



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE:
CARDIOLOGIA E CIÊNCIAS CARDIOVASCULARES**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**Metabolismo da matriz extracelular e função diastólica em indivíduos com
síndrome metabólica**

Aluna: Ângela Barreto Santiago Santos

**Professores Orientadores:
Dr. Murilo Foppa
Dra. Nadine Clausell**

Porto Alegre, Setembro de 2010.

Agradecimentos

À professora Beatriz Seligman, pela oportunidade de contribuir para sua Tese de Doutorado, fazendo em conjunto o meu Mestrado. Sua dedicação, organização e persistência foram exemplos para início do meu trabalho.

Ao colega Maurício Junges, pela parceria de trabalho durante nossa formação na ecocardiografia e na construção do nosso trabalho de mestrado.

Aos queridos bolsistas, Adriana Macari e Bruno Schneider, sempre prontos a ajudar para que o nosso trabalho seguisse da melhor forma possível.

À bióloga Daiane Silvelo, pela grande ajuda nas necessidades do trabalho de bancada no Cardiolab.

Ao professor Bruce Duncan, que permitiu que o trabalho fosse logisticamente viável.

À querida professora Nadine Clausell, pelo estímulo a pesquisa como parte essencial da nossa profissão, feita com seriedade e competência.

Aos pacientes e participantes da nossa amostra, pela disponibilidade e por acreditarem no trabalho.

À minha família: minha mãe e ao Zé, pela minha formação pessoal e estímulo ao crescimento sempre presente, a Polyana, querida irmã companheira, ao meu pai pelo carinho e exemplo de pesquisa e capacidade intelectual.

E ao Murilo, pela orientação zelosa, rígida muitas vezes, aguçando o meu poder de crítica continuamente, na busca constante do melhor entendimento e participando ativamente para que o trabalho fosse factível. O respeito mútuo permitiu que essa parceria fosse possível. E por ele ser quem é na minha vida, me estimulando continuamente, acreditando sempre que eu sou capaz, até mesmo quando nem eu acho e

fazendo com que cada dia da minha vida seja mais especial que o anterior. Muito obrigada.

ÍNDICE

ABREVIATURAS.....	5
INTRODUÇÃO.....	6
Fisiopatologia da síndrome metabólica.....	7
Síndrome metabólica e doença cardiovascular.....	8
Disfunção diastólica.....	10
1) <i>Injúria da matriz extracelular</i>	11
2) <i>Estresse hemodinâmico</i>	14
2.1) <i>Peptídeo atrial natriurético</i>	15
3) <i>Ecocardiograma na avaliação da disfunção diastólica</i>	16
RACIONAL PARA O ESTUDO.....	19
REFERÊNCIAS.....	20
ARTIGO ORIGINAL PARA PUBLICAÇÃO.....	28
ANEXOS.....	49

ABREVIATURAS

SM	Síndrome metabólica
OMS	Organização Mundial de Saúde
<i>NCEP/ATPIII</i>	<i>National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III</i>
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
RR	Risco relativo
IC	Insuficiência cardíaca
PCR	Proteína-C-reativa
IL-6	Interleucina-6
MEC	Matriz extracelular
PICP	Pró-peptídeo carboxi-terminal do procolágeno tipo I
MMP	Metaloproteinase
TIMP	Inibidor tecidual da metaloproteinase
HVE	Hipertrofia do ventrículo esquerdo
SRAA	Sistema renina-angiotensina-aldosterona
AII	Angiotensina II
SNS	Sistema nervoso simpático
BNP	Peptídeo natriurético tipo B
NT-proBNP	Pró-peptídeo natriurético tipo B N-terminal
IMC	Índice de massa corpórea
TD	Tempo de desaceleração
VE	Ventrículo esquerdo

INTRODUÇÃO

Síndrome metabólica (SM) é uma condição multissistêmica, com alta prevalência e elevada mortalidade cardiovascular. Ainda é motivo de debate se as alterações cardíacas presentes nesta condição são secundárias às alterações hemodinâmicas sistêmicas ou correspondem a manifestações primárias da síndrome no coração.

Propagada por Reaven na década de 80 sob a denominação de Síndrome X (1), a SM corresponde a um somatório de fatores de risco para doença cardiovascular e diabetes tipo 2 (2).

Sua prevalência é estimada em 25% da população adulta em países industrializados (3,4) e em torno de 30% em estudos com a população brasileira (5,6). Há aumento da prevalência com a idade, menor nível sócio-econômico, em afro-americanos e hispânicos, sendo nesses últimos, principalmente no sexo feminino (3,4,6). Sua ascensão verificada nas últimas décadas pode ser explicada pela adoção de hábitos de dieta caracteristicamente urbanos, sedentarismo e aumento da prevalência da obesidade (7).

Em 1998, a Organização Mundial de Saúde (OMS) definiu critérios diagnósticos de SM, sendo a resistência insulínica fator primordial para desenvolvimento da doença (2). Em 2001, o *National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III (NCEP/ATP III)* redefiniu a doença, não incluindo a resistência insulina como critério maior da síndrome (2,8). Em 2003, houve atualização do conceito *NCEP/ATP III* pela *American Association of Clinical Endocrinologists*, retornando o conceito da resistência insulínica como pré-requisito diagnóstico (9). Em 2005, *International Diabetes Federation* enfatizou o papel fundamental da obesidade na síndrome e incluiu a

obesidade visceral como pré-requisito diagnóstico (9). Em 2009, foi apresentado um novo consenso internacional, seguindo os critérios diagnósticos abaixo (2) (**Tabela 1**).

Tabela 1- Critérios para diagnóstico clínico da síndrome metabólica

Medida	Pontos de Corte
Aumento da circunferência abdominal	Valor conforme a população
Aumento de triglicerídeos (ou uso de medicações para tratar essa condição)	>150 mg/dL (1,7 mmol/L)
Redução de HDL-colesterol (ou uso de medicações para tratar essa condição)	<40 mg/dL (1,0 mmol/L) para homens <50 mg/dL (1,3 mmol/L) para mulheres
Aumento de pressão arterial (ou uso de medicações para tratar essa condição)	Sistólica \geq 130 mmHg e/ou Diastólica \geq 85 mmHg.
Aumento de glicose em jejum (ou uso de medicações para tratar essa condição)	\geq 100 mg/dL

SM definida pelo preenchimento de três dos cinco critérios acima (2).

Fisiopatologia da síndrome metabólica

Já na sua definição, fica claro que não há consenso sobre a contribuição dos componentes da SM na sua fisiopatologia. De acordo com a hipótese mais aceita atualmente, obesidade visceral e a atividade inflamatória associada são os fatores primordiais da SM, capazes de mediar resistência insulínica, hipertensão arterial sistêmica (HAS) e dislipidemia (10). O tecido adiposo tem como principal função o armazenamento de gordura. Além disso, é secretor de uma série de citocinas como Interleucina (IL)-6, leptina, adiponectina e fator de necrose tumoral tipo alfa, caracterizando-o como um órgão do sistema imune inato (10).

Citocinas pró-inflamatórias, liberadas do tecido adiposo, levam à resistência insulínica por alteração de vias de sinalização da insulina e por interferência na capacidade de acomodação dos ácidos graxos em seus depósitos usuais. O excesso de ácidos graxos circulantes inibe de forma direta a produção e liberação da insulina pelas células pancreáticas. Além disso, ocorre sua deposição ectópica em tecidos como fígado, músculo esquelético e células pancreáticas. Esses depósitos ectópicos produzem metabólitos de processos de oxidação mitocondrial que também interferem na efetividade periférica da insulina (7,10).

A associação entre obesidade e HAS é modulada pela hiperatividade do sistema nervoso simpático e sistema renina angiotensina aldosterona, com seus efeitos vasculares e de expansão volêmica. Hiperinsulinemia, níveis aumentados de leptina, hipercortisolemia, disfunção endotelial, apnéia obstrutiva do sono e compressão mecânica do rim são causas da hiperestimulação desses dois sistemas (7).

Marcadores inflamatórios podem estar associados ao aumento dos níveis séricos de triglicerídeos e diminuição dos níveis de HDL-colesterol contribuindo para o perfil pró-aterogênico presente na obesidade (7,10).

Síndrome metabólica e doença cardiovascular

A presença de SM determina um significativo aumento da morbidade e mortalidade cardiovascular (11). Uma metanálise, publicada em 2007, englobando 172 573 indivíduos, mostrou que a presença de SM associa-se a um risco relativo (RR) de eventos cardiovasculares e morte de 1,78 (IC 95% 1,58 a 2,00), sendo essa associação mais importante em mulheres, indivíduos de baixo risco cardiovascular (<10%) e nos estudos que usaram a definição da OMS para a síndrome. Após ajuste para fatores de

risco tradicionais, como sexo, idade, pressão arterial, níveis de lipídeos e glicose, houve manutenção dessa associação (RR=1,54, IC 95% 1,32 a 1,79) (12).

Parte do aumento de eventos cardiovasculares na SM pode ser atribuída à exacerbação do processo aterotrombótico. Mediadores pró-inflamatórios ativados na SM estão envolvidos em mecanismos como formação e instabilidade da placa aterosclerótica, vasoconstrição, espasmos vasculares e trombose (10). Uma recente revisão sistemática de intervenções medicamentosas para redução de placa de ateroma avaliada por ultra-sonografia intravascular mostrou maior progressão da placa aterosclerótica nos pacientes com SM (13). Desfechos pré-clínicos precoces de aterosclerose como distensibilidade carotídea, espessura médio-intimal e vasodilatação endotelial fluxo-mediada melhoram de forma significativa naqueles indivíduos que deixam de apresentar critérios diagnósticos de SM (14).

Pacientes com SM têm uma incidência duas vezes maior de insuficiência cardíaca (IC). Essa associação parece ser independente de cardiopatia isquêmica e diabetes (15-17). Na coorte do *Cardiovascular Health Study*, foi demonstrado que o diagnóstico de SM, quando associado a marcadores inflamatórios elevados (Proteína-C-reativa (PCR) e IL-6), aumenta a predição de casos incidentes de IC, independentemente de hiperinsulinemia e aterosclerose. Os autores atribuíram essa associação à ação direta da inflamação e aumento da fibrose extracelular cardíaca, e/ou a mecanismos secundários à resistência vascular periférica por hiperatividade simpática (18).

Anormalidades estruturais e funcionais do ventrículo esquerdo são identificadas precocemente em indivíduos com SM, cuja magnitude é proporcional ao número de componentes da síndrome (19). Um subestudo do *The Strong Heart Study*, com uma coorte de indígenas norte-americanos, comparou indivíduos com SM e um grupo

controle sem SM, diabetes ou doença cardiovascular estabelecida. O grupo com SM apresentou maiores dimensões, espessura parietal relativa e massa do ventrículo esquerdo, maior dimensão do átrio esquerdo, menor fração de ejeção e piores índices de função diastólica avaliada pela relação E/A (20). Apesar de haver discordância em relação à presença de alterações da função sistólica relacionadas a SM, a presença de alterações na função diastólica é consistente e independente da massa de ventrículo esquerdo (21,22), presença de diabetes e de HAS (23).

Deve-se ressaltar que disfunção diastólica associa-se a piora da capacidade funcional (24) e a aumento na mortalidade de aproximadamente duas vezes, independentemente das comorbidades associadas (25).

Disfunção diastólica

O enchimento e esvaziamento ventricular é um complexo ciclo interdependente conceitualmente dividido em duas fases: a sístole e a diástole. Essas fases podem ser afetadas por doenças diferentes ou por estágios diferentes de uma mesma doença (26). A diástole do ventrículo esquerdo começa com o fechamento da válvula aórtica. Então ocorre uma fase de relaxamento isovolumétrico até a abertura da válvula mitral, quando inicia uma fase de relaxamento ventricular ativo, conhecida como enchimento ventricular rápido, responsável pela maior parte do volume de enchimento ventricular. Segue-se uma fase de enchimento passivo, até a fase de sístole atrial, que contribui com até 15% do enchimento cardíaco em condições de normalidade (27). O término da diástole é marcado pelo fechamento da válvula mitral.

A avaliação da diástole permite inferência sobre o processo de relaxamento miocárdico, seu estado de complacência e sob qual pressão de enchimento esta fase ocorre. De uma forma geral, quanto maior o volume diastólico final do ventrículo

esquerdo, maior contração do músculo cardíaco e conseqüente volume ejetado. Em situações de sobrecarga hemodinâmica, onde é ultrapassado o limite compensatório de Frank-Starling, o ventrículo esquerdo passa a trabalhar sob uma pressão enchimento elevada desencadeando o processo adaptativo de remodelamento cardíaco (28).

A instalação do remodelamento cardíaco conseqüente à disfunção diastólica poderia ser sistematizada de forma simplificada em dois mecanismos: 1) injúria da matriz extracelular (MEC) que modifica o estado de relaxamento/complacência miocárdica e, 2) estresse hemodinâmico sistêmico, através do aumento da pressão de enchimento do ventrículo esquerdo.

1) Injúria da matriz extracelular

A MEC é uma estrutura dinâmica, formada por colágeno fibrilar e não-fibrilar, laminina, elastina, proteoglicanas e integrinas. O colágeno tipo I e III são os elementos predominantes no coração de um adulto. Além de servir como arcabouço para os cardiomiócitos e a vasculatura intramiocárdica, o colágeno fibrilar impede a distorção do órgão durante os ciclos cardíacos e participa do mecanismo de contração cardíaca. O colágeno tipo I é secretado pelos fibroblastos e miofibroblastos no interstício tecidual como pró-colágeno tipo I, ocorrendo uma série de reações enzimáticas até a formação final da fibra. Um dos metabólitos desta reação, o pró-peptídeo carboxi-terminal do procolágeno tipo I (PICP), tem sido utilizado como marcador de fibrogênese. O colágeno tipo III tem produção semelhante, mas não existe um marcador acurado da sua síntese. A fibra de colágeno tipo I, por ser mais densa, determina a tensão e a rigidez no músculo cardíaco, enquanto a fibra de colágeno tipo III, com seu padrão entrelaçado, determina a elasticidade e a complacência do músculo (29).

Uma maior resposta imune-inflamatória pode levar à injúria da MEC (29). Esse processo promove o aumento da síntese e diminuição da degradação dos diferentes tipos de colágeno, aumentando a fração de colágeno tipo I e alterando a composição e organização da MEC.

A fisiopatologia dessas modificações na MEC não é completamente conhecida, mas sabe-se que são moduladas por um desequilíbrio entre metaloproteinases e seus inibidores (30).

As metaloproteinases (MMPs) são enzimas cuja principal função é degradar e remover componentes da MEC e modular a síntese do colágeno. São sintetizadas como pré-proenzimas transformadas em proenzimas durante a transcrição celular, momento em que uma série de sinais fisiológicos (citocinas, fatores de crescimento e matricinas) pode modificar sua expressão (30). Parte das MMPs é liberada como enzima ativa, mas aproximadamente a metade delas é liberada na MEC como enzima quiescente. O mecanismo de ativação do zimogênio é um passo importante no mecanismo regulatório das MMPs. Existem 23 tipos de MMPs descritos em humanos, classificados de acordo com seu domínio catalítico e substratos de atuação. O controle principal da atividade das MMPs se faz por dois inibidores endógenos: alfa-2-macroglobulina, responsável por sua inibição plasmática, e os inibidores teciduais das metaloproteinases (TIMPs) (31,32).

As TIMPs são proteínas com 184-194 aminoácidos, subdivididas em quatro tipos (TIMP 1, 2, 3 e 4). A sua atividade inibitória ocorre ao ligar-se ao domínio catalítico das MMPs, impedindo o acesso dessas enzimas ao seu substrato. Além disso, podem ligar-se à forma inativa das MMPs, impedindo a sua transformação em enzima ativa e, ainda, atuar diretamente no estímulo à fibrogênese, independente da ação das

MMPs, por propriedades antiapoptóticas ou como fatores de crescimento de fibroblastos (31,32).

A avaliação do comportamento das MMPs/TIMPs permite o melhor entendimento da dinâmica da MEC no processo de remodelamento cardíaco. Estudos com cardiopatia hipertensiva, modelo clássico de disfunção diastólica, têm mostrado medidas plasmáticas variáveis de MMPs e TIMPs e conforme a fase evolutiva da doença. Tayebjee *et al* mostraram aumento de MMP9 e TIMP1 em hipertensos comparados a controles saudáveis. Os valores de TIMP1 se correlacionaram aos parâmetros do Doppler de disfunção diastólica (33). Martos *et al* mostraram que marcadores diretos da fibrogênese, assim como MMP2 e TIMP1, tinham valores gradualmente elevados conforme a intensidade da disfunção diastólica em hipertensos (34). Ahmed *et al*, comparando quatro grupos: controles saudáveis, HAS sem hipertrofia ventricular esquerda (HVE), HAS com HVE e HAS com HVE e IC, identificaram aumento de MMP 9 somente na presença de HVE e aumento de TIMP1 somente naqueles indivíduos com IC, sugerindo que TIMP1 poderia ser preditor da evolução da doença (35). Já Martos *et al*, em estudo mais recente, demonstraram elevação de MMP9 somente na HAS relacionada a IC, com valores de TIMP1 inalterados (36).

Em obesos existe um metabolismo anormal da MEC, expresso pelo aumento de MMP2 e MMP9 como mostrado por Derosa *et al* comparando obesos com controles saudáveis, sem diabetes, HAS, dislipidemia ou qualquer doença aterotrombótica (37). Indivíduos com diabetes tipo 2 também apresentam aumento de MMP2, MMP9, TIMP1 e TIMP2 (38,39).

Em estudo com indivíduos dislipidêmicos, sem outras comorbidades, comparados a controles saudáveis, verificou-se aumento de marcadores inflamatórios e pró-

trombóticos concomitantemente ao aumento de 30% dos níveis circulantes de TIMP2, de duas vezes de MMP2, de três vezes de TIMP1 e de dez vezes de MMP9 (40).

O comportamento desses marcadores de remodelamento na SM é pouco conhecido, sem estudos mostrando associação com variáveis ecocardiográficas. Aquilante *et al* mostraram aumento de MMP8 em um grupo com SM em relação a controles sadios (41) e Cicero *et al* relataram aumento de MMP9, TIMP1 e TIMP2 e valores inalterados de MMP2 relacionados a presença de SM (42). Outro estudo, com amostra exclusivamente feminina, encontrou elevação dos níveis circulantes MMP2 no grupo com SM, mas sem diferença nos níveis de MMP9 (43). O mais recente estudo, em que foi avaliada uma série de marcadores de remodelamento (pró-MMP2, pró-MMP9, MMP3, MMP8, TIMP1 e TIMP2) em dois grupos: 25 indivíduos com SM e 25 indivíduos sadios, houve aumento de pró-MMP9, MMP8 e TIMP1 relacionados à presença de SM, com associação desses valores ao aumento de mediadores pró-inflamatórios como a IL-6 (44).

A MMP9 ou gelatinase B foi bem estudada nos modelos de remodelamento miocárdico descritos acima. Essa MMP atua principalmente no processo de fibrinólise, embora também contribua, de forma paradoxal no processo de fibrogênese, sendo antes de tudo, um marcador de *turnover* de colágeno (29). Dentre seus inibidores endógenos, sua relação mais estudada é com a TIMP1.

2) Estresse Hemodinâmico

O sistema renina angiotensiona-aldosterona (SRAA) encontra-se hiperativado na obesidade e pode ser um elo de causalidade entre os componentes da SM. A angiotensina II (A-II), metabólito ativo desse sistema, além de produzida a partir do angiotensinogênio hepático, é expressa em outros tecidos como tecido adiposo,

pancreático e cerebral. No pâncreas, a A-II interfere na síntese e liberação da insulina. No tecido adiposo, a A-II induz hiperplasia e hipertrofia dos adipócitos, efeitos pró-inflamatórios e angiogênicos. A A-II adipocitária, secretada na circulação, aumenta o estresse hemodinâmico sistêmico, por vasoconstrição e expansão volêmica. Esses mecanismos podem contribuir para a HAS e resistência insulínica induzidas pela obesidade (45).

A associação entre SM e hiperatividade do sistema nervoso simpático (SNS) (46), também contribui para o maior estresse hemodinâmico nesta condição, por mecanismos como aumento da frequência cardíaca e vasoconstrição periférica.

O aumento do estresse hemodinâmico reflete-se em aumento do estresse parietal diastólico no miocárdio por sobrecarga de pressão e/ou volume. Esse é o principal estímulo a síntese e liberação dos peptídeos natriuréticos (47) que são, assim, marcadores da pressão de enchimento do ventrículo esquerdo. Seus valores aumentam de forma gradativa conforme a gravidade do processo (48).

2.1) Peptídeo atrial natriurético

O BNP, peptídeo natriurético tipo B, é produzido no miocárdio, com 2/3 dos seus níveis circulantes originados dos ventrículos, por sua maior massa tecidual. Durante a cardiogênese, o BNP é expresso nos miócitos, mas é pouco expresso ao longo da vida. Sua síntese e liberação podem ser estimuladas por estresse mecânico e hipertrofia muscular (47). Embora menos estudada, é descrita sua presença em fibroblastos cardíacos, onde participaria da dinâmica da MEC, com propriedades anti-fibróticas (49). É produzido de forma equimolar ao seu pro-hormônio, o pró-peptídeo natriurético tipo B N-terminal (NT-proBNP), cuja mensuração tem sido preferida pela

sua maior estabilidade *in vitro* e *clearance* mais prolongado, além de refletir alterações do hormônio antes de sua ligação aos receptores (47,50).

Como um marcador da pressão de enchimento do ventrículo esquerdo, mostra boa correlação com parâmetros ecocardiográficos (51,52). Ceyhan *et al* mostraram que, em pacientes hipertensos ambulatoriais, valores de NT-ProBNP > 119 pg/mL tinha uma sensibilidade de 87% e especificidade de 100% em predizer pressão elevada do ventrículo esquerdo estimada pela relação $E/E' > 15$ (53).

O BNP tem emergido como método simples de rastreamento na detecção de fases iniciais de aumento da pressão de enchimento do ventrículo esquerdo (52) e é um estabelecido marcador prognóstico de morbimortalidade cardiovascular (54).

Na obesidade tem sido descrita uma associação inversa entre índice de massa corpórea (IMC) e BNP, atribuída inicialmente ao maior *clearance* do BNP pelos adipócitos e corroborada por estudos de intervenção sobre a obesidade, que mostram aumento do BNP a partir da regressão da obesidade (55,56). Como o NT-proBNP possui o mesmo comportamento do BNP na obesidade, as alterações presentes devem ser na fase de síntese e/ou liberação do peptídeo (57,58).

Olsen *et al* estudando 4807 indivíduos, dos quais 418 tinham SM, mostraram uma relação inversa entre SM e NT-proBNP, atribuída à relação inversa com IMC, insulina, colesterol e triglicerídeos (59).

3) Ecocardiograma na avaliação da disfunção diastólica

O ecocardiograma permite avaliação da morfologia e funcionamento das estruturas cardíacas, permitindo inferências diagnósticas, terapêuticas e prognósticas das doenças cardiovasculares. As modalidades estabelecidas para avaliação morfológica são

o modo M e bidimensional (2D). O uso associado do Doppler permite avaliar o movimento do fluxo sanguíneo e das paredes do miocárdio.

A avaliação da função diastólica e pressão de enchimento do ventrículo esquerdo é parte fundamental do exame ecocardiográfico e pode ser quantificada por diferentes métodos descritos a seguir.

O Doppler transmitral permite identificar dois fluxos durante a diástole: a onda E, correspondente à fase de enchimento ventricular precoce que depende do gradiente pressórico entre o átrio e ventrículo esquerdos e a onda A, que representa a contração atrial. A relação entre onda E e onda A permite inferência sobre a diástole miocárdica e a pressão de enchimento do ventrículo esquerdo. A grande limitação é o padrão em forma de “U” da relação E/A que é diminuída na fase inicial da disfunção diastólica e aumentada na disfunção diastólica grave, mas apresenta valores equivalentes aos normais na disfunção diastólica moderada (fenômeno chamado de pseudonormalização), não permitindo diferenciar indivíduos saudáveis daqueles com disfunção diastólica e aumento da pressão de enchimento do ventrículo esquerdo. Entretanto, em associação a outros parâmetros do Doppler, essa limitação é superada (60).

O fluxo sistó-diastólico venoso pulmonar detecta precocemente o aumento da pressão de enchimento do ventrículo esquerdo, mas tem seu uso limitado pela difícil aquisição de imagem de alta qualidade pelo exame transtorácico (61,62). Descrições iniciais mostram aquisições adequadas em até 90% dos pacientes (63) com estudos posteriores mostrando percentuais entre 50 e 85% (64,65). A velocidade de propagação do fluxo intracavitário no ventrículo esquerdo pelo Color-M é outro método disponível, mas que se mostra inacurado em indivíduos com função sistólica preservada (61).

O Doppler tecidual do anel mitral avalia a movimentação do miocárdio durante a diástole, com inscrição de uma onda sistólica (onda S), um pico precoce e outro tardio da diástole (onda E' e A'), permitindo inferências sobre a diástole miocárdica e em conjunto com dados do Doppler transmitral, sobre a pressão de enchimento do ventrículo esquerdo. É usualmente medido nas paredes septal e lateral, com valores menores na região septal. Variações de aquisição, como ângulo de incidência do Doppler, ganhos e filtros interferem na acurácia desse parâmetro (60). A facilidade de aquisição e altas taxas de reprodutibilidades do Doppler transmitral e tecidual, os tornam preferenciais na avaliação da função diastólica na rotina clínica (64).

Cabe lembrar que alterações significativas na função diastólica e na pressão de enchimento do ventrículo esquerdo podem ser refletidas em alterações estruturais cardíacas. Os achados ecocardiográficos típicos dessas alterações são: aumento das espessuras parietais e da massa do ventrículo esquerdo, aumento do volume do átrio esquerdo e aumento da pressão sistólica na artéria pulmonar (60).

Os parâmetros ecocardiográficos mostram boa correlação com o padrão ouro para avaliação de função diastólica (cateterismo cardíaco), com a vantagem de ser um método não invasivo e com baixo custo (65).

RACIONAL PARA O ESTUDO

A alta prevalência da síndrome metabólica torna necessário o reconhecimento dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos no aumento do seu risco de cardiovascular. A disfunção diastólica é frequente nessa população e um fator de risco cardiovascular definido. O presente estudo pretende melhor entender os papéis relativos entre alterações intrínsecas teciduais e estresse hemodinâmico sistêmico no desenvolvimento da disfunção diastólica na SM, avaliados através de mediadores e marcadores séricos de remodelamento paralelamente a alterações na morfologia e no funcionamento cardíaco obtidas pelo ecocardiograma (**Figura 1**).

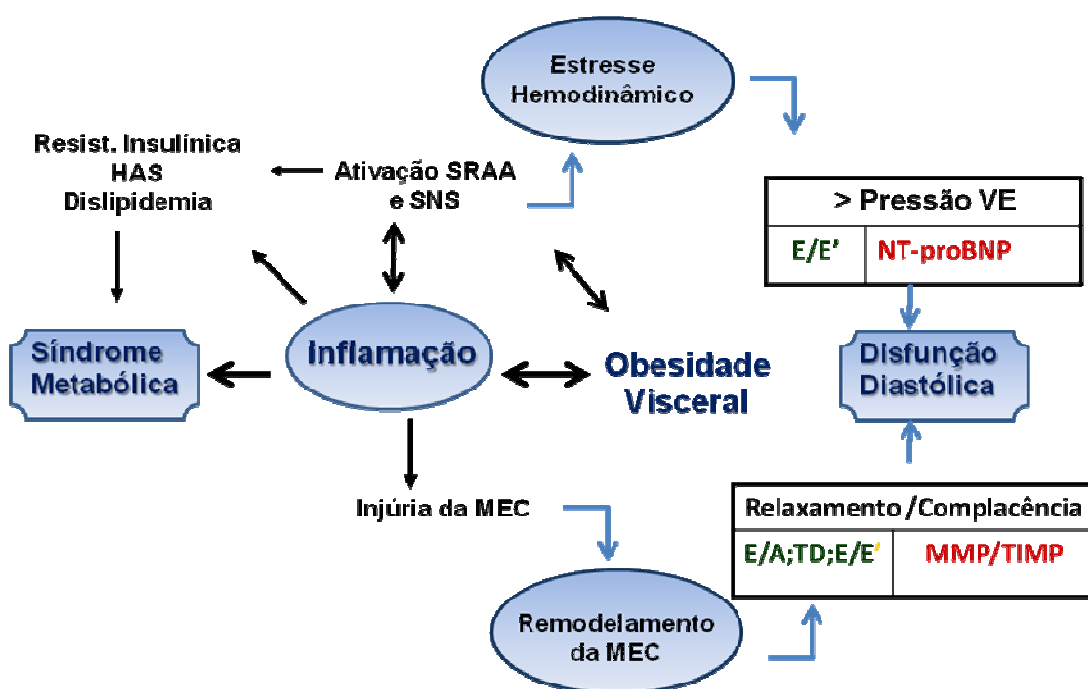


Figura 1 - Esquema conceitual da associação entre síndrome metabólica e disfunção diastólica.

REFERÊNCIAS

1. Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988;37:1595-1607.
2. Alberti KGMM, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, *et al.* Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* 2009;120:1640-1645.
3. Ford ES, Giles WH, Dietz WH. Prevalence of the Metabolic Syndrome Among US Adults: Findings From the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA* 2002;287:356-359.
4. Ford ES, Giles WH, Mokdad AH. Increasing Prevalence of the Metabolic Syndrome Among U.S. Adults. *Diabetes Care* 2004;27:2444-2449.
5. Oliveira EPD, Souza MLAD, Lima MDDAD. Prevalência de síndrome metabólica em uma área rural do semi-árido baiano [Prevalence of metabolic syndrome in a semiarid rural area in Bahia]. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2006;50:456-465.
6. Salaroli LB, Barbosa GC, Mill JG, Molina MC. Prevalência de síndrome metabólica em estudo de base populacional, Vitória, ES - Brasil [Prevalence of metabolic syndrome in population based study, Vitória, ES - Brazil]. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2007;51:1143-1152.
7. Lois K, Young J, Kumar S. Obesity; epiphenomenon or cause of metabolic syndrome? *Int J Clin Pract* 2008;62:932-938.
8. ATPIII. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP)

- Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* 2002;106:3143-3421.
9. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, *et al.* Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* 2005;112:2735-2752.
 10. Schmidt MI, Duncan BB. Diabesity: an inflammatory metabolic condition. *Clin Chem Lab Med* 2003;41:1120-1130.
 11. Lakka H, Laaksonen DE, Lakka TA, Niskanen LK, Kumpusalo E, Tuomilehto J, *et al.* The Metabolic Syndrome and Total and Cardiovascular Disease Mortality in Middle-aged Men. *JAMA* 2002;288:2709-2716.
 12. Gami AS, Witt BJ, Howard DE, Erwin PJ, Gami LA, Somers VK, *et al.* Metabolic syndrome and risk of incident cardiovascular events and death: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *J Am Coll Cardiol* 2007;49:403-414.
 13. Bayturan O, Tuzcu EM, Lavoie A, Hu T, Wolski K, Schoenhagen P, *et al.* The metabolic syndrome, its component risk factors, and progression of coronary atherosclerosis. *Arch Intern Med* 2010;170:478-484.
 14. Koskinen J, Magnussen CG, Taittonen L, Räsänen L, Mikkilä V, Laitinen T, *et al.* Arterial structure and function after recovery from the metabolic syndrome: the cardiovascular risk in Young Finns Study. *Circulation* 2010;121:392-400.
 15. Wang J, Sarnola K, Ruotsalainen S, Moilanen L, Lepistö P, Laakso M, *et al.* The metabolic syndrome predicts incident congestive heart failure: a 20-year follow-up study of elderly finns. *Atherosclerosis* 2010;210:237-242.
 16. Ingelsson E, Arnlöv J, Lind L, Sundström J. Metabolic syndrome and risk for heart failure in middle-aged men. *Heart* 2006;92:1409-1413.

17. Bahrami H, Bluemke DA, Kronmal R, Bertoni AG, Lloyd-Jones DM, Shahar E, *et al.* Novel metabolic risk factors for incident heart failure and their relationship with obesity: the MESA (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis) study. *J Am Coll Cardiol* 2008;51:1775-1783.
18. Suzuki T, Katz R, Jenny NS, Zakai NA, LeWinter MM, Barzilay JI, *et al.* Metabolic syndrome, inflammation, and incident heart failure in the elderly: the cardiovascular health study. *Circ Heart Fail* 2008;1:242-248.
19. Wong CY, O'Moore-Sullivan T, Fang ZY, Haluska B, Leano R, Marwick TH. Myocardial and Vascular Dysfunction and Exercise Capacity in the Metabolic Syndrome. *The American Journal of Cardiology* 2005;96:1686-1691.
20. Chinali M, Devereux RB, Howard BV, Roman MJ, Bella JN, Liu JE, *et al.* Comparison of cardiac structure and function in American Indians with and without the metabolic syndrome (the Strong Heart Study) , *The American Journal of Cardiology* 2004;93:40-44.
21. Masugata H, Senda S, Goda F, Yoshihara Y, Yoshikawa K, Fujita N, *et al.* Left ventricular diastolic dysfunction as assessed by echocardiography in metabolic syndrome. *Hypertens Res* 2006;29:897-903.
22. de las Fuentes L, Brown AL, Mathews SJ, Waggoner AD, Soto PF, Gropler RJ, *et al.* Metabolic syndrome is associated with abnormal left ventricular diastolic function independent of left ventricular mass. *Eur Heart J* 2007;28:553-559.
23. Aijaz B, Ammar KA, Lopez-Jimenez F, Redfield MM, Jacobsen SJ, Rodeheffer RJ. Abnormal cardiac structure and function in the metabolic syndrome: a population-based study. *Mayo Clin Proc* 2008;83:1350-1357.
24. Poirier P, Garneau C, Bogaty P, Nadeau A, Marois L, Brochu C, *et al.* Impact of left ventricular diastolic dysfunction on maximal treadmill performance in normotensive

- subjects with well-controlled type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 2000;85:473-477.
25. Achong N, Wahi S, Marwick TH. Evolution and outcome of diastolic dysfunction. *Heart* 2009;95:813-818.
 26. Otto, Catherine M. CM. Ventricular Diastolic Filling and Function. In: Textbook of Clinical Echocardiography. Philadelphia: Elsevier/Saunders; 2009:157-181.
 27. Alnabhan N, Kerut EK, Geraci SA, McMullan MR, Fox E. An approach to analysis of left ventricular diastolic function and loading conditions in the echocardiography laboratory. *Echocardiography* 2008;25:105-116.
 28. Opie LH. Mechanisms of Cardiac Contraction and Relaxion. In: Braunwald's Heart Disease:a Textbook of cardiovascular medicine. Philadelphia: Elsevier/ Saunders; 2005:473-482.
 29. López B, González A, Díez J. Circulating biomarkers of collagen metabolism in cardiac diseases. *Circulation* 2010;121:1645-1654.
 30. Li YY, McTiernan CF, Feldman AM. Interplay of matrix metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases and their regulators in cardiac matrix remodeling. *Cardiovasc Res* 2000;46:214-224.
 31. Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc Res* 2006;69:562-573.
 32. Spinale FG. Myocardial matrix remodeling and the matrix metalloproteinases: influence on cardiac form and function. *Physiol Rev* 2007;87:1285-1342.
 33. Tayebjee MH, Nadar SK, MacFadyen RJ, Lip GY. Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and matrix metalloproteinase-9 levels in patients with hypertension: Relationship to tissue Doppler indices of diastolic relaxation. *American Journal of Hypertension* 2004;17:770-774.

34. Martos R, Baugh J, Ledwidge M, O'Loughlin C, Conlon C, Patle A, *et al.* Diastolic heart failure: evidence of increased myocardial collagen turnover linked to diastolic dysfunction. *Circulation* 2007;115:888-895.
35. Ahmed SH, Clark LL, Pennington WR, Webb CS, Bonnema DD, Leonardi AH, *et al.* Matrix Metalloproteinases/Tissue Inhibitors of Metalloproteinases: Relationship Between Changes in Proteolytic Determinants of Matrix Composition and Structural, Functional, and Clinical Manifestations of Hypertensive Heart Disease. *Circulation* 2006;113:2089-2096.
36. Martos R, Baugh J, Ledwidge M, O'Loughlin C, Murphy NF, Conlon C, *et al.* Diagnosis of heart failure with preserved ejection fraction: improved accuracy with the use of markers of collagen turnover. *Eur J Heart Fail* 2009;11:191-197.
37. Derosa G, Ferrari I, D'Angelo A, Tinelli C, Salvadeo SAT, Ciccarelli L, *et al.* Matrix Metalloproteinase-2 and -9 Levels in Obese Patients. *Endothelium* 2008;15:219-224.
38. Derosa G, D'Angelo A, Scalise F, Avanzini MA, Tinelli C, Peros E, *et al.* Comparison between metalloproteinases-2 and -9 in healthy subjects, diabetics, and subjects with acute coronary syndrome. *Heart Vessels* 2007;22:361-370.
39. Lee SW, Song KE, Shin DS, Ahn SM, Ha ES, Kim DJ, *et al.* Alterations in peripheral blood levels of TIMP-1, MMP-2, and MMP-9 in patients with type-2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2005;69:175-179.
40. Derosa G, Maffioli P, D'Angelo A, Salvadeo SAT, Ferrari I, Fogari E, *et al.* Evaluation of metalloproteinase 2 and 9 levels and their inhibitors in combined dyslipidemia. *Clin Invest Med* 2009;32:124-132.
41. Aquilante CL, Beitelshees AL, Zineh I. Correlates of serum matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) concentrations in nondiabetic subjects without

- cardiovascular disease. *Clin Chim Acta* 2007;379:48-52.
42. Cicero AFG, Derosa G, Manca M, Bove M, Borghi C, Gaddi AV. Vascular remodeling and prothrombotic markers in subjects affected by familial combined hyperlipidemia and/or metabolic syndrome in primary prevention for cardiovascular disease. *Endothelium* 2007;14:193-198.
43. Miksztowicz V, Muzzio ML, Royer M, Prada M, Wikinski R, Schreier L, *et al.* Increased plasma activity of metalloproteinase 2 in women with metabolic syndrome. *Metab Clin Exp* 2008;57:1493-1496.
44. Gonçalves FM, Jacob-Ferreira ALB, Gomes VA, Casella-Filho A, Chagas ACP, Marcaccini AM, *et al.* Increased circulating levels of matrix metalloproteinase (MMP)-8, MMP-9, and pro-inflammatory markers in patients with metabolic syndrome. *Clin Chim Acta* 2009;403:173-177.
45. de Kloet AD, Krause EG, Woods SC. The renin angiotensin system and the metabolic syndrome. *Physiol Behav* 2010;100:525-534.
46. Huggett RJ, Burns J, Mackintosh AF, Mary DASG. Sympathetic neural activation in nondiabetic metabolic syndrome and its further augmentation by hypertension. *Hypertension* 2004;44:847-852.
47. Omland T, Hagve T. Natriuretic peptides: physiologic and analytic considerations. *Heart Fail Clin* 2009;5:471-487.
48. Grewal J, McKelvie R, Lonn E, Tait P, Carlsson J, Gianni M, *et al.* BNP and NT-proBNP predict echocardiographic severity of diastolic dysfunction. *Eur. J. Heart Fail* 2008;10:252-259.
49. Tsuruda T, Boerrigter G, Huntley BK, Noser JA, Cataliotti A, Costello-Boerrigter LC, *et al.* Brain natriuretic Peptide is produced in cardiac fibroblasts and induces matrix metalloproteinases. *Circ Res* 2002;91:1127-1134.

50. Mair J. Biochemistry of B-type natriuretic peptide--where are we now? *Clin. Chem Lab Med* 2008;46:1507-1514.
51. Mak GS, DeMaria A, Clopton P, Maisel AS. Utility of B-natriuretic peptide in the evaluation of left ventricular diastolic function: comparison with tissue Doppler imaging recordings. *Am Heart J* 2004;148:895-902.
52. Dokainish H. Combining tissue Doppler echocardiography and B-type natriuretic peptide in the evaluation of left ventricular filling pressures: review of the literature and clinical recommendations. *Can J Cardiol* 2007;23:983-989.
53. Ceyhan C, Unal S, Yenisey C, Tekten T, Ceyhan FBO. The role of N terminal pro-brain natriuretic peptide in the evaluation of left ventricular diastolic dysfunction: correlation with echocardiographic indexes in hypertensive patients. *Int J Cardiovasc Imaging* 2008;24:253-259.
54. Rogers RK, May HT, Anderson JL, Muhlestein JB. Prognostic value of B-type natriuretic peptide for cardiovascular events independent of left ventricular end-diastolic pressure. *Am Heart J* 2009;158:777-783.
55. Wang TJ, Larson MG, Levy D, Benjamin EJ, Leip EP, Wilson PWF, *et al.* Impact of obesity on plasma natriuretic peptide levels. *Circulation* 2004;109:594-600.
56. St Peter JV, Hartley GG, Murakami MM, Apple FS. B-type natriuretic peptide (BNP) and N-terminal pro-BNP in obese patients without heart failure: relationship to body mass index and gastric bypass surgery. *Clin Chem* 2006;52:680-685.
57. Bayes-Genis A, DeFilippi C, Januzzi JL. Understanding amino-terminal pro-B-type natriuretic peptide in obesity. *Am J Cardiol* 2008;101:89-94.
58. Taylor JA, Christenson RH, Rao K, Jorge M, Gottlieb SS. B-type natriuretic peptide and N-terminal pro B-type natriuretic peptide are depressed in obesity despite higher left ventricular end diastolic pressures. *Am Heart J* 2006;152:1071-1076.

59. Olsen MH, Hansen TW, Christensen MK, Gustafsson F, Rasmussen S, Wachtell K, *et al.* N-terminal pro brain natriuretic peptide is inversely related to metabolic cardiovascular risk factors and the metabolic syndrome. *Hypertension* 2005;46:660-666.
60. Nagueh SF, Appleton CP, Gillebert TC, Marino PN, Oh JK, Smiseth OA, *et al.* Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2009;22:107-133.
61. Nagueh SF. Echocardiographic assessment of left ventricular relaxation and cardiac filling pressures. *Curr Heart Fail Rep* 2009;6:154-159.
62. Tabata T, Thomas JD, Klein AL. Pulmonary venous flow by doppler echocardiography: revisited 12 years later. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:1243-1250.
63. Jensen JL, Williams FE, Beilby BJ, Johnson BL, Miller LK, Ginter TL, *et al.* Feasibility of obtaining pulmonary venous flow velocity in cardiac patients using transthoracic pulsed wave Doppler technique. *J Am Soc Echocardiogr* 1997;10:60-66.
64. Bess RL, Khan S, Rosman HS, Cohen GI, Allebban Z, Gardin JM. Technical aspects of diastology: why mitral inflow and tissue Doppler imaging are the preferred parameters? *Echocardiography* 2006;23:332-339.
65. Ommen SR, Nishimura RA, Appleton CP, Miller FA, Oh JK, Redfield MM, *et al.* Clinical utility of Doppler echocardiography and tissue Doppler imaging in the estimation of left ventricular filling pressures: A comparative simultaneous Doppler-catheterization study. *Circulation* 2000;102:1788-1794.

Artigo original para publicação

Left ventricular diastolic function and cardiac matrix remodeling in patients with the metabolic syndrome and diabetes

Angela B. S. Santos^{(1) (2)}, Mauricio Junges^{(1) (2)}, Daiane Silvello⁽²⁾, Adriana Macari⁽²⁾, Bruno A. Schneider⁽²⁾, Beatriz G. Seligman⁽²⁾, Bruce B. Duncan⁽²⁾, Nadine Clausell^{(1) (2)}, Murilo Foppa^{(1) (2)}

⁽¹⁾ Cardiology Division, Hospital de Clínicas de Porto Alegre,

⁽²⁾ Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

Abbreviated title: Diastole, Cardiac Matrix, and Met Syndrome

Keywords: Metabolic syndrome, diastolic function, echocardiography, extracellular matrix.

Word Count: 2603

Corresponding author:

Angela Barreto Santiago Santos

Hospital de Clinicas de Porto Alegre - Cardiology Division

Rua Ramiro Barcelos, 2350 Room 2061 90035-903 – Porto Alegre – RS – Brazil

FAX +55 51 33111230;

angelabssantos@yahoo.com.br

Disclosure Statement: The authors have nothing to disclose.

Supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (N° 483224/2007-3) and FIPE (Hospital de Clinicas Research Fund – N°07448) research grants.

Precis: Diastolic dysfunction is prevalent in metabolic syndrome, mostly attributed to blood pressure, but direct effects on extracellular matrix can be present, possibly mediated by inflammation.

Abstract

Context: Diastolic dysfunction is prevalent in the metabolic syndrome, and cardiac and systemic adaptive mechanisms associated with the syndrome may be involved in its pathogenesis.

Objective: The aim of our study is to compare diastolic function measured by echocardiography and circulating markers of cardiac remodeling in 3 groups – patients with the metabolic syndrome (MS), patients with type 2 diabetes (DM), and healthy volunteers (CTR).

Design: We enrolled subjects aged 30-55 years in three groups: obese with the MS (n=76), DM (n=17) and CTR (n=30). We performed clinical and echocardiography evaluation, assessed metabolic parameters, metalloproteinase-9 (MMP9), plasma tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP1) and natriuretic peptide (NT-proBNP).

Results: We found a progressive pattern toward diastolic dysfunction going from healthy controls to diabetic patients, as shown by increasing age-adjusted peak mitral A wave velocities ($P<0.001$) and age-adjusted E/E' ratios ($P=0.005$). After systolic blood pressure adjustment, E/E' ratio still progressively increased across groups, although no longer statistically significantly so ($P=0.11$). Age-adjusted levels of MMP9 were higher in MS and DM ($P=0.02$); and TIMP1 were higher in DM ($P=0.01$), independent of the other metabolic components. NT-proBNP levels were not statistically different between groups. MMP9 correlated with plasma C-reactive protein and body mass index ($r=0.21$; $P=0.02$ and $r=0.22$; $P=0.01$ respectively); and TIMP1 with left ventricular mass ($r=0.19$; $P=0.04$).

Conclusion: Although blood pressure levels appears to explain much of the altered diastolic function in the metabolic syndrome, direct metabolic syndrome effects on cardiac extracellular matrix, as indicated by higher MMP9 levels, could also be influencing diastolic function.

Introduction

The metabolic syndrome, a combination of several risk factors associated with cardiovascular disease and type 2 diabetes, is highly prevalent (around 35% in reported adult populations) (1,2). The causal factors leading to the development of the syndrome are not fully understood (3). Also, whether myocardial changes seen in metabolic syndrome are exclusively adaptive consequences of systemic effects of syndrome components or direct myocardial effects may be acting through subjacent specific mechanisms is unclear.

Diastolic dysfunction is prevalent in patients with the metabolic syndrome, even in the absence of hypertension and diabetes (4), regardless of left ventricular mass (5,6). It predicts worse outcomes independently of other co-morbidities (7). In the metabolic syndrome, abnormalities in diastole are mainly attributed to increased hemodynamic stress, which is particularly driven by sympathetic activity and the renin-angiotensin-aldosterone system (8,9). This would lead to cardiac injury because of increased afterload and left ventricular filling pressures with consequent increased natriuretic peptide (NT-proBNP) synthesis (10).

Diastolic dysfunction could alternatively be secondary to changes in the cardiac extracellular matrix resulting directly from the altered metabolic-inflammatory milieu and contributing to adverse ventricular remodeling (11). Matrix metabolism, tightly regulated by the interaction of metalloproteinases (MMPs) with plasma tissue inhibitors of metalloproteinase (TIMPs), which govern collagen turnover, might thus influence ventricular relaxation and compliance (12).

Concomitant analysis of echocardiographic parameters of diastolic function and of biological markers of remodeling such as MMPs and TIMPs, as well as NT-proBNP, across a spectrum of metabolic dysfunction may help to clarify how underlying processes are involved in the progression of cardiovascular abnormalities associated with the metabolic syndrome. Presently, the roles of MMP/TIMPs and of NT-proBNP in the context of the metabolic syndrome, as well as their relationship with the echocardiographic parameters of diastolic function, remain poorly explored.

We, thus, investigated echocardiographic parameters of diastolic function, circulating levels of MMP9, TIMP1 and NT-proBNP and the association between them in patients with the metabolic syndrome compared to healthy volunteers and patients with diabetes, aiming to represent a wider spectrum of dysmetabolic state.

Subjects and Methods

Study population

We enrolled subjects between 30-55 years old in three distinct groups: the metabolic syndrome (MS), type 2 diabetes (DM) and healthy controls (CTR), in this cross-sectional study. The metabolic syndrome group consisted of individuals participating in a trial, our measurements being obtained prior to intervention. Eligibility criteria were body mass index (BMI) ≥ 30 kg/m² and ≤ 40 kg/m² plus waist circumference ≥ 95 cm and at least two other metabolic syndrome criteria according to the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (NCEP/ATP III) (13), without diabetes by oral glucose tolerance test (OGTT). The type 2 diabetes group consisted of patients receiving oral hypoglycemic treatment free of established cardiovascular disease, recruited from the endocrinology outpatient clinic of our institution. Controls consisted of recruited locally healthy subjects. Those with diabetes and healthy controls were frequency matched by age-group and gender to the metabolic syndrome group. Exclusion criteria were pregnancy, lactation, creatinine ≥ 1.5 mg/dL, musculoskeletal, inflammatory or chronic diseases, liver or thyroid dysfunction and, corticosteroid or anorectics use. Out of 471 metabolic syndrome patients initially recruited, 76 were randomized. All of these as well as all recruited patients with diabetes and healthy controls participated. The study was approved by the Institutional Ethics and Research Committee and all participants provided written informed consent prior to enrolment.

Clinical assessment

Blood pressure and heart rate were obtained in triplicate after five minutes at rest with an aneroid sphygmomanometer (Tycos, Welch Allyn, USA) and their average reported. Height

was measured by a wall mounted stadiometer, and weight by an electronic scale with patients in light clothes without shoes. Waist was measured midway between the costal border and the iliac crest.

Biochemical analysis

Blood samples were collected in fasting state. Insulin was measured by electrochemiluminescence (Roche, Switzerland). Ultra-sensitivity plasma C-reactive protein (us-CRP) was measured by immunonephelometry (Roche, Switzerland). Lipid profile was enzymatically measured (Roche, Switzerland) with LDL-cholesterol being calculated according to Friedewald formula whenever triglycerides were below 400 mg/dL. Homeostasis model assessment for insulin resistance (HOMA-IR) was calculated as fasting insulin (mU/L) x fasting glucose (mmol/L)/22.5 (14). Coefficients of variation for these analyzes were all below 6%.

Echocardiographic exam

Images were obtained using an EnVisor C HD ultrasound system (Philips Medical, Andover, MA, USA), equipped with a 4 to 2 MHz sectorial transducer. Cine loops and static images were digitally recorded, including M-mode, 2-dimensional, and Doppler modalities, according to a specific protocol. Images were read off-line in a dedicated workstation (ComPACS, Medimatic Srl, Italy) by a single investigator.

Left ventricle (LV) internal dimension, septum and posterior wall thicknesses were measured on paraesternal longitudinal bidimensional images. Left atrial (LA) volume was measured at the end-ventricular systole from apical 4-chamber views just before the mitral valve opening. Body surface area indexation was performed when appropriate.

Diastolic function was evaluated from mitral inflow Doppler measurements which included maximum early flow velocity in diastole (E), maximum late velocity flow in diastole (A) and the deceleration time of the early mitral filling wave (DT). Peak early (E') and late (A') tissue Doppler velocities were assessed at the mitral annulus, considering values as the average

of septal and lateral wall measurements. From these measurements, we calculated the E/A ratio (15) and also the E/E' ratio as surrogates of mean LA pressure (16).

Left ventricle volumes and ejection fraction were calculated by the Teichholz formula. Left ventricle mass was calculated according to the American Society Echocardiography formula (17) and indexed to body height to the power of 2.7 (18). Relative wall thickness (RWT) was defined as (septum + posterior wall thickness)/LV diastolic diameter. We also performed additional LV functional analysis calculating the Doppler derived cardiac index from the LV outflow tract stroke volume.

All measurements and the definition of relevant cut-offs were performed according to recommendations from the American Society of Echocardiography using an average of up to 3 consecutive cardiac cycles (17,19). Intrareader coefficients of variation of echocardiographic measurements ranged from 8% to 13%.

ELISA assays

Fasting venous blood samples (15 mL) were collected in ethylenediamine tetraacetic acid-containing tubes. Samples were immediately centrifuged at 4°C at 3,000 g during 20 min and plasma was stored frozen at -70°C for subsequent blind analyses performed simultaneously for all samples.

Levels of MMP9 and of TIMP1 were measured in duplicate using commercially available ELISA kits (R & D Systems, Minneapolis, MN, USA). Sensitivity for the MMP9 assay was < 0.156 ng/mL and TIMP1 assay was < 0.08 ng/mL, with mean intra- and interassay coefficients of variation of 6% and 10% respectively. Levels of NT-proBNP were measured using ELISA kits (Roche Diagnostic, France). Sensitivity for this assay was < 0.6 pmol/L with mean intra- and interassay coefficients of variation of 1.9% and 3.1% respectively.

Statistical analysis

Results are expressed as mean and SD, or as percentages. Groups were compared using Chi-square or ANOVA, adjusted for relevant covariates, utilizing the Tukey ad-hoc test when

appropriate. Pearson and Spearman correlation coefficients were used to characterize associations between continuous variables.

We estimated sample size at 72 metabolic syndrome patients and 36 controls, using an alpha value of 0.05 and power of 0.8, considering an effect size of 0.5 standard deviations, close to that found in two related studies. Those of Tayebjee *et al* (20) who compared MMP9 and diastolic function in hypertensive and control patients and de las Fuentes *et al.* (5) who compared diastolic function by echocardiography between metabolic syndrome and control subjects.

P values of <0.05 were considered statistically significant. All analyses were performed using the SPSS software package (SPSS 15.0 Inc USA).

Results

Clinical characteristics

We enrolled 123 individuals in the study: 76 patients with the metabolic syndrome (43.3±7.9 years old, 65% male); 17 with type 2 diabetes (54.2±7.2 years old, 53% male) and 30 control subjects (40.9±6.6 years old, 63% male). Clinical and laboratorial characteristics of the three groups are shown in Table 1. Overall, patients with diabetes were older and the metabolic syndrome group had, on average, increased weight and heart rate. Metabolic syndrome individuals had intermediate values of systolic blood pressure and insulin resistance (HOMA-IR) between controls and patients with diabetes. Inflammatory activity as measured by us-CRP was higher in metabolic syndrome and type 2 diabetes groups.

Echocardiographic parameters

Left ventricle diastolic diameter adjusted by body surface area did not differ between groups, but indexed LV mass was higher in both MS and DM groups, and RWT was higher in patients with DM. Systolic function as measured by ejection fraction and cardiac index did not differ across groups (Table 2).

A progressive pattern toward diastolic dysfunction was present across the three groups. Although age-adjusted peak mitral E wave velocity (Fig 1A) and deceleration time did not differ, age-adjusted peak mitral A wave velocity progressively increased (CTR=55.4cm/s (95%CI, 50.8 to 60.0cm/s); MS=64.0cm/s (95%CI, 61.0 to 66.9 cm/s); DM=74.8cm/s (95%CI, 68.1 to 81.5cm/s); $P<0.001$) (Fig 1B), though not so much as to produce a statistically significant difference in the E/A ratio (Fig 1C; $P=0.14$).

Tissue Doppler analysis was not performed in the initial 23 participants in the MS group. For the subsequent participants who had this data collected, age-adjusted tissue Doppler peak E' wave velocities progressively decreased, though not statistically significantly so (CTR=13.5cm/s (95%CI, 12.6 to 14.3cm/s); MS=12.3cm/s (95%CI, 11.6 to 13.0cm/s); DM=12.8cm/s (95%CI, 11.5 to 14.1cm/s); $P=0.10$), which was reflected in increasing E/E' ratios (CTR=5.42cm/s (95%CI, 4.92 to 5.92cm/s); MS=6.34cm/s (95%CI, 5.94 to 6.74cm/s); DM=6.77cm/s (95%CI, 6.03 to 7.51cm/s); $P=0.005$), after age adjustment (Figure 1D). After additional adjustment for systolic blood pressure, differences E/E' ratio were not statistically significant ($P=0.10$). There were no significant associations between these echocardiographic parameters and the other components of metabolic syndrome – waist circumference, plasma glucose, HDL-C, triglycerides and BMI.

Circulating biomarkers

Age-adjusted levels of MMP9 were higher in the metabolic syndrome and diabetes (CTR=333ng/mL (95%CI, 250 to 416ng/mL); MS=499ng/mL (95%CI, 447 to 550ng/mL); DM=485ng/mL (95%CI, 367 to 603ng/mL); $P=0.004$) (Fig 2A), while age-adjusted levels of TIMP1 were increased only in patients with diabetes (CTR=221ng/mL (95%CI, 200 to 243ng/mL); MS=210ng/mL (95%CI, 197 to 223ng/mL); DM=263ng/mL (95%CI, 232 to 294ng/mL); $P=0.009$) (Fig 2B). Although not statistically different between groups, NT-proBNP levels showed a similar tendency (CTR=24.5pg/mL (95%CI, 16.2 to 32.8pg/mL); MS=29.3pg/mL (95%CI, 24.2 to 34.5pg/mL); DM=32.9pg/mL (95%CI, 21.0 to 44.8pg/mL); $P=0.483$) (Fig 2C).

MMP9 correlated with increased TIMP1 levels ($r=0.413$; $P<0.001$) and weakly correlated with increased us-CRP concentrations ($r=0.21$; $P=0.02$) as well as body mass index values ($r=0.22$; $P=0.012$). Levels of TIMP1 correlated with increased indexed LV mass ($r=0.19$; $P=0.04$).

No correlation was found for MMP9 and TIMP1 with NT-proBNP ($r=0.018$; $P=0.842$ and $r=0.003$; $P=0.978$ respectively) nor with echocardiographic parameters of diastolic function as peak mitral A wave velocity (MMP9 $r=0.121$; $P=0.195$ and TIMP1 $r=0.122$; $P=0.191$) or E/E' ratio (MMP9 $r=0.081$; $P=0.451$ and TIMP1 $r=0.114$; $P=0.288$) not even metabolic components. Concentrations of us-CRP were associated with indexed LV mass and peak mitral A wave velocity ($r=0.221$; $P=0.016$ and $r=0.199$; $P=0.032$, respectively).

Discussion

In this study, we demonstrated that although blood pressure levels appears to explain much of the altered diastolic function in the metabolic syndrome, direct metabolic syndrome effects on cardiac extracellular matrix, as indicated by higher MMP9 levels, could also be influencing diastolic function.

We also found, in accordance with previous studies, that the metabolic syndrome is associated with increased LV mass and changes in echocardiographically measured diastolic function, while LV systolic function is preserved (5,6,21). The observed progressive pattern of increasing peak mitral A wave velocity and decreasing tissue Doppler E' wave, with no difference in the peak mitral E velocity relative to the degree of metabolic dysfunction, reflected in progressive values of E/E' ratio were similar to that showed by de las Fuentes *et al* (5). However, after adjustment for blood pressure, only the increasing A wave velocity maintained statistical significance.

The increased hemodynamic stress described in metabolic syndrome was seen in our study as higher levels of heart rate, blood pressure, systolic work and end-systolic stress. The progressive pattern of E/E' ratio among groups could indicate an increase in preload. Nevertheless, the magnitude of the difference was not reflected in statistically significantly

higher NT-proBNP levels. This aspect reinforces the hypothesis that adaptive mechanisms beyond hemodynamics may play a role in the altered diastolic function demonstrated in this study.

Metabolism of extracellular matrix is an important determinant of relaxation and LV stiffness (11). We found increased levels of MMP9 in the metabolic syndrome and in the type 2 diabetes groups, while TIMP1 was increased only in the latter group. Activity of MMP-9 could favor the degradation of other extracellular matrix components (i.e. gelatin, proteoglycans collagens IV, V, VII fibronectin, elastin) over collagen type I, increasing tissue concentration of the latter, and contributing to increased cardiac extracellular matrix stiffness. The finding of increased TIMP-1 levels (an endogenous inhibitor of MMP-9) only in the type 2 diabetes group could represent a further advanced stage of extracellular matrix remodeling in which TIMP-1 is activated to prevent further type I collagen breakdown by MMPs (20). Levels of TIMP1 have been associated with echocardiographic evidence of diastolic dysfunction (22), although we did not find this relationship in our study. Gonçalves *et al* (23) studied 25 patients with metabolic syndrome and 25 healthy controls, and found increased levels of both MMP9 and TIMP1 in the first group; however, metabolic syndrome patients in their study seemed to present a more advanced dysmetabolic status than ours, which could explain the differences in findings. We did observe a weak positive correlation between levels of MMP9 with body mass index and with us-CRP, even after blood pressure adjustment, reinforcing the notion that obesity and the associated low grade inflammatory state could act directly in cardiac relaxation and compliance, independently of hemodynamic mechanisms.

Thus, our findings, although limited, could be reflecting an increased matrix turnover state, possibly through a direct cardiac effect of the underlying pathogenic mechanisms of the metabolic syndrome, which could contribute to diastolic dysfunction.

Our study has some limitations. We intended to interpret multifactorial mechanisms based on a limited subset of noninvasive markers. The relatively narrow range of difference between groups may have been responsible for the lack of statistical significance in some associations; however, tendencies were consistently in the direction suggested by our

hypothesis, and findings in general were consistent with those previously reported in the literature. We aimed to study patients across a wide range of metabolic dysfunction by including diabetic patients, however, the achieved type 2 diabetes group sample size was limited, and patients were older. Age is known to influence diastolic function (24); then the echocardiographic parameters and circulating biomarkers were adjusted by age. Finally, although echocardiographic acquisition was not group blinded, measurements were made off-line at a later date, minimizing potential bias.

In conclusion, in this study we have shown that the metabolic syndrome is associated with increased levels of MMP9, indicating that an alteration in enzymes involved in cardiac extracellular matrix remodeling is present. This change is possibly mediated by mechanisms such as obesity and inflammatory activity, and was more pronounced in patients with diabetes, although it was not directly associated to echocardiographic parameters of diastolic dysfunction. Furthermore, associations with diastolic function decreased considerably with adjustment for blood pressure, suggesting that diastolic dysfunction in the metabolic syndrome may, in large part, be the adaptive consequence to differences in blood pressure levels across the groups. Further investigation of the direct effects on the heart of the inflammatory and metabolic processes, associated with the metabolic syndrome and diabetes, is needed to elucidate the pathophysiologic processes, leading to diastolic dysfunction, as the resulting understanding may help point the way to more focused interventions, aiming to prevent the development of clinically relevant cardiovascular events.

References

1. **Ford ES** 2005 Prevalence of the Metabolic Syndrome Defined by the International Diabetes Federation Among Adults in the U.S. *Diabetes Care* 28:2745-2749
2. **Ford ES, Li C, Zhao G** 2010 Prevalence and correlates of metabolic syndrome based on a harmonious definition among adults in the US. *J Diabetes* 2:180-193
3. **Alberti KGMM, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, Fruchart JC, James WPT, Loria CM, Smith Jr SC.** 2009 Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* 120:1640-1645
4. **Aijaz B, Ammar KA, Lopez-Jimenez F, Redfield MM, Jacobsen SJ, Rodeheffer RJ** 2008 Abnormal cardiac structure and function in the metabolic syndrome: a population-based study. *Mayo Clin. Proc* 83:1350-1357
5. **de las Fuentes L, Brown AL, Mathews SJ, Waggoner AD, Soto PF, Gropler RJ, Dávila-Román VG.** 2007 Metabolic syndrome is associated with abnormal left ventricular diastolic function independent of left ventricular mass. *Eur. Heart J.* 28:553-559
6. **Masugata H, Senda S, Goda F, Yoshihara Y, Yoshikawa K, Fujita N, Daikuhara H, Nakamura H, Taoka T, Kohno MI** 2006 Left ventricular diastolic dysfunction as assessed by echocardiography in metabolic syndrome. *Hypertens. Res.* 29:897-903.
7. **Achong N, Wahi S, Marwick TH** 2009 Evolution and outcome of diastolic dysfunction. *Heart.* 95:813-818.
8. **Huggett RJ, Burns J, Mackintosh AF, Mary DASG** 2004 Sympathetic neural activation in nondiabetic metabolic syndrome and its further augmentation by hypertension. *Hypertension* 44:847-852.
9. **de Kloet AD, Krause EG, Woods SC** 2010. The renin angiotensin system and the metabolic syndrome. *Physiol. Behav.* 100:525-534
10. **Ceyhan C, Unal S, Yenisey C, Tekten T, Ceyhan FBO** 2008 The role of N terminal pro-

- brain natriuretic peptide in the evaluation of left ventricular diastolic dysfunction: correlation with echocardiographic indexes in hypertensive patients. *Int J Cardiovasc Imaging* 24:253-259
11. **López B, González A, Díez J** 2010 Circulating biomarkers of collagen metabolism in cardiac diseases. *Circulation* 121:1645-1654
 12. **Li YY, McTiernan CF, Feldman AM** 2000 Interplay of matrix metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases and their regulators in cardiac matrix remodeling. *Cardiovasc. Res* 46:214-224
 13. **Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report** 2002 *Circulation* 106:3143-3421
 14. **Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC.** 1985 Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia.* 28:412-419
 15. **Appleton CP, Jensen JL, Hatle LK, Oh JK.** 1997 Doppler evaluation of left and right ventricular diastolic function: a technical guide for obtaining optimal flow velocity recordings. *J Am Soc Echocardiogr* 10:271-292
 16. **Ommen SR, Nishimura RA, Appleton CP, Miller FA, Oh JK, Redfield MM, Tajik AJ** 2000 Clinical utility of Doppler echocardiography and tissue Doppler imaging in the estimation of left ventricular filling pressures: A comparative simultaneous Doppler-catheterization study. *Circulation.* 102:1788-1794
 17. **Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, Picard MH, Roman MJ, Seward J, Shanewise JS, Solomon SD, Spencer KT, Sutton MSJ, Stewart WJ** 2005 Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr.* 18:1440-1463

18. **De Simone G, Devereux R, Daniels S, Koren M, Meyer R, Laragh J.** 1995 Effect of growth on variability of left ventricular mass: assessment of allometric signals in adults and children and their capacity to predict cardiovascular risk. *J.Am.Coll.Cardiol.* 25:1056-1062.
19. **Nagueh SF, Appleton CP, Gillebert TC, Marino PN, Oh JK, Smiseth OA, Waggoner AD, Flachskampf FA, Pellika PA, Evangelist A** 2009. Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr.* 22:107-133
20. **Tayebjee MH, Nadar SK, MacFadyen RJ, Lip GY** 2004 Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and matrix metalloproteinase-9 levels in patients with hypertension: Relationship to tissue Doppler indices of diastolic relaxation. *American Journal of Hypertension.* 17:770-774
21. **Grandi AM, Maresca AM, Giudici E, Laurita E, Marchesi C, Solbiati F, Nicolini E, Guasti L, Venco A** 2006. Metabolic Syndrome and Morphofunctional Characteristics of the Left Ventricle in Clinically Hypertensive Nondiabetic Subjects. *American Journal of Hypertension.* 19:199-205
22. **Lindsay MM, Maxwell P, Dunn FG** 2002 TIMP-1: a marker of left ventricular diastolic dysfunction and fibrosis in hypertension. *Hypertension* 40:136-141
23. **Gonçalves FM, Jacob-Ferreira ALB, Gomes VA, Casella-Filho A, Chagas ACP, Marcaccini AM, Gerlach RF, Tanus-Santos JE** 2009. Increased circulating levels of matrix metalloproteinase (MMP)-8, MMP-9, and pro-inflammatory markers in patients with metabolic syndrome. *Clin. Chim. Acta.* 403:173-177
24. **Pearson AC, Gudipati CV, Labovitz AJ** 1991 Effects of aging on left ventricular structure and function. *Am. Heart J* 121:871-875

Tables

Table 1 - Clinical and laboratory characteristics of healthy controls, metabolic syndrome and diabetes groups.

	CTR (n=30)	MS (n=76)	DM (n=17)
Male (%)	63.3	65.3	52.9
Age (y)	40.9(6.6)	43.3(7.9)	54.2(7.4) ^{†§}
BMI (kg/m ²)	24.9(2.6)	34.7(2.8) *	30.7(4.4) ^{†§}
Waist (cm)	86.1(8.9)	106.7(7.3) *	104.4(18.6) [†]
SBP (mmHg)	115.8(10.2)	128.0(12.7) *	136.8(11.8) ^{†§}
DBP (mmHg)	76.3(9.1)	81.2(9.7) *	82.6(9.3)
Heart rate (bpm)	69.9(11.0)	86.6(10.4) *	76.9(14.4) [§]
Total cholesterol (mg/dL)	194.1(31.8)	215.8(38.9)	197.7(41.3)
HDL cholesterol (mg/dL)	49.2(14.4)	45.6(10.9)	46.6(10.0)
LDL cholesterol (mg/dL)	120(27.4)	137.4(34.9) *	112.8(33.2) [§]
TG (mg/dL)	124.7(80.2)	189.6(224)	196.4(125)
Glucose (mg/dL)	86.7(7.4)	93.8(8.45)	187.6(71.2) ^{†§}
HOMA IR units	1.6(0.8)	3.4(1.6) *	6.8(6.4) ^{†§}
us-CRP (mg/dL)	1.5(1.5)	3.9(3.6) *	3.7(2.9) [†]

Values are mean (SD).

CTR, healthy control; MS, metabolic syndrome; DM, type 2 diabetes.

BMI, body mass index; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; TG, triglycerides HOMA-IR, Homeostasis model assessment for insulin resistance; us-CRP, ultrasensitive C-reactive protein.

*P<0.05 between CTR and MS; †P<0.05 between CTR and DM; § P<0.05 between MS and DM.

Table 2- Cardiac structure and performance of healthy controls, metabolic syndrome and diabetes groups.

	CTR	MS	DM
	(n=30)	(n=76)	(n=17)
LVDD (cm)	4.65(0.38)	4.81(0.40)	4.53(0.41) [§]
LVSD (cm)	2.92(0.43)	2.95(0.31)	2.90(0.45)
Septum Thickness(cm)	0.88(0.14)	0.94(0.14)	0.99(0.07) [†]
PW Thickness (cm)	0.82(0.12)	0.90(0.14) [*]	0.88(0.09)
LAVI (mL/m ²)	25.6(5.9)	24.3(6.0)	25.9(4.0)
LVMI (g/m ^{2.7})	32.4(7.2)	37.8(7.5) [*]	39.1(5.7) [†]
RWT	0.36(0.05)	0.39(0.07)	0.41(0.04) [†]
LVEF (%)	66.9(7.1)	68.5(5.4)	65.7(7.4)
CI (mL/min/m ²)	2464(454)	2619(581)	2456(421)

Values are mean (SD).

CTR, healthy control; MS, metabolic syndrome; DM, type 2 diabetes.

LVDD, left ventricular diastolic diameter; LVSD, left ventricular systolic diameter; PW, posterior wall thickness; LAVI, left atrial volume index; LVMI, left ventricular mass index; RWT, relative wall thickness; LVEF, left ventricular ejection fraction; CI, cardiac index.

*P<0.05 between CTR and MS; [†]P<0.05 between CTR and DM; [§] P<0.05 between MS and DM.

Table 3- Diastolic Function Parameters adjusted for age of healthy controls, metabolic syndrome and diabetes groups.

	CTR	MS	DM
E wave velocity (cm/s)	72.6 (67.0-78.3)	76.5(72.9-80.1)	78.6(70.5-86.8)
A wave velocity (cm/s)	55.4 (50.7-60.0)	63.9(61.0-66.9)*	74.8(68.0-81.5) [†] §
E/A ratio (cm)	1.34 (1.2-1.5)	1.25(1.2-1.3)	1.14(0.9-1.3)
E' wave velocity (cm/s)	13.5 (12.6-14.3)	12.3(11.6-12.9)	12.8(11.5-14.1)
E/E' ratio	5.4 (4.9-5.9)	6.3(5.9-6.7)*	6.7(6.0-7.5) [†]

Values are mean (95%CI).

CTR, healthy control; MS, metabolic syndrome; DM, type 2 diabetes.

*P<0.05 between CTR and MS; [†]P<0.05 between CTR and DM; § P<0.05 between MS and DM.

Figure Legends

Figure 1. Echocardiographic parameters of diastolic dysfunction in healthy controls, metabolic syndrome and type 2 diabetes groups. **A.** Age-adjusted mitral E wave velocity. **B.** Age-adjusted mitral A wave velocity. **C.** Age-adjusted E/A ratio and. **D.** Age-adjusted E/E' ratio. CTR: controls; MS: metabolic syndrome; DM: type 2 diabetes. Bars indicate differences between groups with $P < 0.05$.

Figure 2. Circulating biological markers of cardiac remodeling in healthy controls, metabolic syndrome and type 2 diabetes groups. **A.** Levels of serum NT-proBNP. **B.** Age-adjusted levels of MMP9. **C.** Age-adjusted levels of TIMP1. CTR: healthy controls; MS: metabolic syndrome; DM: type 2 diabetes. Bars indicate differences between groups with $P < 0.05$.

Figure 1

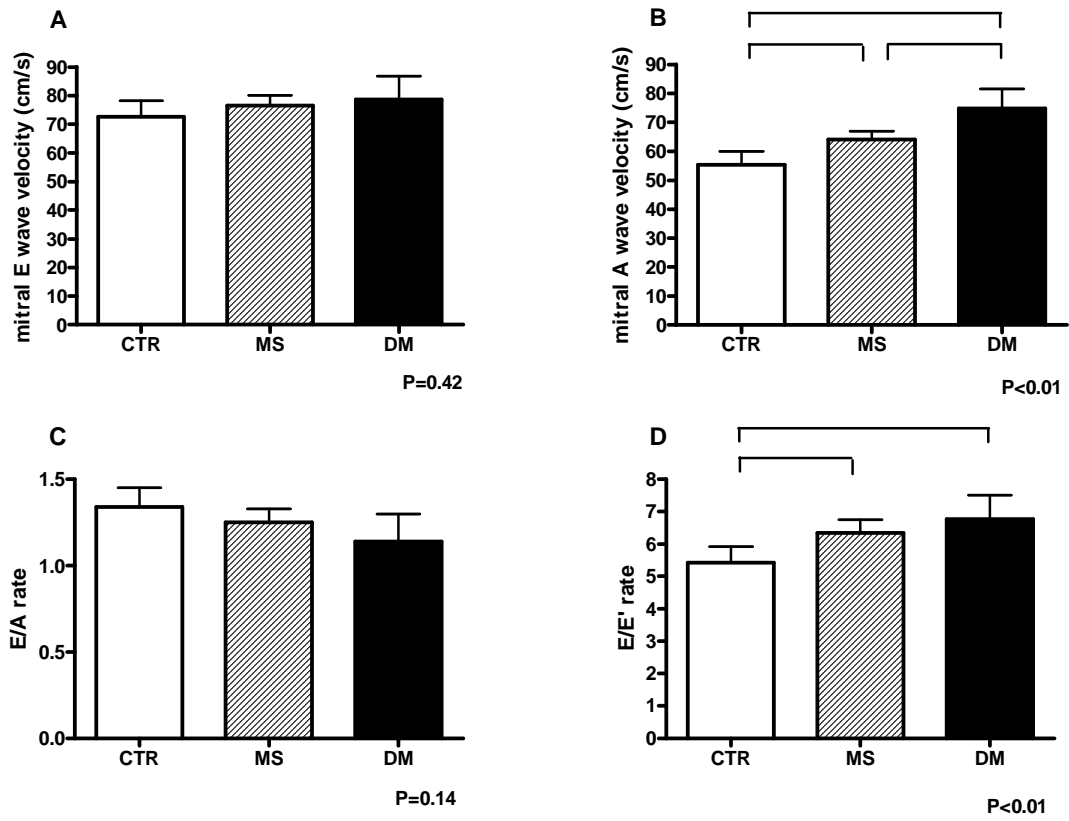
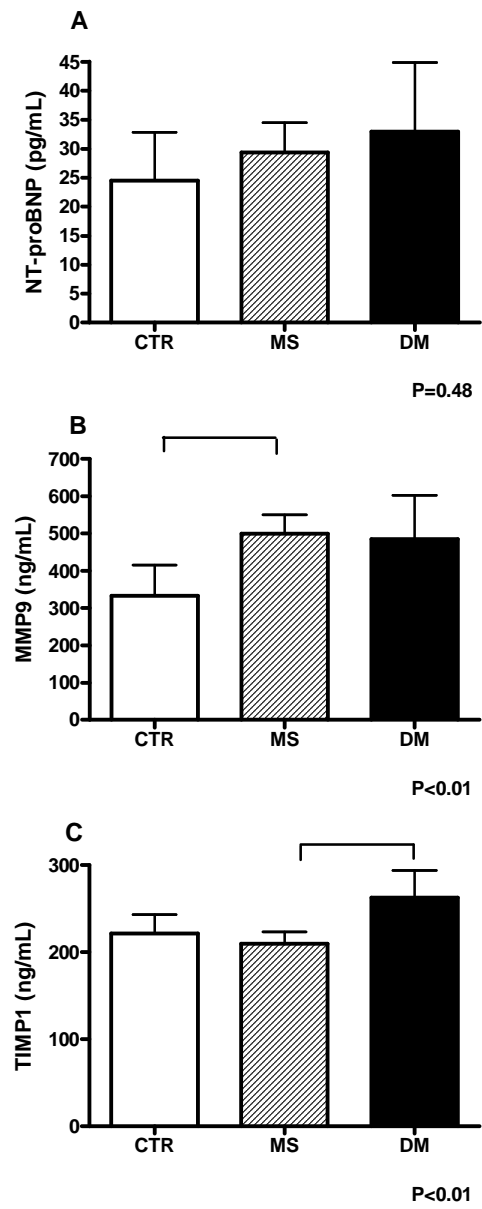


Figure 2



ANEXOS

Hospital de Clínicas de Porto Alegre
Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Código ID

Projetos Conjuntos de Pesquisa:

Efeitos da orientação alimentar e exercícios físicos nas medidas ecocardiográficas da gordura epicárdica em pacientes com síndrome metabólica. Pesquisador Responsável: Murilo Foppa – Tel (051) 2101-8287 e Pesquisador executor: Maurício Junges – Tel. (051) 9822-2034;

Relação da composição e metabolismo da matrix extracelular com a função diastólica em indivíduos com síndrome metabólica. Pesquisadora Responsável: Nadine Clausell – Tel (51)2101-8344 e Pesquisadora executora: Ângela Santos –Tel (051) 9328-4757;

Comitê de Ética em Pesquisa HCPA -2101 -8308

Prezado Sr(a):_____:

Estamos lhe convidando para participar de uma pesquisa científica da área médica que está sendo conduzida nesta instituição. O(A) Sr(a). é livre para decidir por participar ou não do estudo após ler o restante do termo e sua recusa não implicará em nenhum prejuízo do atendimento neste hospital. Todas as informações obtidas estarão à sua disposição ou de seu médico se assim desejar. Todos os resultados referentes ao estudo serão utilizados para fins exclusivos de pesquisa, sendo resguardada total confidencialidade e anonimato. O Sr.(a) está sendo convidado para este estudo por ser considerado(a) uma pessoa não portadora da chamada Síndrome Metabólica, permitindo

a comparação dos dados e melhor entender as alterações presentes na Síndrome Metabólica.

Objetivos: Avaliar a quantidade de gordura acumulada ao redor do coração e outras medidas relativas ao tamanho e funcionamento do coração dos seus vasos sanguíneos; Determinar a presença e o nível de substâncias na circulação sanguínea referentes ao funcionamento do coração, marcadores de inflamação e do metabolismo; Obter medidas de peso, altura, quantidade de gordura corporal, circunferência da cintura e da pressão arterial. As avaliações e exames serão realizados em duas oportunidades com o intervalo de 12 semanas

Método: Parte dos objetivos acima expostos será avaliada através de um exame de ultrassonografia, tanto do coração como de uma artéria do braço. Durante o exame será inflado um aparelho de medida de pressão no antebraço por alguns minutos e será administrado um jato de nitroglicerina embaixo da língua naqueles pacientes sem pressão baixa. O exame dura cerca de 30 minutos e durante o exame o (a) Sr (a) permanecerá deitado (a). Também será realizada a coleta de aproximadamente 15 mL de sangue de uma veia do braço através de uma picada de agulha.

Riscos: A ultrassonografia é um exame não invasivo e que não causa dor que pode lhe acarretar um leve desconforto passageiro por permanecer deitado na mesma posição, pela pressão do manguito inflado no antebraço e pelo contato do sensor do aparelho com o tórax. O uso de nitroglicerina sublingual pode causar queda transitória da pressão arterial e sensação de tontura ou dor de cabeça. A picada de agulha para coleta de sangue pode causar uma dor leve e uma mancha roxa passageira no local da picada.

Se estiver de acordo participar deste estudo, por favor assine na linha abaixo:

Local e Data:

Assinatura do paciente:

Assinatura do pesquisador:

Testemunha:

Questionário de coleta de dados

Número do participante: _____ Data da visita: _____

Nome: _____

Endereço: _____ CEP _____

Telefones _____

Prontuário no HCPA: _____ Etnia: _____

Idade: _____ Sexo F() M () Profissão: _____

HF de DM2 ? S () N ()

HF coronariopatia (< 55 homens, < 65 mulheres) S () N ()

Fumo? N () S () Há quanto tempo? _____ Ex – fumante?

_____ tempo de fumo _____ tempo de suspensão

Fumante atual maior ou igual a 20 cig ao dia: _____

Fármacos em uso: _____

Hábitos: German Diabetes Risk Score Escore : _____

Carne vermelha > 150 g ao dia S () N ()

Café < 1 xícara ao dia 1-3 xícaras () > 3 xícaras () Não toma ()

Álcool entre 10-40 g ao dia S () Não bebe ou menos () mais ()

Pão integral ou preto 1 fatia ao dia ou mais S () quantas ? ____ N ()

Horas de caminhada, ciclismo, jardinagem, natação por semana

_____ h/semana

Exercício habitual: Não faz () Sim: ()

- A. Leve menor que duas vezes por semana, irregular
- B. Leve, até duas vezes por semana há menos de 3 meses
- C. Leve, até duas vezes por semana há mais de 3 meses
- D. Regular, moderado, 3 ou mais vezes por semana há menos de 3 meses
- E. Regular, moderado, 3 ou mais vezes por semana há mais de 3 meses
- F. Regular a intenso com treino mais que 3 vezes por semana há mais de 3 meses

Medidas antropométricas:

Peso _____ Alt: _____ IMC: _____ Cintura _____ Quadril _____

Bioimpedância: _____ % gordura _____ kg de gordura

PA 1 _____ PA 2 _____ PA3 _____ FC _____

Exames laboratoriais:

Colesterol total _____ HDL _____ TG _____ LDL _____

Glicose _____ Insulina _____ HbA1C _____ Homa : _____

PCR _____ NT-Pro – BNP _____

MMP9 _____ TIMP1 _____