

Efecto de la administración de atenolol o nebivolol sobre la variabilidad de la presión arterial y su impacto sobre el daño de órgano blanco en ratas espontáneamente hipertensas

Effect of Atenolol or Nebivolol Administration on Blood Pressure Variability and its Impact on White Organ Damage in Spontaneously Hypertensive Rats

JULIETA S. DEL MAURO¹, PAULA D. PRINCE², NAHUEL FERNÁNDEZ MACHULSKY³, MARCELA A. MORETTON⁴, MARTÍN DONATO⁵, GERMÁN E. GONZÁLEZ⁵, CELINA MORALES^{MTSAC, 5}, RICARDO J. GELPI^{MTSAC, 5}, CARLOS A. TAIRA^{1, 6}, CHRISTIAN HÖCHT^{1, 6}

RESUMEN

Introducción: Tradicionalmente se ha considerado que el riesgo cardiovascular asociado con la hipertensión es producto de la elevación sostenida de la presión arterial, que lleva al daño de órgano blanco. En los últimos años se ha descripto que otros factores, como la variabilidad de la presión arterial y la presión arterial central, también afectan directamente el daño de órgano blanco.

Objetivo: Determinar los efectos de la administración crónica de atenolol o nebivolol sobre la variabilidad de la presión arterial a corto plazo y el daño de órgano blanco a nivel del ventrículo izquierdo y de la aorta.

Material y métodos: Se incluyeron ratas espontáneamente hipertensas (REH) que fueron tratadas durante 8 semanas con una única administración diaria de atenolol, nebivolol o vehículo. Se determinaron la presión arterial y su variabilidad a corto plazo y se realizó ecocardiografía. Se extrajeron el ventrículo izquierdo y la aorta torácica para cuantificar la expresión del factor de crecimiento transformante β y realizar estudios histológicos.

Resultados: El tratamiento crónico con nebivolol redujo la presión arterial media (PAM) y su variabilidad en mayor medida que el atenolol (PAM WKY: $118,6 \pm 8,0$ mm Hg; REH: $174,6 \pm 2,1^a$ mm Hg; REH-atenolol: $155,2 \pm 2,1^{a, b}$ mm Hg; REH-nebivolol: $122,3 \pm 2,3^{b, c}$ mm Hg; desviación estándar de la PAM WKY: $3,8 \pm 0,2$ mm Hg; REH: $6,2 \pm 0,3^a$ mm Hg; REH-atenolol: $5,2 \pm 0,3^{a, b}$ mm Hg; REH-nebivolol: $4,2 \pm 0,2^{b, c}$ mm Hg; ^ap < 0,05 vs. ratas WKY; ^bp < 0,05 vs. REH; ^cp < 0,05 vs. REH-atenolol).

Conclusiones: El análisis del daño de órgano blanco establece que el nebivolol reduce el contenido de fibrosis ventricular, disminuye el espesor de la media aórtica e induce una mayor reducción de la sobreexpresión del factor de crecimiento transformante β en ambos órganos en comparación con REH tratadas con vehículo o atenolol. Estos hallazgos sugieren que la mayor reducción de la presión arterial central, junto con la disminución de la labilidad de la presión arterial, contribuiría en la superior protección del daño de órgano blanco por el nebivolol respecto del atenolol.

Palabras clave: Nebivolol - Atenolol - Presión arterial - Ratas

ABSTRACT

Background: Hypertension-related cardiovascular risk has been traditionally considered the result of sustained blood pressure elevation, leading to target organ injury. In recent years, other factors have been described, such as blood pressure and central blood pressure variability, also directly affecting target organ injury.

Objective: The aim of this study was to assess the effects of chronic atenolol or nebivolol administration on short-term blood pressure variability and target organ injury at the left ventricular and aortic level.

Method: Spontaneously hypertensive rats (SHR) were treated for 8 weeks with a single daily dose of atenolol, nebivolol or vehicle. Blood pressure and its short-term variability were measured and echocardiography was performed. The left ventricle and thoracic aorta were removed to quantify the expression of transforming growth factor β and to perform histological studies.

REV ARGENT CARDIOL 2017;85:84-89. <http://dx.doi.org/107775/rac.es.v85.i2.10197>

Recibido: 25/01/2017 - Aceptado: 02/03/2017

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: julietadelmauro@gmail.com

MTSAC Miembro Titular de la Sociedad Argentina de Cardiología

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

² Cátedra de Físicoquímica, Instituto de Bioquímica y Medicina Molecular (IBIMOL), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina

³ Laboratorio de Lípidos y Aterosclerosis, Departamento de Bioquímica Clínica, INFIBIOC, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina

⁴ Departamento de Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires - CONICET. Buenos Aires, Argentina

⁵ Instituto de Fisiopatología Cardiovascular (INFICA), Departamento de Patología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires - CONICET. Buenos Aires, Argentina

⁶ Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina

Results: Chronic treatment with nebivolol reduced mean arterial pressure (MAP) and its variability to a greater extent than atenolol (MAP: WKY: 118.6 ± 8.0 mmHg, SHR: 174.6 ± 2.1^a mmHg; SHR-atenolol: $155.2 \pm 2.1^{a,b}$ mmHg, SHR-nebivolol: $122.3 \pm 2.3^{b,c}$ mmHg, MAP variability: WKY: 3.8 ± 0.2 mmHg; SHR: 6.2 ± 0.3^a mmHg; SHR-atenolol: $5.2 \pm 0.3^{a,b}$ mmHg; SHR-nebivolol: $4.2 \pm 0.2^{b,c}$ mmHg; ^a $p < 0.05$ vs. WKY rats; ^b $p < 0.05$ vs. SHR; ^c $p < 0.05$ vs. SHR-atenolol).

Conclusions: The analysis of target organ injury showed that nebivolol reduced the content of ventricular fibrosis, decreased aortic media thickness and induced greater reduction of transforming growth factor β overexpression in both organs compared to SHR treated with vehicle or atenolol. These findings suggest that a greater reduction in central blood pressure, together with a decrease in blood pressure variability, would contribute to the better protection of target organ injury with nebivolol than with atenolol.

Key words: Nebivolol - Atenolol - Blood Pressure - Rats

Abreviaturas

AT	Aorta torácica	REH	Ratas espontáneamente hipertensas
DE	Desviación estándar	TGF- β	Factor de crecimiento transformante beta
FCI	Fracción de colágeno intersticial	VI	Ventrículo izquierdo
PA	Presión arterial	VPA	Variabilidad de la presión arterial
PAM	Presión arterial media	WKY	Wistar Kyoto
PAS	Presión arterial sistólica		

INTRODUCCIÓN

Tradicionalmente se ha considerado que el riesgo cardiovascular asociado con la hipertensión es producto de la elevación sostenida de la presión arterial (PA) que lleva al daño del órgano blanco. En los últimos años se ha descrito que otros factores, como la variabilidad de la presión arterial (VPA) y la PA central también afectan directamente el daño de órgano blanco. (1-6) Distintos estudios clínicos han establecido que el incremento en la VPA durante 24 horas, día a día y entre visitas médicas, se asocia con mayor riesgo de eventos cardiovasculares. (7) Hoy en día se postula que la reducción de la VPA puede ser considerada como una posible nueva meta terapéutica en el tratamiento de la hipertensión arterial, razón por la cual los fármacos antihipertensivos no solo deben ser capaces de disminuir la PA, sino también de controlar su variabilidad. (7)

La PA central representa la presión directa ejercida sobre el cerebro, el corazón y los riñones y ha demostrado mayor correlación con el daño de órgano blanco y la incidencia de eventos cardiovasculares en comparación con la PA braquial. (3, 4) Un análisis retrospectivo evidenció que la terapia con atenolol, si bien reduce la PA braquial, es capaz de elevar la PA central generando una falsa sensación de control de la hipertensión y del riesgo cardiovascular. (8, 9)

Los β -bloqueantes han dejado de ser recomendados 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. (8) La menor cardioprotección aportada por los β -bloqueantes frente a otros agentes antihipertensivos de primera línea se ha atribuido a su efecto limitado sobre la PA central y la VPA. (8, 10) Sin embargo, la evidencia clínica que asocia el uso de β -bloqueantes con la menor protección del paciente hipertenso se basa en gran medida en estudios clínicos que evaluaron el atenolol, un β -bloqueante

con relativamente baja cardioselectividad y sin acción vasodilatadora. (7, 8)

En las últimas décadas se han desarrollado β -bloqueantes 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 un perfil metabólico neutral. (8, 11) Sin embargo, la superioridad de los β -bloqueantes de tercera generación por sobre el atenolol en términos de reducción de la VPA y protección de daño de órgano blanco no fue evaluada previamente en estudios clínicos.

Considerando estos antecedentes, el objetivo del presente trabajo fue estudiar los efectos de la administración oral crónica de atenolol o nebivolol sobre la VPA de corto plazo y evaluar su acción sobre marcadores de daño de órgano blanco a nivel del ventrículo izquierdo (VI) y de la aorta torácica (AT).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se emplearon ratas macho espontáneamente hipertensas (REH) (200-220 g), que fueron tratadas durante 8 semanas con nebivolol 30 mg/kg/día ($n = 6$), atenolol 90 mg/kg/día ($n = 6$) o vehículo ($n = 6$), diariamente por vía oral mediante el uso de trocar. Un cuarto grupo de ratas WKY tratado con vehículo fue empleado como control. Durante las últimas 2 semanas de tratamiento se evaluó la presión arterial sistólica (PAS) mediante el método indirecto de *tail-cuff*, estimándose la PAS promedio, la variación intradía y la fluctuación interdía. (12)

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 ketamina/xilazina. Cumplidos los 2 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) y a un convertidor digital (Polyview, PVA 1, Grass-Astro Med, West Warwick, RI USA). Se obtuvieron registros de la PA durante 2 horas, que fueron analizados con

el software Polyview 2.3 (Astro-Med, West Warwick, RI, USA) estimándose la PA media (PAM), que por su sitio de toma representa la PA central, y la VPA a corto plazo en registros de 3 minutos. (13)

Finalizada la determinación de los parámetros hemodinámicos, los animales fueron sacrificados con guillotina extra-yéndose la AT y el VI para la evaluación del daño de órgano blanco. Como marcador morfológico del daño de órgano blanco a nivel cardíaco se evaluó la relación entre el peso del VI y el peso corporal utilizando una balanza de precisión. (14) Se realizó la evaluación histopatológica del VI y de la AT sobre secciones transversales de tejido de 5 µm de espesor. Las aortas se tiñeron con hematoxilina-eosina, mientras que en los VI se utilizó la tinción Sirius Red, con la cual las fibras de colágeno se tiñen de color rosado. Se tomaron fotografías microscópicas de las secciones empleando un microscopio (Olympus CX31microscope, Japan) acoplado a una cámara digital (U-CMA D3 Olympus, Japan). A nivel ventricular se determinó la fracción de colágeno intersticial (FCI), mientras que a nivel aórtico se evaluó el espesor de la media aórtica y la relación espesor de la media/diámetro de la luz con un software analizador de imágenes (Image Pro-Plus 3.0; Media Cybernetics, Silver Spring, MD, USA para VI y ImageJ 1.49 V Wayne Rasband, National Institute of Health, USA para aortas). (15, 16) Finalmente, como marcador bioquímico del daño de órgano blanco se determinó la expresión del factor de crecimiento transformante beta (TGF-β) en homogenatos de VI y de AT mediante la técnica de Western blot. Los homogenatos (20 µg) se corrieron en gel de poli-acrilamida con SDS (12%). La transferencia se realizó sobre membranas de PVDF y luego del bloqueo se incubaron *overnight* con Mouse anti-TGF-β (PM: 13 kDa) y Rabbit anti-GAPDH (PM: 37 kDa) como control de carga. Las proteínas se detectaron por quimioluminiscencia con el empleo de una película fotográfica y luego se cuantificaron con el programa ImageJ. (17)

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 ± error estándar de la media. La comparación estadística entre los grupos de tratamiento

se realizó mediante ANOVA de una vía y la aplicación del método de Tukey como prueba *a posteriori* utilizando GraphPad Prism versión 6.0 (GraphPad Software, San Diego, California, USA). Se definió significación estadística un valor de $p < 0,05$.

Consideraciones éticas

Los experimentos con animales se realizaron de acuerdo con los "Principios de cuidado de los animales de laboratorio" (publicación de NIH No. 85-3, Revisión de 1985) y fueron aprobados por el Comité de Ética de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires (EXP-UBA N° 0062949/2015).

RESULTADOS

El tratamiento crónico con nebivolol, si bien no reduce significativamente la PAS, disminuye su fluctuación intradía e interdía en comparación con los animales hipertensos tratados con vehículo o atenolol (Tabla 1). La evaluación de la PA central demostró que el nebivolol produce una reducción de la PAM y su variabilidad de corto plazo en mayor medida que el atenolol, restableciendo los valores del grupo control normotenso (véase Tabla 1).

Hallazgos ecocardiográficos revelaron un incremento significativo del diámetro de la pared posterior durante la diástole en REH en comparación con animales normotensos, el cual fue reducido en mayor medida por el nebivolol respecto del atenolol (-29% vs. -8%; $p < 0,05$). La administración crónica de nebivolol reduce el índice de masa ventricular izquierda expresado como la relación peso del VI/peso corporal (véase Tabla 1). La evaluación histopatológica estableció la existencia de un incremento del depósito de colágeno intersticial en el VI de las REH en relación con los animales normotensos, evidenciado por un incremento del 62% de la FCI. Si bien atenolol redujo parcialmente

Parámetro hemodinámico	WKY (n = 6)	REH (n = 6)	REH Atenolol (n = 6)	REH Nebivolol (n = 6)
Presión indirecta (tail-cuff)				
PAS, mm Hg	134 ± 2	184 ± 6 ^a	169 ± 2 ^{a,b}	170 ± 4 ^a
DE intradía, mm Hg	3,38 ± 0,52	9,21 ± 0,59 ^a	6,42 ± 0,35 ^{a,b}	3,76 ± 0,40 ^{b,c}
DE interdía, mm Hg	3,04 ± 0,75	10,42 ± 0,80 ^a	13,90 ± 2,08 ^a	7,30 ± 0,84 ^{b,c}
Presión central en la arteria carótida				
PAM, mm Hg	118,6 ± 8,0	174,6 ± 2,1 ^a	155,2 ± 2,1 ^{a,b}	122,3 ± 2,3 ^{b,c}
DE, mm Hg	3,8 ± 0,2	6,2 ± 0,3 ^a	5,2 ± 0,3 ^{a,b}	4,2 ± 0,2 ^{b,c}
Ecocardiografía				
Diámetro de la pared posterior en diástole, mm	1,31 ± 0,08	2,40 ± 0,03 ^a	2,20 ± 0,01 ^a	1,70 ± 0,04 ^{a,b}
Índice de masa ventricular izquierda, mg/g	2,17 ± 0,10	3,51 ± 0,18 ^a	3,52 ± 0,02 ^a	2,98 ± 0,06 ^{a,b,c}

Los datos indican la media ± error estándar de la media. ^a $p < 0,05$ vs. WKY, ^b $p < 0,05$ vs. REH, ^c $p < 0,05$ vs. REH Atenolol. WKY: Wistar Kyoto. REH: Ratas espontáneamente hipertensas. PAS: Presión arterial sistólica. DE: Desviación estándar. PAM: Presión arterial media.

Tabla 1. Parámetros hemodinámicos de ratas WKY y REH tratadas en forma crónica con atenolol, nebivolol o vehículo

el contenido de colágeno intersticial, el nebivolol revertió completamente esta alteración de la estructura cardíaca, reduciendo el contenido de fibrosis en el VI de REH. El análisis de los cortes histológicos de AT mostró un incremento tanto en el espesor de la media aórtica como en la relación espesor de la media aórtica/diámetro de la luz en REH en relación con animales WKY. Ambos parámetros de morfometría se redujeron únicamente luego del tratamiento crónico con nebivolol (Tabla 2). Finalmente, la evaluación bioquímica de daño de órgano blanco evidenció que el nebivolol induce una mayor reducción de la sobreexpresión de TGF- β en comparación con el atenolol, tanto a nivel ventricular como aórtico (Figura 1 A).

DISCUSIÓN

En el presente estudio, el tratamiento crónico oral con el β -bloqueante vasodilatador de tercera generación nebivolol atenúa marcadamente la VPA de corto plazo en el modelo de REH. El análisis de los resultados de la medición directa e indirecta de la PA establece que el nebivolol en una dosis diaria de 30 mg/kg es capaz de reducir de manera significativa la DE del registro de PA, un reconocido parámetro de la variabilidad de corto plazo. A nivel indirecto, el nebivolol, aunque no genera una reducción de la PAS, disminuye los parámetros de fluctuación de la PA tanto a corto plazo como a mediano plazo. La diferente eficacia que presentan algunos fármacos en términos de disminución de la PA central en comparación con la PA periférica podría ser una de las causas por las cuales agentes que producen reducciones similares en la presión arterial periférica no alcanzan igual protección frente a eventos adversos cardiovasculares. (13) El nebivolol es capaz de reducir la PA central y su variabilidad de manera superior al atenolol, sugiriendo que los β -bloqueantes vasodilatadores brindan un beneficio hemodinámico mayor en comparación con β -bloqueantes de segunda generación.

En la actualidad, el efecto del nebivolol sobre la VPA se ha reportado escasamente en estudios preclínicos. En trabajos previos hemos demostrado que la admi-

nistración aguda por vía intravenosa de nebivolol en REH, hipertensas por L-NAME y normotensas pero con aumento de la fluctuación de la PA mediante la técnica de desnervación sinoaórtica reduce sustancialmente la VPA de corto plazo. (13, 18, 19) A nivel clínico, Gapon y colaboradores han hallado que, aunque tanto el atenolol como el nebivolol exhiben propiedades antihipertensivas similares, el tratamiento con nebivolol previene en mayor medida que el atenolol el incremento matutino de la PA y de su variabilidad a lo largo de 24 horas en pacientes con hipertensión de segundo grado. (20)

Un segundo objetivo del presente trabajo fue comparar el efecto del tratamiento crónico con nebivolol o atenolol sobre el daño de órgano blanco a nivel del VI y de la AT en REH a partir de determinaciones morfológicas, ecocardiográficas, histológicas y bioquímicas. Únicamente el β -bloqueante de tercera generación fue capaz de disminuir la sobreexpresión del TGF- β , una citoquina involucrada en procesos fibróticos que participa en la remodelación cardíaca y vascular durante la hipertensión arterial. (21, 22) En concordancia, el tratamiento antihipertensivo crónico con nebivolol fue capaz de proteger frente a la remodelación ventricular y aórtica propia de la patología hipertensiva. En este contexto, el nebivolol redujo el contenido de colágeno intersticial, el índice de hipertrofia ventricular y el espesor de la pared posterior durante la diástole en comparación con los animales hipertensos tratados con vehículo o atenolol. Recientemente, Varagic J y colaboradores revelaron que el nebivolol atenúa la remodelación y la disfunción cardíaca en REH sensibles a la sal a través de un efecto independiente de su acción antihipertensiva. (23) A nivel vascular, el tratamiento crónico con nebivolol fue capaz de revertir la remodelación aórtica, lo cual se evidenció por una reducción del espesor de la capa media y de la relación espesor de la media/diámetro de la luz. Estos resultados concuerdan con hallazgos de Guerrero y colaboradores, que demuestran que el tratamiento crónico con nebivolol reduce el contenido de fibrosis y mejora la estructura vascular. (24)

Tabla 2. Resultados histológicos del ventrículo izquierdo y la aorta torácica de ratas WKY y REH tratadas en forma crónica con atenolol, nebivolol o vehículo

	WKY (n = 6)	REH (n = 6)	REH Atenolol (n = 6)	REH Nebivolol (n = 6)
Ventrículo izquierdo (Sirius Red)				
FCI, %	3,41 \pm 0,11	5,53 \pm 0,17 ^a	4,50 \pm 0,13 ^{a,b}	3,14 \pm 0,34 ^{b,c}
Aorta torácica (HE)				
Espesor de la media aórtica, μ m	103,0 \pm 4,9	151,2 \pm 3,0 ^a	145,4 \pm 2,1 ^a	106,2 \pm 2,1 ^{b,c}
Espesor de la media aórtica/diámetro de la luz, μ m/mm	58,6 \pm 3,5	91,6 \pm 2,7 ^a	94,3 \pm 2,2 ^a	74,2 \pm 3,6 ^{a,b,c}

Los datos indican la media \pm error estándar de la media. ^ap < 0,05 vs. WKY, ^bp < 0,05 vs. REH, ^cp < 0,05 vs. REH Atenolol. WKY: Wistar Kyoto. REH: Ratas espontáneamente hipertensas. FCI: Fracción de colágeno intersticial. HE: Hematoxilina-eosina.

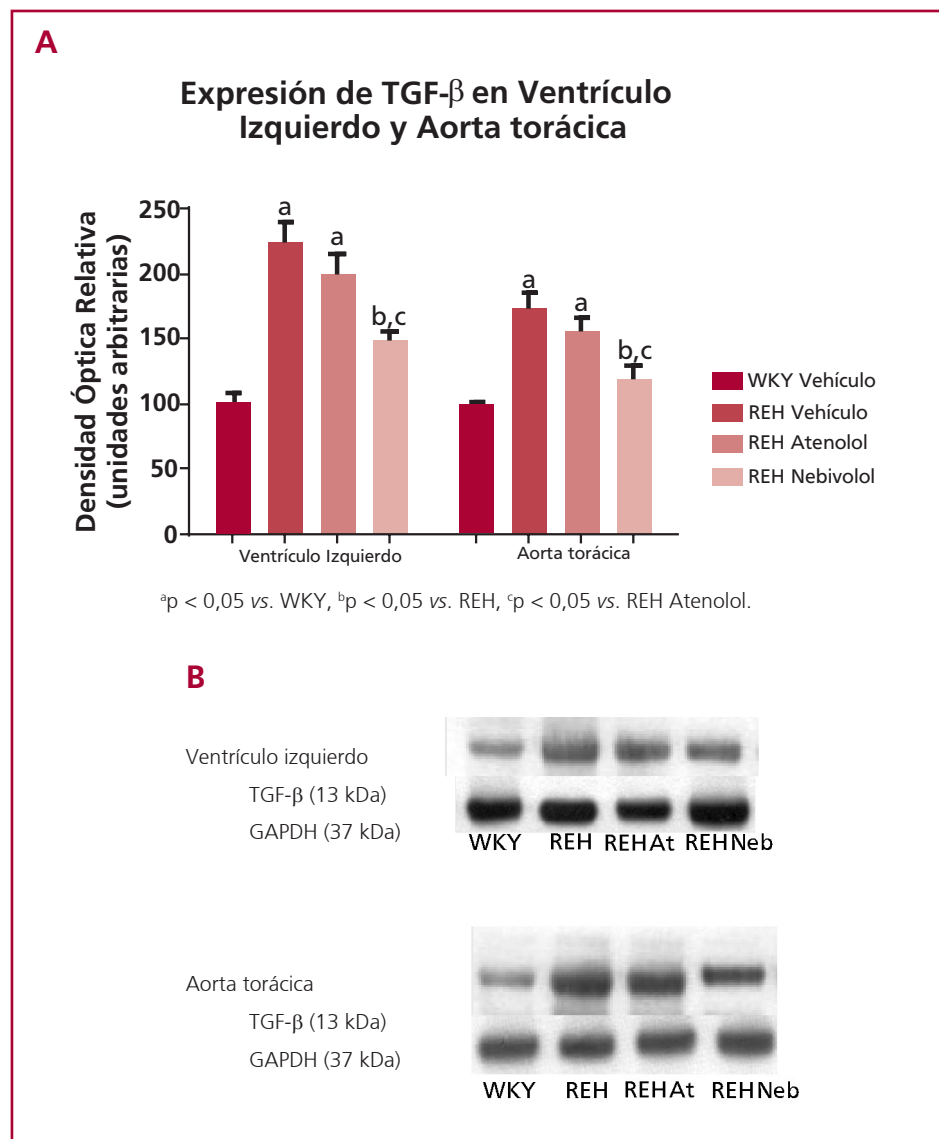


Fig. 1. Expresión del factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) (A) y sus imágenes representativas (B) de los revelados por Western blot en el ventrículo izquierdo y la aorta torácica de ratas Wistar Kyoto (WKY) y ratas espontáneamente hipertensas (REH) tratadas en forma crónica con atenolol, nebivolol o vehículo. Los datos se expresan como densidad óptica relativa a los animales WKY controles. At: Atenolol. Neb: Nebivolol. GAPDH: Glicer aldehído-3-fosfato deshidrogenasa.

CONCLUSIONES

En síntesis, la administración crónica de nebivolol presenta efectos hemodinámicos superiores al atenolol, evidenciados por una mayor reducción de la PA central y de la VPA de corto plazo. El nebivolol es capaz de atenuar el daño ventricular y vascular asociado con la hipertensión arterial experimental en mayor medida que el atenolol. Estos resultados sugieren que la menor protección cardiovascular del atenolol en comparación con otros agentes antihipertensivos observada en ensayos clínicos no debería extrapolarse a β -bloqueantes de tercera generación como el nebivolol.

Agradecimientos

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

Declaración de conflicto de intereses

Los autores declaran que no poseen conflicto de intereses.

(Véanse formularios de conflicto de intereses de los autores en la web/ Material suplementario).

BIBLIOGRAFÍA

1. Parati G, Liu X, Ochoa JE. Clinical relevance of visit-to-visit blood pressure variability: impact on renal outcomes. *J Hum Hypertens* 2014;28:403-9. <http://doi.org/f579cm>
2. Höcht C, Del Mauro JS, Bertera FM, Taira CA. Drugs affecting blood pressure variability: an update. *Curr Pharm Des* 2015;21:744-55. <http://doi.org/97v>
3. Roman MJ, Devereux RB. Association of central and peripheral blood pressures with intermediate cardiovascular phenotypes. *Hypertension* 2014;63:1148-53. <http://doi.org/b63j>
4. Trudeau L. Central blood pressure as an index of antihypertensive control: determinants and potential value. *Can J Cardiol* 2014;30(5 Suppl):S23-8. <http://doi.org/f5x667>

5. 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>
6. Parati G. Blood pressure variability: its measurement and significance in hypertension. *J Hypertens Suppl* 2005;23:S19-25. <http://doi.org/frsbsj>
7. Höcht C. Blood pressure variability: prognostic value and therapeutic implications. *ISRN Hypertension* 2013;ID 398485.
8. 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>
9. DiNicolantonio JJ, Hackam DG. Carvedilol: a third-generation β -blocker should be a first-choice β -blocker. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2012;10:13-25. <http://doi.org/c45trg>
10. 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>
11. Dhakam Z, Yasmin, McEniery CM, Burton T, Brown MJ, Wilkinson IB. A comparison of atenolol and nebivolol in isolated systolic hypertension. *J Hypertens* 2008;26:351-6. <http://doi.org/c9jn53>
12. Kurtz TW, Griffin KA, Bidani AK, Davissou RL, Hall JE; Subcommittee of Professional and Public Education of the American Heart Association. Recommendations for blood pressure measurement in humans and experimental animals. Part 2: Blood pressure measurement in experimental animals: a statement for professionals from the subcommittee of professional and public education of the American Heart Association council on high blood pressure research. *Hypertension* 2005;45:299-310. <http://doi.org/d6m94h>
13. Bertera FM, Del Mauro JS, Lovera V, Chiappetta D, Polizio AH, Taira CA, et al. 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>
14. 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>
15. González GE, Cassaglia P, Noli Truant S, Fernández MM, Wilensky L, Volberg V, et al. Galectin-3 is essential for early wound healing and ventricular remodeling after myocardial infarction in mice. *Int J Cardiol* 2014;176:1423-5. <http://doi.org/b63k>
16. Xiong X, You C, Feng QC, Yin T, Chen ZB, Ball P, et al. Pulse with modulation electro-acupuncture on cardiovascular remodeling and plasma nitric oxide in spontaneously hypertensive rats. *Evid Based Complement Alternat Med* 2011;2011:812160. doi:10.1093/ecam/nej06
17. 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.
18. Bertera FM, Del Mauro JS, Lovera V, Chiappetta D, Polizio AH, Taira CA, et al. Enantioselective pharmacokinetics and cardiovascular effects of nebivolol in L-NAME hypertensive rats. *Hypertens Res* 2014;37:194-201. <http://doi.org/wp5>
19. 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 Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2012;385:833-43. <http://doi.org/wp6>
20. Gapon L, Prilepova AA, Tsygol'nik MD. Effect of nebivolol on parameters of cerebral haemodynamics and 24-hour blood pressure profile in patients with arterial hypertension. *Kardiologiya* 2005;45:18-22.
21. Sun L, Jin H, Sun L, Chen S, Huang Y, Liu J, et al. Hydrogen sulfide alleviates myocardial collagen remodeling in association with inhibition of TGF- β /Smad signaling pathway in spontaneously hypertensive rats. *Mol Med* 2015;20:503-15.
22. Shang P, Liu W, Liu T, Zhang Y, Mu F, Zhu Z, et al. Acetyl-11-keto- β -boswellic acid attenuates prooxidant and profibrotic mechanisms involving transforming growth factor- β 1, and improves vascular remodeling in spontaneously hypertensive rats. *Sci Rep* 2016;6:39809. <http://doi.org/f9j35v>
23. Varagic J, Ahmad S, Vonnannon JL, Moniwa N, Simington SW Jr, Brosnihan BK, et al. Nebivolol reduces cardiac angiotensin II, associated oxidative stress and fibrosis but not arterial pressure in salt-loaded spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 2012;30:1766-74.
24. Guerrero EI, Ardanaz N, Sevilla MA, Arévalo MA, Montero MJ. Cardiovascular effects of nebivolol in spontaneously hypertensive rats persist after treatment withdrawal. *J Hypertens* 2006;24:151-8. <http://doi.org/djtxg>