

Efectos de la administración crónica de carvedilol sobre la variabilidad de la presión arterial y el daño de órgano blanco en ratas con desnervación sinoaórtica

Effects of Chronic Carvedilol Administration on Blood Pressure Variability and Target Organ Injury in Rats with Sinoaortic Denervation

JULIETA S. DEL MAURO¹, YANINA SANTANDER¹, FACUNDO M. BERTERA¹, ANDREA CARRANZA¹, MARTÍN DONATO^{MTSAC, 2}, SUSANA GORZALCZANY¹, RICARDO GELP^{MTSAC, 2}, CARLOS TAIRA^{1, 3}, CHRISTIAN HÖCHT^{1, 3}

RESUMEN

Introducción: El incremento en la variabilidad de la presión arterial resulta un nuevo factor de riesgo para el desarrollo de daño de órgano blanco en individuos tanto hipertensos como normotensos, por lo que se postula que su reducción debe considerarse una posible nueva meta terapéutica.

Objetivos: Evaluar el efecto del tratamiento a largo plazo con carvedilol sobre la presión arterial, su variabilidad y el daño de órgano blanco en el ventrículo izquierdo y la aorta torácica en el modelo de la labilidad de presión.

Material y métodos: Se incluyeron 12 ratas Wistar macho sometidas a desnervación sinoaórtica, las cuales fueron tratadas durante 8 semanas con una única administración diaria de carvedilol 30 mg/kg o vehículo. Finalizado el tratamiento se realizó la medición de la presión arterial y de la variabilidad a corto plazo y la evaluación ecocardiográfica. Se determinó el peso del ventrículo y de la aorta torácica y se realizaron preparados histológicos sobre ambos tejidos. Se cuantificó la expresión de metaloproteinas 2 (MMP-2) y factor de crecimiento transformante β (TGF- β) en el ventrículo izquierdo y la aorta torácica.

Resultados: El carvedilol redujo la presión arterial sistólica y su variabilidad en las ratas con desnervación sinoaórtica en comparación con el grupo control (126 ± 5 vs. 142 ± 11 mm Hg, $p < 0,05$; DE: $2,9 \pm 0,5$ vs. $6,0 \pm 0,5$ mm Hg; $p < 0,05$). Se evidenció menor cantidad de tejido conectivo en los animales tratados con carvedilol. La expresión de TGF- β se encuentra disminuida en ambos órganos luego del tratamiento con carvedilol.

Conclusiones: El tratamiento crónico con carvedilol reduce significativamente la presión arterial y su variabilidad a corto plazo en ratas con desnervación sinoaórtica, disminuyendo el grado de fibrosis del ventrículo izquierdo.

Palabras clave: Carvedilol - Daño de órgano blanco - Desnervación sinoaórtica - Variabilidad de la presión arterial - Hipertrofia ventricular

ABSTRACT

Background: Increased blood pressure variability is a novel risk factor for the development of target organ injury both in hypertensive and normotensive subjects, so its reduction should be considered as a new therapeutic goal.

Objective: The aim of this study was to evaluate the effect of long-term oral carvedilol treatment on blood pressure, blood pressure variability and target organ injury in the left ventricle and thoracic aorta in a model of blood pressure liability.

Methods: Twelve male Wistar rats submitted to sinoaortic denervation were treated during 8 weeks with a single dose of carvedilol 30 mg/kg or vehicle. At the end of treatment, echocardiographic evaluation and blood pressure and short-term variability measurements were performed. Left ventricular and thoracic aortic weights were determined and histological samples were prepared from both tissues. Metalloproteinase MMP-2 and transforming growth factor β (TGF- β) were quantified in the left ventricle and thoracic aorta.

Results: Carvedilol reduced systolic blood pressure and its variability in sinoaortic-denervated rats compared with the control group (126 ± 5 vs. 142 ± 11 mmHg, $p < 0.05$; SD: 2.9 ± 0.5 vs. 6.0 ± 0.5 mmHg; $p < 0.05$). A lower amount of connective tissue was found in carvedilol-treated animals. The expression of TGF- β decreased in both organs after carvedilol treatment.

Conclusions: Chronic carvedilol treatment significantly reduces systolic blood pressure and its short-term variability in sinoaortic-denervated rats, decreasing the degree of left ventricular fibrosis.

Key words: Carvedilol - Target Organ Damage - Sinoaortic Denervation - Blood Pressure Variability - Ventricular Hypertrophy

REV ARGENT CARDIOL 2015;83:181-186. <http://dx.doi.org/10.7775/rac.es.v83.i3.5680>

VÉASE CONTENIDO RELACIONADO: Rev Argent Cardiol 2015;83:175-177. <http://dx.doi.org/10.7775/rac.es.v83.i3.6390>

Recibido: 11/11/2014 - Aceptado: 02/12/2014

Dirección para separatas: Julieta Sofia del Mauro. Cátedra de Farmacología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires - Junín 956 - (C1113AAD) Buenos Aires, Argentina - Tel. + (54-11) 4964-8265. Fax + (54-11) 4508-3645 - e-mail: julidelmuro@hotmail.com

MTSAC Miembro Titular de la Sociedad Argentina de Cardiología

¹ Departamento de Farmacología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires

² Instituto de Fisiopatología Cardiovascular, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires - CONICET

³ Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires

Abreviaturas

AF	Alta frecuencia	PA	Presión arterial
BF	Baja frecuencia	PAM	Presión arterial media
DSA	Desnervación sinoaórtica	PAS	Presión arterial sistólica
MBF	Muy baja frecuencia	TGF-β	Factor de crecimiento transformante β
MMP-2	Metaloproteinasa de la matriz 2	VPA	Variabilidad de la presión arterial

INTRODUCCIÓN

La presión arterial (PA) no es una variable constante, sino que sufre oscilaciones profundas y espontáneas a corto plazo (de minutos a días) y a largo plazo (meses). (1) Un incremento en la variabilidad de la presión arterial (VPA) se ha establecido como un factor de riesgo para el desarrollo de lesión de órgano blanco no solo en pacientes hipertensos, sino también en los sujetos normotensos. (1, 2) Estudios clínicos han establecido que el incremento en la fluctuación de la PA durante 24 horas, día a día y entre visitas médicas se asocia con mayor riesgo de eventos cardiovasculares mayores en la población hipertensa. (3) Teniendo en cuenta esta relación, hoy en día se postula que la reducción de la VPA debe considerarse como una posible nueva meta terapéutica de la terapia antihipertensiva. (3)

Los betabloqueantes, aunque hasta hace poco considerados como medicamentos de primera línea en pacientes con hipertensión arterial sin patologías coexistentes, se han dejado de recomendar para el tratamiento inicial en sujetos hipertensos no complicados debido a la menor protección del paciente frente a eventos cerebrovasculares y al mayor riesgo de trastornos metabólicos. (4) Una de las posibles razones asociadas con la menor protección de órgano blanco con betabloqueantes es la menor atenuación de la VPA en comparación con otros agentes antihipertensivos, en especial los bloqueantes cálcicos. (5) Sin embargo, la evidencia clínica que asocia el uso de betabloqueantes con la menor protección cardiovascular del paciente hipertenso se basa en gran medida en estudios clínicos que evaluaron el atenolol, un betabloqueante con relativamente baja cardioselektividad y sin acción vasodilatadora. (3, 4) En las últimas décadas se han desarrollado betabloqueantes vasodilatadores de tercera generación, entre ellos el carvedilol y el nebivolol, que presentan propiedades farmacológicas superiores al atenolol, incluyendo la capacidad de reducir la PA central y con perfil metabólico neutro. (4) Sin embargo, la superioridad de los betabloqueantes de tercera generación por sobre el atenolol en términos de reducción de la VPA no fue evaluada en estudios clínicos. En un trabajo previo llevado a cabo en ratas sometidas a desnervación sinoaórtica (DSA), un modelo de labilidad de la PA, hemos demostrado que la administración aguda de carvedilol y nebivolol reduce en mayor medida la VPA a corto plazo en comparación con el atenolol. (6)

Considerando estos antecedentes, el objetivo del presente trabajo fue estudiar los efectos de la administración crónica del carvedilol sobre la PA y su

variabilidad en ratas con DSA y su posible impacto sobre el daño de órgano blanco a nivel del ventrículo izquierdo y de la aorta.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron ratas Wistar macho (200-220 g), las cuales fueron sometidas a la DSA mediante el método de Krieger, consistente en la sección de los nervios aórticos a la altura de las arterias carótidas y la disección bilateral de las bifurcaciones carotídeas para la resección de los nervios carotídeos. (6) Los animales fueron tratados durante 8 semanas con carvedilol 30 mg/kg (n = 6) o vehículo (n = 6), ambos una vez al día, por vía oral mediante el uso de trocar. Durante las últimas 2 semanas de tratamiento se evaluó el nivel de presión arterial sistólica (PAS) con el método indirecto de *tail-cuff* a las 13:00 horas. A partir de las mediciones se estimó el valor de la PAS promedio, la variación intradía y la fluctuación interdía de la medición.

En la última semana de tratamiento se realizaron mediciones ecocardiográficas con un ecógrafo marca Acuson Sequoia, modelo C512 equipado con un transductor de 7-14 MHz en ratas anestesiadas con mezcla de ketamina/xilazina. Al cabo de los dos meses de tratamiento, se canuló la arteria carótida y se conectó, 24 horas después, a un transductor de presión Spectramed P23XL (Spectramed, Oxnard, CA, USA), acoplado a un polígrafo Grass 79D (Grass Instruments, Quincy, MA, USA). El polígrafo se conectó a un convertidor digital (Polyview, PVA 1, Grass-Astro Med, West Warwick, RI, USA), y los registros de PA obtenidos durante 2 horas se almacenaron y se analizaron con el *software* Polyview 2.3 (Astro-Med, West Warwick, RI). A partir del análisis de los registros se estimaron la presión arterial media (PAM), la frecuencia cardíaca y la VPA a corto plazo en registros de 3 minutos. Adicionalmente, se evaluó la variabilidad latido-a-latido mediante el análisis espectral del registro de PA utilizando el algoritmo de la transformada rápida de Fourier con una ventana de Hamming. Se calcularon las densidades espectrales en el rango de muy baja frecuencia (MBF) (0,1-0,2 Hz), baja frecuencia (BF) (0,2 a 0,7 Hz) y alta frecuencia (AF) (0,7-2,5 Hz). Aunque es conocido que la variabilidad de la BF se ve afectada por la modulación simpática del tono vascular, se utilizó la relación BF/AF como índice de dicha actividad, ya que este procedimiento de normalización tiende a minimizar el efecto de los cambios de los valores absolutos de la variabilidad en la BF. (7, 8)

Finalizada la determinación de los parámetros hemodinámicos, todos los animales fueron sacrificados con guillotina extrayéndose la aorta torácica y el ventrículo izquierdo para la evaluación del daño de órgano blanco. Como marcadores morfológicos del daño de órgano blanco se evaluó la relación entre el peso del ventrículo izquierdo y el peso corporal y la razón entre el peso de la aorta y su longitud utilizando una balanza de precisión. (9) Con la finalidad de establecer la presencia de fibrosis, se realizó la evaluación histopatológica del ventrículo izquierdo sobre secciones histológicas de 4 mm de espesor de acuerdo con trabajos previos en ratas con DSA,

(9) empleándose el colorante Sirius Red, con el que las fibras de colágeno se tiñen de color rosado.

Finalmente, como marcadores bioquímicos del daño de órgano blanco se determinó la expresión de la metaloproteínasa de la matriz 2 (MMP-2) y del factor de crecimiento transformante β (TGF- β) en homogenatos de ventrículo izquierdo y aorta torácica mediante la técnica de Western blot. Los homogenatos (20 μ g) se corrieron en gel de poliacrilamida con SDS (12%). La transferencia se realizó sobre membranas de PVDF y luego del bloqueo fueron incubadas durante la noche con Rabbit anti-MMP-2 (PM 63 kDa), Mousse anti-TGF- β 1 (PM 13 kDa) y Rabbit anti-GAPDH (PM 37 kDa) como control de carga. Las proteínas fueron detectadas por quimioluminiscencia mediante el uso de una película fotográfica y luego cuantificadas con el programa ImageJ. (10)

Análisis estadístico

La distribución normal de los datos y las variables del estudio se comprobaron con la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Los datos se expresaron como media $\pm$ error estándar de la media. La comparación estadística entre ambos grupos de tratamiento se realizó mediante la prueba de la *t* de Student con el programa GraphPad Prism versión 5.02 para Windows (GraphPad Software, San Diego, California, CA). La significación estadística se definió como $p < 0,05$.

Consideraciones éticas

Los experimentos con animales se realizaron de acuerdo con los "Principios de cuidado de los animales de laboratorio" (publicación de los NIH No. 85-3, Revisión de 1985).

RESULTADOS

El análisis de la determinación de la PA indirecta por el método de *tail-cuff* documentó que el tratamiento crónico con carvedilol redujo la PAS y la variación intradía de la PAS sin modificar la fluctuación de la PAS entre estimaciones interdía (Tabla 1). La evaluación de la PA central en la arteria carótida en animales DSA canulados no detectó diferencias en la PAM entre el grupo de ratas tratadas con carvedilol 30 mg/kg y las que recibieron vehículo (véase Tabla 1). En cambio, el tratamiento crónico con carvedilol redujo la VPA a corto plazo, evidenciado por una atenuación significativa de la desviación estándar en comparación con el grupo control (véase Tabla 1). La evaluación del análisis espectral del registro de PA estableció que el tratamiento crónico con carvedilol reduce de manera altamente significativa la VPA latido-a-latido en todos los dominios de frecuencia en comparación con el grupo control (Figura 1). Incluso en las ratas DSA que recibieron carvedilol 30 mg/kg el índice BF/AF, marcador del tono simpático vascular, fue menor en comparación con los animales que recibieron vehículo.

El análisis del daño de órgano blanco en el ventrículo izquierdo y la aorta torácica mostró resultados dispares entre los animales DSA tratados con carvedilol y los que recibieron vehículo. La razón peso ventrículo izquierdo/peso animal fue similar entre el grupo de ratas DSA que recibieron vehículo ($2,29 \pm 0,04$, $n = 6$) y las tratadas con carvedilol 30 mg/kg ($2,47 \pm 0,12$, $n = 6$). Tampoco se detectaron diferencias significativas en la relación entre peso de la aorta torácica y

Tabla 1. Parámetros hemodinámicos de ratas con deservación sinoaórtica tratadas de manera crónica con carvedilol o vehículo

Parámetro hemodinámico	Ratas DSA vehículo (n = 6)	Ratas DSA carvedilol (n = 6)
Presión indirecta (<i>tail-cuff</i>)		
PAS, mm Hg	142 ± 5	$126 \pm 2^*$
DE intradía, mm Hg	$6,0 \pm 0,2$	$2,9 \pm 0,2^*$
DE interdía, mm Hg	$7,3 \pm 0,9$	$7,0 \pm 1,3$
Presión directa en la arteria carótida		
PAM, mm Hg	106 ± 6	93 ± 8
DE, mm Hg	$9,2 \pm 0,7$	$5,8 \pm 1,3^*$
Coefficiente de variación porcentual	$8,7 \pm 1,0$	$6,2 \pm 0,5^*$

Los datos indican la media $\pm$ error estándar de la media. * $p < 0,05$ vs. ratas DSA vehículo. DSA: Deservación sinoaórtica. PAS: Presión arterial sistólica. DE: Desviación estándar. PAM: Presión arterial media.

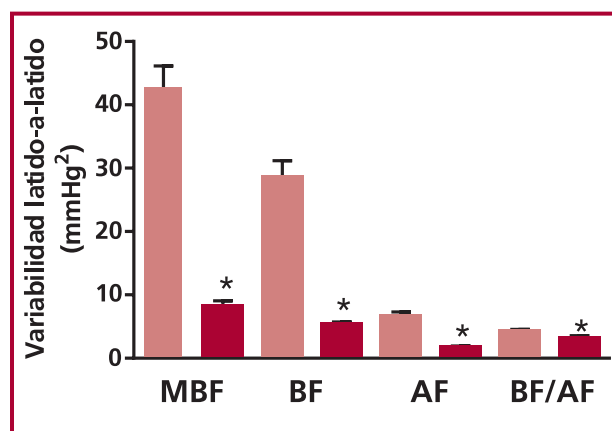


Fig. 1. Variabilidad latido-a-latido en distintos rangos de frecuencia en ratas con deservación sinoaórtica luego del tratamiento durante 8 semanas con vehículo (barras blancas) o carvedilol 30 mg/kg (barras negras). * $p < 0,05$ vs. grupo tratado con vehículo. MBF: Muy baja frecuencia. BF: Baja frecuencia. AF: Alta frecuencia. BF/AF: Relación baja frecuencia/alta frecuencia.

su longitud entre los animales tratados con carvedilol ($2,55 \pm 0,35$ mg/mm, $n = 6$) y el grupo control ($3,07 \pm 0,21$ mg/mm, $n = 6$).

En la evaluación ecocardiográfica no se detectaron diferencias significativas entre ratas DSA tratadas con carvedilol respecto del grupo control que recibió vehículo en la comparación de los principales parámetros ecocardiográficos de función sistólica y diastólica (Tabla 2).

El análisis preliminar de los cortes histológicos evidenció un grado menor de fibrosis intersticial y perivascular en el ventrículo izquierdo de ratas DSA tratadas crónicamente con carvedilol respecto del grupo DSA control que recibió vehículo (Figura 2). Finalmente, la determinación de la expresión de marcadores moleculares de fibrosis estableció que el tratamiento crónico de ratas DSA con carvedilol 30 mg/kg reduce la expresión

del TGF-β tanto en el ventrículo izquierdo como en la aorta torácica en comparación con el grupo control tratado con vehículo (Figuras 3 y 4). En cambio, no se detectaron diferencias significativas en la expresión de MMP-2 en ambos tejidos entre los grupos de animales carvedilol y control.

DISCUSIÓN

Los hallazgos del presente estudio demuestran que el tratamiento oral crónico con el betabloqueante vasodilatador de tercera generación carvedilol atenúa de manera marcada la VPA a corto plazo en ratas con DSA, aunque el control de este marcador independiente de riesgo cardiovascular con carvedilol solo se asocia con la reducción de la fibrosis miocárdica sin

cambios en las medidas morfológicas y en parámetros ecocardiográficos.

En comparación con las ratas espontáneamente hipertensas y con DSA (REH-DSA), la realización de DSA en animales normotensos representa el modelo experimental ideal para evaluar únicamente la importancia del control de la VPA en la reducción de eventos cardiovasculares y el daño de órgano blanco. (3) La resección bilateral de los nervios carotídeos aumenta la labilidad de la PA sin cambios altamente significativos en el valor promedio de la PA. (11) Estudios previos han detectado, sin embargo, un incremento de la PAS determinada mediante el método pletismográfico de cola. (11) Además de los cambios hemodinámicos, la elevada VPA en animales con DSA se asocia con aumento del daño de órgano blanco, incluyendo hipertrofia ventricular izquierda tardía, incremento de la fibrosis y el engrosamiento de la pared del miocardio, hipertrofia aórtica con acumulación de colágeno, deterioro de la distensibilidad arterial e incremento de la matriz mesangial. (3)

Las evidencias preclínicas obtenidas en animales con DSA y los aportes de estudios clínicos en pacientes hipertensos han llevado a postular que el incremento en la fluctuación de la PA contribuye de manera independiente en el daño de órgano blanco asociado con la hipertensión arterial. (3) Incluso se ha esgrimido que el efecto cardioprotector deficiente de betabloqueantes en comparación con otros antihipertensivos se debería en parte a su efecto neutro sobre la VPA en contraposición con la reducción detectada con otros agentes, en especial los bloqueantes cálcicos del tipo dihidropiridinas. (3, 5) En este contexto, es necesario destacar

Tabla 2. Principales parámetros ecocardiográficos obtenidos en ratas con desnervación sinoaórtica luego del tratamiento durante 8 semanas con vehículo o carvedilol 30 mg/kg

Parámetro ecocardiográfico	Ratas DSA vehículo (n = 6)	Ratas DSA carvedilol (n = 6)
Diámetro de fin de diástole, mm	7,57 ± 0,33	7,30 ± 0,20
Diámetro de fin de sístole, mm	5,37 ± 0,37	5,35 ± 0,15
Fracción de eyección, %	64,4 ± 2,8	60,6 ± 1,3
Tiempo de relajación isovolúmica, mseg	34,7 ± 2,0	34,5 ± 2,5

Los datos indican la media ± error estándar de la media. p = no significativo ratas DSA carvedilol vs. DSA control. DSA: Desnervación sinoaórtica.

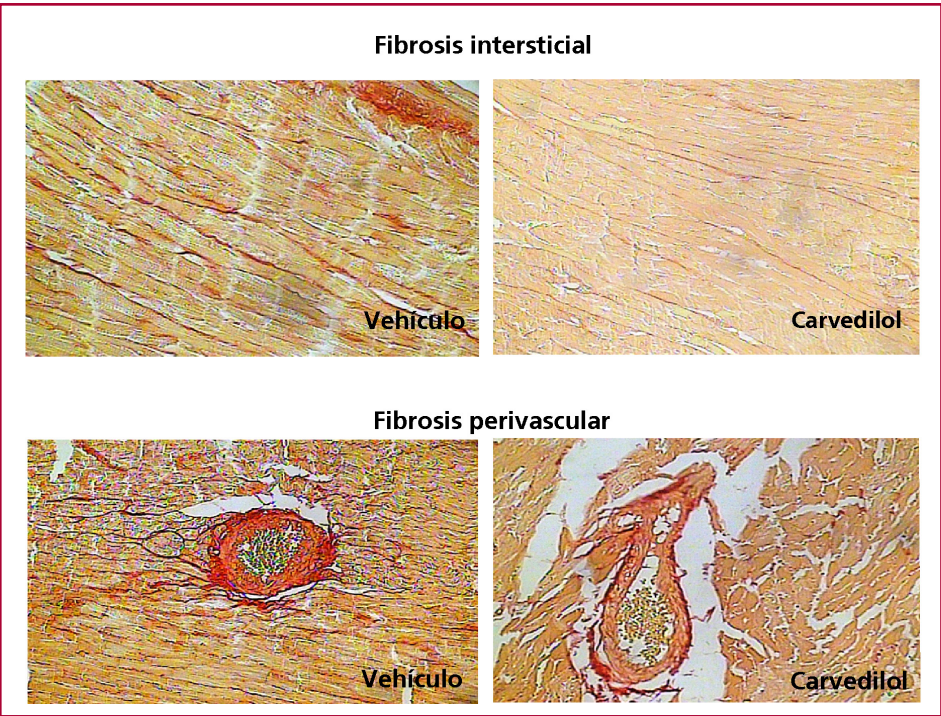


Fig. 2. Imágenes (20×) representativas de la tinción con Sirius Red en el ventrículo izquierdo. Se muestra la fibrosis intersticial y perivascular.

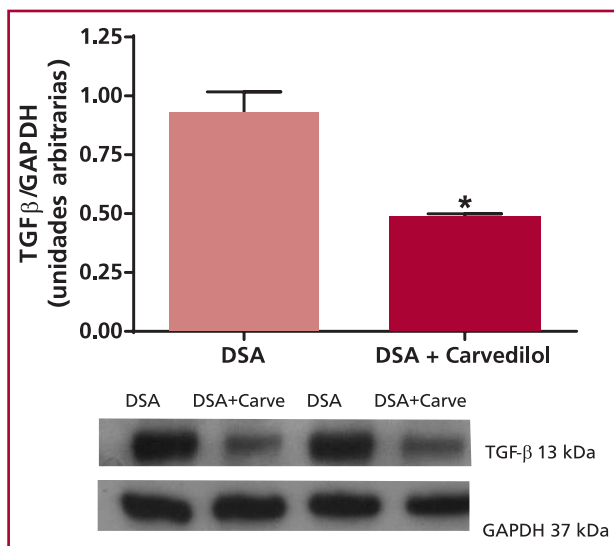


Fig. 3. Expresión del factor de crecimiento transformante β (TGF- β) en homogenatos de ventrículo izquierdo de ratas con deservación sinoaórtica (DSA) luego del tratamiento durante 8 semanas con vehículo (barra clara) o carvedilol (Carve) 30 mg/kg (barra oscura). * $p < 0,05$ vs. grupo tratado con vehículo. GAPDH: Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa.

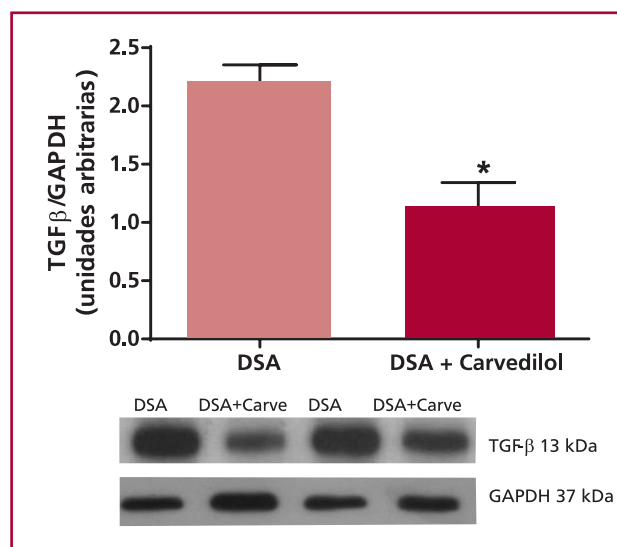


Fig. 4. Expresión del factor de crecimiento transformante β (TGF- β) en homogenatos de aorta torácica de ratas con deservación sinoaórtica (DSA) luego del tratamiento durante 8 semanas con vehículo (barra clara) o carvedilol (Carve) 30 mg/kg (barra oscura). * $p < 0,05$ vs. grupo tratado con vehículo. GAPDH: Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa.

que la mayor evidencia del efecto neutro o negativo de los betabloqueantes sobre la VPA proviene de estudios clínicos que evaluaron atenolol. Resulta incierto si la falta de atenuación de este marcador de riesgo cardiovascular detectada con atenolol es extrapolable a betabloqueantes vasodilatadores como el carvedilol. En estudios previos llevados a cabo en ratas con DSA hemos documentado que la administración aguda de

carvedilol reduce en mayor medida la VPA a corto plazo en comparación con el atenolol. (6) Teniendo en cuenta estos antecedentes, en el presente trabajo nos propusimos comparar el efecto del tratamiento crónico con carvedilol o vehículo sobre la VPA y el daño de órgano blanco en ratas con DSA. El análisis de los resultados de la medición directa e indirecta de la PA documentó que el carvedilol en una dosis diaria de 30 mg/kg es capaz de reducir de manera significativa la desviación estándar del registro de PA, un reconocido parámetro de la variabilidad a corto plazo. Por otro lado, dado que la variación interdía del registro de PA indirecta no difirió entre los grupos carvedilol y vehículo, se puede inferir que el betabloqueante vasodilatador no tendría un efecto significativo en la VPA día-a-día.

Por otro lado, la toma oral crónica de carvedilol durante 8 semanas redujo de manera significativa la VPA latido-a-latido en todos los dominios de frecuencia. La identificación de los componentes de frecuencia de la VPA mediante el análisis espectral puede proporcionar información sobre los mecanismos involucrados en la regulación de la PA. (12) Así, la cuantificación de la variabilidad en el dominio de BF, AF y la estimación del cociente BF/AF permiten cuantificar de manera indirecta la modulación de la PA por el óxido nítrico derivado del endotelio y la actividad simpática vascular, respectivamente. (12) En comparación con el tratamiento con vehículo, la administración crónica de carvedilol redujo el cociente BF/AF, demostrando su capacidad de bloqueo de la actividad vascular simpática.

En términos de daño de órgano blanco, el estudio ha arrojado resultados mixtos. El carvedilol no redujo los marcadores morfométricos de hipertrofia del ventrículo izquierdo y la aorta torácica ni los parámetros ecocardiográficos en comparación con el grupo que recibió vehículo. Sin embargo, el análisis histológico de cortes de ventrículo izquierdo y la determinación del nivel de expresión del TGF- β establecen que la terapia crónica con carvedilol es capaz de reducir el grado de fibrosis miocárdica y vascular en ratas con DSA. La falta de eficacia de carvedilol en términos de marcadores morfométricos puede estar relacionada con el hecho de que la hipertrofia del ventrículo izquierdo se desarrolla de manera tardía, después de 10-16 semanas de la DSA. (13)

CONCLUSIONES

En síntesis, la administración crónica de carvedilol es efectiva para la reducción de la variabilidad latido-a-latido y la variabilidad a corto plazo en un modelo experimental de labilidad de PA. Aunque la atenuación de la VPA en animales con DSA tratados con carvedilol no mostró efectos beneficiosos sobre marcadores de hipertrofia ventricular y parámetros de función sistólica y diastólica, el betabloqueante vasodilatador previno, al menos parcialmente, la fibrosis miocárdica y la expresión del factor profibrótico TGF- β .

Agradecimientos

Este trabajo fue respaldado por becas de la Secretaría de Ciencia y Técnica, Universidad de Buenos Aires, Argentina. Andrea Carranza, Martín Donato, Ricardo Gelpi y Carlos A. Taira son investigadores de carrera del CONICET.

Declaración de conflicto de intereses

Los autores declaran que no poseen conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Grassi G, Bombelli M, Brambilla G, Trevano FQ, Dell'oro R, Mancia G. Total cardiovascular risk, blood pressure variability and adrenergic overdrive in hypertension: evidence, mechanisms and clinical implications. *Curr Hypertens Rep* 2012;14:333-8. <http://doi.org/2q9>
2. Parati G. Blood pressure variability: its measurement and significance in hypertension. *J Hypertens Suppl* 2005;23:S19-25. <http://doi.org/frsbsj>
3. Höcht C. Blood pressure variability: prognostic value and therapeutic implications. *ISRN Hypertension* 2013;ID 398485.
4. Ripley TL, Saseen JJ. β -blockers: a review of their pharmacological and physiological diversity in hypertension. *Ann Pharmacother* 2014;48:723-33. <http://doi.org/2rb>
5. Rothwell PM, Howard SC, Dolan E, O'Brien E, Dobson JE, Dahlöf B, et al; ASCOT-BPLA and MRC Trial Investigators. Effects of beta blockers and calcium-channel blockers on within-individual variability in blood pressure and risk of stroke. *Lancet Neurol* 2010;9:469-80. <http://doi.org/fk7pth>
6. Bertera FM, Del Mauro JS, Lovera V, Chiappetta D, Polizio AH, Taira CA, Höcht C. Acute effects of third generation β -blockers on short-term and beat-to-beat blood pressure variability in sinoaortic-denervated rats. *Hypertens Res* 2013;36:349-55. <http://doi.org/2rc>
7. Pladys P, Lahaie I, Cambonie G, Thibault G, Lê NL, Abran D, Nuyt AM. Role of brain and peripheral angiotensin II in hypertension and altered arterial baroreflex programmed during fetal life in rat. *Pediatr Res* 2004;55:1042-9. <http://doi.org/dds97b>
8. Souza HC, Martins-Pinge MC, Dias da Silva VJ, Borghi-Silva A, Gastaldi AC, Blanco JH, et al. Heart rate and arterial pressure variability in the experimental renovascular hypertension model in rats. *Auton Neurosci* 2008;139:38-45. <http://doi.org/b3vk22>
9. Miao CY, Xie HH, Zhan LS, Su DF. Blood pressure variability is more important than blood pressure level in determination of end-organ damage in rats. *J Hypertens* 2006;24:1125-35. <http://doi.org/cjsf77>
10. Ceron CS, Rizzi E, Guimarães DA, Martins-Oliveira A, Gerlach RF, Tanus-Santos JE. Nebivolol attenuates prooxidant and profibrotic mechanisms involving TGF- β and MMPs, and decreases vascular remodeling in renovascular hypertension. *Free Radic Biol Med* 2013;65:47-56. <http://doi.org/2rd>
11. Taira CA, Celuch SM, Enero MA. Effects of acute and short-term treatment with antihypertensive drugs in sinoaortic denervated rats. *Gen Pharmacol* 1983;14:657-61. <http://doi.org/cjsf77>
12. Stauss HM. Identification of blood pressure control mechanisms by power spectral analysis. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2007;34:362-8. <http://doi.org/dt2mjn>
13. Miao CY, Su DF. The importance of blood pressure variability in rat aortic and left ventricular hypertrophy produced by sinoaortic denervation. *J Hypertens* 2002;20:1865-72. <http://doi.org/dn4w52>