

Perfil farmacocinético y farmacodinámico del nebivolol en un modelo experimental de síndrome metabólico

Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Profile of Nebivolol in an Animal Model of Metabolic Syndrome

YANINA SANTANDER^{1,2}, FACUNDO M. BERTERA^{1,2,3}, JULIETA S. DEL MAURO², ANDREA CARRANZA^{2,3}, CARLOS A. TAIRA^{2,3}, CHRISTIAN HÖCHT^{2,3}

RESUMEN

Con el objetivo en este estudio de evaluar los efectos cardiovasculares y la farmacocinética del nebivolol en ratas hipertensas por sobrecarga de fructosa y en ratas control, se registraron los efectos de la administración intravenosa de nebivolol, 3 mg/kg o 10 mg/kg, sobre la presión arterial, la frecuencia cardíaca y la variabilidad de la presión arterial a corto plazo y latido-a-latido, y se evaluó la farmacocinética enantioselectiva a partir del análisis de la concentración plasmática de los enantiómeros d-nebivolol y l-nebivolol. La variabilidad de la presión arterial a corto plazo y latido-a-latido se evaluó mediante la desviación estándar y el análisis espectral del registro de la presión arterial, respectivamente. El estado hipertensivo alteró la farmacocinética del nebivolol, evidenciado por una reducción en el aclaramiento del nebivolol en el grupo fructosa respecto del grupo control luego de la administración de la dosis más alta. El efecto antihipertensivo del nebivolol fue similar en ambos grupos, en tanto que el efecto bradicardizante fue mayor en las ratas del grupo control. Aunque no se observaron diferencias significativas en la variabilidad de la presión arterial latido-a-latido, la reducción de la variabilidad de la presión arterial a corto plazo inducida por el nebivolol fue significativamente superior en las ratas del grupo fructosa en comparación con los animales normotensos ($-57,9\% \pm 11,8\%$ vs. $-19,6\% \pm 9,2\%$; $p < 0,05$). En conclusión, si bien el nebivolol reduce la presión arterial y la variabilidad de la presión arterial en ambos grupos, no se encontraron diferencias significativas en las ratas con sobrecarga de fructosa en cuanto a la farmacocinética y los efectos cardiovasculares, a excepción de una eficacia bradicardizante menor y una reducción mayor de la variabilidad de la presión arterial a corto plazo.

Palabras clave: Nebivolol - Ratas con sobrecarga de fructosa - Farmacocinética enantioselectiva - Presión arterial - Variabilidad de la presión arterial

ABSTRACT

The cardiovascular and pharmacokinetic effects of nebivolol were evaluated in hypertensive fructose-fed and control rats, analyzing the effect of intravenously administered nebivolol 3 or 10 mg/kg on blood pressure, heart rate, and short-term and beat-to-beat blood pressure variability. The enantioselective pharmacokinetic profile of d- and l-nebivolol enantiomers was evaluated. Short-term and beat-to-beat blood pressure variability was assessed using standard deviation and blood pressure spectral analysis, respectively. The hypertensive state altered the pharmacokinetics of nebivolol, evidenced by reduction of nebivolol clearance in the fructose group compared to the control group after administration of the highest dose. The anti-hypertensive effect of nebivolol was similar in both groups, while the bradycardic effect was greater in control rats. Although no significant differences were found in beat-to-beat blood pressure variability, short-term blood pressure variability showed greater reduction after nebivolol administration in fructose-fed rats compared to control normotensive animals ($-57.9\% \pm 11.8\%$ vs. $-19.6\% \pm 9.2\%$; $p < 0.05$). In conclusion, although nebivolol reduces blood pressure and blood pressure variability in both groups, no significant differences were found in the pharmacokinetics and cardiovascular effects of fructose-fed rats, except for lower bradycardic efficacy and greater reduction in short-term blood pressure variability.

Key words: Nebivolol - Fructose Fed Rats - Enantioselective Pharmacokinetics - Blood Pressure - Blood Pressure Variability

Abreviaturas

AF	Alta frecuencia	NO	Óxido nítrico
BF	Baja frecuencia	PA	Presión arterial
CI	Aclaramiento sistémico	PAM	Presión arterial media
DE	Desviación estándar	V _d ee	Volumen de distribución en estado estacionario
FC	Frecuencia cardíaca	VPA	Variabilidad de la presión arterial
MBF	Muy baja frecuencia		

REV ARGENT CARDIOL 2015;83:101-106. <http://dx.doi.org/10.7775/rac.es.v83.i2.4589>

Recibido: 05/06/2014 - Aceptado: 30/07/2014

Dirección para separatas:

Facundo Martín Bertera - 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: fbertera@ffyb.uba.ar

¹ Los autores contribuyeron por igual en este trabajo.

² Departamento de Farmacología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires

³ Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica

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

INTRODUCCIÓN

El síndrome metabólico es un conjunto de factores de índole metabólica –resistencia a la insulina, obesidad abdominal, hipertensión arterial y anormalidades en el perfil lipídico– que incrementan el riesgo cardiovascular. (1) Sumado a estas alteraciones, en los últimos años se ha descrito que el síndrome metabólico y la diabetes tipo 2 se asocian con alteraciones adversas en la variabilidad de la presión arterial (VPA), un factor de riesgo cardiovascular emergente. (2, 3) Aunque los mecanismos fisiopatológicos en el síndrome metabólico son en gran parte desconocidos, el incremento en la actividad simpática parece cumplir un papel preponderante en el desarrollo de varios componentes, entre ellos la obesidad visceral, el aumento de la presión arterial (PA) y la resistencia a la insulina. (4, 5)

La participación de la sobreactividad simpática en los componentes del síndrome metabólico sugiere que los bloqueantes de receptores betaadrenérgicos serían agentes antihipertensivos efectivos en el control de la hipertensión arterial en pacientes con este trastorno. Sin embargo, la mayoría de los betabloqueantes afectan negativamente la sensibilidad a la insulina, el metabolismo de los carbohidratos y los lípidos, resultando, por lo tanto, no recomendables en pacientes hipertensos con síndrome metabólico. (6) Es importante destacar que los efectos metabólicos adversos no son compartidos por todos los betabloqueantes. El nebivolol, un agente betabloqueante de tercera generación, está exento de efectos perjudiciales sobre el metabolismo de los hidratos de carbono y sobre la sensibilidad a la insulina y puede utilizarse en pacientes con prediabetes. (7)

El objetivo del presente trabajo fue la evaluación integral de la farmacocinética y las propiedades cardiovasculares *in vivo* del nebivolol en ratas con sobrecarga de fructosa, un modelo experimental de síndrome metabólico.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales

Se utilizaron ratas Sprague-Dawley macho (220-250 g). 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). Las ratas fueron divididas aleatoriamente en dos grupos: control (n = 18) con agua para beber durante 6 semanas y fructosa (n = 18) con solución de fructosa (10% p/v) para beber durante 6 semanas. El desarrollo de las alteraciones metabólicas características de la sobrecarga de fructosa se verificó luego de 5 semanas mediante el análisis de triglicéridos y glucemia según se describió en trabajos previos. (8)

Los animales fueron anestesiados con éter para la canulación de la arteria carótida izquierda y la vena femoral izquierda. Las cánulas se internalizan por debajo de la piel saliendo al exterior en la parte posterior del cuello del animal. Los experimentos se realizaron en animales despiertos 24 horas después de la colocación de las cánulas. El día del experimento, la cánula arterial se conectó 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 se almacenaron y analizaron con el *software* Polyview 2.3 (Astro Med, West Warwick, RI, USA). La PA media (PAM) y la frecuencia cardíaca (FC) se monitorizaron durante un intervalo de 60 minutos previo a la administración del fármaco. La PAM se calculó como la suma de la presión diastólica y un tercio de la presión del pulso.

Luego de la determinación del nivel basal de PA, se inyectó por vía intravenosa nebivolol 3 mg/kg (n = 6) o 10 mg/kg (n = 6) o vehículo (n = 6) durante 30 segundos. Después de la administración del nebivolol se realizó el registro continuo de la PA durante 3 horas y se obtuvieron muestras de sangre (100 μ l) en los siguientes puntos de tiempo: 5, 10, 15, 30, 60, 90, 120 y 180 minutos.

La concentración de ambos enantiómeros de nebivolol –d-nebivolol y l-nebivolol– en las muestras plasmáticas obtenidas se cuantificó por un método cromatográfico enantioselectivo descrito previamente. (9)

Estimación de la variabilidad de la presión arterial

En el trabajo se cuantificó el efecto de la administración intravenosa de nebivolol sobre la variabilidad latido-a-latido y la variabilidad a corto plazo. La variabilidad latido-a-latido se evaluó mediante el análisis espectral de períodos de 3 minutos del registro continuo de la PA obtenidos en el período basal y durante tiempos regulares después de la administración de nebivolol. De acuerdo con trabajos previos, (8, 10) el análisis espectral de los datos se realizó con 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) (0,2-0,7 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. (10, 11)

Análisis farmacocinético

El análisis farmacocinético de los enantiómeros se llevó a cabo mediante la aplicación de un modelo bicompartimental con eliminación de primer orden. Utilizando el *software* farmacocinético TOPFIT (versión 2.0, el Dr. Karl Thomae GmbH, Schering AG, Gödecke AG, Alemania), se estimaron los parámetros farmacocinéticos área bajo la curva, aclaramiento sistémico (Cl) y volumen de distribución en estado estacionario (V_{de}). (12)

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 medias \pm error estándar de la media. Los valores basales de los parámetros cardiovasculares en ambos grupos se compararon con la prueba de la *t* de Student. El análisis estadístico de los efectos del nebivolol sobre la PAM, la FC, la desviación estándar (DE) y la relación BF/AF se realizó mediante el análisis de dos vías de la varianza (ANOVA) y la prueba de Bonferroni como prueba *post-hoc*. Los parámetros farmacocinéticos se transformaron logarítmicamente para el análisis estadístico con el fin de reducir la heterogeneidad de la varianza y realizar una posterior comparación con ANOVA de dos vías y la prueba de Bonferroni como prueba *post-hoc*. Las pruebas estadísticas se realizaron utilizando GraphPad Prism versión 5.02 para

Windows (GraphPad Software, San Diego, California, CA). Se definió significación estadística un valor de $p < 0,05$.

RESULTADOS

En comparación con el grupo control ($n = 18$), los animales con sobrecarga de fructosa ($n = 18$) mostraron un incremento significativo de la glucemia ($1,61 \pm 0,02$ vs. $1,32 \pm 0,06$ mg/ml; $p < 0,05$), la trigliceridemia ($1,01 \pm 0,08$ vs. $0,49 \pm 0,05$ mg/ml; $p < 0,05$), la PAM (114 ± 2 vs. 102 ± 2 mm Hg; $p < 0,05$) y la DE de la PAM ($4,00 \pm 0,16$ vs. $3,27 \pm 0,21$; $p < 0,05$). Estos hallazgos concuerdan con los perfiles metabólicos y hemodinámicos previamente comunicados en este modelo experimental de síndrome metabólico. (8, 13) En cambio, no se detectaron diferencias significativas en los valores basales de la FC y los diferentes parámetros de variabilidad latido-a-latido entre ambos grupos experimentales (datos no mostrados).

Los niveles plasmáticos de ambos enantiómeros de nebivolol mostraron una disminución biexponencial compatible con un modelo farmacocinético bicompartimental (Figura 1). El análisis farmacocinético estableció que el nebivolol presenta un perfil farmacocinético lineal enantioselectivo, considerando que el Cl y el V_{dee} del l-nebivolol fueron significativamente mayores en comparación con el d-nebivolol en ambos grupos experimentales (datos no mostrados). La comparación de los parámetros farmacocinéticos entre los modelos experimentales documentó que el Cl de ambos enantiómeros es significativamente menor en el grupo fructosa (l-nebivolol: $127,8 \pm 39,3$ ml/min, $n = 6$; d-nebivolol: $38,3 \pm 13,6$ ml/min, $n = 6$; $p < 0,05$ vs. ratas control) respecto del control (l-nebivolol: $170 \pm 27,2$ ml/min, $n = 6$; d-nebivolol: $64,2 \pm 10,1$ ml/min, $n = 6$) luego de la administración de la dosis más alta.

La evaluación de los efectos hemodinámicos de los tratamientos estableció que el nebivolol racémico, en ambos niveles de dosis, es capaz de reducir la FC, la PAM y la DE de la PAM en ambos modelos experimentales. La inyección de vehículo no indujo efectos cardiovasculares significativos tanto en animales control como en el grupo fructosa. La inyección intravenosa de nebivolol redujo de manera dependiente de la dosis la FC en ambos grupos experimentales. La respuesta cronotrópica generada por el nebivolol 3 mg/kg y 10 mg/kg fue significativamente inferior en las ratas con sobrecarga con fructosa en comparación con el grupo control (Figura 2). La administración intravenosa de nebivolol 3 mg/kg o 10 mg/kg indujo una respuesta hipotensora bifásica en ambos modelos experimentales, caracterizada por un rápido descenso de la PAM seguido de una normalización y de una reducción prolongada del nivel tensional (Figura 3). La respuesta hipotensora del nebivolol, expresada como porcentaje de reducción de la PAM respecto del valor basal, fue similar en el grupo fructosa respecto de las ratas normotensas (véase Figura 3). El nebivolol redujo además la variabilidad a corto plazo, estimada mediante la DE de la PAM,

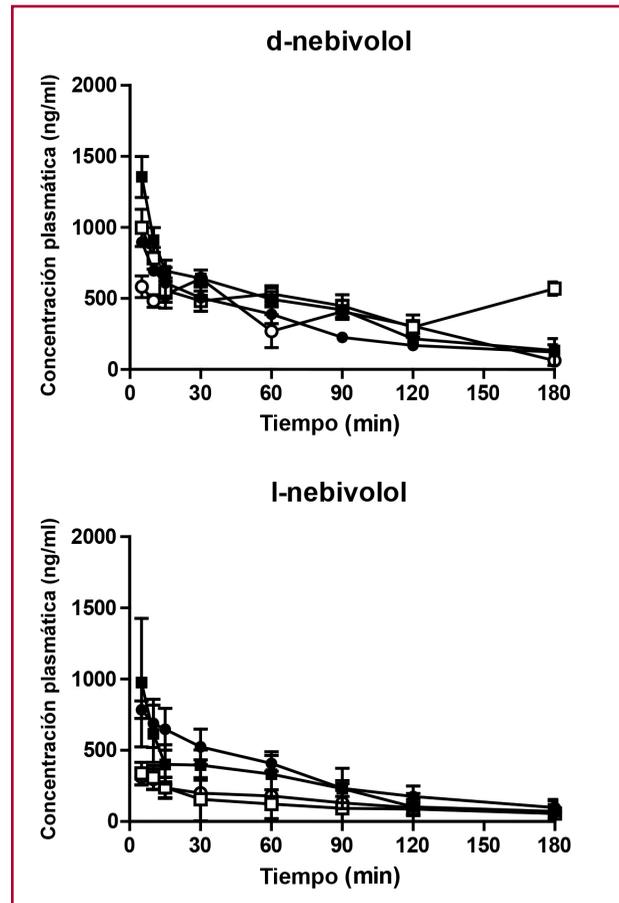


Fig. 1. Concentración plasmática de d-nebivolol y l-nebivolol en función del tiempo en ratas control (círculos) y ratas con sobrecarga de fructosa (cuadrados) luego de la administración de nebivolol 3 mg/kg (símbolos blancos) o 10 mg/kg (símbolos negros). Cada punto muestra la media \pm error estándar de la media de 6 animales.

tanto en ratas normotensas control como en el grupo hipertenso por sobrecarga de fructosa. Incluso el descenso de la DE del registro de la PAM fue significativamente superior en el grupo fructosa que en el grupo control luego de la inyección intravenosa de nebivolol 3 y 10 mg/kg (Figura 4).

El análisis espectral de la VPA latido-a-latido estableció que el nebivolol disminuye la variabilidad en los dominios de la MBF y de la BF en igual medida en las ratas fructosa que en el grupo control (Tabla 1). El cociente BF/AF, marcador de la actividad simpática vascular, se redujo en ambos grupos experimentales sin diferencias significativas entre ellos (véase Tabla 1).

DISCUSIÓN

Los hallazgos del estudio establecen que el modelo de hipertensión experimental por sobrecarga de fructosa modifica las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas enantioselectivas del nebivolol con una reducción en el aclaramiento plasmático de ambos enantiómeros, una disminución de la respuesta bradicardizante y una reducción mayor de la VPA a

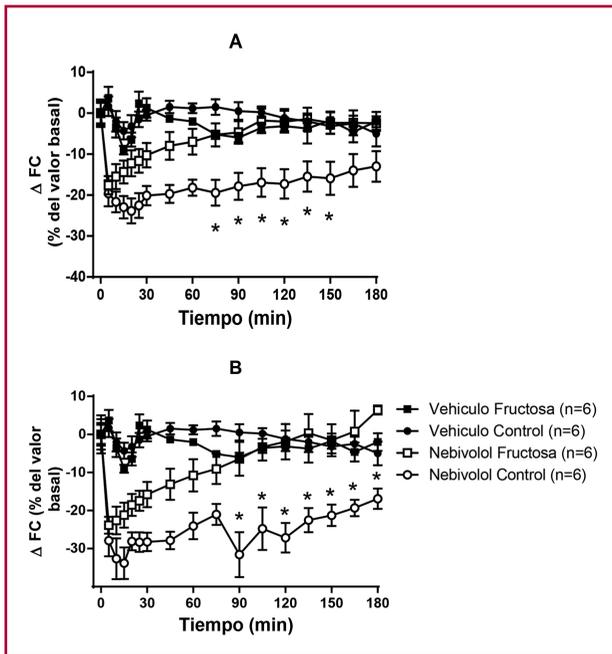


Fig. 2. Evolución temporal de los cambios en la frecuencia cardíaca (ΔFC , % de los valores basales) después de la administración de vehículo (símbolos negros) o nebivolol (símbolos blancos) 3 mg/kg (A) o 10 mg/kg (B) en ratas control (círculos) y en animales tratados con fructosa (cuadrados). Cada punto muestra la media \pm error estándar de la media de 6 ratas. * $p < 0,05$ vs. ratas control.

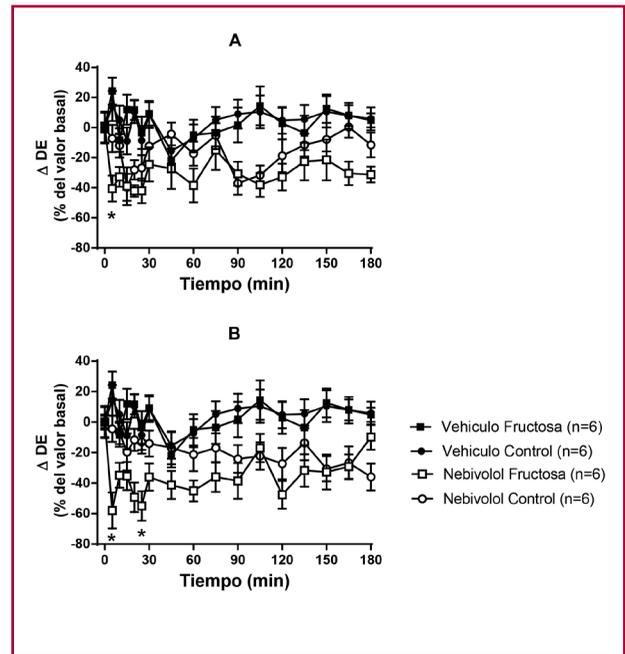


Fig. 4. Evolución temporal de los cambios en la variabilidad de la presión arterial a corto plazo (ΔDE , % de los valores basales) después de la administración de vehículo (símbolos negros) o nebivolol (símbolos blancos) 3 mg/kg (A) o 10 mg/kg (B) en ratas control (círculos) y en animales tratados con fructosa (cuadrados). Cada punto muestra la media \pm error estándar de la media de 6 ratas. * $p < 0,05$ vs. ratas control.

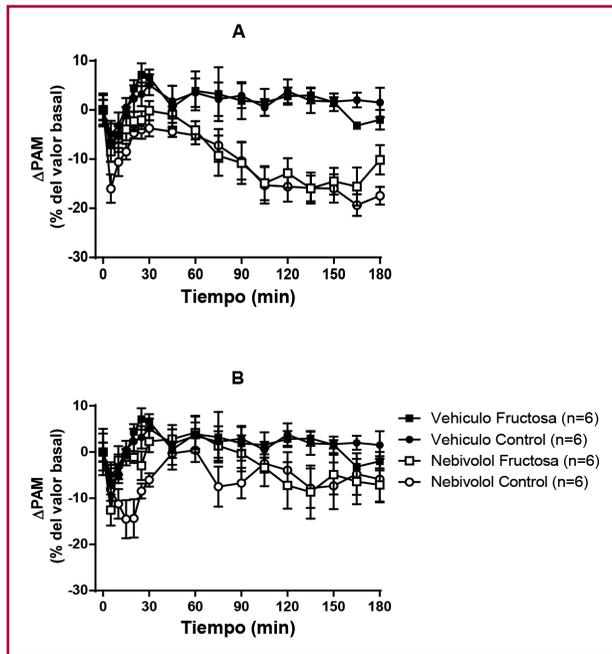


Fig. 3. Evolución temporal de los cambios en la presión arterial media (DPAM, % de los valores basales) después de la administración de vehículo (símbolos negros) o nebivolol (símbolos blancos) 3 mg/kg (A) o 10 mg/kg (B) en ratas control (círculos) y en animales tratados con fructosa (cuadrados). Cada punto muestra la media \pm error estándar de la media de 6 ratas.

corto plazo en comparación con los animales control normotensos. Estudios previos han establecido que el nebivolol muestra propiedades farmacodinámicas

enantioselectivas debido a la gran selectividad del d-nebivolol por el receptor beta₁-adrenérgico y la acción vasodilatadora de ambos enantiómeros. (14, 15) Los mecanismos implicados en la reducción del tono vascular de la droga incluyen la estimulación de la óxido nítrico (NO) sintasa y la inhibición de la disfunción endotelial a través de una acción antioxidante atribuida a la interacción del nebivolol con la membrana. (14, 15) En la evaluación farmacocinética en humanos se ha descrito que el nebivolol es sometido a una alta extracción hepática para ser ampliamente metabolizado por el citocromo P450 2D6 a su metabolito activo hidroxilado. (14) El nebivolol presenta propiedades farmacocinéticas estereoselectivas, teniendo en cuenta que el pico y las concentraciones plasmáticas mínimas de d-nebivolol fueron mayores que los del enantiómero l-nebivolol. (16) El presente trabajo confirmó el perfil farmacocinético enantioselectivo del nebivolol en el modelo de síndrome metabólico evidenciado por un mayor aclaramiento del l-nebivolol en comparación con el enantiómero d. De la comparación de los parámetros farmacocinéticos entre ambos grupos experimentales se desprende que existen diferencias en el aclaramiento, ya que las ratas con sobrecarga de fructosa mostraron un aclaramiento menor que las ratas control para ambas dosis de trabajo. Aunque los mecanismos implicados en este hallazgo no están claros, teniendo en cuenta el hecho de que el aclaramiento del nebivolol depende del flujo sanguíneo hepático, (16) nuestros resultados sugieren una perfusión hepática menor en

Tabla 1. Efecto del nebivolol sobre la variabilidad de la presión arterial latido-a-latido en diferentes dominios de frecuencia expresado como porcentaje del valor basal

	Ratas fructosa		Ratas control	
	Nebivolol 3 mg/kg (n = 6)	Nebivolol 10 mg/kg (n = 6)	Nebivolol 3 mg/kg (n = 6)	Nebivolol 10 mg/kg (n = 6)
MBF	-17,6 ± 8,1	-15,3 ± 6,2	-15,3 ± 5,0	-18,6 ± 7,1
BF	-32,2 ± 7,8	-29,6 ± 5,5	-29,2 ± 6,3	-26,4 ± 5,2
AF	-18,1 ± 8,2	-20,2 ± 6,2	-17,3 ± 7,8	-16,5 ± 6,3
Cociente BF/AF	-12,2 ± 4,6	-17,0 ± 5,6	-7,1 ± 3,9	-30,7 ± 6,0

Los datos expresan la media ± error estándar de la media. MBF: Muy baja frecuencia. BF: Baja frecuencia. AF: Alta frecuencia.

el modelo de síndrome metabólico en comparación con los animales control después de la administración de nebivolol 3 mg/kg y 10 mg/kg. En concordancia con esto, en un estudio previo realizado en nuestro laboratorio hallamos un comportamiento similar al evaluar las características farmacocinéticas del nebivolol en animales espontáneamente hipertensos. (17)

La administración intravenosa de nebivolol indujo una reducción de la PAM independiente de la dosis, sin hallarse diferencias significativas en la magnitud del efecto hipotensor en animales con sobrecarga de fructosa y animales control. De acuerdo con el perfil farmacológico, la acción antihipertensiva del nebivolol dependería tanto de la reducción del gasto cardíaco asociada con el bloqueo selectivo del receptor beta₁-adrenérgico como de la relajación vascular provocada por el aumento de la disponibilidad del NO. Sin embargo, estudios previos han establecido que el nebivolol reduce la resistencia vascular periférica manteniendo el gasto cardíaco en pacientes con hipertensión arterial, lo cual sugiere que la acción vascular predomina por sobre el mecanismo cardíaco en el efecto antihipertensivo de este betabloqueante de tercera generación. (14) La evaluación de los efectos de la administración intravenosa de nebivolol sobre la FC y el análisis espectral de la VPA latido-a-latido confirman la mayor relevancia de las acciones vasculares del nebivolol en la respuesta antihipertensiva en animales control y con sobrecarga de fructosa, dado el hecho de que la reducción de la PA fue similar entre ambos grupos experimentales pese a la menor respuesta bradicardizante en ratas con sobrecarga de fructosa.

La identificación de los componentes de frecuencia de VPA mediante el análisis espectral puede proporcionar información sobre los mecanismos involucrados en la regulación de la PA. (18) Así, la cuantificación de la variabilidad en el dominio de MBF, BF y la estimación del cociente BF/AF permiten cuantificar de manera indirecta la modulación de la PA por el NO derivado del endotelio y la actividad simpática vascular, respectivamente. (18) La administración de nebivolol indujo una reducción similar de la VPA en el rango MBF y BF y del cociente BF/AF en ratas con sobrecarga de fructosa en comparación con el grupo control. Estos hallazgos sugieren que la eficacia del nebivolol en términos del aumento del NO derivado del endotelio y de reducción de la actividad simpática vascular es similar en los

animales hipertensos con sobrecarga de fructosa que en las ratas normotensas, lo cual explica la ausencia de diferencias significativas en la reducción de la PAM.

Finalmente, en el trabajo evaluamos el efecto de la administración de una dosis única de nebivolol sobre la VPA a corto plazo. La administración de nebivolol redujo la DE del registro de la PA en ambos grupos experimentales, aunque la disminución fue significativamente superior en animales con sobrecarga de fructosa en comparación con el grupo normotenso. La reducción en la VPA a corto plazo inducida por el nebivolol no está relacionada con su acción hipotensora, teniendo en cuenta que la administración de ambas dosis produce la misma caída de PA pero difiere en la magnitud de reducción de la VPA en este modelo de síndrome metabólico.

CONCLUSIONES

El bloqueante betaadrenérgico de tercera generación nebivolol reduce de manera significativa la PAM y la VPA a corto plazo en ratas con sobrecarga de fructosa. Considerando que la prediabetes se asocia con aumento de la PAM, así como de las fluctuaciones de esta, los hallazgos de este estudio sugieren que el nebivolol sería una opción terapéutica capaz de atenuar ambos factores de riesgo cardiovascular en la población con síndrome metabólico.

Declaración de conflicto de intereses

Los autores declaran que no poseen conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome—a new worldwide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med* 2006;23:469-80. <http://doi.org/ckn4w9>
2. Gupta AK, Greenway FL, Cornelissen G, Pan W, Halberg F. Prediabetes is associated with abnormal circadian blood pressure variability. *J Hum Hypertens* 2008;22:627-33. <http://doi.org/bg89rm>
3. Kumarasamy S, Gopalakrishnan K, Kim DH, Abraham NG, Johnson WD, Joe B, Gupta AK. Dysglycemia induces abnormal circadian blood pressure variability. *Cardiovasc Diabetol* 2011;10:104. <http://doi.org/bg89rm>
4. Grassi G, Dell'Oro R, Facchini A, Quarti Trevano F, Bolla GB, Mancia G. Effect of central and peripheral body fat distribution on sympathetic and baroreflex function in obese normotensives. *J Hypertens* 2004;22:2363-9. <http://doi.org/b28gcf>
5. Grassi G, Seravalle G. Autonomic imbalance and metabolic syndro-

me: unravelling interactions, mechanisms and outcomes. *J Hypertens* 2006;24:47-9. <http://doi.org/cbdsr7>

6. Carella AM, Antonucci G, Conte M, Di Pumpo M, Giancola A, Antonucci E. Antihypertensive treatment with betablockers in the metabolic syndrome: a review. *Curr Diabetes Rev* 2010;6:215-21. <http://doi.org/bgmp4f>

7. Deedwania P, Shea J, Chen W, Brenner L. Effects of add-on nebivolol on blood pressure and glucose parameters in hypertensive patients with prediabetes. *J Clin Hypertens* 2013;15:270-8. <http://doi.org/wp4>

8. Bertera F, Di Verniero CA, Mayer MA, Chiappetta D, Buontempo F, Polizio AH, Taira CA, Höcht C. Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of carvedilol in fructose hypertensive rats. *Xenobiotica* 2012;42:206-19. <http://doi.org/ftjhvq>

9. Bertera FM, Del Mauro JS, Lovera V, Chiappetta D, Polizio AH, Taira CA, Höcht C. Enantioselective pharmacokinetics and cardiovascular effects of nebivolol in L-NAME hypertensive rats. *Hypertens Res* 2014;37:194-201. <http://doi.org/wp5>

10. 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>

11. Souza HC, Martins-Pinge MC, Dias da Silva VJ, Borghi-Silva A, Gastaldi AC, Blanco JH, Tezini GC. Heart rate and arterial pressure variability in the experimental renovascular hypertension model in rats. *Auton Neurosci* 2008;139:38-45. <http://doi.org/b3vk22>

12. Gibaldi M, Perrier D. *Pharmacokinetics*. 2nd ed. New York: Marcel Dekker; 1982.

13. Hsieh PS. Reversal of fructose-induced hypertension and insulin resistance by chronic losartan treatment is independent of AT2 receptor activation in rats. *J Hypertens* 2005;23:2209-17. <http://doi.org/dn79hq>

14. Gao Y, Vanhoutte PM. Nebivolol: An endothelium-friendly selective b1-adrenoceptor blocker. *J Cardiovasc Pharmacol* 2012;59:16-21. <http://doi.org/c47dz9>

15. Mason RP, Giles TD, Sowers JR. Evolving mechanisms of action of beta blockers: focus on nebivolol. *J Cardiovasc Pharmacol* 2009;54:123-8. <http://doi.org/b3x5ws>

16. Höcht C, Bertera FM, Mayer MA, Taira CA. Issues in drug metabolism of major antihypertensive drugs: beta-blockers, calcium channel antagonists and angiotensin receptor blockers. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2010;6:199-211. <http://doi.org/c95wdg>

17. Bertera FM, Del Mauro JS, Polizio AH, Chiappetta D, Taira CA, Höcht C. Effect of nebivolol on beat-to-beat and short-term blood pressure variability in spontaneously hypertensive rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2012;385:833-43. <http://doi.org/wp6>

18. Stauss HM. Identification of blood pressure control mechanisms by power spectral analysis. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2007;34:362-8. <http://doi.org/dt2mjn>