

Efeitos dos Inibidores da PDE do Tipo 5 sobre a Disfunção Diastólica Ventricular Esquerda na Hipertensão Arterial Resistente

Effects of PDE type 5 inhibitors on Left Ventricular Diastolic Dysfunction in Resistant Hypertension

Ana Paula Cabral de Faria, Rodrigo Modolo, Beatriz Vaz Domingues Moreno, Heitor Moreno

Faculdade de Ciências Médicas – Universidade Estadual de Campinas (FCM-UNICAMP), São Paulo, SP – Brasil

Resumo

A Hipertensão arterial resistente (HAR) é uma doença multifatorial caracterizada por níveis pressóricos acima das metas (140/90 mmHg), a despeito de tratamento farmacológico otimizado de 3 ou mais fármacos anti-hipertensivos de diferentes classes. Pacientes diagnosticados como hipertensos resistentes apresentam alta prevalência de disfunção diastólica do ventrículo esquerdo (DDVE) que proporciona risco aumentado para insuficiência cardíaca. Esta revisão reúne dados de estudos prévios avaliando os efeitos dos inibidores de fosfodiesterase-5 (PDE-5) (administração aguda de sildenafil e de curto prazo de tadalafil) na função diastólica e nos parâmetros bioquímicos e hemodinâmicos em pacientes com HAR. O estudo agudo com sildenafil demonstrou que a inibição da PDE-5 melhorou os parâmetros hemodinâmicos e de relaxamento diastólico. Além disso, o estudo curto prazo com o uso de tadalafil revelou melhora da DDVE e dos níveis de GMPc e BNP-32, independente de redução de pressão arterial. A função endotelial não apresentou alteração com ambos os tratamentos. Os resultados dos estudos agudo e de curto prazo sugerem efeitos terapêuticos potenciais dos fármacos inibidores da PDE-5 na disfunção diastólica em pacientes com HAR.

Introdução

A hipertensão arterial resistente (HAR) é uma condição multifatorial caracterizada por níveis de pressão arterial (PA) acima da meta (140/90 mmHg), apesar do uso concomitante de três ou mais medicamentos anti-hipertensivos de diferentes classes ou PA controlada com o uso de quatro ou mais agentes¹. A prevalência é estimada em 15-18% de indivíduos hipertensos em estudos populacionais^{2,3} e,

frequentemente, o aumento do número de medicamentos anti-hipertensivos utilizados no curso da doença^{1,4} está associado a sobrepeso ou obesidade e diabetes tipo 2; no entanto, essas condições não são suficientes para explicar primariamente as limitações físicas e queixas cardiovasculares dos indivíduos. Em um estudo ecocardiográfico, foi observado que 95% dos indivíduos com HAR e 72% dos hipertensos controlados tinham disfunção diastólica ventricular esquerda (DDVE) com função sistólica preservada⁵.

Estudos anteriores demonstraram em modelos de animais hipertensos induzidos por tratamento crônico com inibidor de óxido nítrico (NO) éster metílico NG-nitro-L-arginina (L-NAME) – a deficiência acentuada da primeira derivada temporal negativa da pressão diastólica do VE ($-dp/dt$, em mmHg/s), indicando DDVE nesses animais^{6,7}. Curiosamente, esse efeito foi revertido com a administração oral de sildenafil, um inibidor seletivo da fosfodiesterase 5 (IPDE-5), após oito semanas de tratamento⁸. De fato, a análise imuno-histoquímica revelou lesões miocárdicas relacionadas ao L-NAME, além do aumento da intensidade de PDE-5 nos discos intercalares entre os miócitos⁹. Portanto, esse achado foi relacionado à melhora da DDVE devido aos efeitos diretos do sildenafil no relaxamento cardíaco em ratos tratados com L-NAME.

Dessa forma, devido à alta prevalência de DDVE (95%) observada em nosso ambulatório especializado em HAR (Campinas, Brasil)⁵ e à falta de tratamento-padrão, o que reduz as taxas de mortalidade¹⁰, recentemente nosso grupo investigou a DDVE por meio da ecocardiografia – um método de diagnóstico não invasivo usado com frequência – em associação com IPDE-5, na administração aguda (sildenafil) e de curto prazo (tadalafil). Assim, esta atualização clínica relata dois achados, recentemente publicados, que avaliaram os efeitos dos inibidores PDE-5 na função diastólica, no grupo específico de indivíduos hipertensos resistentes^{11,12}.

Palavras-chave

Hipertensão; Disfunção Ventricular Esquerda; Inibidores da Fosfodiesterase 5 / uso terapêutico; Insuficiência Cardíaca; Vasodilatadores / uso terapêutico.

Correspondência: Ana Paula Cabral de Faria •

Rua Tessália Vieira de Camargo 126, Barão Geraldo. CEP: 13093-970, Campinas, SP – Brasil.

E-mail: aninha_cfaria@hotmail.com; ana.cabralfaria@gmail.com

Artigo recebido em 25/5/2014, revisado em 22/7/2014, aceito em 15/8/de 2014.

Tratamento da DDVE na HAR: estudos clínicos primários utilizando IPDE-5

Estudo agudo

A hipótese para o primeiro estudo publicado recentemente envolveu um IPDE-5 seletivo e DDVE em pacientes com HAR, considerando que a administração aguda do sildenafil poderia melhorar os parâmetros hemodinâmicos, as funções endoteliais e diastólicas

DOI: 10.5935/abc.20140159

do ventrículo esquerdo¹¹. Este estudo cruzado, cego e controlado por placebo, incluiu 26 indivíduos diagnosticados com HAR (ClinicalTrials.gov – protocolo ID: CAAE-0758.0.146.000-09). A função endotelial (avaliada pelo método de dilatação fluxomediada – DFM) e o ecocardiograma foram determinados durante o tratamento pré e pós-sildenafil, assim como medidas dos níveis de nitrito e de monofosfato cíclico de guanosina (GMPc) no plasma. Além disso, os parâmetros hemodinâmicos não invasivos (Finometer – Finapres Medical Systems, Amsterdã, Holanda) foram avaliados antes e durante todo o período de tratamento com sildenafil, com administração de doses crescentes (37,5, 50 e 100 mg) a intervalos de 30 minutos.

Não foram encontradas diferenças entre os níveis de nitrito e de GMPc, bem como na função endotelial após o uso do sildenafil. Por outro lado, a avaliação hemodinâmica revelou que a administração de sildenafil contribuiu para a diminuição da pressão arterial média (PAM), em doses crescentes, quando comparada aos níveis basais ($84,17 \pm 21,04$ a $75 \pm 17,21$ mmHg, $p < 0,05$). A resistência vascular periférica total (RVPT) diminuiu acentuadamente após a primeira dose de 37,5 mg ($1.149 \pm 459,7$ a 1.037 ± 340 dyn.s/cm⁻⁵, $p < 0,05$), mas a frequência cardíaca aumentou progressivamente com doses cumulativas desse IPDE-5 de curta duração. Finalmente, foi encontrada melhora da função diastólica com redução de: (1) volume do átrio esquerdo ($25,4 \pm 1,1$ a $20,9 \pm 0,9$ mL, $p < 0,05$), (2) tempo de relaxamento isovolumétrico ($104,4 \pm 3,8$ a $88,3 \pm 3,0$ ms, $p < 0,05$), (3) razões E/e' lateral e E/e' septal ($7,7 \pm 0,7$ a $6,4 \pm 0,6$ e $9,8 \pm 0,8$ a $7,9 \pm 0,6$, respectivamente, $p < 0,05$), quando comparada ao ecocardiograma pré-sildenafil.

Os resultados sugerem que a inibição aguda do PDE-5 melhora os parâmetros hemodinâmicos – reduzindo os níveis de PAM através da redução da RVPT –, bem como o relaxamento diastólico, embora mudanças na função endotelial não tenham sido observadas¹¹.

Estudo de curto prazo

No segundo estudo publicado recentemente, nosso grupo investigou se o uso de tadalafil, um IPDE-5 de longa ação, melhorou a DDVE em pacientes com HAR, independentemente da redução da PA.¹² Dezenove pacientes foram incluídos nesse estudo cruzado, cego e controlado por placebo (ClinicalTrials.gov – protocolo ID: CAAE-0044.0.146.000-09). Todos os indivíduos receberam tadalafil por via oral (20 mg/dia), durante duas semanas. A função endotelial (método FMD) e a função diastólica do VE (ecocardiografia), os níveis de nitrito, GMPc no plasma e peptídeo natriurético do tipo B (BNP-32) plasmáticos foram determinados no início e após o tratamento com tadalafil.

Não foram encontradas alterações na função endotelial e nos níveis de nitrito. Por outro lado, os níveis de GMPc aumentaram e os de BNP-32 diminuíram após o uso de tadalafil ($62,4 \pm 32,2$ a $112,6 \pm 75,3$ pmol/mL e $143,3 \pm 33,3$ a $119,3 \pm 31,3$ pg/mL, respectivamente, $p < 0,05$). A ecocardiografia revelou melhora das variáveis da DDVE: (1) a velocidade de pico da onda E ($67,8 \pm 18,3$ a $77,8 \pm 16,0$ cm/s, $p < 0,05$), (2) a razão E/A

($0,9 \pm 0,3$ a $1,08 \pm 0,3$, $p < 0,05$); (3) o tempo de desaceleração da onda E ($234,1 \pm 46,0$ a $194,4 \pm 43,3$ ms, $p < 0,05$); (4) a velocidade lateral de onda E' ($7,7 \pm 2,1$ a $8,8 \pm 2,8$ cm/s, $p < 0,05$); (5) o tempo de relaxamento isovolumétrico ($128,7 \pm 17,6$ a $96,8 \pm 26,9$ ms, $p < 0,05$); e (6) as velocidades septal e lateral da onda S' ($6,3 \pm 1,4$ a $7,7 \pm 1,7$ e $7,5 \pm 2,3$ a $8,3 \pm 2,2$ cm/s, respectivamente, $p < 0,05$) pós-tratamento com tadalafil. Além disso, o estudo mostrou redução de dispneia, palpitações e fadiga relatadas pelos pacientes.

O estudo de curto prazo demonstrou relevância clínica com o uso de tadalafil por duas semanas, no tratamento da DDVE, e biomarcadores relacionados com a função diastólica em indivíduos com HAR, efeito esse independente da redução da PA¹².

Discussão do mecanismo

As conclusões do estudo agudo com doses crescentes de sildenafil (37,5, 50 e 100 mg em intervalos de 30 minutos) mostrou melhora do perfil hemodinâmico e DDVE em pacientes com HAR.

Anteriormente, estudos avaliaram a administração do inibidor de PDE-5 em grupos hipertensos. Em primeiro lugar, foi demonstrado que o uso de sildenafil durante 16 dias reduziu os níveis ambulatoriais de pressão arterial em indivíduos hipertensos não tratados¹³. Um segundo estudo demonstrou redução da PA com a administração aguda de sildenafil em dose única (50 mg) em HAR¹⁴. Esse estudo também constatou que a combinação de sildenafil e nitrato orgânico (mononitrato de isossorbida) foi bem tolerada e resultou em diminuição maior dos níveis de PA braquial e central, dando a ideia de que essa nova abordagem terapêutica pudesse ser eficaz em pacientes com HAR. Apesar desses achados importantes, o mecanismo de redução da PA não foi relatado.

A proposta de investigar continuamente os parâmetros hemodinâmicos contribuiu para detectar que a redução da PA foi devida à redução da RVPT, uma vez que o débito cardíaco permaneceu inalterado. Curiosamente, a queda acentuada dos níveis de PAM e RVPT ocorreu após a primeira dose de sildenafil (37,5 mg), o que não foi sustentado com a administração consecutiva de doses crescentes (50 mg e 100 mg). De acordo com estudos anteriores^{15,16}, esses achados indicam que o sildenafil não apresentou efeito dose-dependente¹¹.

O mecanismo causal proposto para melhora da DDVE no estudo agudo também foi devido à redução da RVPT¹¹. Esses resultados sugerem que a DDVE é caracterizada pelo aumento da pós-carga – resultante do aumento da RVPT – com comprometimento do relaxamento miocárdico do ventrículo esquerdo. Por isso, há resistência do enchimento ventricular e as alterações da razão pressão diastólica/volume^{17,18} (Figura 1).

O estudo de curto prazo avaliou os efeitos de longa ação do IPDE-5 (tadalafil 20 mg/dia por duas semanas) e resultou em melhora na DDVE, independentemente da redução da PA, e em alterações nos níveis de GMPc e BNP-32 após o uso do medicamento em indivíduos com HAR. No entanto, alterações nos níveis de nitrito e da função endotelial não foram observadas.¹² Esses achados reforçam a hipótese dos

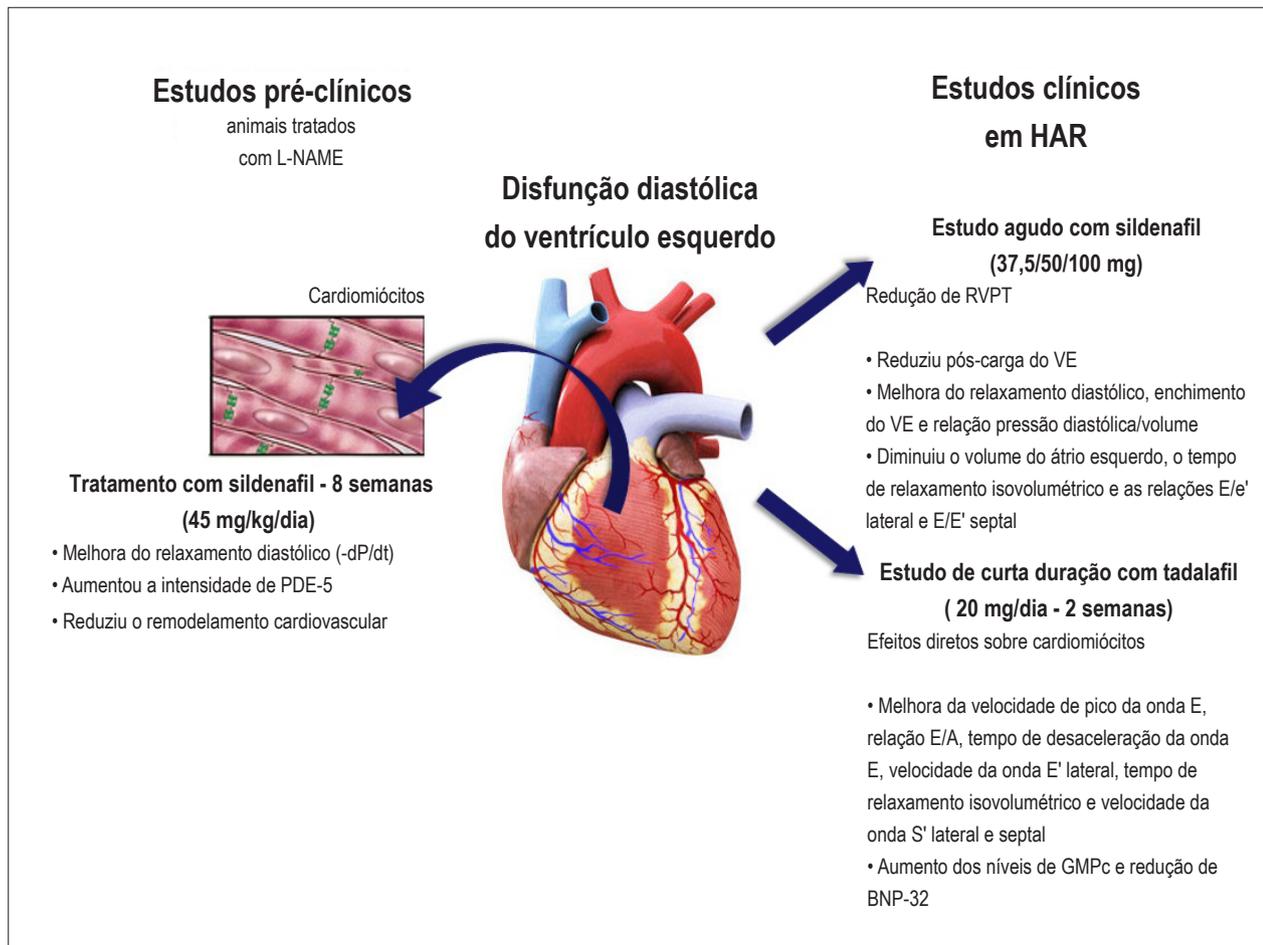


Figura 1 – Mecanismos potenciais para a melhora da disfunção diastólica ventricular esquerda em estudos pré-clínicos e clínicos.

efeitos diretos do tadalafil sobre os cardiomiócitos, já que podemos excluir a influência potencial de vasodilatação NO-mediada e, conseqüentemente, a redução da pós-carga ventricular (a RVPT não foi alterada).

Estudos anteriores demonstraram que a PDE-5, por meio da via de sinalização do GMPc, leva ao remodelamento cardíaco, e sua inibição com aumento dos níveis de GMPc – resulta em efeitos positivos, como o bloqueio das vias de sinalização adrenérgica, hipertrófica e apoptótica²³. De acordo com esses achados clínicos, um estudo demonstrou aumento dos níveis plasmáticos de GMPc e da capacitância sistólica e diastólica do ventrículo esquerdo, com diminuição nas medidas de rigidez dos cardiomiócitos durante o tratamento concomitante de sildenafil e BNP²⁴. A enzima PDE-5 foi encontrada nos discos intercalares entre os miócitos, e o IPDE-5 pode ter potencial relevância para relaxamento diastólico, impedindo a diminuição induzida pelo L-NAME na medida de $-dP/dt$. Assim, a atenuação das alterações hemodinâmicas e morfológicas deletérias observadas com o tratamento com L-NAME podem ser moduladas pela inibição de PDE-5 em miócitos cardíacos⁹. Além disso, o tratamento com IPDE-5 pode reduzir a inflamação cardíaca, seguindo-se da melhora do processo de remodelamento, bem como da

apoptose cardíaca, resultando na melhora da função do VE em modelos experimentais de insuficiência cardíaca induzida por angiotensina II.²⁵ Esses mecanismos destacam a importância da PDE-5 como alvo farmacológico para relaxamento de cardiomiócitos e, conseqüentemente, para a melhora da DDVE, aumentando os níveis de GMPc após o tratamento com IPDE-5.

Finalmente, a redução dos níveis de BNP-32 – um biomarcador clínico amplamente utilizado para diagnóstico, prognóstico e tratamento da insuficiência cardíaca²⁶ – neste estudo de curto prazo revelou estreita associação com a DDVE¹². De forma similar aos estudos anteriores, os quais demonstraram que os peptídeos natriuréticos eram fortes preditores de disfunção diastólica²⁷⁻²⁹, o estudo de curto prazo sugeriu um potencial papel diagnóstico ao medir os níveis de BNP-32 para avaliar alterações cardiovasculares relacionadas com a DDVE (Figura 1).

Implicações clínicas

A hipertensão arterial resistente é uma doença crônica, e vários fatores que contribuem para a fisiopatologia complexa podem ser diferentes entre os indivíduos, o que compromete a eficácia de regimes terapêuticos. Assim, esses vários

mecanismos podem resultar em maiores dificuldades para conseguir o controle da PA, mesmo com o uso de múltiplos medicamentos com adesão confirmada, levando à resistência ao tratamento anti-hipertensivo^{30,31}. O desafio do tratamento da HAR indica que a inclusão de novos medicamentos é necessária no esquema terapêutico de pacientes hipertensos resistentes. Nesse contexto, medicamentos IPDE-5 foram recentemente testados como tratamento anti-hipertensivo^{13,14}. Além disso, devido à alta prevalência de DDVE em pacientes com HAR⁵ – que está associada a desfechos desfavoráveis³² – e as evidências de estudos pré-clínicos que demonstraram melhora na função diastólica^{6,24}, o IPDE-5 surge como candidato muito promissor para o tratamento de condições clínicas como DDVE associada com a resistência à terapia anti-hipertensiva.

Alguns estudos têm sustentado a hipótese de que o uso de medicamentos IPDE-5 é uma estratégia farmacológica viável para a melhora do relaxamento do VE devido: (1) ao encurtamento tanto lateral quanto septal de T E-E' (um índice derivado do Doppler de desempenho de relaxamento do VE);³³ (2) ao efeito do remodelamento cardíaco reverso; e (3) à redução dos níveis do precursor de BNP ao longo do tempo³⁴. O tratamento da DDVE na população com HAR é importante porque a DDVE não tem tratamento-padrão; portanto, a utilização de candidatos terapêuticos poderia reduzir a mortalidade, especialmente nos hipertensos resistentes, os quais têm alto risco cardiovascular³⁵.

Estudos recentes, incluindo o estudo agudo do nosso grupo¹¹, mostraram redução da PA após a administração de sildenafil^{14,26}. Esse efeito deve ser interpretado com cautela. Embora esses estudos possam indicar um efeito clínico significativo na PA, é preciso considerar que eles foram realizados em curto período de tempo, o que não permite concluir que um tratamento crônico teria o mesmo impacto sobre os níveis de PA.

Por fim, a administração aguda e por período curto de medicamentos IPDE-5 (sildenafil e tadalafil, respectivamente)

foi bem tolerada, de acordo com o autorrelato dos pacientes. Isso pode representar grande vantagem clínica, especialmente no tratamento de indivíduos com HAR, já que esses pacientes estão tomando vários medicamentos, e os efeitos adversos são relevantes para a adesão ao tratamento³⁶.

Os resultados do estudo agudo e do estudo de curto prazo mencionados contribuíram para aumentar o nosso conhecimento sobre os efeitos terapêuticos potenciais de medicamentos IPDE-5 na DDVE em pacientes com HAR. Como não investigamos a ação da administração dos medicamentos em longo prazo, esses achados reforçam que futuros estudos clínicos prospectivos devem ser realizados para avaliar a eficácia e a segurança dos IPDE-5 candidatos no tratamento da DDVE em uma maior população com HAR, em estudo de longo prazo.

Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa: Moreno H; Obtenção de dados: Faria APC; Análise e interpretação dos dados e Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Faria APC, Modolo R, Domingues-Moreno BV, Moreno H; Análise estatística e Redação do manuscrito: Faria APC, Modolo R, Moreno H.

Potencial conflito de interesse

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de financiamento

O presente estudo foi financiado pela FAPESP e CNPq.

Vinculação acadêmica

Este artigo é parte de tese de Doutorado de Thiago Quinaglia Araújo Costa Silva e Rodrigo Cardoso Santos pela Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Referências

1. Calhoun DA, Jones D, Textor S, Goff DC, Murphy TP, Toto RD, et al. Resistant hypertension: diagnosis, evaluation, and treatment. A scientific statement from the American Heart Association Professional Education Committee of the Council for High Blood Pressure Research. *Hypertension*. 2008;51(6):1403-19.
2. Persell SD. Prevalence of resistant hypertension in the United States, 2003-2008. *Hypertension*. 2011;57(6):1076-80.
3. Pimenta E, Calhoun DA. Resistant hypertension: incidence, prevalence, and prognosis. *Circulation*. 2012;125(13):1594-6.
4. Faria AP, Sabbatini AR, Coca A, Moreno H. Phenotypic characteristics of resistant hypertension in the Brazilian population. *Arq Bras Cardiol*. 2013;100(6):579-82.
5. Ubaid-Girioli S, Adriana de Souza L, Yugar-Toledo JC, Martins LC, Ferreira-Melo S, Coelho OR, et al. Aldosterone excess or escape: Treating resistant hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2009;11(5):245-52.
6. Arnal JF, el Amrani AI, Chatellier G, Menard J, Michel JB. Cardiac weight in hypertension induced by nitric oxide synthase blockade. *Hypertension*. 1993;22(3):380-7.
7. Pechanova O, Bernatova I, Pelouch V, Babal P. L-NAME-induced protein remodeling and fibrosis in the rat heart. *Physiol Res*. 1999;48(5):353-62.
8. Ferreira-Melo SE, Yugar-Toledo JC, Coelho OR, De Luca IM, Tanus-Santos JE, Hyslop S, et al. Sildenafil reduces cardiovascular remodeling associated with hypertensive cardiomyopathy in NOS inhibitor-treated rats. *Eur J Pharmacol*. 2006;542(1-3):141-7.
9. Ferreira-Melo SE, Demacq C, Lacchini S, Krieger JE, Irigoyen MC, Moreno H. Sildenafil preserves diastolic relaxation after reduction by L-NAME and increases phosphodiesterase-5 in the intercalated discs of cardiac myocytes and arterioles. *Clinics (Sao Paulo)*. 2011;66(7):1253-8.
10. Solomon SD, Janardhanan R, Verma A, Bourgoun M, Daley WL, Purkayastha D, et al; Valsartan In Diastolic Dysfunction (VALIDD) Investigators. Effect of angiotensin receptor blockade and antihypertensive drugs on diastolic function in patients with hypertension and diastolic dysfunction: a randomised trial. *Lancet*. 2007;369(9579):2079-87.
11. Quinaglia T, de Faria AP, Fontana V, Barbaro NR, Sabbatini AR, Sertorio JT, et al. Acute cardiac and hemodynamic effects of sildenafil on resistant hypertension. *Eur J Clin Pharmacol*. 2013;69(12):2027-36.

Artigo de Revisão

12. Santos RC, de Faria AP, Barbaro NR, Modolo R, Ferreira-Melo SE, Matos-Souza JR, et al. Tadalafil-induced improvement in left ventricular diastolic function in resistant hypertension. *Eur J Clin Pharmacol*. 2014;70(2):147-54.
13. Oliver JJ, Melville VP, Webb DJ. Effect of regular phosphodiesterase type 5 inhibition in hypertension. *Hypertension*. 2006;48(4):622-7.
14. Oliver JJ, Hughes VE, Dear JW, Webb DJ. Clinical potential of combined organic nitrate and phosphodiesterase type 5 inhibitor in treatment-resistant hypertension. *Hypertension*. 2010;56(1):62-7. Erratum in: *Hypertension*. 2012;60(1):e8.
15. Jackson G, Benjamin N, Jackson N, Allen MJ. Effects of sildenafil citrate on human hemodynamics. *Am J Cardiol*. 1999;83(5A):13C-20C.
16. Nichols DJ, Muirhead GJ, Harness JA. Pharmacokinetics of sildenafil after single oral doses in healthy male subjects: absolute bioavailability, food effects and dose proportionality. *Br J Clin Pharmacol*. 2002;53 Suppl 1:55-12S.
17. Leite-Moreira AF, Correia-Pinto J, Gillebert TC. Afterload induced changes in myocardial relaxation: a mechanism for diastolic dysfunction. *Cardiovasc Res*. 1999;43(2):344-53.
18. Brutsaert DL, Sys SU, Gillebert TC. Diastolic failure: pathophysiology and therapeutic implications. *J Am Coll Cardiol*. 1993;22(1):318-25.
19. Borlaug BA, Melenovsky V, Marhin T, Fitzgerald P, Kass DA. Sildenafil inhibits beta-adrenergic-stimulated cardiac contractility in humans. *Circulation*. 2005;112(17):2642-9.
20. Francis SH, Busch JL, Corbin JD, Sibley D. cGMP-dependent protein kinases and cGMP phosphodiesterases in nitric oxide and cGMP action. *Pharmacol Rev*. 2010;62(3):525-63.
21. Reffelmann T, Kloner RA. Cardiovascular effects of phosphodiesterase 5 inhibitors. *Curr Pharm Des*. 2006;12(27):3485-94.
22. Takimoto E, Champion HC, Li M, Belardi D, Ren S, Rodriguez ER, et al. Chronic inhibition of cyclic GMP phosphodiesterase 5A prevents and reverses cardiac hypertrophy. *Nat Med*. 2005;11(2):214-22.
23. Kass DA, Champion HC, Beavo JA. Phosphodiesterase type 5: expanding roles in cardiovascular regulation. *Circ Res*. 2007;101(11):1084-95.
24. Bishu K, Hamdani N, Mohammed SF, Kruger M, Ohtani T, Ogut O, et al. Sildenafil and B-type natriuretic peptide acutely phosphorylate titin and improve diastolic distensibility in vivo. *Circulation*. 2011;124(25):2882-91.
25. Westermann D, Becher PM, Lindner D, Savvatis K, Xia Y, Frohlich M, et al. Selective PDE5A inhibition with sildenafil rescues left ventricular dysfunction, inflammatory immune response and cardiac remodeling in angiotensin II-induced heart failure in vivo. *Basic Res Cardiol*. 2012;107(6):308.
26. Parekh N, Maisel AS. Utility of B-natriuretic peptide in the evaluation of left ventricular diastolic function and diastolic heart failure. *Curr Opin Cardiol*. 2009;24(2):155-60.
27. Yamaguchi H, Yoshida J, Yamamoto K, Sakata Y, Mano T, Akehi N, et al. Elevation of plasma brain natriuretic peptide is a hallmark of diastolic heart failure independent of ventricular hypertrophy. *J Am Coll Cardiol*. 2004;43(1):55-60.
28. Lubien E, DeMaria A, Krishnaswamy P, Clopton P, Koon J, Kazanegra R, et al. Utility of B-natriuretic peptide in detecting diastolic dysfunction: comparison with Doppler velocity recordings. *Circulation*. 2002;105(5):595-601.
29. Grewal J, McKelvie R, Lonn E, Tait P, Carlsson J, Gianni M, et al. BNP and NT-proBNP predict echocardiographic severity of diastolic dysfunction. *Eur J Heart Fail*. 2008;10(3):252-9.
30. Sarafidis PA. Epidemiology of resistant hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2011;13(7):523-8.
31. Williams B. Resistant hypertension: an unmet treatment need. *Lancet*. 2009;374(9699):1396-8.
32. Redfield MM, Jacobsen SJ, Burnett JC Jr, Mahoney DW, Bailey KR, Rodeheffer RJ. Burden of systolic and diastolic ventricular dysfunction in the community: appreciating the scope of the heart failure epidemic. *JAMA*. 2003;289(2):194-202.
33. Rivas-Gotz C, Khoury DS, Manolios M, Rao L, Kopelen HA, Nagueh SF. Time interval between onset of mitral inflow and onset of early diastolic velocity by tissue Doppler: a novel index of left ventricular relaxation: experimental studies and clinical application. *J Am Coll Cardiol*. 2003;42(8):1463-70.
34. Guazzi M, Vicenzi M, Arena R, Guazzi MD. PDE5 inhibition with sildenafil improves left ventricular diastolic function, cardiac geometry, and clinical status in patients with stable systolic heart failure: results of a 1-year, prospective, randomized, placebo-controlled study. *Circ Heart Fail*. 2011;4(1):8-17.
35. Pierdomenico SD, Lapenna D, Bucci A, Di Tommaso R, Di Mascio R, Manente BM, et al. Cardiovascular outcome in treated hypertensive patients with responder, masked, false resistant, and true resistant hypertension. *Am J Hypertens*. 2005;18(11):1422-8.
36. de Souza WA, Sabha M, de Faveri Favero F, Bergsten-Mendes G, Yugar-Toledo JC, Moreno H. Intensive monitoring of adherence to treatment helps to identify "true" resistant hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2009;11(4):183-91.