

Ipertensione polmonare secondaria ad insufficienza mitralica: la riduzione dei valori pressori mediante canrenone è realmente possibile?

Fabio Zacà, Giuseppina Santese, Antonietta Schipani, Cosimo Stefano, Alberto Benassi, Marco Meli, Italo Ghidoni
Dipartimento di Cardiologia medico-chirurgica e toraco-vascolare
Hesperia Hospital - Modena

Riassunto

L'ipertensione polmonare è per il cardiologo clinico un problema difficile da risolvere. Obiettivo dello studio è valutare l'azione del canrenone in aggiunta alla furosemide ed al ramipril in pazienti con ipertensione polmonare secondaria ad insufficienza mitralica. End-point primario: variazione della pressione polmonare. End-points secondari: variazione del tempo di esercizio al treadmill test, della pressione arteriosa sistemica, variazione dell'entità dell'insufficienza mitralica.

60 pazienti sono stati suddivisi in 2 gruppi di 30 soggetti e randomizzati con una lista predefinita: Gruppo C: canrenone 100 mg + furosemide 12,5 mg + ramipril 5 mg; Gruppo P: placebo + furosemide 12,5 mg + ramipril 5 mg.

L'analisi statistica è stata effettuata mediante il t di Student per campioni indipendenti e per dati appaiati nella valutazione della pressione arteriosa polmonare e sistemica e del tempo di esercizio; il test esatto di Fisher è stato impiegato per valutare le differenze nell'entità dell'insufficienza mitralica. Il follow-up è stato effettuato per 6 mesi.

La pressione polmonare nel gruppo C si è ridotta da 50.47 dopo 3 mesi a 47.10 ($p < 0.001$) e dopo 6 mesi a 45.57 ($p < 0.001$). La pressione polmonare nel gruppo P si è ridotta da 50.63 dopo 3 mesi a 49.77 (ns) dopo 6 mesi a 49.10 ($p < 0.05$).

Il confronto fra il gruppo C ed il gruppo P presentava una differenza non significativa dopo tre mesi e significativa dopo 6 mesi ($p < 0.05$). Il tempo di esercizio migliora in entrambi i gruppi; la differenza è statisticamente significativa sempre a favore del gruppo C: dopo 3 mesi è presente una $p < 0.01$ e dopo 6 mesi $p < 0.001$. La pressione arteriosa sistolica e diastolica si riduce in entrambi i gruppi; la differenza è statisticamente significativa a favore del gruppo C sia al III che al VI mese.

L'entità dell'insufficienza mitralica migliora nel gruppo C rispetto al gruppo P ($p < 0.05$). Il canrenone associato a diuretico dell'ansa e ad Ace-inibitore è in grado di ridurre la pressione polmonare. Il meccanismo che può consentire tale effetto è legato all'azione diuretica; a tale azione si può associare un effetto sulla funzione endoteliale e sui meccanismi legati alla fibrosi.

Summary

Pulmonary hypertension is for the clinical cardiologist a hard problem to resolve. The aim of the study is to value the action of canrenone added to furosemide and ramipril in patients with pulmonary hypertension secondary to mitral insufficiency. Primary end-point: variation of pulmonary pressure. Secondary end-points: variation of time of exercise treadmill test, variation of arterial systolic and diastolic pressure, variation of entity of mitral insufficiency.

60 patients have been divided in 2 groups of 30 subjects and randomized with a pre-established list: C Group: canrenone 100 mg + furosemide 12,5 mg + ramipril 5 mg; P Group: placebo + furosemide 12,5 mg + ramipril 5 mg. The statistic analysis has been effected through Student-t Test for independent samples and for coupled data in the evaluation of pulmonary arterial and systemic pressure and of the time of exercise; the Fisher Exact Test has been employed to value the differences in the entity of the mitral insufficiency. The follow-up has been effected for 6 months. Pulmonary pressure in C group has been reduced from 50.47 after 3 months to 47.10 ($p < 0.001$) and after 6 months to 45.57 ($p < 0.001$).

Pulmonary pressure in P group has been reduced from 50.63 after 3 months to 49.77 (ns) after 6 months to 49.10 ($p < 0.05$). The comparison between C group and P group after three months was not significant; after 6 months the difference was significant ($p < 0.05$). The time of exercise improves in both groups; the difference is statistically significant always for C group: after 3 months there is a $p < 0.01$ and after 6 months a $p < 0.001$. The arterial systolic and diastolic pressure is reduced in both groups; the difference is statistically significant for C group both at III and VI month. The entity of mitral insufficiency improves in C group as regards to P group ($p < 0.05$). Canrenone combined with a loop diuretic and an ace-inhibitor is able to reduce pulmonary pressure: the complementary diuretic action can explain this effect. The endothelial function, the mechanism bound to fibrosis can be modified from the canrenone: these effects can be useful on the pulmonary pressure reduction.

Introduzione

L'ipertensione polmonare è per il cardiologo clinico un problema difficile da affrontare e di non facile soluzione. Le forme primitive¹ sono state oggetto di studio e l'efficacia di farmaci come le prostacicline² è stata dimostrata. Tale costosa terapia non è applicabile nelle forme secondarie. Le forme secondarie¹ sono state oggetto di studio in relazione soprattutto al trattamento della malattia che ha indotto ipertensione polmonare.

La terapia farmacologica sintomatica dell'ipertensione polmonare secondaria dovrebbe seguire concettualmente i principi del trattamento dell'ipertensione arteriosa; i farmaci maggiormente utilizzati sono i diuretici³, ma anche calcio-antagonisti⁴ e ACE inibitori⁵ potrebbero essere efficaci, sebbene gli studi clinici non siano numerosi e siano sempre effettuati su un numero limitato di pazienti. Nei pazienti con insufficienza mitralica l'aumento della pressione in atrio sinistro induce un aumento della pressione a livello delle vene polmonari e quindi nel micro-



circolo polmonare a cui segue un aumento di tono delle arteriole⁶, che induce un ulteriore aumento di pressione nell'arteria polmonare. L'aumento di tono delle arteriole, fenomeno funzionale, può essere seguito da una reazione fibrosa vascolare che può rendere l'ipertensione arteriosa polmonare irreversibile⁶. Nelle forme di ipertensione pol-

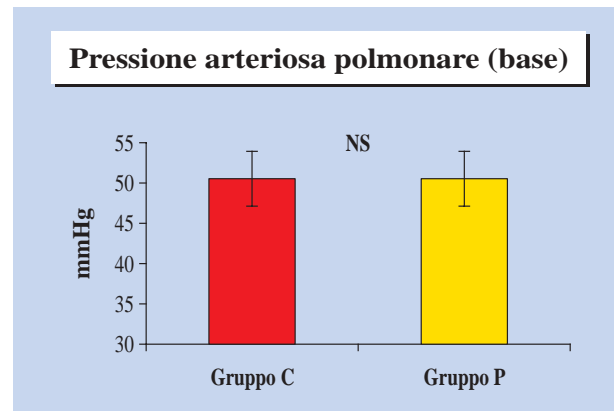


Fig. 1 - La pressione arteriosa polmonare in condizioni basali non presenta differenze statisticamente significative nei 2 gruppi.

monare secondarie ad insufficienza mitralica può essere molto efficace l'uso di farmaci che riducono il sovraccarico di volume come i diuretici⁷: ridurre il volume significa ridurre la pressione (pressione= flusso x resistenze). Quale tipo di diuretico è corretto impiegare?

L'associazione diuretico antialdosteronico con diuretico dell'ansa è utile?

Sono queste domande che il cardiologo si può porre senza avere risposte certe e confermate da studi clinici. L'impiego di un diuretico antialdosteronico che oltre all'azione diuretica⁷ e neuro-ormonale⁸, ha un'azione antifibro-

	BASE PAPs mmHg	p value	III MESE PAPs mmHg	p value	VI MESE PAPs mmHg
Gruppo C	50.47±6.8	<0.001	47.10±6.1	<0.001	45.57±6.3
p value	NS		NS		<0.05
Gruppo P	50.63±4.2	NS	49.77±4.9	<0.05	49.10±4.7

Tab. 1 - Variazioni a 3 e 6 mesi della pressione polmonare nei 2 gruppi di trattamento.

tica⁹⁻¹⁰ può essere efficace nel ridurre o nell'impedire la reazione fibrotica vascolare nel tempo delle arteriole e quindi impedire l'aumento stabile delle resistenze. Obiettivo del nostro studio è valutare l'azione del canrenone (diuretico ad azione antialdosteronica), in aggiunta alla terapia con furosemide e ramipril, in pazienti con ipertensione polmo-

nare (pressione polmonare sistolica > di 35 mmHg) secondaria ad insufficienza mitralica.

Metodi

Presso il Dipartimento di Cardiologia e Cardiochirurgia dell'Hesperia Hospital di Modena sono stati arruolati 60 consecutivi pazienti di entrambi i sessi e di età compresa tra 18 e 75 anni con insufficienza mitralica e con pressione arteriosa polmonare sistolica (PAPs) > 35 mmHg.

Il consenso informato è stato ottenuto da ciascun paziente arruolato.

Criteri di inclusione ed esclusione

Sono stati inclusi pazienti con insufficienza mitralica ed insufficienza tricuspidalica e pressione arteriosa polmonare sistolica > 35 mmHg.

I criteri di esclusione erano rappresentati da:

- presenza di età minore di 18 anni e maggiore di 75,
- angina instabile,
- recente intervento di by-pass aortocoronarico,
- recente PTCA,
- recente scompenso cardiaco,
- valvulopatie trattate chirurgicamente,
- tachiaritmie,
- blocchi atrio-ventricolari,
- ipertensione arteriosa,
- ictus cerebrali,
- presenza di neoplasie,
- gravi affezioni epatiche e/o renali,
- ipersensibilità accertata ai farmaci in studio.

Randomizzazione e Follow Up

Tutti i pazienti sono stati sottoposti ad una visita di screening in cui è stata raccolta l'anamnesi completa e sono stati eseguiti:

- Esame clinico con misurazione della pressione arteriosa,
- ECG standard (12 derivazioni),
- Rx del torace,
- Ecocardiogramma,
- Treadmil test secondo il protocollo di Bruce,
- Analisi di laboratorio di routine.

I pazienti sono stati suddivisi e randomizzati con una lista predefinita in due gruppi secondo il seguente schema:

- Gruppo C: canrenone 100 mg + furosemide 12.5 mg + ramipril 5 mg
- Gruppo P: placebo + furosemide 12.5 mg + ramipril 5 mg

Le visite di follow-up sono state effettuate, poi, su base men-

sile nei primi 3 mesi dalla randomizzazione e dopo 6 mesi. In ciascuna visita venivano eseguiti:

- Esame clinico,
- Misurazione della pressione arteriosa,
- ECG standard,
- Esami di laboratorio,
- Ecocardiogramma,
- Treadmill test secondo il protocollo di Bruce dopo 3 e 6 mesi di trattamento.

La valutazione ecocardiografica è stata effettuata con ecografo Acuson 128 XP/ 10 secondo le indicazioni dell'American Society of Echocardiography. La misura delle dimensioni telediastoliche e telesistoliche delle cavità cardiache e lo spessore parietale telediastolico e telesistolico sono state effettuate in modalità M-mode (proiezione parasternale asse lungo ed asse corto); la frazione d'eiezione del ventricolo sinistro in modalità B-mode in proiezione apicale 2 e 4 camere secondo la formula di Simpson modificata. I rigurgiti valvolari mitralico, aortico e polmonare sono stati valutati con Doppler pulsato, continuo e con Color Doppler. La pressione arteriosa polmonare sistolica (PAPs) è stata effettuata con Doppler continuo secondo la formula di Bernoulli modificata ($\Delta P V_{dx}/Adx=4V^2_{max}$, dove V^2_{max} rappresenta il valore della velocità di picco del rigurgito tricuspidalico al quadrato) sommando al gradiente massimo tra ventricolo destro ed atrio destro il valore della pressione atriale destra¹¹. La pressione in atrio destro è stata valutata misurando la variazione respiratoria del diametro della vena cava inferiore; se il collasso inspiratorio è maggiore del 50% sono stati aggiunti 7 mmHg, se è minore del 50% sono stati aggiunti 14 mmHg.

End-points dello studio

End-point primario: variazione della pressione polmonare nel tempo.

End-points secondari: variazione del tempo di esercizio al treadmill test; variazioni della pressione arteriosa sistemica; variazioni dell'entità dell'insufficienza mitralica.

Analisi Statistica

L'ipotesi su cui lo studio si basa è che il canrenone possa avere un effetto benefico sulla pressione arteriosa polmonare sistolica e sulla capacità di esercizio del paziente con ipertensione polmonare. La dimensione del campione è stata calcolata sulla base di una potenza del test pari al 60%, con una differenza minima di 7 per la PAPs e con una deviazione standard, desunta da precedenti rilevazioni del nostro laboratorio, pari a 4. La numerosità è risultata pari a 30 soggetti per ciascun gruppo sperimentale. I dati sono espressi come media ± deviazione standard. Le differenze nei due gruppi riguardanti i parametri relativi a pressione arteriosa sistolica, pressione arteriosa diastoli-

ca, pressione arteriosa polmonare e tempo di esercizio sono state valutate utilizzando il test di Student per campioni indipendenti.

Nell'ambito di ciascun gruppo le variazioni di questi parametri sono state analizzate mediante il test di Student per dati appaiati. Le differenze relative alle variazioni

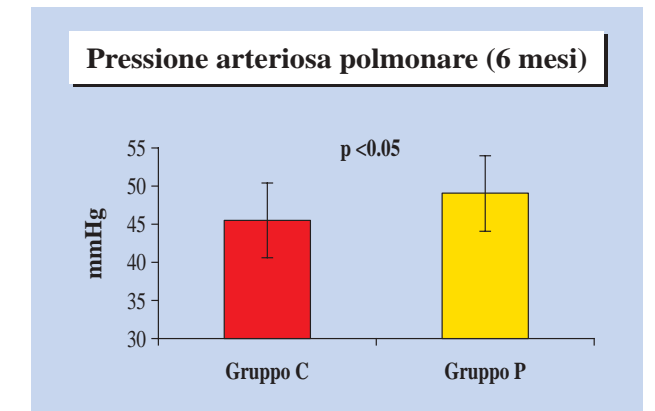


Fig. 2 - La pressione arteriosa polmonare dopo 6 mesi di trattamento si riduce in maniera statisticamente significativa nei pazienti trattati con canrenone (gruppo C).

dell'entità dell'insufficienza mitralica sono state valutate applicando il test esatto di Fisher per le tavole di contingenza. Le differenze sono state considerate statisticamente significative per valori di $p < 0.05$.

Risultati

In condizioni basali, non vi erano differenze statisticamente significative tra i due gruppi per quanto riguarda la

	BASE PAS mmHg	p value	III MESE PAS mmHg	p value	VI MESE PAS mmHg
Gruppo C	140±7	<0.001	115±15	NS	113±11
p value	NS		<0.001		<0.001
Gruppo P	138±9	<0.005	130±10	NS	128±10

Tab. 2 - Variazioni a 3 e 6 mesi della pressione arteriosa sistolica nei 2 gruppi di trattamento.

PAPs (50.47 ± 6.8 vs 50.63 ± 4.2) (Fig. 1, Tab. 1). Dopo 3 mesi di trattamento i valori di PAPs non presentano differenze statisticamente significative tra i due gruppi di trattamento (47.10 ± 6.1 vs 49.77 ± 4.9 , NS). Tuttavia, analizzando i risultati in ciascun gruppo si è evidenziato una riduzione della PAPs rispetto ai valori basa-

li in entrambi i gruppi: tale riduzione solo nel gruppo C è risultata statisticamente significativa (47.10 ± 6.1 vs 50.47 ± 6.80 , $p < 0.001$) mentre nel gruppo P la riduzione non ha raggiunto la significatività statistica (49.77 ± 4.9 vs 50.63 ± 4.2 , $p = 0.051$) (Tab. 1). Dopo 6 mesi di trattamento nel gruppo C vi è una riduzione significativa della

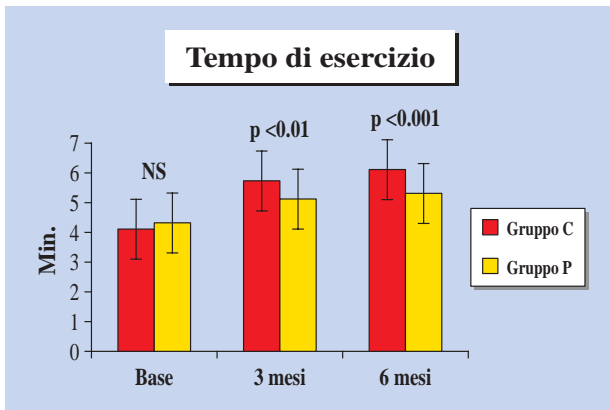


Fig. 3 - Il tempo di esercizio aumenta dopo 3 e 6 mesi nei due gruppi di trattamento; nel gruppo C l'aumento è maggiore ed è statisticamente significativo rispetto al gruppo P.

PAPs rispetto al gruppo P (47.57 ± 6.3 vs 49.10 ± 4.7 , $p < 0.05$) (Fig. 2).

Analizzando i risultati in ciascun gruppo si evidenzia una riduzione significativa della PAPs in entrambi i gruppi rispetto ai valori al terzo mese (45.57 ± 6.3 versus 47.10 ± 6.1 , $p < 0.001$ nel gruppo C e 49.10 ± 4.7 versus 49.77 ± 4.9 , $p < 0.05$ nel gruppo P) (Tab. 1).

La pressione arteriosa sistolica e la pressione diastolica di base non presentano differenze statisticamente significative tra i due gruppi di trattamento (Tab. 2, Tab. 3).

	BASE PAD mmHg	p value	III MESE PAD mmHg	p value	VI MESE PAD mmHg
Gruppo C	90±4	<0.001	83±4	<0.005	80±4
p value	NS		<0.05		<0.001
Gruppo P	88±5	NS	86±5	NS	85±4

Tab. 3 - Variazioni a 3 e 6 mesi della pressione arteriosa diastolica nei 2 gruppi di trattamento.

Nel confronto fra i due gruppi, sia a 3 mesi (115 ± 15 vs 130 ± 10 , $p < 0.001$; 83 ± 4 vs 86 ± 5 , $p < 0.05$) che a 6 mesi (113 ± 11 vs 128 ± 10 , $p < 0.001$; 80 ± 4 vs 85 ± 4 , $p < 0.001$) la riduzione della pressione arteriosa sistolica e della pressione diastolica è significativamente maggiore nel gruppo C rispetto al gruppo P (Tab. 2 e Tab. 3). In con-

dizioni basali, non vi erano differenze statisticamente significative tra i due gruppi per quanto riguarda il tempo di esercizio (4.15 ± 1.2 vs 4.3 ± 0.9) (Tab. 4).

La capacità di esercizio aumenta dopo 3 e 6 mesi nei due gruppi di trattamento. Nel confronto fra i due gruppi, sia a 3 mesi (5.7 ± 0.9 vs 5.1 ± 0.7 , $p < 0.01$) che a 6 mesi (6.1 ± 1.1 vs 5.3 ± 0.7 , $p < 0.001$) l'incremento del tempo di esercizio è significativamente maggiore nel gruppo C rispetto al gruppo P (Fig. 3).

È stata valutata di base, a 3 e a 6 mesi l'entità dell'insufficienza mitralica identificata come lieve, lieve-moderata e moderata. Di base nel gruppo C vi erano 13 casi con insufficienza mitralica di grado lieve-moderato e 17 casi con insufficienza mitralica di grado moderato; nel gruppo P vi erano 14 casi con insufficienza mitralica di grado lieve-moderato e 16 casi con insufficienza mitralica di grado moderato. Dopo 3 mesi di trattamento nel gruppo C vi sono 17 casi che migliorano (56,7%), 11 casi uguali (36,7%) e 2 casi che peggiorano (6,7%) mentre nel gruppo P 7 casi migliorano (23,3%), 20 casi sono uguali (66,7%) e 3 casi peggiorano (10,0%); la differenza fra i due gruppi è significativa con una $p < 0.05$ (Fig. 4). Dopo 6 mesi di trattamento non vi sono differenze statisticamente significative fra i due gruppi; nel gruppo C 2 casi migliorano (6,7%), 27 sono uguali (90,0%) e 1 peggiora (3,3%) mentre nel gruppo P 4 casi migliorano (13,3%), 26 rimangono uguali (86,7%) e nessuno peggiora. I valori di potassemia, valutati ogni mese per i primi tre mesi e successivamente a sei mesi non hanno dimostrato alcuna differenza significativa fra i due gruppi di trattamento.

Discussione

Nel nostro studio abbiamo valutato, in pazienti con insufficienza mitralica e ipertensione polmonare secondaria, l'effetto della terapia con canrenone, furosemide, ramipril versus placebo, furosemide, ramipril. I dati obiettivi dimostrano che dopo tre mesi di terapia l'associazione canrenone, furosemide e ramipril induce una riduzione dei valori di pressione polmonare, una riduzione significativa della pressione arteriosa ed un miglioramento significativo dell'entità dell'insufficienza mitralica, che migliora in più della metà dei casi. Il meccanismo alla base di tale risultati potrebbe essere il seguente: il maggior calo sia della pressione polmonare che arteriosa sistemica è ipotizzabile sia dovuto ad un maggior effetto diuretico legato alla terapia d'associazione tra i due farmaci (canrenone e furosemide)¹²⁻¹³; ridurre il volume significa ridurre la pressione (pressione= flusso x resistenze). La riduzione della pressione arteriosa sistolica può, come è noto e come è riscontrabile nella pratica clinica, ridurre l'entità del rigurgito mitralico; ciò può contribuire a ridurre la pressione arteriosa polmonare¹⁴.

L'antialdosteronico ha un'efficace azione antifibrotica⁹: è dimostrato che riduce nell'uomo il livello di PIIINP, indice di turnover del collagene¹⁵. Ridurre la fibrosi può significare poter ridurre nel tempo la rigidità delle arteriole sia sistemiche che del microcircolo polmonare e quindi ridurre le resistenze. L'aldosterone inoltre svolge un ruolo nella

◀◀◀ Continua da pag. 144

disfunzione endoteliale, riducendo la bioattività dell'ossido nitrico a livello endoteliale¹⁶. È stato dimostrato come il blocco dell'aldosterone incrementa l'attività dell'ossido nitrico in misura pari a circa il 94%¹⁷. L'uso di ossido nitrico in pazienti con ipertensione polmonare riduce le resistenze polmonari senza indurre alcun effetto sulle resisten-

delle arteriole, quando tale fenomeno è preminente. L'effetto antifibrotico potrebbe essere utile quando vi è un aumento fisso delle resistenze polmonari: ciò porta a considerare possibile uno studio sia nei pazienti con ipertensione polmonare secondaria di elevata entità che nei pazienti con ipertensione polmonare primitiva. L'antialdosteronico nel nostro lavoro si è dimostrato efficace nell'ipertensione polmonare secondaria ad insufficienza mitralica: è augurabile che ulteriori studi, con un maggior numero di pazienti e con follow-up più lungo possano essere programmati nei pazienti con ipertensione polmonare secondaria.

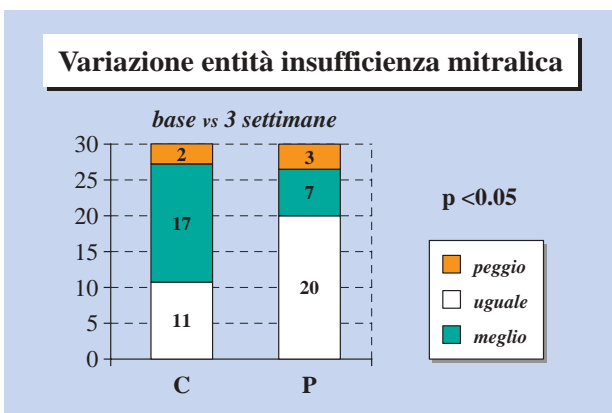


Fig. 4 - Dopo 3 mesi nel gruppo C vi sono 17 casi che migliorano, 11 casi uguali e 2 casi che peggiorano mentre nel gruppo P 7 casi migliorano, 20 casi sono uguali e 3 casi peggiorano; la differenza fra i due gruppi è significativa ($p < 0.05$).

ze sistemiche¹⁸⁻¹⁹. L'effetto antifibrotico a livello delle arteriole del microcircolo polmonare e l'effetto endoteliale sulle resistenze polmonari, associati all'azione diuretica possono spiegare il significativo calo della pressione polmonare riscontrato nel gruppo trattato con canrenone al sesto mese di trattamento. La riduzione della pressione polmonare consente un miglior adattamento all'incremento di portata e quindi un miglior adattamento allo sforzo fisico; al terzo ed al sesto mese il tempo di esercizio incrementa in modo statisticamente significativo nel gruppo trattato con

Tempo di esercizio (min.)					
	BASE	p value	III MESE	p value	VI MESE
Gruppo C	4.15±1.2	<0.001	5.7±0.9	NS	6.1±1.1
p value	NS		<0.01		<0.001
Gruppo P	4.3±0.9	<0.001	5.1±0.7	NS	5.3±0.7

Tab. 4 - Variazioni a 3 e 6 mesi del tempo di esercizio nei 2 gruppi di trattamento.

canrenone. La riduzione dei valori pressori in pazienti con ipertensione polmonare mediante l'impiego di canrenone è quindi possibile. L'effetto diuretico del canrenone è importante e significativo nell'ipertensione da sovraccarico di volume come nell'insufficienza mitralica. L'effetto endoteliale potrebbe essere utile nel ridurre l'aumento di tono

Bibliografia

1. Rich S. Executive Summary from the World Symposium on Primary Pulmonary Hypertension, 1998; September 6-10, 1998; cosponsored by the World Health Organization. *Evian France*
2. Barst RJ, Rubin LJ, McGoon MD et al. Survival in primary pulmonary hypertension with long term continuous intravenous prostacyclin. *Ann Intern Med* 1994; 121:409
3. Nauser TD, Stites SW. Pulmonary Hypertension: New Perspectives. *Congestive Heart Failure* 06/20/2003
4. Yoran C, Yellin EL, Becker RM et al. Mechanism of reduction of mitral regurgitation with vasodilator therapy. *Am J Cardiol* 1979; 43:773
5. Schon HR, Schroter G, et al. Quinapril therapy in patients with chronic mitral regurgitation. *J Heart Valve Dis* 1994; 3:303
6. Braumwald E. Mitral regurgitation: Physiologic, clinical and surgical consideration. *N Engl J Med* 1969;281:425-433
7. Van Vliet AA, Donker JM, Nauta JP et al. Spironolactone in congestive heart failure refractory to high dose loop diuretic and low dose angiotensin converting enzyme inhibitor. *Am J Cardiol* 1993; 71:21A-28A.
8. Pitt B, Zannard F, Remme WJ et al. The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. The Randomized Aldactone Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med* 1999; 341: 709-717
9. Brilla CG, Matsubara LS, Weber KT. Anti aldosterone treatment and the prevention of myocardial fibrosis in primary and secondary hyperaldosteronism. *J Mol Cell Cardiol* 1993; 25: 563-575
10. Modena MG, Aveta P, Menozzi A et al. Aldosterone inhibition limits collagen synthesis and progressive left ventricular enlargement after anterior myocardial infarction. *Am Heart J* 2001; 141: 41-6
11. Shiller NB. Pulmonary artery pressure estimation by Doppler and two-dimensional echocardiography. *Card Clin*; 1990;8:277-287
12. Magnani B, Bianchi Porro G et al. *Terapia Medica nella pratica clinica*. Mc Graw Hill 1996
13. Ellison DH. The physiologic basis of diuretic synergism: its role in treating diuretic resistance. *Ann Intern Med* 1991; 886-894
14. Schon HR. Medical treatment of chronic valvular regurgitation. *J heart Valve Dis* 1995; 4(supp2): 170-4
15. Diez J, Laviades C, Mayor G et al. Increased serum concentrations of procollagen peptides in essential hypertension. Relation to cardiac alterations. *Circulation* 1995; 91:1450-1456
16. Ideka U et al. Aldosterone inhibits nitric oxide synthesis in rat vascular smooth muscle cells induced by interleukin-1 B. *Eur J Pharmacol* 1995; 290:69
17. Farquharson C, Struthers AD. Spironolactone increases NO bioactivity, improves endothelial dysfunction and suppressed vascular AI/AII conversion in chronic heart failure. *Circulation* 2000; 104:137
18. Perez Penate G, Julia Serda G, Pulido Duque JM et al. One years continuous inhaled nitric oxide for pulmonary hypertension. *Chest*. 2001; 119:970-972
19. Channik RN, Newahat JW, Johnson FW et al. Pulsed delivery of inhaled nitric oxide in patients with primary pulmonary hypertension

