

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA  
ESPECIALIZAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

**VIA DE SINALIZAÇÃO L-ARGININA/NO/GMP<sub>c</sub> COMO ALVO DO TRATAMENTO  
DA EMBOLIA PULMONAR: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

**BELO HORIZONTE**

**2018**

VALTER PAZ DO NASCIMENTO JUNIOR

**VIA DE SINALIZAÇÃO L-ARGININA/NO/GMP<sub>c</sub> COMO ALVO DO TRATAMENTO  
DA EMBOLIA PULMONAR: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como parte dos requisitos do curso de Especialização em Farmacologia.

**Orientador:** Prof. Stêfany Bruno de Assis Cau

BELO HORIZONTE

2018

**VIA DE SINALIZAÇÃO L-ARGININA/NO/GMPC COMO ALVO DO  
TRATAMENTO DA EMBOLIA PULMONAR: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

**VALTER PAZ NASCIMENTO JUNIOR**


Monografia de Especialização defendida e aprovada, no dia **19 de fevereiro de 2018**, pela Banca Examinadora constituída pelos seguintes professores:



**PROF<sup>A</sup>. DANIELLA BONAVENTURA**  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



**MA. GIANNE PAUL CAMPOS MOTA**  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



**PROF. STÉFANY BRUNO DE ASSIS CAU**  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
ORIENTADOR

Curso de Especialização em Farmacologia  
Instituto de Ciências Biológicas - Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG  
**Belo Horizonte, 19 de fevereiro de 2018**

Dedico esse trabalho para minha eterna mentora intelectual, uma grande amiga e companheira, Helen Carla Vieira Caixeta, por toda a ajuda e incentivo, não somente nesse momento, mas durante toda minha vida acadêmica e pessoal.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, que me concedeu energia para concluir mais essa trajetória, pois sem ele não teria traçado esse caminho.

Aos meus queridos e preciosos pais Celisdimar e Vilma, pois são o que há de mais importante em minha vida. Obrigado por me darem suporte emocional e afetivo durante toda a minha vida, sendo meu porto seguro, nesse passo tão importante em minha vida.

Agradeço a todos da minha família, em especial meus irmãos e avós, pelos vários momentos de compreensão que tiveram, por todas as vezes que me escutaram e me aconselharam.

Agradeço em especial a todos os professores da especialização, em especial meu orientador Stêfany, por ter confiado em mim, dividindo seu conhecimento e me fornecendo suporte necessário para concluir esse trabalho. Obrigado por ter se tornado uma grande inspiração para que eu alcance novos horizontes.

Aos colegas da especialização, em especial a Fernanda, Emylle e Grasiela, por serem muito mais do que colegas, dividimos momentos que foram além da sala de aula, se tornaram grandes amigas, irei levá-las por toda a minha vida.

Enfim, agradeço a todos as pessoas que fizeram parte dessa etapa, que sabem que esse é apenas um início de um grande sonho.

*“Sem sonhos, a vida não tem brilho. Sem metas, os sonhos não têm alicerces. Sem prioridades, os sonhos não se tornam reais.”*

*(Augusto Cury)*

## RESUMO

A embolia pulmonar (EP) caracteriza-se por sua alta prevalência e mortalidade. O tratamento para a EP tem por objetivo a estabilidade clínica e hemodinâmica, cujo foco se restringe principalmente na desobstrução mecânica do trombo. Estudos vêm evidenciando a relevância da vasoconstrição arterial pulmonar imediatamente após a instalação da EP. Assim, o uso de vasodilatadores se torna uma possibilidade terapêutica para a EP. O presente trabalho tem como objetivo realizar uma busca bibliográfica sobre os fármacos que atuam na via L-arginina/NO/GMPc no tratamento da EP. Trata-se de um estudo exploratório do tipo revisão bibliográfica integrativa. Os estudos incluíram: os agentes que aumentam a biodisponibilidade de L-arginina, inibidor de fosfodiesterase 5 (iPDE5), estimuladores de guanilato ciclase solúvel (GCs), antioxidantes e NO inalado (iNO). Dentre os estudos encontrados, os agentes que aumentam a biodisponibilidade de L-arginina (L-arginina exógena e o inibidor de sua degradação), iPDE5 sozinho (sildenafil) ou em associação (L-arginina, nitrito, doador de NO, inibidor de iNOS), estimuladores de GCs (BAY 41-8543, BAY 41-2272), antioxidante (TEMPOL) e iNO apresentaram resultados favoráveis em modelos experimentais reduzindo a hipertensão arterial pulmonar induzida pela EPA, dos quais o sildenafil apresenta os resultados mais promissores. O iNO foi o único testado em estudos clínicos. Consideramos também que, para que ativadores desta via constituam tratamentos para a EP existe a necessidade de se investir mais em ensaios clínicos controlados de grande porte, a fim de estabelecer a dose ideal, a faixa terapêutica e seus possíveis efeitos colaterais. Sendo assim, a ativação da via L-arginina/NO/GMPc apresenta-se como um alvo terapêutico promissor para o tratamento da EP.

**Palavras-chave:** Embolia pulmonar aguda; vasoconstrição pulmonar; tratamento; óxido nítrico.

## ABSTRACT

Pulmonary embolism (PE) is characterized by its high prevalence and mortality. Its treatment aims the clinical and hemodynamic stability and it is restricted mainly to the mechanical obstruction of the thrombus. Studies have shown the relevance of pulmonary arterial vasoconstriction immediately after the onset of PE. As a result, the use of vasodilators becomes a therapeutic possibility for PE. This study aimed to perform a review on the drugs that act on the L-arginine/NO/cGMP pathway for the treatment of PE; hence, we carried out an exploratory integrative review. Therapies found included drugs that increase the bioavailability of L-arginine, phosphodiesterase 5 inhibitor (iPDE5) alone or in combination, soluble guanylate cyclase (GCs) stimulators, antioxidant and inhaled NO (iNO). Among the studies related to the topic, agents that increase the bioavailability of L-arginine (exogenous L-arginine or arginase inhibitor), iPDE5 alone (sildenafil) or in combination (L-arginine, nitrite, NO donor, iNOS inhibitor), GCs stimulators (BAY 41-8543; BAY 41-2272), antioxidant (TEMPOL) and iNO presented favorable results in experimental models, reducing EPA-induced pulmonary arterial hypertension, of which sildenafil showed better results. Inhaled NO was the only drug used in clinical studies. Further investments in large controlled clinical trials should be done in order to establish the optimal dose, the therapeutic range and possible side effects for the treatment of EP with activators of L-arginine/NO/GMPc pathway. The activation of the L-arginine/NO/cGMP pathway is a promising therapeutic target for the treatment of PE.

**Keywords:** Acute pulmonary embolism; pulmonary vasoconstriction; treatment; nitric oxide.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Funcionamento esquemático do lóbulo pulmonar	18
Figura 2-	Esquema ilustrativo do ventrículo direito durante um evento de EP	19
Figura 3-	Esquema da fisiopatologia do ventrículo direito durante a EP	20
Figura 4-	Via de sinalização L-arginina/NO/GMPc e os fármacos que atuam sobre a via	24

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>BH4</b>	Tetrahidrobiopterina
<b>BK</b>	Canais K <sub>p</sub>
<b>Ca<sup>++</sup></b>	Íon cálcio
<b>DETA NO</b>	NONOato de dietilenotriamina
<b>EP</b>	Embolia Pulmonar
<b>EPA</b>	Embolia Pulmonar Aguda
<b>ERO</b>	Espécies Reativas de Oxigênio
<b>FAD</b>	Dinucleotídeo de flavina e adenina
<b>GCs</b>	Guanilato Ciclase solúvel
<b>GMPc</b>	Monofosfato Cíclico de Guanosina
<b>GTP</b>	Trifosfato de Guanosina
<b>iNO</b>	Óxido Nítrico Inalado
<b>iPDE5</b>	Inibidores da fosfodiesterase 5
<b>LIRI</b>	Lesão por Isquemia e Reperfusão Pulmonar
<b>L-NAME</b>	Éster Metílico de N-Nitroarginina
<b>NADPH</b>	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato Reduzida
<b>NO</b>	Óxido Nítrico
<b>nor-NOH</b>	N-Ômega-Hidroxi-Nor-L-Arginina
<b>NOS</b>	Oxido Nítrico Sintase
<b>Nox</b>	Produtos Oxidativos de NO
<b>ONOO<sup>-</sup></b>	Ânion Peroxinitrito
<b>PDE5</b>	Fosfodiesterase 5
<b>PKG</b>	Proteína Cinase G
<b>TBA-RS</b>	Espécies reativas do Ácido Tiobarbitúrico
<b>TEMPOL</b>	4 Hidroxi-2, 2, 6, 6-Tetrametilpiperidina-1-Oxil
<b>TEP</b>	Tromboembolismo Pulmonar
<b>TEV</b>	Tromboembolismo Venoso
<b>TVP</b>	Tombose Venoso Profunda
<b>VD</b>	Ventrículo Direito
<b>VE</b>	Ventrículo Esquerdo

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	11
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b>	13
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA</b>	14
3.1	TIPO DO ESTUDO	14
3.2	BASE DE DADOS	14
3.3	CRITÉRIOS PARA SELEÇÃO DE ARTIGOS	14
3.3.1	Critérios de inclusão	14
3.3.2	Critérios de exclusão	14
3.4	SELEÇÃO, ANÁLISE, INTERPRETAÇÃO E DISCUSSÃO DE RESULTADOS	15
<b>4</b>	<b>DESENVOLVIMENTO</b>	16
4.1	EPIDEMIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA DA DOENÇA	16
4.2	VIA DE SINALIZAÇÃO L-ARGININA/NO/GMPc: UMA ALTERNATIVA TERAPÊUTICA	22
4.2.1	Aumento da disponibilidade de L-arginina	24
4.2.2	Sildenafil: isolado ou em associação	26
4.2.3	Antioxidante: TEMPOL	29
4.2.4	Ativadores e estimuladores de Guanilato Ciclase (GCS)	30
4.2.5	O óxido nítrico inalado	32
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	34
	<b>REFERÊNCIAS</b>	35

## 1 INTRODUÇÃO

A embolia pulmonar (EP) está associada a uma alta mortalidade em todo mundo, sendo uma das principais causas de óbitos em pacientes hospitalizados. A epidemiologia da EP é difícil de estimar devido a erros no diagnóstico e sintomas não muito específicos (GO *et al.*, 2014). O Tromboembolismo venoso (TEV), que abrange trombose venosa profunda (TVP) e EP, responde por mais de 500 mil hospitalizações anuais nos Estados Unidos (EUA) estimando-se que só a EP resulta em pelo menos 100.000 mortes por ano, com uma prevalência de 3,4 a 14,8% nos EUA (BRADFORD *et al.*, 2016). No Brasil, os estudos são raros, mas dados de autópsia apontam uma prevalência que varia de 3,9% a 16,6%. Estima-se que aproximadamente 10% de todos os pacientes com EP aguda morrem durante os primeiros três meses (TERRA-FILHO; MENNA-BARRETO, 2010).

A palavra “êmbolo” é derivada de uma palavra grega que significa “rolha” ou “tampa” (CHESNUTT; PRENDERGAST, 2016). Assim, a EP consiste na obstrução aguda da circulação arterial pulmonar pela instalação de coágulos sanguíneos, geralmente oriundos da circulação venosa sistêmica com redução ou cessação do fluxo sanguíneo pulmonar para a área afetada (ALVARES; PÁDUA; TERRA FILHO, 2003).

Um êmbolo pulmonar causa algum grau de obstrução mecânica, que dependerá de diferentes fatores, como reflexos neuro-humorais estimulados pelo trombo, pela presença ou ausência de doença cardiopulmonar pré-existente e proporção da circulação pulmonar obstruída. Em condições normais, o organismo adapta a circulação pulmonar ao fluxo aumentado, mas, condições em que ocorre a obstrução mecânica, a resistência vascular pulmonar e a pressão arterial pulmonar aumentam (CHESNUTT; PRENDERGAST, 2016). Essas alterações hemodinâmicas desencadeiam hipertensão pulmonar e aumento da pós-carga do ventrículo direito (VD), o qual não consegue esvaziar-se completamente, tolerando com dificuldade o aumento da pressão (PAULOS; MENDES, 2008).

O aumento da pressão pulmonar resulta do aumento da resistência vascular na pequena circulação, em geral, por mecanismos mistos envolvendo vasoconstrição e remodelagem da parede arterial (SBPT, 2005). A vasoconstrição pulmonar que ocorre após EP é atribuída ao aumento de vasoconstritores como

tromboxano A<sub>2</sub> e também pela diminuição de vasodilatadores como NO e prostaciclina (BARRETO *et al.*, 2005).

Estudos vêm evidenciando a relevância da vasoconstrição arterial pulmonar imediatamente após a instalação da EP. No entanto, poucos estudos abordam a hipótese que a adição de fármacos que diminuam a hipertensão pulmonar e que melhorem o débito cardíaco ventricular direito durante a EP pode produzir efeitos benéficos, aumentando a sobrevida dos doentes (DIAS-JUNIOR *et al.*; 2010). Existem vários estudos experimentais utilizando a via de sinalização de L-arginina/NO/GMPc como alvo de tratamento para EP, porém a terapia vasodilatadora da hipertensão pulmonar induzida por EP não foi implementada na prática clínica.

O tratamento da EP utilizado nos dias atuais tem por objetivo a estabilidade clínica e hemodinâmica, cujo foco é principalmente a desobstrução mecânica do trombo, que inclui a utilização de agentes anticoagulantes e trombolíticos e, em alguns casos, a retirada cirúrgica dos trombos (embolectomia) (TERRA-FILHO; MENNA-BARRETO, 2010). Mas como já destacado, estudos sugerem que a vasoconstrição pulmonar durante a EP está envolvida na patogenia da doença, reforçando a necessidade de fármacos que atuam com efeitos vasodilatadores após a ocorrência deste evento.

Nessa revisão foram retratados artigos que utilizam moléculas que atuam diretamente sobre a via de sinalização de L-arginina/NO/GMPc durante o evento de EP. O uso de drogas como os agentes que aumentam a biodisponibilidade de L-arginina, inibidores de L-arginase (iPDE5) sozinho ou em associação, estimuladores de GCs, antioxidantes e NO inalado (iNO) podem diminuir a resistência vascular pulmonar e, conseqüentemente, diminuir a pressão pulmonar, favorecendo um desfecho positivo durante a EP.

## **2 OBJETIVO**

Tendo como alvo a vasoconstrição pulmonar, o presente trabalho tem como objetivo revisar as pesquisas e propostas terapêuticas que atuam na via do NO para o tratamento da EP.

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 TIPO DE ESTUDO

O presente estudo é de carácter exploratório, do tipo revisão bibliográfica integrativa.

#### 3.2 BASE DE DADOS

As buscas foram realizadas nas bases de dados bibliográficos: *Medical Literature Analysis and Retrieval System Online* (MedLine/PubMed) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) e *Scientific Eletronic Library Online* (SciELO) (<http://www.scielo.org/php/index.php>).

Para realizar as buscas nas bases de dados os descritores utilizados foram: embolia pulmonar aguda (*acute pulmonary embolism*); vasoconstrição pulmonar (*pulmonary vasoconstriction*); tratamento (*treatment*); óxido nítrico (*nitric oxide*); óxido nítrico inalado (*inhaled nitric oxide*); doador de oxido nítrico (*NO donor*).

#### 3.3 CRITÉRIOS PARA SELEÇÃO DE ARTIGOS

##### 3.3.1 Critérios de inclusão

Foram incluídos na revisão artigos completos, disponíveis eletronicamente, que discutam de forma pontual aspectos relevantes sobre a vasoconstrição como alvo de tratamento durante a EP.

A seleção se limitou a artigos escritos em português ou inglês, publicados nos últimos anos (2005 a 2017).

##### 3.3.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos da revisão cartas, resumos, dissertações.

### 3.4 SELEÇÃO, ANÁLISE, INTERPRETAÇÃO E DISCUSSÃO DE RESULTADOS

Para a revisão, iniciou-se uma leitura exploratória de todo o material pré-selecionado através dos descritores que objetivou verificar se os artigos consultados eram de interesse para o trabalho. A partir dessa seleção, realizou-se uma leitura aprofundada dos artigos de interesse, com a finalidade de ordenar e resumir as informações contidas nas fontes, de forma que estas respondessem aos objetivos da pesquisa.

Foram revisados 19 artigos a respeito de drogas que atuam na via do NO para o tratamento da vasoconstrição pulmonar induzida pela EPA.



## 4 DESENVOLVIMENTO

### 4.1 EPIDEMIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA DA DOENÇA

A EP está associada a uma mortalidade em todo mundo, sendo considerada a terceira doença cardiovascular aguda mais comum (GO *et al.*; 2014). Acredita-se que aproximadamente 10% de todos os pacientes com embolia pulmonar aguda (EPA) morrem durante os primeiros três meses (TERRA-FILHO; MENNA-BARRETO, 2010), sendo que a maioria das mortes acontecem na primeira hora após o evento (BRADFORD *et al.*, 2016).

O TEP é uma doença com poucos dados epidemiológicos, acreditando que sua incidência real seja subestimada uma vez que frequentemente o quadro clínico é multifacetado com uma natureza silenciosa. A maioria dos dados encontrados disponíveis atualmente é proveniente de prontuários hospitalares de atestados de óbito ou de autópsias, não se computando dados de pacientes onde os episódios tenham ocorrido fora do ambiente hospitalar, ou ainda como viés, há aqueles que mesmo internados não possuíram o diagnóstico clínico de TEP (TERRA-FILHO; MENNA-BARRETO, 2010).

O TEV, que abrange TVP e EP, responde por mais de 500 mil hospitalizações anuais nos Estados Unidos (EUA) (BRADFORD *et al.*, 2016). A incidência estimada de TEV é de 1 a 2 eventos por 1.000 pessoas/ano. Acredita-se que aproximadamente dois terços desses eventos estão relacionados à TVP, enquanto que o restantes são decorrentes da EP, contribuindo anualmente para cerca de 100 mil mortes anuais nos EUA, com uma prevalência de 3,4 a 14,8% (WIENER; SCHWARTZ; WOLOSHIN, 2011).

No Brasil os estudos são raros, mas dados de autópsia apontam uma prevalência que varia de 3,9% a 16,6% (TERRA-FILHO; MENNA-BARRETO, 2010). No estudo de Darze *et al.*, (2010) realizado no Brasil durante o período de 1989 até 2010 constatou 92.999 óbitos relacionados à EP, sendo a taxa de mortalidade maior nas mulheres (51.871) do que nos homens (41.128).

O êmbolo pulmonar consiste em material que tem acesso ao sistema venoso e depois à circulação pulmonar (CHESNUTT; PRENDERGAST, 2016). Assim, a EP consiste na obstrução aguda da circulação arterial pulmonar pela instalação de coágulos sanguíneos, geralmente oriundos da circulação venosa sistêmica, com

redução ou cessação do fluxo sanguíneo pulmonar para a área afetada, no qual a TVP é o evento básico e a EP a principal complicação aguda (ALVARES; PÁDUA; TERRA FILHO, 2003).

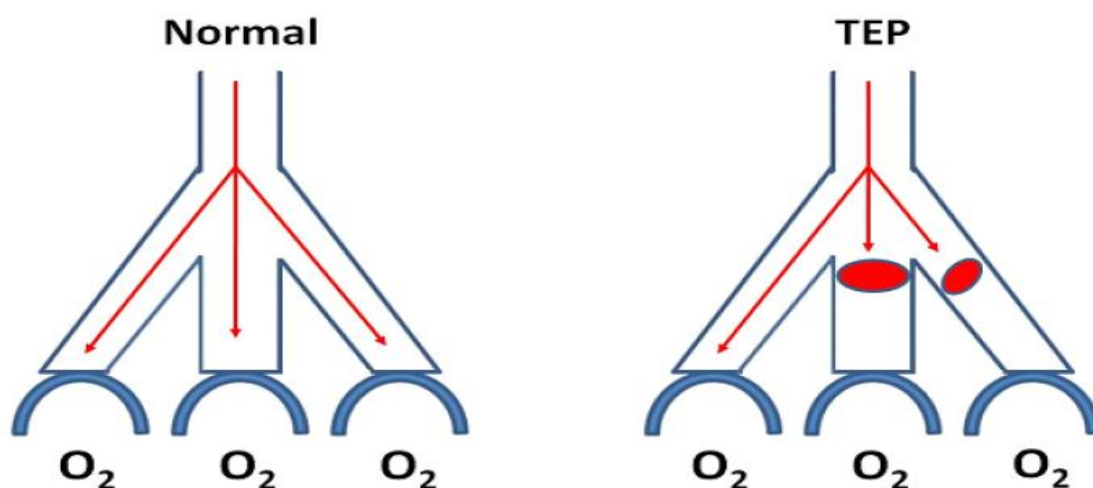
O principal mecanismo envolvido no tromboembolismo foi descrito há mais de um século, em 1856, pelo médico patologista Dr. Rudolf Ludwig Karl Virchow, cientista polonês erradicado na Universidade de Berlim. Sua teoria ficou conhecida como *tríade de Virchow* aceita até hoje, que descreve como sendo os responsáveis pelo tromboembolismo a estase venosa, o estado de hipercoagulabilidade e a lesão endotelial (MORICI, 2014). É importante destacar que estes três componentes da tríade não atuam de forma autônoma, existindo uma constante interligação entre elas. Assim sendo, a hipercoagulabilidade afeta o fluxo sanguíneo normal, o que por sua vez pode provocar lesão endotelial (PAULO; MENDES; 2008). A estase é muitas vezes considerada o fator mais proeminente que pode levar à formação de coágulos. A estase venosa pode apresentar-se em uma variedade de configurações, incluindo imobilização, insuficiência venosa crônica, paresia secundária ao acidente vascular cerebral, varizes e outras causas. Já o dano vascular resulta da interrupção do endotélio vascular e suas causas incluem cirurgia, cauterização venosa central ou instrumentação e trauma. E por fim, a hipercoagulabilidade também pode ter múltiplas causas, incluindo doenças autoimunes, malignidades e anormalidades genéticas do sistema de coagulação, como a função prejudicada do fator V de Leiden, a deficiência das proteínas C e S e a presença de anticoagulante lúpico (MORICI, 2014).

Os êmbolos pulmonares ou trombos venosos são compostos por uma massa friável de fibrina com muitas hemácias, poucos leucócitos e plaquetas envolvidos através de uma matriz (BRADFORD *et al.*, 2016). Encontram-se localizados principalmente no sistema venoso profundo (81%), sendo que as veias proximais dos membros inferiores (ilíacas e femorais) estão relacionadas à formação de trombos com maior risco de EP. As cavidades cardíacas direitas contribuem com cerca de 19% dos êmbolos relacionando-se, principalmente, com as cardiopatias dilatadas, isquêmicas e com as arritmias (ALVARES; PÁDUA; TERRA FILHO, 2003).

Um êmbolo pulmonar causa um grau de obstrução mecânica que dependerá de diferentes fatores, como perda da proporção da circulação pulmonar obstrutiva, de reflexos neuro-humorais estimulados pelo trombo e da presença ou ausência de doença cardiopulmonar preexistente (CHESNUTT; PRENDERGAST; 2016). Esse movimento do êmbolo até os pulmões podem impactar na bifurcação da

artéria pulmonar ou em ramos lobares, levando ao comprometimento respiratório e hemodinâmico, podendo ocasionar a morte do indivíduo. Na figura 1, observa-se de forma esquemática que em uma situação de EP há o comprometimento da luz do vaso, onde há comprometimento da oxigenação sanguínea, podendo acarretar a hipoxemia (BONI; SANTOS; 2009).

**Figura 1-** Funcionamento esquemático do lóbulo pulmonar. Observamos à esquerda, o caminho que o sangue (setas) percorre no lóbulo pulmonar para chegar até o alvéolo (semicírculo), onde em condições normais é oxigenado. Já a direita, em uma situação de TEP ocorre o chamado espaço morto, com alvéolos ventilados e não perfundidos devido à presença de trombos (círculos em vermelho) na luz do vaso, podendo levar a hipoxemia. TEP: Tromboembolismo pulmonar; O<sub>2</sub>: Oxigênio.



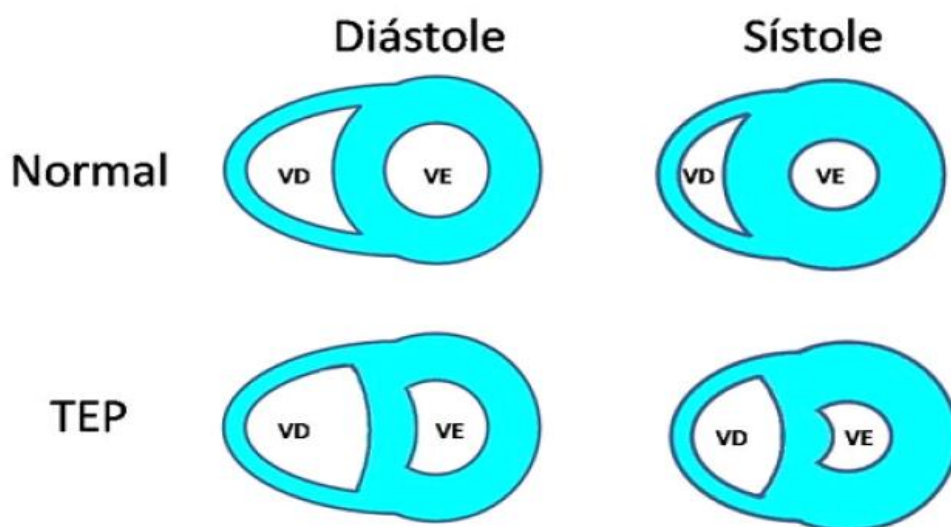
Fonte: Volpe, et al.; 2010.

As consequências hemodinâmicas durante a EP surgem quando há comprometimento de 30 a 50% do leito arterial pulmonar. Êmbolos grandes ou múltiplos podem aumentar abruptamente a pressão na artéria pulmonar até níveis não tolerados pelo ventrículo direito (VD), levando rapidamente à morte por dissociação eletromecânica (VOLPE, *et al.*, 2010). O aumento da pós-carga acarreta na sobrecarga do VD, o qual não consegue esvaziar-se completamente, tolerando com dificuldade o aumento da pressão (PAULOS; MENDES, 2008). A dificuldade em esvaziar-se pode levar à estase venosa o que favorece a formação de trombos secundários. A falência do VD ou à insuficiência diastólica do ventrículo esquerdo (VE) acarreta no baixo débito cardíaco causada pelo movimento discinético do septo interventricular, consequente à sobrecarga pressórica do VD (figura 3) (VOLPE, *et al.*, 2010).

Em condições normais, o músculo cardíaco no momento em que ocorre a sístole, há uma redução do volume em ambos os ventrículos, sendo que a contração

do VD não altera a conformação geométrica do VE. Em situações normais, o VD tem forma de meia-lua, com parede livre côncava e septo convexo e espessura de 1/3 em relação à do VE, sendo a sua principal fonte de irrigação a artéria coronária direita. Mas em uma situação em que existe a sobrecarga do VD, como na EP, o septo interventricular é rebatido à esquerda, levando a diminuição do enchimento do VE, como mostrado na figura 2 (VOLPE, *et al.*, 2010).

**Figura 2** - Esquema ilustrativo do ventrículo direito durante um evento de EP. Em condições fisiológicas (parte superior), durante a sístole há uma redução de volume em ambos os ventrículos, com a contração do VD não alterando a geometria do VE. Já quando há uma sobrecarga do VD em decorrência do TEP (parte inferior), o septo interventricular é repelido para a esquerda, diminuindo o enchimento do VE e mudança na geometria da câmara. TEP: Tromboembolismo pulmonar; VD: ventrículo direito; VE: ventrículo esquerdo.

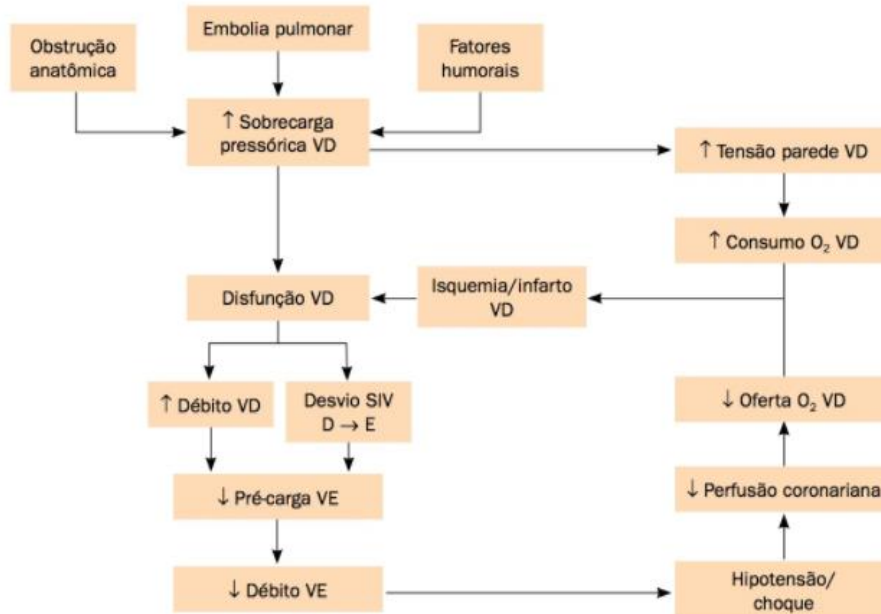


Fonte: VOLPE, *et al.*; 2010.

As alterações hemodinâmicas causadas pela EP podem ser justificada por um VD alargado e hipocinético, com septo interventricular achatado ou desviado para a esquerda e, muitas vezes, uma aurícula direita dilatada com regurgitação tricúspide associada (SERRADO JUNIOR; NOBRE, 2006). O quadro clínico e gravidade da EP dependerão da carga embólica, das condições cardiopulmonares prévias e da capacidade de resposta humoral (Figura 3) (ALVARES; PÁDUA; TERRA FILHO, 2003).

A insuficiência respiratória apresentada durante o evento de EP acontece essencialmente em consequência do quadro circulatório, que envolve uma complexa resposta cardiopulmonar como distúrbios ventilação/perfusão, hipoxemia e taquipnéia (BONI; SANTOS, 2009; PAULOS; MENDES, 2008).

**Figura 3** – Esquema da fisiopatologia da disfunção ventricular direita durante a EP. Sequência de eventos fisiopatológicos que acontecem no VD através da associação entre fatores humorais e a obstrução anatômica provocada pelo êmbolo pulmonar acarretando no aumento do volume do VD. S/V: septo interventricular; D: direito, E: esquerdo; VD: ventrículo direito; VE: ventrículo esquerdo.



Fonte: SERRADO JUNIOR; NOBRE, 2006.

Durante a EP, a hipoxemia junto com diferentes mediadores aumentam o tônus vascular pulmonar com conseqüente agravamento da hipertensão pulmonar superestimando o grau de obstrução (BARRETO *et al.*, 2005). Os principais mediadores envolvidos são plaquetários: serotonina, tromboxano A<sub>2</sub>, prostaglandina H<sub>2</sub>; de neutrófilos: fator ativador de plaquetas, tromboxano A<sub>2</sub>; leucotrienos; radicais livres de oxigênio; plasma: trombina, fração C<sub>3</sub> e C<sub>5a</sub> do complexo, fragmento D da fibrina; endotélio: endotelina, deficiência de NO e prostaglandina I<sub>2</sub>. Caso haja recorrência do fenômeno tromboembólico ou agravamento da hipertensão pulmonar pela ação dos mediadores, o VD pode tornar-se incapaz de gerar pressão adequada para vencer a pós-carga e apresenta sinais de insuficiência (BARRETO *et al.*, 2005; SERRADO JUNIOR; NOBRE, 2006).

As manifestações clínicas da doença variam dependendo do tamanho do êmbolo (o grau de obstrução vascular pulmonar) e a capacidade do VD para responder ao aumento da pós-carga. A embolia se apresenta na forma "aguda maciça" ou "clássica" e aproximadamente metade das situações são assintomáticas. A EPA apresenta alterações no sistema circulatório que podem levar à insuficiência respiratória grave (hipóxia) e até mesmo uma parada cardíaca. Geralmente o paciente

se encontra em estado de choque: frio, úmido, hipotensivo e a pressão venosa jugular elevada. Já EP clássica tem como sinais a dispnéia repentina, dor torácica e hemoptise. A tosse e a sibilância são ocasionalmente descritas. Ao exame observa-se: taquipneia, taquicardia e uma elevada pressão venosa jugular (RESS; WILLIANS; 2005).

O tratamento vigente da EP tem por objetivo a estabilidade clínica e hemodinâmica, cujo foco é a obstrução mecânica do trombo. O tratamento inclui a utilização de recursos farmacológicos e, em alguns casos, o procedimento cirúrgico está indicado (TERRA-FILHO; MENNA-BARRETO, 2010).

O tratamento farmacológico para o paciente com EP consiste na utilização de agentes trombolítico (fibrinolítico) e anticoagulantes. O medicamento é iniciado desde o diagnóstico clínico até pelo menos três meses após o evento trombolítico (JAFF *et al.*; 2011). A utilização dos agentes trombolíticos (como a estreptomicina) no tratamento da EP aguda com instabilidade hemodinâmica e disfunção do VD está indicado devido ao fato desses fármacos serem eficazes para dissolver coágulos formados e assim, permitir a reperfusão (SBC, 2004). Porém existem poucos estudos que comprovem clinicamente a eficácia desses agentes frente aos anticoagulantes, sendo, sua indicação limitada para grupos que apresentem maior gravidade clínica (SBC; 2004). Sendo assim, durante a fase aguda se administra a anticoagulação parenteral (heparina não fracionada, heparina de baixo peso molecular) durante os primeiros 5-10 dias, logo após esse período, a heparina parenteral deve ser substituída pela warfarina (antagonista de vitamina K) ou pelos novos anticoagulantes orais (dabigatrano, edoxabano, rivaroxabano, apixabano) (JAFF *et al.*; 2011).

Como se sabe, a EP tem uma alta taxa de mortalidade, sendo que a maiorias das mortes acontecem na primeira hora após o evento (BRADFORD *et al.*, 2016). Sabendo que a falha aguda de VD resulta na principal causa de morte em pacientes com EP, o tratamento de suporte é vital.

Atualmente, estudos vêm evidenciando a relevância da vasoconstrição arterial pulmonar imediatamente após a instalação da EP. Nesse cenário, os vasodilatadores, em especial os vasodilatadores que atuam na via do óxido nítrico, se tornam uma boa opção terapêutica, pois são capazes de diminuir a pressão arterial pulmonar e a resistência vascular pulmonar.

## 4.2 VIA DE SINALIZAÇÃO L-ARGININA/NO/GMPc: UMA ALTERNATIVA TERAPÊUTICA

O óxido nítrico (NO) é um radical livre, gasoso, gerado naturalmente na atmosfera por descargas elétricas (ZHAO; VANHOUTTE; LEUNG, 2015). No organismo, esse radical livre é sintetizado endogenamente, em diferentes sítios, através da oxidação de um dos dois nitrogênios guanidino da L-arginina, que é convertida em L-citrulina. Essa reação acontece através da catálise por enzimas da família de óxido nítrico sintases (NOS) (DUSSE; VIEIRA; CARVALHO, 2003). O NO endógeno (figura 4) está envolvido em diferentes processos, dentre esses, podemos citar sua ação no sistema cardiovascular, no qual o NO modula o tônus da vascular (TANG; *et al.*, 2017; RANG *et al.*, 2007).

A produção de NO a partir de L-arginina pela NOS necessita da presença de diferentes substratos como: do oxigênio, da nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida (NADPH) e do complexo protoporfirina IX de ferro (heme); além de vários co-fatores como: tetrahidrobiopterina (BH4), dinucleotídeo de flavina e adenina (FAD), flavina mononucleótido (FMN). Existem três isoformas conhecidas das NOS, a neuronal (nNOS ou NOS-1), a induzível (iNOS ou NOS-2) e a endotelial (eNOS ou NOS-3) (ZHAO; VANHOUTTE; LEUNG, 2015).

A atividade da eNOS é feita por estímulos solúveis (incluindo-se acetilcolina, bradicinina, adenosina difosfato, substância P, serotonina e outros), que atuam sobre receptores específicos na membrana celular endotelial para aumentar a concentração intracelular de cálcio ( $Ca^{++}$ ). O  $Ca^{++}$  se liga à calmodulina e conduz à ativação do domínio de ligação de calmodulina de eNOS, levando a síntese de NO. Outra maneira de produção de NO é quando há um aumento do atrito exercido pelo fluxo sanguíneo sobre a camada endotelial (estresse de cisalhamento). Esse estímulo é reconhecido por mecanorreceptores endoteliais e transduzido através de uma serina-treonina proteína cinase (Akt), levando à ativação da eNOS presente nestas células e como consequência leva à produção de NO (ZHAO; VANHOUTTE; LEUNG; 2015; DUSSE; VIEIRA; CARVALHO, 2003; TANG, *et al.*; 2017).

O NO liberado pelas células endoteliais difunde-se rapidamente para a célula muscular e para o lúmen vascular. No interior da célula muscular, o NO interage com o ferro do grupo heme da enzima guanilato ciclase solúvel (GCs), acarretando uma alteração da conformação desta enzima, tornando-a ativa (GCa) (DUSSE;

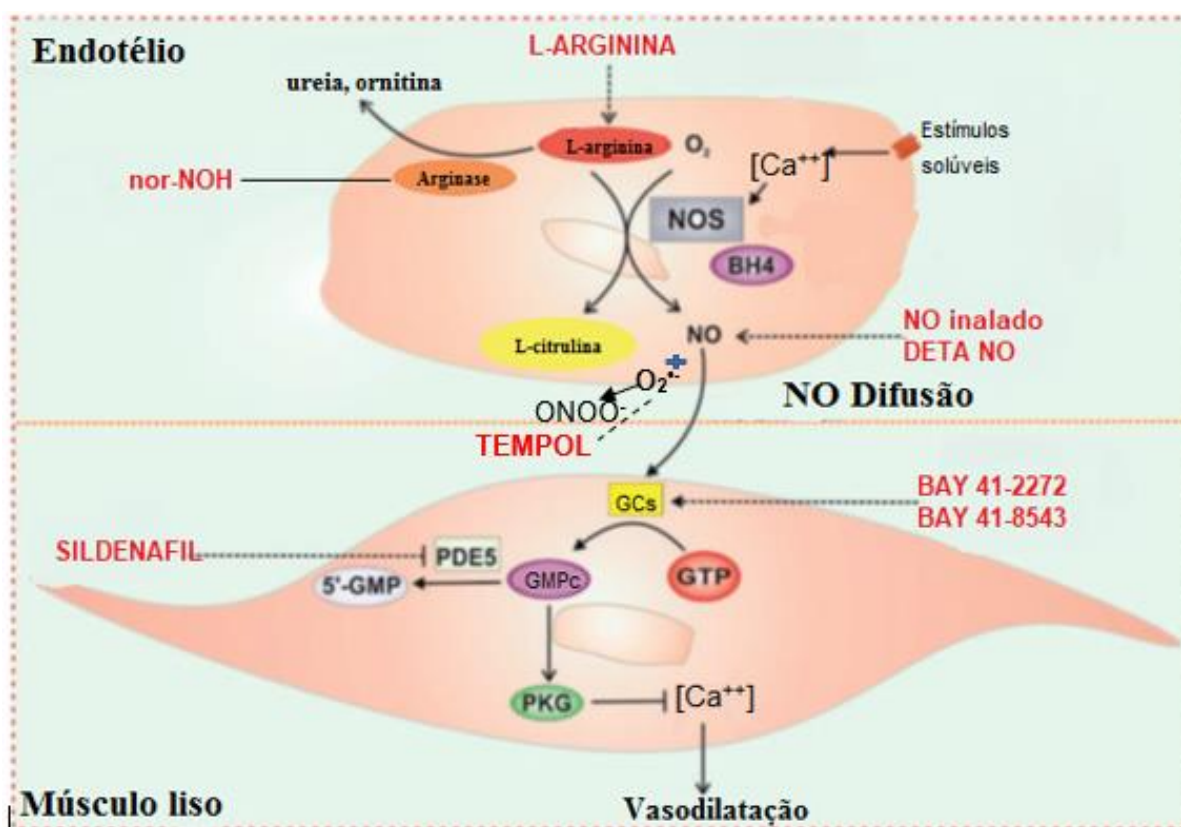
VIEIRA; CARVALHO, 2003; TANG, *et al.*; 2017). A GCa catalisa a saída de dois grupamentos fosfato da molécula de trifosfato de guanosina (GTP), resultando na formação de monofosfato cíclico de guanosina (GMPc), que é então catalisado pela fosfodiesterase 5 (PDE5) para se tornar 5'-GMP, inativo. O GMPc é um importante segundo mensageiro intracelular, que ativa os canais de íons sensíveis à proteína cinase G (PKG). A PKG por sua vez, medeia a fosforilação de serina e resulta na ativação dos canais para potássio de grande condutância, levando à hiperpolarização, e de canais para  $\text{Ca}^{++}$ , tendo como consequência o relaxamento e diminuição do tônus vascular. A regulação do  $\text{Ca}^{++}$  intracelular pelo NO é feito pelos três mecanismos de relaxamento: que envolve a diminuição da entrada de  $\text{Ca}^{++}$  para a célula; a inibição da liberação de  $\text{Ca}^{++}$  do retículo endoplasmático e o aumento do sequestro de  $\text{Ca}^{++}$  para o retículo endoplasmático. Para isso, o NO interage com grupos tióis formando os compostos S-nitrosilados, que irão modular esses canais promovendo o relaxamento (ZHAO; VANHOUTTE; LEUNG; 2015; DUSSE; VIEIRA; CARVALHO; 2003).

Como discutido anteriormente, vários mecanismos contribuem para o desenvolvimento EP, mas um dos eventos pouco explorados terapêuticamente é o aumento do tônus vascular pulmonar, levando à hipertensão pulmonar durante a EP. Nesse sentido, o aumento da GMPc citoplasmático e a PKG ativada exercem efeitos relaxantes e anti-proliferativos nas células do músculo liso arterial pulmonar tendo papel central no controle da hipertensão pulmonar (TANG, *et al.*; 2017) (figura 4).

Portanto, a estimulação da via de sinalização de L-arginina/NO/GMPc se torna um grande alvo durante o evento de TEP, devido à ampla evidência de que os níveis diminuídos de NO desempenham um papel fundamental na patogênese da vasoconstrição e no remodelamento vascular, sendo necessária a busca por fármacos e moléculas que desempenham especificamente essa função durante uma TEP. Nessa revisão serão analisados artigos que utilizaram moléculas que atuam diretamente sobre a via de sinalização de L-arginina/NO/GMPc na EP. As intervenções farmacológicas incluem a L-arginina exógena; doador de NO; NO inalado; antioxidantes; inibidor da fosfodiesterase (iPDE5), ativadores/estimuladores da GCs.



**Figura 4** – Via de sinalização L-arginina/NO/GMPc e os fármacos que atuam sobre a via. Esquema da produção de NO a partir de L-arginina pela NOS, que depende de diferentes substratos e co-fatores. A ativação NOS é feita por diferentes estímulos solúveis. O NO liberado pelas células endoteliais difunde-se rapidamente para a célula muscular e para o lúmen vascular. No interior da célula muscular, o NO interage com a enzima GCs, acarretando uma alteração da conformação desta enzima, tornando-a ativa, catalisa a saída de dois grupamentos fosfato da molécula de GTP, resultando na formação de GMPc, que é então catalisado pela PDE5 para se tornar 5'-GMP, inativo. O GMPc é um importante segundo mensageiro intracelular, que ativa os canais de íons sensíveis à PKG. A PKG por sua vez, medeia a fosforilação da serina e resulta na ativação dos canais para potássio de grande condutância, que são ativados pelo aumento de  $Ca^{++}$  intracelular nas células musculares lisas, essa ativação dos canais para potássio leva à hiperpolarização da célula, levando ao relaxamento e diminuição do tônus vascular. As drogas descritas na figura na cor vermelha (NO inalado, DETA NO, TEMPOL, BAY 41-2272, BAY 41-8543, sildenafil) estão sinalizadas onde atuam na via. NOS: óxido nítrico sintase; BH4: tetrahydrobiopterina; NO: óxido nítrico; GCs: guanilato ciclase solúvel; PDE5 fosfodiesterase tipo 5; GMPc: monofostato ciclico de guanosina; GTP: trifosfato de guanosina; PKG: proteína cinase G;  $Ca^{++}$ : cálcio;  $O_2$ : oxigênio,  $O_2^{\cdot-}$ : ânion superóxido; ONOO $^-$ : peroxinitrito.



Fonte: Modificado de TANG, *et al.*; 2017.

#### 4.2.1 Aumento da disponibilidade de L-arginina

A L-arginina é o substrato para síntese de NO (figura 4). De forma geral, os artigos revisados testam a hipótese que a administração aguda da L-arginina minimiza

os efeitos vasoconstritores provocados pelo TEP, partindo-se do pressuposto que durante a EP existe uma diminuição da L-arginina circulante, que pode contribuir para a constrição vascular (CHU; *et al.*; 2005; SOUZA-COSTA *et al.*, 2005; WATTS *et al.*; 2012).

Os efeitos protetores da L-arginina foram relatados no estudo de Souza-Santos *et al.* (2005). Em um modelo experimental com microesferas, utilizando a circulação pulmonar isolada de ratos, os autores utilizaram a L-arginina em quatro diferentes concentrações, sendo que apenas a menor concentração de L-arginina conseguiu produzir efeito com cerca de 50% da diminuição da hipertensão pulmonar provocada pela EP. Esse efeito protetor só foi visto quando administrado cinco minutos antes do evento trombolítico. As espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS) foram quantificadas para avaliar o estresse oxidativo, mostrando que a L-arginina em todas as concentrações propostas diminuiu o aumento do TBA-RS após a EP, o que mostra que a L-arginina atenua o estresse oxidativo.

No trabalho de Chu *et al.* (2005) foram testados os efeitos da L-arginina em ratos com lesões pulmonares induzidas por embolismo aéreo, percebendo-se também que a L-arginina na concentração de 4 mmol/L atenuou o aumento do índice de permeabilidade microvascular à água, reduzindo assim o aumento da permeabilidade vascular e protegendo contra o desenvolvimento de um edema pulmonar agudo. No entanto, não houve diminuição da pressão arterial pulmonar quando comparado ao controle. O pré-tratamento com L-arginina fez com que os pulmões não aumentassem de peso. Isso permite inferir que o aumento da via L-arginina/NO/GMPc pode exercer um efeito protetor na lesão pulmonar induzida por embolismo aéreo, uma vez que o pré-tratamento com L-arginina protegeu o desenvolvimento de edema pulmonar agudo sem alteração da pressão pulmonar.

Tanto no estudo de Chu *et al.* (2005), quanto no Souza-Costa *et al.* (2005), os pesquisadores utilizaram o éster metílico de N-nitroarginina (L-NAME), um inibidor da síntese de NO, para avaliar a participação da NOS sobre os efeitos da L-arginina. Em ambos os estudos, todos os efeitos positivos da L-arginina exógena foram revertidos na presença de L-NAME, destacando a importância da produção de NO via NOS como componente da resposta à L-arginina.

Seguindo essa mesma linha de raciocínio, que durante um evento embólico existe uma diminuição de L-arginina decorrente da depleção por arginase, uma alternativa terapêutica seria inibir a atividade da arginase, aumentando assim a

disponibilidade da L-arginina endógena. A EP induzida em ratos através de microesferas de poliestireno causou diminuição das concentrações plasmáticas de L-arginina, a menor concentração da L-arginina plasmática foi observada cinco horas após a lesão. Ao se administrar um inibidor da enzima arginase, a N-ômega-hidroxinor-L-arginina (nor-NOH) (figura 4), obteve-se um aumento de L-arginina plasmática, preservando os níveis plasmáticos de L-arginina por 5h após a EP, conseqüentemente a isso, houve um aumento do débito cardíaco com redução significativa (40%) da resistência vascular pulmonar (WATTS *et al.*; 2012). Assim, o aumento da disponibilidade de L-arginina, utilizando um nor-NOH tem um papel positivo durante a EP.

Como exposto, a possibilidade de aumentar a disponibilidade de L-arginina, seja pela administração exógena ou pela inibição da enzima responsável por sua degradação, atenua os efeitos provocados durante o evento embólico, desde resultados como a diminuição da hipertensão pulmonar induzida pela EP até a diminuição da hipertensão pulmonar em estudos experimentais. Acreditando-se no potencial da L-arginina, faz-se necessário investimentos em estudos clínicos, uma vez que a mesma pode se tornar uma importante opção para a otimização da produção de NO, a fim de minimizar a morbidade e mortalidade provocada pelo EP.

#### 4.2.2 Sildenafil: isolado ou em associação

O sildenafil é um inibidor da fosfodiesterase tipo 5 (PDE5), que é a enzima que inativa o GMPc (figura 4). A inibição da PDE5 acarreta na maior disponibilidade de GMPc, potencializa o efeito vasodilatador, via ativação da PKG, sendo utilizado para o tratamento de algumas formas de hipertensão pulmonar. Acreditando nisso, vários trabalhos tentaram demonstrar a hipótese que o sildenafil diminuiria a resistência vascular pulmonar durante o EPA, sem causar queda da resistência vascular periférica.

Dias Junior *et al.* (2005a) e Dias Junior *et al.* (2005b) testou a administração intravenosa de sildenafil em diferentes doses durante EPA induzida por microesferas em cães. Em ambas as doses de sildenafil se obtiveram redução da resistência vascular pulmonar e da pressão arterial pulmonar média (em aproximadamente 8 a 16mmHg). Os autores também observaram a diminuição do estresse oxidativo, sendo que após a administração das doses da droga evitou o aumento de TBA-RS a níveis

plasmáticos. Outro ponto destacado pelos autores em ambos os trabalhos é que não foram encontradas mudanças na pressão arterial média e nem na resistência vascular sistêmica. Podemos inferir que o sildenafil é um vasodilatador pulmonar seletivo, tendo efeitos benéficos durante a EP sem gerar instabilidade hemodinâmica.

O sildenafil isoladamente atenuou a hipertensão arterial pulmonar durante a EP. Souza-Silva *et al.* (2005) associaram o sildenafil a outro vasodilatador, no intuito de aumentar os efeitos hemodinâmicos benéficos provocados pelo sildenafil. Utilizou-se então o sildenafil combinado com doses crescentes de L-arginina, em um modelo experimental de EP induzida por microesferas em cães. A administração combinada de L-arginina com sildenafil não melhorou os efeitos benéficos do sildenafil, uma vez que houve diminuição do índice de resistência vascular pulmonar e da pressão arterial pulmonar média somente quando se utilizava o sildenafil. Os autores também dosaram a concentração de nitrito/nitrato (NOx) nas amostras de sangue dos animais com a finalidade de avaliar de forma indireta da produção de NO, uma vez que esses são produtos da oxidação do NO. Nesse caso, a L-arginina aumentou as concentrações plasmáticas de NOx, mas o aumento do cGMP só foi observado quando se administrou sildenafil concomitantemente. Souza-Silva *et al.* (2005) acreditam que a L-arginina não foi capaz de exercer sua ação nesse modelo porque durante a EP existe um desacoplamento da eNOS, o que significa que a enzima deixa de produzir NO e passa a produzir ânion superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ). Assim, a estimulação de eNOS desacoplada com L-arginina após o evento aumentaria a formação de  $O_2^{\cdot-}$  e peroxinitrito ( $ONOO^-$ ), impedindo a L-arginina de produzir efeitos benéficos por meio do aumento da síntese de NO. Percebe-se então, que a administração simultânea de L-arginina com sildenafil não trouxe vantagens e os efeitos sobre a EPA só foram evidenciados com a ação do sildenafil, sem sinergismo de ação quando administradas juntas.

O sildenafil também foi testado em associação com a infusão de nitrito em baixa dose em um modelo de EPA por microesferas em cão. O nitrito é uma molécula que pode sofrer redução e liberar NO sob condições de hipoxia e acidose tecidual (DEJAM; *et al.*, 2004). Sendo assim, durante a EP onde se tem um quadro de hipóxia, o NO produzido a partir de nitrito pode promover a vasodilatação pulmonar através da ativação da GCs. Nesse estudo, a administração isolada de nitrito foi capaz de reduzir a pressão arterial pulmonar média e do índice de resistência vascular pulmonar, mas sua associação com o sildenafil proporcionou uma maior redução desses parâmetros

em comparação com os seus efeitos isolados (DIAS-JUNIOR; *et al*, 2008). As diminuições de pressão arterial pulmonar média e no índice de resistência vascular pulmonar foram vistas em diferentes tempos após o evento. Constatou-se que os fármacos isolados eram incapazes de promover alterações hemodinâmicas na circulação sistêmica, mas quando em associação, se observou que a pressão arterial média e o índice de resistência vascular sistêmica diminuíram, produzindo uma hipotensão arterial transitória. Além disso, ambos os fármacos, sozinhos ou isolados, levam a diminuição das concentrações de TBA-RS (DIAS-JUNIOR; *et al*, 2008). A associação entre o nitrito com sildenafil acentua o efeito um do outro, com melhora dos eventos provocados pela EPA. Entretanto, a associação das duas drogas provocou uma instabilidade hemodinâmica considerável, que a torna inviável para futuros testes clínicos.

A associação de sildenafil com NONOato de dietilenotriamina (DETA NO) (figura 4) também foi testada, por acreditar que se teria uma maior disponibilidade de GMPc, seja pela sua conservação através da inibição da PDE5 provocada pelo sildenafil ou pelo aumento da síntese de GMPc provocados pelo DETA NO. O DETA NO (figura 4) é um doador de NO que libera espontaneamente um mol de NO por mol de composto original, com meia vida de aproximadamente 20h sob condições fisiológicas. No modelo experimental de EP por microesferas com cães notou-se que tal associação não se tornou vantajosa, uma vez que, o DETA-NO não foi capaz de diminuir a hipertensão pulmonar provocada pela EPA (DIAS-JUNIOR, TANUS-SANTOS; 2006). O doador de NO deste experimento não apresentou efeitos benéficos durante uma EP, sendo evidenciado somente quando associado ao sildenafil.

A síntese excessiva de NO produzido através da isoforma induzível (iNOS) está associada aos processos patológicos, podendo levar a lesões no aparelho cardiorrespiratório associadas aos efeitos diretos do NO e ao aumento do estresse oxidativo (CAU; CARNEIRO; TOSTES, 2012). Sabendo disso, foi testado então em um experimento com cães o sildenafil em associação com um inibidor seletivo da iNOS, a S-metilisotioureia, após EPA induzido por microesferas. A S-metilisotioureia isoladamente não foi capaz de promover alterações benéficas e nem sua associação foi capaz de aumentar os efeitos provocados pelo sildenafil. As diminuições significativas da pressão pulmonar média e no índice de resistência vascular pulmonar em diferentes tempos só foram observadas após a administração isolada de sildenafil

ou em associação com a S-metilisotiureia. As concentrações de nitrato/nitrito no plasma diminuíram quando se utilizou S-metilisotiureia isoladamente. A S-metilisotiureia também foi capaz de reduzir o TBA-RS em associação ou isoladamente (DIAS-JUNIOR, *et al.*; 2010). Com esses achados a S-metilisotiureia apresentou-se como um bom antioxidante, mas que durante a EPA, não apresenta benefícios, nem mesmo quando em associação com o sildenafil.

Como exposto, o sildenafil, seja isolado ou em associação, apresentou resultados satisfatórios na diminuição dos efeitos provocados pelo embolismo, principalmente pela diminuição da pressão pulmonar média e no índice de resistência vascular pulmonar em animais. Algumas das drogas testadas não obtiveram esse mesmo resultado e nem potencializaram a ação do sildenafil como a l-arginina exógena, DETA NO e S-metilisotiureia. Com tantas evidências experimentais, sugerimos então que exista um estudo clínico controlado para comprovar a eficácia terapêutica do sildenafil, uma vez que a vasodilatação pulmonar seletiva pode se ter grandes efeitos benéficos no tratamento da hipertensão pulmonar induzida por EP.

#### 4.2.3 Administração de antioxidante: TEMPOL

Substâncias liberadas nos pulmões após EPA podem participar do aumento da resistência vascular pulmonar. A hipóxia, o aumento do estresse de cisalhamento e a ativação de leucócitos podem causar a liberação de espécies reativas de oxigênio (ERO). Essas espécies podem ser responsáveis por provocar a vasoconstrição durante a EPA. Uma ERO comum em lesões pulmonares é o  $O_2^{\cdot-}$ , que reage com o NO resultando na formação de  $ONOO^-$  (figura 4), um poderoso pró-oxidante e oxidante de proteínas. A reação do  $ONOO^-$  com resíduos de tirosina das proteínas leva à formação de 3-nitrotirosina, o que pode causar um comprometimento funcional das células do epitélio pulmonar (DUSSE; VIEIRA; CARVALHO, 2003). Sendo assim, uma opção farmacológica é a administração de antioxidantes. Entre eles, o TEMPOL ou 4-hidroxi-2, 2, 6, 6-tetrametilpiperidina-1-óxido (figura 4), que é um mimético da enzima superóxido dismutase, catalisa a dismutação do  $O_2^{\cdot-}$  gerando peróxido de hidrogênio. O peróxido de hidrogênio, sob ação da catalase, é convertido à água e oxigênio (SOUZA-SANTOS *et al.*; 2013; MIZERA; HODYC; HERGET; 2015).

Souza-Santos *et al.*; 2013 em seus estudos utilizaram o TEMPOL infundido após EPA induzida por coágulos de sangue em ovelhas. O TEMPOL diminuiu a pressão arterial pulmonar quando comparado com o controle, houve também diminuição do processo de hemólise e do consumo de NO por plasma quando se administrava TEMPOL durante o EPA. Quando avaliado o estresse oxidativo, se observou que o TEMPOL foi capaz de reduzir os aumentos das concentrações de 8-isoprostano durante a EPA. Estes resultados apoiam que a TEMPOL possa proteger contra a hemólise induzida pelo estresse oxidativo durante a embolia, atenuando a hipertensão pulmonar induzida pelo EPA.

Mizera, Hodyc, Hergert (2015) em seu experimento buscou demonstrar que, após um evento embólico induzido por microesferas em ratos, ocorre vasoconstrição pulmonar com liberação de EROs, cujo principal produto é  $\cdot\text{O}_2$ , e que a utilização de um antioxidante poderia atenuar os efeitos de hipertensão pulmonar durante esse evento. Para tentar minimizar esse processo os pesquisadores utilizaram no experimento o TEMPOL antes da embolização. O TEMPOL foi capaz de diminuir a pressão de perfusão pulmonar após a EP quando comparados com os animais que não receberam o medicamento antes da embolização. Esses achados colaboram não somente com a fisiopatologia da EPA, mas também como o TEMPOL administrado de forma preventiva diminui o aumento da pressão de perfusão pulmonar, atenuando a hipertensão pulmonar provocados pelo tromboembolismo.

#### 4.2.4 Ativadores e estimulador de GCs

Ativar diretamente a GCs aparece como uma opção farmacológica para produzir vasodilatação. A ativação da GCs por ativadores e estimuladores oferece vantagens significativas em relação a outras estratégias projetadas, uma vez que atua diretamente sobre a enzima GCs, levando à produção de GMPc e ativando a PKG (DERUELLE, *et al.*, 2004; CAU; *et al.*, 2008). Os estimuladores atuam quando o grupamento heme da GCs encontra-se na sua forma reduzida, exercendo efeito sinérgico na presença do NO. Já os ativadores atuam de forma mais eficaz, uma vez que sua ativação sobre a GCs é heme-independente, sendo inclusive mais ativo nos estados oxidados e desprovidos de grupamento heme (EVGENOV; *et al.*; 2006). Nessa revisão, durante a busca bibliográfica não foi encontrado nenhum estudo com

ativadores de GCs durante a EPA, mas foram encontrados trabalhos que utilizam dois estimuladores diretos da GCs: o BAY 41-8543 e o BAY 41-2272

O BAY 41-2272 (figura 4) foi inicialmente proposto como um potente vasodilatador pulmonar, testado para o tratamento da hipertensão pulmonar persistente no recém-nascido com resultados benéficos nesse tipo de modelo experimental (DERUELLE *et al.*, 2004). Acreditando que BAY 41-2272 pudesse produzir efeitos hemodinâmicos benéficos durante a EPA, Cau *et al.*, 2008 testaram em um experimento após EP induzida por microesferas em cães os possíveis efeitos dessa droga. A infusão de BAY 41-2272 em baixas doses diminuiu a pressão arterial e a resistência vascular pulmonar, sem produzir efeitos sobre a pressão arterial média e na resistência vascular sistêmica. Já em altas doses de BAY 41-2272, não se teve nenhum efeito adicional sobre a circulação pulmonar, e sim, provocou hipotensão arterial significativa e redução na resistência vascular sistêmica. Os efeitos evidenciados quanto a utilização do BAY 41-2272 se relaciona ao aumento do estresse oxidativo gerado durante a EPA, uma vez que o estresse gerado aumenta os níveis de ONOO<sup>-</sup> nos pulmões, inibindo a GCs, como os estimuladores agem diretamente sobre a GCs a sua eficácia pode ficar comprometida na circulação pulmonar. Percebemos então que, em baixas doses o BAY 41-2272 produz vasodilatação pulmonar seletiva durante a EPA, porém em doses sistêmicas seus efeitos podem limitar o seu uso.

O BAY 41-8543 (figura 4) foi utilizado em experimento induzido por microesferas em ratos para avaliar se esse estimulador é capaz de trazer efeitos hemodinâmicos benéficos durante uma EPA. O tratamento na EPA com BAY 41-8543 em diferentes doses levou a aumento do débito cardíaco com uma diminuição significativa no pico de pressão sistólica do ventrículo direito (ou pressão sistólica máxima do VD), sugerindo dilatação vascular pulmonar significativa. Houve também redução de hemoglobina plasmática livre, normalização da saturação de oxigênio (SO<sub>2</sub>) e do lactato (WATTS *et al.*; 2011). Sendo assim, o tratamento com um estimulador como o BAY 41-8543 em experimento animal foi capaz de minimizar as alterações pulmonares ocorridas durante a EP.

A estimulação direta da GCs soma com a crescente indicação que a vasodilatação pulmonar através dessa via de sinalização tem efeitos benéficos na EPA, diminuindo a pressão da artéria pulmonar, a resistência vascular pulmonar e melhorando os parâmetros hemodinâmicos. Assim, se torna relevante o estímulo à



pesquisa com humanos direcionados ao desenvolvimento de sistemas de vasodilatação pulmonar seletiva para tratar a EPA.

#### 4.4.5 O óxido nítrico inalado

O óxido nítrico inalado (iNO) (figura 4) vem ganhando papel de destaque no tratamento da EPA, sendo proposto como um potente agente terapêutico associado à diminuição da resistência vascular pulmonar (BHAT *et al.*; 2015). Durante um evento embólico há um aumento temporário da eliminação de NO na forma exalada, destacando-se a importância da manutenção do NO durante a EPA, a fim de evitar distúrbios hemodinâmicos graves provocados pelo evento (NILSSON *et al.*; 2009). O grande interesse por parte dos pesquisadores em utilizar o iNO é a possibilidade de ter uma estratégia terapêutica para ação NO de forma localizada, capaz de reduzir a pós-carga do VD de modo seletivo sem causar como efeito colateral a vasodilatação sistêmica e a hipotensão (BHAT *et al.*; 2015).

Em um experimento animal com cães, utilizou-se iNO, obtendo resultados positivos durante a EPA induzida por trombos, devido à propriedade de efeito vasodilatador biológico do NO. Os pesquisadores ao administrar iNO observaram um aumento significativa da relação entre pressão arterial parcial de O<sub>2</sub> (PaO<sub>2</sub>) *versus* fração inspirada de O<sub>2</sub> (FiO<sub>2</sub>) duas e quatro horas após a reperfusão por embolectomia. Seis horas após a lesão, a reperfusão voltou aos valores normais comparados com o início do experimento, sendo atribuído essa redução a melhor relação entre ventilação e perfusão, o que aliviou significativamente a lesão de isquemia de reperfusão pulmonar (LIRI) no modelo (DENG *et al.*; 2014). Desta forma, pode-se observar resultados positivos com a administração do iNO no evento embólico.

No relato de quatro casos de pacientes, os autores reforçam e incentivam ainda mais a utilização de iNO durante EPA. A administração do iNO foi realizada em diferentes doses dependendo da gravidade e o seu tempo de utilização variou para o desmame de 24 horas até sete dias. O iNO resultou em melhora da troca gasosa com extubação com sucesso em todos os casos. Os autores observaram que as características hemodinâmicas ao exame clínico desses pacientes (não inclui informações detalhadas sobre a resposta hemodinâmica) melhorou após a iNO,

sugerindo que esta terapia foi efetiva na redução da resistência vascular pulmonar e assim melhorando a função ventricular direita e o débito cardíaco (SUMMERFIELD *et al.*; 2012). Sendo assim, iNO mostrou-se eficaz no tratamento em humanos com EPA.

A revisão sistemática realizada por Bhat *et al.* (2015) entre janeiro de 1990 e junho 2013 encontrou 18 pacientes que utilizaram o iNO durante um evento embólico. Dos 18 pacientes relatados, 14 sobreviveram, sendo que nesses as alterações hemodinâmicas foram positivas na maioria imediatamente ao início do tratamento, observando melhora na pressão arterial pulmonar e na oxigenação do paciente. Um único paciente teve dessaturação rápida de oxigênio, evoluindo para óbito. Os autores nesse estudo destacam que em todos os casos encontrados, o iNO foi administrado em conjunto com outros tratamentos estabelecidos, o que dificulta atribuir as melhorias encontradas exclusivamente ao iNO, apesar de que quando houve interrupção acidental de iNO, o paciente apresentou piora clínica imediata. Apesar deste experimento não atribuir os resultados benéficos somente ao uso do iNO, houve melhora clínica dos pacientes que foram tratados com este recurso.

Seguindo essa mesma linha, Kline *et al.* (2017) realizaram um estudo randomizado com 78 pacientes durante 31 meses, caracterizando-se como o primeiro estudo de fase II da utilização de iNO com interesse para implantação de um protocolo clínico. Sendo assim, foi realizada administração do iNO através de um dispositivo comercial por meio de uma cânula nasal induzida até a concentração de 50 ppm e mantida durante 24 horas. Após isso, o desmame era realizado com reduções de dose progressiva em um tempo de 25 minutos, sendo que nenhum dos participantes que utilizaram o iNO sofreu hipotensão ou outro evento adverso durante a titulação de iNO. Os resultados encontrados reforçam a segurança na utilização do iNO e que este estudo servirá de referência para implantação de protocolos e métodos no auxílio aos doentes com EPA.

Conclui-se que o iNO pode ser útil no tratamento da EPA, com diminuição da resistência vascular pulmonar e melhoras hemodinâmicas de pacientes com esta condição. Esses resultados positivos torna-o uma excelente opção terapêutica, sendo a primeira droga que ativa a via L-arginina/NO/GMPc a ganhar uma utilização na clínica experimental.

## 5 CONCLUSÃO

Enfim, acreditamos que o presente trabalho agrupa dados da literatura que apontam que a ativação da via de sinalização L-arginina/NO/GMPc é uma possibilidade terapêutica para o tratamento da EP. Os estudos encontrados com os agentes que aumentam a biodisponibilidade de L-arginina, iPDE5 sozinho ou em associação, estimuladores de GCs, antioxidantes e iNO apresentaram-se em sua maioria resultados hemodinâmicos favoráveis nos testes em animais, dos quais o sildenafil apresenta os resultados mais promissores. O iNO foi a droga que já apresentou testes em humanos, mostrando resultados favoráveis que reforçam a importância do NO para causar vasodilatação pulmonar durante a EP.

Por se tratar de um tema pouco explorado, não encontramos um grande número de artigos pertinentes ao tema. Diante disso, existe a necessidade de se investir mais em estudos experimentais e em ensaios clínicos controlados de grande porte para se investigar novos fármacos, estabelecer as doses ideais, a faixa terapêutica, os efeitos colaterais e definir o grupo de pacientes que devem utilizá-los, a fim de implementar o uso desses diferentes fármacos nos pacientes com EP.

## REFERÊNCIAS

ALVARES, Flávia; PÁDUA, Adriana Ignácio de; TERRA FILHO, João. Tromboembolismo pulmonar: diagnóstico e tratamento. **Medicina**, Ribeirão Preto, v. 36, p.214-240, abr. 2003.

BARRETO, Alessandra Costa *et al.* Aspectos Genéticos e Resposta ao Uso Crônico do Sildenafil Alterações do tônus vascular pulmonar. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 85, n. 2, p. 147–154, 2005.

BHAT *et al.* Inhaled nitric oxide in acute pulmonary embolism: A systematic review. **Reviews in Cardiovascular Medicine**, v. 16, n. 1, p. 1–8, 2015. Disponível em: <<http://www.medreviews.com/issue.cfm?issue=346%5Cnhttp://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed13&NEWS=N&AN=2015924247>>.

BONI, Guilherme; SANTOS, Manuel Lopes dos. Pathophysiology of pulmonary thromboembolism. **Conscientiae Saúde**, São Paulo, v. 8, n. 1, p.144-154, 2009

BRADFORD, Mark A *et al.* Practice patterns and complication rates of thrombolysis for pulmonary embolism. **Journal of Thrombosis and Thrombolysis**, v. 42, n. 3, p. 313–321, 2016.

CAU, Stefany B.a. *et al.* Dose-dependent beneficial hemodynamic effects of BAY 41-2272 in a canine model of acute pulmonary thromboembolism. **European Journal Of Pharmacology**, [s.l.], v. 581, n. 1-2, p.132-137, fev. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2007.11.030>.

CAU, Stefany B. A.; CARNEIRO, Fernando S.; TOSTES, Rita C.. Differential Modulation of Nitric Oxide Synthases in Aging: Therapeutic Opportunities. **Frontiers In Physiology**, [s.l.], v. 3, p.1-11, 2012. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fphys.2012.00218>.

CHESNUTT, Mark S.; PRENDERGAST, Thomas J.; Doenças Pulmonares. *In*: HAMMER, Gary D.; MCPHEE, Stephen J.. **Fisiopatologia da doença: Uma introdução a medicina clínica**. 7. ed. Porto Alegre: AMGH, 2016. p. 213-255.

CHESNUTT, Mark S.; PRENDERGAST, Thomas J.; Doenças Pulmonares. *In*: HAMMER, Gary D.; MCPHEE, Stephen J.. **Fisiopatologia da doença: Uma introdução a medicina clínica**. 7. ed. Porto Alegre: AMGH, 2016. p. 213-255.

CHU, Shi-Jye *et al.* L-Arginine prevents air embolism-induced acute lung injury in rats. **Critical care medicine**, v. 33, n. 9, p. 2056–2060, 2005.

DARZE, Eduardo Sahade *et al.* Pulmonary Embolism Mortality in Brazil from 1989 to 2010: Gender and Regional Disparities. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [s.l.], p.4-12, 2016. GN1 Genesis Network. <http://dx.doi.org/10.5935/abc.20160001>.

DEJAM, André *et al.* Emerging role of nitrite in human biology. **Blood Cells, Molecules, And Diseases**, [s.l.], v. 32, n. 3, p.423-429, maio 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcmed.2004.02.002>.

DENG, Chaosheng *et al.* Beneficial effects of inhaled NO on apoptotic pneumocytes in pulmonary thromboembolism model. **Theoretical Biology and Medical Modelling**, v. 11, n. 1, p. 36, 2014. Disponível em: <<http://tbiomed.biomedcentral.com/articles/10.1186/1742-4682-11-36>>.

DERUELLE, P.. Effects of BAY 41-2272, a soluble guanylate cyclase activator, on pulmonary vascular reactivity in the ovine fetus. **Ajp: Lung Cellular and Molecular Physiology**, [s.l.], v. 288, n. 4, p.727-733, 3 dez. 2004. American Physiological Society. <http://dx.doi.org/10.1152/ajplung.00409.2004>.

DIAS-JUNIOR, Carlos A. *et al.* Hemodynamic effects of inducible nitric oxide synthase inhibition combined with sildenafil during acute pulmonary embolism. **Nitric Oxide**, [s.l.], v. 23, n. 4, p.284-288, dez. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.niox.2010.08.004>

DIAS-JUNIOR, Carlos A. *et al.* Sildenafil Improves the Beneficial Haemodynamic Effects of Intravenous Nitrite Infusion during Acute Pulmonary Embolism. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, [s.l.], v. 103, n. 4, p.374-379, out. 2008. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1742-7843.2008.00299.x>.

DIAS-JUNIOR, Carlos A. *et al.* Sildenafil selectively inhibits acute pulmonary embolism-induced pulmonary hypertension. **Pulmonary Pharmacology & Therapeutics**, [s.l.], v. 18, n. 3, p.181-186, jun. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pupt.2004.11.010>.

DIAS-JUNIOR, Carlos A. *et al.* The Effect of Sildenafil on Pulmonary Embolism-Induced Oxidative Stress and Pulmonary Hypertension. **Anesthesia & Analgesia**, [s.l.], v. 101, n. 1, p.115-120, jul. 2005. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1213/01.ane.0000153499.10558.f3>.

DIAS-JUNIOR, Carlos A.; TANUS-SANTOS, Jose E.. Hemodynamic effects of sildenafil interaction with a nitric oxide donor compound in a dog model of acute pulmonary embolism. **Life Sciences**, [s.l.], v. 79, n. 5, p.469-474, jun. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2006.01.034>.

DUSSE, Luci Maria; VIEIRA, Lauro Mello; CARVALHO, Maria das Graças. Revisão sobre óxido nítrico Nitric oxide revision. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 39, n. 4, p. 343–350, 2003. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/jbpml/v39n4/18548.pdf>>.

EVGENOV, Oleg V. *et al.* NO-independent stimulators and activators of soluble guanylate cyclase: discovery and therapeutic potential. **Nature Reviews Drug Discovery**, [s.l.], v. 5, n. 9, p.755-768, set. 2006. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/nrd2038>.

GO, Alan S *et al.* **AHA Statistical Update Heart Disease and Stroke Statistics — 2014 Update A Report From the American Heart Association WRITING GROUP MEMBERS**. [S.l: s.n.], 2014.

JAFF, M. R. *et al.* Management of Massive and Submassive Pulmonary Embolism,

Iliofemoral Deep Vein Thrombosis, and Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension: A Scientific Statement From the American Heart Association. **Circulation**, [s.l.], v. 123, n. 16, p.1788-1830, 21 mar. 2011. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1161/cir.0b013e31821491>

KLINE, Jeffrey A. et al. Randomized trial of inhaled nitric oxide to treat acute pulmonary embolism: The iNOPE trial. **American Heart Journal**, [s.l.], v. 186, p.100-110, abr. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ahj.2017.01.011>

MIZERA, R.; HODYC, D.; HERGET, J. ROS scavenger decreases basal perfusion pressure, vasoconstriction and NO synthase activity in pulmonary circulation during pulmonary microembolism. **Physiological Research**, v. 64, n. 5, p. 683–688, 2015.

MORICI, Bobbie. Diagnosis and management of acute pulmonary embolism. **Journal of the American Academy of Physician Assistants**, v. 27, n. 4, p. 18–22, 2014. Disponível em: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=01720610-201404000-00004>.

NILSSON, K F *et al.* Increase in exhaled nitric oxide and protective role of the nitric oxide system in experimental pulmonary embolism. **British Journal of Pharmacology**, v. 150, n. 4, p. 494–501, 2009. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1038/sj.bjp.0707001>.

PAULOS, Lígia Marisa Pereira; MENDES, Telma. **Abordagem Diagnóstica, Terapêutica e Preventiva do Doente com Tromboembolismo Pulmonar**. 2008. 219 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina, Universidade da Beira Interior, Covilhã, 2008. Disponível em: [https://ubibliorum.ubi.pt/bitstream/10400.6/832/1/Tromboembolismo Pulmonar.pdf](https://ubibliorum.ubi.pt/bitstream/10400.6/832/1/Tromboembolismo%20Pulmonar.pdf). Acesso em: 28 jun. 2017

RANG, H. P. *et al.* **Rang & Dale Farmacologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. 829 p.

SARAIVA, Marcos Ariel. **Oxido Nitrico Inalatorio no Tans e pós operatório de Cirurgias cardiorácias em pacientes adultos com hipertensão pulmonar: revisão sistemática com metanálise**. 2016. 68f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Medicina, Universidade Federal Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016

SBC, Sociedade Brasileira de Cardiologia. Diretriz de Embolia Pulmonar. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**. São Paulo, v. 83, n.2, p.2-43, ago. 2004.

SBPT, Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia et al. Tratamento da hipertensão arterial pulmonar. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, [s.l.], v. 31, n. 2, p.17-23, ago. 2005. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1806-37132005000800005>.

SERRANO JÚNIOR, Carlos V. (Ed.); NOBRE, Fernando (Ed.). Tratado de cardiologia SOCESP. São Paulo: Manole, 2006. 1850 p. ISBN 85-204-2363-9

SOUSA-SANTOS, Ozelia et al. The antioxidant tempol decreases acute pulmonary thromboembolism-induced hemolysis and nitric oxide consumption. **Thrombosis Research**, [s.l.], v. 132, n. 5, p.578-583, nov. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.thromres.2013.09.014>.

SOUZA-COSTA, Debora Cristine et al. L-Arginine attenuates acute pulmonary embolism-induced oxidative stress and pulmonary hypertension. **Nitric Oxide**, [s.l.], v. 12, n. 1, p.9-14, fev. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.niox.2004.10.009>.

SOUZA-SILVA, Allethea R. et al. Hemodynamic effects of combined sildenafil and l-arginine during acute pulmonary embolism-induced pulmonary hypertension. **European Journal Of Pharmacology**, [s.l.], v. 524, n. 1-3, p.126-131, nov. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2005.09.022>.

SUMMERFIELD, D. T. et al. Inhaled Nitric Oxide as Salvage Therapy in Massive Pulmonary Embolism: A Case Series. **Respiratory Care**, [s.l.], v. 57, n. 3, p.444-448, 1 mar. 2012. Daedalus Enterprises. <http://dx.doi.org/10.4187/respcare.01373>.

TANG, Haiyang *et al.* Targeting L-arginine-nitric oxide-cGMP pathway in pulmonary arterial hypertension. **Pulmonary Circulation**, v. 7, n. 3, p. 569–571, 2017. Disponível em: <<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/2045893217728261>>.

TANUS-SANTOS JE, MORENO H Jr, MORENO RA, MARTINS ML, PEREIRA R, DE NUCCI G: Inhaled nitric oxide improves hemodynamics during a venous air infusion (VAI) in dogs. **Intensive Care Med**, v. 25, p. 983-989, 1999.

TERRA-FILHO, Mario; MENNA-BARRETO, Sérgio Saldanha. Recomendações para o manejo da tromboembolia pulmonar, 2010. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, [s.l.], v. 36, n. 1, p.1-3, mar. 2010. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1806-37132010001300001>.

VOLPE, Gustavo J et al. Tromboembolismo pulmonar. **Revista da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto do Hospital das Clínicas da FMRP**, Ribeirão Preto, v. 43, n. 3, 2010 p. 258-271

WATTS, John A *et al.* Pulmonary vascular reserve during experimental pulmonary embolism: Effects of a soluble guanylate cyclase stimulator, BAY 41-8543\*. **Critical Care Medicine**, v. 39, n. 12, p. 2700–2704, 2011.

WATTS, John A. *et al.* Arginase depletes plasma l-arginine and decreases pulmonary vascular reserve during experimental pulmonary embolism. **Pulmonary Pharmacology and Therapeutics**, v. 25, n. 1, p. 48–54, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.pupt.2011.10.005>>.

WIENER, Renda Soylemez; SCHWARTZ, Lisa M.; WOLOSHIN, Steven. Time Trends in Pulmonary Embolism in the United States. **Archives Of Internal Medicine**, [s.l.], v. 171, n. 9, p.1-14, 9 maio 2011. American Medical Association (AMA). <http://dx.doi.org/10.1001/archinternmed.2011.178>.

ZHAO, Yingzi; VANHOUTTE, Paul M.; LEUNG, Susan W.S. Vascular nitric oxide: Beyond eNOS. **Journal of Pharmacological Sciences**, v. 129, n. 2, p. 83–94, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jphs.2015.09.002>>.