



Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Faculdade de Ciências Médicas

Fabiana Braunstein Bassan

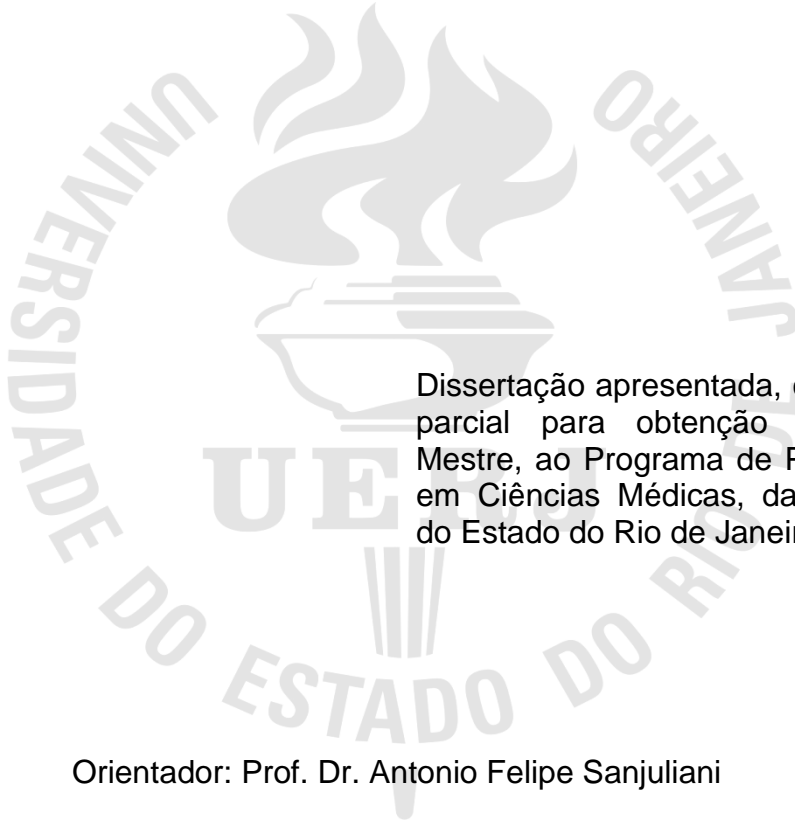
**Avaliação da função endotelial em pacientes com
hipertensão arterial resistente**

Rio de Janeiro

2014

Fabiana Braunstein Bassan

**Avaliação da função endotelial em pacientes com
hipertensão arterial resistente**



Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Felipe Sanjuliani

Rio de Janeiro

2014

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

B317 Bassan, Fabiana Braunstein.
Avaliação da função endotelial em pacientes com hipertensão arterial resistente / Fabiana Braunstein Bassan - 2014.
99 f.

Orientador: Antonio Felipe Sanjuliani.

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Pós-graduação em Ciências Médicas.

1. Hipertensão arterial - Teses. 2. Endotélio - Teses. 3. Hipertensão - Tratamento - Teses. I. Sanjuliani, Antonio Felipe. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

CDU 616.12-008.331.1

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Fabiana Braunstein Bassan

**Avaliação da função endotelial em pacientes com
hipertensão arterial resistente**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 17 de outubro de 2014.

Orientador: _____

Prof. Dr. Antonio Felipe Sanjuliani

Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Wille Oigman

Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof. Dra. Andréa Araujo Brandão

Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof. Dra. Lílian Soares da Costa

Santa Casa da Misericórdia do Rio de Janeiro

Rio de Janeiro

2014

DEDICATÓRIA

Aos meus filhos Juliana e Gustavo,
Minha vida.

AGRADECIMENTOS

Ao professor e meu orientador Antonio Felipe Sanjuliani, grande responsável por eu estar aqui hoje, agradeço por acreditar, por incentivar, por estar sempre perto, por sua paixão em ensinar, um verdadeiro mestre e exemplo de vida. Muito obrigada por tudo!

Ao meu marido, Eduardo, por compartilhar a vida comigo, por ser parceiro desde o primeiro ano da faculdade de medicina, por sempre me apoiar, ser torcedor e por ter dado todo suporte aos nossos pequenos, quando muitas vezes estive “ausente” para a realização deste trabalho.

Aos meus filhos, Juliana e Gustavo, que são a minha vida! Minha alegria, meu motor diário, fonte de inspiração, por me fazerem sentir o maior amor do mundo. É tudo por vocês!

Aos meus pais, Lyana e Roberto, por terem proporcionado toda minha formação, minha base, não só escolar, mas principalmente como pessoa. Por me permitirem crescer dentro de uma verdadeira família, meu alicerce. Obrigada por tudo!

As minhas irmãs, Claudia e Flavia, hoje, uma mais longe, a outra mais perto, mas sempre muito presentes em todas as etapas da minha vida. Amigas e torcedoras! Ainda me presentearam com sobrinhos que me enchem de alegrias.

Aos meus avós, Ester, Mojzesz e Ita, que não estão mais aqui, mas sem dúvida olham por mim e devem estar orgulhosos de onde estão. Três grandes exemplos de vida que com certeza têm uma influência enorme em quem sou hoje.

A Eliane Soares, secretária do CLINEX, foi o meu braço direito (e o esquerdo também) em todas as etapas do estudo, organizando agenda, pacientes, prontuários, sempre incansável!

A Paula, Fátima e Cristiane, também sempre presentes, dando suporte aos pacientes e a todos nós envolvidos nas pesquisas.

As biólogas Maria de Lourdes G. Rodrigues e Débora Cristina T. Valença, que participaram e deram grande suporte a várias etapas da realização dessa pesquisa.

A toda equipe CLINEX e meus companheiros de mestrado, pela recepção, pelo incentivo, pela generosidade em compartilhar conhecimento e também todas as angústias. Foi sem dúvida, um grande aprendizado.

A minha sogra, Célia, por estar sempre torcendo e apoiando.

Aos meus familiares e amigos, pela amizade e grande incentivo para realização deste trabalho.

Aos colegas de trabalho do Bem Viver e Gestão de Saúde Amil pelo apoio e compreensão nos momentos mais tensos e por tocarem o trabalho sempre com comprometimento.

Aos pacientes, é tudo por eles e para eles. Obrigada por acreditarem no nosso trabalho!

Aos professores Mario Fritsch Toros Neves e Wille Oigman, pelo encaminhamento de pacientes para a nossa pesquisa e pela convivência divertida ao longo desses anos. Grandes mestres.

Às professoras Maria Eliane Magalhães e Andrea Brandão por compartilharem os pacientes da pesquisa ReHOT.

À professora Luciana Tricai Cavalini pela contribuição com a orientação estatística.

Ao apoio científico e financeiro da FAPERJ, na pessoa do Prof. Ruy Garcia Marques, seu diretor presidente, que tem dado enorme contribuição para o desenvolvimento de pesquisas nesta universidade.

Ao CNPQ, pelo apoio e financiamento à pesquisa.

A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém
ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.

Arthur Schopenhauer

RESUMO

BASSAN, Fabiana Braunstein. *Avaliação da função endotelial em pacientes com hipertensão arterial resistente*. 2014. 99f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

Introdução: A hipertensão arterial resistente (HAR) é definida pela persistência da pressão arterial (PA) $\geq 140/90$ mmHg a despeito do uso de 3 anti-hipertensivos em doses plenas, incluindo diurético. Revisão recente da literatura mostra poucos estudos avaliando o perfil e o comportamento da função endotelial em pacientes com HAR. **Objetivo:** avaliar a função endotelial em pacientes hipertensos resistentes. **Desenho do Estudo e Métodos:** Estudo transversal com 60 pacientes que foram avaliados em uma visita (V3) de um estudo longitudinal, onde numa primeira fase todos pacientes tiveram padronização do tratamento anti-hipertensivo. Foram incluídos pacientes (V0) com PA $\geq 160/100$ mmHg e < 220 mmHg e todos receberam clortalidona 25mg/dia e enalapril 20mg 2x/dia ou losartana 50mg 2x/dia (intolerantes ao enalapril). **Visita 1:** se PA $\geq 140/90$ mmHg acrescentou-se anlodipino 5mg/dia, foi realizada avaliação laboratorial de rotina do hipertenso e monitorização ambulatorial da PA-24h (MAPA). **Visita 2:** se PA $\geq 140/90$ mmHg anlodipino foi titulado para 10mg/dia. **Visita 3:** todos os pacientes receberam avaliação clínica, da pressão arterial por MAPA, laboratorial de rotina e da função endotelial. Formaram-se dois grupos: os que controlaram a PA, grupo hipertensão arterial controlada (HAC); e os que permaneceram com PA de consultório $\geq 140/90$ mmHg e PA na MAPA-24h $\geq 130/80$ mmHg, foram considerados resistentes. O grupo HAR recebeu aleatoriamente espironolactona ou clonidina por mais 12 semanas para tentar controlar a PA e o grupo HAC teve assistência farmacológica mantida no mesmo período. A PA foi avaliada por método oscilométrico com aparelho digital semi-automático Microlife modelo BP3AC1-1PC e MAPA por aparelho SpaceLabs 90207. A função endotelial avaliada através de tonometria arteriolar periférica (PAT) pelo EndoPAT2000[®] e por biomarcadores (I-CAM-1, V-CAM-1, VEGF, MCP-1, IL-6, adiponectina) através da técnica Luminex[™]xMAP. **Resultados:** Dos 60 pacientes avaliados, 36 controlaram a PA, grupo HAC, e 24 permaneceram resistentes ao tratamento, grupo HAR, na visita V3. Na avaliação da PA pela MAPA-24h observamos que no grupo HAC a PAS-24h foi de $121,1 \pm 1,7$ mmHg e no grupo HAR $147 \pm 3,3$ mmHg, enquanto a PAD-24h no grupo HAC foi de $76,64 \pm 1,5$ mmHg e no grupo HAR $88,58 \pm 2,4$ mmHg ($p < 0,0001$). O descenso noturno, apesar de maior no grupo HAC, não apresentou significância estatística entre os dois grupos ($p > 0,05$). A função endotelial avaliada através do PAT mostrou índice de hiperemia reativa de $1,85 \pm 0,056$ e $1,65 \pm 0,074$ nos grupos HAC e HAR respectivamente ($p = 0,036$) e quando avaliada através dos biomarcadores observamos: ICAM-1 (HAC= $186,6 \pm 12,65$ vs HAR= $240,9 \pm 23,76$ ng/ml, $p = 0,038$), VCAM-1 (HAC= $627,1 \pm 37,09$ vs HAR= $706,0 \pm 86,10$ ng/ml, $p = 0,372$), VEGF (HAC= $403,3 \pm 94,91$ vs HAR= $612,7 \pm 88,27$ pg/ml, $p = 0,123$) e MCP-1 (HAC= $694,9 \pm 69,09$ vs HAR= $787,0 \pm 52,80$ pg/ml, $p = 0,315$). Na avaliação dos biomarcadores inflamatórios, observamos IL-6 no grupo HAC= $1,897 \pm 0,2165$ pg/ml e no HAR= $9,793 \pm 4,421$ pg/ml ($p = 0,027$) e adiponectina no grupo HAC= 10570 ± 1516 pg/ml e HAR= 8422 ± 1295 pg/ml ($p = 0,301$). A razão de prevalência do comprometimento da função endotelial no grupo HAR foi de 54% (OR= 3,55; 95% IC 1,18- 10,67; $p = 0,029$). **Conclusões:** no presente trabalho, as análises das variáveis estudadas na visita V3, mostraram que os pacientes com HAR têm maior comprometimento da função endotelial que os pacientes com HAC.

Palavras-chave: Hipertensão arterial resistente. Hipertensão arterial. Função endotelial. Tonometria arterial periférica.

ABSTRACT

BASSAN, Fabiana Braunstein. *Assessment of endothelial function in patients with resistant hypertension*. 2014. 99f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

Introduction: Resistant hypertension (RH) is defined by the persistence of blood pressure (BP) $\geq 140/90$ mmHg despite the use of 3 antihypertensive drugs at full doses, including a diuretic. Recent review of the literature shows few studies evaluating the profile and behavior of endothelial function in patients with RH. **Objective:** to evaluate endothelial function in resistant hypertensive patients. **Study Design and Methods:** Cross-sectional study with 60 patients who were evaluated in a visit (V3) of a longitudinal study, where all patients initially had standardization of antihypertensive treatment. Patients with BP $\geq 160/100$ mmHg and < 220 mmHg were included (V0) and they all received chlorthalidone 25mg/day and enalapril 20mg 2x/day or losartan 50mg 2x/day (intolerant enalapril). **Visit 1:** whether BP $\geq 140/90$ mmHg amlodipine 5mg/day was added, it was conducted routine hypertensive laboratory evaluation and ambulatory monitoring of BP-24h (AMBP). **Visit 2:** if BP $\geq 140/90$ mmHg amlodipine was titrated to 10mg/day. **Visit 3:** all patients received clinical evaluation, blood pressure by AMBP, routine laboratory and endothelial function. Two groups were formed: those who controlled the BP, group controlled hypertension (CH); and those who remained with BP $\geq 140/90$ mmHg and BP on ABPM-24h $\geq 130/80$ mmHg, were considered resistant. The RH group randomly received spironolactone or clonidine for 12 more weeks to try to control the BP and the CH group had pharmacological assistance maintained the same period. BP was measured by oscillometric method with semi-automatic digital device Microlife model BP3AC1-1PC and ABPM by SpaceLabs 90207 appliance. The endothelial function was valued through peripheral arteriolar tonometry (PAT) by EndoPAT2000[®] and through biomarkers (I-CAM-1, V-CAM-1, VEGF, MCP-1, IL-6, adiponectin) by Luminex[™] xMAP technique. **Results:** Of the 60 patients evaluated, 36 controlled the BP, CH group, and 24 remained resistant to treatment, RH group in visit V3. In the assessment of BP by AMBP-24h was observed that in the CH group SBP-24h was 121.1 ± 1.7 mmHg and RH group 147 ± 3.3 mmHg, whereas DBP-24h in CH group was 76.64 ± 1.5 mmHg and RH group 88.58 ± 2.4 mmHg ($p < 0.0001$). The nocturnal fall in BP, although higher in RH group, showed no statistical significance between the two groups ($p > 0.05$). Endothelial function assessed by the PAT showed reactive hyperemia index of 1.85 ± 0.056 and 1.65 ± 0.074 in CH and RH groups respectively ($p = 0.036$) and when evaluated by the biomarkers was observed: ICAM-1 (CH = 186.6 ± 12.65 ng/ml vs. RH = 240.9 ± 23.76 ng/ml, $p = 0.038$) VCAM-1 (CH = 627.1 ± 37.09 ng/ml vs. RH = 706.0 ± 86.10 ng/ml, $p = 0.372$), VEGF (CH = 403.3 ± 94.91 pg/ml vs. RH = 612.7 ± 88.27 pg/ml, $p = 0.123$) and MCP-1 (CH = 694.9 ± 69.09 pg/ml vs. RH = 787.0 ± 52.80 pg/ml, $p = 0.315$). In the assessment of inflammatory biomarkers, was observed IL-6 in groups CH = 1.89 ± 0.22 pg/ml and RH = $9,79 \pm 4,41$ pg/ml ($p = 0.027$) and adiponectin in CH = 10570 ± 1516 pg/ml and RH = 1295 ± 8422 pg/ml ($p = 0.301$). The prevalence rate of impaired endothelial function in the RH group was 54% (OR = 3.55; 95% CI 1.18 - 10.67; $p = 0.029$). **Conclusions:** in this study, the analyzes of variables at visit V3, showed that patients with RH have greater impairment of endothelial function than patients with CH.

Keywords: Resistant Hypertension. Hypertension. Endothelial function. Peripheral arterial tonometry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Possibilidades de diagnóstico, de acordo com as medidas de pressão arterial casual e monitorização ambulatorial da pressão arterial (MAPA) na vigília ou monitorização residencial da pressão arterial (MRPA).....	16
Figura 2 -	Taxas de mortalidade por doença cardiovascular e suas diferentes causas no Brasil.....	18
Figura 3 -	Proposta do mecanismo fisiopatológico para ativação do sistema nervoso simpático e desenvolvimento de hipertensão arterial resistente.....	21
Figura 4 -	Desenho completo do estudo.....	50
Figura 5 -	Foto ilustrativa do uso do EndoPat 2000®	53
Figura 6 -	Foto ilustrativa dos resultados do EndoPat 2000®	53
Figura 7 -	Avaliação da pressão arterial sistólica e diastólica nos grupos hipertensão arterial controlada e hipertensão arterial resistente, método oscilométrico.....	60
Figura 8 -	Valores do índice de hiperemia reativa nos grupos estudados.....	62
Figura 9 -	Valores de molécula de adesão intercelular -1 nos grupos estudados.....	63
Figura 10 -	Valores de interleucina-6 nos grupos estudados.....	64
Figura 11 -	Razão de prevalência do comprometimento da função endotelial entre os grupos de hipertensos.....	65
Figura 12 -	Gráfico de correlação da pressão arterial sistólica com interleucina-6, grupo todo.....	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Fatores que contribuem para a hipertensão arterial resistente.....	27
Tabela 2 -	Cálculo do tamanho da amostra.....	57
Tabela 3 -	Características iniciais dos pacientes na visita V1.....	59
Tabela 4 -	Valores médios da pressão arterial sistólica e diastólica avaliadas pela MAPA nos dois grupos estudados na visita V3.....	61
Tabela 5 -	Descenso noturno sistólico e diastólico pela MAPA 24h, segundo o grupo de estudo.....	62
Tabela 6 -	Valores médios de molécula de adesão intercelular-1, molécula de adesão celular vascular-1, fator de crescimento endotelial vascular e proteína quimiotática de monócitos 1 nos diferentes grupos estudados	64
Tabela 7 -	Valores médios de interleucina-6 e adiponectina nos diferentes grupos estudados.....	65
Tabela 8 -	Razão de prevalência da disfunção endotelial, por grupo de hipertensão e no grupo todo.....	66
Tabela 9 -	Correlações entre a pressão arterial sistólica, índice de hiperemia reativa e os biomarcadores de função endotelial e inflamatórios, nos grupos hipertensão arterial controlada e resistente.....	66
Tabela 10 -	Correlações entre a pressão arterial diastólica, índice de hiperemia reativa e os biomarcadores de função endotelial e inflamatórios, nos grupos hipertensão arterial controlada e resistente.....	67
Tabela 11 -	Correlações entre a pressão arterial sistólica, índice de hiperemia reativa e os biomarcadores de função endotelial e inflamatórios e da pressão arterial diastólica, índice de hiperemia reativa e os biomarcadores de função endotelial e inflamatórios no grupo todo.....	68

LISTA DE ABREVIATURAS

AIX	<i>Augmentation Index</i> (índice de aumento)
Ang II	Angiotensina II
AVE	Acidente vascular encefálico
cGMP	Monofosfato cíclico de guanosina
DAC	Doença arterial coronariana
DCV	Doença cardiovascular
DLP	Dislipidemia
DM	Diabetes mellitus
ECG	Eletrocardiograma
EDCF	Fatores constritores derivados do endotélio
EDHF	Fatores hiperpolarizantes derivados do endotélio
EDRF	Fatores relaxantes derivados do endotélio
EMP	Micropartículas originadas das células endoteliais
eNOS	NO sintase endotelial
EPCs	Células progenitoras embrionárias
EROs	Espécies reativas de oxigênio
ESH	<i>European Society of Hypertension</i> (Sociedade Européia de Hipertensão)
ET-1	Endotelina
FC	Frequência cardíaca

FDA	<i>Food and drug administration</i> (Administração de alimentos e medicamentos)
FMD	Vasodilatação fluxo-mediada
HAR	Hipertensão arterial resistente
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HDL	Lipoproteína de alto peso molecular
ICAM-1	Molécula de adesão intercelular-1
ICC	Insuficiência cardíaca congestiva
IECA	Inibidor da enzima conversora da angiotensina
IL-6	Interleucina-6
LDL	Lipoproteína de baixo peso molecular
MAPA	Monitorização ambulatorial da pressão arterial
MCP-1	Proteína quimiotática de monócitos -1
mmHg	Milímetros de mercúrio
MPs	Micropartículas
MRPA	Monitorização residencial da pressão arterial
NFκB	Fator nuclear kappa B
NO	Óxido nítrico
O ₂ ⁻	Ânion superóxido
oxLDL	Lipoproteína de baixo peso molecular oxidada
PA	Pressão arterial
PAD	Pressão arterial diastólica
PAI-1	Inibidor do ativador do plasminogênio1

PAS	Pressão arterial sistólica
PCR-Us	Proteína C reativa ultrassensível
PGH ₂	Prostaglandina H ₂
PGI ₂	Prostaciclina I ₂
RHI	<i>Reactive hyperemia index</i> (Índice de Hiperemia Reativa)
SNS	Sistema nervoso simpático
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TNF- α	Fator de necrose tumoral- α
TXA ₂	Tromboxano A ₂
VCAM-1	Molécula de adesão celular vascular-1
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular
VOP	Velocidade de onda de pulso

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	16
1	REVISAO DA LITERATURA	19
1.1	Hipertensão arterial resistente: definição e epidemiologia	19
1.2	Hipertensão arterial resistente: fisiopatologia	20
1.3	Pseudorresistência	24
1.4	Fatores que contribuem para a hipertensão arterial resistente	26
1.5	Tratamento da hipertensão arterial resistente	28
1.6	Endotélio vascular	29
1.7	Disfunção endotelial	32
1.8	Avaliação da função endotelial	36
1.8.1	<u>Biomarcadores de função endotelial e inflamação</u>	36
1.8.2	<u>Outros marcadores circulantes de função endotelial</u>	37
1.8.2.1	Micropartículas endoteliais.....	37
1.8.2.2	Células progenitoras embrionárias.....	38
1.8.2.3	Marcadores de trombose.....	39
1.8.2.4	LDL oxidada.....	39
1.8.3	<u>Função endotelial das artérias coronárias</u>	40
1.8.4	<u>Dilatação fluxo mediada</u>	40
1.8.5	<u>Laser dopplerfluxometria</u>	41
1.8.6	<u>Tonometria arteriolar periférica</u>	42
2	OBJETIVOS	44
2.1	Objetivo geral	44
2.2	Objetivos específicos	44
3	JUSTIFICATIVA	45
4	CASUÍSTICA	46
4.1	Critérios de inclusão	47
4.2	Critérios de exclusão	47
5	DESENHO DO ESTUDO	48
6	MÉTODOS	51
6.1	Avaliação da pressão arterial	51

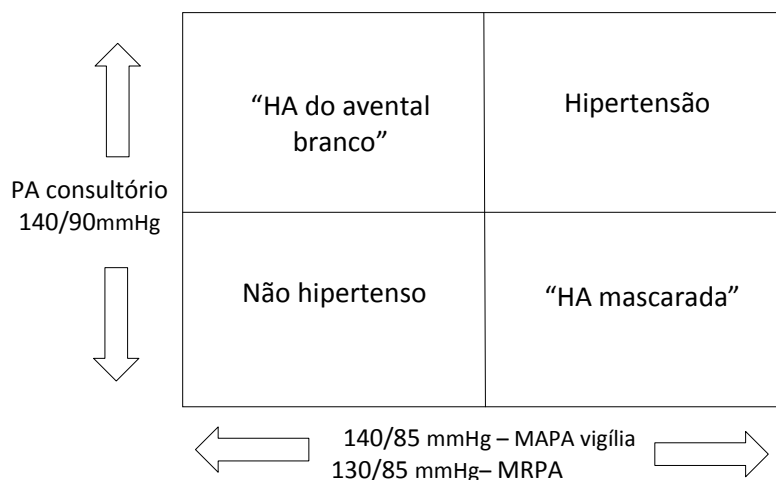
6.2	Avaliação da função endotelial	51
6.2.1	<u>Tonometria arteriolar periférica</u>	52
6.2.2	<u>Biomarcadores inflamatórios e de função endotelial</u>	54
6.3	Avaliação laboratorial de rotina	55
7	ANÁLISE ESTATÍSTICA E CÁLCULO DO TAMANHO DA AMOSTRA	56
8	RESULTADOS	58
8.1	Características dos pacientes no início do estudo	58
8.2	Avaliação da pressão arterial de consultório– método oscilométrico	60
8.3	Avaliação da pressão arterial – MAPA	61
8.4	Avaliação da função endotelial – EndoPAT	62
8.5	Avaliação da função endotelial – biomarcadores	63
8.6	Avaliação dos biomarcadores inflamatórios	64
8.7	Razão de prevalência entre os grupos de hipertensos e a função endotelial	65
8.8	Análises de correlação entre as pressões arteriais sistólica e diastólica e função endotelial medida pelo PAT e biomarcadores ...	66
8.9	Análises de regressão linear multivariada	69
9	DISCUSSÃO	70
9.1	Considerações gerais	70
9.2	Hipertensão arterial e função endotelial	70
9.3	Limitações do estudo	78
	CONCLUSÕES	80
	REFERÊNCIAS	81
	APÊNDICE A – Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa	95
	APÊNDICE B – Termo de consentimento livre e esclarecido	96

INTRODUÇÃO

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma condição clínica multifatorial caracterizada por níveis elevados e sustentados de pressão arterial (PA). Associa-se frequentemente a alterações funcionais e/ou estruturais dos órgãos-alvo (coração, encéfalo, rins e vasos sanguíneos) e a alterações metabólicas, com consequente aumento do risco de eventos cardiovasculares fatais e não-fatais (Malta *et al.*, 2009).

O diagnóstico da HAS é feito através da medida casual da PA, também chamada de medida de consultório, com o auxílio da Monitorização Ambulatorial da Pressão Arterial (MAPA) de 24h ou ainda, da Monitorização Residencial da Pressão Arterial (MRPA), se necessário. Os limites que definem HAS consideram valores de PA sistólica ≥ 140 mmHg e/ou de PA diastólica ≥ 90 mmHg em medidas de consultório. O diagnóstico deverá ser sempre validado por medidas repetidas, em condições ideais, em, pelo menos, três ocasiões. A figura 1 mostra as diferentes possibilidades de classificação do comportamento da PA quanto ao diagnóstico, segundo a VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão (VI DBH, 2010).

Figura 1 - Possibilidades de diagnóstico, de acordo com as medidas de pressão arterial casual e monitorização ambulatorial da pressão arterial (MAPA) na vigília ou monitorização residencial da pressão arterial (MRPA)



Legenda: PA = pressão arterial; HA = hipertensão arterial; MAPA = monitorização ambulatorial da pressão arterial; MRPA = monitorização residencial da pressão arterial.

Fonte: Adaptado de: VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão, 2010. V Diretrizes Brasileiras de MAPA, 2011.

A HAS atinge aproximadamente um terço da população adulta, continua sendo considerada o maior fator de risco independente relacionado à doença cardiovascular (DCV) (Kannel, 1993; Kaplan e Victor, 2012) e permanece como o maior fator de risco modificável, apesar do importante avanço no conhecimento da sua fisiopatologia e disponibilidade de métodos efetivos para o seu tratamento.

Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS, 2013a) estimam que 17,3 milhões de mortes ao ano são atribuídas a DCV, sendo a principal causa de morte no mundo, atingindo 30% dos óbitos. Destas, 9,4 milhões (16,5%) são atribuídas a HAS, sendo 51% por AVE e 45% por DAC. No panorama mundial, a África é a região com maior prevalência de HAS, com 46% para ambos os sexos. A menor prevalência de HAS está nas Américas, com 25% em ambos os sexos. De modo geral, os homens apresentam PA mais elevada do que as mulheres, mas essa diferença só é significativa nas Américas e na Europa (OMS, 2013b).

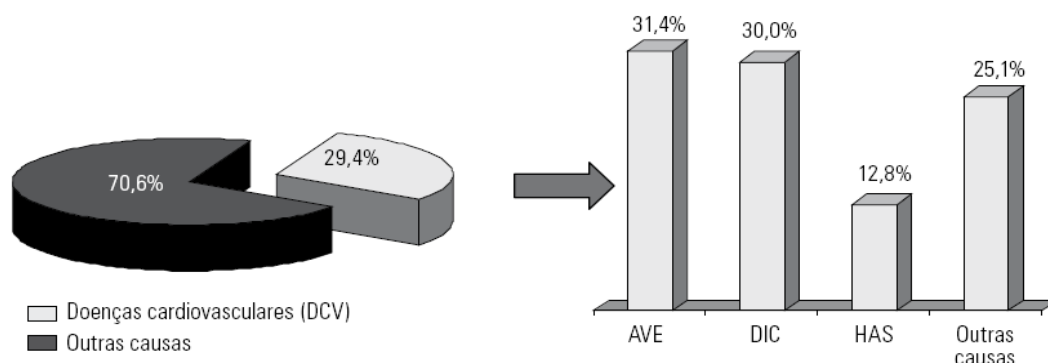
Dados brasileiros de 2008, anotados nos boletins da OMS, apontam que a prevalência de níveis pressóricos elevados acomete, no total, indivíduos acima de 25 anos em 40%. Associando-se aos níveis pressóricos elevados também foi observada elevação dos níveis glicêmicos acima do normal em 9,7%, excesso de peso 51,7%, obesidade 18,8% e elevação anormal do colesterol em 42,8%. Portanto, dificilmente encontraremos indivíduos com níveis pressóricos elevados como única comorbidade, e sim, vários fatores de risco associados à hipertensão arterial (VI DBH, 2010).

Um fator preocupante acerca da HA é o aumento da sua prevalência. Nos Estados Unidos da América a sua prevalência aumentou de 24,4% em 1990 para 28,9% em 2004. Predominantemente esse aumento deveu-se ao envelhecimento populacional e ao crescente número de obesos (Cutler *et al.*, 2008, Lloyd-Jones *et al.*, 2009). O impacto mais impressionante causado pelo envelhecimento foi observado entre os participantes do *Framingham Heart Study*. Entre aqueles que permaneceram normotensos na idade de 55 ou 65 anos, o acompanhamento de 20 anos revelou o desenvolvimento de HA em quase 90% daqueles indivíduos que atualmente estão com 75 ou 85 anos (Vasan *et al.*, 2002). Na Europa, a prevalência da HA varia entre os diferentes países e parece ser em torno de 30-45% da população geral, aumentando esse valor entre os idosos (Mancia *et al.*, 2013).

Outra questão preocupante é o controle inadequado da PA em praticamente todos os países a despeito do grande arsenal medicamentoso disponível. De acordo com pesquisas realizadas na década de 1990, com limites de PA definidos em 140/90 mmHg, o controle somente foi atingido em 29% dos hipertensos nos Estados Unidos da América (EUA), em 17% no Canadá e em menos de 10% em cinco países europeus (Inglaterra, Alemanha, Itália, Espanha e Suécia) (Wolf-Maier *et al.*, 2004). Dados mais recentes do “Centers of Disease Control” dos EUA mostraram que já se conseguiu melhorar essa taxa, embora atingindo apenas 52% de controle da PA (Nwankwo *et al.*, 2013). No Brasil, nos pacientes hipertensos já medicados, a PA permanece elevada em 42,3%, mostrando também um controle inadequado (WHO, 2008).

A mortalidade por doença cardiovascular aumenta progressivamente com a elevação da PA já a partir de 115/75 mmHg (Kannel *et al.*, 1996; Lewington *et al.*, 2002). Em 2003, 27,4% dos óbitos foram decorrentes de DCV, atingindo 37% quando são excluídos os óbitos por causas mal definidas e a violência. (V DBH, 2006). Já em 2007 (Figura 2), os óbitos por DCV chegaram a quase 29,4%, sendo AVE a principal causa, seguida de doenças isquêmicas do coração e HAS (VI DBH, 2010). Entre os fatores de risco para mortalidade, a hipertensão arterial explica 40% das mortes por AVE e 25% daquelas por doença coronariana (Chobanian *et al.*, 2003).

Figura 2 - Taxas de mortalidade por DCV e suas diferentes causas no Brasil, em 2007



Legenda: (AVE: Acidente Vascular Encefálico; DIC: Doença Isquêmica do Coração; HAS: Hipertensão Arterial Sistêmica). Fonte: VI DBH, 2010.

1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Hipertensão arterial resistente: definição e epidemiologia

Os pacientes hipertensos resistentes são definidos por manterem níveis de PA de consultório superiores a 140/90 mmHg mesmo quando em uso de 3 fármacos anti-hipertensivos de classes farmacológicas diferentes, em suas doses máximas toleradas, sendo um deles preferencialmente um diurético (Calhoun *et al.*, 2008). Hipertensão arterial resistente não é sinônimo de hipertensão não controlada. Esta última inclui todos os pacientes hipertensos que estão sem controle da PA, seja por estarem recebendo medicações com doses subótimas, ou por não terem aderência ao tratamento, ou ainda podem ter hipertensão secundária não diagnosticada e também inclui aqueles com resistência verdadeira ao tratamento.

De acordo com essa definição os pacientes hipertensos resistentes devem atingir o controle pressórico em uso de doses plenas de 4 ou mais drogas anti-hipertensivas. Mesmo considerando a arbitrariedade na definição da hipertensão resistente, ela é necessária para identificar pacientes de alto risco que possam ter hipertensão de causas reversíveis ou aqueles que, por causa dos níveis pressóricos elevados e persistentes, possam se beneficiar de intervenções diagnósticas e terapêuticas mais específicas e que resultem em melhor sucesso no controle da hipertensão.

A prevalência da hipertensão arterial resistente (HAR) na população geral é difícil de determinar exatamente. Dependendo da população e do centro do estudo esta pode variar de 5% em clínicas gerais a até 50% em clínicas de nefrologia (Sarafidis e Bakris, 2008). Outro estudo refere que em clínicas especializadas utilizando ótimas estratégias medicamentosas a prevalência é aproximadamente de 3-5% (Papademetriou, 2011; Tsioufis *et al.*, 2011). Mesmo havendo variação, estima-se que a prevalência da HAR seja de 10% da população hipertensa, o que corresponde a mais de 6 milhões de pacientes nos EUA e mais de 10 milhões na Europa (Mancia, 2013). Apesar de diversos fatores e condições que possam ser identificados e corrigidos no tratamento dos hipertensos (baixa aderência ao

tratamento, combinação inadequada ou baixa dose de medicamentos e causas secundárias) um percentual dos pacientes permanece com níveis pressóricos elevados.

No Brasil, a prevalência da HAR e suas características fenotípicas são objetos de controvérsia, havendo uma prevalência estimada de 20% (Krieger *et al.*, 2014).

Em estudo recente realizado em duas coortes de pacientes de sistemas de saúde americanos, foi demonstrado incidência de HAR de 1,9%, ou seja, a cada 50 pacientes nos quais foi iniciado tratamento anti-hipertensivo um desenvolveu HAR dentro de 1,5 anos. Também foi evidenciado que aproximadamente um em cada seis pacientes em uso de três medicações anti-hipertensivas ou mais manteve critério para HAR ao longo do seu acompanhamento (Daugherty *et al.*, 2012).

Com o envelhecimento da população e aumento na incidência de DM, obesidade e de insuficiência renal, espera-se que o número de hipertensos resistentes cresça.

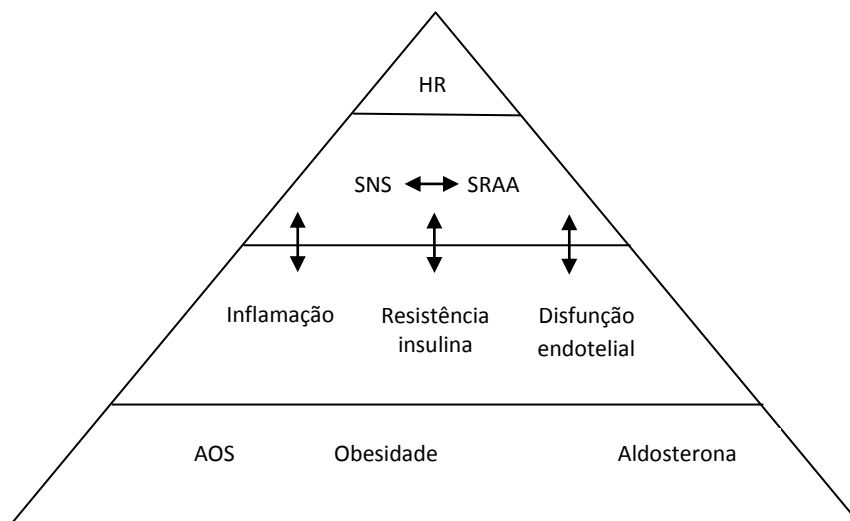
1.2 Hipertensão arterial resistente: fisiopatologia

Vários fatores têm sido implicados na resistência ao tratamento da hipertensão arterial tais como: nível basal da pressão, obesidade, consumo excessivo de sódio, presença de hipertrofia de ventrículo esquerdo, etnicidade africana, presença de diabetes mellitus (DM) e doença renal crônica (Cushman *et al.*, 2002). De acordo com dados do Estudo de *Framingham* (Lloyd-Jones *et al.*, 2000) a idade também está relacionada com a dificuldade de controle da pressão arterial. Assim, pacientes com idade superior a 75 anos apresentaram menos de um quarto da percentagem de controle do que pacientes com menos de 60 anos.

Tsioufis e colaboradores (2011) enfatizam que características como obesidade, apneia obstrutiva do sono e aldosterona são fatores predisponentes da HAR, mas destacam que a atividade aumentada do sistema nervoso simpático (SNS) está presente em todas essas condições subjacentes, ressaltando o seu papel central no desenvolvimento da resistência à terapia. Também assinalam que estudos clínicos e experimentais mostram o impacto de diversos fatores na ativação

do SNS, como resistência a insulina, desequilíbrio das adipocinas, disfunção endotelial, hipoxemia intermitente cíclica e desregulação de quimiorreceptores e barorreceptores. Futuras investigações e compreensão dos mecanismos que levam a ativação do SNS podem apontar novos alvos terapêuticos e aumentar as opções de tratamento dos pacientes hipertensos resistentes (Figura 3).

Figura 3 - Uma proposta de modelo fisiopatológico para desenvolvimento de HR



Nota: Obesidade, AOS e excesso de aldosterona participam de uma grande área do mosaico do fenótipo da HR e estão correlacionadas com o aumento da atividade do SNS, via múltiplos mecanismos.

Legenda: AOS: Apneia Obstrutiva do Sono, SRAA: Renina-Angiotensina-Aldosterona, HR: Hipertensão Resistente, SNS: hiperatividade do sistema nervoso simpático.

Fonte: Adaptado de Tsioufis *et al.*, 2011.

O desenvolvimento de novas e sofisticadas técnicas para acessar direta e indiretamente a atividade adrenérgica tem mudado a concepção do envolvimento do SNS na regulação da PA. Hoje em dia está estabelecido que a hiperatividade simpática contribui para a iniciação, manutenção e progressão da HA.

Estudos mostraram (Calhoun, 2002 e 2004) que em coortes de pacientes com HAR, a média do IMC foi $>32 \text{ kg/m}^2$ e a prevalência de hiperaldosteronismo de aproximadamente 20%, assim como também apresentavam altos índices de apneia obstrutiva do sono. Ainda nos indivíduos com HAR, o hiperaldosteronismo se mostrou mais frequentemente presente nos casos de AOS confirmados. Apesar dos mecanismos que ligam essas condições ainda não estarem completamente

esclarecidos, a ativação do SNS parece ser o fator de maior contribuição para a HAR.

Vários mecanismos têm sido propostos para explicar a ativação do SNS em indivíduos obesos. Aumento da concentração de leptina, hiperinsulinemia, AOS, sensibilidade do barorreflexo arterial diminuído, angiotensina plasmática elevada, doença renal relacionada a obesidade assim como falta de exercício (Tsioufis *et al.*, 2011).

A AOS e a HA estão fortemente associadas já que a AOS é um preditor independente para a presença e futuro desenvolvimento de HA (Tsioufis *et al.*, 2008). Em um estudo com 41 indivíduos hipertensos resistentes, a prevalência de AOS diagnosticada por polissonografia noturna, foi de 83% e ambas a prevalência e a severidade foram maiores nos homens que nas mulheres (Logan *et al.*, 2001).

Níveis aumentados de norepinefrina, endotelina e aldosterona, espessamento vascular, ativação do sistema renina-angiotensina, disfunção endotelial, stress oxidativo e hiperatividade simpática têm sido sugeridas como explicação para a gênese da HA induzida pela AOS (Goodfriend e Calhoun, 2004).

A ativação independente do SNS em apneicos, independente das comorbidades, também é documentada na obesidade. A atividade simpática em homens magros com AOS se mostrou aumentada em um grau similar do que em homens obesos sem AOS, porém em menor grau do que em homens obesos com AOS onde as duas condições se somavam (Grassi *et al.*, 2005). Mais evidências da ativação do SNS pela AOS são demonstrados por estudos que relatam a redução da atividade do SNS em pacientes após terapia com compressão aérea positiva contínua (CPAP).

Um corpo crescente de evidências sugere que a aldosterona contribuiu amplamente para o desenvolvimento e severidade da HA independente da presença do hiperaldosteronismo primário clássico. O estudo *Framingham Offspring* mostrou que níveis mais altos de aldosterona sérica estavam associados ao risco aumentado de elevação da PA ou ao desenvolvimento de HA após quatro anos de seguimento em indivíduos normotensos (idade media 55 anos, 58% mulheres) (Vasan *et al.*, 2004). Além disso, foi documentada em estudos transversais, uma correlação positiva entre a aldosterona plasmática e a medida ambulatorial da pressão arterial de 24h (Grim, 2005).

A prevalência do hiperaldosteronismo primário é maior em estágios mais avançados de HA, sendo mais prevalente entre os hipertensos resistentes, podendo variar de 17-22% em diferentes estudos (Calhoun, 2002). Ainda em indivíduos com HAR verdadeira, mas sem hiperaldosteronismo primário, foram encontrados altos níveis de aldosterona sérica comparando com os pacientes controle (Strauch, 2003). Esses achados sugerem que o excesso de aldosterona colabora com a resistência ao tratamento anti-hipertensivo.

A aldosterona, além dos seus efeitos conhecidos de aumento da absorção de sódio e água levando a expansão do volume intravascular e hipocalemia, promove HAR mediando incapacidade de adaptação nos sistemas renal, cardiovascular e nervoso central (Bernini *et al.*, 2008). Todos esses efeitos atuam aumentando a PA e contribuem para lesão em órgão alvo em indivíduos hipertensos com excesso de aldosterona e podem explicar parcialmente a resistência ao tratamento convencional otimizado (Tsuchiya *et al.*, 2009).

Além dos seus efeitos sobre a PA, a presença de hiperaldosteronismo primário está associada ao espessamento da camada íntima da carótida, ao aumento da velocidade da onda de pulso (um marcador de aumento de rigidez arterial) e comprometimento da vasodilatação fluxo-mediada da artéria braquial (um indicador de disfunção endotelial), quando comparado a pacientes hipertensos sem hiperaldosteronismo primário (Bernini *et al.*, 2008 e Tsuchiya *et al.*, 2009).

Pacientes com hiperaldosteronismo primário apresentam taxa de excreção urinária de albumina mais alta quando comparados com controles hipertensos com taxa de filtração glomerular preservada, o que demonstra que o excesso de aldosterona induz também ao dano renal precoce (Rossi *et al.*, 2006).

Alguns estudos têm evidenciado que o excesso de aldosterona está associado ao aumento do risco cardiovascular independente dos valores pressóricos (Acelajado e Calhoun, 2010). Esses achados indicam a necessidade do diagnóstico precoce e adequado da elevação desse mineralocorticoide, já que esses pacientes apresentam maiores taxas de AVE, IAM e arritmias quando comparados a indivíduos hipertensos sem hiperaldosteronismo primário.

1.3 Pseudorresistência

O termo pseudorresistência se refere à aparente falta de controle pressórico em pacientes que não tem HAR verdadeira.

Há vários fatores que contribuem para uma leitura de valores elevados de PA e produzem a percepção de HAR. Estes fatores incluem desde a imprecisão metodológica para determinação dos níveis de PA até a baixa aderência ao tratamento da hipertensão, que talvez represente a maior causa de pseudorresistência (Yiannakopoulou *et al.*, 2005). O custo do tratamento, um relacionamento médico-paciente deficiente, a necessidade de tomar diversos comprimidos e os efeitos adversos dos medicamentos, estão entre os fatores que contribuem para a falta de adesão ao tratamento.

Como já citado anteriormente, a falta de controle da pressão arterial é diferente da resistência ao tratamento. Esta distinção é importante clinicamente, pois pacientes com hipertensão não controlada decorrente da não aderência, não devem ser submetidos a avaliações desnecessárias e alterações dos regimes de tratamento, que normalmente são objetos de intervenção em pacientes com hipertensão arterial resistente verdadeira.

Há outros fatores que também devem ser considerados antes de rotular o indivíduo com HAR e incluem a hipertensão do “jaleco branco”, obesidade, dieta rica em sal, consumo excessivo de álcool e interferência com outras drogas (Calhoun *et al.*, 2008).

Apesar das diretrizes de como aferir adequadamente a PA estarem amplamente disponíveis, alguns erros comuns produzem uma leitura falsa da PA de forma elevada. Entre eles estão: não deixar o paciente sentado em repouso e por tempo adequado, aferir a PA apenas uma vez ao invés de três, utilizar manguitos inadequados para o tamanho do braço, o paciente ter fumado e o braço não estar na altura do coração. Em pacientes idosos, a presença de aterosclerose e calcificação arterial que não permitem compressão adequada da artéria, também contribuem para uma leitura superestimada da PA intra-arterial (Sarafidis e Bakris, 2008)

De acordo com o *European Society of Hypertension–ESH - guideline 2013*, baseado em quatro estudos populacionais, a prevalência do efeito do “jaleco branco” apresenta média de 13% (variação 9-16%) na população geral e pode ser ainda

maior entre os pacientes hipertensos, chegando a 32% (variação 25-46%). Fatores relacionados ao aumento da prevalência da hipertensão do “jaleco branco” são: idade avançada, sexo feminino e não tabagistas. A prevalência também está relacionada aos níveis pressóricos, variando de 55% em pacientes no estágio 1 de HAS a apenas 10% entre os pacientes no estágio 3 de HAS. É recomendado que esses pacientes sejam reavaliados em 3-6 meses para confirmação diagnóstica, adequada investigação e acompanhamento, incluindo medidas de PA fora do consultório.

A MRPA e a MAPA-24hs são métodos importantes para avaliar pacientes com PA não controlada no consultório e para descartar a existência de uma falsa refratariedade ao tratamento, ajudando a identificar os hipertensos resistentes verdadeiros.

A não adesão ao tratamento também é uma causa muito importante de pseudo-hipertensão. Estudos sugerem que até 40% dos pacientes recém diagnosticados hipertensos, irão descontinuar o tratamento anti-hipertensivo no primeiro ano e dos restantes apenas 40% continuarão o tratamento na década seguinte (Sarafidis e Bakris, 2008). Fatores que podem ajudar a adesão ao tratamento são: 1) escolha de agentes com menos efeitos colaterais como os bloqueadores de sistema renina-angiotensina (SRA); 2) evitar esquemas complicados, dando preferência a medicações com dose única diária; 3) usar caixinhas organizadoras das pílulas e solicitar ajuda familiar para pacientes com algum déficit de compreensão; 4) boa relação médico-paciente, com boa compreensão do esquema terapêutico (porque tomar o remédio, porque nessa dose e nesse horário).

Outra causa de pseudo-hipertensão é, relativamente, quase uma surpresa, pois ocorre devido ao uso de fármacos em doses subótimas e/ou combinações não adequadas. Dados de uma clínica especializada em hipertensão demonstraram que tanto aumentar a dose, ou iniciar ou até trocar para um diurético apropriado foram as mudanças mais comuns realizadas que fizeram com que pacientes referidos devido a HAR tivessem seus níveis de PA controlados (Singer *et al.*, 2002). Outros estudos sugerem que a inércia médica em não otimizar as doses e as combinações de fármacos é a responsável por contribuir com o não controle da HAS na população, apesar de todos os esforços em tornar as diretrizes acessíveis (Oliveria *et al.*, 2002).

1.4 Fatores que contribuem para hipertensão arterial resistente

Diversos fatores biológicos e de estilo de vida podem contribuir para o desenvolvimento de HAR, assim como fármacos de diferentes classes farmacológicas podem produzir aumento transitório ou persistente da PA, conforme mostra a tabela 1.

A presença de HA secundária deve ser considerada nos pacientes hipertensos resistentes. Apesar de sua prevalência ser desconhecida, estudos anteriores identificaram que 5-10% dos pacientes com HAR tinham alguma causa identificável (Garg *et al.*, 2005). A doença renal parenquimatosa deve ser sempre afastada, já que é a causa mais frequente de HA secundária, seguida da doença renal arterial, aldosteronismo primário e apneia obstrutiva do sono. Outras causas menos frequentes são: feocromocitoma, Síndrome de Cushing, hiper e hipoparatiroidismo, coarctação da aorta e tumores intracranianos. A possibilidade de se identificar uma causa para a HA secundária aumenta com a idade, já que algumas condições são mais frequentes nos idosos, como a doença renal, a apneia obstrutiva do sono e o aldosteronismo primário (Sarafidis e Bakris, 2008).

Tabela 1 - Fatores que contribuem para a hipertensão arterial resistente

Fatores que contribuem para a hipertensão arterial resistente	
Induzido por drogas	<ul style="list-style-type: none"> Anti-inflamatórios não esteróides Simpaticomiméticos (descongestionantes) Cocaína, anfetaminas e outras drogas ilícitas Hormônios contraceptivos orais Hormônios esteróides Eritropoítina Ciclosporina Suplementos dietéticos
Ingestão alcoólica excessiva	
Sobrecarga de volume	<ul style="list-style-type: none"> Ingestão de sódio excessiva Retenção de volume por doença renal Terapia diurética inadequada
Condições associadas	<ul style="list-style-type: none"> Obesidade Diabetes Mellitus Idade \geq 65 anos
Causas de HA identificáveis	<ul style="list-style-type: none"> Doença renal parenquimatosa Doença renovascular Aldosteronismo primário Apneia obstrutiva do sono Feocromocitoma Síndrome de Cushing Doenças da tireóide Coarctação da aorta Tumores intracranianos

Legenda: HA= hipertensão arterial

Fonte: Adaptada de Sarafidis e Bakris, 2008

1.5 Tratamento da hipertensão arterial resistente

Os regimes terapêuticos com doses subótimas e combinações inadequadas de drogas são causas frequentes de HAR, assim como a baixa adesão terapêutica, portanto o tratamento da HAR deve incluir a eliminação desses fatores.

Mudanças nos estilo de vida como perda de peso, realização de exercícios físicos, redução do sal na dieta e moderação no consumo de álcool, devem ser sempre incentivadas (Pimenta *et al.*, 2007).

Recomendações para modificação e intensificação do tratamento antihipertensivo para um paciente em uso de 3 fármacos, devem ser realizadas baseadas nos princípios farmacológicos, no contexto fisiopatológico subjacente, na experiência clínica do médico e na combinação eficaz dos diversos fármacos disponíveis.

A expansão de volume parece ser o achado fisiopatológico mais frequente desses pacientes. Estudos sugerem que modificações na terapia diurética (acrescentando um diurético, aumentando a dose ou trocando de classe baseado na função renal) ajudam mais de 60% dos hipertensos a atingirem suas metas de PA (Garg *et al.*, 2005). Diuréticos tiazídicos são eficazes, mas há diferenças entre os diferentes tipos. Um ensaio clínico mostrou que a clortalidona 25 mg foi mais eficaz em reduzir a PA quando comparada a hidroclorotiazida 50 mg, com a maior diferença ocorrendo a noite (Ernst *et al.*, 2006). Outro estudo, pequeno, com pacientes resistentes, também mostrou que trocar a hidroclorotiazida pela clortalidona, com a mesma dose, resultou em uma queda adicional da PAS de 8 mmHg e um número maior de pacientes conseguiu atingir a meta de controle da PA (Khosla *et al.*, 2005). Ponto crucial para decidir a terapia diurética é conhecer bem a função renal do paciente. Para aqueles com taxa de filtração glomerular estimada $<40\text{ml}/\text{min}/1,73\text{m}^2$, um diurético de alça deve ser a escolha.

O uso das outras drogas no tratamento dos hipertensos resistentes deve levar em consideração o princípio das combinações terapêuticas, inibindo diferentes mecanismos patogênicos e também as características dos pacientes, como idade e presença de outras comorbidades.

Em geral, a maioria dos pacientes deve ter o bloqueio do SRA associado a um bloqueador de canal de cálcio e um diurético. Todos prescritos em doses

máximas toleradas e com intervalos apropriados. Se a PA permanecer com valores acima da meta, uma quarta droga deve ser associada ao esquema prévio. O duplo bloqueio do SRA não é recomendado para pacientes hipertensos resistentes, pois confere maior risco de efeitos colaterais (Yusuf *et al.*, 2008).

O uso de bloqueadores dos receptores de mineralocorticoides, como a espironolactona, deve ser fortemente considerado. Estudos tem demonstrado redução significativa da PA quando esta é adicionada ao esquema terapêutico prévio, independentemente dos níveis plasmáticos prévios de aldosterona e renina, e de forma semelhante nos pacientes com e sem hiperaldosteronismo primário (Pimenta *et al.*, 2007).

Com as opções terapêuticas atuais, a hiperatividade simpática pode ser bloqueada a nível periférico com o uso de bloqueadores alfa e beta e alguns dados ainda sugerem um efeito inibitório simpático dos bloqueadores dos receptores de angiotensina e de mineralocorticóides (Menon, 2009). Agentes de ação central são efetivos anti-hipertensivos, mas apresentam alta incidência de efeitos colaterais e poucos dados disponíveis (Calhoun, 2008). Os agentes α de ação central estimulam os receptores adrenérgicos α_2 que estão envolvidos nos mecanismos simpaticolíticos. Enquanto alguns são seletivos, a clonidina age também nos receptores centrais da imidazolina, possuindo efeitos bem definidos como: declínio acentuado na atividade simpática, redução na capacidade do reflexo barorreceptor, redução modesta na resistência periférica e no débito cardíaco, queda nos níveis de renina plasmática, retenção de líquidos, manutenção do fluxo sanguíneo renal a despeito das quedas de PA e efeitos colaterais comuns refletindo o sítio central de ação: sedação, estado de alerta diminuído e boca seca (Kaplan, 2012).

1.6 Endotélio vascular

O endotélio vascular é uma camada única de epitélio pavimentoso, que reveste internamente os vasos sanguíneos, separando o sangue da parede vascular, sendo o principal regulador da homeostase vascular (Widlansky *et al.*, 2003; Simionescu, 2007) e cobrindo uma área de aproximadamente 700 m². Este

controle da homeostase ocorre porque o endotélio é sensível a uma série de estímulos físicos e químicos, e em resposta a estes estímulos libera uma grande variedade de fatores que regulam o tônus vascular, a inflamação na parede vascular, a adesão celular, a proliferação das células musculares lisas vasculares e a trombose (Widlansky *et al.*, 2003; Deanfield *et al.*, 2007; Vogel, 2008; Yang & Ming, 2006).

Até o final da década de 1970, o endotélio era considerado apenas uma barreira semipermeável inerte que mantinha a estrutura da parede vascular e regulava a transferência de pequenas e grandes moléculas entre o sangue e as células musculares. A descoberta da importante participação do endotélio na modulação do tônus vascular foi feita por Furchgott e Zawadski (1979) ao observarem que o relaxamento induzido pela acetilcolina em anéis de aorta de coelho, era totalmente dependente da presença e da integridade da célula endotelial. Nesse estudo foi demonstrado que a acetilcolina, ao interagir com a célula endotelial, liberava uma substância que se difundia para o músculo liso vascular promovendo relaxamento, a qual foi denominada fator relaxante derivado do endotélio (EDRF). O endotélio passou a ser, então, considerado um órgão endócrino ativo, que em resposta a estímulos humorais, neurais e mecânicos, sintetiza e libera substâncias vasoativas que modulam tônus, calibre vascular e fluxo sanguíneo.

O endotélio desempenha papel fundamental na modulação do tônus vascular, ou seja, controla as respostas vasodilatadoras e vasoconstrictoras locais, em resposta a alterações de fluxo sanguíneo e aos agentes vasoativos. Participa também na manutenção de uma interface sangue-tecido não trombogênica, regulando a trombose/trombólise e a aderência de plaquetas e leucócitos.

Dentre as substâncias vasoativas liberadas pelo endotélio, destacam-se os EDRF, como o óxido nítrico (NO), a prostaciclina (PGI₂) e os fatores hiperpolarizantes derivados do endotélio (EDHF).

As células endoteliais também produzem diversos fatores constritores (EDCF). Dentre eles o tromboxano A₂ (TXA₂) e a prostaglandina H₂ (PGH₂); a endotelina (ET-1); a angiotensina II (Ang II); e as espécies reativas de oxigênio (EROs), como o ânion superóxido (O₂⁻).

Sob condições homeostáticas, o endotélio mantém o tônus vascular normal e a fluidez do sangue, existindo pequena ou nenhuma expressão de fatores pró-inflamatórios (Widlansky *et al.*, 2003). Dentre as substâncias liberadas pelo endotélio, o óxido nítrico desempenha um importante papel anti-aterogênico, por apresentar propriedades: 1) anti-inflamatória - inibe a expressão de moléculas de adesão, evitando a adesão e penetração de macrófagos, 2) antimitogênica – inibe a proliferação das células musculares lisas, e 3) antitrombótica – inibe a agregação plaquetária (Deanfield *et al.*, 2007; Vogel, 2008; Vanhoutte, 2009; Davignon e Ganz, 2004). Portanto, o NO desempenha um papel chave na função protetora que o endotélio exerce contra as doenças cardiovasculares (Vanhoutte, 2009).

A liberação de NO é estimulada pelo aumento súbito do fluxo sanguíneo local, denominado hiperemia reativa, e quando um fluxo local de sangue aumentado proporciona um contato mais vigoroso deste com o endotélio vascular, essa tensão aumentada exercida pelo fluxo sanguíneo sobre as células endoteliais que se segue à hiperemia reativa é denominada *sheer stress*. Esse estímulo mecânico é o principal mecanismo fisiológico para liberação de NO pela célula endotelial.

O NO é gerado a partir da L-arginina através da ação da NO sintase endotelial (eNOS), na presença de cofatores como a tetrahidrobiopterina. Este gás é difundido para as células musculares lisas e ativa a guanilato ciclase, que conduz à vasodilatação mediada pelo monofosfato cíclico de guanosina (cGMP). O *shear stress* exerce um papel chave na ativação da eNOS na fisiologia normal, e esta adaptação de perfusão do órgão se deve às mudanças no débito cardíaco (Forstermann & Munzel, 2006). A eNOS pode ser ativada através da sinalização de moléculas como a bradicinina, adenosina, fator de crescimento vascular endotelial (em resposta à hipóxia) e serotonina (liberada durante a agregação plaquetária) (Govers & Rabelink, 2001).

O processo de vasodilatação dependente do endotélio é altamente complexo, ele regula a vasomotricidade, não somente através de mediadores, mas também através do aumento do tônus constritor via geração de prostanóides vasoconstritores e endoteliais, como a via de conversão da angiotensina I em angiotensina II na superfície endotelial e reduzindo os níveis plasmáticos de endotelina-1. Estes agentes vasoconstritores agem localmente, mas possuem

efeitos sistêmicos e influenciam a estrutura e remodelação vascular (Kinlay *et al.*, 2001; Cohen, 2005).

1.7 Disfunção endotelial

A disfunção endotelial é definida como um desequilíbrio na produção endotelial de mediadores que regulam o tônus vascular, a agregação plaquetária, a coagulação e a fibrinólise, sendo o tônus vascular o aspecto mais estudado.

Exposições prolongadas e/ou repetidas a fatores de risco cardiovasculares podem resultar em lesão física ou bioquímica do endotélio, prejudicando a produção e/ou função dos mediadores vaso protetores derivados do endotélio, tais como o NO (Yang e Ming, 2006; Vanhoutte, 2009). Os fatores de risco para o desenvolvimento das doenças cardiovasculares, incluindo tabagismo, idade, hipercolesterolemia, hipertensão, hiperglicemia, história familiar de doença aterosclerótica prematura, obesidade e inflamação sistêmica crônica estão associados com alterações na função endotelial (Hadi *et al.*, 2005).

A aterosclerose é, atualmente, reconhecida como um processo “inflamatório” da parede arterial que se inicia com a disfunção endotelial (Lau *et al.*, 2005; Ronti *et al.*, 2006). A disfunção endotelial é, portanto, um evento inicial precoce na aterogênese, precedendo as evidências angiográficas e ultrassonográficas da placa de ateroma, sendo considerada um preditor de DCV (Davignon e Ganz, 2004; Vanhoutte, 2009).

A lesão endotelial resulta em um processo inflamatório crônico, caracterizado pela expressão de fatores quimiotáticos para leucócitos, moléculas de adesão e citocinas inflamatórias. Este processo inflamatório é acompanhado pelo aumento na contração vascular em resposta a vasoconstrictores como endotelina-1 e tromboxanos, aumento na formação de trombos e proliferação e migração exacerbada das células musculares lisas (Widlansky *et al.*, 2003; Yang e Ming, 2006; Vanhoutte, 2009).

O processo inflamatório na disfunção endotelial é caracterizado pela síntese e secreção de citocinas tais como interleucinas, fator de necrose tumoral- α (TNF- α),

fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e a expressão de moléculas de adesão celular: molécula de adesão celular vascular-1 (VCAM-1), molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1), E-selectina e quimiocinas, tais como a proteína quimiotática de monócitos -1 (MCP-1) (Sima *et al.*, 2009). A liberação destas substâncias leva ao rolamento, adesão e transmigração de leucócitos para o espaço subendotelial, onde são liberados TNF- α , IL-6 e outras citocinas, resultando em recrutamento de células circulantes adicionais e perpetuação da resposta inflamatória. A adesão dos leucócitos, principalmente monócitos ao endotélio é mediada pela ICAM-1 e VCAM-1. A expressão da E-selectina, está envolvida no recrutamento e rolamento de leucócitos. A MCP-1 promove a transmigração, e as integrinas participam da subsequente adesão à íntima, onde os leucócitos transformam-se em macrófagos. A fagocitose das partículas de lipoproteína de baixa densidade oxidada (oxLDL) pelos monócitos leva a formação das células espumosas e desenvolvimento das estrias lipídicas, assim como a proliferação de células musculares lisas, levando a formação das placas de ateroma.

Nas últimas duas décadas, as evidências têm mostrado o papel fundamental que a MCP-1 desempenha no desenvolvimento da aterosclerose (Gerszten *et al.*, 2000, Gu *et al.*, 1998). Injúrias vasculares podem provocar disfunção endotelial, o que leva a um aumento da fuga de LDL do lúmen do vaso para as paredes dos vasos, onde eles podem ser convertidos em oxLDL. Agravos vasculares, tais como hiperlipidemia, também causam a secreção da MCP-1 a partir de células endoteliais e células musculares lisas. A MCP-1 secretada é ligada aos proteoglicanos no lúmen do vaso e a sua liberação continuada e de outras citocinas pelas células endoteliais perpetuam a inflamação e acúmulo de lipídios.

As células cardiovasculares, incluindo células endoteliais, células musculares lisas dos vasos e os miócitos cardíacos, podem produzir a MCP-1 em resposta a uma variedade de estímulos, e a sua expressão tem sido identificada em placas de ateroma de camundongos e de humanos, que, pelo desencadeamento e sustentação do acúmulo de leucócitos, pode por sua vez, promover a inflamação crônica (Gerszten *et al.*, 2000). A oxLDL na parede arterial pode aumentar a produção de MCP-1 em células vasculares e estimular a adesão local de monócitos nas células endoteliais (Han *et al.*, 1998). Assim, a MCP-1 pode ser o mediador

ligando lipoproteínas oxidadas e o recrutamento de células espumosas na parede do vaso.

Além disso, a MCP-1 tem demonstrado alguma promessa como um biomarcador para a monitorização de doença em outras doenças inflamatórias, como a artrite reumatóide juvenil, onde os níveis plasmáticos diminuem concordantes com a melhoria dos sinais clínicos, e reduções persistentes, parecem predizer uma remissão prolongada de doença (Yao *et al.*, 2006). De fato, níveis plasmáticos elevados de MCP-1 foram encontrados em pacientes com doença coronária, sendo os níveis mais elevados naqueles pacientes com SCA (síndrome coronariana aguda) ou submetidos a PTCA (angioplastia coronária transluminal percutânea) (Aukrust *et al.*, 2001; Economou *et al.*, 2001). Níveis elevados de MCP-1 circulantes são positivamente correlacionados com fatores de risco cardiovasculares, com medidas de carga de aterosclerose coronária e com a incidência de doença coronariana (Deo *et al.*, 2004; Tang *et al.*, 2007). Em uma grande população de pacientes estabilizados após eventos coronarianos agudos, a medida dos níveis plasmáticos de MCP-1 no início do estudo, quatro meses e 12 meses, e a correlação com os eventos clínicos, indicaram que os níveis plasmáticos de MCP-1 > 238 pg/ml foram associados de forma independente com a mortalidade após o ajuste para fatores preditivos de risco, níveis de PCR (proteína C-reativa) e BNP (peptídeo natriurético tipo B), sugerindo que a MCP-1 fornece valor prognóstico independente tanto na fase aguda quanto na crônica após SCA (de Lemos *et al.*, 2007).

Sinais intracelulares desempenham um importante papel na disfunção endotelial. O fator nuclear kappa B (NFkB) é um dos mais importantes ativadores do endotélio. Ele e outros fatores de transcrição podem ser ativados por citocinas inflamatórias, *sheer stress* (força de cisalhamento), hiperglicemia e estresse oxidativo. O NFkB pode regular a expressão de genes que codificam citocinas, moléculas de adesão celular e proteínas de fase aguda; favorecendo o desenvolvimento da aterosclerose (Palomo *et al.*, 2006).

Nos últimos anos, a avaliação da função endotelial se transformou em uma ferramenta útil na investigação da aterosclerose. Estudos recentes demonstraram que a severidade da disfunção endotelial se relaciona com o risco de evento cardiovascular (Widlansky *et al.*, 2003). Uma das formas disponíveis para avaliar a

função endotelial é através de moléculas bem caracterizadas que podem ser mensuradas na circulação com imunoenaios comerciais, incluindo E-selectina, VCAM-1 e ICAM-1 (Ridker *et al.*, 2004; Rifai e Ridker, 2002; Blake e Ridker, 2001; Barac *et al.*, 2007). As concentrações destas moléculas aumentam em associação com fatores de risco cardiovascular, e foram associadas com medidas estruturais e funcionais de doença aterosclerótica, assim como com prognóstico cardiovascular adverso (Hwang *et al.*, 1997; Ridker *et al.*, 1998; Blankenberg *et al.*, 2001; Brevetti *et al.*, 2006). De forma similar, as consequências pró-coagulantes da disfunção endotelial podem ser avaliadas através de modificações no equilíbrio entre o ativador do plasminogênio e seu inibidor endógeno, o PAI-1 (Vaughan, 2005).

O VEGF é conhecido por ser um peptídeo multifuncional capaz de induzir a proliferação celular endotelial e a angiogênese (Felmeden *et al.*, 2003). Recentemente, tem sido estabelecida uma ligação entre VEGF e doenças cardiovasculares, pois sua elevação foi encontrada após infarto agudo do miocárdio (Seko *et al.*, 1997 e Hojo *et al.*, 2000), doença arterial coronariana e doença vascular periférica (Blann *et al.*, 2002), assim como na insuficiência cardíaca (Chin *et al.*, 2002), podendo ser um fator de prognóstico ruim na síndrome coronariana aguda (Heeschen *et al.*, 2003). Pacientes com fatores de risco CV, como HAS e dislipidemia também mostraram associação com a elevação do VEGF. Estudos prévios demonstraram que o VEGF aumenta na hipertensão e pode diminuir após o tratamento anti-hipertensivo, porém apesar da sua importância no desenvolvimento do dano vascular, a sua associação com a hipertensão não está completamente elucidada. Um estudo realizado com 20 pacientes mostrou uma elevação significativa do VEGF em pacientes hipertensos com retinopatia quando comparado com pacientes hipertensos sem retinopatia e controles sem hipertensão. No mesmo estudo a dosagem de moléculas de adesão celular não mostrou diferença significativa entre os grupos. Esse resultado sugeriu que o VEGF pode ser usado como marcador precoce de dano vascular em hipertensos (Tsai *et al.*, 2005).

A adiponectina, proteína mais abundante secretada pelo tecido adiposo, tem aparecido como um potencial alvo terapêutico na DM e na DCV. Diferente de outras adipocinas, ela melhora a captação de glicose no músculo esquelético mediado pela insulina, suprime a produção hepática de glicose, inibe a inflamação, melhora a disfunção endotelial e atenua a aterosclerose em modelos de ratos propensos a DM

e lesão vascular. A adiponectina melhora a vasodilatação endotélio dependente, através do estímulo da atividade da eNOS e por atenuar os efeitos do TNF- α . Já a diminuição da sua concentração plasmática tem sido correlacionada com disfunção endotelial da artéria braquial em indivíduos diabéticos e com doença coronariana, assim como a sua redução também tem sido identificada como fator de risco para o desenvolvimento de hipertensão (Izzo *et al.*, 2008).

Portanto, a disfunção endotelial é uma característica proeminente em vários estágios da aterogênese, do desenvolvimento das estrias lipídicas subclínicas precoces à placa de ateroma, até a vulnerabilidade e ruptura da placa, vasoespasmo, formação do trombo, e eventualmente oclusão do vaso e ocorrência de um evento cardiovascular (Deanfield *et al.*, 2005; Lau *et al.*, 2005; Ronti *et al.*, 2006).

1.8 Avaliação da função endotelial

As alterações na função endotelial precedem as modificações morfológicas relacionadas à aterosclerose e podem contribuir para o seu desenvolvimento e para suas complicações clínicas (Heitzer *et al.*, 2001). A melhor compreensão da biologia vascular do endotélio tem permitido o desenvolvimento de testes clínicos que permitem avaliar várias propriedades funcionais do endotélio normal e ativado. Segue uma síntese dos principais métodos de avaliação da função endotelial.

1.8.1 Biomarcadores de função endotelial e de inflamação

Fortes evidências sugerem que os fatores de risco da aterosclerose são frequentemente associados à inflamação sistêmica, e podem ser um aspecto fundamental para o desenvolvimento da aterosclerose (Ross, 1993). O endotélio não somente ativa a formação de moléculas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias como também é o alvo de mediadores inflamatórios circulantes que são produzidos por

outros tipos de células como plaquetas, leucócitos, hepatócitos e adipócitos (Ross, 1999).

A ativação endotelial leva ao aumento de citocinas inflamatórias (Interleucina-8 entre outras) e moléculas de adesão (P e E-selectina, molécula de adesão intercelular - ICAM - e molécula de adesão vascular celular - VCAM) que são o gatilho para a adesão e migração de leucócitos para o espaço subendotelial, processo esse fundamental para o início e progressão da aterosclerose. Essas moléculas E e P-selectina, ICAM e VCAM podem ser mensuradas por técnicas de imunoenensaio comercial e o E-selectina parece ser a molécula mais específica para ativação endotelial (Bhatt, 2005).

A proteína C reativa (PCR) é o biomarcador de inflamação mais disponível e melhor caracterizado e tem sido colocado como um potencial marcador de risco CV. (Ridker *et al.*, 2004). A PCR é sintetizada principalmente pelo fígado, sobretudo na fase aguda do processo inflamatório, mas também é produzida nas células da musculatura lisa das artérias coronárias e está elevada, sobretudo nas doenças vasculares (Juonala *et al.*, 2004). A PCR ultrasensível pode ser quantificada por vários métodos já padronizados, validados e de baixo custo sendo assim o único biomarcador de inflamação disponível para uso clínico que permite adicionar um valor preditivo acima dos fatores de risco tradicionalmente abordados (Calabro *et al.*, 2003).

1.8.2 Outros marcadores circulantes de função endotelial

1.8.2.1 Micropartículas endoteliais

As micropartículas (MPs) são vesículas (100nm a 1µm de diâmetro) oriundas da membrana plasmática celular após sua ativação ou apoptose (Ledue e Rifai, 2003). As MPs têm origem em várias células como plaquetas, leucócitos, eritrócitos e células endoteliais entre outras. As MPs são encontradas no plasma de indivíduos saudáveis e seus níveis aumentam nas doenças aterotrombóticas (Hugel *et al.*, 2005). Embora as MPs originadas das células endoteliais (EMP) representem

uma pequena fração das MPs plasmáticas, o aumento na concentração plasmática das EMP representa um marcador emergente da disfunção endotelial (Ledue e Rifai, 2003). As MPs podem ser quantificadas e sua origem celular determinada na circulação, podem também expressar as moléculas de adesão (ICAM, VCAM, E e P-selectina) abrigadas pelas células endoteliais maduras (Wang *et al.*, 2007).

1.8.2.2 Células progenitoras embrionárias

Em indivíduos saudáveis, o endotélio é submetido a uma baixa taxa de renovação (George *et al.*, 1992), mas em situações de lesões agudas ou crônicas que disparam o processo de apoptose da célula endotelial e seu consequente desnudamento, o número de células endoteliais circulante rapidamente aumenta, sugerindo que essas células podem estar envolvidas em um processo de regeneração. Entretanto essas células endoteliais maduras têm baixo poder proliferativo e sua capacidade em substituir o endotélio lesado é limitada. Assim o endotélio lesado necessita de outro tipo de célula para sua regeneração. Recentes evidências mostram a presença no sangue circulante de um subtipo de células derivadas da medula óssea com propriedades semelhantes as dos angioblastos embrionários. Essas células têm sido chamadas de células progenitoras embrionárias (EPCs) que têm capacidade de proliferar e se diferenciar em célula madura endotelial (Dignat-George e Sampol, 2000). As EPCs podem ser quantificadas por citometria de fluxo (Hristov, Erl, Weber, 2003) ou através de ensaios *in vitro* (Duda *et al.*, 2007). Várias publicações têm demonstrado a correlação entre EPC e a severidade da disfunção endotelial (Juonala *et al.*, 2004) e eventos cardiovasculares, entretanto outros estudos têm falhado em encontrar essa associação (Ridker, 2003).

1.8.2.3 Marcadores de trombose

Sob situações fisiológicas o endotélio é capaz de prevenir a formação de trombos em decorrência á vários mecanismos, já na presença de disfunção endotelial há um fenômeno de *down regulation* dos fatores anticoagulantes e uma ativação de mediadores pró-trombóticos (Vasan, 2006). Assim, com o comprometimento da função endotelial, há aumento na expressão do fator tecidual, do inibidor do ativador do plasminogênio (PAI-1) e do fator de von Willebrand, que podem comprometer a fibrinólise e potencializar a formação de trombos (Vasan, 2006). Os níveis plasmáticos desses mediadores pró-coagulação estão aumentados com o dano endotelial, sugerindo que eles podem representar marcadores confiáveis de disfunção endotelial além de serem relativamente fáceis de serem quantificados.

1.8.2.4 LDL-oxidada

Tem sido sugerido que a oxLDL pode contribuir significativamente para a disfunção endotelial e a progressão da aterosclerose. A ativação endotelial em resposta a oxLDL é particularmente mediada pela *lectin-like receptor* de oxLDL (LOX-1) presente nas células endoteliais (Padro *et al.*, 1997). Há muita dificuldade em acessar os níveis da HDL-oxidada *in vivo*, por haver no plasma uma quantidade mínima de oxLDL presente. A elevação da oxLDL parece ter valor preditivo para futuros eventos coronarianos em indivíduos aparentemente normais (Tsimikas, 2008), assim como foi registrado valor preditivo para o desenvolvimento de doença cardíaca crônica em um grande estudo prospectivo, mas após ajuste para apoB e LDL-colesterol nenhum valor preditivo independente para oxLDL foi encontrado (Meisinger *et al.*, 2005).

1.8.3 Função endotelial das artérias coronárias

A despeito de sua natureza invasiva, a angiografia permanece como uma técnica amplamente utilizada para acessar a função endotelial das artérias coronárias. Estímulos farmacológicos para avaliar a vasodilatação das coronárias incluem a infusão da acetilcolina, metacolina, papaverina e nitroglicerina. Neste modelo diferentes concentrações do vasodilatador endotélio-dependente, a acetilcolina, e de um vasodilatador endotélio-independente, a nitroglicerina, são infundidos nas artérias coronárias seguido de medidas angiográficas do diâmetro dos vasos (Wu *et al.*, 2006). Os achados iniciais mostraram que nos pacientes com aterosclerose das coronárias a infusão de acetilcolina resultou em vasoconstrição dos vasos epicárdicos em contraste com a vasodilatação observada em pacientes sem doença CV documentada. A resposta vasodilatadora normal à nitroglicerina, tanto nos pacientes com e sem doença coronária documentada, sugere o defeito na função vasodilatadora endotelial e não na reatividade da célula da musculatura lisa do vaso (Barac *et al.*, 2007). Após essas observações outros estudos têm mostrado não somente o comprometimento no relaxamento dos vasos epicárdicos, mas também identificado os mediadores envolvidos no comprometimento da função vasodilatadora endotelial (Ludmer *et al.*, 1986).

A disfunção endotelial epicárdica e microvascular coronariana é um preditor de eventos cardiovasculares agudos independente da presença ou ausência de lesões coronarianas detectadas por angiografia (Casino *et al.*, 1993).

1.8.4 Dilatação fluxo-mediada

O *shear stress* atuando sobre o endotélio representa o principal estímulo fisiológico para liberação de fatores vasoativos para regulação do tônus vascular. Em condições experimentais *in vivo*, o *shear stress* pode ser induzido pelo aumento do fluxo sanguíneo que ocorre após um curto período de isquemia nos tecidos distais (Wu *et al.*, 2006). Hemodinamicamente a resposta do endotélio para esse

estímulo, através da liberação de óxido nítrico, é a vasodilatação fluxo-mediada (FMD). Baseado nesse princípio, o acesso a FMD foi desenvolvido através de técnica de ultrassom (Targonski *et al.*, 2003). Isso envolve medidas no diâmetro das artérias condutoras (frequentemente a braquial, embora a radial e femoral também tenham sido utilizadas) em resposta ao aumento do fluxo sanguíneo induzido por um período de isquemia aplicado na parte distal do membro. Após o término da isquemia induzida, a hiperemia reativa produz um aumento transitório de aproximadamente seis vezes no fluxo da artéria estudada, com aumento do *shear stress* e dilatação arterial (Wu *et al.*, 2006).

A medida da FMD é uma técnica não-invasiva e pode avaliar os efeitos dos fatores de risco cardiovasculares sobre os vasos de condutância, locais de formação de placas de formação aterosclerótica. É uma técnica não invasiva, relativamente simples que pode ser utilizada até para estudos populacionais para avaliar o efeito de diferentes intervenções farmacológicas nos quais se utiliza a FMD da artéria braquial como um marcador de desfecho de doenças cardiovasculares (Wu *et al.*, 2006).

Entretanto, essa técnica tem importantes limitações técnicas e interpretativas, pois é altamente dependente da habilidade do examinador, da qualidade da imagem do ultrassom, de meses de treinamento do examinador, além da interpretação das imagens estarem sujeitas a viés (Wu *et al.*, 2006).

1.8.5 Laser doppler fluxometria

Essa técnica tem sido implementada para avaliar a função endotelial da microcirculação da pele utilizando hiperemia pós-oclusão, hiperemia térmica local e iontoforese com acetilcolina (Celermajer *et al.*, 1992). Esse método avalia exclusivamente a dinâmica microvascular. Fundamenta-se no princípio *Doppler*, onde um feixe de raios *laser* emitido perpendicularmente por uma fonte justaposta à pele é desviado pelo fluxo sanguíneo subcutâneo, permitindo sua quantificação ao ser refletido (Celermajer *et al.*, 1992). Vários estudos apontam o comprometimento da iontoforese com acetilcolina em pacientes com apneia obstrutiva do sono

(Cracowski *et al.*, 2006), obesidade ou diabetes (Cohen e Vanhoutte, 1995), dislipidemia e hipertensão arterial (Taddei *et al.*, 1999), mesmo na ausência de lesões macrovasculares e melhora na resposta após o tratamento dessas doenças.

A despeito de ser uma técnica não invasiva e assim ser atrativa para utilização em rotinas e pesquisas clínicas ela tem certas limitações: a pele é um tecido extremamente termorregulatório podendo haver variações extremas no fluxo sanguíneo basal; pobre reprodutibilidade intra e inter-ensaios; ausência de padronização do segmento da pele a ser avaliada (Wu *et al.*, 2006); estudos recentes mostram que o mecanismo de dilatação dos vasos da pele em resposta a acetilcolina e a pós-oclusão não são primariamente mediados pelo óxido nítrico, mas por respostas microvasculares envolvendo nervos sensoriais e vasodilatadores endoteliais independente do óxido nítrico (Sakurai *et al.*, 1990).

1.8.6 Tonometria arterial periférica

A quantificação da resposta vasodilatadora periférica através de uma tecnologia de tonometria arterial periférica (PAT) da ponta dos dedos surgiu como um método útil para acessar a função vascular (Holowatz *et al.*, 2005). Embora o sinal da PAT seja modulado por fatores locais, sistêmicos e ambientais, esse parâmetro também é afetado pela biodisponibilidade do óxido nítrico e assim também depende da função endotelial (Kuvin *et al.*, 2003). Em resposta ao fluxo produzido pela hiperemia, a amplitude do pulso digital (e conseqüentemente o sinal da PAT) aumenta, o que tem sido demonstrado depender, pelo menos em parte, da síntese de óxido nítrico (Noon *et al.*, 1996).

O aparelho chamado de Endo-PAT2000® (Itamar Medical, Caesarea, Israel) consiste em dois *probes* acomodados em dois dedos, em braços diferentes, com sistema interno de membrana inflável e um revestimento externo rígido. O *cuff* do aparelho de pressão é colocado em um membro superior (braço do estudo) enquanto o braço contralateral serve de controle (braço controle). O *EndoScore* é calculado através de uma relação da média da amplitude do sinal da PAT a cada 1 minuto, iniciando 1,5 minuto após a deflação do *cuff*, dividido pela média da

amplitude do sinal da PAT nos 3,5 minutos antes da inflação do *cuff* (período basal) (Nohria *et al.*, 2006). O *augmentation index* (AIX) também é calculado automaticamente. Este representa a diferença entre o primeiro e segundo pico sistólico. Embora a impedância das grandes artérias elásticas seja relativamente estática, a impedância das pequenas artérias e arteríolas é muito mais dinâmica e depende em grande parte do tônus do músculo liso e do tamanho do vaso. Assim, as mudanças no tônus de pequenas artérias afetam a onda de reflexão: a vasodilatação reduz AIX, enquanto a vasoconstrição leva ao seu aumento (Lekakis *et al.*, 2001)

A resposta à hiperemia digital acessada pela tonometria arterial periférica tem sido correlacionada com as medidas da FMD da artéria braquial (Kuvin *et al.*, 2003), assim como com a resposta do fluxo sanguíneo coronário em pacientes sem evidência angiográfica de doença coronária (Bonetti *et al.*, 2004), sugerindo que esse método pode ser utilizado como uma ferramenta não invasiva para identificar pacientes com disfunção endotelial microvascular das coronárias (Kuvin, 2007). Esse método foi aprovado pelo *Food and Drug Administration* (FDA) para utilização como auxílio diagnóstico em pacientes com sinais e sintomas de doença coronária (Barac *et al.*, 2007).

No Brasil, um estudo conduzido no Centro de Investigação de Minas Gerais, como parte de uma coorte do Estudo Longitudinal da Saúde de Adultos Brasileiros: ELSA-Brasil determinou a reprodutibilidade intra-observador do PAT, com o equipamento Endo-PAT2000[®] usando parâmetros de concordância e confiabilidade. Esse estudo incluiu 130 participantes obesos e idosos. Os autores concluíram que, a PAT é viável e tem reprodutibilidade aceitável em adultos quando comparada com outros métodos não-invasivos para avaliação da função endotelial. Esse desempenho faz do PAT, um método promissor para futuros estudos clínicos e epidemiológicos (Brant *et al.*, 2013).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a função endotelial em pacientes hipertensos resistentes comparando com outro grupo de pacientes hipertensos controlados com até 3 drogas anti-hipertensivas.

2.2 Objetivos Específicos

Avaliar, nos indivíduos hipertensos resistentes e controlados:

- a) Índice de hiperemia reativa - RHI
- b) Concentrações séricas de moléculas de adesão (ICAM-1, VCAM-1)
- c) MCP1
- d) Adiponectina
- e) VEGF
- f) IL6
- g) Correlações dos marcadores de função endotelial (RHI, ICAM-1, VCAM-1, MCP-1 e VEGF) e de inflamação (IL-6 e adiponectina) com as pressões arteriais sistólica e diastólica
- h) Descenso noturno.

3 JUSTIFICATIVA

O endotélio tem um papel central no desenvolvimento, na progressão e nas manifestações clínicas das doenças cardíacas.

A disfunção endotelial é o primeiro estágio da aterosclerose e potencialmente reversível sendo um preditor independente de eventos cardiovasculares e uma característica comum aos vasos dos hipertensos. Entretanto os mecanismos envolvidos na disfunção endotelial diferem de acordo com os modelos experimentais de HAS estudados e ainda de acordo com o vaso sanguíneo avaliado. Em geral, a parede dos vasos dos hipertensos exibe reduzido relaxamento dependente do endotélio, associado ou não ao aumento da resposta a agonistas vasoconstritores, como a noradrenalina. Neste contexto, a disfunção endotelial pode estar relacionada: 1) à redução da biodisponibilidade de NO, por menor produção pelas NOS ou por sua maior degradação pelo O_2^- , e ainda, 2) à maior liberação de EDCF, como endoperóxidos e tromboxanos, EROs (espécies reativas de oxigênio) e/ou ET-1 pela parede vascular. É interessante que a disfunção endotelial na HAS tem sido descrita não somente na macrocirculação, mas na microcirculação e na circulação renal (Vanhoutte *et al.*, 2009).

A disfunção endotelial como um preditor independente de desfecho cardiovascular adverso pode fornecer um melhor valor preditivo de eventos cardiovasculares futuros do que cada um dos fatores de risco tradicionais sozinhos em pacientes com doença coronariana comprovada (Kitta *et al.*, 2009). Dessa forma, a avaliação da função endotelial pode não só servir como uma ferramenta para o diagnóstico de lesão vascular e início da aterosclerose, mas também como um alvo terapêutico e um método para seguir o sucesso da intervenção.

A avaliação da função endotelial tem sido investigada por diferentes métodos e apesar de a disfunção endotelial ser uma alteração comum nos vasos sanguíneos dos hipertensos, ainda não está claro se esta é causa ou consequência da HAS, assim como ainda existem poucos dados na literatura mostrando o comprometimento do endotélio vascular especificamente na presença da hipertensão arterial resistente, justificando a realização do presente estudo.

4 CASUÍSTICA

O presente estudo foi realizado no Laboratório da Disciplina de Fisiopatologia Clínica e Experimental (CLINEX) e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto antes do início de sua realização (2544-CEP/HUPE - CAAE: 0174.1.228.015-09) (Apêndice A). Todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) antes da sua inclusão no estudo (Apêndice B).

Participaram deste estudo 60 pacientes com idade entre 24 e 75 anos, sem distinção de etnia ou gênero, com PAS \geq 160 mmHg e $<$ 220 mmHg e/ou PAD \geq 100 mmHg, utilizando ou não anti-hipertensivos, na posição sentada e de acordo com a VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. Os participantes deste estudo foram selecionados nos ambulatórios do CLINEX, da Clínica Médica e da Cardiologia do Hospital Universitário Pedro Ernesto, no período de dezembro de 2011 a julho de 2013.

A abordagem inicial dos indivíduos consistiu no convite para participação no estudo, com esclarecimento dos principais objetivos e das características mais importantes do mesmo, incluindo o número de visitas. Aqueles indivíduos que aceitaram participar deste estudo assinaram o TCLE e foram submetidos à avaliação através de entrevista abordando os diferentes critérios de elegibilidade. Os indivíduos potencialmente elegíveis para o estudo foram agendados para a visita de seleção (V0) no Laboratório da Disciplina de Fisiopatologia Clínica e Experimental (CLINEX).

4.1 Critérios de inclusão

Os pacientes incluídos no estudo preencheram os seguintes critérios:

- a) Idade entre 18 e 75 anos;
- b) Pressão arterial sistólica ≥ 160 mmHg e < 220 mmHg, e/ou diastólica ≥ 100 mmHg, na posição sentada e de acordo com a VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão, em uso ou não de drogas anti-hipertensivas;
- c) Terem assinado o termo de consentimento livre e esclarecido.

4.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo os pacientes:

- a) Com pressão arterial sistólica ≥ 220 mmHg;
- b) Com doenças CV ou que tenham realizado algum procedimento CV nos últimos 6 meses;
- c) Portadores de insuficiência renal estágios IV e V,
- d) Com exame de fundo de olho: Grau III ou Grau IV (classificação de Keith Wagener);
- e) Com história de doença maligna;
- f) Com história de doença hepática;
- g) Portadores de doenças psiquiátricas que impediriam o cumprimento do protocolo;
- h) Mulheres em idade fértil e sem uso de método contraceptivo eficaz;
- i) Gestantes ou lactantes;
- j) Com hipersensibilidade a alguma das drogas previstas no estudo;
- k) Com necessidade de uso de betabloqueadores;
- l) Com deformidade do dedo que impedisse a aplicação adequada do sensor do equipamento utilizado para avaliação da função endotelial.

5 DESENHO DO ESTUDO

Este trabalho foi desenvolvido a partir de um estudo clínico prospectivo multicêntrico e randomizado para identificação de pacientes com hipertensão arterial resistente e padronização de esquemas terapêuticos – ReHOT (**R**esistant **H**ypertension **O**ptimal **T**reatment).

Trata-se de um estudo clínico transversal, com 60 pacientes hipertensos, sendo 36 pacientes com a PA controlada com até 3 classes diferentes de fármacos anti-hipertensivos em suas doses máximas toleradas (hipertensão arterial controlada - HAC) e 24 pacientes com HAR. Essa coorte de pacientes foi avaliada em uma visita (V3) do ReHOT, descrito a seguir e esquematizado na figura 4.

1ª fase: Estabelecimento padronizado de associação de anti-hipertensivos para o tratamento e controle da hipertensão arterial e identificação de pacientes resistentes. O intervalo entre todas as visitas do estudo foi de quatro semanas (28 dias), com tolerância de +/- 5 dias.

VISITA 0

Nesta visita foram incluídos pacientes com pressão arterial $\geq 160/100$ mmHg e < 220 mmHg que após assinatura do TCLE, responderam aos questionários de entrada, passaram por exame físico e iniciaram o tratamento com a associação de clortalidona 25 mg/dia e enalapril 20mg 2x/dia. Para pacientes com intolerância ao inibidor da enzima conversora de angiotensina (IECA) (por exemplo: tosse), foi substituído o enalapril 20 mg 2x/dia por losartana 50 mg 2x/dia. Para os pacientes que já estavam em uso de algum esquema anti-hipertensivo, não foi realizado *washout* prévio, apenas a troca do esquema terapêutico, por questões éticas. A adesão ao tratamento em cada visita foi realizada através da contagem de comprimidos retornados em cada uma delas. Toda a medicação foi fornecida para os pacientes durante todo o estudo e foram considerados aderente ao tratamento os pacientes que tomaram todas as medicações de forma correta em mais de 80% do período.

VISITA 1

Após quatro semanas de seguimento esses pacientes, (utilizando o mesmo esquema terapêutico), foram submetidos à avaliação laboratorial de rotina preconizada pelas VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão (dosagem sanguínea de Na⁺ e K⁺, creatinina, ácido úrico, glicemia, lipidograma, hemograma e análise de urina: EAS), ECG convencional e de 20 minutos e MAPA 24h.

Se nesta visita a PA de consultório permanecesse acima de 140/90 mmHg, acrescentar-se-ia anlodipino 5mg/dia, que poderia ser titulado até 10mg/dia na visita subsequente. Se houvesse aparecimento de efeito colateral com enalapril (tosse ou farmacodermia), este seria substituído por losartana 50mg 2x/dia.

VISITA 2

Após seguimento de mais quatro semanas, os pacientes foram reavaliados e aqueles cuja PA permaneceu acima de 140/90 mmHg, o anlodipino 5mg/dia foi titulado até 10mg/dia.

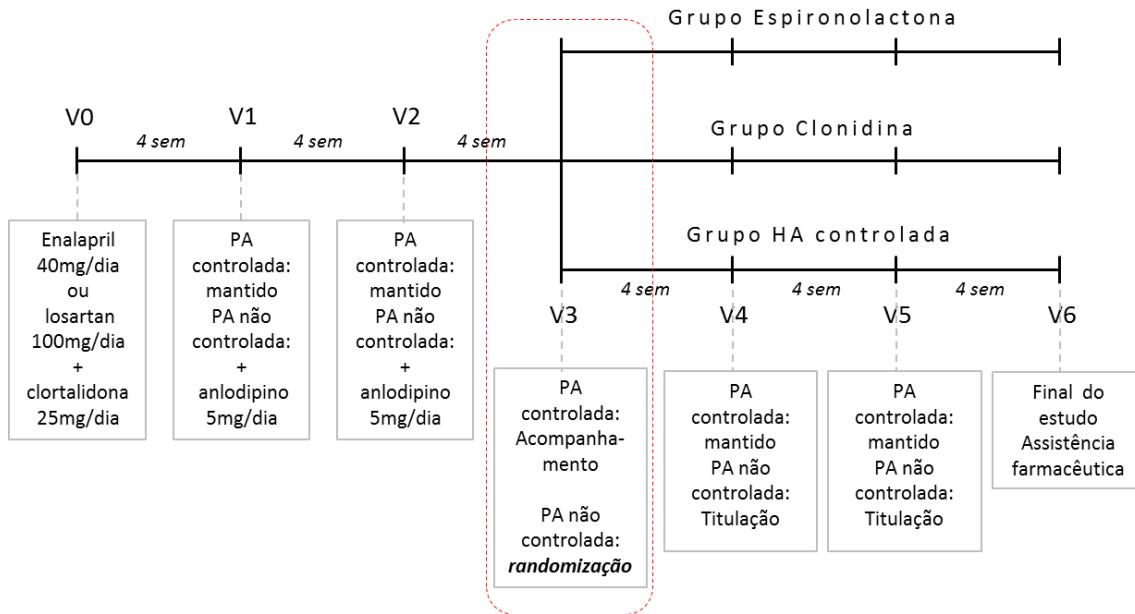
VISITA 3

Após quatro semanas da visita 2, todos pacientes foram submetidos aos questionários de seguimento, realizaram nova MAPA 24h e avaliação laboratorial de rotina.

Também foram submetidos à avaliação da função endotelial pelo Endo-PAT2000[®] e à coleta de sangue para avaliação dos biomarcadores inflamatórios e de função endotelial.

Os pacientes que mantiveram PA de consultório igual ou acima de 140/90 mmHg e/ou pressão arterial de 24 horas na MAPA igual ou acima de 130/80mmHg foram considerados hipertensos resistentes sendo randomizados para receber uma quarta droga, podendo ser espironolactona 12,5mg/dia ou clonidina 0,200mg/dia e passaram para a **segunda fase** do estudo com duração de 12 semanas. Os pacientes com HAC mantiveram assistência médica e farmacêutica por mais 12 semanas.

Figura 4 – Desenho completo do estudo ReHOT



TCLE, critérios de inclusão e exclusão: V0.

Avaliação clínica: V0, V1, V2, V3, V4, V5 e V6.

Avaliação laboratorial, ECG 20'e MAPA 24h: V1, V3 e V6.

Avaliação da função endotelial: V3 e V6.

Urina de 24h, renina plasmática e aldosterona: V1

Legenda: TCLE: Termo de consentimento livre e esclarecido; PA: pressão arterial; MAPA: monitorização ambulatorial da pressão arterial; ECG 20': eletrocardiograma de 20 minutos

6 MÉTODOS

6.1 Avaliação da pressão arterial

A PA de consultório foi avaliada através do método semi-automatizado oscilométrico por aparelho Microlife modelo BP3AC1-1PC, na posição sentada, após 10 minutos de repouso, com manguito apropriado e no braço não dominante. Pelo menos 3 aferições foram realizadas até que fossem obtidas duas medidas consecutivas que diferissem menos de 4mmHg entre elas. O valor da PA de consultório utilizada foi a média dessas últimas duas medidas.

A avaliação da PA (sistólica e diastólica, diurna e noturna) através da MAPA foi feita por método oscilométrico, automático de medida indireta e intermitente da pressão arterial durante 24 horas, enquanto o paciente realizava suas atividades rotineiras, inclusive durante o sono. A duração da MAPA foi de 24 horas e as medições realizadas a cada 20 minutos no período da vigília e a cada 30 minutos no período do sono, aceitando-se como válidos os exames cujo percentual de sucesso das medidas foi igual ou superior a 85%, e/ou com 3 medidas válidas por hora de exame. Foram utilizados equipamentos automáticos SpaceLabs 90207e a análise dos dados coletados foi feita usando-se a interface SpaceLabs ABP90204.

O descenso noturno foi calculado segundo a fórmula adaptada das V Diretrizes Brasileiras de MAPA (SBH, 2011).

$$\text{Descenso noturno (\%)} = \left(\frac{PA \text{ diurna} - PA \text{ noturna}}{PA \text{ diurna}} \right) \times 100$$

6.2 Avaliação da função endotelial

A avaliação da função endotelial foi realizada por 2 métodos diferentes: tonometria arteriolar periférica (PAT) e concentração sérica de biomarcadores da função endotelial.

6.2.1 Tonometria arteriolar periférica

A avaliação da função endotelial através da PAT foi realizada utilizando-se o equipamento Endo-PAT2000[®] (Itamar-Medical Caesarea, Israel) (Figura 5).

Este método foi aprovado pelo FDA e certificado pelo *Consultants Europe* para uso como auxílio diagnóstico em pacientes com sinais e sintomas de doença coronariana isquêmica (Barac *et al.*, 2007).

O aparelho fornece uma análise da função endotelial em 15 minutos, medindo as mudanças mediadas pelo endotélio no tônus vascular da ponta dos dedos através de biossensores. Estas mudanças no tônus são desencadeadas após uma oclusão padrão da artéria braquial por 5 minutos, criando uma resposta de hiperemia reativa. As medidas do outro braço são utilizadas como controle para as mudanças não-dependentes de endotélio no tônus vascular. A relação é calculada automaticamente e há o fornecimento de um índice de hiperemia reativa (RHI).

Em síntese, o método registra as modificações no tônus vascular em 3 fases distintas: período basal (gravação de 5 minutos); período de oclusão arterial de 5 minutos (o manguito é inflado a 60mmHg acima da PA sistólica, e no mínimo a 200mmHg); e período pós oclusão de 5 minutos (após desinflar rapidamente o manguito). Os dados são analisados em um computador de forma independente do operador, sendo os resultados fornecidos automaticamente.

O relatório emitido pelo *software* (figura 6) exibe o valor do RHI através do *EndoScore*, uma classificação própria do método onde: uma pontuação $\leq 1,67$ indica a necessidade de avaliação médica imediata (Nível Vermelho); uma pontuação entre 1,68 e 2 indica que o endotélio ainda está bem, mas deve-se tomar medidas preventivas adequadas (Nível Amarelo); e uma pontuação acima de 2 indica que o endotélio está íntegro, oferecendo a máxima proteção (Nível Verde) (Informação fornecida pelo fabricante - Itamar-Medical Ltd. – Ceaserea, Israel). O *Endoscore* é calculado através da razão da média da amplitude do sinal PAT durante um minuto, começando 1,5 minutos após a liberação do manguito dividido pela média da amplitude do sinal PAT durante 3,5 minutos no período basal (Lelakis *et al.*, 2011).

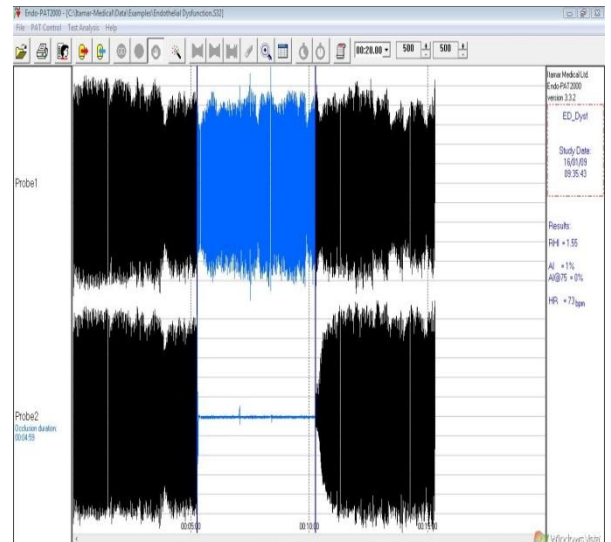
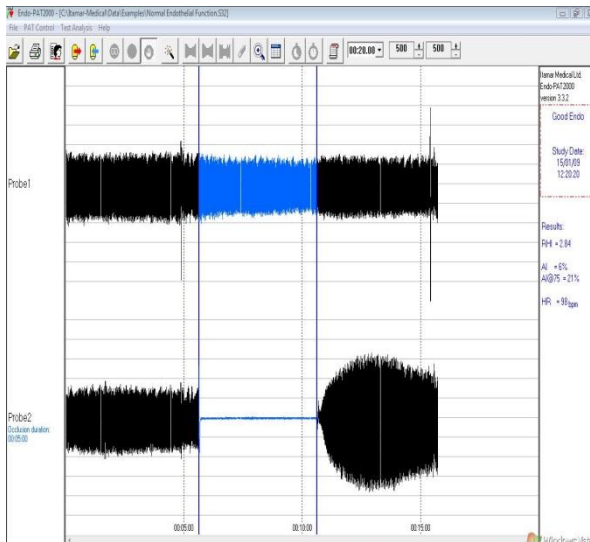
Figura 5 - Foto ilustrativa do uso do Endo- PAT2000[®] e dos registros de tonometria arteriolar nos dedos intervenção e controle por dilatação fluxo mediada



Figura 6 - Foto ilustrativa dos resultados do Endo- PAT2000[®]

Função endotelial normal
RHI = 2,84

Disfunção endotelial
RHI = 1,55



O sinal da PAT é medido a partir da ponta do dedo, gravando alterações de volume pulsátil arterial do dedo. Com base nessa tecnologia, o Endo-PAT2000® compreende um aparelho de medição que suporta um par de modificados biossensores pletismográficos. Uma característica única dos biossensores PAT é que eles conferem uma pressão uniforme sub-diafólica para os dois terços distais dos dedos, incluindo as suas pontas, impedindo o acúmulo distal do sangue venoso, o que pode induzir um reflexo vasoconstrição veno-arteriolar (Itamar-Medical).

6.2.2 Biomarcadores inflamatórios e de função endotelial

As concentrações séricas de Interleucina-6, adiponectina e os biomarcadores de função endotelial I-CAM1, V-CAM 1, MCP-1 e VEGF foram mensurados por método enzimático-imunonefelométrico-imunoensaio - método Luminex™ xMAP, utilizando os Kits: HCVD2MAG-67K-02 (I-CAM1 e V-CAM1), Cat HCYTOMAG – 60K-03 (IL- 6, MCP-1, VEGF) e HADK1MAG-61K (adiponectina), fornecedor Millipore Corporation Billerica, MA, USA.

A tecnologia Luminex™ xMap envolve um processo exclusivo que cora microesferas de látex com dois fluoróforos. Utilizando proporções precisas de dois fluoróforos, podem ser criados 100 conjuntos diferentes de microesferas – cada uma delas com uma assinatura baseada em “código de cores” e que podem ser identificadas pelo instrumento Luminex.

Os Kits Miliplex foram desenvolvidos com estas microesferas e se fundamentam no imunoensaio. Anticorpos de captura específicos para cada analito estão imobilizados nas microesferas através de ligações covalentes não reversíveis. Depois que o analito (amostra) se liga aos anticorpos de captura localizados na superfície das microesferas, a detecção final é feita através de um terceiro marcador fluorescente, ficoeritrina ligada ao anticorpo de detecção. O resultado final é um ensaio “sanduíche” realizado através de microesferas. O equipamento Luminex 200 movimenta essas esferas em fila única através de feixes de dois lasers diferentes em um citômetro de fluxo. O primeiro feixe de laser detecta (classifica) a microesfera (o código de cor para o ensaio) e o segundo laser quantifica o sinal de reporte em cada microesfera.

6.3 Avaliação laboratorial de rotina

Hemograma, glicemia, creatinina, sódio, potássio, ácido úrico, colesterol total, HDL-col, triglicerídeos EAS, por técnica automatizada e LDL-col através da fórmula de Friedwald (Friedewald *et al.*, 1972). O clearance de creatinina foi estimado pela equação de Cockcroft-Gault (Cockcroft e Gault, 1976).

7 ANÁLISE ESTATÍSTICA E CÁLCULO DO TAMANHO DA AMOSTRA

Foram utilizados para a descrição das variáveis contínuas as médias aritméticas e seus respectivos erros padrões. Foi verificada a distribuição normal das variáveis através do teste de Shapiro-Wilk. A comparação das contribuições das variáveis entre os grupos de tratamento foi feita com o teste *t* de *Student*, quando assumimos que essas variáveis aleatórias possuem distribuição normal. Quando não foi possível fazer essa associação, foi utilizado o teste não paramétrico de Mann Whitney.

As medidas de correlação que foram usadas para avaliar as relações entre as variáveis contínuas foram os coeficientes de Pearson ou de Spearman quando apropriados. A apreciação estatística da comparação de proporções entre os grupos foi realizada pelo teste Qui-quadrado. A análise de regressão multivariada foi utilizada com a finalidade de fazer ajustes para fatores de confundimento. O nível de significância estatística adotado foi $p < 0,05$. A análise estatística foi realizada com o software GraphPad Prism, versão 5.0.

Embora a análise de estudos sobre a função endotelial em pacientes hipertensos resistentes seja escassa, para fins de planejamento dessa investigação o tamanho da amostra foi calculado para se detectar uma variação do índice de hiperemia reativa de 1,6 a 1,9 considerando um intervalo de confiança de 95%. Nessas condições, o tamanho mínimo da amostra poderia assumir valores de 21 pacientes para cada grupo, considerando erro tipo I de 0,05 e erro tipo II de 0,20 (Tabela 2).

Tabela 2 – Cálculo do tamanho da amostra para comparar duas médias

Intervalo de confiança (<i>2-sided</i>)	95%		
Força	80%		
Razão do tamanho da amostra (grupo HAR/grupo HAC)	1		
	Grupo HAR	Grupo HAC	Diferença da média ¹
Média	1,6	1,9	-0,3
Desvio padrão	0,36	0,33	
Variância	0,1296	0,1089	
Tamanho da amostra do grupo HAR	21		
Tamanho da amostra do grupo HAC	21		
Tamanho total da amostra	42		

¹Diferença da média= (média Grupo HAR) - (média Grupo HAC)

Legenda: HAR= hipertensão arterial resistente; HAC= hipertensão arterial controlada.

8 RESULTADOS

Para o presente estudo foram selecionados inicialmente 65 pacientes. Destes, 2 foram excluídos por apresentarem níveis de PA inferiores aos determinados nos critérios de inclusão, 2 foram a óbito entre a V1 e a V3 (por causas não relacionadas ao estudo) e um foi excluído por impossibilidade de seguir o protocolo (HA grave, necessitando de mais de duas drogas no início do estudo), totalizando 5 perdas. Assim, 60 pacientes foram incluídos no estudo de acordo com os critérios de inclusão e exclusão pré-estabelecidos e cumpriram todas as etapas do estudo. Nessa coorte de pacientes avaliada em V3, os pacientes foram distribuídos em dois grupos, sendo 36 pacientes que controlaram a PA, grupo HAC e 24 que se mantiveram resistentes ao tratamento, grupo HAR. No grupo HAC, 4 pacientes controlaram a PA usando apenas duas drogas (enalapril ou losartana mais clortalidona) e os demais (32 pacientes), controlaram a PA em uso de 3 drogas (foi associado anlodipino ao esquema prévio), sendo que destes, 17 controlaram a PA com 5 mg/dia de anlodipino e 15 com 10 mg/dia de anlodipino.

8.1 Características dos pacientes no início do estudo

A tabela 3 apresenta as principais características dos pacientes estudados na visita 1 (V1), neste ponto de corte todos os pacientes estavam utilizando o mesmo esquema terapêutico anti-hipertensivo (enalapril 40mg/dia ou losartana 100mg/dia mais clortalidona 25mg/dia) por 4 semanas.

A análise comparativa dos dois grupos mostrou semelhança entre idade, gênero, raça, índice de massa corpórea e tempo de HAS. Em relação a PA observamos nessa fase (V1) que o grupo de pacientes que posteriormente foi definido como portador de HAR já apresentava valores de PA significativamente maiores tanto quando avaliado pelo método oscilométrico de consultório como pela MAPA-24h.

Tabela 3 - Dados demográficos e características iniciais dos pacientes (V1)

	Grupo HAC (n = 36)	Grupo HAR (n = 24)	p
Idade (anos)	54,17 ± 1,36	56,33 ± 2,19	ns
Raça (não branco/branco)	25/11	19/5	ns
Gênero (feminino/masculino)	24/12	15/9	ns
Índice de massa corporal (kg/m ²)	31,33 ± 0,84	29,86 ± 0,98	ns
Circunferência da cintura (cm)	101,3±2,46	98,64± 2,81	ns
PAS (mmHg)	148,4 ± 3,47	176,4 ± 5,79	< 0,0001
PAD (mmHg)	91,95 ± 1,93	102,9 ± 2,87	0,0017
PAS MAPA 24h (mmHg)	130,7 ± 1,58	162,0 ± 4,22	< 0,0001
PAD MAPA 24h (mmHg)	82,74 ± 1,27	97,86 ± 3,16	< 0,0001
PAS MAPA vigília (mmHg)	135,3 ± 1,54	164,8 ± 4,42	<0,0001
PAD MAPA vigília (mmHg)	86,60 ± 1,28	100,8 ± 3,29	<0,0001
PAS MAPA sono (mmHg)	123,2 ± 2,29	155,7 ± 4,05	<0,0001
PAD MAPA sono (mmHg)	75,51 ± 1,81	91,32 ± 3,05	<0,0001
Frequência cardíaca (bpm)	75 ± 2,8	73,81 ± 2,53	ns
Tempo de HA (anos)	18,45 ± 2,66	16,45 ± 2,46	ns
Tabagismo atual	1	1	ns
Diabetes mellitus	0	3	ns
Glicose (mg/dl)	90,37 ± 2,13	105,5 ± 11,83	ns
Colesterol total (mg/dl)	210,3 ± 10,13	219,9 ± 11,62	ns
HDL-colesterol (mg/dl)	50,68± 2,33	42,58± 3,3	0,03
LDL-colesterol (mg/dl)	128,1± 8,32	138,6± 12,06	ns
Triglicerídeos (mg/dl)	134,2± 11,87	202,4± 25,16	0,02
Ácido úrico (mg/dl)	6,1 ± 0,3	5,9 ± 0,3	ns
Creatinina (mg/dl)	0,84 ± 0,05	0,84 ± 0,04	ns
Hematócrito (%)	40,86 ± 0,6	42,7 ± 0,86	ns
Sódio sérico (mEq/L)	138,4 ± 0,5	137,8 ± 0,88	ns
Potássio sérico (mEq/L)	4,08 ± 0,08	4,06 ± 0,16	ns

Os valores são expressos como média ± erro padrão da média.

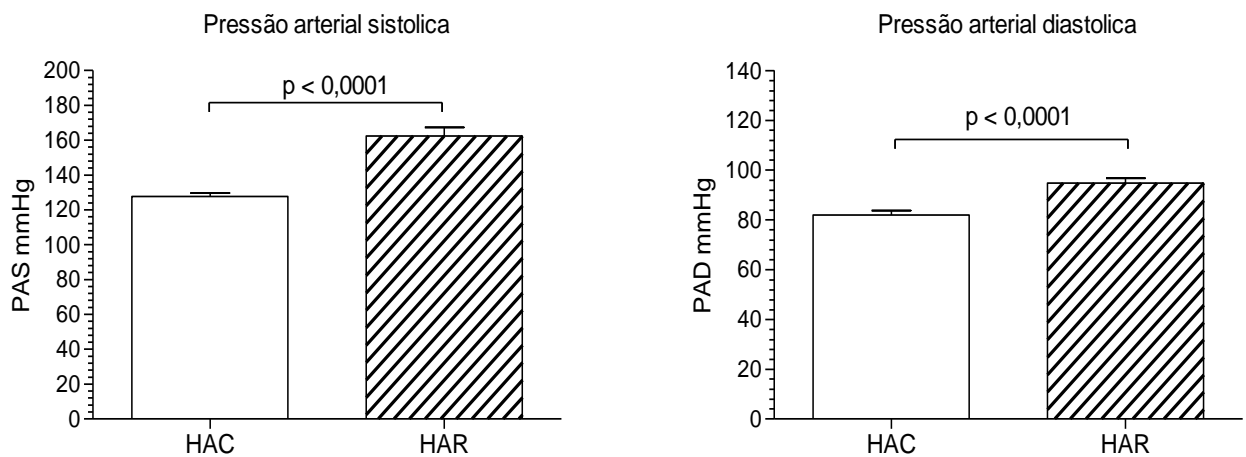
Legenda: HAR = hipertensão arterial resistente; HAC = hipertensão arterial controlada; PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; MAPA = monitorização ambulatorial da pressão arterial; HDL = lipoproteína de alta densidade; LDL = lipoproteína de baixa densidade.

8.2 Avaliação da pressão arterial de consultório – método oscilométrico

Quando a PA foi avaliada em consultório, ela se mostrou mais elevada no grupo de hipertensos resistentes, como esperado. No grupo HAC (pacientes que tinham a PA inferior a 140/90 mmHg na V3, com as possíveis combinações de enalapril ou losartana + clortalidona + anlodipino) a média da PAS foi de $127,7 \pm 2,08$ mmHg, enquanto no grupo HAR (pacientes cuja PA de consultório se manteve com valores iguais ou a cima de 140/90 mmHg e pela MAPA 24h \geq 130/80 mmHg, em uso de pelo menos 3 anti-hipertensivos), a média da PAS em V3 foi de $162,5 \pm 4,86$ mmHg, sendo essa diferença estatisticamente significativa ($p < 0,0001$) (figura 7).

Os valores da PAD se mostraram de forma semelhante à PAS nos dois grupos: HAC = $81,99 \pm 1,73$ mmHg vs. HAR = $94,75 \pm 2,08$ mmHg ($p < 0,0001$) (figura 7).

Figura 7 - Valores médios da pressão arterial sistólica e diastólica, método oscilométrico, nos grupos HAC (n = 36) e HAR (n = 24) em V3



Legenda: HAC = grupo hipertensão arterial controlada; HAR = grupo hipertensão arterial resistente; PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica.

8.3 Avaliação da pressão arterial – MAPA

A tabela 4 mostra a pressão arterial avaliada através da MAPA durante 24h e nos períodos diurno e noturno nos 2 grupos estudados em V3. Podemos observar uma diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos (HAC vs. HAR), tanto na PAS quanto na PAD, nos períodos diurno, noturno e de 24h.

Tabela 4 - Valores médios da pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD) avaliadas pela MAPA nos 2 grupos em V3

Grupo	HAC (n = 36)	HAR (n = 24)	p*
PASd	124,1 ± 1,8	149,5 ± 3,4	<0,0001
PADd	79,00 ± 1,3	90,92 ± 2,6	<0,0001
PASn	115,7 ± 2,1	140,8 ± 3,2	<0,0001
PADn	70,46± 1,9	83,08± 2,2	<0,0001
PAS24	121,1 ± 1,7	147,0 ± 3,3	<0,0001
PAD24	76,54± 1,5	88,58± 2,4	0,0001

Os valores são expressos como média ± erro padrão da média

Legenda: HAC = grupo hipertensão arterial controlada; HAR = grupo hipertensão arterial resistente; PA = pressão arterial; PASd = pressão arterial sistólica diurna; PADd = pressão arterial diastólica diurna; PASn = pressão arterial sistólica noturna; PADn = pressão arterial diastólica noturna; PAS24 = pressão arterial sistólica nas 24h; PAD24 = pressão arterial diastólica nas 24h.

*Valor p para grupo HAR vs. grupo HAC

Em relação à análise do descenso noturno, observamos que 75% dos pacientes não apresentaram descenso noturno sistólico e 52% não apresentaram o descenso diastólico. Além disso, quando analisamos separadamente os grupos HAC e HAR registramos que o percentual de pacientes sem o descenso noturno foi maior no grupo HAR (tabela 5).

Tabela 5 – Descenso noturno sistólico e diastólico avaliado pela MAPA 24h, nos grupos estudados

	HAC (n = 36)	HAR (n = 24)	Total n = 60	*p	#p	§p
Descenso Sistólico n (%)	10 (27,8%)	5 (20,8%)	15 (25%)	0,76	0,78	0,06
Descenso Diastólico n (%)	20 (55,6%)	9 (37,5%)	29 (48%)	0,20	0,47	0,53

Valores apresentados em percentual

Legenda: HAC = grupo hipertensão arterial controlada; HAR = grupo hipertensão arterial resistente.

* Valor p para grupo HAR vs. grupo HAC

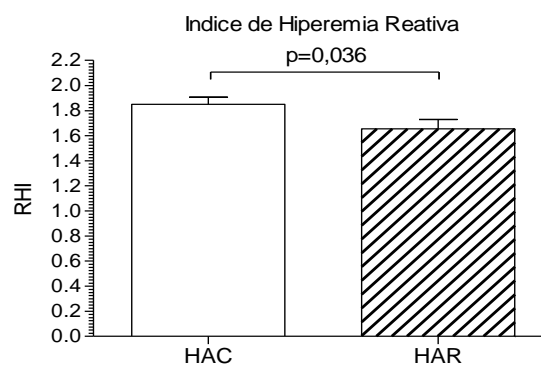
#Valor de p para grupo todo vs. HAR

§ Valor de p para grupo todo vs. HAC

8.4 Avaliação da função endotelial – tonometria arteriolar periférica

A avaliação da função endotelial através da tonometria arteriolar periférica pelo EndoPat[®] 2000 é registrada através do índice de hiperemia reativa (RHI). Os valores médios do RHI nos dois grupos estudados em V3 foram: grupo HAC: RHI = $1,85 \pm 0,06$ e grupo HAR: RHI = $1,65 \pm 0,07$ ($p=0,036$), sendo essa diferença estatisticamente significativa (Figura 8). O exame estabelece como ponto de corte um RHI de 1,67, onde valores inferiores a este sugerem um endotélio com disfunção. Observamos ainda que o grupo HAC apesar de apresentar um RHI $>1,67$, encontra-se no nível amarelo pelo *Endoscore*, conferindo risco a esse grupo.

Figura 8 - Valores do índice de hiperemia reativa nos grupos estudados em V3



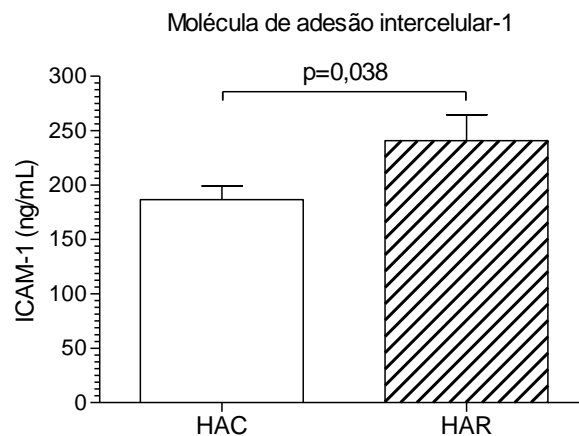
Legenda: HAC = grupo hipertensão arterial controlada; HAR = grupo hipertensão arterial resistente; RHI = Índice de hiperemia reativa.

8.5 Avaliação da função endotelial – biomarcadores

A dosagem de ICAM -1 nos 2 grupos estudados mostrou maiores valores no grupo HAR quando comparado ao grupo HAC, $240,9 \pm 23,76$ ng/ml vs. $186,6 \pm 12,65$ ng/ml, respectivamente, sendo essa diferença estatisticamente significativa (figura 9 e tabela 6).

As dosagens de VCAM -1, VEGF e MCP1 apresentaram valores maiores no grupo HAR quando comparado com o grupo HAC, entretanto essa diferença não foi estatisticamente significativa (tabela 6).

Figura 9 - Valores de ICAM-1 nos grupos estudados em V3



Legenda: HAC = grupo hipertensão arterial controlada; HAR = grupo hipertensão arterial resistente; ICAM-1 = molécula de adesão intercelular.

Tabela 6 - Valores médios dos biomarcadores de função endotelial nos diferentes grupos de estudo, em V3

Biomarcadores	HAC (n = 36)	HAR (n = 24)	p*
ICAM-1(ng/ml)	186,6 ± 12,65	240,9 ± 23,76	0,038
VCAM-1(ng/ml)	627,1 ± 37,09	706,0 ± 86,10	0,372
VEGF(pg/ml)	403,3 ± 94,91	612,7 ± 88,27	0,123
MCP1(pg/ml)	694,9 ± 69,09	787,0 ± 52,80	0,315

Os valores são expressos como média ± erro padrão da média

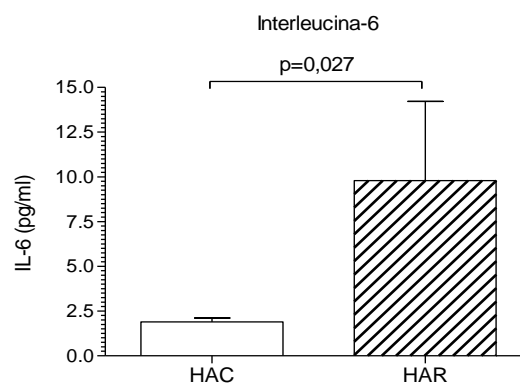
ICAM-1 = molécula de adesão intercelular-1, VCAM-1 = molécula de adesão celular vascular; VEGF = fator de crescimento endotelial vascular; MCP-1 = proteína quimiotática de monócito.

* Valor p para grupo HAR vs. grupo HAC

8.6 Avaliação dos biomarcadores inflamatórios

Na figura 10 observamos que a dosagem da IL-6 foi significativamente maior no grupo HAR comparado ao grupo HAC ($p = 0,027$). Além disso, a adiponectina apresentou valores mais reduzidos no grupo HAR comparado ao grupo HAC, embora variável essa, sem significância estatística (tabela 7), mas sugerindo um estado inflamatório maior nos pacientes com HAR face aos níveis mais elevados de IL-6 e mais reduzidos da adipocitocina protetora adiponectina.

Figura 10 - Valores de IL-6 nos grupos estudados em V3



Legenda: HAC = grupo hipertensão arterial controlada; HAR = grupo hipertensão arterial resistente; IL-6 = interleucina 6.

Tabela 7 - Valores médios dos biomarcadores inflamatórios nos diferentes grupos de estudo, em V3

Biomarcadores	HAC (n = 36)	HAR (n = 24)	p*
IL-6 (pg/ml)	1,897 ± 0,2165	9,793 ± 4,421	0,027
Adiponectina (pg/ml)	10.570 ± 1516	8.422 ± 1295	0,301

Os valores são expressos como média ± erro padrão da média

Legenda: HAC = grupo hipertensão arterial controlada; HAR = grupo hipertensão arterial resistente; IL-6 = interleucina-6.

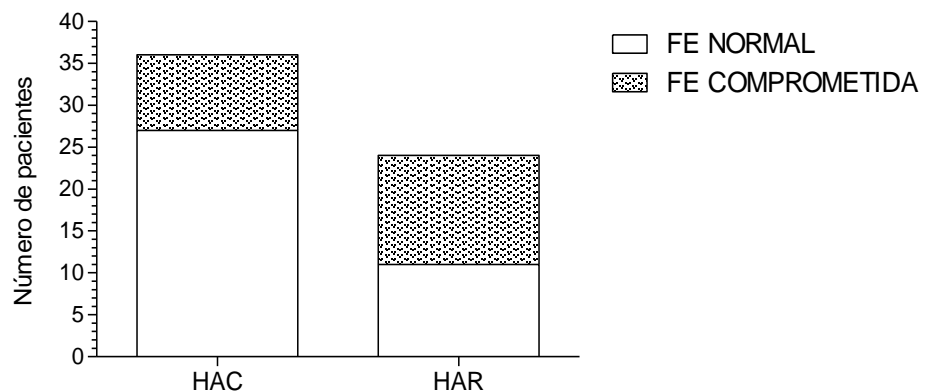
* Valor p para grupo HAR vs. grupo HAC

8.7 Razão de prevalência do comprometimento da função endotelial entre os grupos de hipertensos

Ao analisar os grupos de hipertensos em relação à função endotelial através do teste exato de Fischer, encontramos uma razão de prevalência da disfunção endotelial no grupo hipertensão arterial resistente de 54% (OR = 3,55; 95% IC 1,18-10.67; p = 0,029), conforme mostra a figura 11. Os valores da razão de prevalência da disfunção endotelial encontrada em cada grupo e no grupo todo estão disponíveis na tabela 8.

Figura 11 - Razão de prevalência do comprometimento da função endotelial entre os grupos de hipertensos

Análise de contingência entre os grupos de hipertensos e a função endotelial



Legenda: HAC = grupo hipertensão arterial controlada; HAR = grupo hipertensão arterial resistente; FE = função endotelial.

Tabela 8 – Razão de prevalência do comprometimento da função endotelial entre os grupos de hipertensos

Grupo	FE normal	FE comprometida
HAC- n (%)	27 (75%)	9 (25%)
HAR - n (%)	11(46%)	13 (54%)
Total - n (%)	38 (63%)	22(37%)

Legenda: HAC = grupo hipertensão arterial controlada; HAR = grupo hipertensão arterial resistente; FE = função endotelial.

8.8 Análises de correlação entre as pressões arteriais sistólica e diastólica e função endotelial medida pelo PAT e biomarcadores

As análises das correlações da pressão arterial sistólica e diastólica com a função endotelial seja pela tonometria arteriolar periférica ou pela dosagem de biomarcadores, apontou que nenhuma variável contínua apresentou correlação, tanto no grupo HAC como no grupo HAR (tabelas 9 e 10).

Tabela 9 - Correlações entre a pressão arterial sistólica, RHI e os biomarcadores de função endotelial e inflamatórios, nos grupos HAC (n = 36) e HAR (n = 24)

Parâmetros avaliados	Grupo HAC		Grupo HAR	
	r	p	r	p
VCAM	-0,0417	0,86	-0,1034	0,69
ICAM	-0,3472	0,12	-0,3339	0,19
MCP1	-0,1516-	0,51	-0,1088	0,68
VEGF	-0,0902	0,71	-0,0429	0,87
IL6	0,2192	0,35	-0,0014	0,99
Adiponectina	-0,2219	0,33	-0,0504	0,85
RHI	0,229	0,19	0,1387	0,52

Legenda: HAC = hipertensão arterial controlada, HAR = hipertensão arterial resistente, VCAM-1 = molécula de adesão celular vascular, ICAM-1 = molécula de adesão intercelular-1, MCP-1 = proteína quimiotática de monócito; VEGF = fator de crescimento endotelial vascular; IL-6 = interleucina-6, RHI = índice de hiperemia reativa.

Tabela 10 - Correlações entre a pressão arterial diastólica, RHI e os biomarcadores de função endotelial e inflamatórios, nos grupos HAC (n = 36) e HAR (n = 24)

Parâmetros avaliados	Grupo HAC		Grupo HAR	
	r	p	r	p
VCAM	0,2005	0,38	-0,0984	0,71
ICAM	-0,1683	0,47	-0,2992	0,24
MCP1	0,02249	0,92	-0,1488	0,57
VEGF	-0,09858	0,67	-0,1116	0,67
IL6	0,3010	0,19	-0,2203	0,39
Adiponectina	-0,1468	0,52	-0,3961	0,11
RHI	0,0137	0,94	0,1495	0,49

Legenda: HAC = hipertensão arterial controlada, HAR = hipertensão arterial resistente, VCAM-1 = molécula de adesão celular vascular, ICAM-1 = molécula de adesão intercelular-1, MCP-1 = proteína quimiotática de monócito; VEGF = fator de crescimento endotelial vascular; IL-6 = interleucina-6, RHI= índice de hiperemia reativa.

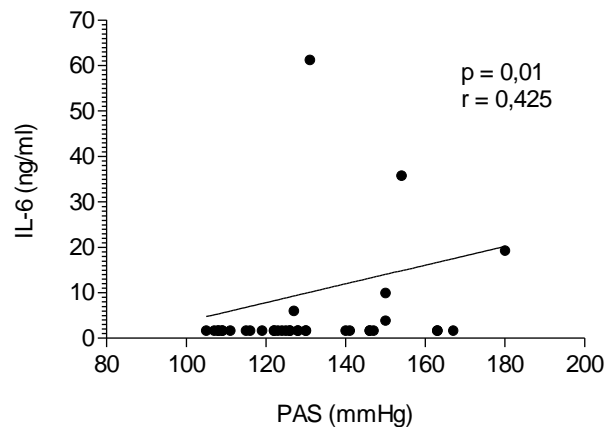
Quando avaliamos o grupo como um todo, a análise de correlação mostrou ser positiva e significativa da PAS com IL-6, $p = 0,01$; $r = 0,4250$ (tabela 11 e figura 12), enquanto a PAD não apresentou correlação com nenhuma das variáveis analisadas.

Tabela 11 - Correlações entre a pressão arterial sistólica, RHI e os biomarcadores de função endotelial e inflamatórios e da pressão arterial diastólica, RHI e os biomarcadores de função endotelial e inflamatórios no grupo todo (n = 60)

Parâmetros avaliados	PAS		PAD	
	r	p	r	p
VCAM	0,0262	0,88	0,0584	0,73
ICAM	-0,0434	0,80	-0,0099	0,95
MCP1	0,0357	0,83	0,0568	0,73
VEGF	-0,0419	0,81	-0,1367	0,42
IL6	0,4250	0,01	0,1654	0,33
Adiponectina	-0,1766	0,29	-0,2818	0,09
RHI	-0,1913	0,21	-0,08597	0,52

Legenda: PAS = pressão arterial sistólica, PAD = pressão arterial diastólica, VCAM-1 = molécula de adesão celular vascular, ICAM-1 = molécula de adesão intercelular-1, MCP-1 = proteína quimiotática de monócito; VEGF = fator de crescimento endotelial vascular; IL-6 = interleucina-6, RHI = índice de hiperemia reativa.

Figura 12 – Gráfico de correlação da PAS com IL-6, grupo todo



Legenda: IL-6 = interleucina-6; PAS = pressão arterial sistólica.

8.9 Análises de regressão linear multivariada

A análise de regressão linear multivariada realizada para fazer os ajustes para fatores de confundimento mostrou que a correlação entre PAS e IL-6, persistiu após ajuste para idade ($p = 0,04$), mas não persistiu após ajuste para IMC ($p = 0,76$) e tempo de HA ($p = 0,15$).

9 DISCUSSÃO

9.1 Considerações gerais

Os principais achados identificados neste estudo, que avaliou uma amostra de pacientes hipertensos, estratificados em dois grupos de acordo com a classificação de hipertensão (resistentes e não resistentes), foram que os integrantes do grupo HAR, quando comparados aos integrantes do grupo HAC apresentaram um significativo comprometimento da função endotelial quando avaliada pela tonometria arteriolar periférica e através da dosagem sérica de ICAM-1 e IL-6.

Nas análises de correlação, quando avaliamos o grupo como um todo a PAS apresentou associação significativa e positiva com IL-6. Após ajustes para os fatores de confundimento, esta correlação persistiu após ajuste para idade, mas não persistiu após ajuste para IMC e tempo de HA.

A seguir, apresentamos uma discussão dos principais resultados deste estudo.

9.2 Hipertensão arterial e função endotelial

A hipertensão arterial contribui significativamente para a morbidade e mortalidade cardiovascular e parece ter uma associação complexa com a disfunção endotelial em quase todos os países do mundo (Dharmashankar e Widlansky, 2010). Parece uma alteração fenotípica do endotélio vascular que precede o desenvolvimento de eventos adversos cardiovasculares e prenuncia o futuro risco cardiovascular. A evidência atual sugere que a hipertensão arterial e a disfunção endotelial estão intimamente relacionadas do ponto de vista fisiopatológico (Dharmashankar e Widlansky, 2010). Dados de uma coorte do estudo *Framingham offspring* sugerem que a severidade da hipertensão se associa com o grau de comprometimento da função endotelial (Benjamin *et al.*, 2004).

A disfunção endotelial pode ser observada em resposta a diferentes fatores de risco para DCV (como tabagismo, idade, hipercolesterolemia, hipertensão, hiperglicemia, história familiar de doença aterosclerótica prematura, obesidade e inflamação sistêmica crônica) e apresenta um papel central na iniciação e na progressão da aterosclerose (Ross, 1999; Burger & Touyz, 2012; Vanhoutte, 2009; Hadi *et al.*, 2005). O aumento da expressão de moléculas de adesão, em resposta a diferentes estímulos fisiopatológicos, provavelmente é o mais antigo indicador da integridade endotelial (Kerret *et al.*, 2011). Savoia (2011) observou que a elevação de biomarcadores como a IL-6, ICAM-1 e PCR são fatores de risco independentes para a HAS e tem sua expressão aumentada nas doenças cardiovasculares. Outro estudo (Galen, 2002), relata que a ICAM-1 é expressa de forma constitutiva, mas em condições normais a sua expressão é muito baixa, enquanto a VCAM-1 é induzível. Quando o endotélio é ativado em resposta às doenças inflamatórias agudas ou crônicas, a expressão de ambas na superfície do endotélio aumenta muito.

Uma revisão sistemática seguida de meta-análise sobre testes de função endotelial não-invasivos e os riscos de resultados adversos, teve por objetivo avaliar a FMD da artéria braquial e o PAT na previsão de eventos adversos, incluindo eventos cardiovasculares e todas as causas de mortalidade (Xu *et al.*, 2013). Foram incluídos 35 estudos, onde 32 avaliaram a FMD e 3 o PAT. Esta meta-análise confirmou que a FMD e a PAT são preditores independentes de eventos cardiovasculares e mortalidade por todas as causas, além dos tradicionais fatores de risco CV e concluiu que estudos que examinem o papel da FMD e da PAT na predição de risco clínico e tomada de decisão médica são necessários.

Não foram encontrados na literatura estudos que avaliassem especificamente a função endotelial pelo PAT em pacientes hipertensos resistentes, porém foi realizado um estudo de avaliação da função endotelial de pacientes hipertensos resistentes onde estes foram submetidos ao exame da função endotelial venosa pela técnica da veia dorsal da mão, do endotélio arterial pela FMD e velocidade de onda de pulso (VOP) (De Souza, 2009). Neste estudo, realizado na Universidade Estadual de Campinas, 86 pacientes foram incluídos, dos quais 33 foram caracterizados como hipertensos resistentes, com média de idade de $50,7 \pm 8,5$ anos, 28 pacientes como hipertensos controlados, média de idade $54,9 \pm 12,0$ anos e 25 normotensos controle, com idade média de $35,8 \pm 12,1$ anos. Todos os grupos foram

submetidos ao exame da função endotelial venosa pela técnica da veia dorsal da mão, do endotélio arterial pela FMD e VOP. Os principais resultados mostraram: uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos hipertensos resistentes e normotensos controle ($p < 0,05$) em relação à vasodilatação endotélio dependente no leito venoso, o mesmo não ocorrendo com a venodilatação induzida por nitroprussiato de sódio (endotélio independente); alterações funcionais do leito arterial dependente do endotélio, através da vasodilatação mediada pelo fluxo entre os grupos hipertensos resistentes e normotensos controle ($p < 0,0005$) e hipertensos controlados e normotensos controle ($p < 0,003$) e a vasodilatação não dependente do endotélio perante estímulo farmacológico entre os grupos hipertensos resistentes e normotensos controle ($p < 0,0001$) e hipertensos controlados e normotensos controle ($p < 0,01$). O aumento da rigidez arterial foi constatada pela VOP entre os grupos hipertensos resistentes e normotensos controle ($p < 0,0001$) e hipertensos controlados e normotensos controle ($p < 0,03$). Nesse estudo de De Souza concluiu-se que pacientes hipertensos resistentes apresentaram disfunção vascular venosa, observada pela diminuição da venodilatação endotélio dependente, caracterizada por redução da complacência de veia dorsal da mão em resposta à administração de acetilcolina, assim como ocorreu diminuição da vasodilatação mediada pelo fluxo e nitroglicerina (artéria braquial), mensuradas pela técnica FMD e aumento da rigidez arterial. Um diferencial desse estudo para o presente estudo, além do método de avaliação da função endotelial, foi o fato de ter um grupo controle de normotensos, sendo os principais achados, aqueles com significado estatístico, encontrados quando foram comparados os grupos hipertensos resistentes vs. normotensos controles e hipertensos controlados vs. normotensos controle, sugerindo que o comprometimento da função endotelial se fez presente quando comparado com o grupo de normotensos independente dos pacientes serem hipertensos controlados ou resistentes. No nosso estudo o objetivo foi avaliar a função endotelial de pacientes hipertensos resistentes comparando com pacientes hipertensos controlados e por isso não usamos grupo controle de indivíduos normotensos, onde a função endotelial presume-se seria normal.

No presente estudo, foi observado que ambos os grupos (HAC e HAR), quando avaliados pela PAT apresentaram um RHI reduzido, sendo que essa redução foi mais expressiva e estatisticamente significativa no grupo HAR quando

comparado ao grupo HAC, evidenciando um pior comprometimento da função endotelial nesse grupo, o que também foi demonstrado pelas dosagens do biomarcadores de função endotelial ICAM-1 e de inflamação IL-6. Esses três parâmetros foram estatisticamente significativos, sugerindo que o grupo HAR apresenta disfunção endotelial, semelhante ao encontrado em outros estudos com pacientes hipertensos. Preston *et al.* (2002), comparou 3 grupos: 1) hipertensos severos sem controle (PAS \geq 220 e/ou PAD \geq 120mmHg); 2) hipertensos leves (PAD= 95 - 100 mmHg); e 3) normotensos (PA = 140/90mmHg), para estudar a ligação de fatores de risco associados à HAS severa e a ativação endotelial. A elevação dos biomarcadores de função endotelial ICAM-1 e VCAM-1 só foi correlacionada com a PAS e a PAD, na comparação dos grupos de normotensos e hipertensos leves com o grupo de hipertensos severos sem controle. Não foi encontrado correlação dos níveis desses biomarcadores com a PA quando os 3 grupos foram analisados separadamente assim como quando foram analisados os 3 juntos. Os níveis das moléculas de adesão foram significativamente mais elevados nos grupos HAS severa e no HAS leve do que no grupo normotenso, no entanto não houve diferença entre os grupos severo e leve. Isso demonstrou que os biomarcadores são fortemente ativados pelo aumento da PA, porém essa ativação é máxima numa faixa de PA aproximada de 145/95mmHg. Esses achados sugerem que pequenas elevações da PA já são suficientes para uma ativação da expressão das moléculas de adesão. Entretanto a disfunção endotelial parece não ser responsável por lesão em órgão alvo na HAS severa e outros mecanismos devem, portanto, ser investigados. Preston também avaliou variáveis clínicas e bioquímicas conhecidas por afetar a ativação endotelial e encontrou uma correlação positiva entre VCAM-1 e proteinúria, DM, idade e tabagismo.

No nosso estudo não foram observadas diferenças significativas nas modificações dos níveis da molécula de adesão VCAM-1, VEGF, adiponectina e MCP1 no grupo HAR em comparação com o grupo HAC. Resultado diferente foi encontrado no estudo de Tsai *et al.* (2005), que avaliou o VEGF plasmático como marcador precoce de lesão endotelial na HA. Este estudo incluiu 20 homens hipertensos não tratados com retinopatia hipertensiva grau 1 ou 2, 10 homens hipertensos não tratados sem retinopatia hipertensiva e 10 controles saudáveis. Nenhum dos pacientes hipertensos apresentava diabetes, insuficiência renal ou

doenças vasculares evidentes. O VEGF plasmático e moléculas de adesão foram medidos utilizando ELISA e a função endotelial foi medida através da FMD da artéria braquial. Os níveis plasmáticos de VEGF foram significativamente mais elevados em pacientes hipertensos com retinopatia, quando comparados com os pacientes sem retinopatia ($152,4 \pm 80,8$ pg/ml vs. $104,7 \pm 27,2$ pg/ml, $p = 0,035$) ou controles ($152,4 \pm 80,8$ pg/ml vs. $98,9 \pm 23,7$ pg/ml, $p = 0,025$). Níveis da FMD foram significativamente menores nos pacientes hipertensos do que nos controles, mas não houve diferença significativa entre os pacientes com ou sem retinopatia. Níveis de FMD foram inversamente correlacionados com os níveis de VEGF ($r = -0,351$, $p = 0,031$) e a elevação plasmática de VEGF foi associada com retinopatia hipertensiva, sugerindo que VEGF plasmático poderia ser usado como um marcador de dano vascular precoce induzido pela hipertensão. Todas as evidências, bem como as observações realizadas no estudo de Tsai *et al.*, apoiam a constatação de que a elevação dos níveis de VEGF está associada com aterosclerose vascular causada por vários fatores de risco, e colocam como limitação deste estudo o fato das alterações na retina não terem sido específicas para a hipertensão. Houve uma tendência dos pacientes com retinopatia serem mais velhos e com maior pressão arterial e colesterol. Esses fatores podem ter contribuído com confundimento sobre os resultados encontrados. Os efeitos cumulativos de idade, tabagismo, níveis de colesterol e de glicemia de jejum provavelmente contribuíram para a aterosclerose no grupo retinopatia, independente de mudanças vasculares relacionadas à HAS. Idade, os níveis de PA e colesterol não foram correlacionados com os níveis de VEGF, e os níveis de VEGF foram ainda significativamente diferentes entre os pacientes com ou sem retinopatia após análise multivariada controlada para idade, pressão arterial, tabagismo, colesterol e glicemia. Os efeitos desses fatores nesse estudo foram provavelmente pequenos, e um estudo em grande escala é necessário para uma investigação mais aprofundada. Nesse estudo de Tsai *et al.* foi observado a elevação do VEGF somente nos pacientes hipertensos com lesão vascular de retina, e a diferença da FMD só foi significativa quando comparado o grupo com lesão de retina com o grupo controle saudável. Esses achados de Tsai podem, pelo menos em parte, explicar a ausência de elevação do VEGF em nosso estudo uma vez que a totalidade dos nossos pacientes eram hipertensos, a maioria em estágio 2

ou 3 ou resistentes e a maioria desses pacientes tinham padrão de fundoscopia grau I ou no máximo II.

Estudos anteriores, como o de De Souza *et al.* (1997), demonstraram que na população geral (de hipertensos e não hipertensos), tanto VCAM-1, quanto ICAM-1 se correlacionaram significativamente com a PAS e a PAD, sendo a PAS mais envolvida no dano e na disfunção endotelial relacionada a hipertensão do que a PAD. Os hipertensos sedentários e com idade mais avançada apresentaram níveis mais elevados dessas moléculas de adesão quando comparados com normotensos, proporcionando uma ligação mecânica entre PA cronicamente elevada, a adesividade das células endoteliais e o desenvolvimento de DCV. No entanto, no presente estudo, a dosagem da molécula de adesão VCAM-1 não mostrou significância estatística no grupo HAR quando comparado ao grupo HAC, talvez pela semelhança das faixas etárias dos dois grupos e também pelos dois grupos serem de pacientes hipertensos, porém com pequenas diferenças entre os níveis de PA.

Alguns estudos têm demonstrado que a adiponectina encontra-se com níveis reduzidos na presença de obesidade, doença arterial coronariana, hipertensão arterial e resistência a insulina (Hotta *et al.*, 2000; Biolo *et al.*, 2010) e podem refletir aumento do risco CV e inflamação (Biolo *et al.*, 2010). Na vasculatura, os níveis de adiponectina estão fortemente ligados à função endotelial (Goldstein *et al.*, 2004), 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 (Ouchi *et al.*, 2004), entretanto ainda é desconhecida, a associação da adiponectina plasmática com variáveis, como a disfunção endotelial, que frequentemente esta associada à falta de controle da PA.

Um estudo (Faria, 2012) que avaliou a associação da adiponectina plasmática em pacientes hipertensos resistentes (n = 96 indivíduos hipertensos resistentes, sendo 44 sem controle e 52 com controle pressórico), com sobrepeso, mostrou que a função endotelial avaliada pela FMD no grupo HAR controlada foi maior que no grupo de HAR sem controle ($p < 0,01$), assim como também a dosagem de adiponectina foi maior no grupo com HAR controlada ($p = 0,01$). A análise de correlação mostrou uma associação inversa entre a dosagem de adiponectina plasmática e a PAS avaliada pela MAPA ($r = -0,42$; $p = 0,01$) no grupo HAR sem controle. A análise de regressão linear multivariada não evidenciou influência da

adiponectina na FMD. A adiponectina não se correlacionou com nenhum parâmetro no grupo de HAR com controle. No nosso estudo o comportamento da adiponectina, embora tenha se mostrado mais elevada no grupo HAC comparado com o grupo HAR, essa elevação não apresentou significância estatística.

Em estudos observacionais, os níveis de IL-6 foram positivamente correlacionados com os níveis de PA em indivíduos saudáveis (Chae *et al.*, 2001) e associados à VOP em pacientes hipertensos (Mahmud and Feely, 2005). Também foi demonstrado que níveis plasmáticos de IL-6 estão associados com o aumento da prevalência de hipertensão (Bautista *et al.*, 2005), porém, não há estudos na literatura com HAR. Há estudos sugerindo a relação de biomarcadores inflamatórios, como PCR e IL-6 na lesão de órgão alvo e com a HAS, entretanto, ainda não foi estabelecido o perfil desses biomarcadores e seu impacto sobre a função endotelial na HAR.

Um estudo transversal (Barbaro, 2013) com 32 pacientes hipertensos resistentes, 20 hipertensos leve a moderados e 20 indivíduos normotensos, realizado em Campinas, teve por objetivo avaliar os biomarcadores inflamatórios (IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-10 e PCR-us) e sua relação com a rigidez arterial (VOP) em pacientes hipertensos resistentes. Nesse estudo concluiu-se que os biomarcadores inflamatórios podem estar relacionados com o grau de hipertensão e VOP, podendo a IL-1 β predizer a rigidez vascular. O estudo de Barbaro (2013) mostrou diferença significativa das citocinas inflamatórias TNF- α , IL-1 β , IL-10 e PCR-us quando comparados os grupos hipertensos resistentes e hipertensos leve a moderados com o grupo de normotensos, porém, não foi observado diferença na dosagem de IL-6, diferente do que foi mostrado no presente estudo, onde a IL-6 se mostrou significativamente elevada no grupo HAR quando comparado com o grupo HAC. Quando foi realizada a análise de correlação do grupo todo com a PAS a IL-6 também foi estatisticamente significativa e persistiu mesmo após ajuste para idade, mas perdendo a correlação quando foi ajustado para IMC e tempo de HAS. No estudo de Barbaro a obesidade (IMC>30 kg/m²) foi um critério de exclusão, o que pode ter contribuído, pelo menos, em parte, para a divergência de resultados, assim como as drogas anti-hipertensivas utilizadas pelo pacientes hipertensos também eram diferentes, (não houve padronização de esquema terapêutico e grande parte dos hipertensos resistentes estava em uso de espironolactona).

Quando calculamos a razão de prevalência da disfunção endotelial nos grupos de hipertensos encontramos uma diferença estatisticamente significativa entre a presença de disfunção endotelial no grupo HAR (54%) comparado com o grupo HAC (25%). O paciente do grupo HAR teve 3,5 (IC 1,18 - 10,67) de razão de chance de apresentar disfunção endotelial quando comparado ao grupo HAC. Esse achado segue o encontrado na literatura onde os níveis mais elevados de PA estão relacionados a um maior comprometimento endotelial (De Souza *et al.*, 1997).

A despeito do comprometimento da função endotelial, sobretudo no grupo HAR, não encontramos correlação estatisticamente significativa no grupo estudado quando analisamos como variáveis contínuas (PA, RHI e biomarcadores), mas deve-se ressaltar que os níveis de PA nos grupos HAR e HAC estavam muito próximos tendo em vista que a quase totalidade desses pacientes estavam em uso de doses plenas de bloqueadores do SRA, de bloqueadores dos canais de cálcio e de diurético.

A hipertensão convive com inúmeras doenças e fatores de risco que contribuem para a que ocorram mudanças estruturais na parede do vaso, como por exemplo, hiperlipidemia, aterosclerose, obesidade, nefropatia, diabetes mellitus e tabagismo. No entanto, nestes casos, a hipertensão é a consequência e não a causa. A hipertensão produz ativação endotelial e elevação dos biomarcadores, e embora o papel de contribuição do endotélio vascular no desenvolvimento de dano vascular relacionado à hipertensão é bem aceito, os fatores de risco associados, por si só parecem ser determinantes mais importantes da disfunção endotelial que a hipertensão em si. Além disso, o nível absoluto da pressão arterial se torna quantitativamente menos importante do que os fatores no microambiente hipertensivo (Galen, 2002). Verifica-se que as concentrações plasmáticas de moléculas de adesão da superfície da célula endotelial podem, em certa medida, serem considerados como marcadores de lesão vascular durante a hipertensão, mas eles não são fatores de valor prognóstico para o desenvolvimento de danos em órgãos alvo (Galen, 2002 e Preston *et al.*, 2002).

Fisiologicamente, é esperado que haja queda das pressões sistólica e diastólica durante o sono quando esse período é comparado com o de vigília. Foi observado em hipertensos que descenso inferior a 10% está relacionado a pior prognóstico cardiovascular (Ohkubo *et al.*, 1997 apud SBH 2011). Em idosos

hipertensos com descenso superior a 20% foi igualmente observado aumento do risco cardiovascular, especialmente para a ocorrência de acidente vascular encefálico (Kario *et al.*, 1996 apud SBH 2011). Entretanto, mais recentemente se constatou que pacientes com descenso acima de 20% apresentaram risco de mortalidade semelhante aos pacientes com descenso presente e dentro dos valores considerados normais (Ben-Dov *et al.*, 2007 apud SBH 2011). Neste estudo, os pacientes com descenso da pressão durante o sono atenuado (entre 0 e 10%) ou ausente apresentaram mortalidade maior do que aqueles com descenso entre 10% e 20%.

Em relação ao descenso noturno, no nosso estudo, pudemos registrar que no grupo HAC 27,8% dos pacientes apresentaram descenso sistólico e 55,6% descenso diastólico, enquanto no grupo HAR 20,8% dos pacientes apresentaram descenso sistólico e 37,5% diastólico, mostrando que há um comprometimento importante do descenso noturno nos dois grupos avaliados apesar da análise estatística através do teste exato de Fischer ter apontado não haver diferença em relação ao descenso noturno nos grupos de pacientes.

9.3 Limitações do estudo

Algumas limitações do presente estudo podem ter influenciado alguns dos resultados encontrados. O número de indivíduos avaliados pode ter influenciado nos resultados, no entanto, é importante ressaltar que a amostra deste estudo foi calculada considerando as modificações no RHI. Logo a ausência de alterações significativas nas dosagens plasmáticas de adiponectina, VCAM-1, VEGF e MCP1 pode ser explicada, em parte, pelo fato do tamanho da amostra do presente estudo ter sido calculado para avaliar modificações significativas em parâmetros do RHI. A amostra foi suficiente para detectar modificações significativas na função endotelial através da avaliação da tonometria arteriolar periférica e pelas dosagens séricas de ICAM-1 e IL-6.

Outra limitação do presente estudo pode ter sido um viés de seleção dos pacientes. Como nosso objetivo principal era avaliar a função endotelial em

pacientes hipertensos resistentes, acabamos por selecionar pacientes, em sua maioria, já em uso de pelo menos duas drogas anti-hipertensivas e sem controle adequado da PA, a fim de que em V3 tivéssemos um maior número de pacientes hipertensos resistentes. Dessa forma, criou-se um viés de seleção, onde a grande maioria dos participantes do estudo apresentava hipertensão estágio 2 ou 3 (VI DBHA, 2010). O então chamado grupo HAC, apesar de apresentar a PA controlada em V3, foi formado por pacientes hipertensos classificados como estágio 2 ou 3 pela VI DBHA (2010), o que provavelmente contribuiu para a formação de um grupo de HAC com níveis pressóricos próximos aos do grupo HAR, tornando esses dois grupos biologicamente bem parecidos.

Outra consideração importante é que os pacientes poderiam apenas estar com a PA controlada na visita V3, e não nas subsequentes, fato esse que pode gerar muitas vezes dificuldade de se diagnosticar corretamente um paciente com HAR. Talvez por esse motivo, não encontramos diferença significativa de alguns marcadores de função endotelial entre os dois grupos. Outro fato importante é o grupo todo estar em uso das mesmas drogas em V3 e não se sabe ao certo que influência essas drogas poderiam causar na função endotelial desses pacientes.

A avaliação da função endotelial aparece como um complemento atraente para estratificação de risco. No entanto, antes da sua aplicação clínica, é essencial que os estudos abordem questões de grande relevância, incluindo os grupos que serão os maiores beneficiados por tal técnica e se algum benefício clínico de uma determinada estratégia terapêutica é mediado através da melhora da função endotelial (Lekakis *et al.*, 2011).

Estudos futuros terão de identificar as conexões fundamentais entre hipertensão arterial e a disfunção endotelial para permitir que novas intervenções possam ser delineadas.

CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo sugerem que:

- a) O comprometimento da função endotelial, avaliado pela tonometria arterial periférica, se faz presente tanto no grupo HAR como no grupo HAC;
- b) A função endotelial, avaliada pela tonometria arterial periférica, pela IL-6 e ICAM-1, é significativamente pior no grupo HAR quando comparada com o grupo HAC;
- c) Não foi encontrado correlação entre a PA e os marcadores de função endotelial nos dois grupos, provavelmente por se tratar de dois grupos biologicamente semelhantes;
- d) Ambos os grupos apresentam comprometimento do descenso noturno, e apesar desse comprometimento ser maior no grupo HAR, não há diferença significativa entre os dois grupos.

REFERÊNCIAS

Aukrust P, Berge RK, Ueland T, Aaser E, Damas J K, Wikeby L, et al. Interaction between chemokines and oxidative stress: possible pathogenic role in acute coronary syndromes. *J. Am. Coll. Cardiol*, 2001; 37, 485–491.

Barac A, Campia U, Panza JA. Methods for evaluating endothelial function in humans. *Hypertension* 2007;49:748-60.

Barbero NR. Biomarcadores inflamatórios sobre a rigidez arterial em hipertensos resistentes. [dissertação]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 2013.

Bautista, L.E., et al., Independent association between inflammatory markers (C-reactive protein, interleukin-6, and TNF-alpha) and essential hypertension. *J Hum Hypertens*, 2005.19(2): 149-54.

Benjamin EJ, Larson MG, Keyes MJ, et al. Clinical correlates and heritability of flow-mediated dilation in the community: the Framingham Heart Study. *Circulation* 2004;109:613–619.

Bernini G, Galetta F, Franzoni F et al. Arterial stiffness, intima-media thickness and carotid artery fibrosis in patients with primary aldosteronism, *Journal of Hypertension*, 2008;vol. 26, no. 12, pp. 2399–2405.

Bhatt DL. Coronary artery inflammation. In: Topol EJ, ed. *Acute Coronary Syndromes*. New York, NY: Marcell Dekker, Inc; 2005: 1–31.

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.

Blake GJ, Ridker PM. Novel clinical markers of vascular wall inflammation. *Circ Res* 2001;89:763-71.

Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, Peetz D, Hafner G, Tiret L, et al. Circulating cell adhesion molecules and death in patients with coronary heart disease. *Circulation* 2001;104:1336-42.

Blann AD, Belgore FM, McCollum CN, Silverman S, Lip PL and Lip GYH. Vascular endothelial growth factor and its receptor Flt-1 in the plasma of patients with coronary and peripheral atherosclerosis and type II diabetes. *Clin. Sci* 2002;102, 187–194.

Bonetti PO, Barsness GW, Keelan PC, Schnell TI, Pumper GM, Kuvin JT, et al. Enhanced external counter pulsation improves endothelial function in patients with symptomatic coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:1761-8.

Bonetti PO, Pumper GM, Higano ST, et al. Noninvasive identification of patients with early coronary atherosclerosis by assessment of digital reactive hyperemia. *J Am Coll Cardiol* 2004;44: 2137-2141.

Bonetti PO, Pumper GM, Higano ST, Holmes DR Jr, Kuvin JT, Lerman A. Noninvasive identification of patients with early coronary atherosclerosis by assessment of digital reactive hyperemia. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:2137–41.

Brant LCC, Barreto SM, Passos VMA, Ribeiro ALP. Reproducibility of peripheral arterial tonometry for the assessment of endothelial function in adults. *Journal of Hypertension* 2013; 31:1984-1990.

Brevetti G, Schiano V, Chiariello M. Cellular adhesion molecules and peripheral arterial disease. *Vascular Medicine* 2006;11(1):39-47.

Burger D, Touyz RM. Cellular biomarkers of endothelial health: microparticles, endothelial progenitor cells, and circulating endothelial cells. *J Am Soc Hypertens*.2012;6(2):85-99.

Burton PBJ, Owen VJ, Hafizi, S et al. Vascular endothelial growth factor release following coronary arterybypass surgery: extracorporeal circulation versus ‘beating heart’ surgery. *Eur. Heart J*. 2000; 21, 1708–1713.

Calabro P, Willerson JT, Yeh ET. Inflammatory cytokines stimulated C-reactive protein production by human coronary artery smooth muscle cells. *Circulation* 2003;108:1930–1932.

Calhoun DA et al. Resistant hypertension: Diagnosis, evaluation, and treatment. *Circulation* 2008; 117:510-526.

Calhoun DA, Nishizaka MK, Zaman MA, and Harding SM. Aldosterone excretion among subjects with resistant hypertension and symptoms of sleep apnea. *Chest* 2004; vol. 125, no. 1, pp. 112–117.

Calhoun DA, Nishizaka MK, Zaman MA, Thakkar RB, and Weissmann P. Hyperaldosteronism among black and white subjects with resistant hypertension. *Hypertension*, 2002; vol. 40, no. 6, pp. 892–896.

Casino PR, Kilcoyne CM, Quyyumi AA, et al. The role of nitric oxide in endothelium-dependent vasodilation of hypercholesterolemic patients. *Circulation* 1993;88:2541–2547.

Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992;340:1111–1115.

Chae CU, et al., Blood pressure and inflammation in apparently healthy men. *Hypertension*, 2001.38(3): p. 399-403.

Chin, BSP, Chung, NA, Gibbs, CR, Blann, AD and Lip, GYH. Vascular endothelial growthfactor and soluble P-selectin in acute and chronic congestive heart failure. *Am. J. Cardiol.* 2002; 90, 1258–1260.

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.

Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron.* 1976; 16(1): 31-41.

Cohen RA, Vanhoutte PM. Endothelium-dependent hyperpolarization. Beyond nitric oxide and cyclic GMP. *Circulation* 1995;92:3337–3349.

Cracowski JL, Minson CT, Salvat-Melis M, et al. Methodological issues in the assessment of skin microvascular endothelial function in humans. *Trends Pharmacol Sci* 2006;27:503–508.

Cushman WC, Ford CE, Cutler JA, Margolis KL, Davis BR, Grimm RH, et al, for the ALLHAT Collaborative Research Group. Success and predictors of blood pressure control in diverse North American settings: the Antihypertensive and Lipid-Lowering and Treatment to Prevent Heart Attack Trial (ALLHAT). *J Clin Hypertens* 2002; 4:393– 404.

Cutler JA, Sorlie PD, Wolz M, et al. Trends in hypertension prevalence, awareness, treatment and control rates in United States adults between 1988-1994 and 1999-2004. *Hypertension* 2008;52:818-827.

Daugherty SL, Powers JD, Magid DJ, Tavel HM, et al. Incidence and Prognosis of Resistant Hypertension in Hypertensive Patients. *Circulation* 2012; 125:1635-1642.

Davignon J, Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation* 2004;109(suppl III):27-32.

de Lemos J A, Morrow DA, Blazing MA, Jarolim P, Wiviott SD, Sabatine MS, Califf RM and Braunwald E. Serial measurement of monocyte chemoattractant protein-1 after acute coronary syndromes: results from the A to Z trial. *J. Am. Coll. Cardiol*, 2007; 50, 2117–2124.

De Souza CA, Dengel DR, Macko RF, Cox K and Seals DR. Elevated levels of circulating cell adhesion molecules in uncomplicated essential hypertension. *Am.J..Hypertens*, 1997; 10,1335-1341.

De Souza LA. Avaliação funcional do endotélio venoso e arterial em pacientes com hipertensão arterial refratária. [tese]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 2009.

Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation* 2007;115:1285-95.

Deo R, Khera A, McGuire DK, Murphy SA, Meo Neto Jde P, Morrow DA, de Lemos JA and Donald W. Association among plasma levels of monocyte chemoattractant protein-1, traditional cardiovascular risk factors, and subclinical atherosclerosis. *J. Am. Coll. Cardiol* 2004; 44, 1812–1818.

Dharmashankar K e Widlansky M E. Vascular Endothelial Function and Hypertension: Insights and Directions. *Curr Hypertens Rep.* 2010; 12(6): 448–455.

DiBona GF. Nervous kidney: interaction between renal sympathetic nerves and the renin-angiotensin system in the control of renal function. *Hypertension* 2000; vol. 36, no. 6, pp. 1083–1088.

Dignat-George F, Sampol J. Circulating endothelial cells in vascular disorders: new insights into an old concept. *Eur J Haematol* 2000;65: 215–220.

Duda DG, Cohen KS, Scadden DT, et al. A protocol for phenotypic detection and enumeration of circulating endothelial cells and circulating progenitor cells in human blood. *Nat Protoc* 2007;2(4):805–810.

Economou E, Tousoulis D, Katinioti A, Stefanadis C, Trikas A, Pitsavos C, Tentolouris C, Toutouza MG and Toutouzas P. Chemokines in patients with ischemic heart disease and the effect of coronary angioplasty. *Int. J. Cardiol.* 2001; 80, 55–60.

El-Gharbawy AH, Nadig VS, Kotchen JM et al., Arterial pressure, left ventricular mass, and aldosterone in essential hypertension. *Hypertension* 2001; vol. 37, no. 3, pp. 845–850.

Ernst ME, Carter BL, Goerdts CJ, et al. Comparative antihypertensive effects of hydrochlorothiazide and chlorthalidone on ambulatory and office blood pressure. *Hypertension* 2006;47:352– 8.

Faria APC, Avaliação do perfil da adiponectina plasmática na hipertensão arterial resistente. [dissertação]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 2012.

Felmeden DC, Blann AD and Lip GYH. Angiogenesis: basic pathophysiology and implications for disease. *Eur. Heart J.* 2003; 24, 586–603.

Ferrario CM, Gildenberg PL and McCubbin JW. Cardiovascular effects of angiotensin mediated by the central nervous system. *Circulation Research*, 1972; vol. 30, no. 3, pp. 257– 262.

Friedewald WT, Lévy RL, Fredckson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972;18:499-503.

Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature.* 1980; 288: 373-6.

Furchgott RF. The discovery of endothelium-dependent relaxation. *Circulation*.1993; 87(suppl5): V3-V8.

Gaddam K, Corros C, Pimenta E et al., Rapid reversal of left ventricular hypertrophy and intracardiac volume overload in patients with resistant hypertension and hyperaldosteronism: a prospective clinical study. *Hypertension* 2010; vol. 55, no. 5, pp. 1137–1142.

Gaddam KK, Nishizaka MK, Pratt-Ubunama MN et al. Characterization of resistant hypertension: association between resistant hypertension, aldosterone, and persistent intravascular volume expansion. *Archives of Internal Medicine*, 2008;vol. 168, no. 11, pp. 1159–1164.

Galen FX. Cell adhesion molecules in hypertension: endothelial markers of vascular injury and predictors of target organ damage? *Journal of Hypertension*, 2002; 20:813–816.

Garg JP, Elliott WJ, Folker A, Izhar M, Black HR. Resistant hypertension revisited: a comparison of two university-based cohorts. *Am J Hypertens* 2005;18:619 –26.

George F, Brisson C, Poncelet P, et al. Rapid isolation of human endothelial cells from whole blood using S-Endo1 monoclonal antibody coupled to immuno-magnetic beads: demonstration of endothelial injury after angioplasty. *Thromb Haemost* 1992;67:147–153.

Gerszten RF, Mach F, Sauty A, Rosenzweig A and Luster AD. Chemokines, leukocytes, and atherosclerosis. *J. Lab. Clin. Med*, 2000; 136, 87–92.

Goodfriend TL and Calhoun DA. Resistant hypertension, obesity, sleep apnea, and aldosterone: theory and therapy. *Hypertension* 2004; vol. 43, no. 3, pp. 518–524.

Goldstein BJ, Scalia R. Adiponectin: A novel adipokine linking adipocytes and vascular function. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004; 89(6): 2563-8.

Grassi G, Facchini A, Trevano FQ et al. Obstructive sleep apnea-dependent and -independent adrenergic activation in obesity. *Hypertension*; 2005; vol. 46, no. 2, pp. 321–325.

Grim CE, Cowley AW, Hamet P et al. Hyperaldosteronism and hypertension ethnic differences. *Hypertension*, 2005; vol. 45, no. 4, pp. 766–772.

Gu L, Okada Y, Clinton SK, Gerard C, Sukhova G K, Libby P and Rollins B J. Absence of monocyte chemoattractant protein-1 reduces atherosclerosis in low density lipoprotein receptor-deficient mice. *Mol. Cell* 1998; 2, 275–281.

Hadi HAR, Carr CS, Al Suwaidi J. Endothelial dysfunction: cardiovascular risk factors, therapy, and outcome. *Vasc Health Risk Manag* 2005;1(3):183-98.

Han KH, Tangirala RK, Green SR and Quehenberger O. Chemokine receptor CCR2 expression and monocyte chemoattractant protein-1-mediated chemotaxis in human

monocytes. Aregulatory role for plasma LDL. *Arterioscler.Thromb.Vasc. Biol*, 1998; **18**, 1983–1991.

Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, Boersma E, Zeiher AM and Simoons ML. Prognostic significance of angiogenic growth factor serum levels in patients with acute coronary syndrome. *Circulation*, 2003; 107, 524–530.

Heitzer T, Schlinzig T, Krohn K, et al. Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001; 104:2673-2678.

Hojo Y, Ikeda U, Zhu Y et al. Expression of vascular endothelial growth factor in patients with acute myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2000;35, 968–973.

Holowatz LA, Thompson CS, Minson CT, et al. Mechanisms of acetylcholine-mediated vasodilatation in young and aged human skin. *J Physiol* 2005;563:965–973.

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.

Hristov M, Erl W, Weber PC. Endothelial progenitor cells: mobilization, differentiation, and homing. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23: 1185-1189.

Hugel B, Martinez MC, Kunzelmann C, et al. Membrane microparticles: two sides of the coin. *Physiology*, 2005;20:22–27.

Hwang B, Rodreiguez BL, Burchfiel CM, Chyou PH, Curb JD, Sharp DS. Associations of adiposity with prevalent coronary heart disease among elderly men: The Honolulu Heart Program. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1997;21(5):340-8.

Izzo JL, Sica DA, Black HR. *Hypertension Primer: The essentials of High Blood Pressure: basic science, population science and clinical management.* 4th ed. 2008, American Heart Association, Dallas, Texas.578 p. Ed Williams &Wilkins .

James PA, Oparil S, Carter BL, Cushman WC, Dennison-Himmelfarb C, Handler J, et al. 2014 Evidence-Based Guideline for the Management of High Blood Pressure in Adults Report From the Panel Members Appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC 8). *JAMA*2014;311(5):507-20.

Juonala M, Viikari JS, Laitinen T, et al. Interrelations between brachial endothelial function and carotid intima-media thickness in young adults: the Cardiovascular Risk in Young Finns study. *Circulation* 2004;110:2918–2923.

Kannel WB. Blood pressure as a cardiovascular risk factor: prevention and treatment. *Jama* 1996;275(20):1571-6.

Kannel WB. Historic perspectives on the relative contributions of diastolic and systolic blood pressure elevation to cardiovascular risk profile. *Am Heart J* 1999;138(3 Pt 2): 205-10.

Kannel WB. Hypertension as a risk factor for cardiac events-epidemiologic results of long-term studies. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993;21(2):S27-37.

Kaplan NM e Victor RG. *Hipertensão Clínica de Kaplan*. 10^aed, Porto Alegre: Artmed, 2012.

Kerr SM, Livingstone MB, McCrorie TA, Wallace JM. Endothelial dysfunction associated with obesity and the effect of weight loss interventions. *Proc Nutr Soc.* 2011;70(4):418-25.

Khosla N, Chua DY, Elliott WJ, Bakris GL. Are chlorthalidone and hydrochlorothiazide equivalent blood-pressure-lowering medications? *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2005;7:354–6.

Kitta Y, Obata JE, Nakamura T, et al. Persistent impairment of endothelial vasomotor function has a negative impact on outcome in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*, 2009;53(4):323–330.

Krieger EM et al. Resistant Hypertension Optimal Treatment Trial: A Randomized Controlled Trial. *Clin. Cardiol*, 2014;37, 1, 1–6.

Krum H, Schlaich M, Whitbourn R et al., Catheter-based renal sympathetic denervation for resistant hypertension: a multicentre safety and proof-of-principle cohort study. *The Lancet*, 2009;vol. 373, no. 9671, pp. 1275–1281.

Kuvin JT, Patel AR, Sliney KA, et al. Assessment of peripheral vascular endothelial function with finger arterial pulse wave amplitude. *Am Heart J* 2003;146:168-174.

Kuvin JT. Assessment of peripheral vascular endothelial function in the ambulatory setting. *Vasc Med* 2007;12:13-6.

Kuvin JY, Patel AR, Sliney KA, et al. Assessment of peripheral vascular endothelial function with finger arterial pulse wave amplitude. *Am Heart J*, 2003;146(1):168-174.

Lau DCW, Dhillon B, Yan H, Szmitko PE, Verma S. Adipokines: molecular links between obesity and atherosclerosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005;288:H2031-H2041.

Ledue TB, Rifai N. Preanalytic and analytic sources of variations in C-reactive protein measurement: implications for cardiovascular disease risk assessment. *Clin Chem*, 2003;49:1258–1271.

Lekakis J et al. Methods for evaluating endothelial function: a position statement from the European Society of Cardiology Working Group on Peripheral Circulation. *European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation* 2011; 0(00) 1–15.

- Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, Peto R, Collins R. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet* 2002; 360(9349):1903-13.
- Liao D, Barnes RW, Chambless LE et al. Age, race, and sex differences in autonomic cardiac function measured by spectral analysis of heart rate variability – The ARIC Study. *Am J Cardiol* 1995; 76:906-12.
- Lloyd-Jones D, Adams R, Carnethon M, et al. Heart disease and stroke statistics-2009 update: A report from the American Heart Association statistics committee and stroke statistics subcommittee. *Circulation* 2009;119:e21-e181.
- Lloyd-Jones DM, Evans JC, Larson MG, O'Donnell CJ, Rocella EJ, Levy D. Differential control of systolic and diastolic blood pressure: factors associated with lack of blood pressure control in the community. *Hypertension* 2000;36:594 –599.
- Logan AG, Perlikowski SM, Mente A, et al., High prevalence of unrecognized sleep apnea in drug-resistant hypertension, *Journal of Hypertension*, 2001; vol. 19, no. 12, pp. 2271–2277.
- Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, et al. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med* 1986;315:1046–1051.
- Mahmud A. and Feely J, Arterial stiffness is related to systemic inflammation in essential hypertension. *Hypertension*, 2005. 46(5): 1118-22.
- Malta DC, Moura L, Souza FM, Rocha FM, Fernandes FM. Doenças crônicas não transmissíveis: mortalidade e fatores de risco no Brasil, 1990 a 2006. In: *Saúde Brasil, 2008*. Ministério da Saúde, Brasília. 2009. p. 337-62.
- Mancia, G (Ed). *Resistant Hypertension: epidemiology, pathophysiology, diagnosis and treatment*. Milan, Springer, 2013.
- Mancia G, De Backer G, Dominiczak A et al., “2007 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),” *European Heart Journal*, 2007;vol. 28, no. 12, pp. 1462–1536.
- Mancia G, Fagart R et al, 2013 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), *Journal of Hypertension* 2013, 31:1281–1357.
- McAdam-Marx C, Ye X, Sung JC, Brixner DI, and Kahler KH, 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, *Clinical Therapeutics* 2009; vol. 31, no. 5, pp. 1116–1123.

Meisinger C, Baumert J, Khuseyinova N, et al. Plasma oxidized low-density lipoprotein, a strong predictor for acute coronary heart disease events in apparently healthy, middle-aged men from the general population. *Circulation* 2005;112(5):651–657.

Menon DV, Arbique D, Wang Z, Adams-Huet B, Auchus RJ, and Vongpatanasin W. Differential effects of chlorthalidone versus spironolactone on muscle sympathetic nerve activity in hypertensive patients. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2009; vol. 94, no. 4, pp. 1361–1366.

Minino AM, Arias E, Kochanek KD, Murphy SL, Smith BL. Deaths: final data for 2000. *Natl Vital Stat Rep* 2002;50(15):1-119.

Nishizaka MK, Zaman MA, and Calhoun DA, Efficacy of low-dose spironolactone in subjects with resistant hypertension. *American Journal of Hypertension*, 2003; vol. 16, no. 11, pp. 925–930.

Nishizaka MK, Zaman MA, and Calhoun DA, Efficacy of low-dose spironolactone in subjects with resistant hypertension. *American Journal of Hypertension* 2003;vol. 16, no. 11, pp. 925–930.

Nishizaka MK, Zaman MA, Green SA, Renfro KY, and Calhoun DA, Impaired endothelium-dependent flow-mediated vasodilation in hypertensive subjects with hyperaldosteronism. *Circulation*, 2004;vol. 109, no. 23, pp. 2857–2861.

Niu J and Kolattukudy PE. Role of MCP-1 in cardiovascular disease: molecular mechanisms and clinical implications. *Clinical Science*, 2009; 117, 95–109.

Nohria A, Gerhard-Hernman M, Creager MA, et al. Role of nitric oxide in the regulation of digital pulse volume amplitude in humans. *J Appl Physiol* 2006;101(2):545-548.

Noon JP, Haynes WG, Webb DJ et al. Local inhibition of nitric oxide generation in man reduces blood flow in finger pulp but in hand dorsum skin. *J Physiol* 1996;490:501-508.

Nwankwo T, Yoon S S, Burt V, and Gu Q. Hypertension Among Adults in the United States: National Health and Nutrition Examination Survey, 2011–2012. *NCHS Data Brief*, No. 133, October 2013.

Oliveria SA, Lapuerta P, McCarthy BD, L'Italien GJ, Berlowitz DR, Asch SM. Physician-related barriers to the effective management of uncontrolled hypertension. *Arch Intern Med* 2002;162:413–20.

Onkelinx S, Cornelissen V, Goetschalckx K, Thomaes T, Verhamme P and Vanhees L. Reproducibility of different methods to measure the endothelial function. *Vasc Med*; 2012 17: 79.

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.

Padro T, Steins M, Li CX, et al. Comparative analysis of plasminogen activator inhibitor-1 expression in different types of atherosclerotic lesions in coronary arteries from human heart explants. *Cardiovasc Res* 1997;36:28–36.

Palomo I, Alarcón M, Moore-Carrasco R, Argilés JM. Hemostasis alterations in metabolic syndrome. *Int J Mol Med* 2006;18:969-74.

Panza JA, Casino PR, Kilcoyne CM, et al. Impaired endothelium- dependent vasodilation in patients with essential hypertension: evidence that the abnormality is not at the muscarinic receptor level. *J Am Coll Cardiol* 1994;23:1610–1616.

Papademetriou V, Tsioufis C, Gradman A and Punzi H. Difficult-to-Treat or Resistant Hypertension: Etiology, Pathophysiology, and Innovative Therapies. *International Journal of Hypertension*, 2011;Volume 2011, editorial.

Pedrosa RP, Drager LF, Gonzaga CC, Sousa MG, de Paula LKG, Amaro ACS, Amodeo C, Bortolotto LA, Krieger EM, Bradley TD, Lorenzi-Filho G. Obstructive sleep apnea – The most common secondary cause of hypertension associated with resistant hypertension. *Hypertension* 2011;58:811-817.

Pimenta E, Calhoun DA, Oparil Suzanne. Mecanismos e Tratamento da Hipertensão Arterial Refratária. *Arq Bras Cardiol* 2007;88(6):683-692.

Preston RA, Ledford M, Materson BJ, Baltodano NM, Memon A, Alonso A., Effects of severe, uncontrolled hypertension on endothelial activation: sVCAM-1, sICAM-1, and vWF. *J Hypertens* 2002; 20 (5):871-877.

Quyyumi AA, Patel RS. Endothelial dysfunction and hypertension: cause or effect? *Hypertension*, 2010;55:1092–1094.

Rahmouni K and Morgan DA. Hypothalamic arcuate nucleus mediates the sympathetic and arterial pressure responses to leptin. *Hypertension* 2007;vol. 49, no. 3, pp. 647–652.

Reriani M K, Lerman L O, and Lerman A. Endothelial function as a functional expression of cardiovascular risk factors. *Biomark Med.*, 2010; 4(3): 351–360.

Ridker PM, Brown NJ, Vaughan DE, et al. Established and emerging plasma biomarkers in the prediction of first atherothrombotic events. *Circulation* 2004;109:IV6–IV19.

Ridker PM, Brown NJ, Vaughan DE, Harrison DG, Mehta JL. Established and emerging plasma biomarkers in the prediction of first atherothrombotic events. *Circulation*, 2004;109:IV6-IV19.

Ridker PM, Hennekens CH, Roitman-Johnson B, Stampfer MJ, Allen J. Plasma concentration of soluble intercellular adhesion molecule 1 and risks of future myocardial infarction in apparently healthy men. *Lancet*, 1998;10:351:88-92.

Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation* 2003;107:363–369.

Rifai N, Ridker PM. Inflammatory markers and coronary heart disease. *Curr Opin Lipidol* 2002;13:383-9.

Ronti T, Lupattelli G, Mannarino E. The endocrine function of adipose tissue: an update. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006;64:355-65.

Ross R. Atherosclerosis—an inflammatory disease. *N Engl J Med.*, 1999; 340:115–126.

Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature*, 1993; 362:801-809.

Rossi GP, Bernini G, Desideri G et al., Renal damage in primary aldosteronism: results of the PAPY study. *Hypertension*, 2006; vol. 48, no. 2, pp. 232–238.

Rubinshtein R, Kuvin JT, Soffler M, Lennon RJ, Lavi S, Nelson RE, et al. Assessment of endothelial function by non-invasive peripheral arterial tonometry predicts late cardiovascular adverse events. *Eur Heart J* 2010; 31(9): 1142–1148.

Sakurai T, Yanagisawa M, Takuwa Y, et al. Cloning of a cDNA encoding a non-iso peptide-selective subtype of the endothelin receptor. *Nature* 1990; 348: 732–735.

Sarafidis PA and Bakris GL. Resistant hypertension. An overview of evaluation and treatment,” *Journal of the American College of Cardiology* 2008; vol. 52, no. 22, pp. 1749–1757.

Scheffers IJM, Kroon AA, Schmidli J et al. Novel baroreflex activation therapy in resistant hypertension: results of a European multi-center feasibility study. *Journal of the American College of Cardiology* 2010; vol. 56, no. 15, pp. 1254–1258.

Seko Y, Imai Y, Suzuki S et al. Serum levels of vascular endothelial growth factor in patients with acute myocardial infarction undergoing reperfusion therapy. *Clin. Sci.* 1997; 92, 453–454.

Shimbo D, Muntner P, Mann D, Viera A J, Homma S, Polak J F, Barr R G, Herrington D, and Shea S. Endothelial dysfunction and the risk of Hypertension: the multi-ethnic study of Atherosclerosis. *Hypertension*, 2010; 55(5): 1210–1216.

Sima AV, Stancu CS, Simionescu M. Vascular endothelium in atherosclerosis. *Cell Tissue Res.* 2009;335:191-203.

Simionescu M. Implications of early structural-functional changes in the endothelium for vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27:266-74.

Singer GM, Izhar M, Black HR. Goal-oriented hypertension management: translating clinical trials to practice. *Hypertension* 2002;40:464–9.

Sociedade Brasileira de Cardiologia/ Sociedade Brasileira de Hipertensão/ Sociedade Brasileira de Nefrologia. VI Diretrizes Brasileira de Hipertensão. *Arq Bras Cardiol.* 2010; 95 (1):1-51.

Sociedade Brasileira de Hipertensão Arterial. V Diretrizes Brasileiras de Monitorização Ambulatorial da Pressão Arterial (MAPA) e III Diretrizes Brasileiras de Monitorização residencial da Pressão Arterial (MRPA). *Rev Bras Hipertens*, 2011; 18(1):7-17.

Stein PK, Kleiger RE. Insights from the study of heart rate variability. *Ann Rev Med* 1999;50:249-61.

Strauch B, Zelinka T, Hampf M, Bernhardt R, Widimsky J Jr. Prevalence of primary hyperaldosteronism in moderate to severe hypertension in the Central Europe region. *J Hum Hypertens*, 2003; 17: 349-52.

Taddei S, Ghiadoni L, Virdis A, et al. Vasodilation to bradykinin is mediated by an ouabain-sensitive pathway as a compensatory mechanism for impaired nitric oxide availability in essential hypertensive patients. *Circulation* 1999;100:1400–1405.

Tang W, Pankow JS, Carr JJ, Tracy RP, Bielinski SJ, North KE, Hopkins PN, Kraja AT and Arnett DK. Association of sICAM-1 and MCP-1 with coronary artery calcification in families enriched for coronary heart disease or hypertension: the NHLBI Family Heart Study. *BMC Cardiovasc. Disord*, 2007. 7, 30–41.

Targonski PV, Bonetti PO, Pumper GM, et al. Coronary endothelial dysfunction is associated with an increased risk of cerebrovascular events. *Circulation* 2003;107(22):2805-2809.

Tsai W C, Li Y H, Huang Y Y, Lin C C, Chao T H and Chen J H. Plasma vascular endothelial growth factor as a marker for early vascular damage in hypertension. *Clinical Science*, 2005; 109, 39–43.

Tsimikas S. In vivo markers of oxidative stress and therapeutic interventions. *Am J Cardiol* 2008;101(10A):34D–42D.

Tsioufis C, Kordalis A, Flessas D, Anastasopoulos I, Tsiachris D, Papademetriou V, and Stefanadis C. Pathophysiology of resistant hypertension: the role of sympathetic nervous system. *International Journal of Hypertension*, 2011; Article ID 642416, 7 pages.

Tsioufis C, Thomopoulos C, and Stefanadis C. Obstructive sleep apnea and hypertension: a growing clinical challenge. *Hellenic Journal of Cardiology* 2008; vol. 49, no. 5, pp. 299–302.

Tsuchiya K, Yoshimoto T, and Hirata Y. Endothelial dysfunction is related to aldosterone excess and raised blood pressure. *Endocrine Journal* 2009; vol. 56, no. 4, pp. 553–559.

Vanhoutte PM, Shimokawa H, Tang EHC and Feletou M. Endothelial dysfunction and vascular disease. *Acta Physiol* 2009, 196, 193–222.

Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction: The first step toward coronary arteriosclerosis. *Circ J* 2009;73:595-601.

Vasan RS, Evans JC, Larson MG et al. Serum aldosterone and the incidence of hypertension in nonhypertensive persons. *New England Journal of Medicine* 2004; vol. 351, no. 1, pp.33–41.

Vasan RS. Biomarkers of cardiovascular disease: molecular basis and practical considerations. *Circulation* 2006;113:2335–2362.

Vaughan DE. PAI-1 and atherothrombosis. *J Thromb Haemost* 2005; 3:1879-83.

VI Diretrizes Brasileira de Hipertensão. *Brazilian J of Hypertens*, 2010;Volume 17, Número 1, janeiro/março.

Vogel R. Listening to the endothelium a story of signal and noise. *J Am Coll Cardiol* 2008;51:1965-6.

Wang JM, Wang Y, Huang JY, et al. C-reactive protein-induced endothelial microparticle generation in huvecs is related to bh4-dependent no formation. *J Vasc Res* 2007;44(3):241–248.

WHO - World Health Organization, *World Health Report 2002: Reducing Risks, Promoting Healthy Life*, World Health Organization, Geneva, Switzerland, 2002.

WHO - World Health Organization. *Cardiovascular disease*. 2008. [acesso em 2013 maio 5]. Disponível em www.who.int/cardiovascular_diseases/en/.

WHO - World Health Organization. *Global Health Observatory (GHO) – Raised blood pressure*. [acesso em 2013 maio 5].. Disponível em www.who.int/gho/ncd/risk_factors/blood_pressure_prevalence_text/en/index.html.

Widlansky ME, Gokce N, Keaney JF, Vita JA. The clinical implications of endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42:1149-60.

Wojciechowski D, Papademetriou V, Faselis C, and Fletcher R. Evaluation and treatment of resistant or difficult-to-control hypertension.” *Journal of Clinical Hypertension* 2008; vol. 10, no. 11, pp. 837–843.

Wolf-Maier K, Cooper RS, Kramer H, et al. Hypertension treatment and control in five European countries, Canada and the United States. *Hypertension* 2004;43:10-17.

Wray DW and Supiano MA. Impact of aldosterone receptor blockade compared with thiazide therapy on sympathetic nervous system function in geriatric hypertension. *Hypertension* 2010; vol. 55, no. 5, pp. 1217–1223.

Wu T, Willett WC, Rifai N, et al. Is plasma oxidized low-density lipoprotein, measured with the widely used antibody 4 e 6 an independent predictor of coronary heart disease among US men and women? *J Am Coll Cardiol* 2006; 48(5):973–979.

Yang Z, Ming X. Recent advances in understanding endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Clin Med & Res* 2006; 4:53-65.

Yao TC, Kuo ML, See LC, Ou LS, Lee WI, Chan CK and Huang JL. Rantes and monocyte chemoattractant protein 1 as sensitive markers of disease activity in patients with juvenile rheumatoid arthritis: a six-year longitudinal study. *Arthritis Rheum* 2006; 54, 2585–2593.

Yiannakopoulou ECh, Papadopoulos JS, Cokkinos DV, Moutlikalakis TD. Adherence to antihypertensive treatment: a critical factor for blood pressure control. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2005; 12:243–249.

Yusuf S, Teo KK, Pogue J, et al. Telmisartan, ramipril, or both in patients at high risk for vascular events. *N Engl J Med* 2008; 358:1547–59.

Zannad F. Aldosterone antagonist therapy in resistant hypertension. *Journal of Hypertension* 2007; vol. 25, no. 4, pp. 747–750.

Zimmerman BG, Sybertz EJ and Wong PC. Interaction between sympathetic and renin-angiotensin system. *Journal of Hypertension* 1984; vol. 2, no. 6, pp. 581–587.

APÊNDICE A - Aprovação do estudo pelo Comitê de Ética em Pesquisa



**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PEDRO ERNESTO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**




Rio de Janeiro, 16 de dezembro de 2009

Do: Comitê de Ética em Pesquisa
Prof. Wille Oigman
Para: Coord. Prof^a. Maria Eliane Campos Magalhães

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto, após avaliação, considerou o projeto (2544-CEP/HUPE – CAAE: 0174.1.228.015-09) "ESTUDO MULTICÊNTRICO DE PACIENTES COM HIPERTENSÃO ARTERIAL PARA IDENTIFICAÇÃO DE PACIENTES RESISTENTES E PADRONIZAÇÃO DE ESQUEMAS TERAPÊUTICOS", versão Emenda "A" datado de 11 de agosto de 2009, aprovado, encontrando-se este dentro dos padrões éticos da pesquisa em seres humanos, conforme Resolução n.º196 sobre pesquisa envolvendo seres humanos de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde, bem como o termo de consentimento livre e esclarecido, versão datada de 16 de junho de 2009.

O pesquisador deverá informar ao Comitê de Ética qualquer acontecimento ocorrido no decorrer da pesquisa.

O Comitê de Ética solicita a V. Sa., que ao término da pesquisa encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto.


Prof. WILLE OIGMAN
Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa
HUPE

CEP - COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
AV. VINTE E OITO DE SETEMBRO, 77 TÉRREO - VILA ISABEL - CEP 20551-030
TEL: 21 2587-6353 – FAX: 21 2264-0853 - E-mail: cep-hupe@uerj.br

APÊNDICE B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Protocolo: "Estudo Multicêntrico de pacientes com hipertensão arterial para identificação de pacientes resistentes e padronização de esquemas terapêuticos"

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M F

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE

CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M F

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE

CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: "Estudo Multicêntrico de pacientes com hipertensão arterial para identificação de pacientes resistentes e padronização de esquemas terapêuticos"

PESQUISADOR :

CARGO/FUNÇÃO: INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº

UNIDADE/DEPARTAMENTO:.....

2. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO RISCO MÉDIO

RISCO BAIXO RISCO MAIOR

3. DURAÇÃO DA PESQUISA : 24 semanas (para cada paciente) e 2 anos de duração do projeto completo.

1 – Você está sendo convidado a participar do “Estudo Multicêntrico de pacientes com hipertensão arterial para identificação de pacientes resistentes e padronização de esquemas terapêuticos” que tem o objetivo de avaliar se os medicamentos para tratamento da pressão arterial alta existentes nas Unidades Básicas de Saúde conseguem controlar a pressão arterial dos brasileiros. Além disso, caso a sua pressão não consiga ser controlada com o uso de três desses remédios (clortalidona, enalapril ou losartana, e anlodipino) você será tratado com a associação de mais um medicamento de pressão (espironolactona ou clonidina). Estes remédios são utilizados pelos hospitais e receitados pelos médicos para o controle da pressão arterial há mais de 15 anos. Caso seja difícil controlar a sua pressão (ou seja, se você é um paciente resistente ao tratamento), nosso estudo procurará saber qual é o fator responsável.

2 – Você terá a sua pressão avaliada com o aparelho de medir pressão, fará exames de urina e será submetido a exames de sangue que serão tirados de uma veia do braço com seringas e agulhas descartáveis. Os exames do seu sangue são exames de rotina na avaliação das pessoas que têm pressão alta. Além disso, serão feitos um eletrocardiograma rotineiro e poderá ser solicitado também um ecocardiograma (ultrassom do coração). Serão feitos exames especiais de avaliação da frequência do seu coração por 20 minutos com o uso do aparelho de eletrocardiograma. No seu sangue, mediremos alguns hormônios que são responsáveis pelo aumento da pressão. Uma amostra do seu sangue e do DNA (material genético) que será coletado de seu sangue deverão ser congelados e armazenados no Laboratório de Genética e Cardiologia Molecular do Instituto do Coração – HCFMUSP, sob responsabilidade do diretor deste Laboratório, para possíveis análises futuras, que somente serão realizadas com o seu consentimento.

3 – Os desconfortos que esses exames podem acarretar são: dor na hora de tirar sangue da veia do braço, pequeno sangramento no local da picada da agulha, gasto de seu tempo para a realização dos seus exames. Não há riscos maiores para esses exames. Com o tratamento da sua pressão, poderá haver no início do tratamento alguma sonolência e, em alguns casos, tonturas. Mas esses sintomas estão relacionados à diminuição da sua pressão, e desaparecem num prazo de 10 dias de tratamento, até que o seu organismo se acostume com a pressão arterial mais baixa (em níveis normais).

4 – Com o tratamento da sua pressão por este estudo haverá diminuição nos riscos de derrame cerebral e de infarto do coração, e também diminuição de riscos de problemas nos rins, que podem ocorrer quando não há controle adequado da pressão arterial. Um outro benefício deste estudo, que atingirá toda a população brasileira, será a possibilidade de padronização da assistência farmacêutica futura do Ministério da Saúde do governo brasileiro.

5 – Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Dr.....

..... que pode ser encontrado no endereço:

, telefone(s):.....

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) através do(s) fone(s):.....
 e-mail:
 ou endereço:

6 – É garantida a sua liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento, portanto você poderá deixar de participar deste estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;

7 – Direito de confidencialidade: As informações obtidas de seus exames e consultas serão analisadas juntamente com as de outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente;

8 – Direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas. Você poderá questionar sobre os resultados deste estudo que sejam do conhecimento dos pesquisadores;

9 – Não há custos pelo tratamento, consultas, exames e medicação. Também não há compensação financeira, e nenhum tipo de pagamento ou remuneração relacionado à sua participação no estudo;

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo: "Estudo Multicêntrico de pacientes com hipertensão arterial para identificação de pacientes resistentes e padronização de esquemas terapêuticos".

Eu discuti com o Dr. sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

O (a) sr.(a) concorda que uma amostra de sangue e do DNA do seu sangue sejam congelados e armazenados para exames genéticos futuros?

Sim ()

Não ()

Assinatura do paciente/representante legal

Data ____ / ____ / ____

Assinatura da testemunha

Data ____ / ____ / ____

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo

Data ____ / ____ / ____