

## EFICACITATEA VALSARTANULUI ÎN CONTROLUL HIPERTENSIUNII PULMONARE ŞI FUNCŢIEI ENDOTELIALE LA PACIENŢII CU BRONHOPNEUMOPATIE OBSTRUCTIVĂ CRONICĂ

<sup>1</sup>C. MARTÎNIUC, dr.hab. în med., conf. cercetător,

<sup>1</sup>S. PISARENCO, dr. hab. în med., conf. universitar,

<sup>2</sup>S. MATCOVSCHI, dr. hab. în med., prof. universitar,

<sup>2</sup>V. CALANCEA, dr. în med., conf. universitar

<sup>1</sup>IMSP Institutul de Ftizio pneumologie „Chiril Draganiuc”

<sup>2</sup>IP USMF „Nicolae Testemiţanu”

e-mail: [kim612003@mail.ru](mailto:kim612003@mail.ru)

### Rezumat

**Obiectiv:** Studiarea eficacităţii utilizării blocatorului receptorilor AT II Valsartan (V) în funcţie de I/D polimorfismul genei enzimei de conversie a angiotensinei II (ACE) asupra presiunii sistolice (PSAP) şi medii (PMAP) în artera pulmonară şi funcţiei endoteliale vasculare (FE) la pacienţi cu bronhopneumopatie obstructivă cronică (BPOC).

**Materiale şi metode:** Au fost examinaţi 31 pacienţi (10 - cu genotipul I/D, 11 - cu genotipul I/I şi 10 - cu D/D) - 28 bărbaţi şi 3 femei cu BPOC de gravitate moderată şi severă (conform standardului GOLD), vârsta medie 52,5±4,14 ani - iniţial şi după 5 săptămâni de tratament cu V (doză medie 54,5±15,4 mg), utilizând spirometrie, ECG standard, Duplex Color (estimarea FE) şi EcoCG cu Doppler.

**Rezultate:** Analiza eficacităţii utilizării V n-a relevat agravarea evoluţiei BPOC şi sindromului bronhoobstructiv. După tratamentul efectuat s-a constatat ameliorarea semnificativă a funcţiei endoteliale vasculare, paralel cu reducerea considerabilă a PSAP şi PMAP (II>ID>DD).

**Concluzii:** Valsartan este bine tolerat şi înalt efectiv în controlul hipertensiunii pulmonare şi funcţiei endoteliale la pacienţii cu BPOC (II>ID>DD).

**Cuvinte-cheie:** bronhopneumopatia obstructivă cronică, blocator receptorilor ATII Valsartan, hipertensiune pulmonară, funcţia endotelială.

### Summary. Efficacy of Valsartan in pulmonary hypertension and endothelial control in patients with chronic obstructive pulmonary disease

**Background:** The purpose of this study was evaluation of efficacy of angiotensin-II receptor blocker Valsartan (V) in pulmonary hypertension endothelial function (EF) control in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD).

**Material and methods:** There were investigated 31 patients (II genotype=10, ID=11, DD=10), mean age 52,5±4,14 years, with moderate to severe forms of COPD - initial and after 5 weeks of treatment with V, mean dose 54,5±15,4 mg once-daily, using standard ECG, EcoCG with Doppler, spirometry and ultrasound Duplex (for EF estimation).

**Results:** There were not detected any negative changes on bronchial permeability after treatment with V. Considerable significant improvement of endothelial function in parallel with considerable decreasing of pulmonary artery systolic and mean pressure in response to V administration was the II>ID>DD genotype.

**Conclusions:** Thus, V is well-tolerated and high effective in pulmonary hypertension and EF control in patients with moderate to severe forms of COPD (II>ID>DD).

**Key-words:** obstructive pulmonary disease, angiotensin-II receptor blocker Valsartan, pulmonary hypertension, endothelial function.

### Резюме. Эффективность Вальсартана в контроле легочной гипертензии и эндотелиальной функции у пациентов с хронической обструктивной болезнью лёгких

**Цель:** Изучение безопасности применения и влияния блокатора рецепторов AT II Вальсартана (В) на давление в легочной артерии (ДЛА), функцию эндотелия (ЭФ), у пациентов с хронической обструктивной болезнью лёгких (ХОБЛ).

**Материалы и методы:** Обследован 31 пациент - мужчины с ХОБЛ умеренной и тяжёлой степенью тяжести (согласно критериям GOLD), среднего возраста 52,5±4,14 лет, с использованием спирометрии, бодиплетизмографии, дуплексного исследования магистральных сосудов и ЭхоКГ с Допплер - исходно и после 5 недель лечения В в средней суточной дозе 54,5±15,4 мг/сут.

**Результаты:** Анализ полученных результатов не выявил ухудшения течения ХОБЛ и бронхо-обструктивного синдрома после лечения В. Отмечено достоверное улучшение бронхиальной проходимости, показателей ЭФ наряду с существенной динамикой уровня систолического и среднего ДЛА (II>ID>DD).

**Выводы:** Блокатор рецепторов АТ II В наряду с существенным улучшением ЭФ, достоверно уменьшает уровень систолического и среднего ДЛА у пациентов с ХОБЛ (II>ID>DD).

**Ключевые слова:** хроническая обструктивная болезнь лёгких, блокатор рецепторов АТ II Валсартан, легочная гипертензия, эндотелиальная функция.

### Introducere

Din momentul descoperirii I/D polimorfismului genei enzimei de conversie a angiotensinei II (ACE) s-au expus ipoteze despre posibila asociere cu eficacitatea inhibitorilor ACE [1, 2]. Studiile au demonstrat, ca I/D polimorfismul genei ACE poate determina eficacitatea medicamentelor, al căror mecanism de acțiune este asociat cu activitatea scăzută a sistemului renin-aldosteron-angiotenzină (RAAS), și (sau) utilizate pentru maladiile în patogeneza cărora este hiperactivarea RAAS. Printre aceste medicamente sunt unele inhibitorii ACE,  $\beta$ -adrenoblocantele selective, antagoniștii de aldosteronă și sartanele [3, 4, 9].

Legătura pozitivă dintre D-alele genei ACE și masa miocardului VS crescută a fost dovedită în cercetările *N. Iwai, M. Pontermoni* [5, 6]. Este demonstrat, că la pacienții - purtători de DD-genotip diametrul telediastolic a VS și masa miocardului a VS, veridic depășesc parametrii similari la purtătorii II genotipului și prezintă rezultate mai reduse a funcției diastolice a VS [7]. Rezultate identice sunt prezentate în studiile publicate în anii 1997-2017 la persoanele cu cardiomiopatie dilatativă, homozigoți după D-alela, unde a fost evidențiată o creștere veridică a masei miocardului VS și un risc sporit de deces ca la pacienții cu alte genotipuri genei ACE. Interconexiunea dintre D-alela și nivelul fermentului ACE în premieră a fost prezentată de *B. Rigat* [7], apoi gășind confirmare în alte studii. Prin aceasta se explică cauza afecțiunii mai pronunțate a VS la pacienții cu cardiomiopatie dilatativă cu genotipul DD a genei ACE. Studiul a demonstrat influența IEC a AT II *lisinopril* asupra remodelării VS independent de polimorfismul genei ACE. Este confirmat, că dinamica leziunilor lineare mai semnificativă ca și fracția de ejeție a VS s-a observat la pacienții cu genotipul DD în comparație cu pacienții cu genotipul ID și II a genei ACE. *H. Kanazawa* a demonstrat, că la pacienții cu BPOC și genotipul DD, în comparație cu pacienții cu genotipul ID și II a genei ACE, răspusul la tratament cu *captopril*, scăderea PMAP și toleranța la efort fizic au fost considerabil diminuate [8]. Paralel, la pacienții cu BPOC și genotipul DD s-a constatat cele mai înalte valori ale rezistenței pulmonare vasculare, diametrului telediastolic a VD, PMAP și concentrației lactatului seric după efortul fizic.

Valsartan se deosebește de Losartan și alți blocatori receptorilor AT II prin faptul, că după structura chimică el este o substanță non-heterociclică. Valsar-

tan este mai selectiv, decât Losartan, în timp, ce la Losartan specificitatea pentru AT1- receptori este în 3000 de ori mai înaltă față de AT II-receptori, la Valsartan indicele dat este de 10 ori mai mare. Valsartan acționează ca antagonist non-concurent a AT II în privința receptorilor AT1. Spre deosebire de Losartan, surplusul AT II nu poate elimina Valsartan din conexiunile cu receptorii AT1. Valsartan de sine stătător posedă de activitatea farmacologică și, spre deosebire de Losartan, nu are metabolite active.

Prezintă un interes științific anumit studierea aspectelor clinice, funcționale și instrumentale a Valsartanului asupra hemodinamicii centrale și cei pulmonare și funcției endoteliale vasculare în funcție de I/D polimorfismul genei ACE la pacienții cu BPOC. Aceste circumstanțe au determinat scopul și obiectivele acestui studiu.

### Scopul lucrării

Studierea siguranței și eficacității utilizării blocatorului receptorilor AT II Valsartan în funcție de I/D polimorfismul genei ACE asupra presiunii sistolice (PSAP), medii (PMAP) și funcției endoteliale vasculare la pacienți cu BPOC.

### Materiale și metode

Au fost examinați 31 pacienți (10 - cu genotipul ID, 11 - cu genotipul II și 10 - cu DD) - 28 bărbați și 3 femei cu BPOC de gravitate moderată și severă (conform standardului GOLD), vârsta 45-68 ani (medie 52,5 $\pm$ 4,14 ani) și durata maladiei de bază 6-22 ani (medie 15,2 $\pm$ 7,5 ani) - inițial și după 5 săptămâni de tratament cu blocator receptorilor AT II Valsartan (Nortivan, „Gedeon Richter”, Ungaria) cu doză 40-80 mg/zi într-o priză( doza medie 54,5 $\pm$ 15,4 mg).

*Grupul de control* a inclus 30 pacienți, care după realizarea unui studiu controlat prin evaluarea integrală a BPOC, au fost externați din staționar și în regim de asistență ambulatorie au primit farmacoterapie standard, în conformitate cu recomandările GOLD. După cinci săptămâni aceștia au fost supuși unui examen clinic și instrumental de control.

S-a efectuat: spirometrie (expirograma maxima și forțată cu înregistrarea curbelor flux-volum și volum-timp); ECG standard, EcoCG cu Doppler, bodipletismografia - inițial și după tratament cu Valsartan.

Presiunea *sistolice* în AP (PSAP) a fost calculată după formula, dedusă din nomograma lui L. Burstin [3]:  $PAPs = TRI + FCC - 107,5$ , unde TRI - timpul re-

Tabelul 1.

**Dinamica parametrilor hemodinamicii centrale și cei pulmonare după tratamentul cu Valsartan (I/D genotip).**

Indicii	Inițial	După tratament	p
DTD a VD (mm)	31,9 ± 3,72	30,9 ± 3,52	0,729
Peretele anterior a VD (mm)	5,1 ± 1,0	5,1 ± 0,86	0,57
DTD a VS (mm)	49,6 ± 4,10	48,5 ± 4,49	0,073
<b>Presiunea sistolică în AP (mmHg)</b>	42,3 ± 6,35	37,1 ± 5,95	<b>0,0001</b>
<b>Presiunea medie în AP (mmHg)</b>	27,1 ± 5,12	21,3 ± 4,07	<b>0,035</b>
<b>Timpul de accelerare a fluxului pulmonar (msec)</b>	102,2 ± 13,44	115,2 ± 13,17	<b>0,0001</b>
Diametrul AP (mm)	20,75 ± 1,53	20,6 ± 1,52	0,335
Fracția de ejeție a VS (%)	59,29 ± 7,73	61,9 ± 4,91	0,114
Raport VD / VS	0,55 ± 0,07	0,5 ± 0,09	0,214

laxării izometrice a VD, m/sec; FCC - frecvența contracțiilor cardiace, bat/min.

Presiunea *medie* în artera pulmonară (PMAP) a fost estimată după timpul accelerării a fluxului pulmonar în tractul de ejeție a ventriculului drept (Kitabatake A., 1983) [10]:  $\text{Log } 10(\text{PMAP}) = -2,8(\text{AT}/\text{RVET}) + 2,4$ , unde AT - timpul de accelerare a fluxului pulmonar (TAFP, msec), RVET - perioada de ejeție a VD (msec).

Cercetarea neinvazivă a *funcției endoteliale* (FE) s-a efectuat cu utilizarea probei cu hiperemie activă, cu aplicarea Duplex ultrasonor de rezoluție înaltă la aparatul „Logiq S8” („General Electric”, SUA) cu transductor linear 8,0-10,0 MHz după metodă, propusă de D. Celermajer [11].

Funcția respirației pulmonare și rezistența bronșială au fost estimate la aparatul „Master Screen” (Erich Jaeger, GmbH, Germania), inclusiv efectuarea bodipletismografiei generale.

### Rezultatele și discuții

*Eficacitatea perindoprilului în tratamentul HP la pacienții cu BPOC (ID genotip).*

Analiza siguranței și eficacității utilizării Valsartanului la pacienții cu BPOC și n-a relevat agravarea evoluției BPOC și sindromului bronhoobstructiv pe parcursul a 5 săptămâni de tratament.

**EcoCG cu Doppler** a relevat dilatarea moderată a părților drepte a cordului (diametrul telediastolic VTD) a VD - 31,91±3,72mm cu variațiile între 25,0 și 37,5 mm), valori normale a grosimii peretelui anterior a VD - 5,13±1,0 mm, cu variațiile între 3,0 - 7,0 mm), și hipertrofia ușoară a peretelui posterior VS - 1,25±0,09 mm, la persoanele cu HTA asociată în anamneză). Analiza comparativă a parametrilor hemodinamicii centrale după tratament cu Valsartan n-a relevat dinamică semnificativă a indicilor studiați, a fost observate unele tendințe pozitive (Tabelul

1). Fenomenul acesta se explică cu termenul scurt de tratament efectuat, pentru obținerea modificărilor ce țin de remodelarea miocardului biventricular, regresul hipertrofiei ventriculare cu micșorarea volumelor VS și VD, este necesitatea cel mai puțin de 7-12 luni de tratament îndelungat. Prezintă interes practic dinamică semnificativă a PSAP, PMAP și a TAFP după tratamentul cu Valsartan: *PASP* s-a micșorat de la 31,6-60,0 mmHg (medie 42,31±6,35 mmHg) inițial până la 29,0-50,0 mmHg (medie 48,50±4,49 mmHg (p<0,0001) după tratament, *PMAP* - de la 27,11±5,12 mmHg până la 21,35±4,07, p< 0,05 paralel cu creșterea semnificativă a timpului de accelerare a fluxului pulmonar - 102,09±13,44 msec vs. 115,24±13,17 msec (p<0,0001), ce este foarte favorabil pentru pronosticul și supraviețuirea pacienților cu formele grave de BPOC.

Analiza rezultatelor dobândite a constatat dinamică considerabil pozitivă a *funcției endoteliale* vasculare în urmă tratamentului: indicii cumulativi ai disfuncției endoteliale (după proba cu hiperemie reactivă) considerabil au crescut de la 6,37±10,84% (cu variațiile - 13,6 - 29,4%) inițial până la 3,92±9,97% (- 5,7 - 34,5% respectiv) (p<0,005) după tratament, paralel cu creșterea semnificativă a volumului sanguin pe secundă : 657,857±324,72 ml vs. 770,74±302,12 ml ( p<0,005).

*Eficacitatea valsartanului în tratamentul HP la pacienții cu BPOC(II genotip)*

Ca și în lotul pacienților cu I/D genotip, s-a relevat dilatarea moderată a părților drepte ale cordului (VTD al VD - 30,5±3,64 mm cu variațiile între 25,4 și 30,0 mm), valori normale ale grosimii peretelui anterior al VD - 5,0±1,22 mm, cu variațiile între 3,0-6,5 mm), și hipertrofia ușoară a peretelui posterior al VS - 1,3±0,11 mm, la persoanele cu HTA asociată în anamneză).

Analiza comparativă a parametrilor hemodina-

Tabelul 2.

**Dinamica parametrilor hemodinamicii centrale și pulmonare după tratamentul cu valsartan (I/I genotip)**

Indicatori	Inițial	După tratament	p
DTD a VD, mm	30,5 ± 3,64	31,2 ± 3,54	0,79
Peretele anterior al VD, mm	5,0 ± 1,22	5,0 ± 0,84	0,77
DTD al VS, mm	45,5 ± 5,44	44,9 ± 5,74	0,084
PSAP, mmHg	42,4 ± 7,62	36,0 ± 5,54	0,002
PMAP, mmHg	27,0 ± 5,46	20,6 ± 5,68	0,022
Timpu de accelerare a fluxului pulmonar, msec	106,8 ± 11,72	117,8 ± 11,19	0,001
Diametrul AP, mm	20,4 ± 1,56	20,6 ± 1,78	0,366
Fracția de ejeție a VS, %	60,4 ± 5,35	62,8 ± 5,94	0,116
Raport VD/VS	0,5 ± 0,042	0,5 ± 0,74	0,246

micii centrale după 5 săptămâni de tratament cu valsartan nu a relevat dinamică semnificativă a indicilor studiați, dar au fost observate unele tendințe pozitive (vezi Tabelul 2). Fenomenul acesta se explică prin durată scurtă a tratamentului efectuat necesar pentru obținerea modificărilor ce țin de remodelarea miocardului biventricular, regresarea hipertrofiei ventriculare cu micșorarea volumelor VS și VD. Sunt necesare cel puțin 7-12 luni de tratament.

PSAP s-a micșorat semnificativ de la 30-60,0 mmHg (în mediu 42,4±7,62 mmHg) inițial până la 26,0-48 mmHg (o medie de 36,0±5,54 mmHg; p<0,001); după tratament PMAP s-a redus - de la 27,0±5,46 mmHg până la 20,6±5,68 (p<0,05), în paralel cu creșterea semnificativă a timpului de accelerare a fluxului pulmonar - 106,8±11,72 msec vs 117,8±11,19 msec (p<0,0001), ceea ce este o evoluție foarte favorabilă pentru pronosticul și supraviețuirea pacienților cu forme grave de BPOC (Tabelul 2).

Ca și în lotul pacienților cu I/D genotip, analiza rezultatelor obținute în urma tratamentului a relevat o dinamică semnificativ pozitivă a funcției endoteliale vasculare. Astfel indicii cumulativi ai disfuncției endoteliale, conform probei de hiperemie reactivă, au crescut considerabil (dublu) de la 7,6±11,92% inițial până la 15,4±6,32% (p<0,005) după 5 săptămâni de tratament și în paralel cu creșterea semnificativă a volumului sanguin pe secundă: 660,3±322,76 ml vs 788,5±344,75 ml (p<0,005; Tabelul 3).

*Eficacitatea Valsartanului în tratamentul HP la pacienții cu BPOC (D/D genotip genei ACE).*

În grupul pacienților cu D/D genotip genei ACE Ecocardiografia cu Doppler a relevat dilatarea moderată a părților drepte ale cordului (volumul telediastolic al VD - 35,6±4,64 mm cu variațiile între 26,0 și 38,0 mm), valori normale ale grosimii peretelui anterior al VD - 6,5±2,45 mm, cu variațiile între 5,0-8,0 mm), și hipertrofia ușoară a peretelui posterior ventriculului stâng - 1,5±4,42 mm, la persoanele cu HTA asociată în anamneză).

Prezintă un interes practic dinamica semnificativă a PSAP, PMAP în artera pulmonară și a timpului de accelerare a fluxului pulmonar după tratamentul cu valsartan (Tabelul 4). PSAP s-a micșorat de la 44,2±4,56 mmHg inițial până la 36,1±6,18 mmHg (p<0,05); după tratament presiunea medie în AP s-a redus - de la 27,0±5,43 mmHg până la 22,7±5,44 (p<0,05), în paralel cu creșterea semnificativă a timpului de accelerare a fluxului pulmonar - 104,5±11,58 msec vs 116,8±11,20 msec (p<0,05), ceea ce este o evoluție foarte favorabilă pentru pronosticul și supraviețuirea pacienților cu forme grave de BPOC.

Analiza rezultatelor obținute în urma tratamentului cu Valsartan: a fost constatată (în baza probei cu hiperemie reactivă) o dinamică pozitivă semnificativă a funcției endoteliale vasculare. Astfel indicii cumulativi ai disfuncției endoteliale, conform probei de hiperemie reactivă, au crescut considerabil (dublu) de la 6,0±11,69% inițial până la 11,0±7,22% (p<0,005) după tratament și în paralel cu creșterea semnificativă a volumului sanguin pe secundă: 650,2±307,12 ml vs 776,0±245,30 ml (p<0,05; Tabelul 3).

Tabelul 3.

**Dinamica funcției endoteliale vasculare la pacienții cu BPOC după tratamentul cu Valsartan (I/I genotip)**

Indicatori	Inițial	După tratament	p
Diametrul inițial al arterei brahiale, mm	4,1±0,54	4,0±0,72	0,77
<b>Funcția endotelialului vascular, %</b>	<b>7,6±11,92</b>	<b>15,4±6,32</b>	<b>0,002</b>
Grosimea complexului intimă-medie, mm	0,4±0,056	0,4±0,048	0,224
<b>F (volumul sanguin), ml/min</b>	<b>660,3±322,76</b>	<b>788,5±344,75</b>	<b>0,003</b>

Tabelul 4.

**Dinamica parametrilor hemodinamicii centrale și a celei pulmonare după tratamentul cu Valsartan (D/D genotip)**

Indicatori	Inițial	După tratament	p
DTD a VD, mm	35,6 ± 4,64	35,3 ± 3,50	0,85
Peretele anterior al VD, mm	6,5 ± 2,45	6,4 ± 0,96	0,68
DTD al VS, mm	59,5 ± 5,33	58,6 ± 6,12	0,088
PSAP, mmHg	44,2 ± 4,56	36,1 ± 6,18	0,044
PMAP, mmHg	27,0 ± 5,43	22,7 ± 5,44	0,034
Timpul de accelerare a fluxului pulmonar, msec	104,5 ± 11,58	116,8 ± 11,20	0,006
Diametrul AP, mm	20,4 ± 1,58	20,4 ± 1,52	0,346
Fracția de ejecție a VS, %	57,5 ± 8,50	60,0 ± 5,42	0,142
Raport VD/VS	0,5 ± 0,04	0,5 ± 0,06	0,214

Tabelul 5.

**Dinamica FE la pacienții cu BPOC după tratamentul cu Valsartan**

Indicatori	Inițial	După tratament	p
Diametrul inițial al arterei brahiale, mm	4,5 ± 0,54	4,5 ± 0,68	0,84
Funcția endotelului vascular, %	6,0 ± 11,69	11,0 ± 7,22	0,002
Grosimea complexului intimă-medie, mm	0,4 ± 0,033	0,4 ± 0,030	0,150
F (volumul sanguin), ml/min	650,2±307,12	776,0±245,30	0,005

Analiza comparativă a parametrilor hemodinamicii centrale și pulmonare după tratamentul standard efectuat în *grupul de control* nu a relevat dinamică semnificativă a indicilor studiați, dar au fost observate unele tendințe pozitive neînsemnate. De menționat este faptul, că la momentul examenului repetat la toți pacienții aflați în supraveghere curativă de ambulatoriu s-a atins stabilizarea BPOC.

### Concluzii

1. La pacienții cu bronhopneumopatie obstructivă cronică evoluție moderat - severă utilizarea blocatorului receptorilor AT II Valsartan la toate trei I/D genotipuri ACE nu provoacă agravarea permeabilității bronșiale.

2. Tratamentul de scurtă durată cu blocatorul receptorilor AT II Valsartan considerabil reduce presiunea sistolică și medie în artera pulmonară paralel cu creșterea timpului de accelerare a fluxului pulmonar la pacienții cu II și ID genotipuri (II>ID>DD).

### Bibliografie

1. Hida, W., Tun, Y., Kikuchi, Y. Pulmonary hypertension in patients with chronic obstructive pulmonary disease: recent advances in pathophysiology and management. *Respiration* 2002;7:3-13.

2. Galie, N., Torbicki, A., Barst, R. et al. Guidelines of diagnoses and treatment of pulmonary arterial hypertension. *European Heart Journal* 2004;25:2243-2278.

3. Castellon, R., Hamdi, HK. Demystifying the ACE polymorphism: from genetics to biology. *Curr Pharm Des* 2007;13:1191-1198.

4. Hida, W., Tun, Y., Kikuchi, Y. Pulmonary hypertension in patients with chronic obstructive pulmonary disease: recent advances in pathophysiology and management. *Respiration* 2002;7:3-13.

5. Iwai, N., Ohmichi, N., Nakamura, Y. et al. DD genotype of the angiotensin-converting enzyme gene is a risk factor for left ventricular hypertrophy. *Circulation*. 1994;90:2622-2628.

6. Pontermoni, M., Sofia, A., Tirota, A. et al. The deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene is associated with target organ damage in essential hypertension. *J Am. Soc Nephrol*. 1996;7:2550-2558.

7. Rigat, B., Hubert, C., Corvol, P. et al. PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCP1) (dipeptidyl carboxy peptidase 1). *Nucleic Acids Res* 1992;20:1433.

8. Kanazawa, H., Otsuka, T., Hirata, K. et al. Association between the angiotensin converting enzyme gene polymorphisms and tissue oxygenation during exercise in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Chest* 2002;121:697-701.

9. Ceconi, C., Francolini, G., Olivares, A., Comini, L., Bachetti, T., Ferrari, R. Angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors have different selectivity for bradykinin binding sites of human somatic ACE. *Eur J Pharmacol*. 2007;577:1-6.

10. Kitabatake, A., Inoue, M., Asao M. et al. Non-invasive evaluation of pulmonary hypertension by a pulsed Doppler technique. *Circulation* 1983; 68:302-309.

11. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992;340:1111-1115.