

ANA PAULA CABRAL DE FARIA

**AVALIAÇÃO DO PERFIL DA
ADIPONECTINA PLASMÁTICA NA
HIPERTENSÃO ARTERIAL RESISTENTE**

Campinas

2012



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Faculdade de Ciências Médicas

AVALIAÇÃO DO PERFIL DA ADIPONECTINA PLASMÁTICA
NA HIPERTENSÃO ARTERIAL RESISTENTE

ANA PAULA CABRAL DE FARIA

Dissertação de Mestrado apresentada
à Pós-Graduação da Faculdade de
Ciências Médicas da Universidade de
Campinas - UNICAMP para obtenção
de título de Mestre em Farmacologia.
Sob orientação do Prof. Dr. Heitor
Moreno Junior.

Campinas, 2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
ROSANA EVANGELISTA PODEROSO – CRB8/6652
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP

F225a Faria, Ana Paula Cabral, 1986 -
Avaliação do perfil da adiponectina plasmática
na hipertensão arterial resistente. / Ana Paula
Cabral Faria. -- Campinas, SP : [s.n.], 2012.

Orientador : Heitor Moreno Junior
Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual
de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Hipertensão. 2. Adiponectina. 3.
Aldosterona. 4. Obesidade. I. Moreno Junior,
Heitor. II. Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Evaluation of plasma adiponectin profile in resistant hypertension

Palavra-chave em inglês:

Hypertension

Adiponectin

Aldosterone

Obesity

Titulação: Mestre em Farmacologia

Banca examinadora:

Heitor Moreno Junior [Orientador]

Silvia de Barros Mazon

Heno Ferreira Lopes

Data da defesa: 14-02-2012

Programa de Pós-Graduação: Farmacologia

Banca Examinadora de Dissertação de Mestrado

ANA PAULA CABRAL DE FARIA

Orientador: Prof. Dr. Heitor Moreno Junior

Membros:	
Professor Doutor Heitor Moreno Junior	
Professora Doutora Silvia de Barros Mazon	
Professor Doutor Heno Ferreira Lopes	

Curso de pós-graduação em Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas.

Data: 14/02/2012

Dedico

*Aos meus pais,
exemplos de amor
e coragem*

*A **Deus** por me conceder a oportunidade.*

*Ao meu orientador, **Prof. Dr. Heitor Moreno Jr**, por acreditar no meu trabalho e me proporcionar uma formação diferenciada.*

*Ao meu namorado, **Felipe**, pela confiança e compreensão.*

*À minha irmã, **Ana Luísa**, pelo incentivo.*

*Às amigas, **Valéria Figueiredo, Carolina Moraes, Natália Barbaro, Andréa Sabbatini e Andressa Nunes**, responsáveis por grandes momentos de alegria e companheirismo.*

*Aos amigos, **Rodrigo Santos, Thiago Quinaglia e Luiz Cláudio Martins**, pela sabedoria e paciência.*

*À amiga, **Caroline Demacq**, pela ajuda sempre necessária.*

*Ao **Adilson Thomaz** pela dedicação à realização deste trabalho.*

A todos os amigos do Laboratório de Farmacologia Cardiovascular, obrigada pelo apoio e amizade.

Aos pacientes e voluntários que participaram deste projeto, muito obrigada.

*À **FAPESP e CNPq** pelo auxílio e apoio científico.*

*“Que os vossos esforços desafiem as
impossibilidades, lembrai-vos de que as
grandes coisas do homem foram
conquistadas do que parecia impossível.”*

Charles Chaplin

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	viii
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	x
RESUMO.....	xi
ABSTRACT	xiii
 1 INTRODUÇÃO.....	 16
1.1 Considerações Gerais	17
1.2 Hipertensão Arterial Resistente – HAR	19
1.2.1 Condições clínicas associadas à HAR	22
1.2.1.1 Disfunção Endotelial.....	22
1.2.1.2 Rigidez Arterial.....	23
1.2.1.3 Hipertrofia Ventricular Esquerda.....	24
1.3 Sistema Renina Angiotensina Aldosterona - SRAA	25
1.3.1 Aldosterona.....	28
1.4 Obesidade e resistência à insulina	30
1.4.1 Adiponectina e Desfechos Clínicos Cardiovasculares	32
 2 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO.....	 36
 3 OBJETIVOS	 38
 4 CONCLUSÕES	 40
 CAPÍTULO I	 42
 REFERÊNCIAS	 63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGT	Angiotensinogênio
AMP-c	Adenosina 3',5'-Monofosfato Cíclico
ANG I/ANG II	Angiotensina I e II
ARP	Atividade de renina plasmática
AT1/AT2	Receptores de angiotensina 1 e 2
CPA	Concentração plasmática de aldosterona
DE	Disfunção endotelial
DM2	Diabetes <i>mellitus</i> tipo 2
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
HA	Hipertensão arterial
HAR	Hipertensão arterial resistente
HARC	Hipertensão arterial resistente controlada
HARNC	Hipertensão arterial resistente não controlada
HDL-c	Colesterol de lipoproteína de alta densidade
HVE	Hipertrofia ventricular esquerda
IM	Infarto do miocárdio
IC	Insuficiência cardíaca
IECA	Inibidores da enzima conversora de angiotensina
IMC	Índice de massa corporal
IMVE	Índice de massa ventricular esquerda
LDL-c	Colesterol de lipoproteína de baixa densidade
MAPA	Monitoração ambulatorial da pressão arterial

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

NO	Óxido nítrico
PA	Pressão arterial
RNA _m	Ácido ribonucleico mensageiro
SNS	Sistema nervoso simpático
SRA	Sistema renina angiotensina
SRAA	Sistema renina angiotensina aldosterona
TA	Tecido adiposo
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
VMF	Vasodilatação mediada por fluxo
VOP	Velocidade de onda de pulso

Figura 1	Fisiopatologia da HAR	20
Figura 2	Ações diversas da aldosterona plasmática	29
Figura 3	Ações diversas da adiponectina plasmática	34
Quadro 1	Fatores que contribuem para caracterização da HAR	21

A Hipertensão Arterial Resistente (HAR) é uma condição na qual sobrepeso e obesidade estão correlacionados devido à influência no controle da pressão arterial (PA). Embora ambos os subgrupos resistentes não controlados (HARNC) e controlados (HARC) são, frequentemente, obesos, estudos recentes demonstram que o primeiro apresenta maior índice de massa corporal (IMC) comparados com o segundo subgrupo. A redução de adiponectina plasmática, um hormônio produzido pelo tecido adiposo, tem sido correlacionada ao desenvolvimento da hipertensão e foi considerada um dos fatores de risco independente para essa doença. Entretanto, é desconhecida se essa adipocina está associada com o não controle de PA nestes pacientes. O total de 96 pacientes foi dividido em dois subgrupos: HARNC (n=44) e HARC (n=52) e distribuído controlando idade, gênero e IMC. Foram avaliados os níveis plasmáticos de aldosterona e adiponectina (*enzyme-linked immunosorbent assay* – ELISA), medidas da PA de consultório e da Monitoração Ambulatorial de PA (MAPA), a resposta dependente do endotélio (vasodilatação mediada por fluxo - VMF), índice de massa ventricular esquerda (IMVE) e velocidade de onda de pulso (VOP). As idades foram $57 \pm 1,6$ e $59 \pm 1,5$ em HARNC (26M/18H) e HARC (35M/17H), respectivamente, e todos os pacientes tinham sobrepeso. Os pacientes HARNC apresentaram maiores níveis de aldosterona ($12,6 \pm 1,4$ vs. $8,9 \pm 0,8$ ng/dL, $p=0,02$), assim como, IMVE ($142,2 \pm 6,0$ vs. $122,9 \pm 4,3$ g/m², $p=0,02$) e VOP ($12,0 \pm 1,8$ vs. $9,2 \pm 1,7$ m/s, $p<0,0001$). Por outro lado, foram encontrados no mesmo subgrupo menores níveis de adiponectina ($6,9 \pm 0,7$ vs. $9,5 \pm 0,8$ µg/mL, $p=0,01$) e prejuízo da resposta no teste da VMF ($6,6 \pm 0,3$ vs. $7,5 \pm 0,3\%$, $p=0,001$). A análise de correlação indicou que as pressões de pulso braquial e da MAPA foram inversamente correlacionadas com a adiponectina plasmática ($r = - 0,45$, $p=0,002$; $r = - 0,33$, $p=0,03$, respectivamente), assim como, a aldosterona e VOP

($r = -0,38$, $p=0,01$; $r = -0,36$, $p=0,02$, respectivamente) nos sujeitos HARNC. A regressão linear multivariada demonstrou que a VOP somente foi influenciada significativamente pelos níveis de adiponectina nos pacientes HARNC ($\beta = -0,16$, $SE = 0,05$, $p=0,01$). A adiponectina não se correlacionou com os mesmos parâmetros no subgrupo HARC. Nossos resultados sugerem que a hipoadiponectinemia e níveis elevados de aldosterona estão implicados na rigidez arterial e podem ser responsáveis pela resistência à terapia anti-hipertensiva.

Palavras-chave: Hipertensão arterial resistente, obesidade, adiponectina, aldosterona, rigidez arterial.

Resistant hypertension (RHTN) is a condition in which overweight and obesity were shown to influence in blood pressure (BP) control. Although both uncontrolled (UCRHTN) and controlled (CRHTN) resistant hypertensive subjects are frequently obese, recent studies have shown that the former group has higher body mass index (BMI) compared to the latter. Low plasma levels of adiponectin, a hormone produced by adipose tissue, seems to be related to the development of hypertension and it is considered one of independent risk factor for this disorder. However, it is unknown if this adipokine is associated with the lack of BP control in these patients. Ninety-six patients were divided in two subgroups: UCRHTN (n=44) and CRHTN (n=52) and were matched for age, gender and BMI. Adiponectin and aldosterone levels, office BP and ABPM, determination of brachial artery responses to endothelial-dependent (flow-mediated dilation - FMD), left ventricular mass index (LVMI) and pulse wave velocity (PWV) were evaluated. Mean ages were 57 ± 1.6 and 59 ± 1.5 years in UCRHTN (26 F/ 18 M) and CRHTN (35 F/ 17 M) subgroups, respectively. All patients were overweight. UCRHTN patients had increased aldosterone levels (12.6 ± 1.4 vs. 8.9 ± 0.8 ng/dL, $p=0.02$) as well as LVMI (142.2 ± 6.0 vs. 122.9 ± 4.3 g/m², $p=0.02$) and PWV (12.0 ± 0.3 vs. 9.2 ± 0.2 m/s, $p<0.0001$). On the other hand, lower levels of adiponectin (6.9 ± 0.7 vs. 9.5 ± 0.8 µg/mL, $p=0.01$) and impaired FMD test response (6.6 ± 0.3 vs. $7.5 \pm 0.3\%$, $p=0.001$) were found in this same subgroup. Correlation analysis indicated that brachial and ABPM pulse pressures were inversely associated with plasma adiponectin levels ($r = - 0.45$, $p=0.002$; $r = - 0.33$, $p=0.03$, respectively) as well as aldosterone and PWV ($r = - 0.38$, $p=0.01$; $r = - 0.36$, $p=0.02$, respectively) in UCRHTN

subjects. Multivariate linear regression analysis showed that PWV was only significantly influenced by adiponectin levels in UCRHTN patients ($\beta = -0.16$, $SE = 0.05$, $p = 0.01$).

Plasma adiponectin levels did not correlate to the same parameters in the CRHTN subgroup. Taken together, our results suggest that hypoadiponectinemia and high aldosterone levels are implicated in arterial rigidity, and may be responsible for antihypertensive therapy resistance.

Key-words: resistant hypertension, obesity, adiponectin, aldosterone, arterial stiffness.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Considerações Gerais

A hipertensão arterial resistente (HAR) persiste como uma condição sem definição universalmente aceita, sendo ainda a real prevalência também muito variável [1]. De acordo com o *Seventh Report of the Joint National Committee (JNC VII)* [2], a HAR é considerada aquela em que, após duas consultas consecutivas, os valores pressóricos mantêm-se acima da meta, a despeito de tratamento não farmacológico e farmacológico otimizado tríplice instituído, incluindo diurético, em pacientes que tiveram adesão plena ao tratamento dietético e medicamentoso [3]. Recentemente, foram incluídos à definição, pacientes que apresentem pressão arterial (PA) controlada, mas que necessitam de quatro ou mais classes de fármacos anti-hipertensivos [3]. As metas pressóricas são as mesmas estabelecidas para a população em geral de hipertensos (140/90 mmHg) e 130/80 mmHg em pacientes hipertensos com diabetes ou doença renal crônica (taxa de filtração glomerular <60 ml/min/1,73m²; creatinina sérica >1,5 mg/dL, em homens ou >1,3 mg/dL em mulheres; albuminúria >300 mg/24h) [2]. A realização da monitoração ambulatorial da pressão arterial (MAPA) é mandatória para o diagnóstico de certeza da HAR, pois permite excluir os pacientes pseudo-resistentes (pseudo HAR) [4-5].

Obesidade e hipertensão arterial (HA) são duas doenças complexas que estão intimamente correlacionadas nos diversos sistemas cujos mecanismos fisiopatológicos permanecem pouco definidos. Entre eles estão hiperativação do sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA) e do sistema nervoso simpático (SNS), alterações de função endotelial [6] e de adipocinas inflamatórias [7] e aumento de rigidez arterial [8].

A hiperatividade do SRAA na obesidade tem sido alvo importante na ligação entre tecido adiposo (TA) visceral e HAR [9-10]. Evidências apontam o elevado nível da concentração plasmática de aldosterona (CPA) como um dos fatores associados à

patogênese da HAR em indivíduos obesos [11-12]. Desta forma, a produção pelo TA de um fator estimulante mineralocorticoide ainda não identificado estimularia a secreção de aldosterona e esta, por sua vez, através de receptores mineralocorticoides, promoveria adipogênese [13] e aumento do estado inflamatório adiposo, com consequente redução dos níveis de adiponectina [14].

A adiponectina é uma adipocina com propriedades anti-inflamatória, antiaterogênia e sensibilizante à insulina [15], correlacionada negativamente com índice de massa corpórea (IMC) [16] e com possível regulação, entre outras, através da atuação de citocinas pró-inflamatórias em adipócitos [17]. Estudos transversais demonstraram que a hipoadiponectinemia é um fator de risco independente para HA [18-20]. Além disso, estudo prospectivo revelou a hipoadiponectinemia como preditora do desenvolvimento de HA em normotensos, independente de gênero, idade, IMC, PA média, resistência à insulina e proteína C reativa de alta sensibilidade [21]. Níveis reduzidos de adiponectina plasmática foram correlacionados a prejuízo da resposta vasodilatadora mediada pelo endotélio [22-23] e maior progressão da hipertrofia ventricular esquerda (HVE) [24]. A adiponectina foi considerada também preditora independente da rigidez arterial através da determinação de velocidade de onda de pulso (VOP) em hipertensos [25-26].

Diante da forte associação entre aldosterona, obesidade, rigidez arterial, disfunção endotelial e HVE na HAR [27-28], o estudo que se segue como capítulo desta tese de mestrado (modelo alternativo) visa identificar a associação entre a hipoadiponectinemia e essas variáveis na falta de controle pressórico dos subgrupos hipertensos resistentes.

1.2 Hipertensão Arterial Resistente – HAR

Apesar da grande disponibilidade de fármacos efetivos para o tratamento da hipertensão arterial, o relatório do *National Health Nutrition Education Survey* revelou que somente 27% da população americana de adultos hipertensos têm a pressão controlada (<140/90 mmHg), o restante não atinge as metas recomendadas pelo consenso [2, 29]. Embora a baixa adesão [30] e/ou regimes de tratamento inadequados, medidas incorretas da pressão arterial e outras causas de pseudo-hipertensão possam explicar em parte esse insucesso no controle da pressão arterial, há um percentual ainda significativo de pacientes que, mesmo excluídos esses fatores, apresentam real resistência ao tratamento anti-hipertensivo, sendo considerados hipertensos resistentes. Por definição, segundo a *American Heart Association*, a HAR é aquela em que os níveis de PA mantêm-se acima da meta pressórica mesmo com o uso de três classes diferentes de anti-hipertensivos em uma combinação racional de doses máximas, sendo um deles um diurético. Ainda, os pacientes que estão com a PA controlada, mas que necessitam de quatro ou mais anti-hipertensivos também foram incluídos como resistentes ao tratamento nessa diretriz [3]. Recentemente, demonstramos que tais subgrupos (“resistentes não controlados” e “resistentes controlados”) são bastante distintos em várias características, principalmente quanto ao grau de obesidade, excesso de aldosterona plasmática e rigidez arterial [27].

Apesar da prevalência exata da HAR não ser determinada, evidências indiretas de estudos populacionais e clínicos sugerem que este é um problema clínico relativamente comum. Por exemplo, somente 48 % do total de pacientes tratados, participantes do *Framingham Heart Study*, e menos de 40 % dos pacientes idosos estavam com a pressão controlada [31]. Em outro exemplo, somente 66 % dos pacientes de alto risco do estudo

Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial (ALLHAT) atingiram as metas pressóricas de < 140/90 mmHg [32]. Estudos menores mostram uma prevalência para a HAR de 5% na prática clínica geral a 50 % em clínicas de nefrologia [33]. Em resumo, a prevalência de HAR varia de acordo com a população estudada e as ferramentas diagnósticas e terapêuticas utilizadas.

A fisiopatologia da hipertensão arterial é complexa (Figura 1) e é modulada por diversos fatores interligados: o sistema nervoso autônomo, rins com a função excretora de sódio e secretora de renina, o SRAA, adaptação cardiovascular, o endotélio e o TA.

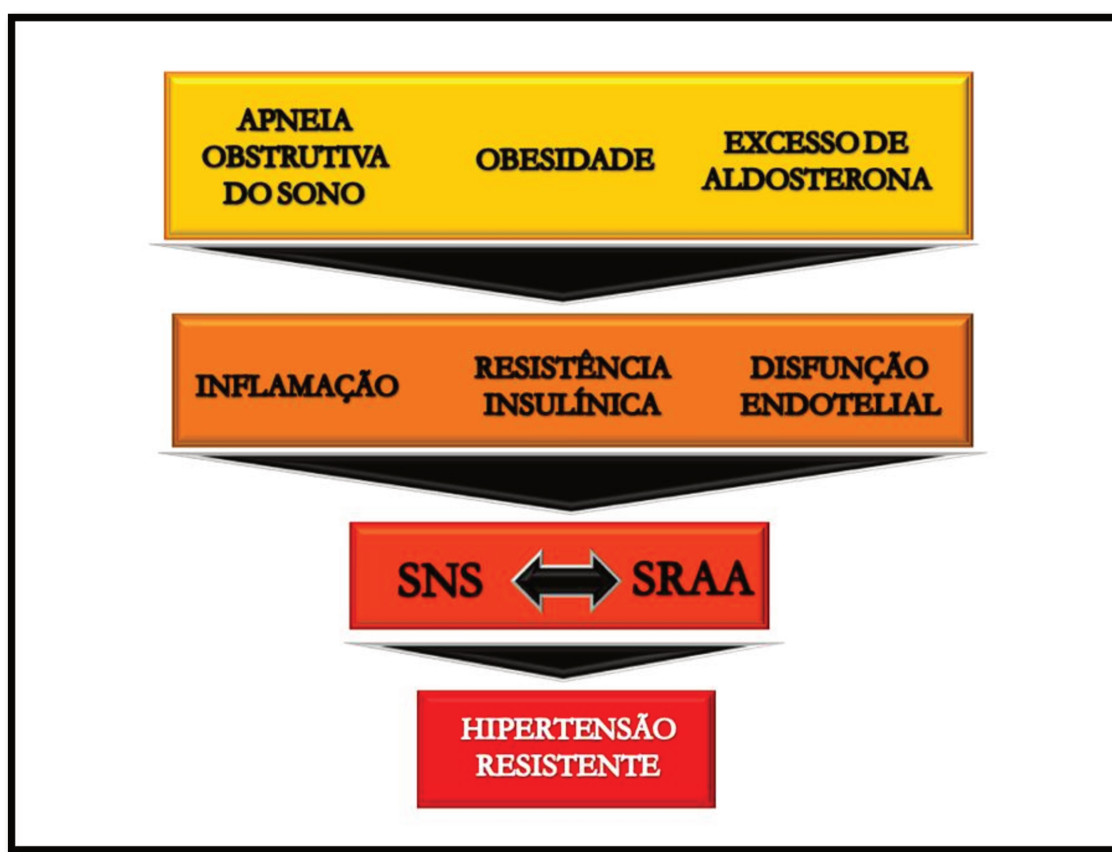


Figura 1: Fisiopatologia da HAR relacionando os principais mecanismos envolvidos (Modificado de *Tsioufis, Kordalis et al.*)[34]. Condições como apneia obstrutiva do sono (AOS), obesidade e excesso de aldosterona são fatores desencadeantes de inflamação, resistência insulínica e disfunção endotelial. Como consequência, há hiperativação do SNS e sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA) que possuem a propriedade de hiperativação recíproca, podendo incorrer em HAR.

A resistência à terapia anti-hipertensiva é usualmente multifatorial [35], porém, pseudo-resistência, fatores contribuintes e hipertensão secundária são fatores que têm um papel importante na caracterização da HAR (Quadro 1).

Quadro 1: Fatores que contribuem para caracterização da HAR

Pseudo-resistência • Fenômeno do avental branco • Mensuração inadequada da PA • Falta de adesão ao tratamento • Inércia terapêutica
Fatores contribuintes • Expansão volêmica - Ingestão excessiva de sódio - Retenção hídrica causada por doença renal crônica - Terapia diurética inadequada • Obesidade/resistência insulínica • Substancias exógenas - Anti-inflamatórios não esteroides - Anticoncepcionais orais - Álcool - Corticosteroides - Esteroides anabólicos - Agentes simpatomiméticos - Cafeína - Ciclosporina - Eritropoetina - Agentes quimioterápicos - Antidepressivos
Causas secundárias de HA • Hiperaldosteronismo • Apneia obstrutiva do sono • Doença renal cônica • Estenose de artéria renal • Feocromocitoma • Coarctação da aorta • Doenças da tireoide

Adaptado do *Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure* [2].

1.2.1 Condições clínicas associadas à HAR

1.2.1.1 Disfunção Endotelial

O endotélio pode ser considerado um órgão endócrino ativo que, em respostas a estímulos humorais, neurais e mecânicos, sintetiza e libera substâncias vasoativas que modulam tônus, calibre vascular e fluxo sanguíneo, desempenhando papel fundamental na regulação da circulação e na proliferação e migração das células do músculo liso vascular e adesão de leucócitos [36-37].

Quando exposto aos fatores de risco, como HA, o endotélio apresenta alterações funcionais, denominadas genericamente de disfunção endotelial (DE) [38] caracterizada por diminuição na biodisponibilidade de óxido nítrico (NO) secundário ao estresse oxidativo [39]. As células endoteliais estão disfuncionais em várias doenças cardiovasculares e na HA. Usualmente, essa disfunção é expressa como ‘alteração do relaxamento dependente do endotélio’ causada, principalmente, por redução da liberação e/ou ação dos fatores dilatadores derivados do endotélio, podendo também ocorrer liberação de fatores constritores derivados do endotélio, contribuindo dessa forma, para DE. Portanto, a DE constitui um marcador precoce dessa lesão e é elemento-chave na patogênese das doenças cardiovasculares [40]. Grandes evidências indicam que pacientes hipertensos, inclusive com HAR, são caracterizados por disfunção endotelial, tanto em distritos vasculares periféricos como coronarianos [41]. Em estudo foi relatado que a função endotelial está claramente reduzida nos hipertensos não controlados em relação aos sujeitos normotensos [42]. Além disso, mais especificamente, foi demonstrado em estudo recente que, em relação aos subgrupos da HAR, pacientes resistentes não controlados (HARNC) apresentam piora da função endotelial quando comparados ao subgrupo resistente controlado (HARC) [28].

A avaliação não invasiva da função endotelial, por meio de ultrassom (US) [43] de alta resolução e do estudo do fluxo arterial, vem sendo utilizada, ultimamente, com bastante acurácia e reprodutibilidade. Ela pode ser realizada antes e após qualquer intervenção física ou farmacológica, permitindo a demonstração das alterações e dos efeitos da exposição a fatores de risco para doença cardiovascular. Sobretudo, há ainda excelente correlação hemodinâmica e laboratorial, como relatam os trabalhos citados anteriormente de *Celermajer* e colaboradores e de outros grupos [44]. Uma importante consequência da DE é a inabilidade de liberação dos fatores de relaxamento derivados do endotélio. A DE pode ser avaliada de forma não invasiva, quantificando-se a resposta da artéria braquial ao estímulo mecânico como a resposta à manobra de compressão/descompressão da artéria braquial (aumento do fluxo provocado por vasodilatação dependente do endotélio), ou após estímulo farmacológico de substâncias vasodilatadoras, como a nitroglicerina, cuja ação é direta sobre a musculatura lisa vascular. Através do uso do US de alta resolução, o grau da disfunção é expresso em diferença percentual de acréscimo do diâmetro, comparando-se os valores obtidos em repouso, durante a primeira amostragem, com o registrado pós-estímulo mecânico e ou farmacológico [45].

1.2.1.2 Rigidez Arterial

A rigidez arterial é determinada pela estrutura da parede arterial e pelas condições da parede, em especial da camada média. Esta rigidez arterial em hipertensos é praticamente atribuível a alterações estruturais na parede deste vaso [46]. A complacência da parede vascular depende da contribuição do colágeno e elastina (principalmente por proliferação de colágeno e quantidades diminuídas de elastina ou quebra delas), que conferem integridade estrutural e elasticidade ao vaso. Além de mudanças estruturais, a

rigidez arterial também é afetada pelas células musculares lisas. O tônus vascular pode ser modificado por deposição de cálcio e pela ação de mediadores parácrinos como angiotensina II, endotelina, estresse oxidativo e óxido nítrico [47-48]. Além do próprio processo de envelhecimento das grandes artérias que resulta em menor complacência [49] patologias como o diabetes [50], hipertensão arterial [51], doença renal crônica e o tabagismo [52] participam como aceleradores desse processo.

A rigidez arterial pode ser avaliada de maneira não invasiva pela estimativa da velocidade de onda de pulso (VOP), um método simples e reprodutível [53-54]. Estudos epidemiológicos demonstraram que o aumento da VOP, marcador de rigidez arterial, está associado com aumento de risco da morbidade e mortalidade por doença cardiovascular [55-57].

Estudo recente, avaliando a rigidez arterial nos subgrupos da HAR, demonstrou maior VOP nos pacientes não controlados em relação aos controlados [27].

1.2.1.3 Hipertrofia Ventricular Esquerda

A hipertrofia ventricular esquerda (HVE) é a resposta cardíaca à sobrecarga pressórica e/ou volumétrica crônica, e sua prevalência e incidência elevam-se de acordo com a progressão de níveis de pressão arterial [58]. Essa adaptação está associada à maior morbidade e mortalidade dos seus portadores. É possível que o mecanismo adaptativo esteja acompanhado de alterações intrínsecas dos miócitos cardíacos ou de outras células miocárdicas, predispondo a um déficit contrátil e instabilidade elétrica do coração. Com relação ao aumento da massa do VE, os resultados do *Framingham Heart Study* demonstraram de forma inequívoca o valor prognóstico da detecção de hipertrofia

ventricular esquerda na estratificação de risco para doença cardiovascular, morbidade e mortalidade [59-60]. Estudos epidemiológicos têm implicado HVE como fator de risco para o infarto do miocárdio (IM), insuficiência cardíaca congestiva (ICC) e morte súbita [61]. Estudo englobando HAR demonstrou maior HVE nos pacientes portadores de resistência aos fármacos anti-hipertensivos em relação aos hipertensos controlados e ao grupo controle de normotensos [62]. Além disso, mais recentemente foi evidenciado que o subgrupo de HARNC apresentou maior índice de massa ventricular esquerda comparado aos indivíduos portadores de HARC [27].

1.3 Sistema Renina Angiotensina Aldosterona - SRAA

O SRAA regula o balanço hidro-eletrolítico e a PA, além de outros subsistemas. O papel do SRAA na fisiopatologia da HA foi estabelecido a partir dos experimentos clássicos de *Goldblatt*, demonstrando a importância da pressão de perfusão renal na secreção de renina [63]. A renina é uma enzima proteolítica, sintetizada como pré-pró-renina, que é clivada em pró-renina e, posteriormente, em renina ativa, a qual é armazenada nos rins e liberada imediatamente após estímulo. Quando é liberada na circulação, a renina cliva o angiotensinogênio (AGT) que é produzido pelo fígado, formando a angiotensina I (decapeptídeo). A enzima de conversão de angiotensina I (ANG-I) em angiotensina II (ANG-II), a ECA, é encontrada no endotélio vascular de vários órgãos. Estas reações ocorrem no plasma e em vários tecidos como rins, cérebro, adrenais, ovários, músculo liso vascular e células endoteliais. Uma vez ativada a cascata, surgem a ANG-I e a ANG-II (octapeptídeo), que circulam pelo sangue ativando suas estruturas-alvo: vasos sanguíneos (sobretudo arteríolas e veias sistêmicas), rins, coração, adrenais e o sistema nervoso simpático [64-65].

A rápida expansão das técnicas de biologia molecular permitiu que os respectivos genes associados aos componentes do SRAA fossem clonados e sequenciados [66], o que possibilitou a determinação da distribuição tecidual de seus componentes. Por isso, diferentemente da visão endócrina clássica, atualmente é aceito o SRAA tecidual, com funções parácrinas, autócrinas e epícrinas [67], tendo-se observado todos ou quase todos os seus componentes em tecidos como coração [68], vasos [69] e rins [70]. Há décadas a ANG-II é estudada, e acreditava-se que seu efeito fosse mediado por um único receptor, mas, no final dos anos 80, estudos com antagonistas específicos identificaram os subtipos de receptores de angiotensina 1 e 2 (AT1 e AT2) [71]. Até o início da década de 90, as ações da angiotensina II eram atribuídas ao receptor AT1, sendo as funções do AT2 pouco conhecidas [72]. Em 1992, porém, estudiosos clonaram e caracterizaram duas isoformas do AT1: AT1A e AT1B. Atualmente são reconhecidos vários tipos de receptores AT, envolvidos em ações específicas da ANG-II ou das outras angiotensinas (ANG-III, ANG-IV e ANG-1-7) [73-74]. Além disso, sabe-se hoje que as ações dos receptores AT2, funcionalmente, se opõem às ações dos receptores AT1 [75], podendo a própria ANG-II agir simultaneamente sobre ambos os receptores, de modo a permitir uma modulação de seus efeitos [76].

Estudos recentes têm ampliado nosso conhecimento sobre eventos celulares mediados pela ANG-II, sugerindo, que seu papel biológico é tão amplo que vai do intracelular ao tecido ou ao sistema [77]. As principais ações hemodinâmicas da ANG-II são: estimular a reabsorção de sódio; estimular a secreção de aldosterona; a liberação de hormônio antidiurético e citocinas; promover vasoconstrição e aumentar o tônus simpático facilitando a liberação de noradrenalina, potencializando a ação das catecolaminas e reduzindo o ganho de reflexo barorreceptor. Entre as ações não hemodinâmicas citam-se:

aumento da produção de radicais de oxigênio; proteinúria; efeitos metabólicos; pró-trombóticos; estímulo da síntese de colágeno e redução da sua recaptação e degradação; proliferação e hipertrofia vascular e cardíaca.

Além das funções já caracterizadas, a ANG-II vem sendo considerada uma citocina multifuncional com propriedades não hemodinâmicas. Nesse contexto, destacam-se fator de crescimento, citocina pró-fibrinogênica e pró-inflamatória [78] e modulador da resposta imunológica, como quimiotaxia, proliferação e diferenciação de monócitos em macrófagos [79].

Tradicionalmente, o tratamento para insuficiência cardíaca e hipertensão se baseava principalmente no bloqueio do SRA, em vez de SRAA, com base na teoria de que a aldosterona seria suprimida desde que a formação de ANG-II estivesse bloqueada. Observou-se, entretanto, que a formação de aldosterona não permanece suprimida durante bloqueio crônico do SRA. Após 3 meses de terapia, os níveis de aldosterona começam a se elevar devido a “reativação da ANG-II” ou “escape da aldosterona” [80]. Este escape também pode ocorrer com diuréticos tiazídicos [81], comumente utilizados em HAR. Estudos clínicos têm mostrado que níveis elevados de aldosterona e renina plasmática estão associados com HVE [82], hipertensão e doença cardiovascular [83].

Dado ao emergente papel da aldosterona como um fator de risco cardiovascular é importante entender sua relação com fatores de risco estabelecidos e identificar características adicionais que influenciam os níveis séricos. Correlação descrita na literatura em relação à aldosterona inclui idade, sexo, ingestão de sal, etnia, hipertensão e obesidade [84].

Por fim, a hiperativação do SRAA tem sido extensivamente abordada devido ao seu potencial envolvimento na fisiopatologia da HAR associada à obesidade, sendo que o

bloqueio desse sistema pode ser uma estratégia terapêutica benéfica para ambas condições [9].

1.3.1 Aldosterona

Várias publicações recentes têm focado o papel da aldosterona sobre a volemia, função renal e vasos arteriais, principalmente quanto à indução de disfunção endotelial, inflamação, fibrose e rigidez vascular. O conjunto dessas alterações promove mudanças funcionais e estruturais de pequenas e grandes artérias, levando, conseqüentemente, ao aumento da pressão arterial, frequentemente resistente às classes de anti-hipertensivos atualmente utilizadas [27, 62]. Por outro lado, a própria utilização de diuréticos, inibidores da enzima conversora e antagonistas dos receptores de angiotensina II pode causar aumento da aldosterona plasmática (escape da aldosterona) que contribui para a resistência ao tratamento anti-hipertensivo [81, 85]. Ainda, há fortes evidências que consideram o SRAA intrinsecamente ligado à obesidade, resistência à insulina e dislipidemia [12]. Níveis elevados de aldosterona contribuem diretamente para a patogênese da resistência à insulina e disfunção endotelial, processos estes que contribuem para os efeitos de remodelamento renal e cardiovascular. O excesso de aldosterona estimula vias não clássicas (ações não genômicas), envolvendo inflamação e estresse oxidativo, o que contribuiu para aceleração do desenvolvimento da HAR através de múltiplos mecanismos [86].

Estudos recentes demonstram que pacientes hipertensos frequentemente exibem prejuízo na sinalização metabólica de insulina, dislipidemia, microalbuminúria e obesidade [87]. Relatos demonstram a possível interação da aldosterona em receptores para mineralocorticoide com a função de promover adipogênese e aumento da infiltração de macrófagos [13], caracterizada pela inflamação do TA e expressão modificada de

adipocinas inflamatórias. Além disso, o bloqueio do receptor mineralocorticoide reduziu a expressão de fatores pró-trombóticos e pró-inflamatórios no TA e aumentou a expressão de adiponectina no coração e no TA de camundongos obesos e diabéticos [14] (Figura 2).

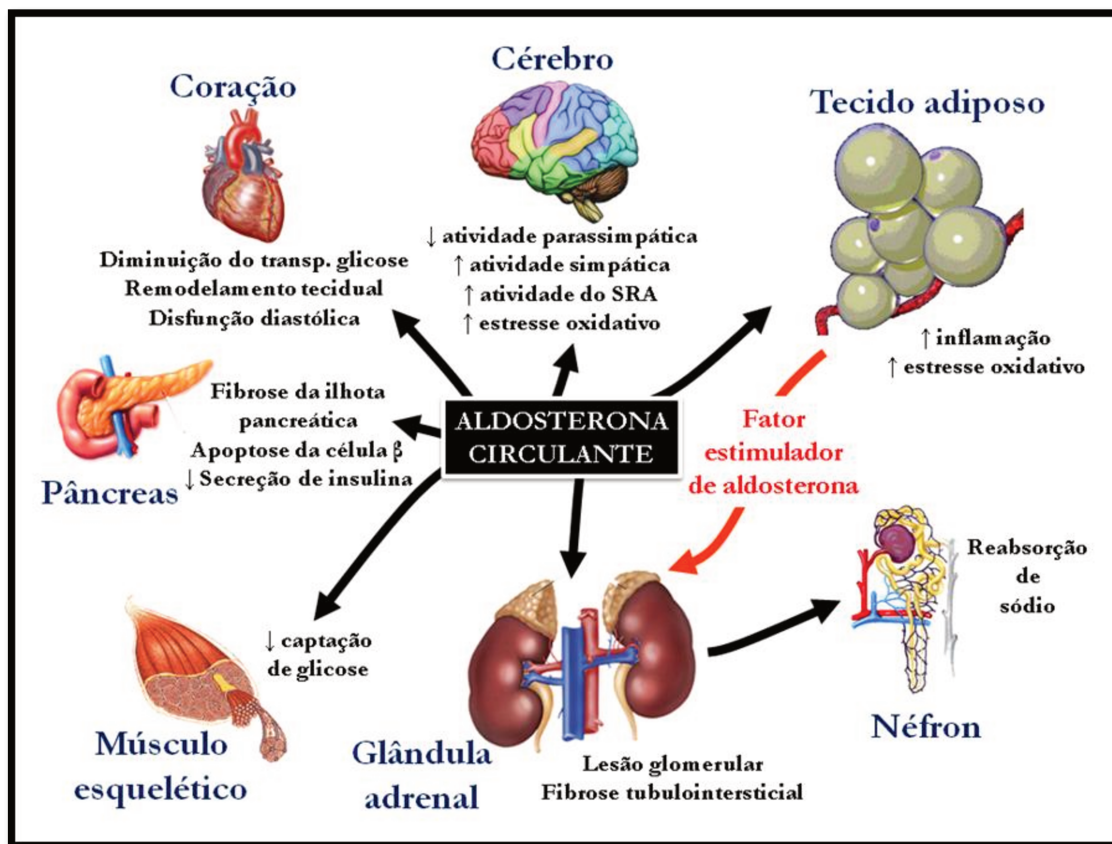


Figura 2: Ações da aldosterona plasmática nos mais diversos sistemas (Modificado de Sowers, Whaley-Connell *et al.*)[86]. O TA produz um fator estimulador de aldosterona que ao agir sobre as glândulas adrenais promove o aumento da aldosterona circulante. Além de promover a reabsorção de sódio nos túbulos coletores, o aumento da aldosterona circulante está associado com várias alterações no organismo. Entre elas: o aumento da atividade do sistema nervoso simpático, a hipertrofia ventricular esquerda, disfunção endotelial, dano glomerular, além de processos inflamatórios e de estresse oxidativo. Em relação ao TA, a aldosterona, em receptores mineralocorticoides, promove adipogênese, inflamação e expressão alterada de adipocinas.

O TA sempre foi conhecido como isolante térmico e reservatório de energia, porém, por muito tempo, pouca atenção foi dada à análise de outras funções do mesmo. Foi descoberta a sua capacidade de secretar hormônios, denominados adipocinas, consolidando a ideia do TA como um órgão endócrino [88], que medeiam inflamação sistêmica, estresse oxidativo e resistência à insulina [89].

1.4 Obesidade e resistência à insulina

Na sociedade moderna a obesidade aumentou de forma alarmante, tornando-se um grave problema de saúde pública em razão do aumento expressivo da morbidade e mortalidade cardiovasculares, secundárias à progressão e o agravamento da doença aterosclerótica [90-91]. Estudos experimentais e clínicos têm demonstrado que o excesso de peso eleva a PA. Os mecanismos fisiopatológicos da hipertensão associada à obesidade são complexos. O aumento da atividade simpática, a ativação do SRAA, a resistência à ação da leptina, a alteração de fatores pró-inflamatórios e de coagulação, a disfunção endotelial e os fatores hemodinâmicos relacionam-se entre si de forma direta ou indireta [92-93], porém o mecanismo exato pelo qual a obesidade provoca esta alteração não está totalmente esclarecido. Também a menor ação protetora da adiponectina parece explicar a relação entre obesidade e hipertensão [94].

Sabe-se que a obesidade está associada a aumento do débito cardíaco, resistência vascular periférica e fluxo sanguíneo regional, que promovem expansão do volume extracelular e alteração da função renal, manifestada por alteração da curva pressão/natriurese e retenção renal de sódio. Inicialmente, por um aumento da reabsorção tubular na fase inicial da obesidade e, posteriormente, secundária à lesão glomerular com

perda de função [95-96]. Outro importante fator é a atividade de renina plasmática (ARP) que está aumentada em obesos, independente da retenção de sódio e aumento do volume extracelular. O papel da ANG-II é reforçado pela eficácia observada no tratamento de jovens obesos hipertensos com inibidores da IECA [97]. Estudo demonstrou que níveis elevados de aldosterona em obesos relacionam-se à distribuição centrípeta de gordura do que à adiposidade geral [98]. Além disso, foi descrito um fator derivado do adipócito, como um derivado do ácido graxo livre, que aumenta a liberação de um estimulador hepático de síntese de aldosterona [99]. Pacientes obesos com hipertensão de difícil controle, também exibem maior grau de resistência à insulina, obesidade centrípeta e hipertrofia das fibras músculo esqueléticas quando comparados a hipertensos bem controlados pareados por idade, sexo e IMC [100]. Isto sugere que a hipertrofia do músculo liso dos vasos de resistência, induzida pela insulina, seja responsável pelo aumento da resistência vascular periférica em pacientes obesos com resistência à insulina e HA. A obesidade e a hiperinsulinemia bloqueiam a efetividade das drogas anti-hipertensivas, contribuindo desta maneira para a resistência ao tratamento medicamentoso da HA.

Finalmente, as adipocinas, secretadas ativamente pelo TA, possuem ampla diversidade estrutural e funcional, podendo compreender desde proteínas relacionadas ao sistema imune, da via alternativa de complemento, fatores de crescimento, regulação de pressão, coagulação sanguínea, angiogênese e homeostase glicêmica (adiponectina) entre outras [88].

1.4.1 Adiponectina e Desfechos Clínicos Cardiovasculares

A adiponectina foi identificada em meados de 1990 como uma proteína plasmática relativamente abundante produzida pelo tecido adiposo. O gene da adiponectina humana se localiza no cromossomo 3q27, um sítio associado com suscetibilidade a diabetes tipo 2 (DM2) [101].

Estudos demonstraram que os níveis plasmáticos de RNA mensageiro de adiponectina foram correlacionados negativamente com a porcentagem de gordura corpórea, distribuição de gordura central, insulina plasmática em jejum, tolerância oral à glicose e com fatores de risco cardiovascular associados à obesidade, incluindo pressão arterial sistólica e diastólica, colesterol total, triglicerídeos, LDL colesterol e ácido úrico. Entretanto, foi encontrada correlação positiva com a utilização de glicose durante *clamp* euglicêmico (método de determinação de resistência à insulina), indicando, portanto, correlação negativa com resistência à insulina. Além disso, houve correlação positiva com níveis de HDL colesterol [102]. Níveis reduzidos são observados na presença de obesidade, doença arterial coronariana, hipertensão arterial e resistência à insulina [103] e podem refletir aumento de risco cardiovascular e inflamação [104]. Estudos atuais sugerem que a atividade biológica da adiponectina se deve em grande parte aos multímeros de elevado peso molecular [105], tendo a mesma o valor prognóstico para eventos cardiovasculares em pacientes com doença coronariana [106].

Na vasculatura, os níveis de adiponectina estão fortemente ligados à função endotelial [107], principalmente por alterar efeitos vasculares mediados por citocinas, como TNF- α , suprimir geração de espécies reativas ao oxigênio e possibilitar a geração de NO endotelial. Desta forma, a adiponectina tem propriedades anti-inflamatórias, antiaterogênicas e antiproliferativas nos vasos. Estudos prévios têm evidenciado ser a

adiponectina um fator de proteção contra hipertensão arterial através do mecanismo dependente do endotélio, como demonstrado em camundongos deficientes da proteína com resposta vasodilatadora prejudicada induzida pela acetilcolina [22]. Ainda assim, em relação ao sistema vascular, a adiponectina se associou inversamente à rigidez arterial em pacientes hipertensos [25-26, 108]. Essa associação pode ser explicada pelo fato da adiponectina estimular a atividade da sintase endotelial para produção de NO [21] e inibir a proliferação da musculatura lisa vascular [109] e de componentes da matrix extracelular, como colágeno e fibronectina [110].

No estudo *Health Professionals Follow-up Study*, com 18.225 pacientes, o nível plasmático de adiponectina correlacionou-se com risco diminuído de infarto do miocárdio [111]. Em outro estudo com desfecho semelhante, níveis plasmáticos baixos de adiponectina foram associados com infarto do miocárdio em indivíduos abaixo de 60 anos, independentemente de história prévia de hipertensão arterial, dislipidemia (HDL colesterol reduzido), tabagismo e índice de massa corporal elevado [112].

A adiponectina parece ser negativamente regulada por ativação do sistema nervoso simpático. Agonistas beta-adrenérgicos, via estimulação AMPc, inibem a expressão gênica, produção e secreção de adiponectina em camundongos *in vitro* e *in vivo*. Também inibem a expressão gênica de adiponectina no tecido adiposo visceral humano *in vitro* [113].

A liberação de adiponectina na circulação está associada com severidade de sintomas e mortalidade na insuficiência cardíaca (IC) [114-115]. Níveis elevados, por sua vez, refletem uma tentativa de atenuar estados pró-inflamatórios e demonstram um balanço entre vias prejudiciais e protetoras na disfunção sistólica do ventrículo esquerdo e IC [104]. Desta forma, a adiponectina também influencia o remodelamento cardíaco inibindo o processo de hipertrofia cardíaca [116].

Estudos transversais relataram a hipoadiponectinemia como sendo um fator de risco independente para hipertensão arterial e como marcador de predisposição de hipertensão em homens [20, 117]. Em estudo prospectivo com duração de 5 anos, a hipoadiponectinemia foi relacionada como preditora do desenvolvimento da hipertensão arterial em chineses não diabéticos, independente da idade, parâmetros de obesidade, pressão arterial média, resistência à insulina e proteína C reativa de alta sensibilidade [21] (Figura 3).

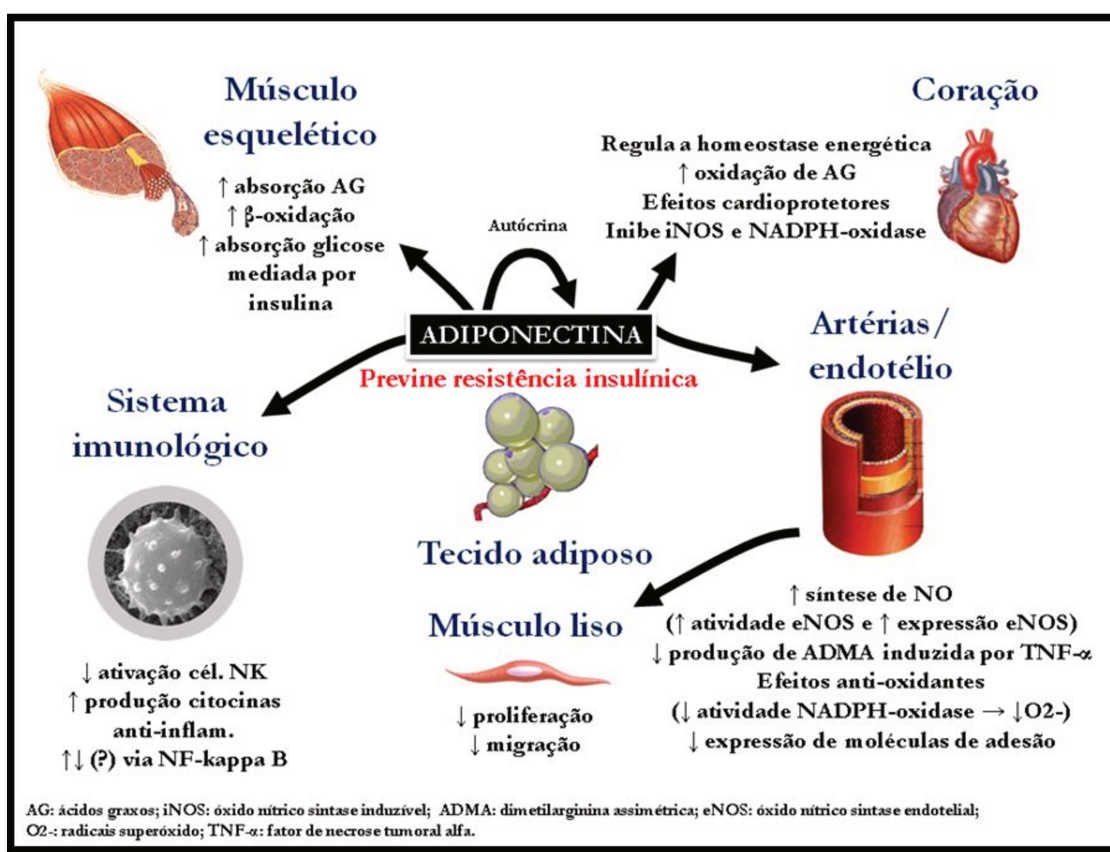


Figura 3: A relação entre adiponectina e os sistemas fisiológicos (Modificado de Antoniadou, Antonopoulos et al.)[118]. A adiponectina, uma adipocina com propriedades anti-inflamatória e antiaterogênica, é correlacionada negativamente com doenças cardiovasculares (hipertensão arterial, disfunção endotelial e rigidez vascular) e outras condições patológicas como diabetes tipo 2 e resistência insulínica.

É desconhecida, entretanto, a associação da adiponectina plasmática com as principais variáveis (disfunção endotelial, HVE, rigidez arterial e elevação da CPA) que estão frequentemente associadas à falta de controle da PA. Também é desconhecida se os subgrupos hipertensos resistentes controlados e não controlados apresentam comportamentos diferenciados quando correlacionados a essas variáveis.

2 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

A adiponectina plasmática tem sido investigada extensivamente em doenças cardiovasculares, resistência insulínica/diabetes *mellitus* tipo 2 e obesidade. Entretanto, pouco se conhece sobre a relação entre essa adipocina e a resistência ao tratamento farmacológico em pacientes hipertensos. Além disso, é desconhecida a influência em padrões hemodinâmicos como rigidez vascular aumentada e em pacientes com hipertensão resistente.

A identificação de possíveis associações da adiponectina plasmática à hipertensão resistente e obesidade, e também sobre o perfil hemodinâmico destes pacientes deverá contribuir para o melhor entendimento dos mecanismos fisiopatológicos relacionados à resistência farmacológica.

Os mesmos aspectos serão estudados nos subgrupos HARNC e HARC para estabelecermos se os mesmos apresentam diferenças fenotípicas que expliquem os achados distintos encontrados por nosso grupo em trabalhos anteriores, bem como, a própria natureza da resistência pressórica a fármacos.

3 OBJETIVOS

- 1- Comparar níveis plasmáticos de adiponectina e características fenotípicas como hipertrofia ventricular esquerda, disfunção endotelial, rigidez arterial e aldosterona, frequentemente associadas à dificuldade de controle da PA em hipertensos resistentes controlados e não controlados;
- 2- Avaliar se os níveis plasmáticos de adiponectina correlacionam-se com as variáveis PA sistólica, PA diastólica e pressão de pulso de consultório e da MAPA, índice de massa ventricular esquerda, vasodilatação mediada por fluxo, VOP e CPA.

4 CONCLUSÕES

- 1- Pacientes com HAR não controlada apresentaram níveis diminuídos de adiponectina associados a maior rigidez vascular quando comparados com os pacientes resistentes com pressão arterial controlada.
- 2- Em seu conjunto, além da participação da pressão arterial e aldosterona (elevados), valores reduzidos de adiponectina e maior rigidez arterial podem ser responsáveis pela resistência à terapia anti-hipertensiva.

CAPÍTULO I



UNICAMP

**CARDIOVASCULAR PHARMACOLOGY
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES
STATE UNIVERSITY OF CAMPINAS - UNICAMP
P.O. BOX 6111, CAMPINAS, 13083-970, SP, BRAZIL**



Tel: +55-19-3521-9538
Fax: +55-19-3289-2968

e-mail: hmoreno@uol.com.br
Heitor Moreno Jr., MD, PhD

3rd Feb 2012

PROF. ALBERTO ZANCHETTI

EDITOR-IN-CHIEF

JOURNAL OF HYPERTENSION

Dear Professor Alberto Zanchetti

Please find enclosed our original manuscript **“Hypoadiponectinemia and aldosterone excess are associated with lack of blood pressure control in resistant hypertensive subjects”**.

The paper hereby submitted follows some important publications of our group in resistant hypertension and we would like to publish it in the Journal of Hypertension due its relevance this syndrome.

This manuscript is original and is not under consideration by any other journal.

All authors have approved the submission of the present study in this journal and there are no financial or other relationships that might lead to a conflict of interest.

Yours sincerely,

Ana Paula Cabral de Faria

Heitor Moreno Jr., MD, PhD

Faculty of Medical Sciences – State University of Campinas,

Cardiovascular Pharmacology and Hypertension Section

Campinas, SP, Brazil. 13081-970

e-mail: aninha_cfaria@hotmail.com / hmoreno@uol.com.br

Hypoadiponectinemia and aldosterone excess are associated with lack of blood pressure control in resistant hypertensive subjects

Running title: The role of hypoadiponectinemia in resistant hypertension

Authors: Ana Paula C. FARIA^a, PharmD; Valéria N. FIGUEIREDO^a, ND; Carolina H. MORAES^a, PharmD; Rodrigo C. SANTOS^a, MD; Silvia E. FERREIRA-MELO^a, PharmD, PhD; Leandro BOER-MARTINS^b, MD, PhD; Caroline DEMACQ^b, PharmD, PhD; Heitor MORENO-JR^a, MD, PhD.

Affiliations:

^aCardiovascular Pharmacology Laboratory, Faculty of Medical Sciences and Clinic Hospital, State University of Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil.

^bCardiovascular & Metabolism Unit, Pharma Sector, Novartis Biociências S.A., São Paulo, Brazil.

This study was supported by FAPESP, SP, Brazil. Heitor MORENO-JR, Ana Paula C. FARIA, Valéria N. FIGUEIREDO were supported by Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) and CAPES (Brazil).

Disclosures : Leandro BOER-MARTINS and Caroline DEMACQ are employees of Novartis Biociências S.A. (Brazil).

Correspondence

Heitor Moreno Jr, M.D., PhD. Cardiovascular Pharmacology Laboratory, State University of Campinas, SP, Brazil. FCM 10 Building, 1st Floor. Campinas – SP, Brazil. CEP: 13083-970

Phone: +55 19 3521 9538 ; email: hmoreno@uol.com.br

word count: 6246

number of tables : 4

number of figures : 4

ABSTRACT

Objective: Obesity, arterial stiffness, cardiac hypertrophy, high aldosterone and endothelial dysfunction may interact in causing Resistant Hypertension (RHTN). Lower adiponectin (APN) and aldosterone excess may be significantly associated with hypertension. However, the importance of hypoadiponectinemia as complicating factor for the lack of blood pressure (BP) control in RHTN has not been demonstrated. **Methods:** Ninety-six RHTN patients were divided in uncontrolled (UCRHTN, n=44) and controlled (CRHTN, n=52) subgroups. APN and aldosterone, office BP and ambulatory BP measurement (ABPM), brachial artery responses to endothelial-dependent [flow-mediated dilation (FMD)], left ventricular mass index (LVMI) and pulse wave velocity (PWV) were evaluated. **Results:** UCRHTN had increased aldosterone (12.6 ± 1.4 vs. 8.9 ± 0.8 ng/dL, $p=0.02$) as well as LVMI (142.2 ± 6.0 vs. 122.9 ± 4.3 g/m², $p=0.02$) and PWV (12.0 ± 0.3 vs. 9.2 ± 0.2 m/s, $p<0.0001$). However, lower APN (6.9 ± 0.7 vs. 9.5 ± 0.8 µg/mL, $p=0.01$) and impaired FMD response (6.6 ± 0.3 vs. $7.5 \pm 0.3\%$, $p=0.001$) were found in this same subgroup. Brachial and ABPM pulse pressures were inversely associated with APN ($r = - 0.45$, $p=0.002$; $r = - 0.33$, $p=0.03$, respectively) as well as aldosterone and PWV ($r = - 0.38$, $p=0.01$; $r = - 0.36$, $p=0.02$, respectively) in UCRHTN. PWV was only significantly influenced by APN levels in UCRHTN ($\beta = - 0.16$, $SE = 0.05$, $p=0.01$). APN did not correlate to the same parameters in the CRHTN. **Conclusion:** Hypoadiponectinemia and high aldosterone may be implicated in antihypertensive therapy resistance in respect to arterial rigidity.

Key-words: resistant hypertension, refractory hypertension, obesity, adiponectin, aldosterone, vascular stiffness.

INTRODUCTION

Resistant hypertension (RHTN) refers to patients whose blood pressure (BP) remains above goal (140/90 mmHg) in spite of the concurrent use of three or more antihypertensive drugs of different classes. Ideally, one of the agents should be a diuretic, and all agents should be prescribed at optimal doses [1]. This revised definition includes a subgroup of resistant hypertensive patients whose BP is controlled with the use of four or more antihypertensive medications, and are referred to as having ‘controlled resistant hypertension’ (CRHTN) [1]. This designation may serve to be useful in terms of better categorizing RHTN with regard to an etiology and prognosis, but recently we demonstrated that some important clinical and mechanistic findings differ between CRHTN and uncontrolled resistant hypertensive (UCRHTN) subjects [2-3]. Also, emerging data suggest that obesity, arterial stiffness, cardiac hypertrophy, high plasma aldosterone levels and endothelial dysfunction are not only associated with RHTN but may also interact to have an important role in causing RHTN [2, 4]. Moreover, vascular rigidity assessed by pulse wave velocity (PWV) has been correlated with resistant hypertension [5].

Putative mechanisms for obesity-related hypertension include increased activity of the sympathetic nervous, stimulation of the renin–angiotensin–aldosterone system, impaired endothelial function and reduced

urinary sodium excretion [6]. These mechanisms underlie the concept that obesity and RHTN are linked through hyperaldosteronism, and that aldosterone has a significant role in the pathogenesis of metabolic syndrome and RHTN [7]. A growing body of evidence indicates that cardiovascular and renal abnormalities associated with insulin resistance are mediated in part by aldosterone acting on the mineralocorticoid receptor. Furthermore, not only hyperaldosteronism has its importance for cardiometabolic disease, but the state of “aldosterone excess”, which is the increased level of aldosterone concentration without hyperaldosteronism. Aldosterone excess has detrimental metabolic effects that likely contribute to metabolic syndrome and endothelial dysfunction. Thus, excess of aldosterone also contributes to the development of RHTN, as well as to cardiovascular disease and chronic kidney disease [7].

Presently, adipose tissue is considered to be a large endocrine gland that takes part in the regulation of diverse biological functions [8]. The communication between adipose tissue and other biological systems is accomplished through the expression of a large number of bioactive mediators that are collectively named adipokines [8]. Adiponectin (APN) is distinguished as one of the most important adipokines involved in multiple biological processes in the human

body [9]. Some previous evidences suggest that lower plasma APN concentration is significantly associated with hypertension [10-11], however the importance of hypoadiponectinemia as an important complicating factor for the lack of blood pressure (BP) control has not been evaluated in RHTN.

The aim of this study was to evaluate whether low plasma APN levels are associated with the lack of BP control in the RHTN and some clinical features frequently associated with vascular stiffness.

METHODS

This transversal study was approved by the Institutional Research Ethics Committee at the Medicine School, State University of Campinas (São Paulo, Brazil) and all participants gave written informed consent form before enrolling in the study (Approval No. 222/2011).

Patient Population

Ninety-six RHTN subjects, regularly followed in the Outpatient Resistant Hypertension Clinic of the Campinas State University (Campinas, Brazil) complying with pharmacological prescription for RHTN, were recruited to participate in this observational study. Patients were divided in two groups: uncontrolled (UCRHTN, n=44) and controlled (CRHTN, n=52) and were matched for age, gender and BMI. The diagnosis of RHTN required a good office blood pressure (OBP)

measurement technique and ambulatory blood pressure monitoring (ABPM) to confirm persistently elevated blood pressure levels [1]. White coat hypertension (WCH) was excluded by ABPM [1]. Pseudoresistance cases, including lack of blood pressure control secondary to poor medication adherence, as well as secondary forms of hypertension were properly observed and excluded [12-14]. Regarding obstructive sleep apnea (OSA), only patients classified as “low risk” by Berlin sleep questionnaire were enrolled [15]. All individuals were regularly followed up during the first 6 months for drug therapy optimization [16]. ABPM (Spacelabs 90207, Spacelabs Inc, Redmon, WA, USA) was used not only to exclude pseudoresistance to antihypertensive treatment but also as an auxiliary method to characterize UCRHTN and CRHTN patients.

The exclusion criteria comprised: presence of type 1 and type 2 diabetes, acute or moderate-severe renal or liver dysfunction, non-complied pharmacological prescription, obesity (body mass index ≥ 30 kg/m²), heart failure (ejection fraction < 50%), valvular heart disease, cardiomyopathies, primary hyperaldosteronism [aldosterone-PRA ratio (ARR) > 20 ng per 100 mL per ng.ml(-1)h (-1)], sleep apnea (classified as “high risk” by the Berlin sleep questionnaire), cardiac arrhythmias, aortic disease (Marfan’s syndrome, coarctation of the aorta, aneurysms or aortic surgery), clinical history of coronary

artery disease or proven coronary artery disease by coronary angiography or noninvasive tests, previous stroke, peripheral vascular disease, familial hyperlipidemia, pregnancy or oral contraceptive use, connective tissue disorders, neurological problems, malignancies, psychiatric diseases, smoking, alcohol use and drug abuse.

Non-pharmacologic therapies were optimized, including salt-restricted diet monitored by measuring urinary sodium excretion (<100 mEq/24h). APN and aldosterone levels, OBP, ABPM, determination of brachial artery responses to endothelial-dependent [flow-mediated dilation (FMD)], left ventricular mass index (LVMI) and pulse wave velocity (PWV) were evaluated as described below.

Office BP measurements

Blood pressure was assessed at approximately 8:00 a.m. by considering the orientations of the last guideline on hypertension of the European Society of Cardiology [17]. Blood pressure (SBP – systolic blood pressure, DBP – diastolic blood pressure and PP – pulse pressure) was measured three times for each subject using a digital sphygmomanometer (Omron HEM-711DLX, OMRON Healthcare Inc., Bannockburn, IL, USA) on the right upper arm in the sitting position after a 10-minute rest. The average of two consecutive measurements was used with a variation lower than 5 mmHg.

Ambulatory BP measurements (ABPM)

The 24-h ABPM was evaluated with a Spacelabs 90217 ambulatory blood pressure monitor (Spacelabs Inc, Redmon, WA, USA) [18]. Patients were instructed to keep normal daily activities [19] and to note their sleep period in a personal diary.

Echocardiography

Measurements of the dimensions of the left ventricle (LV) were performed using the American Society of Echocardiography (ASE) recommendations [20] utilizing 2-dimensional targeted M-mode echocardiography. Diastolic LV (LVDD) and systolic LV (LVSD) diameters and the interventricular septal (IVS) and posterior wall (LVPW) thickness at the end of diastole were measured according to the QRS wave of electrocardiography. LV mass was calculated by the ASE recommended formula [21]. Left ventricular mass index (LVMI) was calculated by dividing LV mass by the body surface. Echocardiography measurements were evaluated by two blinded independent investigators using Cardio-Vascular Ultrasound Machine (Siemens Acuson CV70, Munich, Bavaria, Germany) with transducer setorial multifrequencial (2-4MHz). The intra-observer and inter-observer coefficients of variation of the LVDD, LVSD, IVS and LVPW thickness were less than 5.5% and 9.5% for LVMI.

Endothelial function

Brachial artery dilation was measured by linear vascular transducer (7–12 MHz, Toshiba Powervision 6000, Tokyo, Japan) coupled to computer-assisted analysis software and automated brachial analyzer software device (Brachial Analyzer, Medical Imaging Applications, Coralville, IA, USA). The brachial artery responses to endothelial-dependent (flow-mediated dilation, FMD) and independent (glyceryl-trinitrate mediated) stimuli were determined using a modification of the technique described by Celermajer *et al.* [22] and in accordance with current guidelines [23]. All studies were initiated at 08:00 hours after overnight fasting, with the subjects in a supine position in a quiet, air-conditioned room (22–24 °C). Changes in the brachial artery diameter in both dependent and independent procedures were expressed as a percentage change relative to the vessel diameter immediately before cuff inflation and drug administration, respectively. The vascular function examination was performed by only one experienced blinded examiner and there was no significant intra-observer measurement variability.

Aortic PWV measurement

Aortic PWV was measured by the velocity method with the patients in a supine position, with a previously validated Complior SP equipment and software (Artech-Medical, Paris, France) [24]. Waveforms were obtained transcutaneously using the right common

carotid and femoral arteries simultaneously during a minimum period of 10–15 s. Time delay (t) was measured between the two waveforms, and the distance (D) covered by the waves was measured directly between the femoral recording site and the supra-sternal notch minus the distance from the supra-sternal notch to the carotid recording site. PWV was calculated as $D \text{ (m)} / t \text{ (s)}$. Three consecutive readings were obtained and the PWV is reported as the mean, whose values were corrected for mean arterial pressure.

Laboratory assessment

Baseline blood samples for measurement of plasma aldosterone concentration (PAC), plasma renin activity (PRA) and plasma APN were collected at 08:00 hours after overnight fasting. During this time, the volunteers rested in the supine position for 8 h, followed by 1 h in an upright position in an air-conditioned room (22–24 °C). PAC and total plasma APN was measured by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) (DRG International, New Jersey, USA; Quantikine® Human total adiponectin/Acrp30 Immunoassay DRP 300, R&D Systems, Inc., Minneapolis, USA, respectively) according to the manufacturer's instructions. PRA radioimmunoassay was measured by a private laboratory (Mayo Clinic Laboratories, Rochester, Minnesota, USA) using standard techniques.

Statistical analysis

Data were expressed as mean and standard error of the mean (SEM). Normality of distribution was assessed by the Kolmogorov–Smirnov test. Significant differences between the study groups were determined using the Student independent samples t-test and categorical variables were assessed by Fisher's test while correlation analyses were expressed by Pearson's correlation coefficient. Multiple regressions analysis was used to predict PWV from age, aldosterone and APN, and to predict FMD from aldosterone and APN plasma levels, aiming to identify the relative influence of these variables on PWV and FMD. The level of statistical significance accepted was less than 0.05.

RESULTS

Table 1 lists the general characteristics of the study groups. No statistical differences were observed between the UCRHTN and CRHTN subgroups with respect to age, gender and BMI. In brief, the mean ages were 57 ± 1.6 and 59 ± 1.5 years in UCRHTN (26 F/ 18 M) and CRHTN (35 F/ 17 M) groups, respectively, and all patients were overweight. As expected, higher office and ABPM SBP and DBP were found in UCRHTN individuals as well as calculated pulse pressures. Although both subgroups had LV hypertrophy, LVMI was higher in UCRHTN compared to CRHTN patients. Also, the

UCRHTN subgroup showed higher aortic PWV measurements and more severe impairment in the FMD test response compared with the CRHTN subjects. The NTG responses in the UCRHTN and CRHTN subgroups were similar.

Biochemical test results did not show differences between UCRHTN and CRHTN subgroups, except for PAC, ARR and APN (Table 2). PAC and ARR were found higher and APN was lower in UCRHTN compared to CRHTN patients.

As expected, it has been observed that the UCRHTN subjects were taking more classes of antihypertensive drugs than the CRHTN subgroup (4.95 ± 0.1 vs. 4.55 ± 0.1 , $p=0.01$) and also its distribution was distinct in both subgroups (Table 3).

Correlation analysis indicated that aldosterone and PWV were inversely associated with plasma APN levels ($r = -0.38$, $p=0.01$; $r = -0.36$, $p=0.02$, respectively) (Figure 1) as well as brachial (Figure 2.B) and ABPM pulse pressures ($r = -0.45$, $p=0.002$; $r = -0.33$, $p=0.03$, respectively) only in UCRHTN subjects. Also, office (Figure 2.A) and ABPM systolic blood pressures inversely correlated with plasma APN levels ($r = -0.33$, $p=0.03$; $r = -0.42$, $p=0.01$, respectively) in UCRHTN patients. However, office (Figure 2.C) and ABPM diastolic blood pressures, LVMI, FMD (Figure 3.B) and ARR did not associate with plasma APN in the same group. Although this study was not designed to test

this hypothesis, aldosterone levels directly correlated with PWV ($r = 0.43$; $p=0.003$) in uncontrolled patients but not in the controlled ones. Multivariate linear regression analysis showed that PWV was only significantly influenced by APN levels in UCRHTN patients (Table 4). By the other hand, APN and aldosterone did not influence the FMD test in this subgroup. Finally, plasma APN levels did not correlate with any parameters in CRHTN subjects as above-mentioned in UCRHTN subgroup.

DISCUSSION

As far as we know, this study is novel in showing plasma APN levels in RHTN patients. Lower plasma APN levels, higher PAC and ARR, increased vascular stiffness, greater LV hypertrophy and impairment of endothelial function are identified as distinguishing characteristics of patients with uncontrolled versus controlled RHTN. APN was inversely associated with PWV, PAC, office and ABPM pulse and systolic blood pressures in UCRHTN subgroup, but not in CRHTN. Finally, PWV was only dependent on APN in patients with UCRHTN while FMD was not dependent to any variable. These findings suggest several important differences in pathophysiology that may underlie the development of RHTN with respect to subgroups.

There has been expanding interest in increased levels of aldosterone as it related to

pathogenesis of RHTN in obese individuals and mediate several maladaptive changes [7]. The elevated PAC and blood pressure fall when patients successfully lose weight [25] and its increase in obese subjects appear to be independent of plasma renin activity [26]. Finally, there is emerging evidence that adipose tissue produces a lipid-soluble factor that stimulates aldosterone secretion [7, 27] and aldosterone acts through the aldosterone target mineralocorticoid receptors (MRs) to promote adipogenesis [27] with consequent reduction of APN [28].

In the current study, UCRHTN subgroup presented a higher PAC and ARR, increased vascular stiffness, greater LV hypertrophy and impairment of endothelial function compared with CRHTN subgroup. Taken together, these results support previous studies using RHTN subgroups [2-3]. Poorly controlled hypertension undoubtedly leads to progressive vascular and heart damage [3].

Previous studies have suggested that hypoadiponectinemia is involved in hypertension in humans [10-11, 29]. Hypoadiponectinemia can cause hypertension via multiple mechanisms such as insulin resistance, sympathetic activation, increased circulating fatty acid levels, impaired endothelium-dependent vasodilation and vascular inflammation [11]. In turn, we showed that APN was inversely associated with office SBP and pulse pressures in UCRHTN patients, but did not with office

diastolic. Even so, APN was inversely associated with the same components of OBP in respect to ABPM pressures. SBP rises more than DBP with onset of middle age, resulting in elevation of PP [30]. SBP and PP are highly correlated because both BP components rise with increases in vascular resistance and large-artery stiffness. So, cardiovascular risk can be more related to the pulsatile stress caused by large-artery stiffness during systole than to the steady-state stress due to the small-vessel resistance during diastole [31-32]. However, some other studies did not show correlation between APN and systolic and diastolic (office and ABPM) BP levels in patients with hypertension [33-34].

We found that APN was not associated with vascular function (Figure 3) and left ventricular mass index. Previous studies reported that hypoadiponectinemia was associated with impaired endothelium-dependent vasorelaxation [35-36]. Also, APN was inversely correlated with LVMI in cross-sectional study [37] and lack of APN in aldosterone-induced cardiac remodeling exacerbated systolic blood pressure and LV hypertrophy [38]. We hypothesized that plasma APN may be associated with endothelial dysfunction and LV hypertrophy in the early stages of hypertension. Endothelial dysfunction is characterized by loss of endothelium-dependent vasodilatation [39] and should be considered restricted to an early phase in the pathogenesis of

cardiovascular disease. Moreover, several studies have established an effect of endothelial dysfunction on arterial stiffening, so reduced bioavailability of NO impairs vascular smooth muscle relaxation and thus causes progressive stiffening of the arteries [40]. Measurement of the APN might be helpful as a marker of endothelial dysfunction and it useful to assess the early stages of atherosclerosis [35]. By the other hand, the correlation between endothelial function and arterial rigidity might be reduced in the advanced stages of hypertension, as observed in the RHTN group [41] (Figure 4). It may explain the scanty correlation between APN and brachial FMD in both UCRHTN and CRHTN subgroups.

Our results showed a significant and moderate inverse relationship between PWV and APN levels in UCRHTN subjects. Recent studies confirm that APN was inversely associated with arterial stiffness in hypertensive patients [42-44]. The association may be explained by some possible mechanisms. APN may stimulate the activity of endothelial nitric oxide synthase [45] and also is associated with reduced vascular smooth muscle cell proliferation [46]. APN inhibits almost every pathological conditions involved in vascular disease, and exerts its multiple pleiotropic effects through its direct actions on several vascular cells types [47].

APN was not associated with ARR, but with aldosterone, which in turn positively

associated with arterial stiffness. The ARR have validated as a screen for primary aldosteronism [48] and the ratio itself may be influenced by plasma renin activity, and not just elevated plasma aldosterone [49]. Li et al. [50] demonstrated that aldosterone decreases APN expression in adipocyte cells and this effect may be one of the main causes that link aldosterone to metabolic and cardiovascular disorders. High aldosterone results in the dysregulation of proinflammatory cytokines and APN mRNA levels in adipocyte cells [28]. In respect to arterial stiffness, aldosterone promotes collagen deposition enhancing vascular remodeling at the expense of arterial elasticity [51].

The weight loss is a possible way to increase plasma APN: significant reductions of the body weight such as by important changes in the lifestyle (almost 14% reduction of BMI value) [52] resulted able to modify the circulating levels of APN. Another study suggests that a weight loss greater than 18.4% is required for significant improvements in plasma APN levels [53].

APN and its receptors may be considered as targets of potential therapeutic agents for RHTN and related diseases. The direct administration may be difficult in the clinical practice, thus the up-regulation of APN can be achieved by pharmacological treatment and by weight loss [54].

In front of our results, some pharmacological aspects must be taken in

account. The beneficial effects of RAAS inhibition may be better explained by the blockade of the pathologic phenomena such as increased oxidative stress and vasoconstriction, promotion of a proinflammatory and proliferative environment [55]. By the other hand, angiotensin-converting enzyme (ACE) and angiotensin receptor blockers (ARBs) can augment circulating APN levels probably by increasing this adipokine secretion [56]. More importantly, the MR blockade has been shown to reverse obesity-related increases in the proinflammatory adipokines and improve expression of APN. The effects on APN and this adipokine gene expression may represent a novel mechanism for the cardioprotective effects of MR blockade [28]. Moreover, aldosterone synthetase inhibitors may be a potential new therapeutic agents in managing metabolic disorders [50]. In our study, both groups had similar proportions of MR blockade minimizing its bias regarding the significant difference of adiponectinemia.

Agonists of the thiazolidinedione class of peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR- γ) [57] as well as statins, such as pravastatin [58], are also effective means to increase APN levels and APN mRNA expression of adipose tissue.

It can be expect that management of RHTN includes non pharmacologic approach aimed at reducing the amount of adipose tissue through rigorous lifestyle changes and

early administering intensive pharmacological therapies mainly targeting the RAAS and MRs. Also, optimizes the therapy as to RHTN-related disorders, such as diabetes and dyslipidemia.

The main limitation of this study is the small number of UCRHTN and CRHTN patients enrolled. This study did not evaluate plasma APN multimeric species existing in the circulation [59] and further research is needed to verify whether any specific multimeric species is more associated with variables assessed in this study. The 24-hour urinary aldosterone excretion rate test was not evaluated since this assay could help to assess patients with changes in aldosterone physiology. As previously reported [60], APN levels are higher in women than men (data not shown); for this reason, in this study, both UCRHTN and CRHTN groups were carefully gender-matched to avoid this bias.

In summary, we demonstrated that PP, PAC and PWV were inversely associated with APN plasma levels only in the UCRHTN patients. Beyond the involvement of higher levels of BP and PAC, lower APN levels and increased arterial rigidity can contribute to the uncontrolled group being more resistant to antihypertensive treatment and exposed to increased cardiovascular risk. These outcomes suggest important considerations in terms of preventing and better treating RHTN, specifically with an intensive approach to the lifestyle changes. The findings of the current

study need to be confirmed in prospective clinical assessments with larger RHTN population.

REFERENCES

1. Calhoun DA, Jones D, Textor S, Goff DC, Murphy TP, Toto RD, et al. Resistant hypertension: diagnosis, evaluation, and treatment. A scientific statement from the American Heart Association Professional Education Committee of the Council for High Blood Pressure Research. *Hypertension* 2008, 51(6):1403-1419.
2. Quinaglia T, Martins LC, Figueiredo VN, Santos RC, Yugar-Toledo JC, Martin JF, et al. Non-dipping pattern relates to endothelial dysfunction in patients with uncontrolled resistant hypertension. *J Hum Hypertens* 2011, 25(11):656-664.
3. Martins LC, Figueiredo VN, Quinaglia T, Boer-Martins L, Yugar-Toledo JC, Martin JF, et al. Characteristics of resistant hypertension: ageing, body mass index, hyperaldosteronism, cardiac hypertrophy and vascular stiffness. *J Hum Hypertens* 2011, 25(9):532-538.
4. Yugar-Toledo JC, Tanus-Santos JE, Sabha M, Sousa MG, Cittadino M, Tacito LH, Moreno H, Jr. Uncontrolled hypertension, uncompensated type II diabetes, and smoking have different patterns of vascular dysfunction. *Chest* 2004, 125(3):823-830.
5. Pabuccu T, Baris N, Ozpelit E, Akdeniz B, Guneri S. The Relationship between Resistant Hypertension and Arterial Stiffness. *Clin Exp Hypertens* 2011.
6. Kotchen TA, Grim CE, Kotchen JM, Krishnaswami S, Yang H, Hoffmann RG, McGinley EL. Altered relationship of blood pressure to adiposity in hypertension. *Am J Hypertens* 2008, 21(3):284-289.
7. Sowers JR, Whaley-Connell A, Epstein M. Narrative review: the emerging clinical implications of the role of aldosterone in the metabolic syndrome and resistant hypertension. *Ann Intern Med* 2009, 150(11):776-783.
8. Frayn KN, Karpe F, Fielding BA, Macdonald IA, Coppack SW. Integrative physiology of human adipose tissue. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003, 27(8):875-888.

9. Antoniadou C, Antonopoulos AS, Tousoulis D, Stefanadis C. Adiponectin: from obesity to cardiovascular disease. *Obes Rev* 2009, 10(3):269-279.
10. Iwashima Y, Katsuya T, Ishikawa K, Ouchi N, Ohishi M, Sugimoto K, et al. Hypoadiponectinemia is an independent risk factor for hypertension. *Hypertension* 2004, 43(6):1318-1323.
11. Chow WS, Cheung BM, Tso AW, Xu A, Wat NM, Fong CH, et al. Hypoadiponectinemia as a predictor for the development of hypertension: a 5-year prospective study. *Hypertension* 2007, 49(6):1455-1461.
12. Matsui D, Hermann C, Klein J, Berkovitch M, Olivieri N, Koren G. Critical comparison of novel and existing methods of compliance assessment during a clinical trial of an oral iron chelator. *J Clin Pharmacol* 1994, 34(9):944-949.
13. Morisky DE, Green LW, Levine DM. Concurrent and predictive validity of a self-reported measure of medication adherence. *Med Care* 1986, 24(1):67-74.
14. de Souza WA, Sabha M, de Faveri Favero F, Bergsten-Mendes G, Yugar-Toledo JC, Moreno H. Intensive monitoring of adherence to treatment helps to identify "true" resistant hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2009, 11(4):183-191.
15. Drager LF, Genta PR, Pedrosa RP, Nerbas FB, Gonzaga CC, Krieger EM, Lorenzi-Filho G. Characteristics and predictors of obstructive sleep apnea in patients with systemic hypertension. *Am J Cardiol* 2010, 105(8):1135-1139.
16. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, Jr., et al. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA* 2003, 289(19):2560-2572.
17. Mansia G, De Backer G, Dominiczak A, Cifkova R, Fagard R, Germano G, et al. 2007 ESH-ESC Guidelines for the management of arterial hypertension: the task force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Blood Press* 2007, 16(3):135-232.
18. Groppelli A, Omboni S, Parati G, Mancia G. Evaluation of noninvasive blood pressure monitoring devices Spacelabs 90202 and 90207 versus resting and ambulatory 24-hour intra-arterial blood pressure. *Hypertension* 1992, 20(2):227-232.
19. Zakopoulos NA, Nanas SN, Lekakis JP, Vemmos KN, Kotsis VT, Pitiriga VC, et al. Reproducibility of ambulatory blood pressure measurements in essential hypertension. *Blood Press Monit* 2001, 6(1):41-45.
20. Sahn DJ, DeMaria A, Kisslo J, Weyman A. Recommendations regarding quantitation in M-mode echocardiography: results of a survey of echocardiographic measurements. *Circulation* 1978, 58(6):1072-1083.
21. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, et al. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr* 2005, 18(12):1440-1463.
22. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992, 340(8828):1111-1115.
23. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, et al. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol* 2002, 39(2):257-265.
24. Asmar R, Benetos A, Topouchian J, Laurent P, Pannier B, Brisac AM, et al. Assessment of arterial distensibility by automatic pulse wave velocity measurement. Validation and clinical application studies. *Hypertension* 1995, 26(3):485-490.
25. Tuck ML, Sowers J, Dornfeld L, Kledzik G, Maxwell M. The effect of weight reduction on blood pressure, plasma renin activity, and plasma aldosterone levels in obese patients. *N Engl J Med* 1981, 304(16):930-933.
26. Goodfriend TL, Egan BM, Kelley DE. Aldosterone in obesity. *Endocr Res* 1998, 24(3-4):789-796.
27. Caprio M, Fève B, Claes A, Viengchareun S, Lombes M, Zennaro MC. Pivotal role of the

- mineralocorticoid receptor in corticosteroid-induced adipogenesis. *FASEB J* 2007, 21(9):2185-2194.
28. Guo C, Ricchiuti V, Lian BQ, Yao TM, Coutinho P, Romero JR, et al. Mineralocorticoid receptor blockade reverses obesity-related changes in expression of adiponectin, peroxisome proliferator-activated receptor-gamma, and proinflammatory adipokines. *Circulation* 2008, 117(17):2253-2261.
29. Adamczak M, Wiecek A, Funahashi T, Chudek J, Kokot F, Matsuzawa Y. Decreased plasma adiponectin concentration in patients with essential hypertension. *Am J Hypertens* 2003, 16(1):72-75.
30. Franklin SS, Gustin Wt, Wong ND, Larson MG, Weber MA, Kannel WB, Levy D. Hemodynamic patterns of age-related changes in blood pressure. The Framingham Heart Study. *Circulation* 1997, 96(1):308-315.
31. Christensen KL. Reducing pulse pressure in hypertension may normalize small artery structure. *Hypertension* 1991, 18(6):722-727.
32. Elzinga G, Westerhof N. Pressure and flow generated by the left ventricle against different impedances. *Circ Res* 1973, 32(2):178-186.
33. Mallamaci F, Zoccali C, Cuzzola F, Tripepi G, Cutrupi S, Parlongo S, et al. Adiponectin in essential hypertension. *J Nephrol* 2002, 15(5):507-511.
34. Della Mea P, Lupia M, Bandolin V, Guzzon S, Sonino N, Vettor R, Fallo F. Adiponectin, insulin resistance, and left ventricular structure in dipper and nondipper essential hypertensive patients. *Am J Hypertens* 2005, 18(1):30-35.
35. Ouchi N, Ohishi M, Kihara S, Funahashi T, Nakamura T, Nagaretani H, et al. Association of hypoadiponectinemia with impaired vasoreactivity. *Hypertension* 2003, 42(3):231-234.
36. Tan KC, Xu A, Chow WS, Lam MC, Ai VH, Tam SC, Lam KS. Hypoadiponectinemia is associated with impaired endothelium-dependent vasodilation. *J Clin Endocrinol Metab* 2004, 89(2):765-769.
37. Hong SJ, Park CG, Seo HS, Oh DJ, Ro YM. Associations among plasma adiponectin, hypertension, left ventricular diastolic function and left ventricular mass index. *Blood Press* 2004, 13(4):236-242.
38. Sam F, Duhaney TA, Sato K, Wilson RM, Ohashi K, Sono-Romanelli S, et al. Adiponectin deficiency, diastolic dysfunction, and diastolic heart failure. *Endocrinology* 2010, 151(1):322-331.
39. De Caterina R. Endothelial dysfunctions: common denominators in vascular disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2000, 3(6):453-467.
40. Wilkinson IB, MacCallum H, Cockcroft JR, Webb DJ. Inhibition of basal nitric oxide synthesis increases aortic augmentation index and pulse wave velocity in vivo. *Br J Clin Pharmacol* 2002, 53(2):189-192.
41. Figueiredo VN, Yugar-Toledo JC, Martins LC, Martins LB, de Faria AP, de Haro Moraes C, et al. Vascular stiffness and endothelial dysfunction: Correlations at different levels of blood pressure. *Blood Press* 2012, 21(1):31-38.
42. Youn JC, Kim C, Park S, Lee SH, Kang SM, Choi D, et al. Adiponectin and progression of arterial stiffness in hypertensive patients. *Int J Cardiol* 2011.
43. Mahmud A, Feely J. Adiponectin and arterial stiffness. *Am J Hypertens* 2005, 18(12 Pt 1):1543-1548.
44. Tsioufis C, Dimitriadis K, Selima M, Thomopoulos C, Mihos C, Skiadas I, et al. Low-grade inflammation and hypoadiponectinaemia have an additive detrimental effect on aortic stiffness in essential hypertensive patients. *Eur Heart J* 2007, 28(9):1162-1169.
45. Chen H, Montagnani M, Funahashi T, Shimomura I, Quon MJ. Adiponectin stimulates production of nitric oxide in vascular endothelial cells. *J Biol Chem* 2003, 278(45):45021-45026.
46. Matsuda M, Shimomura I, Sata M, Arita Y, Nishida M, Maeda N, et al. Role of adiponectin in preventing vascular stenosis. The missing link of adipo-vascular axis. *J Biol Chem* 2002, 277(40):37487-37491.
47. Zhu W, Cheng KK, Vanhoutte PM, Lam KS, Xu A. Vascular effects of adiponectin: molecular mechanisms and potential therapeutic intervention. *Clin Sci (Lond)* 2008, 114(5):361-374.
48. Calhoun DA, Nishizaka MK, Zaman MA, Thakkar RB, Weissmann P. Hyperaldosteronism among black and white subjects with resistant hypertension. *Hypertension* 2002, 40(6):892-896.
49. Park S, Kim JB, Shim CY, Ko YG, Choi D, Jang Y, Chung N. The influence of serum aldosterone and the aldosterone-renin ratio on

- pulse wave velocity in hypertensive patients. *J Hypertens* 2007, 25(6):1279-1283.
50. Li P, Zhang XN, Pan CM, Sun F, Zhu DL, Song HD, Chen MD. Aldosterone perturbs adiponectin and PAI-1 expression and secretion in 3T3-L1 adipocytes. *Horm Metab Res* 2011, 43(7):464-469.
51. Brilla CG, Matsubara LS, Weber KT. Antifibrotic effects of spironolactone in preventing myocardial fibrosis in systemic arterial hypertension. *Am J Cardiol* 1993, 71(3):12A-16A.
52. Esposito K, Pontillo A, Di Palo C, Giugliano G, Masella M, Marfella R, Giugliano D. Effect of weight loss and lifestyle changes on vascular inflammatory markers in obese women: a randomized trial. *JAMA* 2003, 289(14):1799-1804.
53. Rolland C, Hession M, Broom I. Effect of weight loss on adipokine levels in obese patients. *Diabetes Metab Syndr Obes* 2011, 4:315-323.
54. Oh DK, Ciaraldi T, Henry RR. Adiponectin in health and disease. *Diabetes Obes Metab* 2007, 9(3):282-289.
55. Chaudhary K, Buddineni JP, Nistala R, Whaley-Connell A. Resistant hypertension in the high-risk metabolic patient. *Curr Diab Rep* 2011, 11(1):41-46.
56. Yamada S, Ano N, Toda K, Kitaoka A, Shiono K, Inoue G, et al. Telmisartan but not candesartan affects adiponectin expression in vivo and in vitro. *Hypertens Res* 2008, 31(4):601-606.
57. Combs TP, Wagner JA, Berger J, Doebber T, Wang WJ, Zhang BB, et al. Induction of adipocyte complement-related protein of 30 kilodaltons by PPARgamma agonists: a potential mechanism of insulin sensitization. *Endocrinology* 2002, 143(3):998-1007.
58. Araki K, Masaki T, Katsuragi I, Kakuma T, Yoshimatsu H. Effects of pravastatin on obesity, diabetes, and adiponectin in diet-induced obese mice. *Obesity (Silver Spring)* 2008, 16(9):2068-2073.
59. Pajvani UB, Du X, Combs TP, Berg AH, Rajala MW, Schulthess T, et al. Structure-function studies of the adipocyte-secreted hormone Acrp30/adiponectin. Implications for metabolic regulation and bioactivity. *J Biol Chem* 2003, 278(11):9073-9085.
60. Fasshauer M, Klein J, Neumann S, Eszlinger M, Paschke R. Hormonal regulation of adiponectin gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2002, 290(3):1084-1089.

Table 1. General characteristics of the study groups

	UCRHTN (n=44)	CRHTN (n=52)	p-value
Gender (F/M)	26/18	35/17	0.52
Age (years)	57 ± 1.6	59 ± 1.5	0.20
BMI (kg/m ²)	27.9 ± 0.2	28.2 ± 0.1	0.40
Office SBP (mmHg)	159.1 ± 2.7	130.4 ± 1.1	<0.0001
Office DBP (mmHg)	97.5 ± 1.1	78.7 ± 0.9	<0.0001
Office PP (mmHg)	64.2 ± 1.6	55.9 ± 0.7	<0.0001
ABPM SBP (mmHg)	140.3 ± 1.5	117.9 ± 1.3	<0.0001
ABPM DBP mmHg)	86.9 ± 0.9	69.7 ± 0.9	<0.0001
ABPM PP (mmHg)	53.3 ± 1.1	48.1 ± 1.0	<0.001
LVMI (g/m ²)	142.2 ± 6.0	122.9 ± 4.3	0.02
FMD (%)	6.6 ± 0.3	7.5 ± 0.3	<0.01
NTG (%)	22.5 ± 1.0	23.5 ± 1.3	0.61
PWV (m/s)	12.0 ± 0.3	9.2 ± 0.2	<0.0001

The values are expressed as means ± standard error of the mean. UCRHTN: uncontrolled resistant hypertension group; CRHTN: controlled resistant hypertension group; F: female; M: male; BMI: body mass index; SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure; PP: pulse pressure; ABPM: ambulatory blood pressure monitoring measurements; LVMI; left ventricular mass index; FMD; flow-mediated dilation; NTG: nitroglycerin; PWV: pulse wave velocity.

Table 2. Biochemical parameters of the RHTN subgroups

	UCRHTN	CRHTN	p-value
	(n=44)	(n=52)	
Glucose (mg.dL ⁻¹)	99.7 ± 1.4	98.8 ± 1.5	0.88
Cholesterol (mg.dL ⁻¹)	193.3 ± 4.6	189.2 ± 4.3	0.35
HDL-c (mg.dL ⁻¹)	47.1 ± 0.9	47.8 ± 1.1	0.72
LDL-c (mg.dL ⁻¹)	117.8 ± 3.5	113.3 ± 3.7	0.33
Triglycerides (mg.dL ⁻¹)	144.2 ± 10.9	139.8 ± 6.8	0.29
Creatinine (mg.dL ⁻¹)	0.97 ± 0.03	0.94 ± 0.03	0.38
Creatinine clearance (ml per min per 1.73m ²)	98.6 ± 1.8	100.1 ± 1.7	0.21
Urea (mg.dL ⁻¹)	36.2 ± 1.5	37.8 ± 1.3	0.39
Microalbuminuria (mg.g ⁻¹)	43.4 ± 9.8	30.8 ± 7.9	0.14
Sodium (mEq.L ⁻¹)	141.0 ± 0.3	140.8 ± 0.3	0.76
Potassium (mEq.L ⁻¹)	4.2 ± 0.06	4.3 ± 0.05	0.17
PRA (ng.mL ⁻¹ per h)	3.7 ± 0.3	4.3 ± 0.3	0.19
PAC (ng.dL ⁻¹)	12.6 ± 1.4	8.9 ± 0.8	0.02
ARR (ng.dL ⁻¹ per ng.mL ⁻¹ per h)	4.8 ± 1.2	2.7 ± 0.3	0.04
APN (µg.mL ⁻¹)	6.9 ± 0.7	9.5 ± 0.8	0.01

The values are expressed as means ± standard error of the mean. UCRHTN: uncontrolled resistant hypertension group; CRHTN: controlled resistant hypertension group; LDL and HDL: low- and high-density lipoproteins, respectively; PRA: plasma renin activity; PAC: plasma aldosterone concentration; AR: aldosterone–renin ratio; APN: plasma adiponectin concentration.

Table 3. Anti-hypertensive (anti-HTN) drug distribution

	UCRHTN (n=44)	CRHTN (n=52)	p-value
Total anti-HTN drugs	4.95 ± 0.1	4.55 ± 0.1	0.01
Diuretics	100% (44)	100% (52)	-
Spironolactone	31.8% (14)	23.1% (12)	0.37
β-blockers	52.3% (23)	46.2% (24)	0.68
ACE inhibitors	27.3% (12)	32.7% (17)	0.65
Angiotensin receptor blocker	77.3% (34)	34.6 % (18)	<0.0001
Calcium channel blocker	65.9% (29)	28.8% (15)	0.0004
Centrally acting anti-hypertensive drug	11.4% (5)	3.8% (2)	0.24

UCRHTN: uncontrolled resistant hypertension; CRHTN: controlled resistant hypertension.

Table 4. Multivariate linear regression analyses of PWV with age, aldosterone and adiponectin in the UCRHTN group

	β	SE	p-value
APN (μg/mL)	- 0.16	0.05	0.01
PAC (ng/dL)	0.01	0.03	0.57
Age (years)	- 0.02	0.02	0.45

$R^2 = 0.20$; Adjusted $R^2 = 0.14$; β: beta coefficient; SE: standard error; APN: plasma adiponectin; PAC: plasma aldosterone concentration.

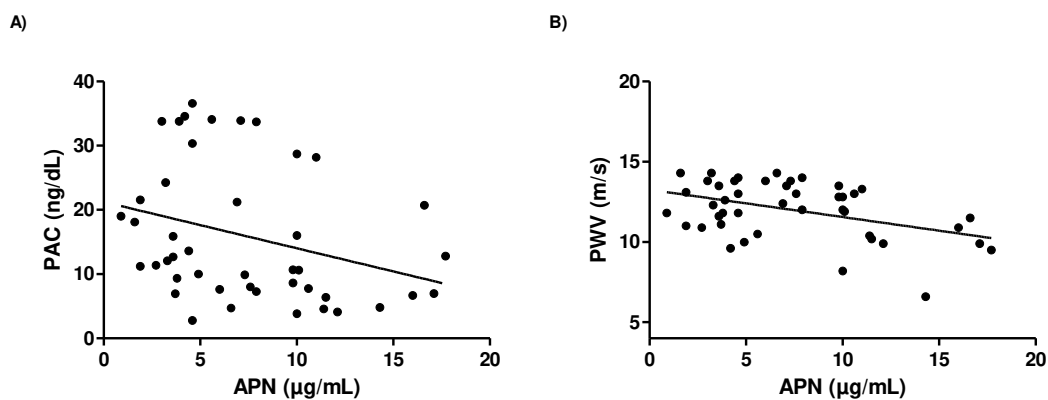


Figure 1. Correlations between plasma adiponectin and PAC ($r = -0.38$; $p = 0.01$; Fig. 1.A) and plasma adiponectin and PWV in UCRHTN patients ($r = -0.36$; $p = 0.02$; Fig. 1.B).

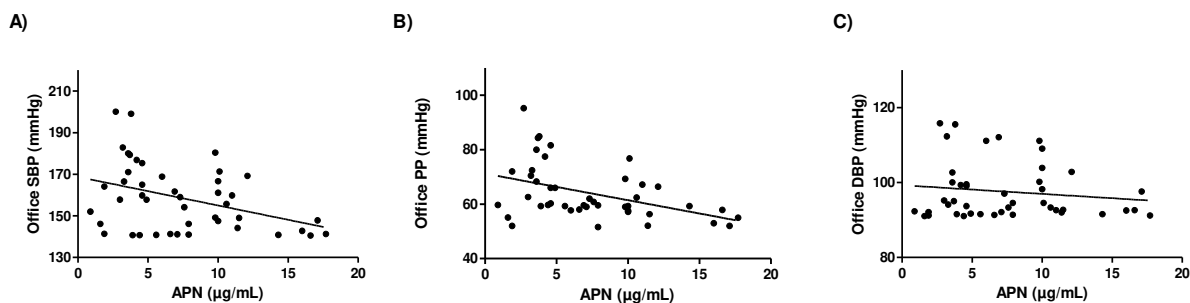


Figure 2. Correlations between plasma adiponectin and office SBP ($r = -0.33$; $p = 0.03$; Fig. 2.A), plasma adiponectin and office PP ($r = -0.45$; $p = 0.002$; Fig. 2.B) and plasma adiponectin and office DBP ($r = -0.05$; $p = 0.73$; Fig. 2.C) in UCRHTN patients.

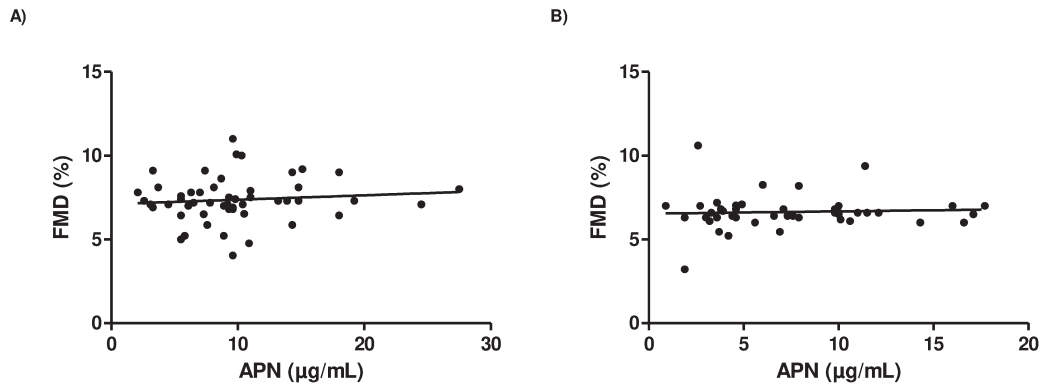


Figure 3. Correlations between plasma adiponectin and FMD in CRHTN patients ($r= 0.10$; $p=0.46$; Fig. 3.A) and plasma adiponectin and FMD ($r= 0.06$; $p=0.72$; Fig. 3.B) in UCRHTN patients.

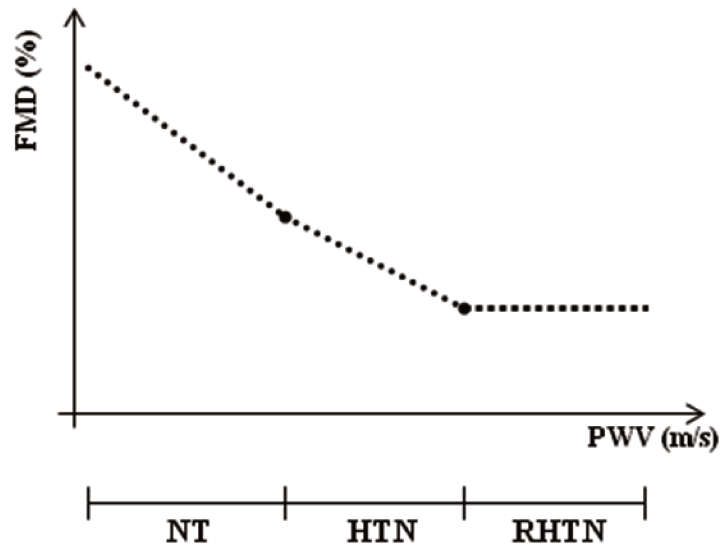


Figure 4. The progression from early to severe stages of hypertension and difficult to control high blood pressure levels is characterized by crescent arterial rigidity and impaired endothelial function. Therefore, correlation between endothelial dysfunction and arterial rigidity might be reduced or even absent in the advanced stages of hypertension.

REFERÊNCIAS

1. Alderman MH, Budner N, Cohen H, Lamport B, Ooi WL. Prevalence of drug resistant hypertension. *Hypertension*. 1988; 11(3 Pt 2): II71-5.
2. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, Jr., et al. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA*. 2003; 289(19): 2560-72.
3. Calhoun DA, Jones D, Textor S, Goff DC, Murphy TP, Toto RD, et al. Resistant hypertension: diagnosis, evaluation, and treatment. A scientific statement from the American Heart Association Professional Education Committee of the Council for High Blood Pressure Research. *Hypertension*. 2008; 51(6): 1403-19.
4. Brown MA, Buddle ML, Martin A. Is resistant hypertension really resistant? *Am J Hypertens*. 2001; 14(12): 1263-9.
5. Muxfeldt ES, Bloch KV, Nogueira AR, Salles GF. Twenty-four hour ambulatory blood pressure monitoring pattern of resistant hypertension. *Blood Press Monit*. 2003; 8(5): 181-5.
6. Wang ZV, Scherer PE. Adiponectin, cardiovascular function, and hypertension. *Hypertension*. 2008; 51(1): 8-14.
7. Kurukulasuriya LR, Stas S, Lastra G, Manrique C, Sowers JR. Hypertension in obesity. *Med Clin North Am*. 2011; 95(5): 903-17.
8. Sutton-Tyrrell K, Newman A, Simonsick EM, Havlik R, Pahor M, Lakatta E, et al. Aortic stiffness is associated with visceral adiposity in older adults enrolled in the study of health, aging, and body composition. *Hypertension*. 2001; 38(3): 429-33.
9. Massiera F, Bloch-Faure M, Ceiler D, Murakami K, Fukamizu A, Gasc JM, et al. Adipose angiotensinogen is involved in adipose tissue growth and blood pressure regulation. *FASEB J*. 2001; 15(14): 2727-9.
10. Cooper R, McFarlane-Anderson N, Bennett FI, Wilks R, Puras A, Tewksbury D, et al. ACE, angiotensinogen and obesity: a potential pathway leading to hypertension. *J Hum Hypertens*. 1997; 11(2): 107-11.
11. Chaudhary K, Buddineni JP, Nistala R, Whaley-Connell A. Resistant hypertension in the high-risk metabolic patient. *Curr Diab Rep*. 2011; 11(1): 41-6.
12. Whaley-Connell A, Johnson MS, Sowers JR. Aldosterone: role in the cardiometabolic syndrome and resistant hypertension. *Prog Cardiovasc Dis*. 2010; 52(5): 401-9.
13. Caprio M, Fève B, Claes A, Viengchareun S, Lombes M, Zennaro MC. Pivotal role of the mineralocorticoid receptor in corticosteroid-induced adipogenesis. *FASEB J*. 2007; 21(9): 2185-94.
14. Guo C, Ricchiuti V, Lian BQ, Yao TM, Coutinho P, Romero JR, et al. Mineralocorticoid receptor blockade reverses obesity-related changes in expression of adiponectin, peroxisome proliferator-activated receptor-gamma, and proinflammatory adipokines. *Circulation*. 2008; 117(17): 2253-61.
15. Kadowaki T, Yamauchi T. Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocr Rev*. 2005; 26(3): 439-51.
16. Cnop M, Havel PJ, Utzschneider KM, Carr DB, Sinha MK, Boyko EJ, et al. Relationship of adiponectin to body fat distribution, insulin sensitivity and plasma lipoproteins: evidence for independent roles of age and sex. *Diabetologia*. 2003; 46(4): 459-69.
17. Fasshauer M, Kralisch S, Klier M, Lossner U, Bluher M, Klein J, et al. Adiponectin gene expression and secretion is inhibited by interleukin-6 in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003; 301(4): 1045-50.

18. Adamczak M, Wiecek A, Funahashi T, Chudek J, Kokot F, Matsuzawa Y. Decreased plasma adiponectin concentration in patients with essential hypertension. *Am J Hypertens*. 2003; 16(1): 72-5.
19. Francischetti EA, Celoria BM, Duarte SF, da Silva EG, Santos IJ, Cabello PH, et al. Hypoadiponectinemia is associated with blood pressure increase in obese insulin-resistant individuals. *Metabolism*. 2007; 56(11): 1464-9.
20. Iwashima Y, Katsuya T, Ishikawa K, Ouchi N, Ohishi M, Sugimoto K, et al. Hypoadiponectinemia is an independent risk factor for hypertension. *Hypertension*. 2004; 43(6): 1318-23.
21. Chow WS, Cheung BM, Tso AW, Xu A, Wat NM, Fong CH, et al. Hypoadiponectinemia as a predictor for the development of hypertension: a 5-year prospective study. *Hypertension*. 2007; 49(6): 1455-61.
22. Ouchi N, Ohishi M, Kihara S, Funahashi T, Nakamura T, Nagaretani H, et al. Association of hypoadiponectinemia with impaired vasoreactivity. *Hypertension*. 2003; 42(3): 231-4.
23. Tan KC, Xu A, Chow WS, Lam MC, Ai VH, Tam SC, et al. Hypoadiponectinemia is associated with impaired endothelium-dependent vasodilation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004; 89(2): 765-9.
24. Hong SJ, Park CG, Seo HS, Oh DJ, Ro YM. Associations among plasma adiponectin, hypertension, left ventricular diastolic function and left ventricular mass index. *Blood Press*. 2004; 13(4): 236-42.
25. Mahmud A, Feely J. Adiponectin and arterial stiffness. *Am J Hypertens*. 2005; 18(12 Pt 1): 1543-8.
26. Youn JC, Kim C, Park S, Lee SH, Kang SM, Choi D, et al. Adiponectin and progression of arterial stiffness in hypertensive patients. *Int J Cardiol*. 2011.
27. Martins LC, Figueiredo VN, Quinaglia T, Boer-Martins L, Yugar-Toledo JC, Martin JF, et al. Characteristics of resistant hypertension: ageing, body mass index, hyperaldosteronism, cardiac hypertrophy and vascular stiffness. *J Hum Hypertens*. 2011; 25(9): 532-8.
28. Quinaglia T, Martins LC, Figueiredo VN, Santos RC, Yugar-Toledo JC, Martin JF, et al. Non-dipping pattern relates to endothelial dysfunction in patients with uncontrolled resistant hypertension. *J Hum Hypertens*. 25(11): 656-64.
29. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, Jr., et al. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension*. 2003; 42(6): 1206-52.
30. de Souza WA, Yugar-Toledo JC, Bergsten-Mendes G, Sabha M, Moreno H, Jr. Effect of pharmaceutical care on blood pressure control and health-related quality of life in patients with resistant hypertension. *Am J Health Syst Pharm*. 2007; 64(18): 1955-61.
31. Lloyd-Jones DM, Evans JC, Larson MG, O'Donnell CJ, Roccella EJ, Levy D. Differential control of systolic and diastolic blood pressure : factors associated with lack of blood pressure control in the community. *Hypertension*. 2000; 36(4): 594-9.
32. Cushman WC, Ford CE, Cutler JA, Margolis KL, Davis BR, Grimm RH, et al. Success and predictors of blood pressure control in diverse North American settings: the antihypertensive and lipid-lowering treatment to prevent heart attack trial (ALLHAT). *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2002; 4(6): 393-404.
33. Kaplan NM. Resistant hypertension. *J Hypertens*. 2005; 23(8): 1441-4.
34. Tsioufis C, Kordalis A, Flessas D, Anastasopoulos I, Tsiachris D, Papademetriou V, et al. Pathophysiology of resistant hypertension: the role of sympathetic nervous system. *Int J Hypertens*. 2011; 2011: 642416.

35. Park J, Campese V. Clinical characteristics of resistant hypertension: the importance of compliance and the role of diagnostic evaluation in delineating pathogenesis. *J Clin Hypertens* (Greenwich). 2007; 9(1 Suppl 1): 7-12.
36. Ganz P. Vasomotor and vascular effects of hormone replacement therapy. *Am J Cardiol*. 2002; 90(1A): 11F-16F.
37. Luz PL, Laurindo FRM. Endotélio e doenças cardiovasculares. 2003: 17-19.
38. Mombouli JV, Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction: from physiology to therapy. *J Mol Cell Cardiol*. 1999; 31(1): 61-74.
39. Viridis A, Ghiadoni L, Versari D, Giannarelli C, Salvetti A, Taddei S. Endothelial function assessment in complicated hypertension. *Curr Pharm Des*. 2008; 14(18): 1761-70.
40. Lerman A, Zeiher AM. Endothelial function: cardiac events. *Circulation*. 2005; 111(3): 363-8.
41. Taddei S, Viridis A, Ghiadoni L, Salvetti G, Salvetti A. Endothelial dysfunction in hypertension. *J Nephrol*. 2000; 13(3): 205-10.
42. Yugar-Toledo JC, Tanus-Santos JE, Sabha M, Sousa MG, Cittadino M, Tacito LH, et al. Uncontrolled hypertension, uncompensated type II diabetes, and smoking have different patterns of vascular dysfunction. *Chest*. 2004; 125(3): 823-30.
43. Ghosh DK, Abu-Soud HM, Stuehr DJ. Reconstitution of the second step in NO synthesis using the isolated oxygenase and reductase domains of macrophage NO synthase. *Biochemistry*. 1995; 34(36): 11316-20.
44. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet*. 1992; 340(8828): 1111-5.
45. Ghiadoni L, Huang Y, Magagna A, Buralli S, Taddei S, Salvetti A. Effect of acute blood pressure reduction on endothelial function in the brachial artery of patients with essential hypertension. *J Hypertens*. 2001; 19(3 Pt 2): 547-51.
46. Stewart AD, Jiang B, Millasseau SC, Ritter JM, Chowienczyk PJ. Acute reduction of blood pressure by nitroglycerin does not normalize large artery stiffness in essential hypertension. *Hypertension*. 2006; 48(3): 404-10.
47. Safar ME, Lacolley P. Disturbance of macro- and microcirculation: relations with pulse pressure and cardiac organ damage. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007; 293(1): H1-7.
48. Ziemann SJ, Melenovsky V, Kass DA. Mechanisms, pathophysiology, and therapy of arterial stiffness. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005; 25(5): 932-43.
49. O'Rourke MF, Blazek JV, Morreels CL, Jr., Krovetz LJ. Pressure wave transmission along the human aorta. Changes with age and in arterial degenerative disease. *Circ Res*. 1968; 23(4): 567-79.
50. Aronson D. Cross-linking of glycated collagen in the pathogenesis of arterial and myocardial stiffening of aging and diabetes. *J Hypertens*. 2003; 21(1): 3-12.
51. Benetos A, Adamopoulos C, Bureau JM, Temmar M, Labat C, Bean K, et al. Determinants of accelerated progression of arterial stiffness in normotensive subjects and in treated hypertensive subjects over a 6-year period. *Circulation*. 2002; 105(10): 1202-7.
52. Sigrist M, Bungay P, Taal MW, McIntyre CW. Vascular calcification and cardiovascular function in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2006; 21(3): 707-14.
53. Asmar RG, Brunel PC, Pannier BM, Lacolley PJ, Safar ME. Arterial distensibility and ambulatory blood pressure monitoring in essential hypertension. *Am J Cardiol*. 1988; 61(13): 1066-70.

54. Asmar R, Benetos A, Topouchian J, Laurent P, Pannier B, Brisac AM, et al. Assessment of arterial distensibility by automatic pulse wave velocity measurement. Validation and clinical application studies. *Hypertension*. 1995; 26(3): 485-90.
55. Laurent S, Katsahian S, Fassot C, Tropeano AI, Gautier I, Laloux B, et al. Aortic stiffness is an independent predictor of fatal stroke in essential hypertension. *Stroke*. 2003; 34(5): 1203-6.
56. Blacher J, Guerin AP, Pannier B, Marchais SJ, Safar ME, London GM. Impact of aortic stiffness on survival in end-stage renal disease. *Circulation*. 1999; 99(18): 2434-9.
57. Laurent S, Boutouyrie P, Asmar R, Gautier I, Laloux B, Guize L, et al. Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients. *Hypertension*. 2001; 37(5): 1236-41.
58. Gibbons RJ, Abrams J, Chatterjee K, Daley J, Deedwania PC, Douglas JS, et al. ACC/AHA 2002 guideline update for the management of patients with chronic stable angina--summary article: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on the Management of Patients With Chronic Stable Angina). *Circulation*. 2003; 107(1): 149-58.
59. Levy D, Murabito JM, Anderson KM, Christiansen JC, Castelli WP. Echocardiographic left ventricular hypertrophy: clinical characteristics. The Framingham Heart Study. *Clin Exp Hypertens A*. 1992; 14(1-2): 85-97.
60. de Simone G, Devereux RB, Chinali M, Roman MJ, Lee ET, Resnick HE, et al. Metabolic syndrome and left ventricular hypertrophy in the prediction of cardiovascular events: the Strong Heart Study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2009; 19(2): 98-104.
61. Kannel WB. Coronary risk factors: an overview. 1995: 1809-92.
62. Ubaid-Girioli S, Adriana de Souza L, Yugar-Toledo JC, Martins LC, Ferreira-Melo S, Coelho OR, et al. Aldosterone excess or escape: Treating resistant hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2009; 11(5): 245-52.
63. Goldblatt H. Hypertension of Renal Origin. Historical and Experimental Background. *Am J Surg*. 1964; 107: 21-5.
64. Dzau VJ. Implications of local angiotensin production in cardiovascular physiology and pharmacology. *Am J Cardiol*. 1987; 59(2): 59A-65A.
65. Gibbons GH. The pathophysiology of hypertension: the importance of angiotensin II in cardiovascular remodeling. *Am J Hypertens*. 1998; 11(11 Pt 2): 177S-181S.
66. Ohkubo H, Kageyama R, Ujihara M, Hirose T, Inayama S, Nakanishi S. Cloning and sequence analysis of cDNA for rat angiotensinogen. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1983; 80(8): 2196-200.
67. Johnston CI. Biochemistry and pharmacology of the renin-angiotensin system. *Drugs*. 1990; 39 Suppl 1: 21-31.
68. Danser AH. Local renin-angiotensin systems: the unanswered questions. *Int J Biochem Cell Biol*. 2003; 35(6): 759-68.
69. Tom B, Garrelds IM, Scalbert E, Stegmann AP, Boomsma F, Saxena PR, et al. ACE-versus chymase-dependent angiotensin II generation in human coronary arteries: a matter of efficiency? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003; 23(2): 251-6.
70. Rohrwasser A, Morgan T, Dillon HF, Zhao L, Callaway CW, Hillas E, et al. Elements of a paracrine tubular renin-angiotensin system along the entire nephron. *Hypertension*. 1999; 34(6): 1265-74.
71. Carey RM, Wang ZQ, Siragy HM. Role of the angiotensin type 2 receptor in the regulation of blood pressure and renal function. *Hypertension*. 2000; 35(1 Pt 2): 155-63.
72. Ardaillou R. Angiotensin II receptors. *J Am Soc Nephrol*. 1999; 10 Suppl 11: S30-9.

73. Sasamura H, Hein L, Krieger JE, Pratt RE, Kobilka BK, Dzau VJ. Cloning, characterization, and expression of two angiotensin receptor (AT-1) isoforms from the mouse genome. *Biochem Biophys Res Commun.* 1992; 185(1): 253-9.
74. Santos RA, Campagnole-Santos MJ, Andrade SP. Angiotensin-(1-7): an update. *Regul Pept.* 2000; 91(1-3): 45-62.
75. Navar LG, Harrison-Bernard LM, Nishiyama A, Kobori H. Regulation of intrarenal angiotensin II in hypertension. *Hypertension.* 2002; 39(2 Pt 2): 316-22.
76. Arima S, Ito S. New insights into actions of the renin-angiotensin system in the kidney: concentrating on the Ang II receptors and the newly described Ang-(1-7) and its receptor. *Semin Nephrol.* 2001; 21(6): 535-43.
77. Taubman MB. Angiotensin II: a vasoactive hormone with ever-increasing biological roles. *Circ Res.* 2003; 92(1): 9-11.
78. Ruiz-Ortega M, Ruperez M, Lorenzo O, Esteban V, Blanco J, Mezzano S, et al. Angiotensin II regulates the synthesis of proinflammatory cytokines and chemokines in the kidney. *Kidney Int Suppl.* 2002(82): S12-22.
79. Theuer J, Dechend R, Muller DN, Park JK, Fiebeler A, Barta P, et al. Angiotensin II induced inflammation in the kidney and in the heart of double transgenic rats. *BMC Cardiovasc Disord.* 2002; 2: 3.
80. Farquharson CA, Struthers AD. Gradual reactivation over time of vascular tissue angiotensin I to angiotensin II conversion during chronic lisinopril therapy in chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2002; 39(5): 767-75.
81. Ubaid-Girioli S, Ferreira-Melo SE, Souza LA, Nogueira EA, Yugar-Toledo JC, Coca A, et al. Aldosterone escape with diuretic or angiotensin-converting enzyme inhibitor/angiotensin II receptor blocker combination therapy in patients with mild to moderate hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich).* 2007; 9(10): 770-4.
82. Vasan RS, Evans JC, Benjamin EJ, Levy D, Larson MG, Sundstrom J, et al. Relations of serum aldosterone to cardiac structure: gender-related differences in the Framingham Heart Study. *Hypertension.* 2004; 43(5): 957-62.
83. Brunner HR, Laragh JH, Baer L, Newton MA, Goodwin FT, Krakoff LR, et al. Essential hypertension: renin and aldosterone, heart attack and stroke. *N Engl J Med.* 1972; 286(9): 441-9.
84. Kathiresan S, Larson MG, Benjamin EJ, Corey D, Murabito JM, Fox CS, et al. Clinical and genetic correlates of serum aldosterone in the community: the Framingham Heart Study. *Am J Hypertens.* 2005; 18(5 Pt 1): 657-65.
85. Christ M, Grimm W, Maisch B. [Significance of aldosterone antagonist therapy]. *Internist (Berl).* 2004; 45(3): 347-54.
86. Sowers JR, Whaley-Connell A, Epstein M. Narrative review: the emerging clinical implications of the role of aldosterone in the metabolic syndrome and resistant hypertension. *Ann Intern Med.* 2009; 150(11): 776-83.
87. Manrique C, Lastra G, Whaley-Connell A, Sowers JR. Hypertension and the cardiometabolic syndrome. *J Clin Hypertens (Greenwich).* 2005; 7(8): 471-6.
88. Fonseca-Alaniz MH, Takada J, Alonso-Vale MI, Lima FB. Adipose tissue as an endocrine organ: from theory to practice. *J Pediatr (Rio J).* 2007; 83(5 Suppl): S192-203.
89. Ehrhart-Bornstein M, Arakelyan K, Krug AW, Scherbaum WA, Bornstein SR. Fat cells may be the obesity-hypertension link: human adipogenic factors stimulate aldosterone secretion from adrenocortical cells. *Endocr Res.* 2004; 30(4): 865-70.

90. Hubert HB, Feinleib M, McNamara PM, Castelli WP. Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26-year follow-up of participants in the Framingham Heart Study. *Circulation*. 1983; 67(5): 968-77.
91. Mahamat A, Richard F, Arveiler D, Bongard V, Yarnell J, Ducimetiere P, et al. Body mass index, hypertension and 5-year coronary heart disease incidence in middle aged men: the PRIME study. *J Hypertens*. 2003; 21(3): 519-24.
92. Narkiewicz K. Diagnosis and management of hypertension in obesity. *Obes Rev*. 2006; 7(2): 155-62.
93. Pimenta E, Calhoun DA, Oparil S. Mechanisms and treatment of resistant hypertension. *Arq Bras Cardiol*. 2007; 88(6): 683-92.
94. Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K, Tobe K. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest*. 2006; 116(7): 1784-92.
95. Hall JE. Mechanisms of abnormal renal sodium handling in obesity hypertension. *Am J Hypertens*. 1997; 10(5 Pt 2): 49S-55S.
96. Hall JE, Hildebrandt DA, Kuo J. Obesity hypertension: role of leptin and sympathetic nervous system. *Am J Hypertens*. 2001; 14(6 Pt 2): 103S-115S.
97. Rocchini AP. Obesity hypertension. *Am J Hypertens*. 2002; 15(2 Pt 2): 50S-52S.
98. Goodfriend TL, Egan BM, Kelley DE. Plasma aldosterone, plasma lipoproteins, obesity and insulin resistance in humans. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 1999; 60(5-6): 401-5.
99. Goodfriend TL, Egan BM, Kelley DE. Aldosterone in obesity. *Endocr Res*. 1998; 24(3-4): 789-96.
100. Hall JE, Summers RL, Brands MW, Keen H, Alonso-Galicia M. Resistance to metabolic actions of insulin and its role in hypertension. *Am J Hypertens*. 1994; 7(8): 772-88.
101. Kissebah AH, Sonnenberg GE, Myklebust J, Goldstein M, Broman K, James RG, et al. Quantitative trait loci on chromosomes 3 and 17 influence phenotypes of the metabolic syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000; 97(26): 14478-83.
102. Matsuzawa Y, Funahashi T, Kihara S, Shimomura I. Adiponectin and metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004; 24(1): 29-33.
103. Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, et al. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000; 20(6): 1595-9.
104. Biolo A, Shibata R, Ouchi N, Kihara S, Sonoda M, Walsh K, et al. Determinants of adiponectin levels in patients with chronic systolic heart failure. *Am J Cardiol*. 2010; 105(8): 1147-52.
105. Pajvani UB, Du X, Combs TP, Berg AH, Rajala MW, Schulthess T, et al. Structure-function studies of the adipocyte-secreted hormone Acrp30/adiponectin. Implications for metabolic regulation and bioactivity. *J Biol Chem*. 2003; 278(11): 9073-85.
106. Inoue T, Kotooka N, Morooka T, Komoda H, Uchida T, Aso Y, et al. High molecular weight adiponectin as a predictor of long-term clinical outcome in patients with coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 2007; 100(4): 569-74.
107. Goldstein BJ, Scalia R. Adiponectin: A novel adipokine linking adipocytes and vascular function. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004; 89(6): 2563-8.
108. Tsioufis C, Dimitriadis K, Selima M, Thomopoulos C, Mihas C, Skiadas I, et al. Low-grade inflammation and hypoadiponectinaemia have an additive detrimental effect on aortic stiffness in essential hypertensive patients. *Eur Heart J*. 2007; 28(9): 1162-9.

109. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Maeda K, Kuriyama H, Okamoto Y, et al. Adipocyte-derived plasma protein adiponectin acts as a platelet-derived growth factor-BB-binding protein and regulates growth factor-induced common postreceptor signal in vascular smooth muscle cell. *Circulation*. 2002; 105(24): 2893-8.
110. Okamoto Y, Arita Y, Nishida M, Muraguchi M, Ouchi N, Takahashi M, et al. An adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, adheres to injured vascular walls. *Horm Metab Res*. 2000; 32(2): 47-50.
111. Pischon T, Girman CJ, Hotamisligil GS, Rifai N, Hu FB, Rimm EB. Plasma adiponectin levels and risk of myocardial infarction in men. *JAMA*. 2004; 291(14): 1730-7.
112. Persson J, Lindberg K, Gustafsson TP, Eriksson P, Paulsson-Berne G, Lundman P. Low plasma adiponectin concentration is associated with myocardial infarction in young individuals. *J Intern Med*. 2010; 268(2): 194-205.
113. Delporte ML, Funahashi T, Takahashi M, Matsuzawa Y, Brichard SM. Pre- and post-translational negative effect of beta-adrenoceptor agonists on adiponectin secretion: in vitro and in vivo studies. *Biochem J*. 2002; 367(Pt 3): 677-85.
114. Takano H, Obata JE, Kodama Y, Kitta Y, Nakamura T, Mende A, et al. Adiponectin is released from the heart in patients with heart failure. *Int J Cardiol*. 2009; 132(2): 221-6.
115. Kistorp C, Faber J, Galatius S, Gustafsson F, Frydystyk J, Flyvbjerg A, et al. Plasma adiponectin, body mass index, and mortality in patients with chronic heart failure. *Circulation*. 2005; 112(12): 1756-62.
116. Shibata R, Ouchi N, Ito M, Kihara S, Shiojima I, Pimentel DR, et al. Adiponectin-mediated modulation of hypertrophic signals in the heart. *Nat Med*. 2004; 10(12): 1384-9.
117. Kazumi T, Kawaguchi A, Sakai K, Hirano T, Yoshino G. Young men with high-normal blood pressure have lower serum adiponectin, smaller LDL size, and higher elevated heart rate than those with optimal blood pressure. *Diabetes Care*. 2002; 25(6): 971-6.
118. Antoniadou C, Antonopoulos AS, Tousoulis D, Stefanadis C. Adiponectin: from obesity to cardiovascular disease. *Obes Rev*. 2009; 10(3): 269-79.