



ANDREA RODRIGUES SABBATINI

**ADIPOCINAS E LESÕES DE ÓRGÃOS-
ALVO NA HIPERTENSÃO ARTERIAL
RESISTENTE**

***DEREGULATION OF ADIPOKINES
RELATED TO TARGET ORGAN DAMAGE
ON RESISTANT HYPERTENSION***

Campinas

2013



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Faculdade de Ciências Médicas

ANDREA RODRIGUES SABBATINI

ORIENTAÇÃO: Prof. Dr. Heitor Moreno Junior.

ADIPOCINAS E LESÕES DE ÓRGÃOS-ALVO NA HIPERTENSÃO ARTERIAL
RESISTENTE

*DEREGULATION OF ADIPOKINES RELATED TO TARGET ORGAN DAMAGE ON
RESISTANT HYPERTENSION*

Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP para obtenção de título de Mestra em Farmacologia.

Master's thesis submitted to the Post Graduated Study Program of Faculty of Medical Sciences, State University of Campinas - UNICAMP to obtain the title of Master in Pharmacology.

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO
FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA POR
ANDREA RODRIGUES SABBATINI, E ORIENTADA PELO
PROF. DR HEITOR MORENO JUNIOR.

Heitor Moreno Junior

Campinas

2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
MARISTELLA SOARES DOS SANTOS – CRB8/8402
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP

Sa13a Sabbatini, Andrea Rodrigues, 1986-
Adipocinas e lesões de órgãos-alvo na hipertensão
arterial resistente / Andrea Rodrigues Sabbatini. --
Campinas, SP : [s.n.], 2013.

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

1. Hipertensão. 2. Adipocinas. 3. Lesões em órgãos-
alvo. I. Moreno Junior, Heitor, 1958-. II. Universidade
Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.
III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Adipokines and target organ damage in resistant hypertension.

Palavras-chave em inglês:

Hypertension

Adipokines

Target organ damage

Área de concentração: Farmacologia

Titulação: Mestra em Farmacologia

Banca examinadora:

Heitor Moreno Junior [Orientador]

Fabiola Taufic Monica Iglesias

Claudio Pinho

Data da defesa: 25-02-2013

Programa de Pós-Graduação: Farmacologia

BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE MESTRADO

ANDREA RODRIGUES SABBATINI

ORIENTADOR: PROF. DR. HEITOR MORENO JUNIOR

MEMBROS:

1. PROF. DR. HEITOR MORENO JUNIOR

2. PROFA. DRA. FABIOLA TAUFIC MONICA IGLESIAS

3. PROF. DR. CLAUDIO PINHO

Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas.

Data: 25 de fevereiro de 2013

Dedico

*Aos **meus pais**, exemplos de
perseverança e de amor.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder a oportunidade e capacidade.

*Ao meu orientador, **Prof. Dr. Heitor Moreno Junior**, por me incentivar e me proporcionar a oportunidade de crescer.*

*Aos meus pais, **Ieda Rodrigues Sabbatini e Osmar Sabbatini**.*

À minha família, pelo incentivo.

*Ao meu namorado, **João Carnaúba**, pelo apoio e compreensão.*

*Às amigas, **Ana Paula Cabral de Faria, Vanessa Fontana e Natália Barbaro**, pela força e companheirismo.*

*Aos amigos, **Rodrigo Modolo, Rodrigo Santos, Wladimir Gordo Mignoni e Thiago Quinaglia** pela amizade e ajuda prestada.*

*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.*

*“A Verdadeira viagem não está em
sair a procura de novas paisagens,
mas em possuir novos olhos.”*

Marcel Proust

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 Considerações Gerais	15
1.2 Hipertensão Arterial Resistente – HAR	17
1.2.1 Condições clínicas associadas à HAR.....	19
1.2.1.2 Rigidez Arterial	19
1.2.1.3 Hipertrofia Ventricular Esquerda	20
1.2.1.4 Microalbuminúria.....	21
1.3 HAR e aldosterona	21
1.4 HAR e Obesidade.....	22
1.4.1 Adipocinas e Desfechos Clínicos Cardiovasculares	23
1.4.1.1 Resistina.....	23
2 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO	27
3 OBJETIVOS	29
4 CONCLUSÕES.....	31
5 CAPÍTULO I.....	33
REFERÊNCIAS	53

ABREVIATURAS

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
HVE	Hipertrofia ventricular esquerda
IMC	Índice de massa corporal
IMVE	Índice de massa ventricular esquerda
LOA	Lesão de órgão-alvo
MA	Microalbuminúria
MAPA	Monitoração ambulatorial da pressão arterial
MVE	Massa ventricular esquerda
PA	Pressão arterial
SNC	Sistema nervoso central
SNS	Sistema nervoso simpático
SRAA	Sistema renina angiotensina aldosterona
TA	Tecido adiposo
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
VOP	Velocidade de onda de pulso

FIGURAS

Figura 1 Fisiopatologia da HAR

14

RESUMO

Hipertensão arterial resistente (HAR) é uma condição clínica que inclui pacientes com HAR controlada (HARC) e HAR não controlada (HARNC). Pacientes resistentes frequentemente apresentam alterações nos níveis de adipocinas e lesões em órgãos-alvo (LOA) como rigidez arterial, hipertrofia ventricular esquerda (HVE) e microalbuminúria (MA). Resistina, leptina e adiponectina podem ter efeitos no controle da pressão arterial (PA), contudo, não se sabe se os níveis de adipocinas e marcadores de LOA estão associados nos subgrupos de HAR. **Objetivo:** Avaliar a relação entre os níveis de adipocinas e rigidez arterial, HVE e MA em ambos os subgrupos. **Métodos:** Foram avaliados em HARC (n=38) e HARNC (n=51) o IMC, PA de consultório e MAPA, níveis plasmáticos de adiponectina, leptina e resistina (ELISA), velocidade de onda de pulso (VOP), MA e ecocardiograma. **Resultados:** Níveis de leptina e resistina estavam aumentados ($30,4 \pm 16,8$ ng/mL; $p = 0,004$ e $11,3 \pm 4,0$ pg/mL; $p = 0,007$ respectivamente) em HARNC, enquanto os níveis de adiponectina diminuídos ($4,7 \pm 2,6$ ug/mL; $p < 0,001$). Rigidez arterial, HVE e MA estavam aumentados ($11,3 \pm 2,5$ m/s; $p < 0,001$; $153,6 \pm 35,1$ g/m²; $p < 0,001$; e $92,4 \pm 97,0$ mg/g; $p < 0,001$ respectivamente) no subgrupo com HARNC. Neste subgrupo encontramos correlação inversa entre adiponectina e VOP ($r = -0,42$, $p < 0,01$) bem como com MA ($r = -0,48$, $p < 0,01$). Houve correlação positiva entre leptina e VOP ($r = 0,37$, $p = 0,02$) somente no subgrupo HARNC e a resistina não se correlacionou com marcadores de LOA em ambos os subgrupos. **Conclusão:** Hipoadiponectinemia está associada à presença de maior rigidez arterial e MA somente em pacientes HARNC. Níveis elevados de leptina estão associados somente com rigidez arterial neste mesmo subgrupo. Essas adipocinas podem influenciar a resistência a terapia anti-hipertensiva, contribuindo para a dificuldade de controle pressórico neste subgrupo de HAR.

Palavras-chave: Hipertensão, adipocinas, lesões.

ABSTRACT

Resistant hypertension (RHTN) is a clinical condition that includes patients with controlled RHTN (CRHTN) and uncontrolled RHTN (UCRHTN). Patients with RHTN often have changes in adipokines levels and target organ damage (TOD) as arterial stiffness, left ventricular hypertrophy (LVH) and microalbuminuria (MA). Resistin, leptin and adiponectin may have effects on blood pressure (BP) control, however, it is unknown whether adipokines levels and markers TOD are associated in subgroups of RHTN.

Objective: Was to assess the relationship between adipokines levels and arterial stiffness, LVH and MA in both subgroups. **Methods:** Were evaluated in URHTN (n=38) and UCRHTN (n=51) patients the BMI, ABPM, adiponectin, leptin and resistin plasma concentrations (ELISA), PWV, MA and echocardiogram. **Results:** Leptin and resistin levels were increased (30.4 ± 16.8 ng/ml, $p = 0.004$ and 11.3 ± 4.0 pg/mL, $p = 0.007$ respectively) in UCRHTN, while decreased adiponectin levels (4.7 ± 2.6 ug/ml, $p < 0.001$) were shown in this same subgroup. Arterial stiffness, LVH and MA were increased (11.3 ± 2.5 m/s, $p < 0.001$, 153.6 ± 35.1 g/m², $p < 0.001$, and 92.4 ± 97.0 mg/g, $p < 0.001$ respectively) in UCRHTN subgroup. UCRHTN, but not in CRHTN showed an inverse correlation between adiponectin and PWV ($r = -0.42$, $p < 0.01$) as well as MA ($r = -0.48$, $p < 0.01$). Indeed, leptin was positively correlated with PWV ($r = 0.37$, $p = 0.02$) only in UCRHTN subgroup and resistin showed no correlation with TOD in both subgroups. **Conclusion:** Adiponectin is associated with arterial stiffness and renal injury in the UCRHTN patients, while leptin is associated with arterial stiffness in the same subgroup. These adipokines may influence resistance to antihypertensive therapy, and, thus, contribute to the difficulty of BP control in this subgroup of hypertensive patients.

Key words: Hypertension, adipokines, damage.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Considerações Gerais

Hipertensão arterial resistente (HAR) é caracterizada como pressão arterial (PA) que permanece acima da meta, apesar da utilização simultânea de três fármacos anti-hipertensivos de classes diferentes, sendo, idealmente, um deles um diurético, todos prescritos em doses otimizadas. Nestas condições, a HAR é considerada como não controlada (HARNC) e quando se atinge a meta pressórica através do uso de quatro ou mais drogas, a HAR é classificada como controlada (HARC) [1].

Podemos considerar a presença de HAR quando após duas consultas consecutivas, os valores pressóricos mantêm-se acima da meta, ou seja, PA superior a 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]. É realizada a monitoração ambulatorial da pressão arterial (MAPA) para o diagnóstico de certeza da HAR, e exclusão de pacientes pseudo-resistentes [3-4].

Hipertensão arterial (HA) e obesidade são doenças complexas que estão intimamente correlacionadas e, atualmente, tem sido bastante discutida a influência da obesidade na HA e na resistência à terapia anti-hipertensiva[5], assim como a correlação dessas doenças na hiperativação dos sistemas renina angiotensina aldosterona (SRAA) e sistema nervoso simpático (SNS), disfunção endotelial [6], adipocinas inflamatórias [7] e aumento de rigidez arterial [8]. A hiperativação do SRAA na obesidade tem sido um elo importante entre tecido adiposo (TA) e HAR [9-10]. Elevados níveis plasmáticos de aldosterona têm sido associados à patogênese da HAR em indivíduos obesos [11-12]. A produção de fatores lipídicos estimula a secreção de aldosterona e esta, por sua vez, através da ligação em receptores mineralocorticóides, promove adipogênese [13], aumento do estado inflamatório adiposo, e alteração nos níveis de adipocinas [14].

A adiponectina é uma adipocina com propriedades anti-inflamatória, antiaterogênea e sensibilizante à insulina [15]. Estudos relataram hipoadiponectinemia como preditora do desenvolvimento de HA [16-17] e preditora independente da rigidez arterial através da determinação de velocidade de onda de pulso (VOP) em hipertensos [18-19]. Níveis reduzidos de adiponectina plasmática foram correlacionados a maior progressão da hipertrofia ventricular esquerda (HVE) [20].

A leptina, está relacionada a fatores metabólicos, inflamatórios e homeostáticos envolvidos no desenvolvimento de HA[21], doenças cardiovasculares [22] e disfunção vascular [23]. Atua ligando-se a receptores específicos em diferentes áreas do sistema nervoso central (SNC), aumentando a atividade do SNS, incluindo o SNS renal. Este é capaz de estimular o SRAA [24-25] levando ao aumento de aldosterona plasmática, retenção de sódio, expansão volêmica e, por fim, elevação da PA [21].

A resistina, outra importante citocina, sugere uma forte associação da resistência insulínica à obesidade [26]. Em humanos a fonte de resistina não provém de adipócitos [27], mas de macrófagos [28], o que sugere um importante papel inflamatório [29]. Esta citocina tem sido reconhecida como marcador atrativo para doenças vasculares por estar associada à aterosclerose e disfunção endotelial [30]. Da mesma forma, está também associada a HA [31] e à taxa de filtração glomerular em estágios iniciais da hipertensão essencial [32-33].

Embora a disfunção endotelial, lesão cardíaca, processos inflamatórios, elevação dos níveis de aldosterona e fatores de risco para doenças cardiovasculares estejam bem associados à HA, ainda é desconhecida a relação dessas adipocinas com essas variáveis na HAR. Também é desconhecido se os subgrupos hipertensos resistentes controlados e não controlados apresentam mecanismos diferenciados quando correlacionados a essas variáveis.

1.2 Hipertensão Arterial Resistente – HAR

Mesmo com toda diversidade e efetividade de medicações anti-hipertensivas disponíveis para o tratamento da hipertensão arterial, somente 27% da população americana de hipertensos tem a pressão controlada com índices inferiores a 140/90 mmHg, sendo que o restante dessa população não consegue atingir as metas recomendadas pelo consenso [2].

A resistência à terapia anti-hipertensiva é multifatorial [34], sendo influenciada por fatores como a baixa adesão ao tratamento [35], inadequação no regime terapêutico e hipertensão secundária. O fenômeno do avental branco, mensuração inadequada da PA, falta de adesão ao tratamento e inércia terapêutica, contribuem para pseudo-resistência [2]. Já a hipertensão secundária é decorrente de patologias como hiperaldosteronismo, apnéia obstrutiva do sono, estenose de artéria renal, feocromocitoma e coarctação da aorta. Outros fatores como expansão volêmica por excessiva ingestão de sal, obesidade e resistência insulínica, contribuem para desenvolvimento da HAR [2].

Se excluirmos estes fatores, encontramos aqueles pacientes que apresentam real resistência ao tratamento anti-hipertensivo, sendo considerados hipertensos resistentes. A *American Heart Association* define HAR como aquela em que os níveis de PA mantêm-se acima da meta pressórica apesar do uso de três classes diferentes de anti-hipertensivos em doses máximas, sendo um deles um diurético. Pacientes que nestas condições não conseguem atingir o controle pressórico, são classificados como hipertensos resistentes não controlados (HARNC). Além disso, pacientes cuja PA é controlada, mas requerem quatro ou mais classes de fármacos anti-hipertensivos, são considerados hipertensos resistentes controlados (HARC) [1].

Embora os portadores de HAR sejam considerados um grupo hipertensivo homogêneo, tem sido descrito que os subgrupos HARC e HARNC apresentam diferenças. Entre elas podemos citar valores aumentados de velocidade de onda de pulso (VOP), de massa cardíaca, de índice de massa ventricular esquerdo (IMVE), de níveis pressóricos [36] e de disfunção endotelial [37] no subgrupo de pacientes HARNC. Estes achados demonstram diferenças fisiológicas importantes entre os subgrupos da HAR, sugerindo heterogeneidade nos mecanismos relacionados à hipertensão neste grupo.

A HAR tem se tornado um problema clínico relevante, sendo uma patologia com desenvolvimento crescente desde 1988 [38]. Estima-se que a real prevalência de HAR seja de aproximadamente 9% a 12% da população geral de pacientes hipertensos. Estes valores diminuem para 8% quando realizadas as medidas de pressão ambulatorial [38-40].

Mecanismos complexos envolvem a fisiopatologia da HA, (Figura 1) sendo modulada por diversos fatores interligados: o SRAA, função excretora renal de sódio e secretora de renina, sistema nervoso autônomo, adaptação cardiovascular, endotélio e o TA.



Figura 1: Fisiopatologia da HAR e mecanismos envolvidos (Modificado de *Tsioufis, Kordalis et al.*)[41]. Condições como excesso de aldosterona, obesidade e apnéia obstrutiva do sono promovem disfunção endotelial, inflamação e resistência insulínica. Desta forma, a hiperativação do SNS e SRAA contribui para o desenvolvimento da HAR.

1.2.1 Condições clínicas associadas à HAR

1.2.1.1 HAR e lesões de órgãos-alvo

Níveis elevados de PA podem causar alterações estruturais e funcionais em grupos de órgãos específicos, devido a respostas compensatórias [42]. Manifestações de lesões de órgãos-alvo (LOA) como hipertrofia ventricular esquerda (HVE), microalbuminúria (MA) e rigidez arterial estão associados a eventos cardiovasculares e aumento da mortalidade [43-44]. Alguns estudos demonstram que a rigidez arterial é um preditor de mortalidade cardiovascular na hipertensão [45], e a VOP realizada para determinar a rigidez arterial [46], tem sido associada a acidente vascular cerebral, doenças coronarianas e maior mortalidade cardiovascular [47].

1.2.1.2 Rigidez Arterial

Grandes artérias tem sua complacência diminuída por processos de senescência, ou seja, por processos naturais de envelhecimento [48]. Patologias como HA [49], diabetes [50], doença renal crônica e tabagismo [51] contribuem para o desenvolvimento deste processo.

Alterações na estrutura da parede arterial, especialmente, na camada média, são responsáveis pela rigidez arterial [52]. A elasticidade do vaso associa-se a proliferação de colágeno e quantidades diminuídas de elastina, diminuindo a complacência da parede vascular. Além disso, fatores como endotelina, angiotensina II, óxido nítrico e estresse oxidativo, podem alterar o tônus vascular por deposição de cálcio [53-54].

Como relatado anteriormente, a rigidez arterial tem sido considerada preditora de mortalidade cardiovascular por todas as causas na hipertensão [45]. Para avaliação da rigidez arterial é realizada a VOP através de um método não invasivo de tonometria de aplanção. A VOP é obtida através dos dados das artérias carótida e femoral, que é o padrão-ouro para avaliação da rigidez, sendo que o valor considerado como preditor de LOA é de 10m/s. [55].

Resultados recentes de rigidez arterial nos subgrupos da HAR, mostraram maiores valores de VOP nos pacientes não controlados quando comparados aos controlados [36].

1.2.1.3 Hipertrofia Ventricular Esquerda

A HVE é uma alteração estrutural e funcional caracterizada por uma resposta compensatória à sobrecarga pressórica e/ou volumétrica crônica. De acordo com a progressão de níveis de PA, ocorre aumento de sua prevalência e incidência [56]. Essa adaptação está associada à maior morbidade e mortalidade dos seus portadores. O mecanismo envolve um déficit contrátil e instabilidade elétrica do coração através de alterações intrínsecas dos cardiomiócitos ou de outras células miocárdicas. Através do *Framingham Heart Study* foi estabelecido o valor prognóstico da detecção de HVE na estratificação de risco para doença cardiovascular, morbidade e mortalidade [57-58].

A HVE é obtida pela análise da massa ventricular esquerda (MVE), sendo corrigida pela superfície corporal, obtendo desta forma, o índice de massa ventricular esquerda (IMVE), considerado normal até 95g/m² para o sexo feminino e até 115 g/m² para o sexo masculino [59].

O desenvolvimento de HVE é multifatorial, e está relacionada à hipertensão, intolerância à glicose, perfil lipídico e tabagismo [60]. A HVE é fator de risco

independente para insuficiência cardíaca congestiva, infarto do miocárdio, e morte súbita [61]. Recentemente demonstrou-se na HAR, maiores índices de HVE em pacientes HARNC quando comparados aos pacientes HARC [36].

1.2.1.4 Microalbuminúria

Microalbuminúria é geralmente definida como uma taxa de excreção urinária de albumina de 30 a 299 mg / dia [62]. Embora muitas vezes visto como um sinal de doença renal precoce, a MA interage com vários fatores de risco convencionais vasculares e é também um marcador independente de disfunção endotelial [63]. Inicialmente foi identificada como um marcador de doença renal [64], e atualmente, tem sido considerada como um fator de risco de morbidade e mortalidade cardiovascular [65]. Estudos demonstraram que fatores de risco cardiovasculares como hipertensão, metabolismo da glicose e dislipidemia, aumentam o risco de desenvolvimento de MA [66-68].

1.3 HAR e aldosterona

A aldosterona tem importante papel sobre a volemia, função renal e vasos arteriais, principalmente quanto à indução de disfunção endotelial, inflamação, fibrose e rigidez vascular. O conjunto dessas alterações ocasiona mudanças funcionais e estruturais de pequenas e grandes artérias, há aumento da PA, e resistência ao tratamento anti-hipertensivo [36, 69]. Também, a utilização de diuréticos, inibidores da enzima conversora e antagonistas dos receptores de angiotensina II pode causar aumento da aldosterona plasmática -por escape da aldosterona- contribuindo paradoxalmente para a ineficácia do tratamento [70-71].

Atualmente, tem sido discutida a ideia de que o SRAA está fortemente associado à obesidade, resistência à insulina e dislipidemia [12], e tem se apresentado como um

importante elo entre obesidade e hipertensão [72-73]. A obesidade está associada à hiperativação do SRAA que elevando os níveis de aldosterona, contribui para HAR [74] através de processos como disfunção endotelial, doença cardiovascular [75] e liberação de adipocinas inflamatórias [14]. Desta forma, níveis elevados de aldosterona contribuem para o desenvolvimento destes processos colaborando para o remodelamento renal e cardiovascular, piorando assim a agressão ao órgão-alvo [74].

1.4 HAR e Obesidade

A obesidade tornou-se um grave problema de saúde pública devido ao aumento expressivo da morbidade e mortalidade cardiovasculares, secundárias à progressão e o agravamento da doença aterosclerótica [76-77]. Os mecanismos fisiopatológicos que envolvem hipertensão e obesidade são complexos, entretanto estudos têm demonstrado que o excesso de peso eleva a PA. A hiperativação simpática e do SRAA, a disfunção endotelial e fatores hemodinâmicos relacionam-se entre si de forma direta ou indireta [78-79], entretanto o mecanismo pelo qual a obesidade provoca esta alteração não está totalmente esclarecido. Fatores como o aumento do débito cardíaco, fluxo sanguíneo regional e resistência vascular periférica, que promovem expansão do volume extracelular e alteração da função renal, estão associados à obesidade. Este processo ocorre primariamente, por um aumento da reabsorção tubular de sódio na fase inicial da obesidade e, posteriormente, secundária à lesão glomerular com perda de função [80-81].

A associação entre hipertensão e obesidade envolve mecanismos complexos e multifatoriais [78]. O tecido adiposo 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 ou adipocitocinas, consolidando a ideia do tecido adiposo como um órgão endócrino [82], capaz de atuar na inflamação sistêmica, no estresse oxidativo e na resistência à insulina [83]. Um fator derivado do adipócito foi associado ao aumento da liberação de um estimulador hepático de síntese de aldosterona [84]. A produção de fatores lipídicos pelo TA, estimula a secreção de aldosterona e esta, por sua vez, através da sua ligação em receptores mineralocorticóides, promove inflamação do tecido adiposo e expressão modificada de adipocitocinas inflamatórias [13].

1.4.1 Adipocinas e Desfechos Clínicos Cardiovasculares

1.4.1.1 Resistina

A Resistina, adipocina descoberta mais recentemente, tem sido associada a resistência insulínica e obesidade [26]. É produzida principalmente por macrófagos [27-28], o que sugere um importante papel desta adipocina na inflamação [29]. A resistina tem sido reconhecida como um relevante marcador de doença vascular devido sua associação com disfunção endotelial e aterosclerose [30].

Trabalhos mostram a influência da resistina no aumento de espécies reativas de oxigênio e diminuição da expressão de óxido nítrico sintase (eNOS) em células endoteliais [85-86]. Foi relatado que pacientes pré-hipertensos e não diabéticos apresentaram altos níveis de resistina quando comparados com pacientes normotensos [87]. Estudos sugerem participação da resistina na hipertensão [31] devido ao seu envolvimento em processos inflamatórios como regulação de tumor necrosis factor- α (TNF- α) e interleucina-6 [88], devido a proliferação de células musculares lisas vasculares [89], ativação de células endoteliais por liberação de endotelina-1 [90], e aumento da expressão de células de adesão [30]. A resistina tem sido reconhecida com

um relevante marcador cardiovascular [30] através de vias inflamatórias [88]. Até hoje, a associação entre resistina e VOP foi praticamente inexplorada, exceto por um recente estudo realizado com 726 participantes saudáveis mostrou que a resistina foi correlacionada independentemente com VOP em indivíduos saudáveis [91]. Também, tem sido associada à hipertrofia e contratilidade cardíaca [92] e à taxa de filtração glomerular em estágios iniciais da hipertensão essencial, representando um mecanismo fisiológico que não necessariamente está associada à doença renal [32-33]. Ainda que a resistina esteja fortemente associada à síndrome metabólica, obesidade e TA, alguns estudos não conseguiram revelar qualquer relação entre o nível de resistina plasmática e o índice de massa corporal (IMC) [93-96], enquanto outros produziram uma associação positiva [97-99].

1.4.1.2 Leptina

A leptina é um hormônio proteico, identificado em 1994 através de clonagem do gene *ob* em camundongos [100]. É produzida e secretada principalmente pelo TA, porém outros órgãos produzem leptina em menor quantidade. Considerada inicialmente um hormônio com papel na regulação do peso corporal e gasto energético, é responsável por mecanismo de sinalização integral capaz de influenciar o adequado controle fisiológico de numerosas funções biológicas [101].

A leptina, está relacionada a fatores metabólicos, inflamatórios e homeostáticos envolvidos no desenvolvimento de HA e doenças cardiovasculares [22]. Atua ligando-se a receptores específicos em diferentes áreas do SNC, aumentando a atividade do SNS, incluindo o SNS renal. Este é capaz de estimular o SRAA [24-25] levando ao aumento de aldosterona plasmática, retenção de sódio, expansão volêmica e, por fim, elevação da PA [21]. Está bem estabelecida a associação entre altos níveis de leptina e

desenvolvimento de HA, doenças cardiovasculares [22] e disfunção endotelial [23]. Estudos mostraram associação entre leptina e níveis de PA independente do IMC [102] e com VOP em indivíduos saudáveis [91]. Foi demonstrada também correlação inversa entre leptina e complacência arterial em pacientes hipertensos, independente da obesidade e idade [103]. Além disso, apesar de estudos sugerirem a leptina como indutora de hipertrofia miocárdica [104-106], esta ideia ainda é controversa [107].

1.4.1.3 Adiponectina

Em 1990 a adiponectina foi identificada como uma proteína plasmática relativamente abundante produzida pelo TA [108]. Os níveis de adiponectina encontram-se diminuídos na presença de obesidade, doença arterial coronariana, HA e resistência à insulina [109] e podem refletir aumento de risco cardiovascular e inflamação[110]. A adiponectina está fortemente ligada à função endotelial [111], por alterar efeitos vasculares mediados por citocinas, como TNF- α , suprimir geração de espécies reativas ao oxigênio e possibilitar a geração de óxido nítrico endotelial. Desta forma, a adiponectina possui propriedades anti-inflamatórias, antiaterogênicas e antiproliferativas nos vasos. Evidências mostram a adiponectina como um fator de proteção contra HA através do mecanismo dependente do endotélio [112], sendo que a adiponectina associou-se inversamente à rigidez arterial através da determinação de VOP em pacientes hipertensos [18-19, 113]. Em estudo prospectivo com duração de 5 anos, a hipoadiponectinemia foi relacionada como preditora do desenvolvimento de HA, independente da idade, parâmetros de obesidade, PA média, resistência à insulina e proteína C reativa de alta sensibilidade [16]. Além disso, níveis reduzidos de adiponectina plasmática foram correlacionados a maior progressão de HVE [20].

Embora a disfunção endotelial, lesão cardíaca, processos inflamatórios, elevação dos níveis de aldosterona e fatores de risco para doenças cardiovasculares estejam bem associados à HA, ainda é desconhecida a relação de adipocinas com essas variáveis na HAR. Também é desconhecida a relação entre adipocinas e LOA nos subgrupos de hipertensos resistentes controlados e não controlados.

2 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

Adipocinas plasmáticas como adiponectina, leptina e resistina têm sido associadas a doenças cardiovasculares, resistência insulínica/diabetes *mellitus* tipo 2 e obesidade. Contudo, não se sabe qual a relação entre adipocinas e a resistência ao tratamento farmacológico em pacientes hipertensos resistentes e a relação das adipocinas com lesões de órgãos-alvo como rigidez arterial, hipertrofia ventricular esquerda e microalbuminúria.

A identificação de possíveis associações entre adipocinas, hipertensão resistente e obesidade, assim como possíveis associações a lesões de órgão-alvo poderá contribuir para o melhor entendimento dos mecanismos fisiopatológicos relacionados à resistência farmacológica.

Os mesmos aspectos serão estudados nos subgrupos HARC e HARNC para estabelecermos se existem diferenças 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 das adipocinas nos diferentes subgrupos de HAR frente à dificuldade de controle da PA em hipertensos resistentes controlados e não controlados;
- 2- Avaliar se há participação das adipocinas a serem estudadas no desenvolvimento das lesões de órgãos alvos (rigidez arterial aumentada, HVE e disfunção renal) em hipertensos resistentes.

4 CONCLUSÕES

- 1- Pacientes com HARNC apresentam maior grau de lesões nos órgãos-alvo: coração, caracterizado por maior índice de massa ventricular esquerda; renal, caracterizado por altos níveis de microalbuminúria, e vascular, caracterizados por maior rigidez arterial quando comparados ao subgrupo de hipertensos controlados.
- 2- Leptina e resistina encontram-se com níveis aumentados em HARNC, e adiponectina encontra-se diminuída neste mesmo subgrupo.
- 3- Níveis diminuídos de adiponectina associam-se a maior rigidez vascular e maior lesão renal, quando comparados com os pacientes resistentes com pressão arterial controlada. Neste mesmo grupo, níveis de leptina encontram-se aumentados com possível associação à rigidez arterial. A resistina, mesmo aumentada no grupo de hipertensos resistentes não controlados, não apresentou associação à lesão dos órgãos-alvos estudados.
- 4- Os níveis diminuídos de adiponectina associados a maiores índices de VOP e MA, assim como os valores aumentados de leptina associados a maior VOP, podem ser um dos fatores que contribuem para dificuldade de controle da PA nesse subgrupo de hipertensos.

5 CAPÍTULO I



UNICAMP

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

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



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

²⁹st May 2013

PROF. DAVID A CALHOUN

EDITOR-IN-CHIEF

JOURNAL OF HUMAN HYPERTENSION

Dear Professor David Calhoun,

Please find enclosed our original manuscript “**Deregulation of adipokines related to target organ damage on resistant hypertension**”. 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,

Andréa Rodrigues Sabbatini

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: deia_sabbatini@hotmail.com / hmoreno@uol.com.br

ABSTRACT

Introduction: Resistant hypertension (RHTN) includes patients with controlled blood pressure (BP) -CRHTN- and uncontrolled BP -UCRHTN. RHTN patients are more likely to have target organ damage (TOD), such as arterial stiffness, left ventricular hypertrophy (LVH) and microalbuminuria (MA). In fact, resistin, leptin and adiponectin may affect BP control in these subjects. However, it is unknown whether adipokine levels and TOD markers are associated in subgroups of RHTN. **Objective:** We assessed the relationship between adipokine levels and arterial stiffness, LVH and MA in both subgroups of RHTN. **Methods:** This cross-sectional study included CRHTN (n=38) and UCRHTN (n=51) patients for evaluating the parameters BMI, ABPM, plasma adiponectin, leptin and resistin concentrations (ELISA), pulse wave velocity (PWV), MA and echocardiographic measurements. **Results:** Leptin and resistin levels were increased in UCRHTN (30.4 ± 16.8 ng/ml, $p=0.004$ and 11.3 ± 4.0 pg/mL, $p=0.007$, respectively), while adiponectin levels were decreased in this same subgroup (4.7 ± 2.6 ug/ml, $p<0.001$). Similarly, arterial stiffness, LVH and MA were increased in UCRHTN subgroup (11.3 ± 2.5 m/s, $p<0.001$, 153.6 ± 35.1 g/m², $p<0.001$, and 92.4 ± 97.0 mg/g, $p<0.001$, respectively). Adiponectin levels negatively correlated with PWV ($r=-0.42$, $p<0.01$), as well as, with MA ($r=-0.48$, $p<0.01$) in UCRHTN, but not in CRHTN. Conversely, leptin was positively correlated with PWV ($r=0.37$, $p=0.02$) only in UCRHTN subgroup, while resistin showed no correlation with TOD in both subgroups. **Conclusion:** Adiponectin is associated with arterial stiffness and renal injury in UCRHTN patients, while leptin is associated with arterial stiffness in the same subgroup. Taken together, these adipokines may be responsible for resistance to antihypertensive therapy and, thus, contribute to the difficult BP control in this subgroup of hypertensive patients.

Keywords: Resistant hypertension, adipokines, target organ damage.

INTRODUCTION

Resistant hypertension (RHTN) is a condition in which blood pressure (BP) remains above goal (140/90 mmHg), despite the use of three or more antihypertensive drugs of different classes at optimal doses (UCRHTN patients), or controlled BP requires four or more drugs (CRHTN patients) [1].

Hypertension is the leading risk factor for morbidity and mortality in the world [2]. Thus, manifestations of hypertensive end organ damage, such as LVH, MA and arterial stiffness are associated with cardiovascular events and mortality [3-5]. Our group described recent data for UCRHTN subgroup regarding the increases of body mass index (BMI), left ventricular hypertrophy (LVH), aldosterone levels and arterial stiffness [6-7]. Although these characteristics may be interrelated in RHTN subjects, it is unknown the role of some adipocyte hormones in the pathogenesis of RHTN subgroups.

Currently, the resistance to antihypertensive treatment has been explored, and the obesity and higher aldosterone levels seem to be an important factor in this lack of BP control [6, 8]. Lipid factors seem to stimulate aldosterone secretion [9], which in mineralocorticoid receptors (MR) on adipose tissue activates proinflammatory adipokine expression and insulin resistance [10], as well as all mechanisms related to the development of resistant hypertension.

In addition, adipose tissue secretes hormones, known as adipokines or adipocytokines, such as leptin, adiponectin and resistin [11]. Those adipokines have already been proven to correlate with some inflammatory and cardiovascular alterations in essential hypertensive patients [12-16].

This study aimed to evaluate the association of adipokines and target organ damage (TOD) (arterial stiffness, LVH and renal impairment) in controlled and uncontrolled resistant hypertensive subgroups.

METHODS

This cross-sectional study was approved by the Research Ethics Committee at the Faculty of medical Sciences of University of Campinas (Campinas, Brazil). All participants were aware of the investigative study and signed an informed written consent form (719/2011).

Patient Population

Eighty-nine RHTN patients were followed in the outpatient resistant hypertension clinic of the University of Campinas. The diagnosis of RHTN was performed obeying a 6-month protocol. Patients were submitted to drug therapy optimization, office BP measurement, and ambulatory blood pressure monitoring (ABPM) to include only true resistant hypertensive subjects [1]. White-coat hypertension, pseudoresistance, lack of medication adherence, and secondary forms of hypertension were properly observed and excluded. Patients were classified into two groups: uncontrolled (UCRHTN, n=38) and controlled resistant (CRHTN, n=51), in accordance with number of medication and office blood pressure measurements (BP >140/90 mmHg or BP >130/80 mmHg in patients with diabetes or chronic kidney disease) [1].

The exclusion criteria were: heart failure (ejection fraction < 50%), primary hyperaldosteronism, acute or moderate-severe renal or liver dysfunction, valvular heart disease, non-compliance to pharmacological treatment, sleep apnea (classified as “high risk” by the Berlin sleep questionnaire), cardiomyopathies, cardiac arrhythmias, aortic disease (Marfan’s syndrome, coarctation of the aorta, previous stroke, aneurysms or aortic surgery), clinical history of coronary artery disease or proven coronary artery disease by coronary angiography or noninvasive tests, peripheral vascular disease, familial hyperlipidemia, pregnancy or oral contraceptive use, connective tissue

disorders, neurological problems, malignancies, psychiatric diseases, smoking, alcohol use and drug abuse. As obesity and glucose intolerance are characteristics of RHTN subjects, only mild diabetic subjects still on non-pharmacological therapy (lifestyle changes) were included.

Non-pharmacological therapies were optimized, including salt-restricted diet monitored by urinary sodium excretion measurement. Adipokine levels, office BP, ABPM, left ventricular mass index (LVMI) and pulse wave velocity (PWV) were evaluated as described below.

Office BP measurements

Office BP was measured at least three times with patients in a seated position after a 10-minute rest, approximately 8:00 a.m., using a digital BP monitor (OMRON Healthcare Inc., Bannockburn, IL, USA), according to the guideline on hypertension of the European Society of Cardiology [17]. The average of two consecutive measurements was used with a variation lower than 5 mmHg.

Ambulatory BP monitoring (ABPM)

The 24-h ABPM was carried out using an automatic oscillometric device (Spacelabs 90207, Spacelabs Inc) [18]. Patients were instructed to keep normal daily activities and to note their sleep period in a personal diary. BP was measured automatically at 20-min intervals during an entire 24-h period. ABPM was used not only to exclude pseudoresistance to antihypertensive treatment but also to characterize both studied subgroups: uncontrolled resistant hypertensive subjects (UCRHTN) and controlled resistant hypertensive subjects (CRHTN).

Aortic PWV measurement

The Sphygmocor system (Artcor, Sidney, Australia) was used to measure pulse wave velocity (PWV), a noninvasive and reproducible method to determine arterial stiffness [19]. With the patients in a supine position, the pulse waves were obtained transcutaneously, using the right common carotid and femoral arteries. PWV was calculated from the transit time and the distance between these two arterial sites, and the distance 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 distance (meters)/ Δt (seconds) [19]. Three consecutive readings were sampled and the PWV average value was used in analysis.

Echocardiography

LVH was analyzed by left ventricular mass index (LVMI). Measurements of the dimensions of the left ventricle (LV) were performed using the American Society of Echocardiography (ASE) recommendations [20], using 2-dimensional targeted M-mode echocardiography. Diastolic LV (LVDD) and systolic LV (LVSD) diameters and the interventricular septal (IVS) and posterior wall (LVPW) thicknesses at the end of diastole were measured according to the QRS wave of electrocardiography. LV mass was calculated by the ASE recommended formula [20]. LVMI was calculated by dividing LV mass by the body surface. Echocardiographic measurements were evaluated by two blinded independent investigators, using cardiovascular ultrasound machine (Siemens Acuson CV70, Munich, Bavaria, Germany) with multi-frequency sector transducer (2-4MHz). The intraobserver and interobserver coefficients of variation of LVDD, LVSD, IVS and LVPW thicknesses were less than 5.5% and 9.5% for LVMI.

Laboratory assessment

Blood samples were collected at 08:00 a.m. after overnight fasting by venipuncture. Plasma resistin, leptin, adiponectin (R&D Systems, Inc., Minneapolis, USA) and aldosterone levels (DRG International, New Jersey, USA) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), according to the manufacturer's instructions. Creatinine clearance (ml per min per 1.73m^2) and MA (mg/g) were measured in urine sample collected during 24 hours. We used urine albumin-to-creatinine ratio (MA) values to analyze renal impairment. Patients presenting values lower than 30mg/g are classified as normal, while renal impaired patients present values between 30 and 300mg/g.

Statistical analysis

Descriptive statistics are shown as mean $\pm$ standard deviation. The distribution of the data was assessed by Shapiro-Wilk test. Nonparametric data were analyzed by the Mann-Whitney test to compare continuous variables between the subgroups. We used the Fisher's test to compare categorical variables and the Spearman's correlation coefficient to correlate analyses. The level of statistical significance accepted was less than 0.05.

RESULTS

General characteristics showed no differences between CRHTN and UCRHTN regarding age, gender, BMI and biochemical measurements, except aldosterone levels, which were increased in UCRHTN subgroup (table 1). All patients in both groups were classified as overweight ($\text{BMI} > 25 - 29.9 \text{ Kg/m}^2$) or obese ($\text{BMI} \geq 30 \text{ Kg/m}^2$) [21].

CRHTN subgroup was taking a mean of 4.5 drugs daily with the prescribed medication being diuretics (100%), spironolactone (36.8%), angiotensin receptor

blocker (ARB) (34.6%), angiotensin-converting enzyme inhibitors (ACEI) (32.7%), calcium channel blockers (CCB) (28.8%), β -blockers (46.2%), and others (3.8%). UCRHTN subjects were taking a mean of 4.9 classes of antihypertensive drugs daily, i.e., diuretics (100%), spironolactone (77.6%), ARB (77.3%), ACEI (27.3%), CCB (65.9%), β -blockers (52.3%), and others (11.4%). As expected, we found a greater use of anti-hypertensive by UCRHTN subgroup. Indeed, statistical differences between groups were found in ARB and CCB classes ($p<0.01$).

Office BP, ambulatory BP monitoring, PWV (11.3 ± 2.5 vs 9.2 ± 2.3 m/s; $p<0.001$), LVMI (153.6 ± 35.1 vs 118.9 ± 29.0 g/m²; $p<0.001$) and MA values (92.4 ± 97.0 vs 27.9 ± 43.6 mg/g; $p<0.001$) were increased in UCRHTN subgroup when compared with CRHTN (table 2).

As shown in table 2, UCRHTN subgroup had increased leptin and resistin levels (30.4 ± 16.8 vs 20.5 ± 10.6 ng/mL; $p=0.004$; 11.3 ± 4.0 vs 9.3 ± 3.7 pg/mL; $p=0.007$, respectively), while adiponectin levels were decreased in this same subgroup (4.7 ± 2.6 vs 8.9 ± 4.6 ug/mL; $p< 0.001$) (table 2).

Correlation analysis showed that UCRHTN subgroup had PWV inversely correlated with adiponectin ($r= -0.42$, $p<0.01$) (figure 1.B) and positively with leptin ($r=0.37$, $p=0.02$) (figure 2.B). In fact, MA correlated inversely with adiponectin ($r= -0.48$, $p<0.01$) in this same subgroup (figure 1.D). No correlation was found between LVMI and adipokines. Furthermore, resistin did not correlate with any markers of target organ damage in RHTN subgroups.

DISCUSSION

The main findings of our study are a clear difference regarding adipokine levels and TOD among RHTN subgroups. Although our group has already stated some important features of RHTN subgroups [6, 22], this is the first study to associate these

three hormones and TOD markers. In brief, the subgroup with uncontrolled BP had higher arterial stiffness, microalbuminuria, left ventricular hypertrophy, as well as increased levels of adipokines, such as leptin and resistin, and lower levels of adiponectin. In addition, arterial stiffness correlated with adiponectin and leptin, although microalbuminuria has had only association with adiponectin. Interestingly, these associations were only encountered in the subgroup that had no control of their hypertension.

Hypertension is the leading risk factor for morbidity and mortality in the world [2]. Thus, manifestations of hypertensive end organ damage, such as LVH, MA and arterial stiffness, are associated with cardiovascular events and mortality [3-5]. Currently, resistance to antihypertensive treatment has been explored, and obesity seems to be an important factor in this lack of BP control [6], which may be related to adipokine expression activation by adipose tissue [10].

It has been well documented that hypoadiponectinemia and hyperleptinemia are associated with higher blood pressure [22-23]. In addition, recent studies showed that arterial stiffness was inversely correlated with adiponectin in hypertension [13], and also it was demonstrated an inverse correlation between leptin and arterial compliance in hypertension regardless of obesity and age [24]. In addition to having insulin sensitivity, anti-inflammatory and antiatherogenic actions [25], adiponectin has beneficial functions such as vasculoprotective effects and may prevent almost every pathological condition involved in vascular disease [26-27]. Conversely, leptin promotes vascular smooth muscle cell proliferation [28] and induces reactive oxygen species formation [29], contributing thereby to arterial stiffness [30]. Taken together, these findings are consistent with our results, in which arterial stiffness was positively associated with adiponectin and negatively with leptin in uncontrolled RHTN subgroup.

MA has been inversely associated with adiponectin in essential hypertension [31]. In our study, we found association between these variables in UCRHTN patients, and this may be due to proinflammatory effects of hypoadiponectinemia, contributing to the development of MA. Conversely, leptin has a crucial role in hypertension, and it is related to progression of chronic renal failure through abnormal sympathetic neural stimulation [32]. However, in our sample of RHTN subjects, MA did not correlate with leptin. We hypothesized that higher levels of leptin may be associated with end stages of renal disease. In fact, kidney has a substantial role in removing this adipokine from the plasma [33], implying in an impairment of renal leptin degradation.

Previous cross-sectional [14] study demonstrated that LVMI was inversely correlated with adiponectin in hypertensive subjects. In addition, leptin correlates with myocardial hypertrophy [34], although its association with increased risk of cardiovascular disease is controversial [35-36]. In the present study, LVMI was not associated with adiponectin and leptin levels. We hypothesized that these adipokines are not associated with direct effects on cardiac hypertrophy probably because of the multifactorial mechanism of LVH pathogenesis in RHTN and then, related with early hypertensive disease [14, 34].

Resistin, another important cytokine, has also been associated with hypertension [37] and with endothelial dysfunction [12], atherosclerosis [16], cardiac hypertrophy [38], and renal function impairment [39]. However, in a previous study, resistin did not correlate with mean BP after age and obesity adjustment [40]. Regarding our negative findings, it seems that this adipokine could be much more closely linked to inflammatory cells [41] and inflammatory process [42], which effects may be greater than adiponectin and leptin roles. Taken together, some lack of explanation of resistin effects in humans could be due to: (1) differential detection of multiple isoforms of resistin by immunoassays, (2) diversity among species, (3) variations in concentration

of resistin in humans and experimental animal models, and (4) variations in model design [43].

Although some studies suggested association among these adipokines [44] [45-47], we found no correlation between aldosterone, adiponectin, leptin and resistin in RHTN subgroups. It may be due to this complex stage of hypertension, once RHTN patient analysis is complicated by the associated high cardiovascular risk [1].

Some studies demonstrated associations between adipokines and antihypertensive medication. Growing evidences show increased adiponectin and lower leptin levels due to the use of ACE inhibitor and ARBs [48-50], amlodipine and, in a lesser extent, some B-blockers such as atenolol [49]. In addition, amlodipine decreased resistin levels in HTN subjects, with more impact than ramipril and candesartan therapies [49]. Although antihypertensive therapy may influence adipokine levels, higher leptin and resistin and decreased adiponectin levels were maintained even with the larger use of antihypertensive in UCRHTN subgroup.

Secondary to our findings and confirming previous publications from our laboratory [6, 22], we found higher aldosterone levels in UCRHTN subgroup. This subgroup has higher aldosterone levels, even using more antihypertensive classes, probably because subjects have aldosterone escape, justifying these elevated aldosterone levels [51]. This alteration may induce adipokine level disturbances, contributing to cardiovascular disorders, resistant hypertension and target organ damage progression [8].

The main limitation was the small number of UCRHTN and CRHTN patients enrolled in this study. Another limitation is the inclusion of obese patients, but we know that obesity is a common feature of resistant hypertensive patients, making it difficult to pull apart these alterations [1]. However, no correlation was found between adipokines and BMI, and the association between adipokines and TOD occurred regardless of

adiposity. Hence, we suggest that adipokine levels may contribute to lack of BP control in UCRHTN group regardless of adiposity/BMI.

We concluded that UCRHTN subgroup presents higher TOD when compared with CRHTN and strengthened the differences between these subgroups. Decreased levels of adiponectin associated with higher PWV and MA, as well as increased levels of leptin associated with higher PWV may play a role in the resistance to antihypertensive therapy and, thus, in part contribute to the difficulty of BP control in this RHTN subgroup.

TABLES

Table 1. General characteristics of the study groups

	CRHTN (n=51)	UCRHTN (n=38)	P-value
Gender (F/M)	34/17	23/15	0.656
Age (years)	58.8 ± 10.5	56.1 ± 11.3	0.253
BMI (kg/m ²)	30.3 ± 4.1	29.7 ± 4.3	0.503
Glucose (mg.dL ⁻¹)	98.6 ± 10.8	99.3 ± 9.3	0.997
Sodium (mEq.L ⁻¹)	140.8 ± 2.4	141.0 ± 2.2	0.594
Potassium (mEq.L ⁻¹)	4.4 ± 0.3	4.3 ± 0.4	0.212
Cholesterol (mg.dL ⁻¹)	189.9 ± 30.8	193.9 ± 31.3	0.433
LDL-c (mg.dL ⁻¹)	113.9 ± 26.7	117.3 ± 24.7	0.534
HDL-c (mg.dL ⁻¹)	47.8 ± 8.2	47.2 ± 5.9	0.555
Triglycerides(mg.dL ⁻¹)	140.9 ± 49.2	147.1 ± 72.9	0.388
Urea (mg.dL ⁻¹)	37.9 ± 9.2	34.7 ± 10.2	0.121
Creatinine (mg.dL ⁻¹)	0.9 ± 0.2	0.9 ± 0.2	0.829
Creatinine clearance (mL per min per 1.73m ²)	100.1 ± 12.4	99.7 ± 12.1	0.490
Renin (pg.mL ⁻¹)	19.3 ± 8.6	22.9 ± 24.9	0.249
Insulin (uUI.mL ⁻¹)	11.7 ± 13.3(N=36)	10.6 ± 12.2(N=30)	0.519
C-reactive protein (mg.dL ⁻¹)	0.6 ± 0.6 (N=41)	0.4 ± 0.3(N=29)	0.328
Cortisol (ug.dL ⁻¹)	13.2 ± 4.1 (N=40)	13.9 ± 6.7(N=33)	0.838
Aldosterone (ng.dL ⁻¹)	8.0 ± 4.5	11.9 ± 8.7	0.041*

* It was established as statistically significant value of 0.05.

The values are expressed as mean ± standard deviation. UCRHTN: uncontrolled resistant hypertension group; CRHTN: controlled resistant hypertension group; F: female; M: male; BMI: body mass index; LDL and HDL: low- and high-density lipoproteins, respectively; HbA: glycated hemoglobin.

Table 2. Specific characteristics of the study groups

	CRHTN (n=51)	UCRHTN (n=38)	P-value
Office SBP (mmHg)	130.3 ± 8.3	159.6 ± 18.4	<0.001*
Office DBP (mmHg)	78.9 ± 6.8	97.9 ± 7.9	<0.001*
Office PP (mmHg)	55.7 ± 4.4	64.3 ± 11.2	<0.001*
ABPM SBP (mmHg)	118.2 ± 9.1	140.1 ± 10.3	<0.001*
ABPM DBP (mmHg)	69.8 ± 6.6	86.9 ± 6.1	<0.001*
ABPM PP (mmHg)	48.4 ± 7.2	53.2 ± 7.2	0.016*
LVMI (g.m ⁻²)	118.9 ± 29.0	153.6 ± 35.1	<0.001*
Microalbuminuria(mg.g ⁻¹)	27.9 ± 43.6	92.4 ± 97.0	<0.001*
PWV (m.s ⁻¹)	9.2 ± 2.3	11.3 ± 2.5	<0.001*
Resistin (pg.mL ⁻¹)	9.3 ± 3.7	11.3 ± 4.0	0.007*
Leptin (ng.mL ⁻¹)	20.5 ± 10.6	30.4 ± 16.8	0.004*
Adiponectin (µg.mL ⁻¹)	8.9 ± 4.6	4.7 ± 2.6	<0.001*

* It was established as statistically significant a value of 0.05.

The values are expressed as mean ± standard deviation. CRHTN: controlled resistant hypertension group; UCRHTN: uncontrolled resistant hypertension group; SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure; PP: pulse pressure; ABPM: ambulatory blood pressure monitoring measurements; LVMI; left ventricular mass index; PWV: pulse wave velocity.

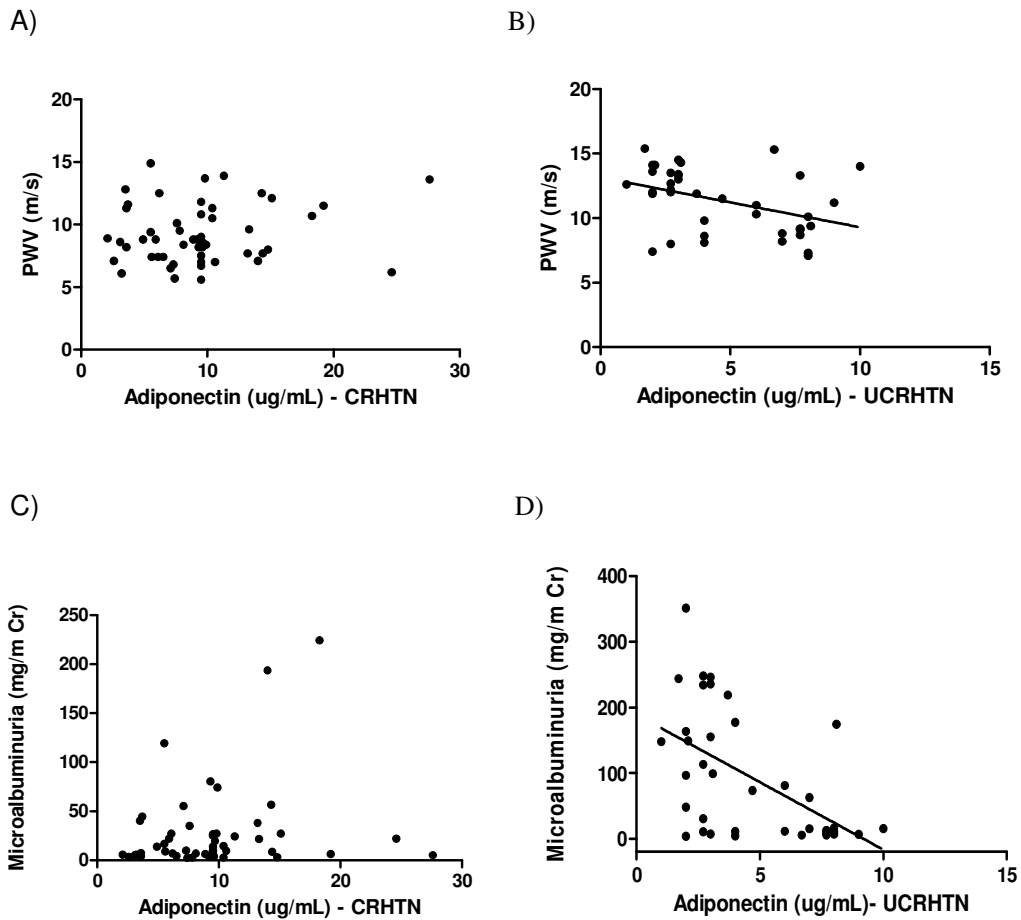


Figure 1. Correlations between adipokines and target organ damage markers in CRHTN and UCRHTN subgroups. A) Adiponectin and PWV in CRHTN ($r=0.1$; $p=0.45$). B) Adiponectin and PWV in UCRHTN ($r= -0.42$; $p<0.01$). C) Adiponectin and microalbuminuria in CRHTN ($r=0.18$; $p<0.19$), D) Adiponectin and microalbuminuria in UCRHTN ($r=-0.48$; $p<0.01$).

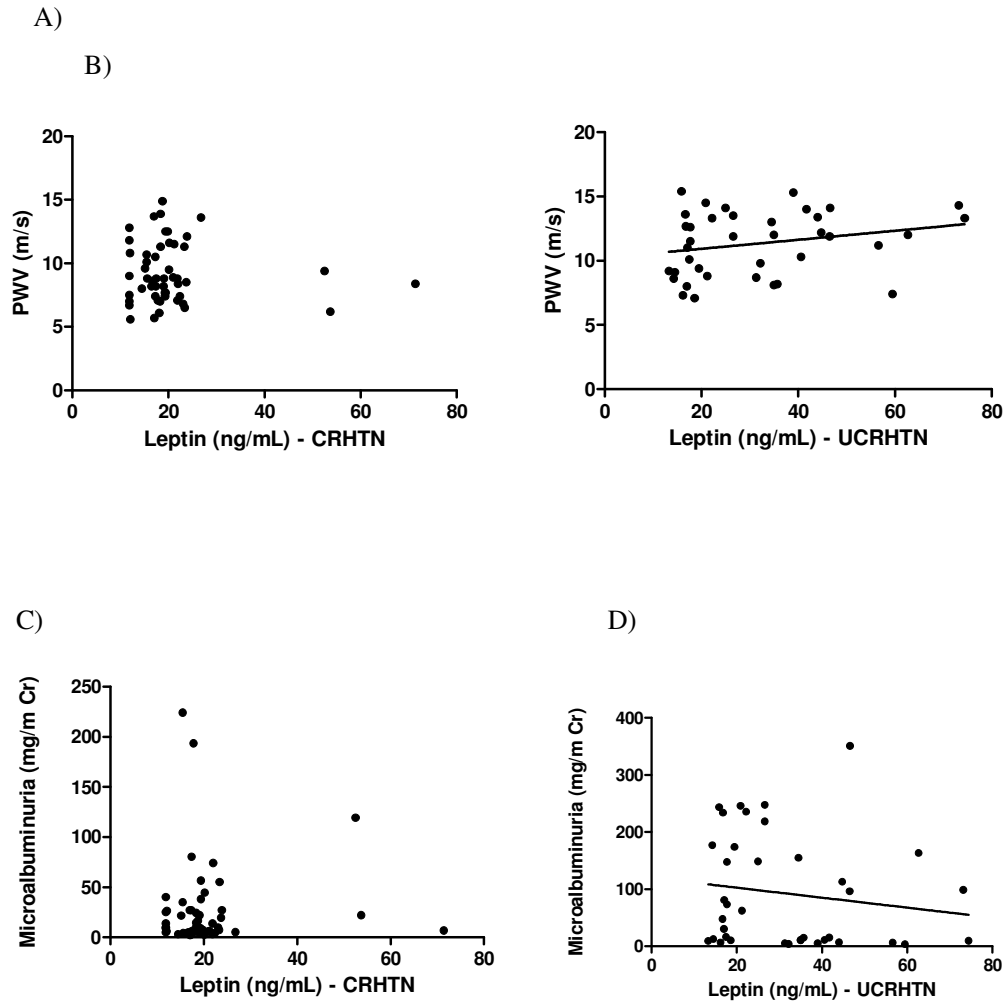


Figure 2. Correlations between adipokines and target organ damage in CRHTN and UCRHTN subgroups. A) Leptin and PWV in CRHTN ($r=0.03$; $p=0.84$). B) Leptin and PWV in UCRHTN ($r=0.37$; $p=0.02$). C) Leptin and microalbuminuria in CRHTN ($r=0.05$; $p=0.71$). D) Leptin and microalbuminuria in UCRHTN ($r=-0.2$; $p=0.26$).

REFERENCES

1. Calhoun, D.A., 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*. Circulation, 2008. **117**(25): p. e510-26.
2. Lopez, A.D., et al., *Global and regional burden of disease and risk factors, 2001: systematic analysis of population health data*. **367**(9524): p. 1747-57.
3. Vakili, B.A., P.M. Okin, and R.B. Devereux, *Prognostic implications of left ventricular hypertrophy*. Am Heart J, 2001. **141**(3): p. 334-41.
4. Vlek, A.L., et al., *Cardiovascular events and all-cause mortality by albuminuria and decreased glomerular filtration rate in patients with vascular disease*. J Intern Med, 2008. **264**(4): p. 351-60.
5. Laurent, S., et al., *Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients*. Hypertension, 2001. **37**(5): p. 1236-41.
6. Martins, L.C., et al., *Characteristics of resistant hypertension: ageing, body mass index, hyperaldosteronism, cardiac hypertrophy and vascular stiffness*. J Hum Hypertens, 2011. **25**(9): p. 532-8.
7. Quinaglia, T., et al., *Non-dipping pattern relates to endothelial dysfunction in patients with uncontrolled resistant hypertension*. J Hum Hypertens, 2011. **25**(11): p. 656-64.
8. Sowers, J.R., A. Whaley-Connell, and M. Epstein, *Narrative review: the emerging clinical implications of the role of aldosterone in the metabolic syndrome and resistant hypertension*. Ann Intern Med, 2009. **150**(11): p. 776-83.
9. Caprio, M., et al., *Pivotal role of the mineralocorticoid receptor in corticosteroid-induced adipogenesis*. FASEB J, 2007. **21**(9): p. 2185-94.
10. Ehrhart-Bornstein, M., et al., *Fat cells may be the obesity-hypertension link: human adipogenic factors stimulate aldosterone secretion from adrenocortical cells*. Endocr Res, 2004. **30**(4): p. 865-70.
11. Fonseca-Alaniz, M.H., et al., *Adipose tissue as an endocrine organ: from theory to practice*. J Pediatr (Rio J), 2007. **83**(5 Suppl): p. S192-203.
12. Fang, C., et al., *Association of higher resistin levels with inflammatory activation and endothelial dysfunction in patients with essential hypertension*. Chin Med J (Engl), 2013. **126**(4): p. 646-9.
13. Youn, J.C., et al., *Adiponectin and progression of arterial stiffness in hypertensive patients*. Int J Cardiol, 2011.
14. Hong, S.J., et al., *Associations among plasma adiponectin, hypertension, left ventricular diastolic function and left ventricular mass index*. Blood Press, 2004. **13**(4): p. 236-42.
15. Wannamethee, S.G., et al., *Plasma leptin: associations with metabolic, inflammatory and haemostatic risk factors for cardiovascular disease*. Atherosclerosis, 2007. **191**(2): p. 418-26.
16. Kawanami, D., et al., *Direct reciprocal effects of resistin and adiponectin on vascular endothelial cells: a new insight into adipocytokine-endothelial cell interactions*. Biochem Biophys Res Commun, 2004. **314**(2): p. 415-9.
17. Mansia, 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): p. 135-232.
18. Groppelli, A., et al., *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): p. 227-32.

19. Laurent, S., et al., *Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications*. Eur Heart J, 2006. **27**(21): p. 2588-605.
20. Lang, R.M., 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): p. 1440-63.
21. *Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation*. World Health Organ Tech Rep Ser, 2000. **894**: p. i-xii, 1-253.
22. de Haro Moraes, C., et al., *High-circulating leptin levels are associated with increased blood pressure in uncontrolled resistant hypertension*. J Hum Hypertens, 2013. **27**(4): p. 225-30.
23. Chow, W.S., et al., *Hypoadiponectinemia as a predictor for the development of hypertension: a 5-year prospective study*. Hypertension, 2007. **49**(6): p. 1455-61.
24. Schutte, R., et al., *Leptin is independently associated with systolic blood pressure, pulse pressure and arterial compliance in hypertensive African women with increased adiposity: the POWIRS study*. J Hum Hypertens, 2005. **19**(7): p. 535-41.
25. Kadowaki, T. and T. Yamauchi, *Adiponectin and adiponectin receptors*. Endocr Rev, 2005. **26**(3): p. 439-51.
26. Chen, H., et al., *Adiponectin stimulates production of nitric oxide in vascular endothelial cells*. J Biol Chem, 2003. **278**(45): p. 45021-6.
27. Zhu, W., et al., *Vascular effects of adiponectin: molecular mechanisms and potential therapeutic intervention*. Clin Sci (Lond), 2008. **114**(5): p. 361-74.
28. Oda, A., T. Taniguchi, and M. Yokoyama, *Leptin stimulates rat aortic smooth muscle cell proliferation and migration*. Kobe J Med Sci, 2001. **47**(3): p. 141-50.
29. Bouloumie, A., et al., *Leptin induces oxidative stress in human endothelial cells*. FASEB J, 1999. **13**(10): p. 1231-8.
30. Ziemann, S.J., V. Melenovsky, and D.A. Kass, *Mechanisms, pathophysiology, and therapy of arterial stiffness*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2005. **25**(5): p. 932-43.
31. Tsioufis, C., et al., *Relation of microalbuminuria to adiponectin and augmented C-reactive protein levels in men with essential hypertension*. Am J Cardiol, 2005. **96**(7): p. 946-51.
32. Tesauro, M., et al., *Chronic kidney disease, obesity, and hypertension: the role of leptin and adiponectin*. Int J Hypertens, 2012. **2012**: p. 943605.
33. Meyer, C., et al., *Role of the kidney in human leptin metabolism*. Am J Physiol, 1997. **273**(5 Pt 1): p. E903-7.
34. Kartal, O., et al., *[Relationship between serum leptin levels and left ventricular hypertrophy in obese hypertensive patients]*. Anadolu Kardiyol Derg, 2008. **8**(5): p. 342-6.
35. Pladevall, M., et al., *The association between leptin and left ventricular hypertrophy: a population-based cross-sectional study*. J Hypertens, 2003. **21**(8): p. 1467-73.
36. Malmqvist, K., et al., *Relationships between left ventricular mass and the renin-angiotensin system, catecholamines, insulin and leptin*. J Intern Med, 2002. **252**(5): p. 430-9.
37. Zhang, L., G.C. Curhan, and J.P. Forman, *Plasma resistin levels associate with risk for hypertension among nondiabetic women*. J Am Soc Nephrol, 2010. **21**(7): p. 1185-91.
38. Kim, M., et al., *Role of resistin in cardiac contractility and hypertrophy*. J Mol Cell Cardiol, 2008. **45**(2): p. 270-80.
39. Dimitriadis, K., et al., *Independent association of circulating resistin with glomerular filtration rate in the early stages of essential hypertension*. J Hum Hypertens, 2009. **23**(10): p. 668-73.

40. Schutte, A.E., et al., *Adipokines and cardiometabolic function: How are they interlinked?* Regul Pept, 2010. **164**(2-3): p. 133-8.
41. Savage, D.B., et al., *Resistin / Fizz3 expression in relation to obesity and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma action in humans.* Diabetes, 2001. **50**(10): p. 2199-202.
42. Bokarewa, M., et al., *Resistin, an adipokine with potent proinflammatory properties.* J Immunol, 2005. **174**(9): p. 5789-95.
43. Windham, B.G., et al., *Influence of leptin, adiponectin, and resistin on the association between abdominal adiposity and arterial stiffness.* Am J Hypertens, 2010. **23**(5): p. 501-7.
44. Saltiel, A.R., *You are what you secrete.* Nat Med, 2001. **7**(8): p. 887-8.
45. Matsubara, M., S. Maruoka, and S. Katayose, *Inverse relationship between plasma adiponectin and leptin concentrations in normal-weight and obese women.* Eur J Endocrinol, 2002. **147**(2): p. 173-80.
46. Rahmouni, K., et al., *Obesity-associated hypertension: new insights into mechanisms.* Hypertension, 2005. **45**(1): p. 9-14.
47. Rajala, M.W., et al., *Adipose-derived resistin and gut-derived resistin-like molecule-beta selectively impair insulin action on glucose production.* J Clin Invest, 2003. **111**(2): p. 225-30.
48. Koh, K.K., et al., *Additive beneficial effects of losartan combined with simvastatin in the treatment of hypercholesterolemic, hypertensive patients.* Circulation, 2004. **110**(24): p. 3687-92.
49. Koh, K.K., et al., *Distinct vascular and metabolic effects of different classes of anti-hypertensive drugs.* Int J Cardiol, 2010. **140**(1): p. 73-81.
50. Yilmaz, M.I., et al., *Effect of antihypertensive agents on plasma adiponectin levels in hypertensive patients with metabolic syndrome.* Nephrology (Carlton), 2007. **12**(2): p. 147-53.
51. Ubaid-Girioli, S., 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): p. 770-4.

REFERÊNCIAS

1. Calhoun, D.A., 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*. Circulation, 2008. **117**(25): p. e510-26.
2. Chobanian, A.V., 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): p. 2560-72.
3. Brown, M.A., M.L. Buddle, and A. Martin, *Is resistant hypertension really resistant?* Am J Hypertens, 2001. **14**(12): p. 1263-9.
4. Muxfeldt, E.S., et al., *Twenty-four hour ambulatory blood pressure monitoring pattern of resistant hypertension*. Blood Press Monit, 2003. **8**(5): p. 181-5.
5. Gelber, R.P., et al., *A prospective study of body mass index and the risk of developing hypertension in men*. Am J Hypertens, 2007. **20**(4): p. 370-7.
6. Wang, Z.V. and P.E. Scherer, *Adiponectin, cardiovascular function, and hypertension*. Hypertension, 2008. **51**(1): p. 8-14.
7. Kurukulasuriya, L.R., et al., *Hypertension in obesity*. Med Clin North Am, 2011. **95**(5): p. 903-17.
8. Sutton-Tyrrell, K., 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): p. 429-33.
9. Massiera, F., et al., *Adipose angiotensinogen is involved in adipose tissue growth and blood pressure regulation*. FASEB J, 2001. **15**(14): p. 2727-9.
10. Cooper, R., et al., *ACE, angiotensinogen and obesity: a potential pathway leading to hypertension*. J Hum Hypertens, 1997. **11**(2): p. 107-11.
11. Chaudhary, K., et al., *Resistant hypertension in the high-risk metabolic patient*. Curr Diab Rep, 2011. **11**(1): p. 41-6.
12. Whaley-Connell, A., M.S. Johnson, and J.R. Sowers, *Aldosterone: role in the cardiometabolic syndrome and resistant hypertension*. Prog Cardiovasc Dis, 2010. **52**(5): p. 401-9.
13. Caprio, M., et al., *Pivotal role of the mineralocorticoid receptor in corticosteroid-induced adipogenesis*. FASEB J, 2007. **21**(9): p. 2185-94.
14. Guo, C., 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): p. 2253-61.
15. Kadowaki, T. and T. Yamauchi, *Adiponectin and adiponectin receptors*. Endocr Rev, 2005. **26**(3): p. 439-51.
16. Chow, W.S., et al., *Hypoadiponectinemia as a predictor for the development of hypertension: a 5-year prospective study*. Hypertension, 2007. **49**(6): p. 1455-61.
17. Adamczak, M., et al., *Decreased plasma adiponectin concentration in patients with essential hypertension*. Am J Hypertens, 2003. **16**(1): p. 72-5.
18. Mahmud, A. and J. Feely, *Adiponectin and arterial stiffness*. Am J Hypertens, 2005. **18**(12 Pt 1): p. 1543-8.
19. Youn, J.C., et al., *Adiponectin and progression of arterial stiffness in hypertensive patients*. Int J Cardiol, 2011.
20. Hong, S.J., et al., *Associations among plasma adiponectin, hypertension, left ventricular diastolic function and left ventricular mass index*. Blood Press, 2004. **13**(4): p. 236-42.
21. da Silva, A.A., et al., *The role of the sympathetic nervous system in obesity-related hypertension*. Curr Hypertens Rep, 2009. **11**(3): p. 206-11.

22. Wannamethee, S.G., et al., *Plasma leptin: associations with metabolic, inflammatory and haemostatic risk factors for cardiovascular disease*. *Atherosclerosis*, 2007. **191**(2): p. 418-26.
23. Singhal, A., et al., *Influence of leptin on arterial distensibility: a novel link between obesity and cardiovascular disease?* *Circulation*, 2002. **106**(15): p. 1919-24.
24. Rahmouni, K. and D.A. Morgan, *Hypothalamic arcuate nucleus mediates the sympathetic and arterial pressure responses to leptin*. *Hypertension*, 2007. **49**(3): p. 647-52.
25. Matsumura, K., et al., *Neural regulation of blood pressure by leptin and the related peptides*. *Regul Pept*, 2003. **114**(2-3): p. 79-86.
26. Stepan, C.M., et al., *The hormone resistin links obesity to diabetes*. *Nature*, 2001. **409**(6818): p. 307-12.
27. Nagaev, I. and U. Smith, *Insulin resistance and type 2 diabetes are not related to resistin expression in human fat cells or skeletal muscle*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001. **285**(2): p. 561-4.
28. Savage, D.B., et al., *Resistin / Fizz3 expression in relation to obesity and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma action in humans*. *Diabetes*, 2001. **50**(10): p. 2199-202.
29. Hotamisligil, G.S., *The irresistible biology of resistin*. *J Clin Invest*, 2003. **111**(2): p. 173-4.
30. Kawanami, D., et al., *Direct reciprocal effects of resistin and adiponectin on vascular endothelial cells: a new insight into adipocytokine-endothelial cell interactions*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004. **314**(2): p. 415-9.
31. Zhang, L., G.C. Curhan, and J.P. Forman, *Plasma resistin levels associate with risk for hypertension among nondiabetic women*. *J Am Soc Nephrol*, 2010. **21**(7): p. 1185-91.
32. Ellington, A.A., et al., *Association of plasma resistin with glomerular filtration rate and albuminuria in hypertensive adults*. *Hypertension*, 2007. **50**(4): p. 708-14.
33. Dimitriadis, K., et al., *Independent association of circulating resistin with glomerular filtration rate in the early stages of essential hypertension*. *J Hum Hypertens*, 2009. **23**(10): p. 668-73.
34. Park, J. and V. Campese, *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): p. 7-12.
35. de Souza, W.A., et al., *Intensive monitoring of adherence to treatment helps to identify "true" resistant hypertension*. *J Clin Hypertens (Greenwich)*, 2009. **11**(4): p. 183-91.
36. Martins, L.C., et al., *Characteristics of resistant hypertension: ageing, body mass index, hyperaldosteronism, cardiac hypertrophy and vascular stiffness*. *J Hum Hypertens*, 2011. **25**(9): p. 532-8.
37. Quinaglia, T., et al., *Non-dipping pattern relates to endothelial dysfunction in patients with uncontrolled resistant hypertension*. *J Hum Hypertens*, 2011. **25**(11): p. 656-64.
38. Egan, B.M., et al., *Uncontrolled and apparent treatment resistant hypertension in the United States, 1988 to 2008*. *Circulation*, 2011. **124**(9): p. 1046-58.
39. McAdam-Marx, C., et al., *Results of a retrospective, observational pilot study using electronic medical records to assess the prevalence and characteristics of patients with resistant hypertension in an ambulatory care setting*. *Clin Ther*, 2009. **31**(5): p. 1116-23.
40. de la Sierra, A., et al., *Clinical features of 8295 patients with resistant hypertension classified on the basis of ambulatory blood pressure monitoring*. *Hypertension*, 2011. **57**(5): p. 898-902.
41. Tsioufis, C., et al., *Pathophysiology of resistant hypertension: the role of sympathetic nervous system*. *Int J Hypertens*, 2011. **2011**: p. 642416.

42. Nadar, S.K., et al., *Target organ damage in hypertension: pathophysiology and implications for drug therapy*. Curr Pharm Des, 2006. **12**(13): p. 1581-92.
43. Vakili, B.A., P.M. Okin, and R.B. Devereux, *Prognostic implications of left ventricular hypertrophy*. Am Heart J, 2001. **141**(3): p. 334-41.
44. Vlek, A.L., et al., *Cardiovascular events and all-cause mortality by albuminuria and decreased glomerular filtration rate in patients with vascular disease*. J Intern Med, 2008. **264**(4): p. 351-60.
45. Laurent, S., et al., *Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients*. Hypertension, 2001. **37**(5): p. 1236-41.
46. Willum-Hansen, T., et al., *Prognostic value of aortic pulse wave velocity as index of arterial stiffness in the general population*. Circulation, 2006. **113**(5): p. 664-70.
47. Sutton-Tyrrell, K., et al., *Elevated aortic pulse wave velocity, a marker of arterial stiffness, predicts cardiovascular events in well-functioning older adults*. Circulation, 2005. **111**(25): p. 3384-90.
48. O'Rourke, M.F., et al., *Pressure wave transmission along the human aorta. Changes with age and in arterial degenerative disease*. Circ Res, 1968. **23**(4): p. 567-79.
49. Benetos, A., 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): p. 1202-7.
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): p. 3-12.
51. Sigrist, M., et al., *Vascular calcification and cardiovascular function in chronic kidney disease*. Nephrol Dial Transplant, 2006. **21**(3): p. 707-14.
52. Stewart, A.D., et al., *Acute reduction of blood pressure by nitroglycerin does not normalize large artery stiffness in essential hypertension*. Hypertension, 2006. **48**(3): p. 404-10.
53. Safar, M.E. and P. Lacolley, *Disturbance of macro- and microcirculation: relations with pulse pressure and cardiac organ damage*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2007. **293**(1): p. H1-7.
54. Ziemann, S.J., V. Melenovsky, and D.A. Kass, *Mechanisms, pathophysiology, and therapy of arterial stiffness*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2005. **25**(5): p. 932-43.
55. Van Bortel, L.M., et al., *Expert consensus document on the measurement of aortic stiffness in daily practice using carotid-femoral pulse wave velocity*. J Hypertens, 2012. **30**(3): p. 445-8.
56. Gibbons, R.J., et al., *ACC/AHA 2002 guideline update for exercise testing: summary article: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee to Update the 1997 Exercise Testing Guidelines)*. Circulation, 2002. **106**(14): p. 1883-92.
57. Levy, D., et al., *Echocardiographic left ventricular hypertrophy: clinical characteristics. The Framingham Heart Study*. Clin Exp Hypertens A, 1992. **14**(1-2): p. 85-97.
58. de Simone, G., 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): p. 98-104.
59. Lang, R.M., 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): p. 1440-63.
60. Kannel, W.B. and J. Cobb, *Left ventricular hypertrophy and mortality--results from the Framingham Study*. Cardiology, 1992. **81**(4-5): p. 291-8.

61. Kannel, W.B. and P.W. Wilson, *An update on coronary risk factors*. Med Clin North Am, 1995. **79**(5): p. 951-71.
62. Brosius, F.C., 3rd, et al., *Detection of chronic kidney disease in patients with or at increased risk of cardiovascular disease: a science advisory from the American Heart Association Kidney and Cardiovascular Disease Council; the Councils on High Blood Pressure Research, Cardiovascular Disease in the Young, and Epidemiology and Prevention; and the Quality of Care and Outcomes Research Interdisciplinary Working Group: Developed in Collaboration With the National Kidney Foundation*. Hypertension, 2006. **48**(4): p. 751-5.
63. Ovbiagele, B., *Microalbuminuria: risk factor and potential therapeutic target for stroke?* J Neurol Sci, 2008. **271**(1-2): p. 21-8.
64. Mogensen, C.E., *Microalbuminuria predicts clinical proteinuria and early mortality in maturity-onset diabetes*. N Engl J Med, 1984. **310**(6): p. 356-60.
65. Hillege, H.L., et al., *Urinary albumin excretion predicts cardiovascular and noncardiovascular mortality in general population*. Circulation, 2002. **106**(14): p. 1777-82.
66. Ravid, M., et al., *Main risk factors for nephropathy in type 2 diabetes mellitus are plasma cholesterol levels, mean blood pressure, and hyperglycemia*. Arch Intern Med, 1998. **158**(9): p. 998-1004.
67. Pascual, J.M., et al., *Long-term impact of systolic blood pressure and glycemia on the development of microalbuminuria in essential hypertension*. Hypertension, 2005. **45**(6): p. 1125-30.
68. Pascual, J.M., et al., *Determinants of urinary albumin excretion reduction in essential hypertension: A long-term follow-up study*. J Hypertens, 2006. **24**(11): p. 2277-84.
69. Ubaid-Girioli, S., et al., *Aldosterone Excess or Escape: Treating Resistant Hypertension*. Journal of Clinical Hypertension, 2009. **11**(5): p. 245-252.
70. Christ, M., W. Grimm, and B. Maisch, *Significance of aldosterone antagonist therapy*. Internist, 2004. **45**(3): p. 347-354.
71. Ubaid-Girioli, S., 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): p. 770-4.
72. Engeli, S., et al., *Weight loss and the renin-angiotensin-aldosterone system*. Hypertension, 2005. **45**(3): p. 356-62.
73. Bochud, M., et al., *Plasma aldosterone is independently associated with the metabolic syndrome*. Hypertension, 2006. **48**(2): p. 239-45.
74. Sowers, J.R., A. Whaley-Connell, and M. Epstein, *Narrative review: the emerging clinical implications of the role of aldosterone in the metabolic syndrome and resistant hypertension*. Ann Intern Med, 2009. **150**(11): p. 776-83.
75. Cooper, S.A., et al., *Renin-angiotensin-aldosterone system and oxidative stress in cardiovascular insulin resistance*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2007. **293**(4): p. H2009-23.
76. Hubert, H.B., et al., *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): p. 968-77.
77. Mahamat, A., 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): p. 519-24.
78. Narkiewicz, K., *Diagnosis and management of hypertension in obesity*. Obes Rev, 2006. **7**(2): p. 155-62.
79. Pimenta, E., D.A. Calhoun, and S. Oparil, *Mechanisms and treatment of resistant hypertension*. Arq Bras Cardiol, 2007. **88**(6): p. 683-92.

80. Hall, J.E., *Mechanisms of abnormal renal sodium handling in obesity hypertension*. Am J Hypertens, 1997. **10**(5 Pt 2): p. 49S-55S.
81. Hall, J.E., D.A. Hildebrandt, and J. Kuo, *Obesity hypertension: role of leptin and sympathetic nervous system*. Am J Hypertens, 2001. **14**(6 Pt 2): p. 103S-115S.
82. Fonseca-Alaniz, M.H., et al., *Adipose tissue as an endocrine organ: from theory to practice*. J Pediatr (Rio J), 2007. **83**(5 Suppl): p. S192-203.
83. Ehrhart-Bornstein, M., et al., *Fat cells may be the obesity-hypertension link: human adipogenic factors stimulate aldosterone secretion from adrenocortical cells*. Endocr Res, 2004. **30**(4): p. 865-70.
84. Goodfriend, T.L., B.M. Egan, and D.E. Kelley, *Aldosterone in obesity*. Endocr Res, 1998. **24**(3-4): p. 789-96.
85. Kougas, P., et al., *Adipocyte-derived cytokine resistin causes endothelial dysfunction of porcine coronary arteries*. J Vasc Surg, 2005. **41**(4): p. 691-8.
86. Chen, C., et al., *Resistin decreases expression of endothelial nitric oxide synthase through oxidative stress in human coronary artery endothelial cells*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2010. **299**(1): p. H193-201.
87. Papadopoulos, D.P., et al., *Adiponectin and resistin plasma levels in healthy individuals with prehypertension*. J Clin Hypertens (Greenwich), 2005. **7**(12): p. 729-33.
88. Bokarewa, M., et al., *Resistin, an adipokine with potent proinflammatory properties*. J Immunol, 2005. **174**(9): p. 5789-95.
89. Calabro, P., et al., *Resistin promotes smooth muscle cell proliferation through activation of extracellular signal-regulated kinase 1/2 and phosphatidylinositol 3-kinase pathways*. Circulation, 2004. **110**(21): p. 3335-40.
90. Verma, S., et al., *Resistin promotes endothelial cell activation: further evidence of adipokine-endothelial interaction*. Circulation, 2003. **108**(6): p. 736-40.
91. Windham, B.G., et al., *Influence of leptin, adiponectin, and resistin on the association between abdominal adiposity and arterial stiffness*. Am J Hypertens, 2010. **23**(5): p. 501-7.
92. Kim, M., et al., *Role of resistin in cardiac contractility and hypertrophy*. J Mol Cell Cardiol, 2008. **45**(2): p. 270-80.
93. Fehmann, H.C. and J. Heyn, *Plasma resistin levels in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus and in healthy controls*. Horm Metab Res, 2002. **34**(11-12): p. 671-3.
94. Lee, J.H., et al., *Circulating resistin levels are not associated with obesity or insulin resistance in humans and are not regulated by fasting or leptin administration: cross-sectional and interventional studies in normal, insulin-resistant, and diabetic subjects*. J Clin Endocrinol Metab, 2003. **88**(10): p. 4848-56.
95. McTernan, P.G., et al., *Resistin and type 2 diabetes: regulation of resistin expression by insulin and rosiglitazone and the effects of recombinant resistin on lipid and glucose metabolism in human differentiated adipocytes*. J Clin Endocrinol Metab, 2003. **88**(12): p. 6098-106.
96. Youn, B.S., et al., *Plasma resistin concentrations measured by enzyme-linked immunosorbent assay using a newly developed monoclonal antibody are elevated in individuals with type 2 diabetes mellitus*. J Clin Endocrinol Metab, 2004. **89**(1): p. 150-6.
97. Yannakoulia, M., et al., *Body fat mass and macronutrient intake in relation to circulating soluble leptin receptor, free leptin index, adiponectin, and resistin concentrations in healthy humans*. J Clin Endocrinol Metab, 2003. **88**(4): p. 1730-6.
98. Fujinami, A., et al., *Enzyme-linked immunosorbent assay for circulating human resistin: resistin concentrations in normal subjects and patients with type 2 diabetes*. Clin Chim Acta, 2004. **339**(1-2): p. 57-63.

99. Vozarova de Courten, B., et al., *High serum resistin is associated with an increase in adiposity but not a worsening of insulin resistance in Pima Indians*. Diabetes, 2004. **53**(5): p. 1279-84.
100. Haluzik, M., et al., *Serum leptin levels in patients with primary hyperaldosteronism before and after treatment: relationships to insulin sensitivity*. J Hum Hypertens, 2002. **16**(1): p. 41-5.
101. La Cava, A., C. Alviggi, and G. Matarese, *Unraveling the multiple roles of leptin in inflammation and autoimmunity*. J Mol Med (Berl), 2004. **82**(1): p. 4-11.
102. Barba, G., et al., *Plasma leptin and blood pressure in men: graded association independent of body mass and fat pattern*. Obes Res, 2003. **11**(1): p. 160-6.
103. Schutte, R., et al., *Leptin is independently associated with systolic blood pressure, pulse pressure and arterial compliance in hypertensive African women with increased adiposity: the POWIRS study*. J Hum Hypertens, 2005. **19**(7): p. 535-41.
104. Xu, F.P., et al., *Leptin induces hypertrophy via endothelin-1-reactive oxygen species pathway in cultured neonatal rat cardiomyocytes*. Circulation, 2004. **110**(10): p. 1269-75.
105. Rajapurohitam, V., et al., *The obesity-associated peptide leptin induces hypertrophy in neonatal rat ventricular myocytes*. Circ Res, 2003. **93**(4): p. 277-9.
106. Pladevall, M., et al., *The association between leptin and left ventricular hypertrophy: a population-based cross-sectional study*. J Hypertens, 2003. **21**(8): p. 1467-73.
107. Malmqvist, K., et al., *Relationships between left ventricular mass and the renin-angiotensin system, catecholamines, insulin and leptin*. J Intern Med, 2002. **252**(5): p. 430-9.
108. Kissebah, A.H., 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): p. 14478-83.
109. Hotta, K., et al., *Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2000. **20**(6): p. 1595-9.
110. Biolo, A., et al., *Determinants of adiponectin levels in patients with chronic systolic heart failure*. Am J Cardiol, 2010. **105**(8): p. 1147-52.
111. Goldstein, B.J. and R. Scalia, *Adiponectin: A novel adipokine linking adipocytes and vascular function*. J Clin Endocrinol Metab, 2004. **89**(6): p. 2563-8.
112. Ouchi, N., et al., *Association of hypoadiponectinemia with impaired vasoreactivity*. Hypertension, 2003. **42**(3): p. 231-4.
113. Tsioufis, C., 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): p. 1162-9.