemas de saúde adotassem uma nomenclatura padronizada para avaliação e notificação uniformes da COVID-19(SIDDIQI; MEHRA, 2020).

Para isso, Siddiqi e Mehra em 2020 sugeriram um sistema de classificação de três estágios, reconhecendo que a COVID-19 apresenta graus crescentes de gravidade, correspondendo a achados clínicos distintos (sinais e sintomas) e respostas específicas às terapias. Eles dividem em estágio I ou leve (infecção inicial), II ou moderado (fase pulmonar) e III ou grave (hiperinflamação sistêmica).

O estágio I refere-se ao momento de inoculação, em que o vírus liga-se principalmente ao epitélio pulmonar, e está associado a sintomas leves, muitas vezes, inespecíficos como febre e tosse seca. O hemograma pode revelar linfopenia e

neutrofilia. Esta fase possui um prognóstico favorável e o tratamento é apenas sintomatológico(SIDDIQI; MEHRA, 2020).

No segundo estágio, há a multiplicação viral junto à inflamação pulmonar causando pneumonia viral e, possivelmente, hipoxemia ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 300$ mmHg). A tomografia ou radiografia apresentam infiltrados bilaterais ou opacidades em vidro fosco e os exames de sangue revelam linfopenia crescente. Os autores dividem essa fase em IIa (sem hipoxemia) e estágio IIb (com hipoxemia), ressaltando a utilidade e uso criterioso da terapia anti-inflamatória, como com corticosteróides, apenas no estágio IIb(SIDDIQI; MEHRA, 2020). Os pacientes da nossa pesquisa encontravam-se nesta fase da doença, preferencialmente no estágio IIa.

O estágio III, mais grave da doença, é quando ocorre a Síndrome de hiperinflamação sistêmica extrapulmonar ou Linfocitose Hemofagocítica secundária (LHHs)(BRANDÃO, S. C. S., 2020). Acontece diminuição nas contagens de células T auxiliares, supressoras e reguladoras e elevação de citocinas inflamatórias e biomarcadores como IL-2, IL-6, IL-7, GM-CSF, proteína inflamatória de macrófagos 1- α , TNF α , proteína C-reativa, ferritina e D-dímero(WU C, CHEN X, CAI Y, 2020). Essa fase pode ser caracterizada pela presença de choque, vasoplegia, insuficiência respiratória, miocardite, colapso cardiopulmonar e envolvimento de órgãos sistêmicos. O uso de corticosteroides é justificado e pode ser associado a inibidores de citocinas, como tocilizumabe (inibidor de IL-6) ou anakinra (antagonista do receptor de IL-1), como também a imunoglobulina intravenosa (modulação do sistema imunológico). No geral, o prognóstico e a recuperação desse estágio crítico da doença são ruins(SIDDIQI; MEHRA, 2020).

2.5 COVID-19 E O SISTEMA CARDIOVASCULAR

Embora o sistema respiratório seja o principal alvo do SARS-CoV-2, conforme descrito acima, evidências clínicas e epidemiológicas crescentes sugerem que a infecção pelo vírus está associada a lesão miocárdica, miocardite, miocardiopatia por estresse (Síndrome de Takotsubo), insuficiência cardíaca, choque e complicações arrítmicas(CASCELLA M, RAJNIK M, 2022; COSTA, 2020).

De um forma geral, infecções respiratórias agudas e pneumonias bacterianas, são desencadeantes reconhecidos de doenças cardiovasculares (DCV), não sendo diferente com o SARS-CoV-2. A relação recíproca acontece, e por outro lado, as DCVs prévias geralmente estão associadas a comorbidades, o que pode aumentar a incidência, a gravidade e o risco de mortalidade dos pacientes com doenças infecciosas. Diante disso, a COVID-19 pode não só induzir novas patologias cardíacas como também exacerbar doenças cardiovasculares subjacentes(MADJID M, SAFAVI-NAEINI P, SOLOMON SD, 2020).

Os danos causados ao sistema cardiovascular pela COVID-19 são multifatoriais e podem resultar de mecanismos diretos (a toxicidade viral direta) e de mecanismos indiretos, como hipoxemia, desequilíbrio entre alta demanda metabólica e baixa reserva cardíaca, estímulo do sistema nervoso simpático, trombogênese, desregulação da inflamação sistêmica, imunológica e do SRA(CASCELLA M, RAJNIK M, 2022; COSTA, 2020).

O desequilíbrio do SRA (diminuição da produção da Ag 1-7 e consequente aumento da produção de Ag II) favorece o aumento da atividade trombogênica endotelial coronariana e/ou desestabilização da placa aterosclerótica pré-existente, o que explica o desfecho de infarto do miocárdio (IAM) em pacientes no estágio grave da COVID-19(GUO et al., 2020). IAM também pode ser explicado pelo metabolismo anaeróbico dos cardiomiócitos em situações de hipoxemia. Nessa condição, o piruvato é transformado em lactato, sendo utilizado como fonte de energia, o que causa aumento da acidose intracelular e prejudica ainda mais a demanda de oxigênio no miocárdio, levando à lesão miocárdica aguda(DEL TURCO et al., 2020). A hipoxemia pode ainda ser prejudicial devido ao influxo de íons de cálcio induzido pelo déficit de oxigênio, levando à apoptose das células miocárdicas(DEL TURCO et al., 2020). A cardiomiopatia de estresse e o desarranjo hemodinâmico (próprio da fase crítica da doença) com consequente redução do fluxo sanguíneo coronariano podem ser também causas do infarto(CASCELLA M, RAJNIK M, 2022).

No sistema nervoso central, a Ag II eleva o tônus autônomo simpático ao interagir com receptores AT1, aumentando a liberação de catecolaminas, especialmente noradrenalina, pelas terminações nervosas periféricas, mecanismo que favorece o surgimento de arritmias(FERRARIO et al., 1990). A alta prevalência

de arritmia na COVID-19 pode ser também atribuível a distúrbios metabólicos, hipoxemia ou estresse neuro-hormonal e inflamatório. Distúrbios eletrolíticos (principalmente hipocalemia) e efeitos adversos de terapias (como por exemplo, cloroquina/hidroxicloroquina e azitromicina) prolongam o intervalo QT e têm potencial em desenvolver a taquicardia ventricular polimórfica (TV)(GOHA et al., 2020). A própria lesão miocárdica também pode resultar em fibrose atrial ou ventricular, substrato para arritmias cardíacas subsequentes(KOCHI et al., 2020). No entanto, no aparecimento de taquiarritmias malignas no cenário de elevação da troponina deve ser levantado a suspeita de miocardite subjacente(DRIGGIN et al., 2020).

A miocardite é explicada pela citotoxicidade direta do vírus às células miocárdicas e pela inflamação causada pelas citocinas pró-inflamatórias(CASCELLA M, RAJNIK M, 2022). Ao se ligar aos receptores AT1, a Ag II pode induzir alterações na transcrição de genes cardíacos regulando o crescimento de cardiomiócitos e induzindo a hipertrofia cardíaca(REUDELHUBER; BERNSTEIN; DELAFONTAINE, 2007). Muitos pacientes críticos podem desenvolver cardiomiopatia reversível relacionada à sepse com dilatação ventricular esquerda e função sistólica prejudicada(SIRIPANTHONG B, NAZARIAN S, MUSER D, 2020). Pode ocorrer também descompensação da insuficiência cardíaca subjacente, levando à síndrome do choque misto (choque séptico e cardiogênico)(GOHA et al., 2020). A insuficiência cardíaca direita e a hipertensão pulmonar associada podem ser consideradas, em particular no contexto de doença pulmonar parenquimatosa grave e SDRA(D'ALTO et al., 2020).

Ao mesmo tempo, a infecção viral que desencadeia todas as lesões teciduais retroalimenta o processo inflamatório e cria um terreno fértil para sua propagação. Não obstante, indivíduos que apresentam condições favoráveis à inflamação, como pacientes com HAS, diabetes mellitus, doença arterial coronariana e obesidade, são os que apresentam maior gravidade da doença. Estes exibem marcadores inflamatórios aumentados e, conseqüentemente, alimentam o ciclo enfermidade x descompensação do SRA x enfermidade(PETTO et al., 2021). Pacientes com DCV preexistente aparentemente apresentam níveis séricos aumentados ou expressão desregulada da ECA2, o que pode contribuir para as manifestações mais graves nessa população(STAWICKI SP, JEANMONOD R, 2020).

Nesse contexto, metanálises demonstram que HAS, diabetes, insuficiência cardíaca e DCV global são as comorbidades mais prevalentes em casos graves da COVID-19, assim como significativamente associadas à mortalidade.(HESSAMI et al., 2021; HU Y, SUN J, Z., DAI, H.; X., LI, Q., HUANG, 2020) Outro estudo observou que dos pacientes que foram à óbito, 35% tinham DCV subjacente (hipertensão, doença coronariana ou cardiomiopatia). A mortalidade mostrou-se significativamente maior em indivíduos com Troponina T alta (59,6%) que eram pacientes mais velhos, mais propensos a serem homens e tinham comorbidades, incluindo hipertensão, doença coronariana, cardiomiopatia e doença renal crônica(GUO et al., 2020). Além da elevação dos marcadores inflamatórios, nos pacientes com COVID-19 também se observa aumento nos níveis de BNP ou NT-proBNP, marcadores de disfunção miocárdica. Esse achado reforça que aqueles que apresentam injúria miocárdica estão mais propensos a desenvolver comprometimento da função cardíaca(GUO et al., 2020).

2.6 COVID-19 E O ENDOTÉLIO VASCULAR

Evidências mais recentes sugerem como principal hipótese patogênica da COVID-19 o envolvimento do endotélio. Seja por um ataque viral direto, por lesão induzida por hipoxemia ou pela desregulação imunológica com a complexa interação entre “citocinas e tempestades de coagulação”, a integridade do endotélio vascular pode ser comprometida irreparavelmente, assim como, suas propriedades fisiológicas antitrombóticas e anti-inflamatórias(DEL TURCO et al., 2020; VARGA et al., 2020).

Sabendo que o endotélio é um órgão parácrino, endócrino e autócrino ativo, indispensável para a regulação do tônus vascular e a manutenção da homeostase vascular, seu acometimento torna-se determinante da disfunção micro e macrovascular, alterando o equilíbrio dos vasos para mais vasoconstrição e inflamação com recrutamento de células imunes, um estado pró-coagulante, resultando em disfunção endotelial generalizada, associada à apoptose(BRANDÃO, S. C. S., 2020; VARGA et al., 2020). Assim, a disfunção do endotélio vascular torna-se um fator de risco independente para o aparecimento de eventos cardiovasculares, com ou sem história prévia de doença arterial coronariana(YAMAOKA-TOJO, 2017).

A hipoxemia leva à produção de EROs, os quais aumentam a degradação de óxido nítrico (ON – nitric oxide), diminuindo sua biodisponibilidade. Associada a isto, ocorre redução da produção do ON devido aos baixos níveis de Ag 1-7. Esta redução dos níveis séricos de ON (resultante da redução da produção de ON e/ou aumento da degradação do ON pelas EROs), torna-se uma característica marcante da disfunção endotelial e eventos trombóticos (DEL TURCO et al., 2020).

A hiperinflamação, a ativação imune e a hipoxemia juntas podem desempenhar hipercoagulabilidade e um papel decisivo na coagulação intravascular disseminada associada (CIVD) (DEL TURCO et al., 2020). Estas patogêneses associadas levam à ativação de plaquetas, monócitos e macrófagos, aumento da expressão do fator tecidual, fator de von Willebrand e Fator VIII que resulta na geração de trombina e formação de coágulos de fibrina (CASCELLA M, RAJNIK M, 2022). Além disso, os fatores de risco cardiovascular podem aumentar a suscetibilidade à lesão microvascular e formação de microtrombos, predispondo os pacientes com COVID-19 à doença tromboembólica venosa e arterial (CASCELLA M, RAJNIK M, 2022).

Parâmetros de coagulação anormais, como marcador de fibrina elevado (por exemplo, dímero-D) e prolongamento dos tempos de coagulação evidenciam a coexistência de ativação de coagulação e hiperfibrinólise. Ocorre também elevação de outros marcadores inflamatórios, como troponina, ferritina, IL-6, lactato desidrogenase (LDH), proteína C reativa (PCR), procalcitonina e contagem de leucócitos (DEL TURCO et al., 2020; SIDDIQI; MEHRA, 2020).

Além dos danos endoteliais (dano da camada endotelial vascular), supõe-se que a COVID-19 possa ocasionar mudanças estruturais na parede vascular resultando em rigidez arterial (dano da camada média vascular), causando prejuízo na regulação vascular (SCHNAUBELT et al., 2021). Esta está intimamente relacionada com dois fatores: a idade (envelhecimento) e a hipertensão arterial, sendo um preditor independente de eventos cardiovasculares futuros e associada ao maior risco de morte (RATCHFORD et al., 2021; VLACHOPOULOS; AZNAOURIDIS; STEFANADIS, 2010).

A rigidez arterial como consequência da COVID-19 pode ser atribuída a diversos mecanismos fisiológicos, como: a) redução da biodisponibilidade de ON; b) comportamento anormal de células musculares vasculares e alterações estruturais da

matriz extracelular da parede do vaso devido à lesão direta do vírus; c) hiporreatividade adrenoceptora vascular, baixos níveis de vasopressina endógena e insuficiência de corticoesteróides, o que diminui o tônus vascular; d) dificuldade de regulação do tônus devido à hipercoagulabilidade, edema inflamatório e disfunção endotelial(SAEED; MANCIA, 2021; SCHNAUBELT et al., 2021). Para todos esses fatores interativos, há a base para um círculo vicioso em que aumentando o efeito traumático da parede vascular, o endurecimento arterial favorece aterosclerose com aumento em seu componente inflamatório e um efeito de enrijecimento adicional(SAEED; MANCIA, 2021).

Evidências começam a surgir mostrando que a presença de rigidez arterial (exemplo, pressão de pulso ≥ 60 mmHg na admissão hospitalar) em pacientes com COVID-19 pode ser interpretado como um fator de risco deletério com valor preditivo para a mortalidade hospitalar(RODILLA E; LÓPEZ-CARMONA MD; CORTES X, 2021). E talvez com uma repercussão maior (índices mais elevados de rigidez arterial) em pacientes graves com COVID-19 quando comparados àqueles com doenças crônicas de longo prazo, como diabetes mellitus, DAC e doença renal terminal, indicando que o dano da COVID-19 à vasculatura do paciente em menos de 15 dias seja comparável ao dano causado pela DAC em anos(KUMAR et al., 2021).

É razoável acreditar que sequelas pós-COVID-19, como agravamento da hipertensão arterial, diabetes, danos renais e dislipidemia induzida por inflamação (metabolismo lipídico alterado) e disfunção endotelial podem contribuir para a aterosclerose precoce e acelerar o envelhecimento vascular. Além disso, a atividade nervosa simpática, a desregulação do SRA, a expressão ECA2 alterada podem levar à remodelação estrutural e funcional adversa das artérias e, portanto, pode-se ver uma associação bidirecional entre rigidez arterial pré-existente e gravidade COVID-19(SAEED; MANCIA, 2021).

Todas essas proposições fornecem uma justificativa para drogas anti-inflamatórias, inibidores da ECA e terapias com estatinas para neutralizar a lesão endotelial, particularmente naqueles pacientes com disfunção endotelial preexistente devido a comorbidades(DEL TURCO et al., 2020).

2.7 AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO ENDOTELIAL

Alguns exames complementares não invasivos são capazes de avaliar o dano vascular precoce, estando dentre os mais conhecidos: a dilatação mediada pelo fluxo (DMF), que verifica a função endotelial, e a velocidade de onda de pulso (VOP) e o índice de aumento (Aix), que confere a camada média arterial (BARROSO WKS, RODRIGUES CIS, 2021; MENDES-PINTO; RODRIGUES-MACHADO, 2019).

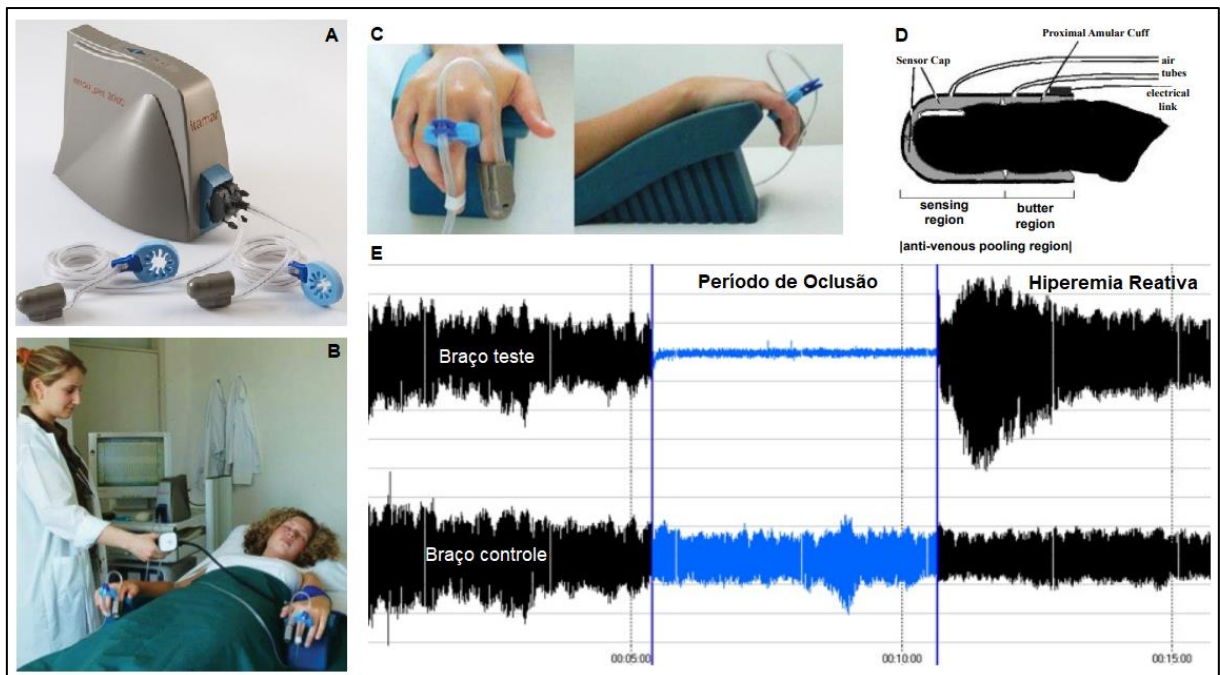
A DMF é avaliada clinicamente de forma não invasiva com ultrassonografia de alta resolução da artéria braquial ou pela medição da onda de pulso em uma artéria do dedo. Tem sido amplamente estudada em pesquisas clínicas, porém essa técnica tem desvantagens como ser operador-dependente. E, além disso, como a DMF é medida em apenas um braço, não há possibilidade de correção de possíveis alterações induzidas pela hemodinâmica sistêmica, como aquelas resultantes de alterações no tônus do sistema nervoso autônomo (MOERLAND et al., 2012).

A partir disso, uma nova técnica não invasiva foi desenvolvida para analisar informações sobre o endotélio: a tonometria arterial periférica ou tonometria de amplitude de pulso (PAT) (YAMAOKA-TOJO, 2017). Trata-se de um teste clínico de fácil realização, quantitativo, com análise automática abrangente, possui uma metodologia padronizada e oferece dados reprodutíveis, sem oferecer quaisquer fatores de risco para o paciente. E ao contrário do FMD, não é operador dependente (MOERLAND et al., 2012).

O EndoPAT® (Itamar Medical, Israel), aparelho que usa a tonometria arterial periférica, possui um pletismógrafo pneumático que aplica pressão uniforme sobre o dedo distal e mede as alterações no volume arterial pulsátil, traduzindo-os em um tônus arterial periférico. As mudanças mediadas pelo endotélio no tônus vascular após a oclusão da artéria braquial, através de um manguito, irão refletir uma resposta reativa hiperêmica, conforme demonstrado na **Figura 1**. Já as medições no braço contralateral são usadas para controlar as alterações simultâneas não dependentes do endotélio no tônus vascular (MOERLAND et al., 2012).

Figura 1 - Execução da avaliação da função endotelial por tonometria arterial periférica através do Endopat®. A) Aparelho Endopat®; B) Posicionamento do paciente para execução da técnica. Manguito oclusivo em braço esquerdo; C) Apoio dos antebraços em posição ligeiramente elevada (facilitação da drenagem venosa do

dedo); D) Manguitos sensíveis à pressão, semelhantes a dedais; E) Após estabelecimento de uma linha de base estável, o manguito é inflado no braço de medição por um período de tempo predeterminado, eliminando as pulsações de pressão no dedo. Decorrido o período oclusivo, o manguito do braço é desinsuflado, ocorrendo a hiperemia reativa.



Fonte: Adaptada de Yamaoka-Tojo M., 2017 e Jakubowski M., 2020

Os dados automaticamente analisados pelo software do EndoPAT® são expressos em valores como “EndoScore” ou índice de hiperemia reativa (IHR). O IHR é determinado pelo cálculo da razão entre a pressão hiperêmica e a pressão basal nos braços de medição e controle (ROSENBERRY; NELSON, 2020). Valores de IHR menores que 1,67 (ou 0,51 em seu logaritmo natural – $\ln RHI$) indicam disfunção endotelial (BRUNO; GORI; GHIADONI, 2014).

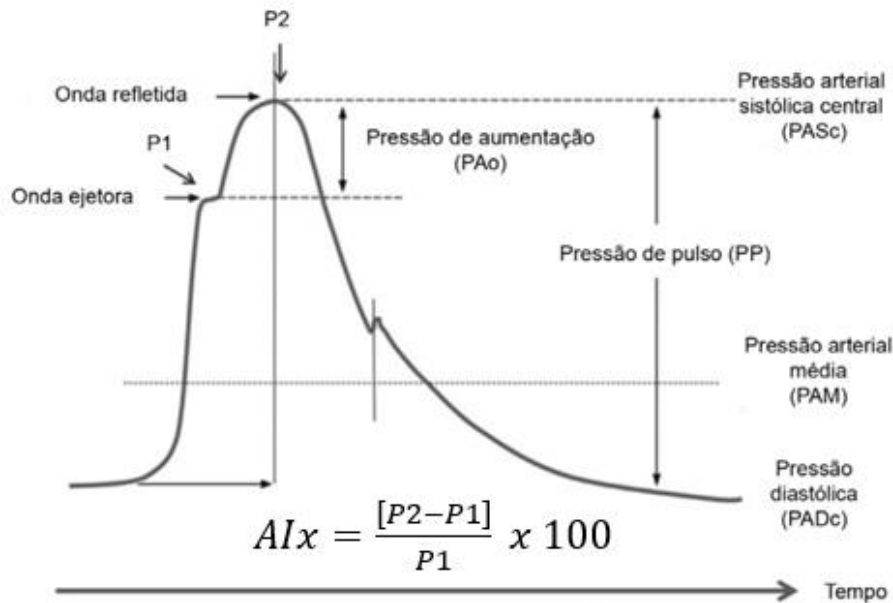
Ensaio clínico mostram que o PAT é útil para avaliação de risco, estratificação e prognóstico de eventos cardiovasculares maiores (AKIYAMA E et al., 2012; HAMBURG et al., 2008; RUBINSHTAIN et al., 2010). No estudo *Framingham Heart*, apresentou relação inversa com múltiplos fatores de risco cardiovascular (sexo masculino, índice de massa corporal, colesterol total/HDL, diabetes, tabagismo e tratamento de redução lipídica) (HAMBURG et al., 2008). A técnica do PAT mostrou, ainda, sensibilidade de 80% e especificidade de 86% para diagnosticar espasmo da

artéria coronária quando comparado com o padrão-ouro (angiograma de acetilcolina), o que sugere que o teste periférico pode refletir a fisiologia do endotélio coronário(BONETTI et al., 2004).

As mudanças estruturais na parede arterial resultam em deterioração da elasticidade, o que pode ser revelada medindo a velocidade da onda de pulso (VOP). A VOP é calculada dividindo-se a distância entre dois pontos no sistema arterial pelo tempo que a onda leva para percorrer essa distância. A velocidade da onda de pulso medida entre a artéria carótida e a artéria femoral é considerada um preditor de risco cardiovascular e é o principal indicador de rigidez arterial(MENDES-PINTO; RODRIGUES-MACHADO, 2019). A VOP carotídea-femoral está associada à rigidez arterial central e a carotídea-radial, à rigidez arterial periférica. A espessura médio-intimal da carótida é o marcador da carga aterosclerótica nas artérias coronárias e está diretamente correlacionada com a VOP(SZEGHY et al., 2021; VAN BORTEL LM, LAURENT S, BOUTOUYRIE P, 2012). Uma elevação de ~1m/s na VOP está associada a um risco 15% maior de eventos cardiovasculares, mortalidade e morte por todas as causas(VLACHOPOULOS; AZNAOURIDIS; STEFANADIS, 2010). No entanto, a influência de variáveis como frequência cardíaca e tônus vasomotor do sistema arterial pode afetar a variabilidade da técnica(MOERLAND et al., 2012).

Os principais marcadores de rigidez arterial são a velocidade da onda de pulso (VOP), o índice de aumento (augmentation index - Alx) e a pressão aórtica central. Uma alternativa à obtenção do Alx, a partir de uma abordagem prática e simples é através do EndoPAT®. O EndoPAT® calcula automaticamente o Alx, analisando-o com base na forma da onda de pulso de repouso. É descrito como a diferença de pressão entre o pico da onda de reflexão (P2) e o pico da onda sistólica (P1), expressa em porcentagem de P1 pela fórmula: $Alx = \frac{P2-P1}{P1} \times 100$, conforme ilustrado na **Figura 2**(MENDES-PINTO; RODRIGUES-MACHADO, 2019).

Figura 2 - Registro de onda de pulso em aorta proximal em um ciclo cardíaco através da tonometria arterial. P1: pico sistólico atribuído à onda ejetora. P2: segundo pico sistólico atribuído ao aumento de pressão causado pela onda refletida.



Fonte: Adaptada de Hussmann et al, 2015

A fim de refletir claramente a rigidez arterial, sem interferências das alterações do sistema nervoso autônomo, o Alx é ajustado para uma frequência cardíaca de 75 batimentos por minuto (Alx@75), pois o aumento da frequência cardíaca reduz o Aix e a bradicardia eleva-o (MENDES-PINTO; RODRIGUES-MACHADO, 2019). O Aix@75 é calculado automaticamente pelo algoritmo do EndoPAT®. A rigidez arterial normal é definida por um Aix entre -30% e -10%, rigidez arterial aumentada por um Aix entre -10% e 10% e rigidez arterial anormal por um Aix acima de 10% (MOERLAND et al., 2012).

2.8 ALTERAÇÃO DO SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO NA COVID-19

O potencial neuroinvasivo do SARS-CoV-2 tem sido discutido no contexto da explicação plausível para a variedade de manifestações neurológicas do COVID-19 (PANIZ-MONDOLFI et al., 2020).

Os primeiros estudos relatam acometimento do SNA em pacientes com COVID-19 causando disfunção autonômica (ARAGÓN-BENEDÍ et al., 2021a; GHOSH et al., 2020; KALIYAPERUMAL et al., 2021). Kaliyapemural et al. (2020) demonstrou-

a disfunção autonômica com aumento da atividade parassimpática, através da variabilidade da frequência cardíaca no domínio tempo. Ghosh et al. (2020) relataram características clínicas de disfunção autonômica na forma de arritmia sinusal, hipotensão postural, sudorese profusa intermitente, constipação, disfunção erétil e sensação de aperto no peito. Por fim, um outro estudo que analisou a VFC de pacientes com COVID-19 em estado crítico, revelaram a presença de desequilíbrio autônomo com predominância do sistema parassimpático devido ao esgotamento do tônus simpático (ARAGÓN-BENEDÍ et al., 2021a).

Os mecanismos propostos de disfunção autonômica induzida pela infecção viral incluem a invasão do sistema nervoso central (pelo epitélio olfativo, a partir de terminações nervosas terminais e por transmissão através da barreira hemoencefálica por danos endoteliais) e o envolvimento direto viral do sistema nervoso periférico e autônomo, mediado por toxinas ou imunomediado (BILLMAN, 2013; KALIYAPERUMAL et al., 2021). As implicações clínicas da neuropropensidade do SARS-CoV-2 podem variar de sintomas leves como dor de cabeça, tontura até manifestações graves como convulsões, encefalite, síndrome de Guillain-Barre, assim como disfunção de órgãos vitais, incluindo eventos cerebrovasculares e o sistema cardiovascular (através do SNA), influenciando significativamente o desfecho em pacientes COVID-19 (KALIYAPERUMAL et al., 2021).

A inflamação própria da COVID-19 é um estímulo potente para a produção de renina. Estudos apontam que a inflamação eleva a ativação do SNA simpático o que, por sua vez, estimula receptores β -adrenérgicos tipo 1 das células justaglomerulares renais, incrementando a expressão de renina e a consequente atividade do SRA. Assim, o aumento da descarga autonômica simpática eleva tanto a produção de renina como a própria inflamação. Esse é, portanto, um mecanismo de retroalimentação positiva: a maior produção de renina leva a maior produção de Ag II, que ao se ligar a receptores AT1, pode elevar a atividade inflamatória e a própria atividade nervosa central simpática, que novamente favorece a produção de renina e a inflamação (CAMPBELL, 2003).

Atualmente, surgem na literatura, relatos de disfunção autonômica com sintomas de palpitações inadequadas, fadiga, intolerância ortostática, tontura, nevoeiro cerebral, náusea, ansiedade, hiperidrose, taquicardia ortostática postural e

síncope, podendo estar presentes em até 12 semanas após a infecção pela COVID-19, o que tem sido característico da Síndrome Pós-COVID-19 ou COVID longa(ASARCIKLI et al., 2022; RAJ et al., 2021; SHOUMAN et al., 2021). Os estudos confirmam aumento dos índices de VFC, sugerindo maior tônus parassimpático em relação a pacientes saudáveis, levando à conclusão que a COVID-19, de fato, causa alterações no controle do sistema nervoso autônomo.

2.9 AVALIAÇÃO DA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA

O monitoramento da função autonômica cardíaca de pacientes com COVID-19 pode ajudar a identificar os indivíduos que estão em risco de desenvolver desfechos cardiovasculares adversos ou entender o porquê de disfunções autonômicas após a infecção viral.

A variabilidade da frequência cardíaca (VFC) é considerada a ferramenta mais simples, objetiva, reprodutível e validada para demonstração de disfunção autonômica, além de ser de baixo custo, podendo ser útil na prática clínica como marcador rápido de diagnóstico e prognóstico. As medidas de domínio da frequência e de tempo da VFC são considerados um dos marcadores mais promissores do equilíbrio entre a atividade parassimpática e simpática do sistema nervoso autônomo(KALIYAPERUMAL et al., 2021).

Os índices de domínio de tempo quantificam a quantidade de variabilidade da frequência cardíaca observada durante os períodos de monitoramento que podem variar de menos de 1 minuto a mais de 24 horas. Eles incluem: desvio padrão entre intervalos normais (NN) (SDNN), SDNN index, a raiz quadrada média de intervalo NN diferentes sucessivos (rMSSD), quantidade de intervalos NN consecutivos (NN50), percentual de intervalos NN sucessivos (pNN50) e o índice triangular da VFC. O índice triangular é uma medida geométrica que calcula a integral da densidade do histograma de intervalos RR dividido pela altura. Quando o índice triangular $> 20,42$, o padrão é arritmico(SHAFFER; GINSBERG, 2017).

Índices de domínio da frequência da VFC incluem banda de baixa frequência (LF) e alta frequência (HF). A HF delinea a atividade parassimpática, enquanto a LF

delineia tanto atividade simpática quanto parassimpática, e SDNN, rMSSD e pNN50 descrevem atividade parassimpática. A LF é o único indicador para avaliar a atividade simpática, por isso é aceito como parâmetro que descreve a atividade simpática. Acredita-se que a relação LF/HF representa um marcador do equilíbrio simpatovagal no sistema cardiovascular (MALIK et al., 1996; SHAFFER; GINSBERG, 2017).

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

Avaliar a função endotelial, rigidez arterial e variabilidade da frequência cardíaca em adultos com doenças cardiovasculares pré-existentes hospitalizados pela COVID-19.

3.2 ESPECÍFICOS

- Analisar, de forma não invasiva, a função endotelial e rigidez arterial nos pacientes com doenças cardiovasculares acometidos pela COVID-19;
- Avaliar o controle cardiovascular autonômico por meio das medidas de variabilidade da frequência cardíaca em pacientes com diagnóstico de COVID-19;
- Relacionar as características antropométricas, clínicas e comorbidades com a presença da disfunção endotelial nestes pacientes;
- Confrontar os achados da variabilidade da frequência cardíaca com a alteração na função endotelial nestes pacientes e correlacioná-los;
- Registrar tempo de Unidade de Terapia Intensiva (UTI), tempo de ventilação mecânica, tempo de oxigenoterapia, tempo de internamento hospitalar, eventos cardíacos e complicações clínicas;

4 METODOLOGIA

4.1 DESENHO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo transversal realizado e escrito de acordo o Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE).

4.1.1 Local e período do estudo

Este estudo foi desenvolvido no período de julho de 2020 a fevereiro de 2021 no Hospital Agamenon Magalhães (Recife, Pernambuco) em parceria com o Departamento de Fisioterapia da Universidade Federal de Pernambuco.

4.1.2 População e Amostra

A população do estudo foi composta por pacientes hospitalizados com COVID-19, de ambos os sexos, com idade entre 40 e 60 anos, e histórico de doença cardiovascular (DCV). A nossa amostra foi selecionada por conveniência.

4.1.3 Critérios de elegibilidade

Os critérios de inclusão foram pacientes com DCV prévia que estavam internados pela COVID-19 em estágio II (segundo SIDDIQI e MEHRA, 2020) diagnosticado por reação em cadeia da polimerase com transcriptase reversa (RT-PCR). Para avaliação do estudo, o paciente obrigatoriamente precisava ter teste RT-PCR reagente e estar com até 7 dias de sintomas. Foram consideradas como DCV: Hipertensão arterial sistêmica (Pressão arterial sistólica ≥ 140 mmHg e/ou Pressão arterial diastólica ≥ 90 mmHg) (BARROSO WKS, RODRIGUES CIS, 2021), doença coronariana e insuficiência cardíaca. O diagnóstico das DCVs era confirmado através do registro em prontuário eletrônico ou comprovação médica por documentação prévia trazida pelo paciente como resumo de alta de atendimentos prévios ao internamento, ecocardiograma, teste ergométrico e/ou cateterismo.

Foram excluídos aqueles pacientes que apresentassem comorbidades, como Doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), tabagismo, asma, acidente vascular cerebral prévio, distúrbios psiquiátricos, câncer, histórico de mastectomia, doentes

renais crônicos e aqueles que possuissem marcapasso ou fístula arterio-venosa. Como também, os indivíduos com agitação psicomotora, desconforto respiratório significativo (frequência respiratória > 25 ipm; uso de musculatura acessória da respiração, batimento de asa do nariz), queda de saturação periférica de oxigênio em oximetria de pulso ($SpO_2 < 90\%$), instabilidade hemodinâmica (pressão arterial sistólica < 90 mmhg, queda da pressão arterial sistólica > 40 mmhg, frequência cardíaca > 90 bpm, alteração de consciência e pele fria)(LOBO et al., 2005), em uso de ventilação mecânica invasiva, de droga vasoativa ou outra condição clínica que impedisse a avaliação da função endotelial ou limitasse um posicionamento adequado para avaliação da VFC.

4.1.4 Captação e seleção dos pacientes

Diariamente, era feito levantamento no sistema de prontuário eletrônico do local de coleta de pacientes potencialmente elegíveis. Logo após, um pesquisador se dirigia às enfermarias e unidades de internamento do hospital onde estes pacientes se encontravam, confirmava a elegibilidade e abordava-os informando os objetivos, riscos, benefícios, etapas e procedimentos do estudo. Em seguida, eram convidados a participar do estudo e assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), em caso de aceite. Conforme os pacientes elegíveis aceitavam participar do estudo e os TCLEs fossem assinados, era dado o início das avaliações.

4.2 COLETA DE DADOS

No mesmo dia ou no dia posterior à assinatura do TCLE, a coleta de dados começava. Era dada preferência àqueles pacientes com menor número de dias de sintomas da COVID-19. Os pacientes eram então entrevistados para coleta dos dados pessoais, anamnese, avaliação antropométrica e mensuração dos sinais vitais. Imediatamente após, eram realizadas a tonometria arterial periférica para avaliação da função endotelial, da rigidez arterial e análise da variabilidade da frequência cardíaca.

Em um segundo dia, realizava-se o registro das comorbidades e dos exames laboratoriais correspondentes ao mesmo dia da avaliação da tonometria arterial. Por

fim, os pacientes foram acompanhados até que recebessem alta hospitalar, fossem transferidos para outras instalações/unidades ou viessem a óbito. No dia da alta/óbito/transferência, era verificado em prontuário eletrônico a ocorrência de eventos cardíacos adversos e/ou outras complicações dos pacientes, caso houvessem. Todos os dados foram anotados e organizados em ficha individual do paciente (**APÊNDICE A**).

De uma forma geral, todas essas avaliações foram realizadas em três momentos neste estudo: 1ª Avaliação (Inicial): anamnese, avaliação de sinais vitais e tonometria arterial periférica; 2ª Avaliação: registro de exames laboratoriais; 3ª Avaliação (Final): anotação de intercorrências durante o internamento hospitalar após a alta/transferência/óbito do paciente.

4.2.1 Procedimentos e instrumentos da coleta de dados

4.2.1.1 Anamnese

Os pacientes foram entrevistados para coleta de dados pessoais, história da doença atual, sinais e sintomas da COVID-19, histórico clínico, de internamentos e cirurgias prévias e de comorbidades. Foram consideradas as seguintes comorbidades: Diabetes Mellitus; lesão renal aguda; obesidade; dislipidemia; depressão; doença reumática; histórico familiar de doença arterial coronariana; arritmias; e doença de Chagas.

4.2.1.2 Avaliação antropométrica

As medidas antropométricas foram realizadas através de uma balança digital com estadiômetro de haste móvel, com precisão de 100g (W300 A, Welmy®, Brasil). A partir dessas medidas foi calculado o IMC através do quociente massa corporal/estatura², sendo a massa expressa em quilogramas (Kg) e a estatura em metros (cm).

4.2.1.3 Mensuração dos sinais vitais

Foram mensurados por meio de monitor multiparamétrico (DIXTAL 2023, Manaus, Brasil), os seguintes sinais vitais: frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), pressão arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) e média (PAM) e Saturação periférica de oxigênio (SpO₂).

Foram considerados aptos para as próximas avaliações (função endotelial e variabilidade da frequência cardíaca): frequência respiratória < 25 ipm; saturação periférica de oxigênio em oximetria de pulso (SpO₂) > 90%, estabilidade hemodinâmica (PAS > 90mmHg, PAM > 65 mmHg, nível de consciência com escala de Glasgow 13, pele aquecida), frequência cardíaca < 100 bpm.

4.2.1.4 Avaliação da função endotelial e rigidez arterial

Foi utilizado o EndoPAT-2000® (Itamar Medical versão 3.4.4, Cesareaia, Israel) para tonometria arterial periférica e, conseqüentemente, avaliação da função endotelial e rigidez arterial.

A pressão arterial foi medida no braço dominante antes da avaliação da tonometria. Os pacientes foram então posicionados em decúbito dorsal elevado (30° de inclinação do leito hospitalar) e permaneceram em decúbito dorsal por um tempo mínimo de 20 minutos antes das medições, em uma sala silenciosa. Os indivíduos foram solicitados a permanecer o mais imóvel possível e em silêncio durante todo o período de medição.

Um manguito oclusivo foi colocado dois centímetros acima da fossa cubital no braço não dominante (ou seja, lado estudado), enquanto o braço dominante foi usado como controle (lado controle). Os valores de TAP obtidos do membro contralateral servem como controle para excluir alterações sistêmicas no fluxo sanguíneo (JAKUBOWSKI et al., 2020). Os biossensores foram colocados nas pontas dos dedos de cada dedo indicador. Ao inflar os biossensores registram continuamente a amplitude do pulso refletindo o fluxo sanguíneo. Após medidas basais da amplitude da onda de pulso em cada dedo, o manguito foi inflado até 60 mmHg acima da pressão sistólica aferida antes da avaliação da tonometria (entre 200 e 300 mmHg) para interromper o fluxo arterial por cinco minutos. Passados os cinco minutos, o manguito

foi desinsuflado abruptamente para induzir a hiperemia reativa, e a tonometria de ambos os lados (estudo e controle) foi registrada por pelo menos cinco minutos.

Para a análise final, o RHI, LnRHI e Alx foram calculados usando um algoritmo automático do EndoPAT2000® (Software 3.1.2). Para interpretação dos dados deste estudo, o Alx foi normalizado para uma frequência cardíaca de 75 batimentos por minuto (Alx@75%), afim de eliminar possíveis interferências do sistema nervoso autônomo (também gerado pelo Software do Endopat®. Todo o exame foi conduzido de acordo com as instruções do fabricante e o estudo de Bruno RM et al (2014) foi usado como referência para o valor de corte do índice de hiperemia reativa (IRH $\leq$ 1,67 foi considerado disfunção endotelial).

4.2.1.5 Análise da variabilidade da frequência cardíaca

A VFC foi avaliada concomitantemente à avaliação da função endotelial pelo EndoPAT-2000®. O aparelho avalia as alterações do volume pulsátil com base em formas de onda adquiridas por pletismografia para posteriormente derivar parâmetros de VFC e estimar a sensibilidade do reflexo. O EndoPAT® oferece formas de onda que permitem tendências confiáveis de frequência cardíaca e pressão arterial batimento a batimento para analisar a VFC.

Dentro do domínio da frequência, foram considerados dois componentes espectrais e sua origem fisiológica: baixa frequência (LF: 0,04 a 0,15 Hz; modulação simpática) e alta frequência (HF: 0,15 a 0,4 Hz; modulação parassimpática), além da relação LF/HF(SHAFFER; GINSBERG, 2017). No domínio do tempo, analisou-se a média entre os intervalos NN (MeanNN), o SDNN, o PNN50, as rMSSD e o índice triangular de VFC.

4.2.1.6 Registro de exames laboratoriais

Os exames laboratoriais utilizados neste estudo foram: contagem de plaquetas (através do hemograma), proteína c-reativa (PCR), dímero D e troponina. Estes foram realizados pela equipe do laboratório do hospital e disponibilizados em prontuário eletrônico, não sofrendo influência dos pesquisadores. Foram considerados os

resultados dos exames realizados no mesmo dia da avaliação da função endotelial e VFC.

4.2.1.7 Eventos adversos e desfechos clínicos

Durante todo o internamento, era registrada a necessidade de oxigenoterapia, assim como seu tempo total de uso. Caso houvesse agravo ou complicações do caso clínico, havendo a necessidade de transferência para Unidade de Terapia Intensiva (UTI) e/ou necessidade de ventilação mecânica, o paciente continuava em acompanhamento pela equipe de pesquisadores. Sendo assim, os dados de tempo de internamento em UTI e de ventilação mecânica eram anotados. Qualquer evento cardíaco como arritmias, infarto agudo do miocárdio e parada cardiorrespiratória foi listado. Também foram considerados outras complicações ou quaisquer procedimentos, os quais o paciente teve necessidade como: Angioplastia coronária, disfunção da bioprótese ou substituição da válvula, trombose venosa profunda, tromboembolismo pulmonar, acidente vascular encefálico, convulsão, pneumotórax e derrame pleural. Além disso, houve registro do tempo total de internamento hospitalar dos voluntários e de desfecho como óbito.

4.3. DEFINIÇÃO E CATEGORIZAÇÃO DAS VARIÁVEIS

Quadro 1. Categorização das Variáveis clínicas

Variável	Definição operacional	Classificação	Categorização
Variável independente			
Índice de hiperemia reativa (IRH)	Índice da função endotelial que reflete a reatividade microcirculatória obtida após a oclusão arterial por um determinado tempo e a sua posterior liberação.	IRH $\leq$ 1,67: disfunção endotelial (BRUNO; GORI; GHIADONI, 2014) Função endotelial preservada x Disfunção endotelial	Categórica nominal
Variáveis dependentes			
Rigidez arterial	Quadro caracterizado pelo endurecimento e perda de elasticidade da parede das artérias. Avaliado a partir do índice de aumento para a frequência cardíaca ajustada para 75 batimentos por	Aix@75	Quantitativa Contínua

	minuto (Aix@75)		
Marcadores sanguíneos de coagulação	Conjunto de exames laboratoriais utilizados para analisar e detectar alterações no tempo de coagulação do sangue e outros distúrbios da hemostasia. Valores de referência baseados em (TANG et al., 2020)	Plaquetas < 150: plaquetopenia 150 – 400 mil/mm ³ : normal > 400: plaquetose	Quantitativa contínua
		D-dímero ≤ 0,4 µd/mL: normal > 0,4 µd/mL: alterado	Quantitativa contínua
Troponina	São proteínas estruturais envolvidas na contração das fibras musculares esqueléticas e cardíacas. Quando em níveis alterados no sangue são consideradas marcadores bioquímicos específicos e sensíveis para o diagnóstico de lesão isquêmica do miocárdio. OBS.: Neste estudo foi considerada a troponina T.	≤ 14 ng/L – normal > 14 ng/L - alterada	Quantitativa contínua
Proteína C reativa (PCR)	A proteína C reativa alta surge na maior parte dos processos inflamatórios do corpo humano, podendo estar relacionada com diversas situações como presença de vírus, fungos, bactérias, problemas no fígado, doenças cardiovasculares, dentre outros.	< 3 mg/L: normal 3 a 10 mg/L: alterado >10 mg/L: infecções ou processos inflamatórios mais intenso (KUSHNER; ANTONELLI, 2015)	Quantitativa contínua
Variabilidade da frequência cardíaca	Marcador quantitativo da atividade autonômica cardíaca a partir do registro das oscilações dos intervalos entre cada par de batimentos cardíacos num determinado intervalo de tempo, expressos em intervalos N-N(SHAFFER; GINSBERG, 2017).	Média entre intervalos N-N – MeanNN	Quantitativa Contínua
		Desvio padrão da média de todos os intervalos N-N - SDNN	Quantitativa Contínua
		Porcentagem dos intervalos R-R adjacentes com diferenças de duração maior que 50 ms - PNN50	Quantitativa Contínua
		Raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre os intervalos R-R normais adjacentes - rMSSD	Quantitativa Contínua
		Intervalos entre pulsos no ritmo sinusal normal - NN	Quantitativa Contínua
		Índice Triangular	Quantitativa Contínua

		Alta frequência (HF – high frequency) (0,15 - 0,40 Hz)	Quantitativa Contínua
		Baixa frequência (LF – low frequency) (0,04 - 0,15 Hz)	Quantitativa Contínua
		Relação baixa frequência e alta frequência - Razão LF/HF	Quantitativa Contínua
Necessidade de oxigenoterapia	Uso de oxigênio suplementar por cateter nasal ou máscara não reinalante	Sim x Não	Categórica nominal
Tempo de uso da oxigenoterapia	Tempo de utilização de suporte de oxigênio por cânula nasal ou por máscara não reinalante	Média de tempo de uso em dias	Quantitativa Contínua
Necessidade de ventilação mecânica	Uso de assistência ventilatória mecânica por qualquer causa	Sim x Não	Categórica nominal
Tempo de ventilação mecânica	Tempo de uso de assistência ventilatória mecânico invasiva	Média do tempo de uso em dias	Quantitativa Contínua
Necessidade de admissão em Unidade de Terapia Intensiva (UTI)	Ocupação em Unidade de terapia intensiva devido a evolução grave da doença	Sim x Não	Categórica nominal
Tempo de internamento na UTI	Tempo de ocupação nas Unidades de terapia intensiva dos pacientes admitidos que evoluam com a forma grave da COVID-19	Quantidade de dias	Quantitativa Contínua
Tempo de internamento hospitalar/hospitalização	Tempo de instalação no hospital desde o dia da admissão até a alta hospitalar, transferência ou óbito	Quantidade de dias	Quantitativa Contínua
Incidência de eventos cardíacos adversos	Incidência de algum evento cardíaco adverso como arritmias graves (bloqueio atrioventricular total, fibrilação ventricular, taquicardia ventricular, fibrilação atrial de alta resposta ventricular, infarto agudo do miocárdio ou parada cardiorrespiratória.	Presente x Ausente	Categórica nominal
Mortalidade	Índice demográfico que reflete o número de mortes registradas para essa população	Óbito x Sobrevivente	Categórica nominal

Quadro 2. Categorização das Variáveis de controle

Variável	Definição operacional	Classificação/Unidade	Categorização
Idade	Número de anos completos do nascimento até o momento da entrevista, conforme data do nascimento do prontuário clínico	Anos	Quantitativa Contínua
Sexo	Conjunto de características físicas e funcionais diferenciadas entre a masculinidade e a feminilidade.	Feminino x Masculino	Categórica Nominal
Peso	Expressa a quantidade de matéria que está presente no corpo.	Quilograma (kg)	Quantitativa Contínua
Altura	Dimensão de um corpo considerado verticalmente; medida que vai da base de um corpo até a extremidade.	Centímetros (cm)	Quantitativa Contínua
Índice de Massa Corporal (IMC)	Medida internacional de avaliação do peso de uma pessoa em relação a sua altura, através da fórmula $IMC = \text{peso} / \text{altura}^2$	kg/cm ²	Quantitativa contínua
Circunferência abdominal	Medida da circunferência do tronco na altura da linha umbilical	Centímetros (cm)	Quantitativa contínua
Fração de ejeção	Percentual do volume diastólico final que é ejetado. Estima a função sistólica.	Porcentagem (%) Reduzida $\leq 40\%$; Levemente reduzida 41-49%; Preservada $\geq 50\%$ (HEIDENREICH et al., 2022)	Quantitativa contínua
Saturação periférica de oxigênio (SpO2)	Medida da quantidade de oxigênio que está sendo transportado pelos glóbulos vermelhos no sangue.	Porcentagem (%) Baixa $< 90\%$, em ar ambiente Normal $\geq 90\%$, em ar ambiente (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021)	Quantitativa contínua
Frequência Cardíaca (FC)	Número de batimentos cardíacos por unidade de tempo.	Batimentos por minuto Valores normais: 50 – 100bpm Taquicardia < 50 bpm Bradicardia > 50 bpm (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2016)	Quantitativa contínua
Frequência respiratória (FR)	Número de ciclos respiratórios que ocorrem por minuto, ou seja, o número de inspirações seguido por uma	Incursões respiratórias por minutos (ipm)	Quantitativa contínua

	expiração que pode ser contada em um minuto. Normalmente é em torno de 12-16 respirações por minuto.	Normal ≤ 24 ipm Aumento de frequência respiratória (taquipneia) > 24 ipm (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021)	
Pressão arterial sistêmica (PA)	Pressão arterial máxima do ciclo cardíaco, ocorrendo durante a sístole ventricular (PAS) e a pressão no fim da diástole ventricular (PAD). A pressão média exercida pelo sangue quando ele circula através das artérias, pode ser estimada a partir da PAD e da PAS da seguinte maneira: $PAM = PAD + \frac{1}{3} (PAS - PAD)$	Milímetros de mercúrio (mmHg) Hipertensão arterial: PAS ≥ 140 mmHg e/ou PAD ≥ 90 mmHg (BARROSO WKS, RODRIGUES CIS, 2021)	Quantitativa contínua
Presença de doença cardiovascular	Disfunção que atinge o sistema cardiovascular (coração e vasos sanguíneos).	Sim x Não	Categórica nominal
Comorbidades	Doenças preexistentes que predisõem o paciente a desenvolver outras doenças. Foram consideradas as seguintes comorbidades: Diabetes Mellitus; lesão renal aguda; obesidade; dislipidemia; depressão; doença reumática; histórico familiar de doença arterial coronariana; marca-passo; arritmias; e doença de Chagas.	Sim x Não	Categórica nominal

4.4 ASPECTOS ÉTICOS

O projeto de pesquisa deste estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Pernambuco (Parecer 4.169.772), conforme **ANEXO A**. A coleta de dados foi iniciada apenas após a aprovação deste projeto pela referida Comissão.

Todos os indivíduos que compuseram a população-alvo foram esclarecidos individualmente quanto à pesquisa e procedimentos do estudo e o mesmo ficou responsável pelo seu consentimento à participação como voluntário. Para isso, após lido em voz alta para o mesmo, em caso de aceite, cada participante assinou o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) de acordo com os preceitos éticos da Resolução 466/12 ou 510/16 do Conselho Nacional de Saúde e pode ser visualizado

no **APÊNDICE B**. Vale ressaltar que todos eram esclarecidos quanto à possibilidade de descontinuação do processo a qualquer momento, não havendo ônus de quaisquer espécies. Assim, esta pesquisa está em conformidade com os princípios descritos na Declaração de Helsinque.

As informações obtidas foram analisadas sem divulgação dos dados ou identificação dos indivíduos envolvidos e usadas para fins de estudo e para preenchimento da ficha de avaliação individual do paciente. Os dados clínicos e demográficos coletados serão armazenados em fichas de coleta de dados e mantidos em sigilo e anonimato em uma planilha do Excel em computador pessoal por um período mínimo de 5 anos, sob a responsabilidade da pesquisadora Cláudia Regina da Silva Araújo, cujo número de telefone disponível é (81) 999248064 (residente na Rua Bélem, 160, Jardim Brasil - Olinda - PE) – inscrita no e-mail: claudia.saraujo@ufpe.br.

Os riscos inerentes ao estudo são mínimos devido às formas de avaliações da pesquisa serem não invasivas. A avaliação da função endotelial apresenta o risco de desconforto causado pela compressão no braço ao insuflar o manguito. Além disso, a dispnéia, sintoma comum na COVID-19, pode ocorrer ao solicitar o decúbito dorsal com cabeceira mais baixa (30°) para a coleta de dados da variabilidade da frequência cardíaca. A fim de minimizar algum efeito adverso, os indivíduos só executarão as avaliações quando estáveis clinicamente e, caso o paciente relate ou o avaliador perceba qualquer tipo de desconforto, o teste será interrompido e continuado, após um tempo, caso aceite. Poderá haver risco de constrangimento por parte do paciente/responsável devido ao questionário aplicado na avaliação dos dados pessoais e da história clínica. Para isso, o paciente/responsável será entrevistado apenas por um pesquisador e sem outros profissionais ou acompanhantes na unidade de internamento. Caso o paciente opte por não relatar algum dado, será respeitado. Há ainda a possibilidade de quebra de sigilo e/ou extravio de informações uma vez que o prontuário eletrônico será utilizado. Entretanto, todos os dados obtidos do prontuário eletrônico serão anotados nas fichas de avaliação e em arquivo de computador pessoal em posse apenas do pesquisador principal.

Este projeto trouxe aos pesquisadores a perspectiva de vários impactos positivos para o desenvolvimento científico no enfrentamento da COVID-19 a partir da

construção de evidências científicas acerca do manejo clínico (função endotelial, oxigenação tecidual periférica e tolerância ao exercício) nos pacientes cardiopatas sobreviventes à doença. Além disso, traz benefício direto ao paciente devido à avaliação de possíveis alterações existentes na oxigenação tecidual, marcadores sanguíneos e repercussões cardiovasculares através de equipamentos digitais modernos úteis para nortear o tratamento do paciente avaliado.

4.5 ANÁLISE DOS DADOS

Os pacientes foram divididos em dois grupos de acordo com a função endotelial: função endotelial preservada ou disfunção endotelial. Os dados das características clínicas e demográficas são apresentados como média e intervalo de confiança (paramétricas) ou mediana e intervalo interquartil (não-paramétricas), para as variáveis quantitativas contínuas e frequência relativa e absoluta, para as variáveis categóricas. Os testes de Shapiro-Wilk e Levene foram utilizados para avaliar a normalidade e homogeneidade dos dados.

Para comparar as características de base dos grupos, foi utilizado o teste T para amostras independentes (não-pareado), no caso de distribuição normal das variáveis, e o teste de Mann-Whitney para análises não paramétricas. Para as variáveis categóricas foi utilizado o teste Qui-quadrado ou o teste exato de Fisher para aquelas variáveis que não atingiram a normalidade.

As relações entre disfunção vascular ($\text{LnRHI} \times \text{Alx@75}$) foram feitas pelo coeficiente de correlação de Pearson ou Kendall (devido ao $n < 30$ da amostra), quando aplicado. As correlações foram utilizadas ainda para relacionar dados da função vascular com dados antropométricos e com variáveis da variabilidade da frequência cardíaca ($\text{LnRHI} \times \text{VFC}$; $\text{Alx@75} \times \text{VFC}$). Os valores de interpretação dos coeficientes de correlação foram: $r=0$ (nula), $0 < r \leq 0,3$ (fraca), $0,3 < r \leq 0,6$ (moderada), $0,6 < r \leq 0,9$ (forte), $0,9 < r < 1$ (muito forte) e $r=1$ (perfeita). (CALLEGARI-JACQUES, 2009)

Os dados ausentes foram tratados como análise completa do caso ou exclusão de lista. A análise foi conduzida pelo programa SPSS® Statistics para Windows (IBM Corp, USA, versão 22.0), sendo adotado nível de significância de 95%, considerando um valor de $p < 0,05$ em todos os testes.

4.6 CONFLITO DE INTERESSES

Declaro não haver qualquer conflito de interesses.

5 RESULTADOS

Os resultados, bem como a discussão desta dissertação, serão apresentados na forma de artigo científico, o qual foi fruto desta pesquisa, intitulado “**Endothelial function, arterial stiffness, and heart rate variability of patients with cardiovascular diseases hospitalized due to COVID-19**”, publicado no jornal *Heart & Lung: The Journal of Cardiopulmonary and Acute Care* (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.hrtlng.2022.12.016>), classificado com Qualis B1 (Quadriênio 2013 – 2016) para a área de Educação Física e fator de impacto 2021 3,149. O artigo está exposto no **APÊNDICE C** e escrito conforme normas da revista, citadas no **ANEXO B**.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A COVID-19 está associada a alterações vasculares, podendo resultar em disfunção endotelial e rigidez arterial, e refletir maior gravidade da doença com desfechos clínicos desfavoráveis. Embora alta prevalência de disfunção endotelial neste estudo, a disfunção endotelial não alterou os desfechos clínicos. Porém, nossos achados forneceram evidências adicionais de que a função endotelial avaliada por tonometria periférica à beira do leito parece ser um importante marcador para disfunção endotelial, rigidez arterial e alteração da variabilidade da frequência cardíaca em pacientes doença cardiovascular hospitalizados no estágio II da COVID-19. Apesar de ter sido uma amostra de conveniência, frente às condições de gravidade e à época do estudo (pandemia), o relatório incipiente pode servir como fonte para relevar a importância da avaliação da função endotelial e da variabilidade da frequência cardíaca nos pacientes acometidos pela COVID-19. Mais trabalhos são justificados para melhor entender as implicações vasculares e autonômicas, afim de se obter melhor aplicabilidade clínica destas avaliações, assim como, prevenção e plano de tratamento para estes pacientes.

REFERÊNCIAS

AKIYAMA E et al. Incremental prognostic significance of peripheral endothelial dysfunction in patients with heart failure with normal left ventricular ejection fraction. **J Am Coll Cardiol**, v. 60, n. 18, p. 1778–1786, out. 2012.

AMBROSINO, P. et al. **Clinical assessment of endothelial function in convalescent covid-19 patients undergoing multidisciplinary pulmonary rehabilitation** **Biomedicines**, 2021.

ANNE R. CRECELIUS, JENNIFER C. RICHARDS, GARY J. LUCKASEN, DENNIS G. LARSON, AND F. A. D. Reactive Hyperemia Occurs via Activation of Inwardly-Rectifying Potassium Channels and Na⁺/K⁺ -ATPase in Humans. **Circulation Research**, v. 113, n. 8, p. 1023–32, 2013.

APOORVA JAYARANGAIAH et al. COVID-19 associated coagulopathy - an exacerbated immunothrombosis response. **Clin Appl Thromb Hemost**, v. 26, jul. 2020.

ARAGÓN-BENEDÍ, C. et al. Is the heart rate variability monitoring using the analgesia nociception index a predictor of illness severity and mortality in critically ill patients with COVID-19? A pilot study. **PLoS ONE**, v. 16, n. 5, 1 mar. 2021a.

ARAGÓN-BENEDÍ, C. et al. Is the heart rate variability monitoring using the analgesia nociception index a predictor of illness severity and mortality in critically ill patients with COVID-19? A pilot study. **PLoS ONE**, v. 16, n. 3 March, 1 mar. 2021b.

ASARCIKLI, L. D. et al. Heart rate variability and cardiac autonomic functions in post-COVID period. **Journal of Interventional Cardiac Electrophysiology**, v. 63, n. 3, p. 715–721, 2022.

AUGUSTO, L. S. et al. Vascular function in asthmatic children and adolescents. **Respiratory Research**, v. 18, n. 1, p. 16–21, 2017.

BARROSO WKS, RODRIGUES CIS, B. L. Diretriz Brasileira de Hipertensão - 2020. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 116, n. 3, p. 516–658, 2021.

BENJAMIN, E. J. et al. Clinical Correlates and Heritability of Flow-Mediated Dilation in the Community: The Framingham Heart Study. **Circulation**, v. 109, n. 5, p. 613–619, 2004.

BILLMAN, G. E. The LF_HF ratio does not accurately measure cardiac sympatho-vagal balance. **Frontiers in physiology**, v. 4, p. 26, 20 fev. 2013.

BONETTI, P. O. et al. Noninvasive identification of patients with early coronary atherosclerosis by assessment of digital reactive hyperemia. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 44, n. 11, p. 2137–2141, dez. 2004.

BRANDÃO, S. C. S., ET AL. **Covid-19, imunidade, endotelio e coagulação: Compreenda a interação.** [s.l: s.n.].

BRANT, L. C. C. et al. Reproducibility of peripheral arterial tonometry for the assessment of endothelial function in adults. **Journal of Hypertension**, v. 31, n. 10, p. 1984–1990, 2013.

BRUNO, R. M.; GORI, T.; GHIADONI, L. Endothelial function testing and cardiovascular disease: Focus on peripheral arterial tonometry. **Vascular Health and Risk Management**, v. 10, p. 577–584, 2014.

BRUYNDONCKX, L. et al. Methodological considerations and practical recommendations for the application of peripheral arterial tonometry in children and adolescents. **International Journal of Cardiology**, v. 168, n. 4, p. 3183–3190, 2013.

CALLEGARI-JACQUES, S. M. **Biostatistics: principles and applications.** [s.l: s.n.].

CAMPBELL, D. J. The renin – angiotensin and the kallikrein – kinin systems. v. 35, p. 784–791, 2003.

CASCELLA M, RAJNIK M, A. A. ET AL. **Features, Evaluation, and Treatment of Coronavirus (COVID-19).** [s.l: s.n.].

COSTA, I. B. S. DA S. ET AL. O Coração e a COVID-19 - O que o Cardiologista Precisa Saber. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 114, n. 5, p. 805–816, 2020.

D'ALTO, M. et al. Right ventricular-arterial uncoupling independently predicts survival

in COVID-19 ARDS. **Critical Care**, v. 24, n. 1, 2020.

DEL TURCO, S. et al. COVID-19 and cardiovascular consequences: Is the endothelial dysfunction the hardest challenge? **Thrombosis Research**, v. 196, p. 143–151, 1 dez. 2020.

DRIGGIN, E. et al. Cardiovascular Considerations for Patients, Health Care Workers, and Health Systems During the COVID-19 Pandemic. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 75, n. 18, p. 2352–2371, 2020.

EVANS, P. C. et al. Endothelial dysfunction in COVID-19: A position paper of the ESC Working Group for Atherosclerosis and Vascular Biology, and the ESC Council of Basic Cardiovascular Science. **Cardiovascular Research**, v. 116, n. 14, p. 2177–2184, 2020.

FERRARIO, C. M. et al. Pathways of angiotensin formation and function in the brain. **Hypertension**, v. 15, n. 2, p. I-13- I-19, 1990.

GEORGE GOSHUA, ALEXANDER B PINE, M. M. ET AL. Endotheliopathy in COVID-19-associated coagulopathy: Evidence from a single-center, cross-sectional study. **The Lancet**, n. 7, p. e575-82, 2020.

GHOSH, R. et al. Autonomic dysfunction heralding acute motor axonal neuropathy in COVID-19. **Journal of NeuroVirology**, v. 26, n. 6, p. 964–966, 2020.

GOHA, A. et al. COVID-19 and the heart: An update for clinicians. **Clinical Cardiology**, v. 43, n. 11, p. 1216–1222, 2020.

GUO, T. et al. Cardiovascular Implications of Fatal Outcomes of Patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). **JAMA Cardiology**, v. 5, n. 7, p. 811–818, 2020.

HAMBURG, N. M. et al. Cross-sectional relations of digital vascular function to cardiovascular risk factors in the Framingham heart study. **Circulation**, v. 117, n. 19, p. 2467–2474, 2008.

HEDETOFT, M.; OLSEN, N. V. Evaluation of endothelial function by peripheral arterial tonometry and relation with the nitric oxide pathway. **Nitric Oxide - Biology and**

Chemistry, v. 42, p. 1–8, 2014.

HEIDENREICH, P. A. et al. 2022 AHA/ACC/HFSA Guideline for the Management of Heart Failure: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines. **Circulation**, v. 145, n. 18, p. E895–E1032, 2022.

HESSAMI, A. et al. Cardiovascular diseases burden in COVID-19: Systematic review and meta-analysis. **American Journal of Emergency Medicine**, v. 46, p. 382–391, 2021.

HU Y, SUN J, Z., DAI, H., D.; X., LI, Q., HUANG, ET AL. Prevalence and severity of coronavirus disease 2019 - a systematic review and meta-analysis. **Journal of clinical virology**, v. 127, 2020.

JAKUBOWSKI, M. et al. Profiling the endothelial function using both peripheral artery tonometry (EndoPAT) and Laser Doppler Flowmetry (LD) - Complementary studies or waste of time? **Microvascular Research**, v. 130, 2020.

JIN, Y. et al. **Endothelial activation and dysfunction in COVID-19: from basic mechanisms to potential therapeutic approaches**Signal Transduction and Targeted Therapy, 2020.

JUD, P. et al. Evaluation of Endothelial Dysfunction and Inflammatory Vasculopathy After SARS-CoV-2 Infection—A Cross-Sectional Study. **Frontiers in Cardiovascular Medicine**, v. 8, n. October, p. 1–14, 2021.

JUD, P.; KESSLER, H. H.; BRODMANN, M. Case Report: Changes of Vascular Reactivity and Arterial Stiffness in a Patient With Covid-19 Infection. **Frontiers in Cardiovascular Medicine**, v. 8, n. May, p. 1–4, 2021.

KALIYAPERUMAL, D. et al. Characterization of cardiac autonomic function in COVID-19 using heart rate variability: A hospital based preliminary observational study. **Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology**, v. 32, n. 3, p. 247–253, 2021.

KAR, M. Vascular Dysfunction and Its Cardiovascular Consequences During and After

COVID-19 Infection: A Narrative Review. **Vascular Health and Risk Management**, v. 18, p. 105–112, 2022.

KERBL, R.; ZEPP, F. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) Situation Report. **World Health Organization**, v. 169, n. 4, p. 308–311, 2021.

KOCHI, A. N. et al. Cardiac and arrhythmic complications in patients with COVID-19. **Journal of Cardiovascular Electrophysiology**, v. 31, n. 5, p. 1003–1008, 2020.

KUMAR, N. et al. The cosevast study outcome: Evidence of covid-19 severity proportionate to surge in arterial stiffness. **Indian Journal of Critical Care Medicine**, v. 25, n. 10, p. 1111–1117, 2021.

KUSHNER, I.; ANTONELLI, M. J. What should we regard as an elevated c-reactive protein level? **Annals of Internal Medicine**, v. 163, n. 4, p. 326–327, 2015.

LOBO, S. M. A. et al. Consenso brasileiro de monitorização e suporte hemodinâmico. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 17, n. 4, 2005.

MADJID M, SAFAVI-NAEINI P, SOLOMON SD, V. Potential Effects of Coronaviruses on the Cardiovascular System - a Review. **JAMA Cardiol.**, v. 5, n. 7, p. 831–840, 2020.

MALIK, M. et al. Heart rate variability: Standards of Measurement, Physiological. **European Heart Journal**, v. 17, p. 354–381, 1996.

MATSUE Y et al. Endotelial dysfunction measured by peripheral arterial tonometry predicts prognosis in patients with heart failure preserved ejection fraction. **International Journal of Cardiology**, v. 168, n. 1, p. 36–40, 2013.

MENDES-PINTO, D.; RODRIGUES-MACHADO, M. DA G. Applications of arterial stiffness markers in peripheral arterial disease. **J Vasc Bras**, v. 18, p. e20180093, 2019.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Diretrizes Brasileiras para Tratamento Hospitalar do Paciente com COVID-19.**

MOERLAND, M. et al. Evaluation of the endoPAT as a tool to assess endothelial function. **International Journal of Vascular Medicine**, v. 2012, 2012.

PANIZ-MONDOLFI, A. et al. Central nervous system involvement by severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2). **Journal of Medical Virology**, v. 92, n. 7, p. 699–702, 2020.

PERICO L, BENIGNI A, CASIRAGHI F, NG LFP, RENIA L, R. G. Immunity, endothelial injury and complement induced coagulopathy in COVID-19. **Nat Rev Nephrol.**, v. 17, n. 1, p. 46–64, 2021.

PETTO, J. et al. Interação entre SARS-COV-2 e o sistema Renina Angiotensina. **Revista Pesquisa em Fisioterapia**, v. 11, n. 1, p. 198–210, 2021.

RAJ, S. R. et al. Long-COVID postural tachycardia syndrome: an American Autonomic Society statement. **Clinical Autonomic Research**, v. 31, n. 3, p. 365–368, 2021.

RATCHFORD, S. M. et al. Vascular Alterations Among Young Adults with SARS-CoV-2.pdf. **Am J Physiol Heart Circ Physiol** , v. 320, n. 1, p. H404–H410, 2021.

REUDELHUBER, T. L.; BERNSTEIN, K. E.; DELAFONTAINE, P. Is angiotensin II a direct mediator of left ventricular hypertrophy? Time for another look. **Hypertension**, v. 49, n. 6, p. 1196–1201, 2007.

RIOU, M. et al. Reduced Flow-Mediated Dilatation Is Not Related to COVID-19 Severity Three Months after Hospitalization for SARS-CoV-2 Infection. **Journal of Clinical Medicine**, v. 10, n. 6, p. 1318, 2021.

RODILLA E; LÓPEZ-CARMONA MD; CORTES X. Impact of arterial stiffness on all-cause mortality in patients hospitalized with COVID-19 in Spain. **Hypertension**, v. 77, n. 3, p. 856–867, 2021.

ROSENBERRY, R.; NELSON, M. D. Reactive hyperemia: A review of methods, mechanisms, and considerations. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.**, v. 318, n. 3, p. R605–R618, 1 mar. 2020.

RUBINSHTEIN, R. et al. Assessment of endothelial function by non-invasive peripheral arterial tonometry predicts late cardiovascular adverse events. **European Heart Journal**, v. 31, n. 9, p. 1142–1148, 2010.

SAEED, S.; MANCIA, G. Arterial stiffness and COVID-19: A bidirectional cause-effect

relationship. **Journal of Clinical Hypertension**, v. 23, n. 6, p. 1099–1103, 2021.

SAÚDE, M. DA. **Boletim Epidemiológico especial: Doença pelo Coronavírus - COVID-19**.

SCHNAUBELT, S. et al. Arterial stiffness in acute COVID-19 and potential associations with clinical outcome. **Journal of Internal Medicine**, v. 290, n. 2, p. 437–443, 2021.

SCHOLZ, J. R. et al. COVID-19, renin-angiotensin system, angiotensin-converting enzyme 2, and nicotine: What is the interrelation? **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 115, n. 4, p. 708–711, 2020.

SHAFFER, F.; GINSBERG, J. P. **An Overview of Heart Rate Variability Metrics and Norms** **Frontiers in Public Health**, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5624990/>>. Acesso em: 9 set. 2021

SHAH, B. et al. Heart rate variability as a marker of cardiovascular dysautonomia in post-COVID-19 syndrome using artificial intelligence. **Indian Pacing and Electrophysiology Journal**, jan. 2022.

SHOUMAN, K. et al. Autonomic dysfunction following COVID-19 infection: an early experience. **Clinical Autonomic Research**, v. 31, n. 3, p. 385–394, 2021.

SIDDIQI, H.; MEHRA, M. COVID-19 illness in native and immunosuppressed states: A clinical-therapeutic staging proposal. **J Heart Lung Transplant**, v. 39, n. 5, p. 405–407, 2020.

SIRIPANTHONG B, NAZARIAN S, MUSER D, ET AL. Recognizing COVID-19–related myocarditis: The possible pathophysiology and proposed guideline for diagnosis and management. **Heart Rhythm**, v. 17, n. 9, 2020.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. III Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre análise e emissão de laudos eletrocardiográficos. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 106, n. 4 Suppl 1, 2016.

SOUTH, A. M. et al. COVID-19, ACE2, and the cardiovascular consequences. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 318, p. 1084–1090, 2020.

STAWICKI SP, JEANMONOD R, M. A. The 2019–2020 Novel Coronavirus - Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 - Pandemic. **J Global Infect Dis**, v. 12, p. 47–93, 2020.

SZEGHY, R. E. et al. Carotid stiffness, intima–media thickness and aortic augmentation index among adults with SARS-CoV-2. **Experimental Physiology**, v. 10.1113, n. EP089481, 2021.

TANG, N. et al. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 18, n. 4, p. 844–847, 29 abr. 2020.

VAN BORTEL LM, LAURENT S, BOUTOUYRIE P, ET AL. Expert consensus document on the measurement of aortic stiffness in daily practice using carotid-femoral pulse wave velocity. **Journal of Hypertension**, v. 30, n. 3, 2012.

VARGA, Z. et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. **The Lancet**, v. 395, n. 10234, p. 1417–1418, 2 maio 2020.

VLACHOPOULOS, C.; AZNAOURIDIS, K.; STEFANADIS, C. Prediction of Cardiovascular Events and All-Cause Mortality With Arterial Stiffness. A Systematic Review and Meta-Analysis. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 55, n. 13, p. 1318–1327, 2010.

WU C, CHEN X, CAI Y, ET AL. Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. **The Journal of Emergency Medicine**, v. 58, n. 4, p. 713–714, 2020.

YAMAOKA-TOJO, M. Endothelial Function for Cardiovascular Disease Prevention and Management. **International Journal of Clinical Cardiology**, v. 4, n. 3, 2017.

APÊNDICE A – FICHA DE AVALIAÇÃO INDIVIDUAL

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA**



FICHA DE AVALIAÇÃO

DATA DE AVALIAÇÃO: ____/____/____

PRONTUÁRIO: _____

DADOS PESSOAIS

NOME: _____;

DATA DE NASCIMENTO: ____/____/____ IDADE: _____; SEXO: _____;

RG ou CPF: _____;

ETNIA: Branco () Negro () Pardo () Oriental ()

ESCOLARIDADE: Analfabeto () Fundamental incompleto () Fundamental completo () EM incompleto () EM completo () Superior incompleto () Superior completo ()

ENDEREÇO: _____;

TELEFONE: (____) _____;

ADMISSÃO NO HOSPITAL: ____/____/____ INÍCIO DOS SINTOMAS: ____/____/____

TESTE PARA COVID-19

		Data	Local	Resultado
	RT-PCR			

SINTOMAS COVID-19

	Tosse seca		Hipo/Anosmia		Dor de cabeça		OUTROS
	Febre		Hipo/Ageusia		Diarréia		
	Dispneia		Fadiga		Vômito		

COMORBIDADES

	Diabetes Melitus		AVC prévio		Obesidade		Dist. tireóide
	Tabagismo		TRM		Dislipidemia		Câncer
	Alcoolismo		DAOP		Depressão		SIDA

	TB prévia		DRC		D.psiquiátricos		HD
	Asma		LRA		D. reumáticas		
	DPOC		DHC		Dis. coagulação		

FUMANTE () EX-FUMANTE () MAÇOS ANO _____

DOENÇAS CARDIOVASCULARES

	HAS		DAC		ICC		OUTRAS
--	-----	--	-----	--	-----	--	--------

ECO: Data: ____/____/____ FE: _____

CATE: Data: ____/____/____

Laudos: _____

Outro exame de imagem/avaliação.: _____

MEDICAÇÕES EM USO

Nome	Dosagem	Posologia

EXAME FÍSICO

PESO: _____ ALTURA: _____ IMC: _____

SINAIS VITAIS

FC: _____ bpm; SpO2: _____%; FR: _____ ipm; PA _____ X _____ () mmHg; Tc: _____ °C;

SUPOORTE VENTILATÓRIOCNO₂ () _____ L/min Máscara com reservatório () _____ L/min () Ar Ambiente**ENDOPAT**

(DATA: ____/____/____)

IRH _____ LnRHI _____ Alx _____ Alx@75 _____

VARIABILIDADE DA FC

(DATA: ____/____/____)

MeanNN _____ SDNN _____ SDANN _____ rMSSD _____ NN50 _____ PNN50 _____

Triangular Index _____ LF _____ HF _____ LF/HF _____

Tempo inicial: _____ Tempo final: _____

MARCADORES SANGUÍNEOS

	D1	D7
Data		
Coagulograma		
Plaquetas		
TC – tempo de coagulação		
TS – tempo de sangramento		
TP – tempo de protrombina		
TTPa		
INR		
Marcadores sanguíneos		
Fibronogênio		
PCR		
D-dímero		
Troponina		

DESFECHOS CLÍNICOS

Data da alta hospitalar: _____ Tempo de internamento: _____

	Oxigenoterapia	Tempo de uso:
	Evento cardíaco	Qual:
	Complicações	Qual:
	AVM	Tempo de AVM:
	UTI	Tempo de UTI:
	Óbito	

APÊNDICE B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (PARA PACIENTES COM IDADE DE 18 a 60 ANOS)

Convidamos o (a) Sr. (a) para participar como voluntário (a) da pesquisa **Avaliação da função endotelial e desfechos clínicos em pacientes com doenças cardiovasculares acometidos pela COVID-19**, que está sob a responsabilidade do (a) pesquisador (a) **Cláudia Regina da Silva Araújo** vinculado ao Laboratório de Fisioterapia cardiopulmonar (LACAP) da Universidade Federal de Pernambuco na Av. Jorn. Aníbal Fernandes, 173 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50740-560, tendo como contato o número (81) 999248064 e o e-mail claudia.saraujo@ufpe.br.

Também participam desta pesquisa os pesquisadores: **Juliana Andrade Ferreira de Souza** (contato: (81) 991891084), **Armele Dornela de Andrade** (contato: (81) 987818965), **Maria Inês Remígio de Aguiar** (contato: (81) 999547557), **Simone Cristina Soares Brandão** (contato: (81) 988762314), estando sob a orientação de: **Daniella Cunha Brandão** no telefone: (81) 981359335, e-mail daniella.brandao@ufpe.br.

Todas as suas dúvidas podem ser esclarecidas com o responsável por esta pesquisa. Apenas quando todos os esclarecimentos forem dados e você concorde com a realização do estudo, pedimos que rubriche as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma via lhe será entregue e a outra ficará com o pesquisador responsável.

O (a) senhor (a) estará livre para decidir participar ou recusar-se. Caso não aceite participar, não haverá nenhum problema, desistir é um direito seu, bem como será possível retirar o consentimento em qualquer fase da pesquisa, também sem nenhuma penalidade.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

- Esta pesquisa está sendo desenvolvida a partir da necessidade de conhecer melhor os efeitos causados pela doença do novo coronavírus, a COVID-19, atual pandemia que vem afetando milhões de pessoas no mundo. Grande quantidade de pacientes afetados pela COVID-19 vem apresentando trombose, principalmente aqueles que já tinham anteriormente doenças no coração e nos vasos. Assim, o objetivo desse estudo é saber

o impacto que o vírus causa no interior dos vasos sanguíneos nos pacientes com a forma mais grave da doença. Para isso, visitaremos o leito de internamento dentro do Hospital São Marcos e, sem necessidade de sair do quarto, será realizada avaliação através de perguntas da história da COVID-19 (quando começaram os sintomas, o que ainda está apresentando de sintomas e se tinha alguma doença antes da COVID-19). Após esse questionamento, o pesquisador irá medir peso e altura, e depois a frequência de batimentos do coração e o nível de oxigênio no corpo através de um aparelho digital que envolve a ponta do dedo do paciente sem apertar e sem causar dor, tendo o resultado em no máximo 2 minutos. Logo após orientaremos a deitar na cama e será feito o teste de variação dos batimentos do coração através de uma cinta colocada no tórax e de um relógio no pulso, os quais ficarão no seu corpo cerca de 40 minutos. Neste momento, vamos orientar a não conversar, não se mover, evitar tossir ou dormir durante a coleta dos dados. Por fim, ainda deitado na cama, será vista a função dos vasos através de dois sensores, 1 em cada dedo indicador, e um manguito de pressão no braço não dominante. Insuflaremos o manguito como estivesse medindo a pressão arterial e após 5 minutos, desinsuflamos o manguito. No mais, acompanharemos os exames de sangue no prontuário eletrônico, no sétimo dia e no décimo quarto dia, após estas avaliações através dos exames realizados de rotina pela equipe do hospital.

- **RISCOS:** Todos os testes e avaliações são comprovadamente seguros, porém podem causar alguns desconfortos. A avaliação da função dos vasos apresenta o risco de aperto no braço ao insuflar o manguito de pressão. Além disso, a falta de ar, sintoma comum na COVID-19, pode ocorrer ao solicitar que fique deitado com a barriga voltada para cima. Caso o paciente diga ou o avaliador perceba qualquer tipo de desconforto, o teste será interrompido e continuado, após um tempo, caso aceite. Poderá ainda se sentir constrangido quando formos perguntar os dados pessoais e o que aconteceu desde que a doença começou. Durante essa entrevista, só terá um avaliador com o Sr(a)., mas se preferir não dizer será respeitado. Há ainda a possibilidade de extravio das informações do seu prontuário. Para isso, seus dados serão anotados nas fichas de avaliação e num computador que apenas os pesquisador principal e orientador terão acesso.
- **BENEFÍCIOS:** Este projeto apresenta benefício direto para o (a) senhor (a) que não está em monitorização dos batimentos do coração devido a avaliação de possíveis alterações existentes no oxigênio do sangue, nos vasos ou algum problema no coração através de equipamentos digitais modernos, que será útil para nortear seu tratamento. Além disso, a pesquisa apresenta a perspectiva de vários impactos positivos para o desenvolvimento

científico frente a COVID-19, como ajudar na construção de conhecimento para o tratamento mais adequado dos pacientes com doença de coração e dos vasos que tiveram a forma mais grave da COVID-19 oferecendo melhores condições física, mental e social, reduzindo o risco de morte e outros eventos relacionados a doença.

Esclarecemos que os participantes dessa pesquisa têm plena liberdade de se recusar a participar do estudo e que esta decisão não acarretará penalização por parte dos pesquisadores. Todas as informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Os dados coletados nesta pesquisa (ficha de avaliação da história clínica, resultado de exames de sangue e gasometria arterial, laudo da avaliação endotelial e da variabilidade da frequência cardíaca) ficarão armazenados em pastas do tipo catálogo de uso próprio e em documento do Excel em computador pessoal destinado à atividades acadêmicas, sob a responsabilidade do pesquisador **Cláudia Regina da Silva Araújo**, no endereço Rua Bélem, nº 160, Jardim Brasil II, Olinda – PE pelo período de mínimo 5 anos após o término da pesquisa.

Nada lhe será pago e nem será cobrado para participar desta pesquisa, pois a aceitação é voluntária, mas fica também garantida a indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extra-judicial. Se houver necessidade, as despesas para a sua participação serão assumidas pelos pesquisadores (ressarcimento de transporte e alimentação).

Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, o (a) senhor (a) poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: **(Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, sala 4 - Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel.: (81) 2126.8588 – e-mail: cepccs@ufpe.br).**

(assinatura do pesquisador)

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO (A)

Eu, _____, CPF _____, abaixo assinado, após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e de ter tido a oportunidade de conversar e ter esclarecido as minhas dúvidas com

o pesquisador responsável, concordo em participar do estudo **Avaliação da função endotelial e desfechos clínicos em pacientes com doenças cardiovasculares acometidos pela COVID-19** como voluntário(a). Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) pelo(a) pesquisador (a) sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção do meu acompanhamento/assistência.

Local e data _____

Assinatura do participante: _____

Impressão
digital
(opcional)

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e o aceite do voluntário em participar. (02 testemunhas não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome:	Nome:
Assinatura:	Assinatura:

APÊNDICE C – ARTIGO

Journal Pre-proof

Endothelial function, arterial stiffness and heart rate variability of patients with cardiovascular diseases hospitalized due to COVID-19



Cláudia Regina da Silva Araújo B.Sc , Juliana Fernandes PhD ,
Débora Sidrônio Caetano MD ,
Ana Eugênia Vasconcelos do Rêgo Barros MD ,
Juliana Andrade Ferreira de Souza PhD ,
Maria da Glória Rodrigues Machado PhD ,
Maria Inês Remígio de Aguiar PhD ,
Simone Cristina Soares Brandão PhD , Shirley Lima Campos PhD ,
Arnele de Fatima Dornelas de Andrade PhD ,
Daniella Cunha Brandão PhD

PII: S0147-9563(22)00303-X
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.hrtlng.2022.12.016>
Reference: YMHL 2128

To appear in: *Heart & Lung*

Received date: 5 May 2022
Revised date: 19 December 2022
Accepted date: 27 December 2022

Please cite this article as: Cláudia Regina da Silva Araújo B.Sc , Juliana Fernandes PhD ,
Débora Sidrônio Caetano MD , Ana Eugênia Vasconcelos do Rêgo Barros MD ,
Juliana Andrade Ferreira de Souza PhD , Maria da Glória Rodrigues Machado PhD ,
Maria Inês Remígio de Aguiar PhD , Simone Cristina Soares Brandão PhD ,
Shirley Lima Campos PhD , Arnele de Fatima Dornelas de Andrade PhD , Daniella Cunha Brandão PhD ,
Endothelial function, arterial stiffness and heart rate variability of patients with cardiovascular diseases
hospitalized due to COVID-19, *Heart & Lung* (2022), doi: <https://doi.org/10.1016/j.hrtlng.2022.12.016>

This is a PDF file of an article that has undergone enhancements after acceptance, such as the addition of a cover page and metadata, and formatting for readability, but it is not yet the definitive version of record. This version will undergo additional copyediting, typesetting and review before it is published in its final form, but we are providing this version to give early visibility of the article. Please note that, during the production process, errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

© 2022 Published by Elsevier Inc.

Endothelial function, arterial stiffness and heart rate variability of patients with cardiovascular diseases hospitalized due to COVID-19

Abstract

Background: The novel coronavirus disease (COVID-19) may cause vascular (e.g., endothelial dysfunction, and arterial stiffness), cardiac, autonomic (e.g., heart rate variability [HRV]), and systemic inflammatory response via direct viral attack, hypoxia-induced injury, or immunological dysregulation, especially in those patients with pre-existing cardiovascular diseases (CVD). However, to date, no study has shown prevalence of endothelial dysfunction, arterial stiffness and heart rate variability assessed by bedside peripheral arterial tonometry in patients with previous CVD hospitalized in the acute phase of COVID-19. **Objective:** This study aimed to assess the prevalence of endothelial dysfunction, arterial stiffness, and altered HRV in patients with CVD hospitalized due to COVID-19. **Methods:** This cross-sectional study was conducted from July 2020 to February 2021. Included male and female adult patients aged 40 to 60 years with previous CVD and diagnosed with COVID-19. Anthropometric data, comorbidities, and blood tests were analyzed. Endothelial function, arterial stiffness, and HRV were assessed using peripheral arterial tonometry (PAT), and the statistical significance was set at 5%. **Results:** Fourteen (51.8%) patients presented endothelial dysfunction (reactive hyperemia index = 1.2 ± 0.3) and enhancement in the high-frequency component of HRV ($p < 0.05$). There was a high prevalence of endothelial dysfunction, especially in patients with chronic heart failure (10 (71.4%)). Patients with preserved endothelial function showed a high augmentation index normalized to a heart rate of 75 bpm ($p < 0.01$), suggesting arterial stiffness. **Conclusion:** Patients with CVD hospitalized due to COVID-19 presented endothelial dysfunction assessed using PAT, which could be used as a biomarker for arterial stiffness and

altered HRV. The possibility of detecting vascular and autonomic changes during phase II of COVID-19 may help to prevent possible long-term complications.

Keywords: Endothelium; vascular stiffness; Coronavirus infections; cardiovascular disease.

Abbreviations list

AIx: Augmentation index

AIx@75%: Augmentation index normalized to a heart rate of 75 beats per minute

CHF: chronic heart failure

COVID-19: novel coronavirus disease

CVD: cardiovascular diseases

HF: high frequency

HRV: heart rate variability

LF/HF: low and high ratio

LF: low frequency

LnRHI: natural logarithm of reactive hyperemia index

MeanNN: mean of NN-intervals

NN: normal sinus rhythm pulse intervals

PAT: Peripheral arterial tonometry

PAT: peripheral artery tonometry

PNN50: percentage of successive NN intervals that differ by more than 50 ms

RHI: Reactive hyperemia index

RMSSD: root-mean-square of successive differences

SDNN: standard deviation of NN-intervals

SpO2: Peripheral oxygen saturation

Highlights

- Patients with CVD in stage II (pulmonary phase) of COVID-19 had a high prevalence of endothelial dysfunction;
- Arterial stiffness are present in patients with CVD affected by COVID-19;
- Endothelial dysfunction was correlated with enhancement in the high-frequency component of HRV.

Introduction

SARS-CoV-2 is the etiologic agent of the coronavirus disease 2019 (COVID-19), affecting mainly the respiratory system. However, clinical and epidemiological evidence suggests it also impairs the cardiovascular system (e.g., myocardial injuries, myocarditis, stress cardiomyopathy, heart failure, shock, and arrhythmia)^{1–3}. Patients with increased inflammatory markers (e.g., diabetes mellitus and obesity) and cardiovascular diseases (CVD) with high serum levels or non-regulated expression of angiotensin-converting enzyme II present greater severity of COVID-19⁴.

COVID-19 may impair the cardiovascular system directly via viral toxicity or indirectly (e.g., hypoxemia, imbalance between high metabolic demand and low cardiac store, stimulation of sympathetic nervous system, thrombogenesis, systemic inflammation, and dysregulated

immune and renin-angiotensin system)^{1,2}. SARS-CoV-2 acts in angiotensin-converting enzyme II receptors (the main receptor for infection), inhibiting the conversion of angiotensin II to angiotensin 1-7 and triggering harmful events to the vascular wall (e.g., endothelial dysfunction, increased platelets aggregation, and endothelial thrombogenic activity)^{3,5}.

Viral attacks decrease nitric oxide bioavailability (i.e., by reducing production or increasing degradation by reactive oxygen species or both) and trigger immunological reactions, unbalancing the vascular homeostasis, altering the vascular wall, and inhibiting anti-proliferative, antithrombotic, and antiatherogenic phenotypes⁶. Endothelial dysfunction is observed during and after COVID-19⁷⁻¹⁰. After weeks of the infection, an impaired systemic vascular function was also observed in healthy adults^{8,11}. Consequently, these alterations due to COVID-19 may lead to arterial stiffness even in the acute phase^{12,13}.

In this context, endothelial function assessment is recommended during the follow-up of patients with COVID-19 to detect vascular changes and possible long-term complications^{11,14}. Endothelial function can be assessed using peripheral artery tonometry (PAT), which is new, noninvasive, reproducible, and clinically accessible. PAT is a quantitative and operator-free clinical test with a standardized method, automated analysis, and reproducible data^{15,16}. It can also assess arterial stiffness using the augmentation index (Aix). The Aix is widely used as an index of pulse wave reflection using the pulse waveform at rest as a reference. Lower Aix reflects better arterial elasticity¹⁷.

Angiotensin-II enhances the sympathetic autonomic tonus in the central nervous system by interacting with angiotensin 1 receptors (AT₁)¹⁸. Autonomic dysfunctions were observed after COVID-19 infection, including palpitations, fatigue, orthostatic intolerance, dizziness, hyperhidrosis, postural orthostatic tachycardia, and syncope^{19,20}. Thus, monitoring the cardiac autonomic function of patients with COVID-19 may help diagnose adverse cardiovascular

outcomes and autonomic dysfunctions. Heart rate variability (HRV) is a simple, objective, reproducible, low-cost, and validated tool to assess autonomic dysfunction, being useful in clinical practice as a rapid marker for diagnosis and prognosis²¹.

Literature lacks studies on vascular and autonomic dysfunctions in patients with CVD hospitalized due to COVID-19. No study showed prevalence of vascular function changes (i.e., endothelial function and markers of arterial stiffness) and heart rate variability evaluated by bedside PAT in patients with previous cardiovascular diseases hospitalized due to COVID-19. Thus, this study aimed to assess endothelial function, arterial stiffness, and HRV of adult patients with CVD hospitalized due to COVID-19.

Methods

A cross-sectional study was conducted according to the Strengthening the Report of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) and the Declaration of Helsinki and approved by the research ethics committee of the Federal University of Pernambuco (no. 4.169.772). Data were collected between July 2020 and February 2021 from a convenience sample in the Hospital Agamenon Magalhães (Pernambuco, Brazil) along the Department of Physical Therapy of the Federal University of Pernambuco.

Adult patients of both sexes aged between 40 and 60 years with pre-existing CVD (i.e., hypertension, coronary disease, and heart failure) and stage II of COVID-19 (RT-PCR) (SIDDIQI and MEHRA, 2020) were included⁶. Patients with the following conditions were excluded: chronic obstructive pulmonary disease, asthma, previous stroke, psychiatric disorder, cancer; mastectomy, chronic kidney disease, pacemakers or arteriovenous fistula, psychomotor agitation; significant respiratory problems (respiratory frequency > 25 rpm, use of accessory muscles in respiration, nasal flaring, decreased peripheral oxygen saturation ($SpO_2 < 90\%$) in

pulse oximetry), hemodynamic instability (systolic blood pressure < 90 mmHg, drop in systolic blood pressure > 40 mmHg, heart rate > 90 bpm, decreased level of consciousness, or cold skin), invasive or non invasive mechanical ventilation, or other clinical condition hindering adequate positioning for HRV assessment or endothelial function.

Patients were invited to participate in the study, informed about all stages, proceedings, possibility of interruption at any moment, and signed the informed consent form. Data were collected in the same or next day. Patients with short period of COVID-19 symptoms were prioritized.

In one day, patients were interviewed to collect anamnesis, medical history, signs and symptoms of COVID-19, comorbidities, personal and anthropometric data, and vital signs. Comorbidities (e.g., diabetes mellitus, acute kidney injury, obesity, dyslipidemia, depression, rheumatic disease, family history of coronary artery disease, arrhythmias, and Chagas disease) were also checked on medical records. Next, PAT assessed endothelial function, arterial stiffness, and HRV; and blood tests and drugs were recorded. Patients were followed-up until hospital discharge, transference to other units, or death, and adverse cardiac events or other complications were verified on medical records on the last day.

We used a digital scale and mobile stadiometer (Welmy® W300, São Paulo, Brazil) to assess anthropometric measures and a multi-parameter monitor (DIXTAL 2023, Manaus, Brazil) to assess vital signs.

Blood pressure was measured from the dominant arm five minutes before PAT. PAT is a noninvasive method for assessing pulse wave amplitude in response to reactive hyperemia. It was conducted using the EndoPAT-2000® (Itamar Medical version 3.4.4, Cesareia, Israel), a pneumatic plethysmograph that applies uniform pressure over the distal finger and assesses changes in pulsatile arterial volume. Patients were placed in a quiet room, positioned in elevated

dorsal decubitus (30° of bed inclination) for at least 20 minutes before assessments, and requested to remain as quiet as possible. An occlusive cuff was positioned two centimeters above the cubital fossa in the non-dominant arm (i.e., the assessed arm), while the dominant arm was the control. Biosensors were positioned at the tip of both index fingers. After assessing the pulse wave amplitude in each finger, the cuff was inflated 60 mmHg above systolic arterial pressure (200 to 300 mmHg) to interrupt the arterial flux for five minutes. The cuff was abruptly deflated to induce reactive hyperemia, and PAT of both arms was recorded for at least five minutes^{22,23}. The reactive hyperemia index (RHI) was calculated as the ratio between hyperemic and baseline pressures in the assessed and control arms. RHI values under 1.67 (or 0.51 in the natural logarithmic [LnRHI]) indicated endothelial dysfunction²².

The EndoPAT-2000® (version 3.1.2) automatically calculated AIX based on the rest pulse waveform. AIX is described as the difference of pressure between the reflection wave peak (P2) and the systolic wave peak (P1), expressed as the percentage of P1 by the formula ($AIX = \frac{P2-P1}{P1} \times 100$). AIX was normalized to a heart rate of 75 bpm (AIX@75) for final analysis. The algorithm of EndoPAT-2000® software also automatically calculated LnRHI and AIX@75¹⁷.

HRV was also assessed using the EndoPAT-2000® via changes in pulsative volume based on waveforms from the plethysmography to derivate HRV parameters and estimate reflex sensibility. The frequency domain considers two spectral components and physiological origins: low-frequency (LF; 0.04 to 0.15 Hz; sympathetic modulation) and high-frequency (HF; 0.15 to 0.40 Hz; parasympathetic modulation). The LF/HF ratio reflects the sympathetic balance. The time domain considers the mean of normal sinus rhythm pulse-intervals (MeanNN), the standard deviation of NN-intervals (SDNN), percentage of successive NN-intervals above 50 ms (PNN50), root-mean-square of successive differences (RMSSD) of NN-

intervals, and triangular index. RMSSD represents the predominant parasympathetic modulation in cardiac function²⁴.

Blood tests (i.e., platelets, C-reactive protein, D-dimer, and troponin) were collected during hospitalization on the same day of PAT. We recorded cardiac events (arrhythmia, acute heart infarction, and cardiorespiratory arrest) and other complications (coronary angioplasty, bioprosthetic valve dysfunction, valve replacement, deep venous thrombosis, pulmonary thromboembolism, stroke, convulsion, pneumothorax, and pleural effusion). The need for oxygen therapy and invasive mechanical ventilation, transference to the intensive care unit, and hospitalization duration were also recorded.

Patients were divided according to endothelial function into preserved and dysfunctional groups. Quantitative variables were presented as mean and 95% confidence interval or median and interquartile range, and qualitative variables were presented as relative or absolute frequency. Shapiro-Wilk and Levene tests verified data normality. Unpaired t-test and Mann-Whitney test compared, respectively, parametric and non-parametric data. The Chi-square test compared qualitative variables, and Fisher's exact test compared variables without normal distribution. Pearson's or Kendall ($n < 30$) rank correlation coefficient analyzed correlations between vascular function and HRV (LnRHI vs. HRV; AIx@75 vs. HRV) and anthropometric data (weight, sex, age, BMI). Correlation coefficients were interpreted according to a previous study ($r=0$ (null), $0 < r \leq 0,3$ (weak), $0,3 < r \leq 0,6$ (moderate), $0,6 < r \leq 0,9$ (strong), $0,9 < r < 1$ (very strong) e $r=1$ (perfect)²⁵. Missing data were treated as complete case analysis or listwise deletion, and statistical significance was set at 5%.

Results

The Hospital admitted 1,126 patients with CVD and COVID-19 during data collection, and 307 were eligible for the study. Thirteen patients refused to participate, and 39 were excluded due to symptoms hindering the assessment (e.g., dyspnea or hemodynamic instability). The main cause of sample loss ($n = 203$) was the delay of results from RT-PCR tests due to the high demand in the hospital, delaying the assessment up to seven days after the first COVID-19 symptom. Although 52 patients were initially included in the study, 11 were excluded due to incomplete blood tests on admission, and 14 were not followed up due to transfer to another unit. Thus, 27 patients were analyzed, and 14 (51.8%) presented endothelial dysfunction.

Anthropometric data, blood tests at admission, and medications in use were similar between both groups (**Table A.1**). Patients with preserved endothelial function presented high systolic blood pressure and mean blood pressure at the initial assessment. Hypertension was the most prevalent CVD in all patients with preserved endothelial function and 78.6% of patients with endothelial dysfunction.

Ten (71.4%) patients with endothelial dysfunction presented chronic heart failure (CHF) at hospital admission. The endothelial dysfunction group showed a higher prevalence of CHF with reduced ejection fraction and mildly reduced ejection fraction than the preserved endothelial function group. Diabetes mellitus was the most prevalent comorbidity in both groups (46.2% of patients with preserved endothelial function and 42.9% with endothelial dysfunction). Anthropometric data, LnRHI, and AIx@75 were not correlated in any group.

Patients in the endothelial dysfunction group had a higher percentage (57.1% versus 42.9% preserved endothelial function group. $p=0.07$) of adverse cardiac events, mainly acute myocardial infarction ($p=0.38$) and high ventricular response atrial fibrillation ($p=0.48$).

Figure A.1 shows data on endothelial function. The median of LnRHI was lower in the endothelial dysfunction group than in preserved endothelial function group (0.29 [0.06 to 0.42]

vs. 0.58 [0.54 to 0.88], respectively; $p < 0.01$). Also, $AIx@75$ was higher in patients with preserved endothelial function than in patients with endothelial dysfunction (-3.4 ± 16.4 vs. -18 ± 13.5 , respectively; $p=0.03$), suggesting a high arterial stiffness index in the endothelial dysfunction group.

The HF component of HRV showed a negative and moderate correlation with $LnRHI$ ($r = -0.35$; $p = 0.01$) and $AIx@75$ ($r = -0.41$; $p = 0.03$) in patients with endothelial dysfunction. HRV data are shown in **Table A.2**. Patients with endothelial dysfunction presented enhancement in the HF component. Other components of frequency and time domains showed no differences.

Discussion

The main results of this study were: the high percentage of patients with CVD hospitalized due to COVID-19 presented endothelial dysfunction, especially patients with CHF (the most prevalent CVD); many patients with preserved endothelial function had arterial stiffness, and the HF component of HRV was correlated with endothelial dysfunction.

The prevalence (51.8%) of endothelial dysfunction in patients with previous CVD in the acute phase of COVID-19 is relevant finding in this study. The endothelial dysfunction may be an important cardiovascular marker in these patients. Studies have shown endothelial dysfunction in patients with COVID-19 after weeks or even months of infection^{8,11,26,27}. In Riou et al. (2021), patients presented altered endothelial function after three months of COVID-19, and half of the survivors showed decreased flow-mediated dilation. These data corroborated the evidence that endothelial dysfunction is a risk factor for COVID-19 pathogenesis since the virus targets endothelial cells, leading to systemic endothelial inflammation in the long term²⁶.

In a cross-sectional observational study, patients with COVID-19 assessed using flow-mediated nitroglycerine-induced dilation presented inflammatory vasculopathy with similar values and inflammatory alterations to patients with clinically relevant CVD²⁸. However, similar to our study, they did not demonstrate a causal relationship between vascular impairment and infection since the endothelial function was not studied before COVID-19. Moreover, endothelial dysfunction in this population may be related to other atherosclerotic causes influencing vascular function and reactivity (e.g., the main CVD, hyperlipidemia, diabetes mellitus, obesity, and sedentary lifestyle), which were not controlled in the present study²⁹.

Several methods to assess endothelial function cause reactive hyperemia via the functional biosensor of the endothelium, nitric oxide (directly or by the subsequent cytokine storm), activation of immune cells, oxidative stress, inflammation, or alternative pathways (e.g., K^+ channels and Na/K-ATPase)^{8,30}. In the present study, endothelial dysfunction was detected using bedside PAT, which may be useful for diagnosing alterations in the vascular wall. PAT is easy-to-use, operator-free, and has acceptable reproducibility in adults compared with other noninvasive assessment methods¹⁶. Also, it may early diagnose endothelial alterations and was considered an independent predictor for adverse cardiovascular events^{31–33}.

COVID-19 may cause endothelial injury and alterations in the vascular wall (i.e., damage to tunica media), resulting in arterial stiffness¹². In this study, patients with preserved endothelial function presented AIX between -10% and 10% and increased AIX@75, characterizing arterial stiffness¹⁵. This finding may be related to the high prevalence of hypertension in the group, which is one of the main determinants of arterial stiffness.

Hypertension is characterized by early vascular function and structure alterations more severe than expected in the normal aging process³⁴. The severity of inflammation from CVD is directly related to arterial stiffness, leading to a cycle³⁵. In this cycle, the increase of

intravascular pulsatile pressure damages the vascular wall and causes arterial stiffness, favoring atherosclerosis and increasing the inflammatory component and stiffening effect³⁵. Thus, pre-existing atherosclerosis is an independent risk factor for severe COVID-19. However, whether patients with COVID-19 are predisposed to early atherosclerosis is not fully understood³⁵.

Patients in the endothelial dysfunction group had a higher percentage of adverse cardiac events (eg, acute myocardial infarction) but we believe that we cannot establish a cause-effect relationship arising from the change in endothelial function caused by COVID-19 due to the underlying disease of these patients.

No differences were found between groups regarding the clinical severity of COVID-19. Riou et al. (2021) found impaired endothelial function in patients needing conventional and intensive care unit hospitalization after COVID-19. In their study, impaired endothelial function was not associated with COVID-19, intensive care unit hospitalization, prolonged hospitalization, or pulmonary damage, despite the inexistence of previous CVD in the studied population²⁶. Endothelial dysfunction may be related to the severity of symptoms and clinical evolution in patients with CHF³⁶. Matsue et al. (2013) demonstrated that LnRHI and PAT might predict adverse cardiovascular events in patients with CHF, highlighting their significant role in diagnosing high-risk populations.

Patients with endothelial dysfunction presented enhancement of HF component of HRV; however, other components did not differ between groups. Also, HF showed a negative and moderate correlation with LnRHI and AIx@75. HF, SDNN, RMSSD, and PNN50 represent the parasympathetic activity, while LF represents the sympathetic and parasympathetic activities^{24,37}. Thus, patients with COVID-19 and endothelial dysfunction may have imbalanced autonomic responses with parasympathetic predominance.

Kalivaperumal et al. (2020) also indicated increased parasympathetic activity in patients with COVID-19; however, they only assessed SDNN and RMSSD components.

Aragón-Benedí et al. (2021) suggested that the suppressed sympathetic and predominant parasympathetic activity induced compensatory anti-inflammatory response in patients with COVID-19³⁸. Cardiovascular dysautonomia in post-COVID-19 is characterized by imbalanced sympathetic or parasympathetic activity and may be attributed to virus-related damage, cytokine storm, or immune-mediated dysregulation in the autonomic nervous system. Also, autonomic symptoms of COVID-19 (e.g., deconditioning, hypovolemia, hyperadrenergic state, or immune-mediated viral damage) are often multifactorial³⁹.

In view of the above, we highlight the importance of evaluating vascular bed alterations in the acute phase of COVID-19 in order to prevent endothelial dysfunction and/or its evolution (e.g. arterial stiffness), especially in those patients who already have some degree of dysfunction, such as those with previous cardiovascular diseases. In addition, autonomic alterations such as cardiovascular dysautonomia may already be present at the time of hospitalization and be better controlled when diagnosed as early as possible. Thus, the detection of changes in the acute phase can contribute to better drug management of the disease, resulting in a decrease in its severity. For this, the PAT proved to be an instrument that can be used for the diagnosis of autonomic and vascular alterations still in the acute phase of COVID-19.

Limitations

We could not assess endothelial function and arterial stiffness before COVID-19 and after hospitalization (e.g., after discharge). Thus, the causes and actual consequences of endothelial dysfunction could not be determined in these patients with CVD (i.e., due to the underlying disease or vascular alterations from COVID-19). A high sample loss occurred due to a delay in RT-PCR results, mainly because of the high hospital demand at the beginning of the pandemic. Thus, the small sample size hindered data extrapolation. Also, CHF and hypertension may be confounding variables. Although cardiovascular risk factors were not

significantly different in patients, we could not exclude the potential bias from these factors affecting endothelial dysfunction results.

Conclusion

The present study suggested that bedside PAT was useful for assessing endothelial dysfunction, which may be an early marker of arterial stiffness and altered HRV in patients with CVD hospitalized due to stage II of COVID-19. Further longitudinal studies with longer follow-ups may help elucidate the potential role of endothelial function in the prognosis of patients with COVID-19 and whether its dysfunctions are persistent among susceptible populations. Moreover, results may help develop therapies to prevent endothelial deterioration and improve patient outcomes.

Conflict of Interest

None

Funding

This study was supported by the Pro-Rectorry of Graduate Studies of the Federal University of Pernambuco (no. 23076.018672/2020-32 to D.C.B; no. 23076.015670/2021-88 to D.C.B), the *Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco* (APQ no. 0801-4.08/21 to A.F.D.A), and *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* – CNPq (no. 421756/2021-7 to A.F.D.A).

References

1. Cascella M, Rajnik M AA et al. *Features, Evaluation, and Treatment of Coronavirus (COVID-19).*; 2022. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554776/>
2. Costa IBS da S et al. O Coração e a COVID-19 - O que o Cardiologista Precisa Saber. *Arq Bras Cardiol.* 2020;114(5):805-816. doi.org/10.36660/abc.20200279
3. South AM, Diz DI, Mark X, Chappell C. COVID-19, ACE2, and the cardiovascular consequences. *Am J Physiol Hear Circ Physiol.* 2020;318:1084-1090. Accessed May 10, 2021. doi:10.1152/ajpheart.00217.2020
4. Stawicki SP, Jeanmonod R MA. The 2019–2020 Novel Coronavirus - Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 - Pandemic. *J Glob Infect Dis.* 2020;12:47-93. doi:10.4103/jgid.jgid_86_20
5. Apoorva Jayarangaiah, Pramod Theetha Kariyanna, Xiaoyi Chen, Amog Jayarangaiah, Abhishek Kumar. COVID-19 associated coagulopathy - an exacerbated immunothrombosis response. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2020;26. Accessed July 13, 2021. doi:10.1177/1076029620943293
6. Siddiqi H, Mehra M. COVID-19 illness in native and immunosuppressed states: A clinical-therapeutic staging proposal. *J Hear Lung Transpl.* 2020;39(5):405-407. Accessed September 9, 2021. doi:10.1016/j.healun.2020.03.012
7. Kar M. Vascular Dysfunction and Its Cardiovascular Consequences During and After COVID-19 Infection: A Narrative Review. *Vasc Health Risk Manag.* 2022;18:105-112. doi:10.2147/VHRM.S355410
8. Ratchford SM, Stickford JL, Province VM, et al. Vascular Alterations Among Young

- Adults with SARS-CoV-2.pdf. *Am J Physiol Hear Circ Physiol* . 2021;320(1):H404-H410. Accessed July 28, 2021. doi:10.1152/ajpheart.00897.2020
9. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet*. 2020;395(10234):1417-1418. doi:10.1016/S0140-6736(20)30937-5
 10. George Goshua, Alexander B Pine MM et al. Endotheliopathy in COVID-19-associated coagulopathy: Evidence from a single-center, cross-sectional study. *Lancet*. 2020;(7):e575-82. doi:10.1016/S2352-3026(20)30216-7
 11. Ambrosino P, Molino A, Calcaterra I, et al. Clinical assessment of endothelial function in convalescent covid-19 patients undergoing multidisciplinary pulmonary rehabilitation. *Biomedicines*. 2021;9(6). doi:10.3390/biomedicines9060614
 12. Schnaubelt S, Oppenauer J, Tihanyi D, et al. Arterial stiffness in acute COVID-19 and potential associations with clinical outcome. *J Intern Med*. 2021;290(2):437-443. doi:10.1111/joim.13275
 13. Szeghy RE, Province VM, Stute NL, et al. Carotid stiffness, intima–media thickness and aortic augmentation index among adults with SARS-CoV-2. *Exp Physiol*. 2021;10.1113(EP089481). Accessed October 6, 2021. doi:10.1113/EP089481
 14. Evans PC, Ed Rainger G, Mason JC, et al. Endothelial dysfunction in COVID-19: A position paper of the ESC Working Group for Atherosclerosis and Vascular Biology, and the ESC Council of Basic Cardiovascular Science. *Cardiovasc Res*. 2020;116(14):2177-2184. doi:10.1093/cvr/cvaa230
 15. Moerland M, Kales AJ, Schrier L, Van Dongen MGJ, Bradnock D, Burggraaf J. Evaluation of the endoPAT as a tool to assess endothelial function. *Int J Vasc Med*.

2012;2012. doi:10.1155/2012/904141

16. Brant LCC, Barreto SM, Passos VMA, Ribeiro ALP. Reproducibility of peripheral arterial tonometry for the assessment of endothelial function in adults. *J Hypertens*. 2013;31(10):1984-1990. doi:10.1097/HJH.0b013e328362d913
17. Augusto LS, Silva GC, Pinho JF, et al. Vascular function in asthmatic children and adolescents. *Respir Res*. 2017;18(1):17. doi:10.1186/s12931-016-0488-3
18. Scholz JR, Lopes MACQ, Saraiva JFK, Colombo FC. COVID-19, renin-angiotensin system, angiotensin-converting enzyme 2, and nicotine: What is the interrelation? *Arq Bras Cardiol*. 2020;115(4):708-711. doi:10.36660/abc.20200653
19. Shouman K, Vanichkachorn G, Cheshire WP, et al. Autonomic dysfunction following COVID-19 infection: an early experience. *Clin Auton Res*. 2021;31(3):385-394. doi:10.1007/s10286-021-00803-8
20. Raj SR, Arnold AC, Barboi A, et al. Long-COVID postural tachycardia syndrome: an American Autonomic Society statement. *Clin Auton Res*. 2021;31(3):365-368. doi:10.1007/s10286-021-00798-2
21. Kaliyaperumal D, Rk K, Alagesan M, Ramalingam S. Characterization of cardiac autonomic function in COVID-19 using heart rate variability: A hospital based preliminary observational study. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 2021;32(3):247-253. Accessed August 12, 2021. doi: 10.1515/jbcpp-2020-0378
22. Bruno RM, Gori T, Ghiadoni L. Endothelial function testing and cardiovascular disease: Focus on peripheral arterial tonometry. *Vasc Health Risk Manag*. 2014;10:577-584. Accessed July 13, 2021. doi:10.2147/VHRM.S44471

23. Bruyndonckx L, Radtke T, Eser P, et al. Methodological considerations and practical recommendations for the application of peripheral arterial tonometry in children and adolescents. *Int J Cardiol.* 2013;168(4):3183-3190. Accessed October 2, 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2013.07.236>
24. Shaffer F, Ginsberg JP. An Overview of Heart Rate Variability Metrics and Norms. *Front Public Heal.* 2017;5:258. Accessed September 9, 2021. doi: 10.3389/fpubh.2017.00258
25. CALLEGARI-JACQUES SM. *Biostatistics: Principles and Applications.* (Artmed E, ed.); 2009.
26. Riou M, Oulehri W, Momas C, et al. Reduced Flow-Mediated Dilatation Is Not Related to COVID-19 Severity Three Months after Hospitalization for SARS-CoV-2 Infection. *J Clin Med.* 2021;10(6):1318. Accessed August 1, 2021. DOI: 10.3390/jcm10061318
27. Jud P, Kessler HH, Brodmann M. Case Report: Changes of Vascular Reactivity and Arterial Stiffness in a Patient With Covid-19 Infection. *Front Cardiovasc Med.* 2021;8(May):1-4. doi:10.3389/fcvm.2021.671669
28. Jud P, Gressenberger P, Muster V, et al. Evaluation of Endothelial Dysfunction and Inflammatory Vasculopathy After SARS-CoV-2 Infection—A Cross-Sectional Study. *Front Cardiovasc Med.* 2021;8(October):1-14. doi:10.3389/fcvm.2021.750887
29. Benjamin EJ, Larson MG, Keyes MJ, et al. Clinical Correlates and Heritability of Flow-Mediated Dilation in the Community: The Framingham Heart Study. *Circulation.* 2004;109(5):613-619. doi:10.1161/01.CIR.0000112565.60887.1E
30. Anne R. Crecelius, Jennifer C. Richards, Gary J. Luckasen, Dennis G. Larson and FAD.

- Reactive Hyperemia Occurs via Activation of Inwardly-Rectifying Potassium Channels and Na^+/K^+ -ATPase in Humans. *Circ Res.* 2013;113(8):1023-1032. doi:10.1161/CIRCRESAHA.113.301675.Reactive
31. Rubinshtein R, Kuvin JT, Soffler M, et al. Assessment of endothelial function by non-invasive peripheral arterial tonometry predicts late cardiovascular adverse events. *Eur Heart J.* 2010;31(9):1142-1148. Accessed July 13, 2021. doi:10.1093/eurheartj/ehq010
 32. Jakubowski M, Turek-Jakubowska A, Szahidewicz-Krupska E, Gawrys K, Gawrys J, Doroszko A. Profiling the endothelial function using both peripheral artery tonometry (EndoPAT) and Laser Doppler Flowmetry (LD) - Complementary studies or waste of time? *Microvasc Res.* 2020;130. doi:10.1016/j.mvr.2020.104008
 33. Hedetoft M, Olsen NV. Evaluation of endothelial function by peripheral arterial tonometry and relation with the nitric oxide pathway. *Nitric Oxide - Biol Chem.* 2014;42:1-8. Accessed October 6, 2021. doi:10.1016/j.niox.2014.07.003
 34. Rodilla E, López-Carmona MD, Cortes X. Impact of arterial stiffness on all-cause mortality in patients hospitalized with COVID-19 in Spain. *Hypertension.* 2021;77(3):856-867. Accessed October 6, 2021. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.16563
 35. Saeed S, Mancina G. Arterial stiffness and COVID-19: A bidirectional cause-effect relationship. *J Clin Hypertens.* 2021;23(6):1099-1103. doi:10.1111/jch.14259
 36. Akiyama E, Sugiyama S, Matsuzawa Y, et al. Incremental prognostic significance of peripheral endothelial dysfunction in patients with heart failure with normal left ventricular ejection fraction. *J Am Coll Cardiol.* 2012;60(18):1778-1786. Accessed July 28, 2021. doi:10.1016/j.jacc.2012.07.036

37. Malik M, Bigger JT, Camm AJ, et al. Heart rate variability: Standards of Measurement, Physiological Interpretation, and Clinical Use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Circulation*. 1996; 93(5):1043-1065. doi.org/10.1161/01.CIR.93.5.1043

38. Aragón-Benedí C, Oliver-Forniés P, Galluccio F, et al. Is the heart rate variability monitoring using the analgesia nociception index a predictor of illness severity and mortality in critically ill patients with COVID-19? A pilot study. *PLoS One*. 2021;16(3 March). doi:10.1371/journal.pone.0249128

39. Shah B, Kunal S, Bansal A, et al. Heart rate variability as a marker of cardiovascular dysautonomia in post-COVID-19 syndrome using artificial intelligence. *Indian Pacing Electrophysiol J*. Published online January 2022. Accessed February 17, 2022. doi: 10.1016/j.ipej.2022.01.004.

Appendice

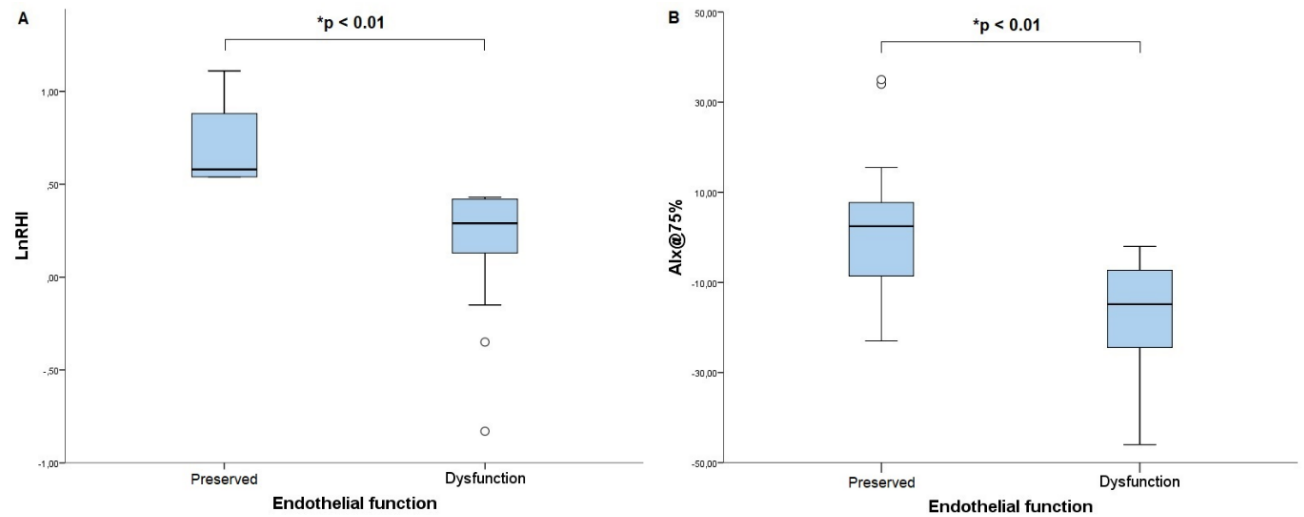


Figure A.1 – Endothelial function of patients with cardiovascular diseases hospitalized due to COVID-19. A) Endothelial function assessed using the natural logarithm of reactive hyperemia (LnRHI) in preserved endothelial function and endothelial dysfunction groups. B) Comparison of endothelial function between groups using the augmentation index normalized to a heart rate of 75 beats per minute (AIX@75). Data are expressed as median and interquartile ranges.

Table A.1 – Sample characteristics (anthropometric data, vital signs, medications, blood tests, cardiovascular diseases, comorbidities, adverse cardiac events, and complications).

	Preserved endothelial function (n=13)		Endothelial dysfunction (n=14)	P-value
	Mean [CI] or median (p25-p75) or n (%)		Mean [CI] or median (p25-p75) or n (%)	
Age (Years)	58 (57 - 59)		53 (50 - 59)	0.22 ^α
Sexo (%)				
Women	4 (30.8%)		5 (35.7%)	1.00 [†]
Men	9 (69.2%)		9 (64.3%)	
Weight (kg)	72 [65.5-79.8]		80.6 [68.9-102.1]	0.23 [*]
Body mass index (kg/m²)	24.5 (23.6 - 27.8)		27.3 (24.9 - 34.3)	0.22 ^α
Waist circumference (cm)	96 [85.4-106.7]		93.9 [77.5-110.2]	0.80 [*]
Vital Signs				
Systolic blood pressure (mmHg)	138.4 [127.2-149.7]		120 [108.9-131]	0,01 [*]
Diastolic blood pressure (mmHg)	79.2 [74.6-83.8]		76.4 [71.5-81.2]	0,37 [*]
Mean blood pressure (mmHg)	99.4 [93.8-105.1]		90.9 [84.4-97.4]	0.04 [*]
Heart rate (bpm)	81.7 [72.7-90.7]		83.6 [72.8-94.4]	0,77 [*]
Breath rate (ipm)	18,4 [16.9-19.9]		18,3 [16.9-19.7]	0.91 [*]
Peripheral oxygen saturation (%)	95.2 [93.9-96.5]		95.3 [93.9-96.8]	0.89 [*]
Laboratory Tests				
C-reactive protein (mg/L)	7.7 (5.3 - 9)		6.3 (4.2 - 9)	0.47 ^α
Platelets (mil/mm ³)	229.1 [188.8-269.4]		259 [204.4-313.5]	0.35 [*]
D-dimero (μd/mL)	0.71 (0.54 - 1.26)		0.44 (0.2 - 2.0)	0.36 ^α
Troponin (ng/L)	27.7 (6.4 - 373)		14.4 (5.8 - 332.8)	0.96 ^α
CVD Prevalence (%)				
Hypertension	Yes	13 (100%)	11 (78.6%)	0.22 [†]
Coronary disease	Yes	3 (23.1%)	4 (28.6%)	1.00 [†]
CHF ¹	Yes	3 (23.1%)	10 (71.4%)	
CHF with reduced ejection fraction		0	3 (30%)	<0.01 [†]
CHF with mildly reduced ejection fraction		2 (66.7%)	4 (40%)	
CHF with preserved ejection fraction		1 (33.3%)	3 (30%)	
LVEF – Patients with CHF (%)	42.6 ± 5.03		41.1 ± 18.6	0.84 [*]
Comorbidities (%)				
Diabetes Mellitus	Yes	6 (46.2%)	6 (42.9%)	0.03 [†]
Acute renal lesion	Yes	1 (7.7%)	3 (21.4%)	0.59 [†]
Obesity	Yes	1 (7.7%)	2 (14.3%)	1.00 [†]
Dyslipidemia	Yes	0 (0%)	2 (14.3%)	0.48 [†]
Depression	Yes	0 (0%)	1 (7.1%)	1.00 [†]
Rheumatic Disease	Yes	1 (7.7%)	0 (0%)	0.48 [†]
Family history of coronary artery disease	Yes	0 (0%)	1 (7.1%)	1.00 [†]
Arrhythmias	Yes	1 (7.7%)	4 (28.6%)	0.32 [†]
Chagas Disease	Yes	0 (0%)	1 (7.1%)	1.00 [†]
Medications				
Angiotensin Receptor blockers	4 (30.8%)		6 (42.9%)	0.69 [†]
Calcium Channel Blockers	4 (30.8%)		3 (21.4%)	0.67 [†]
Adrenergic agents	1 (7.7%)		1 (7.1%)	1.00 [†]

Adrenergic beta-Antagonists	4 (30.8%)	7 (50%)	1.03 [†]
Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors	7 (53.8%)	6 (42.9%)	0.52 [†]
Diuretics	6 (46.2%)	11 (78.6%)	0.12 [†]
Antiarrhythmics	0 (0%)	1 (7.1%)	1.00 [†]
Hydroxymethylglutaryl-CoA reductase inhibitors	2 (15.4%)	8 (57.1%)	0.46 [†]
Isosorbide dinitrate	1 (7.7%)	2 (14.3%)	1.00 [†]
Dexamethasone	7 (53.8%)	7 (50%)	1.00 [†]
Hydrocortisone	1 (7.7%)	2 (14.3%)	1.00 [†]
Methylprednisolone	0 (0%)	1 (7.1%)	1.00 [†]
Ceftriaxone	13 (100%)	14 (100%)	-
Azithromycin	13 (100%)	13 (9.2%)	1.00 [†]
Piperacilin	1 (7.7%)	3 (21.4%)	0.59 [†]
Oseltamivir	0 (0%)	1 (7.1%)	1.00 [†]
Ivermectin	3 (23.1%)	7 (50%)	0.23 [†]
Aspirin	3 (23.1%)	6 (42.9%)	0.42 [†]
Clopidogrel	2 (15.4%)	2 (14.3%)	1.00 [†]
Enoxaparin	13 (100%)	14 (100%)	-
Anticonvulsants	1 (7.7%)	1 (7.7%)	1.00 [†]
Hypnotics and Sedatives	2 (15.4%)	3 (21.4%)	1.00 [†]
Neuromuscular Blocking Agents	2 (15.4%)	2 (14.3%)	1.00 [†]
Bronchodilator agents	8 (61.5%)	6 (42.9%)	0.94 [†]
Need for oxygen therapy	12 (92.3%)	13 (92.9%)	1.00 [†]
Duration of oxygen therapy (days)	4.9 [3.3-6.5]	5.9 [3.7-8.0]	0.46 [*]
Need for invasive mechanic ventilation	2 (15.4%)	5 (35.7%)	0.38 [†]
ICU admission	5 (38.5%)	9 (64.3%)	0.18 [†]
Days in ICU	10 (5 - 25,5)	8 (2,5 - 13,5)	0.43 ^α
Hospitalization length (days)	11 (8 - 13)	17 (8 - 29.2)	0.16 ^α
Adverse cardiac events	4 (30.7%)	8 (57.1%)	0.07 [†]
Acute myocardial infarction	2 (15.4%)	5 (35.7%)	0.38 [†]
Fibrillation with high ventricular rate	0 (0%)	2 (14.3%)	0.48 [†]
Cardiorespiratory arrest	2 (15.4%)	1 (7.1%)	0.59 [†]
Complications/Proceedings			
Coronary angioplasty	1 (7.7%)	2 (14.3%)	1.00 [†]
Bioprosthesis dysfunction or valve replacement	0 (0%)	1 (7.1%)	1.00 [†]
Pulmonary thromboembolism	0 (0%)	1 (7.1%)	1.00 [†]
Stroke	1 (7.7%)	1 (7.1%)	1.00 [†]
Convulsion	1 (7.7%)	0 (0%)	0.48 [†]
Pneumothorax	1 (7.7%)	0 (0%)	0.48 [†]
Pleural effusion	1 (7.7%)	0 (0%)	0.48 [†]

95% CI: 95% confidence interval; CVD: cardiovascular diseases; CHF: chronic heart failure; LVEF: left ventricular ejection fraction; ICU: intensive care unit. * = unpaired t-test; † = Chi-square test; ^α = Mann-Whitney test; ¹ = classification according to Heidenreich et al., 2022 (CHF with reduced ejection fraction: LVEF ≤ 40%; CHF with mildly reduced ejection fraction: LVEF between 41% and 49%; CHF with preserved ejection fraction: LVEF ≥ 50%).

Table A.2 – Comparison of the assessment of heart rate variability between groups

95% CI: 95% confidence interval; MeanNN: mean of all NN intervals; SDNN: standard deviation of all

	Preserved endothelial function (n=13)	Endothelial dysfunction (n=14)	
	Mean [CI] or median (p25-p75)	Mean [CI] or median (p25-p75)	P-value
MeanNN (ms)	757.6 [649.2-865.9]	700.4 [606.2-794.5]	0.39*
SDNN (ms)	29.4 (14.1 - 41.8)	40.6 (16.1 - 123.3)	0.23 ^α
RMSSD (ms)	19.3 (12.4 - 35.8)	30.8 (18.3 - 147.2)	0.18 ^α
PNN50 (ms)	0 (0 - 0.6)	0.1 (0 - 0.4)	0.30 ^α
Triangular index	8.5 (4.1 - 11.2)	9 (4.5 - 19.1)	0.55 ^α
LF (ms ²)	97.1 [58.4-135.9]	151.6 [104-199.3]	0.06*
HF (ms ²)	125.9 [55.8-196]	216.1 [160.8-271.5]	0.03*
LF/HF	0.9 (0.3 - 1.8)	0.5 (0.5 - 1.1)	0.43 ^α

normal NN intervals; rMSSD: root mean square of successive NN interval differences; pNN50: percentage of successive NN intervals that differ by more than 50 ms; HRV: heart rate variability; HF: high frequency; LF: low frequency; LF/HF: low frequency to high frequency ratio; ms: milliseconds; ms²: milliseconds squared; p* = unpaired t-test; p^α =Mann-Whitney

ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO ENDOTELIAL E DESFECHOS CLÍNICOS EM PACIENTES COM DOENÇAS CARDIOVASCULARES ACOMETIDOS PELA COVID-19

Pesquisador: CLAUDIA REGINA DA SILVA ARAUJO

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 33128120.6.0000.5208

Instituição Proponente: Departamento de Fisioterapia - DEFISIO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.169.772

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto de mestrado, apresentado ao Programa de Pós-graduação do Departamento de Fisioterapia da Universidade Federal de Pernambuco, pela aluna CLAUDIA REGINA DA SILVA ARAUJO, sob a orientação da Prof.^a Daniela Cunha Brandão Co-Orientação da prof.^a Juliana Andrade Ferreira de Souza. Será um estudo transversal. Foi modificado o local de desenvolvimento da pesquisa devido a processos administrativos no local anterior (Hospital São Marcos – HSM) sendo substituído pelo Hospital Agamenon Magalhães (HAM) e Hospital das Clínicas de Pernambuco (HC – UFPE). EM parceria com o Departamento de Fisioterapia da Universidade Federal de Pernambuco.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Geral: Investigar correlação entre a função endotelial periférica, variabilidade da frequência cardíaca e marcadores sanguíneos nos pacientes hospitalizados acometidos pela forma grave da COVID19.
Objetivos específicos:

1 - Correlacionar marcadores sanguíneos (coagulograma, fibrinogênio, PCR, D-dímero, ferritina, troponina e triglicerídeos) com a presença da disfunção endotelial apontada pela análise não invasiva da função endotelial nos pacientes acometidos pela COVID-19 associada a doenças cardiovasculares;

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 4.169.772

- 2 - Correlacionar a presença de disfunção endotelial com os seguintes desfechos clínicos: mortalidade, tempo de UTI, tempo de ventilação mecânica, tempo de oxigenoterapia e eventos cardíacos;
- 3 - Descrever os parâmetros de troca gasosa através dos parâmetros gasométricos e função endotelial durante o internamento de pessoas com diagnóstico de COVID-19 e a sua relação com o tempo de internamento e desfecho da infecção;
- 4 - Verificar o controle cardiovascular autônomo por meio das medidas de variabilidade da frequência cardíaca em pacientes com diagnóstico de COVID-19.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: A pesquisadora refere o risco de desconforto causado pela compressão no braço ao insuflar o manguito e a dispneia, sintoma comum na COVID-19, que pode ocorrer ao solicitar o decúbito dorsal para a coleta de dados. Contudo, a fim de minimizar esses riscos a mesma refere que os indivíduos só executarão as avaliações quando estáveis clinicamente e, caso do paciente relatar ou o avaliador perceber qualquer tipo de desconforto, o teste será interrompido e continuado, após um tempo, caso o participante aceite. Poderá haver risco de constrangimento por parte do paciente/responsável devido ao questionário aplicado na avaliação dos dados pessoais e da história clínica. Para isso, o paciente/responsável será entrevistado apenas por um pesquisador e sem outros profissionais ou acompanhantes na unidade de internamento. Caso o paciente opte por não relatar algum dado, será respeitado. Há ainda a possibilidade de quebra de sigilo e/ou extravio de informações uma vez que o prontuário eletrônico será utilizado. Entretanto, todos os dados obtidos do prontuário eletrônico serão anotados nas fichas de avaliação (APÊNDICE 1) e em arquivo de computador pessoal em posse apenas do pesquisador principal e orientador.

Benefícios:

Indiretos - construção de evidências científicas acerca do manejo clínico contribuindo para desenvolvimento científico no enfrentamento da COVID-19.

Benefício direto ao paciente sem monitorização eletrocardiográfica constante devido à avaliação de possíveis alterações existentes na oxigenação tecidual e repercussões cardiovasculares através de equipamentos digitais modernos úteis para nortear o tratamento do paciente avaliado.

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 4.169.772

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O tema é relevante. Os dados apresentados na revisão bibliográfica sugerem que a infecção por SARS-CoV-2 facilita a indução de endotelite explicando a função microcirculatória sistêmica prejudicada em diferentes leitos vasculares e suas sequelas clínicas em pacientes com COVID-19, sendo particularmente relevante naqueles pacientes com disfunção endotelial preexistente. Assim, o conhecimento da função endotelial nos pacientes cardiopatas acometidos pela COVID-19 pode auxiliar no seu tratamento, proporcionando melhor sobrevida e maior qualidade de vida nestes pacientes. Além disso a pesquisadora

afirma que a técnica não invasiva mais descrita para avaliar a função endotelial é a dilatação mediada por fluxo (FMD), utilizando o ultrassom. Essa técnica tem sido amplamente estudada em pesquisas clínicas, porém essa técnica tem vários desafios metodológicos que podem limitar a aplicação generalizada em estudos clínicos e na prática diária. A proposta do estudo é utilizar uma nova técnica não invasiva para analisar informações sobre o endotélio é através da tonometria arterial periférica (PAT), podendo representar uma alternativa atraente para a avaliação da função endotelial. A técnica que utiliza o PAT é não invasiva, sua metodologia é altamente padronizada e os dados obtidos são reproduzíveis. Ao contrário do FMD, que requer um operador de ultrassom altamente treinado para fornecer informações confiáveis e dados reproduzíveis, o PAT é de

fácil execução e operador independente. A pesquisadora refere que como até o momento não existem estudos prévios com tais objetivos para esta população, o que inviabiliza o cálculo amostral, será realizado um estudo piloto com 30 pacientes para obtenção do cálculo amostral adequado. Todos os procedimentos foram bem descritos no projeto detalhado. A pesquisadora afirma que o laboratório de pesquisa envolvido dispõe da maioria dos bens de capital necessários para pesquisa e os custos com material permanente, material de consumo e os demais custos serão custeados por financiamento próprios dos próprios pesquisadores orçado em R\$ 8.825,00.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram anexados os seguintes documentos: 1 - Folha de rosto; 2 - TCLE para os participantes (pacientes de 18 a 60 anos) e TCLE para responsáveis por pacientes que estejam impossibilitados de assinar; 3 - termo de compromisso e confidencialidade; 4 - Lattes de todas as pesquisadoras; 5 - Cartas de anuência: do Hospital da Clínicas da UFPE e do Hospital Agamenon Magalhães devidamente assinadas e com o timbre dos referidos hospitais; 6 - Projetos no formato detalhado

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 4.169.772

e plataforma. 7 - Comprovante de matrícula da aluna.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

As exigências foram atendidas e o protocolo está APROVADO, sendo liberado para o início da coleta de dados. Informamos que a APROVAÇÃO DEFINITIVA do projeto só será dada após o envio do Relatório Final da pesquisa. O pesquisador deverá fazer o download do modelo de Relatório Final para enviá-lo via "Notificação", pela Plataforma Brasil. Siga as instruções do link "Para enviar Relatório Final", disponível no site do CEP/CCS/UFPE. Após apreciação desse relatório, o CEP emitirá novo Parecer Consubstanciado definitivo pelo sistema Plataforma Brasil.

Informamos, ainda, que o (a) pesquisador (a) deve desenvolver a pesquisa conforme delineada neste protocolo aprovado, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao voluntário participante (item V.3., da Resolução CNS/MS Nº 466/12).

Eventuais modificações nesta pesquisa devem ser solicitadas através de EMENDA ao projeto, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

Para projetos com mais de um ano de execução, é obrigatório que o pesquisador responsável pelo Protocolo de Pesquisa apresente a este Comitê de Ética relatórios parciais das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação (item X.1.3.b., da Resolução CNS/MS Nº 466/12).

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1570696.pdf	20/07/2020 11:51:10		Aceito
Outros	cartaanuenciHAMtrimbada.pdf	20/07/2020 11:50:41	CLAUDIA REGINA DA SILVA ARAUJO	Aceito
Outros	cartaderesposta.docx	20/07/2020 11:49:12	CLAUDIA REGINA DA SILVA ARAUJO	Aceito
Orçamento	orcamento.docx	09/07/2020	CLAUDIA REGINA	Aceito

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 4.169.772

Orçamento	orcamento.docx	12:51:14	DA SILVA ARAUJO	Aceito
Solicitação registrada pelo CEP	cartaderespostaaspendencias.pdf	09/07/2020 12:50:24	CLAUDIA REGINA DA SILVA ARAUJO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projetodetalhadofinal.docx	09/07/2020 12:48:56	CLAUDIA REGINA DA SILVA ARAUJO	Aceito
Outros	cartadeanuenciaHC.pdf	09/07/2020 12:48:33	CLAUDIA REGINA DA SILVA ARAUJO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tcleimpossibilitadosassinarHC.docx	09/07/2020 12:31:55	CLAUDIA REGINA DA SILVA ARAUJO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tcleHC.docx	09/07/2020 12:31:38	CLAUDIA REGINA DA SILVA ARAUJO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tcleimpossibilitadosdeassinar.doc	09/07/2020 12:31:27	CLAUDIA REGINA DA SILVA ARAUJO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tcle.docx	09/07/2020 12:31:15	CLAUDIA REGINA DA SILVA ARAUJO	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	09/07/2020 12:30:54	CLAUDIA REGINA DA SILVA ARAUJO	Aceito
Solicitação Assinada pelo Pesquisador Responsável	confidencialidade.pdf	04/06/2020 18:46:38	CLAUDIA REGINA DA SILVA ARAUJO	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	matriculaUFPE.pdf	04/06/2020 18:27:34	CLAUDIA REGINA DA SILVA ARAUJO	Aceito
Cronograma	cronograma.docx	04/06/2020 18:27:22	CLAUDIA REGINA DA SILVA ARAUJO	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 4.169.772

RECIFE, 23 de Julho de 2020

Assinado por:
Gisele Cristina Sena da Silva Pinho
(Coordenador(a))

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br

ANEXO B – NORMAS DA REVISTA

(Heart & Lung – The Journal of Cardiopulmonary and Acute Care)



HEART & LUNG

The Journal of Cardiopulmonary and Acute Care

AUTHOR INFORMATION PACK

TABLE OF CONTENTS

• Description	p.1
• Impact Factor	p.1
• Abstracting and Indexing	p.1
• Editorial Board	p.2
• Guide for Authors	p.3



ISSN: 0147-9563

DESCRIPTION

Heart & Lung: The Journal of Cardiopulmonary and Acute Care, the official publication of [The American Association of Heart Failure Nurses](#), presents original, peer-reviewed articles on techniques, advances, investigations, and observations related to the care of patients with acute and critical illness and patients with **chronic cardiac** or **pulmonary disorders**.

The Journal's **acute care** articles focus on the care of hospitalized patients, including those in the critical and acute care settings. Because most patients who are hospitalized in acute and **critical care** settings have chronic conditions, we are also interested in the chronically critically ill, the care of patients with **chronic cardiopulmonary disorders**, their rehabilitation, and disease prevention. The Journal's heart failure articles focus on all aspects of the care of patients with this condition. Manuscripts that are relevant to populations across the human lifespan are welcome.

We are interested in publishing articles representing a broad range of science and clinical practice in a variety of settings as it pertains to our target population. Because health care and the health sciences are global, interdisciplinary, multidisciplinary, and transdisciplinary, we encourage authors to [submit](#) manuscripts that reflect these perspectives. Many articles also provide nurses with a framework for applying research results in clinical practice.

We publish original research, case reports, reviews, and observations that are on the cutting edge of science and clinical practice. Discussions of costs of care, patient education, and health policy are relevant to our focus. Reports of well-designed clinical trials and systematic reviews are especially welcome.

IMPACT FACTOR

2020: 2.210 © Clarivate Analytics Journal Citation Reports 2021

ABSTRACTING AND INDEXING

Scopus
PubMed/Medline
CINAHL

GUIDE FOR AUTHORS

Introduction

Heart and Lung: The Journal of Acute and Critical Care, the official publication of [The American Association of Heart Failure Nurses](#), presents original, peer-reviewed articles on techniques, advances, investigations, and observations related to the care of patients with acute and critical illness and patients with **chronic cardiac or pulmonary disorders**.

The Journal's **acute care** articles focus on the care of hospitalized patients, including those in the critical and **acute care** settings. Because most patients who are hospitalized in acute and critical care settings have chronic conditions, we are also interested in the chronically critically ill, the care of patients with **chronic cardiopulmonary disorders**, their rehabilitation, and disease prevention. The Journal's heart failure articles focus on all aspects of the care of patients with this condition. Manuscripts that are relevant to populations across the human lifespan are welcome.

We are interested in publishing articles representing a broad range of science and clinical practice in a variety of settings as it pertains to our target population. Because health care and the health sciences are global, interdisciplinary, multidisciplinary, and transdisciplinary, we encourage authors to [submit](#) manuscripts that reflect these perspectives. Many articles also provide nurses with a framework for applying research results in clinical practice.

Editor:

Nancy S. Redeker, PhD, RN, FAHA, FAAN
Yale University, New Haven, CT

Managing Editor:

Susan Newcombe

HandL@stellarmed.com

Publisher:

Caitlin Prim

Journal Manager

Annapoorni Balasubramanian
a.balasubramanian@elsevier.com

Types of paper

We publish original research, case reports, reviews, and observations that are on the cutting edge of science and clinical practice. Reports of well-designed clinical trials and systematic reviews are especially welcome. Discussions of translational research and implementation and improvement science, as well as costs of care, patient education, and health policy are of high relevance to our focus.

ARTICLE CATEGORIES

Letters to the Editor

Letters to the Editor will only be considered for publication if the letter in question is commenting on an article that previously appeared in the Journal. The Editor reserves the right to accept, reject, or excerpt letters without changing the views expressed by the writer. The author of an original article will have an opportunity to reply to published comments. All such letters should be sent to Dr. Redeker.

Original Research Articles

Original Research Articles are original papers demonstrating the results of scientific studies. Regular Research Articles are based on empirical data. They can contain case vignettes, but clinical descriptions cannot be used as the main content of the article. The text of the article should contain no more than 4,000 words, in addition to an abstract of 250 words and up to 40 references. This word count includes only the main body of text (i.e., not abstract, references, tables, or figures). Structured Abstracts are required for all research articles; this abstract should be limited to 250 words or less. Please use the following headings in your abstract: Background, Objectives, Methods, Results, and Conclusions.

Systematic Reviews

Systematic reviews are reports of analyses of healthy policy, education, economic or organizational issues pertaining to the care of patients with acute and critical illness and patients with chronic cardiac or pulmonary disorders.

Case Reports

Case reports are meant to be good descriptions of experiences from particular cases that allow lessons to be learned. It need not be a successful case, lessons can be learnt from failure and indeed there are excellent cases taken from failed attempts of implementation. An article containing a case study should address the following questions: what are the context variables that made it a success or failure; how can we transfer lessons from this case elsewhere

Person-centered Language

Heart and Lung recommends submitting articles that utilize person-centered language. Person-centered language is a writing style that acknowledges and centers the person first, placing their diagnosis, condition, or disability in the context of the whole person.

Examples of person-centered language include "people with disability," "person with multiple sclerosis," or "people who have cardiopulmonary diseases."

Submission checklist

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

Manuscript:

- Include keywords
- All figures (include relevant captions)
- All tables (including titles, description, footnotes)
- Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
- Indicate clearly if color should be used for any figures in print

Graphical Abstracts / Highlights files (where applicable)

Supplemental files (where applicable)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
- A competing interests statement is provided, even if the authors have no competing interests to declare
- Journal policies detailed in this guide have been reviewed
- Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements

For further information, visit our [Support Center](#).

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing

Please see our information on [Ethics in publishing](#).

Protection of Human Subjects and Animals in Research

All manuscripts that involve human subjects or animals in research must conform to the principles of the International Committee of Medical Journal Editors, available at http://www.icmje.org/ethical_6protection.html.

Informed consent and patient details

Studies on patients or volunteers require ethics committee approval and informed consent, which should be documented in the paper. Appropriate consents, permissions and releases must be obtained where an author wishes to include case details or other personal information or images of patients and any other individuals in an Elsevier publication. Written consents must be retained by the author but copies should not be provided to the journal. Only if specifically requested by the journal in exceptional circumstances (for example if a legal issue arises) the author must provide copies of the consents or evidence that such consents have been obtained. For more information, please review the [Elsevier Policy on the Use of Images or Personal Information of Patients or other Individuals](#). Unless you have written permission from the patient (or, where applicable, the next of kin), the personal details of any patient included in any part of the article and in any supplementary materials (including all illustrations and videos) must be removed before submission.

Declaration of interest

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential competing interests include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. Authors must disclose any interests in two places: 1. A summary declaration of interest statement in the title page file (if double anonymized) or the manuscript file (if single anonymized). If there are no interests to declare then please state this: 'Declarations of interest: none'. 2. Detailed disclosures as part of a separate Declaration of Interest form, which forms part of the journal's official records. It is important for potential interests to be declared in both places and that the information matches. [More information](#).

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract, a published lecture or academic thesis, see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service [Crossref Similarity Check](#).

Use of inclusive language

Inclusive language acknowledges diversity, conveys respect to all people, is sensitive to differences, and promotes equal opportunities. Content should make no assumptions about the beliefs or commitments of any reader; contain nothing which might imply that one individual is superior to another on the grounds of age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition; and use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, stereotypes, slang, reference to dominant culture and/or cultural assumptions. We advise to seek gender neutrality by using plural nouns ("clinicians, patients/clients") as default/wherever possible to avoid using "he, she," or "he/she." We recommend avoiding the use of descriptors that refer to personal attributes such as age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition unless they are relevant and valid. When coding terminology is used, we recommend to avoid offensive or exclusionary terms such as "master", "slave", "blacklist" and "whitelist". We suggest using alternatives that are more appropriate and (self-) explanatory such as "primary", "secondary", "blocklist" and "allowlist". These guidelines are meant as a point of reference to help identify appropriate language but are by no means exhaustive or definitive.

Authorship

All authors should have made substantial contributions to all of the following: (1) the conception and design of the study, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data, (2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content, (3) final approval of the version to be submitted.

Changes to authorship

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the **corresponding author**: (a) the reason

for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed.

Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

Registration of clinical trials

Registration in a public trials registry is a condition for publication of clinical trials in this journal in accordance with [International Committee of Medical Journal Editors](#) recommendations. Trials must register at or before the onset of patient enrolment. The clinical trial registration number should be included at the end of the abstract of the article. A clinical trial is defined as any research study that prospectively assigns human participants or groups of humans to one or more health-related interventions to evaluate the effects of health outcomes. Health-related interventions include any intervention used to modify a biomedical or health-related outcome (for example drugs, surgical procedures, devices, behavioural treatments, dietary interventions, and process-of-care changes). Health outcomes include any biomedical or health-related measures obtained in patients or participants, including pharmacokinetic measures and adverse events. Purely observational studies (those in which the assignment of the medical intervention is not at the discretion of the investigator) will not require registration.

Article transfer service

This journal is part of our Article Transfer Service. This means that if the Editor feels your article is more suitable in one of our other participating journals, then you may be asked to consider transferring the article to one of those. If you agree, your article will be transferred automatically on your behalf with no need to reformat. Please note that your article will be reviewed again by the new journal.

[More information.](#)

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see [more information](#) on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. [Permission](#) of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has [preprinted forms](#) for use by authors in these cases.

For gold open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'License Agreement' ([more information](#)). Permitted third party reuse of gold open access articles is determined by the author's choice of [user license](#).

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. [More information.](#)

Elsevier supports responsible sharing

Find out how you can [share your research](#) published in Elsevier journals.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement, it is recommended to state this.

Open access

Please visit our [Open Access page](#) for more information.

Elsevier Researcher Academy

Researcher Academy is a free e-learning platform designed to support early and mid-career researchers throughout their research journey. The "Learn" environment at Researcher Academy offers several interactive modules, webinars, downloadable guides and resources to guide you through the process of writing for research and going through peer review. Feel free to use these free resources to improve your submission and navigate the publication process with ease.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the [English Language Editing service](#) available from Elsevier's Author Services.

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

Submit your article

Please submit your article via <https://www.editorialmanager.com/HL/default.aspx>.

PREPARATION

Manuscript submissions should conform to the guidelines set forth in the "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication," available from <http://www.ICMJE.org>. Please refer to <http://www.consort-statement.org/consort-statement/> for CONSORT guidelines for clinical trials. The CONSORT Statement is intended to improve the reporting of a randomized controlled trial (RCT), enabling readers to understand a trial's design, conduct, analysis and interpretation, and to assess the validity of its results.

Manuscript Components

The manuscript should be arranged as follows: 1) title; 2) structured abstract and key words; 3) abbreviations list; 4) Highlights; 5) text; 6) references; 7) figure titles and legends; and 8) tables. Page numbering should begin with the first page.

Manuscript style should follow the AMA Style, 10th edition. Articles should be no more than 15 pages in length, not including title page, figures, tables, and references. Author(s) name and credentials should be listed according to the AMA-10 recommendations.

Text

Manuscript text should be double-spaced, left-aligned (unjustified), and in a 12-point font. The body of text should be structured with the following headings: Introduction, Methods, Results, and Discussion. Sub-headings may be used as appropriate. Each reference, figure and table should be cited in the text in numerical order according to order of first mention.

Peer Review

Single anonymized review

This journal uses single anonymized review, which means the identities of the reviewers are concealed from the reviewers.

Double anonymized review

This journal uses double anonymized review, which means the identities of the authors are concealed from the reviewers, and vice versa. [More information](#) is available on our website. To facilitate this, please include the following separately:

Title page (with author details): This should include the title, authors' names, affiliations, acknowledgements and any Declaration of Interest statement, and a complete address for the corresponding author including an e-mail address.

Anonymized manuscript (no author details): The main body of the paper (including the references, figures, tables and any acknowledgements) should not include any identifying information, such as the authors' names or affiliations.

Use of word processing software

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the [Guide to Publishing with Elsevier](#)). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

Article structure

Subdivision - unnumbered sections

Divide your article into clearly defined sections. Each subsection is given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line. Subsections should be used as much as possible when cross-referencing text: refer to the subsection by heading as opposed to simply 'the text'.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Methods

Provide sufficient details to allow the work to be reproduced by an independent researcher. Methods that are already published should be summarized, and indicated by a reference. If quoting directly from a previously published method, use quotation marks and also cite the source. Any modifications to existing methods should also be described.

Theory/calculation

A Theory section should extend, not repeat, the background to the article already dealt with in the Introduction and lay the foundation for further work. In contrast, a Calculation section represents a practical development from a theoretical basis.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Provide authors' academic credentials. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.

• **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**

• **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

WordCount

Please include the word count for your manuscript and the word count for the abstract on your title page. Original manuscripts should not exceed 4,000 words and the abstract should be less than 250 words

Highlights

Provide three to four Highlights that are result-oriented points. Each Highlight must be 85 characters or fewer, including spaces, and the Highlights together must clearly convey only the results of the study.

Conflict of Interest

A conflict of interest may exist when an author or the author's institution has a financial or other relationship with other people or organizations that may inappropriately influence the author's work.

Abstract

Provide a structured abstract of no more than 250 words, essential data should be presented in 5 paragraphs under separate headings in the following order: Background, Objectives, Methods, Results, and Conclusions. A non-structured abstract is appropriate for review articles.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a minimum of 2 and a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgments

Include acknowledgments on the title page. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, it is recommended to include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other units are mentioned, please give their equivalent in SI.

Math formulae

Please submit math equations as editable text and not as images. Present simple formulae in line with normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y . In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors can build footnotes into the text, and this feature may be used. Otherwise, please indicate the position of footnotes in the text and list the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Artwork

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.
- Ensure that color images are accessible to all, including those with impaired color vision.

A detailed [guide on electronic artwork](#) is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or online only. [Further information on the preparation of electronic artwork.](#)

Illustration services

[Elsevier's Author Services](#) offers Illustration Services to authors preparing to submit a manuscript but concerned about the quality of the images accompanying their article. Elsevier's expert illustrators can produce scientific, technical and medical-style images, as well as a full range of charts, tables and graphs. Image 'polishing' is also available, where our illustrators take your image(s) and improve them to a professional standard. Please visit the website to find out more.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Reference links

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is highly encouraged.

A DOI is guaranteed never to change, so you can use it as a permanent link to any electronic article. An example of a citation using DOI for an article not yet in an issue is: VanDecar J.C., Russo R.M., James D.E., Ambeh W.B., Franke M. (2003). Aseismic continuation of the Lesser Antilles slab beneath northeastern Venezuela. *Journal of Geophysical Research*, <https://doi.org/10.1029/2001JB000884>. Please note the format of such citations should be in the same style as all other references in the paper.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

Preprint references

Where a preprint has subsequently become available as a peer-reviewed publication, the formal publication should be used as the reference. If there are preprints that are central to your work or that cover crucial developments in the topic, but are not yet formally published, these may be referenced. Preprints should be clearly marked as such, for example by including the word preprint, or the name of the preprint server, as part of the reference. The preprint DOI should also be provided.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support [Citation Style Language styles](#), such as [Mendeley](#). Using citation plug-ins from these products, authors only need to select

the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. [More information on how to remove field codes from different reference management software.](#)

Reference Formatting

Reference style

Text: Indicate references by (consecutive) superscript arabic numerals in the order in which they appear in the text. The numerals are to be used *outside* periods and commas, *inside* colons and semicolons. For further detail and examples you are referred to the [AMA Manual of Style](#), A Guide for Authors and Editors, 11th Edition.

List: Number the references in the list in the order in which they appear in the text.

Examples:

Reference to a journal publication:

1. Van der Geer J, Hanraads JAJ, Lupton RA. The art of writing a scientific article. *J Sci Commun*. 2010;163:51–59. <https://doi.org/10.1016/j.Sc.2010.00372>

Reference to a journal publication with an article number:

2. Van der Geer J, Hanraads JAJ, Lupton RA. The art of writing a scientific article. *Heliyon*. 2018;19:e00205. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00205>

Reference to a book:

3. Strunk W Jr, White EB. *The Elements of Style*. 4th ed. New York, NY: Longman; 2000.

Reference to a chapter in an edited book:

4. Mettam GR, Adams LB. How to prepare an electronic version of your article. In: Jones BS, Smith RZ, eds. *Introduction to the Electronic Age*. New York, NY: E-Publishing Inc; 2009:281–304.

Reference to a website:

5. Cancer Research UK. Cancer statistics reports for the UK. Accessed 13 March 2003. <http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/>; 2003. .

Reference to a dataset:

[dataset] 6. Oguro M, Imahiro S, Saito S, Nakashizuka T. Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions, Mendeley Data, v1; 2015. <https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>

Reference to software:

7. Coon E, Berndt M, Jan A, Svyatsky D, Atchley A, Kikinzon E, Harp D, Manzini G, Shelef E, Lipnikov K, Garimella R, Xu C, Moulton D, Karra S, Painter S, Jafarov E, Molins S. Advanced Terrestrial Simulator (ATS) v0.88 (Version 0.88). Zenodo; 2020, March 25. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3727209>

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the [List of Title Word Abbreviations](#).

Video

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the file in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB per file, 1 GB in total. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including [ScienceDirect](#). Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our [video instruction pages](#). Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Data visualization

Include interactive data visualizations in your publication and let your readers interact and engage more closely with your research. Follow the instructions [here](#) to find out about available data visualization options and how to include them with your article.

Supplementary material

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

Research data

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the [research data](#) page.

Data linking

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the [database linking](#) page.

For [supported data repositories](#) a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Mendeley Data

This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. During the submission process, after uploading your manuscript, you will have the opportunity to upload your relevant datasets directly to *Mendeley Data*. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

For more information, visit the [Mendeley Data for journals](#) page.

Data statement

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the [Data Statement](#) page.

AFTER ACCEPTANCE

Online proof correction

To ensure a fast publication process of the article, we kindly ask authors to provide us with their proof corrections within two days. Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to

MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

AUTHOR INQUIRIES

Visit the [Elsevier Support Center](#) to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch.

You can also [check the status of your submitted article](#) or find out [when your accepted article will be published](#).

© Copyright 2018 Elsevier | <https://www.elsevier.com>