

Alteração Precoce da Matriz Extracelular e Parâmetros Diastólicos na Síndrome Metabólica

Early Change of Extracellular Matrix and Diastolic Parameters in Metabolic Syndrome

Angela B. S. Santos^{1,2}, Mauricio Junges², Daiane Silvello², Adriana Macari², Bruno S. de Araújo², Beatriz G. Seligman^{1,2}, Bruce B. Duncan², Luis Eduardo P. Rohde^{1,2}, Nadine Clausell^{1,2}, Murilo Foppa^{1,2}

Hospital de Clínicas de Porto Alegre¹; Universidade Federal do Rio Grande do Sul², Porto Alegre, RS – Brasil

Resumo

Fundamentos: Síndrome Metabólica (SM) está associada com maior risco cardiovascular, porém não está claro se as alterações miocárdicas presentes nessa condição, como a disfunção diastólica, são consequência de mecanismos sistêmicos ou de efeitos diretos no miocárdio.

Objetivos: Comparar função diastólica, biomarcadores de atividade da Matriz Extracelular (MEC), inflamação e estresse hemodinâmico, em pacientes com SM e controles saudáveis.

Métodos: Pacientes com SM (n = 76) e controles saudáveis (n = 30) foram avaliados clinicamente e submetidos a exame ecocardiográfico e mensuração dos níveis plasmáticos de metaloproteinase-9 (MMP9), inibidor tecidual da metaloproteinase-1 (TIMP1), proteína C reativa ultrasensível (PCR-us), resistência insulínica (HOMA-RI) e NT-proBNP.

Resultados: O grupo SM apresentou menor onda E' ($10,1 \pm 3,0$ cm/s vs. $11,9 \pm 2,6$ cm/s, $p = 0,005$), maiores valores para onda A ($63,4 \pm 14,1$ vs. $53,1 \pm 8,9$ cm/s, $p < 0,001$), razão E/E' ($8,0 \pm 2,2$ vs. $6,3 \pm 1,2$; $p < 0,001$), MMP9 ($502,9 \pm 237,1$ vs. $330,4 \pm 162,7$ ng/mL, $p < 0,001$), PCR-us ($p = 0,001$) e HOMA-RI ($p < 0,001$), sem diferença nos níveis de TIMP1 e NT-proBNP. Na análise multivariada, apenas MMP9 foi independentemente associada a SM.

Conclusão: Pacientes com SM apresentaram diferenças em medidas ecocardiográficas de função diastólica, na atividade da MEC, PCR-us e HOMA-RI em relação aos controles. Porém, somente MMP9 foi independentemente associada com SM. Esses achados sugerem que os efeitos precoces da SM sobre a atividade da MEC podem não ser detectados nas medidas ecocardiográficas de função diastólica usuais. (Arq Bras Cardiol. 2013;101(4):311-316)

Palavras-chave: Síndrome Metabólica; Fatores de Risco; Matriz Extracelular; Diástole / fisiopatologia.

Abstract

Background: Metabolic syndrome (MS) is associated with increased cardiovascular risk. It is not clear whether myocardial changes showed in this syndrome, such as diastolic dysfunction, are due to the systemic effects of the syndrome, or to specific myocardial effects.

Objectives: Compare diastolic function, biomarkers representing extracellular matrix activity (ECM), inflammation and cardiac hemodynamic stress in patients with the MS and healthy controls.

Methods: MS patients (n=76) and healthy controls (n=30) were submitted to a clinical assessment, echocardiographic study, and measurement of plasma levels of metalloproteinase-9 (MMP9), tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP1), ultrasensitive-reactive-C-Protein (us-CRP), insulin resistance (HOMA-IR) and natriuretic peptide (NT-proBNP).

Results: MS group showed lower E' wave (10.1 ± 3.0 cm/s vs 11.9 ± 2.6 cm/s, $p = 0.005$), increased A wave (63.4 ± 14.1 cm/s vs. 53.1 ± 8.9 cm/s; $p < 0.001$), E/E' ratio (8.0 ± 2.2 vs. 6.3 ± 1.2 ; $p < 0.001$), MMP9 (502.9 ± 237.1 ng/mL vs. 330.4 ± 162.7 ng/mL; $p < 0.001$), us-CRP ($p = 0.001$) and HOMA-IR ($p < 0.001$), but no difference for TIMP1 or NT-proBNP levels. In a multivariable analysis, only MMP9 was independently associated with MS.

Conclusion: MS patients showed differences for echocardiographic measures of diastolic function, ECM activity, us-CRP and HOMA-IR when compared to controls. However, only MMP9 was independently associated with the MS. These findings suggest that there are early effects on ECM activity, which cannot be tracked by routine echocardiographic measures of diastolic function. (Arq Bras Cardiol. 2013;101(4):311-316)

Keywords: Metabolic Syndrome; Risk Factors; Extracellular Matrix; Diastole / physiopathology.

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

Correspondência: Angela Barreto Santiago Santos •

Hospital de Clínicas de Porto Alegre - Divisão Cardiovascular, Rua Ramiro Barcelos, 2350, Sala 2061. CEP 90035-903, Porto Alegre, RS – Brasil

E-mail: angelabsantos@yahoo.com.br

Artigo recebido em 01/12/12; revisado em 05/06/13; aceito em 07/06/13.

DOI: 10.5935/abc.20130182

Introdução

Síndrome Metabólica (SM) tem uma prevalência estimada em torno de 35% da população adulta^{1,2} e é definida como uma combinação de fatores de risco associados com doença cardiovascular e diabetes do tipo 2. Não está claro se as alterações miocárdicas presentes nessa condição são consequência de mecanismos sistêmicos ou são efeitos diretos sobre o miocárdio.

A avaliação da função diastólica tem sido utilizada para identificar alterações cardíacas pré-clínicas. Disfunção diastólica é prevalente em pacientes com SM, mesmo na ausência de hipertensão e diabetes³ e ajustado para a massa do ventrículo esquerdo^{4,5}. Disfunção diastólica é um marcador de prognóstico desfavorável independente de qualquer outra comorbidade⁶. Na síndrome metabólica, a disfunção diastólica é usualmente atribuída ao aumento do estresse hemodinâmico^{7,8}, mas também pode ser secundária a alterações da matriz extracelular decorrentes do ambiente inflamatório e alteração do metabolismo da glicose presentes nessa condição⁹. O *turnover* do colágeno da matriz extracelular é regulado pelo equilíbrio entre metaloproteinases e seus inibidores teciduais plasmáticos. Modificações nesse equilíbrio representam outro mecanismo que afeta o relaxamento e a complacência ventricular¹⁰.

Com o objetivo de entender melhor os processos envolvidos nas alterações cardiovasculares observadas na SM, comparamos parâmetros ecocardiográficos de função diastólica e níveis plasmáticos de metaloproteinase-9 (MMP9), inibidor tecidual da metaloproteinase-1 (TIMP1), proteína C reativa ultrasensível (PCR-us), resistência insulínica (HOMA-RI) e NT-proBNP em pacientes com SM e controles saudáveis.

Métodos

População

Neste estudo transversal, foram selecionados indivíduos entre 30-55 anos com SM e controles saudáveis (CTR). O grupo SM foi composto por todos os indivíduos recrutados para um ensaio clínico randomizado cujo protocolo e resultados principais já foram publicados¹¹. De uma amostra inicial de 471 voluntários avaliados, 76 preencheram os critérios de elegibilidade para o estudo, que foram: Índice de Massa Corporal (IMC) ≥ 30 kg/m² e ≤ 40 kg/m², circunferência abdominal ≥ 95 cm e pelo menos dois outros critérios para SM de acordo com o *National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III* (NCEP/ATP III)¹². Além disso, todos os pacientes tinham um teste oral de tolerância a glicose negativo para diabetes. Os critérios de exclusão foram gravidez, lactação, creatinina $\geq 1,5$ mg/dL, disfunção musculoesquelética, doenças inflamatórias ou crônicas do fígado, tireoide e/ou uso de corticoide ou anorexígenos. Os dados obtidos na linha de base desse grupo foram comparados com uma amostra de controles saudáveis, recrutados localmente, de mesmo sexo e faixa etária que o grupo SM. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da nossa instituição e pelo Comitê de Pesquisa, e todos os participantes assinaram termo de consentimento no início do estudo.

Avaliação clínica

As aferições da pressão arterial e frequência cardíaca foram realizadas em triplicata após cinco minutos de repouso, usando esfigmomanômetro aneróide (Tycos, Welch Allyn, EUA), com valor médio relatado. A altura foi medida por um estadiômetro de parede e o peso, por uma balança eletrônica, com os participantes vestindo roupas leves, sem sapatos. A circunferência abdominal foi medida no ponto médio entre o gradil costal e a crista ilíaca.

Análise bioquímica

Amostras de sangue foram coletadas em jejum. Insulina foi aferida através de electroquimioluminescência (Roche, Suíça), e proteína C reativa ultrasensível (PCR-us), através de imunonefelometria (Roche, Suíça). O perfil lipídico foi medido enzimaticamente (Roche, Suíça) e o nível de LDL-colesterol foi calculado de acordo com a fórmula de Friedewald, para níveis de triglicerídeos abaixo de 400 mg/dL. O modelo da homeostase para avaliação da resistência a insulina (HOMA-RI) foi usado para determinar resistência insulínica¹³. Os coeficientes de variação para esses parâmetros foram todos abaixo de 6%.

Estudo ecocardiográfico

As imagens foram obtidas com o aparelho de ultrassom modelo EnVisor C HD (Philips Medical, Andover, MA, EUA), equipado com transdutor sectorial de 4-2 MHz. As imagens digitais estáticas e dinâmicas foram enviadas para uma estação de trabalho (ComPACS, Medimatic Srl, Itália) e lidas *off-line* por um único investigador.

Os diâmetros, espessuras do septo e parede posterior do Ventrículo Esquerdo (VE) foram obtidas através de imagem bidimensional na janela paraesternal longitudinal. O Índice do Volume do Átrio Esquerdo (IVAE) foi medido na janela apical de 4 câmaras, ao final da sístole ventricular, utilizando-se o método simplificado de Simpson e indexado para a superfície corporal.

A função diastólica foi avaliada a partir do Doppler transmitral¹⁴ e Doppler tecidual do anel mitral¹⁵, incluindo: velocidade máxima transmitral de enchimento precoce (onda E) e tardio (onda A) do VE, tempo de desaceleração (TD) da onda E e velocidade máxima de deslocamento do anel mitral septal no início (onda E') e no final da diástole (onda A'). A partir desses valores, as razões E/A e E/E' foram calculadas.

As medidas e seleção dos pontos de corte seguiram as recomendações da American Society of Echocardiography, considerando a média de três batimentos cardíacos consecutivos^{16,17}. Os volumes do VE e fração de ejeção foram calculados pela fórmula de Teichholz. A massa do VE foi indexada pela altura à potência de 2,7 (IMVE)¹⁸. A Espessura Parietal Relativa (EPR) foi definida como (espessura do septo + parede posterior)/diâmetro diastólico do VE. A variabilidade intraleitor foi avaliada em 16 participantes através do Coeficiente de Variação (CV) e Coeficiente de Correlação Intraclassa (CCI), cujos valores foram, respectivamente, onda E' (CV: 5,2% e CCI: 0,99; IC95%: 0,97-0,99), onda E (CV: 4,5% e CCI: 0,98; IC95%: 0,96-0,99), onda A (CV: 3,5% e

CCI: 0,98; IC95% 0,97-0,99). As medidas bidimensionais mostraram um CV que variou entre 8% e 13%, com o CCI acima de 0,75, valores semelhantes aos descritos em estudos prévios^{19,20}.

ELISA

Amostras venosas (15 mL) foram coletadas em tubos contendo EDTA, com o participante em jejum. As amostras foram imediatamente centrifugadas a 4° C a 3.000 x g durante 20 minutos e o plasma removido e armazenado a -70°C. Todas as amostras de plasma foram analisadas simultaneamente por um técnico de laboratório de forma cega. Os níveis MMP9 e TIMP1 foram medidos em amostras duplicatas com kits disponíveis comercialmente ELISA (R&D Systems, Minneapolis, MN, EUA). A sensibilidade do ensaio de MMP9 foi < 0,156 ng / mL e a sensibilidade do ensaio de TIMP1 foi < 0,08 ng/mL, com coeficientes de variação intra-e interensaio de 6% e 10%, respectivamente. O nível de NT-proBNP foi medido com kit de ELISA comercial (Roche Diagnostic, França) com sensibilidade do ensaio de < 0,6 pmol/L e coeficientes de variação intra- e interensaio de 1,9% e 3,1%, respectivamente.

Análise estatística

Os resultados foram expressos como média e desvio padrão ou porcentagem. Os grupos foram comparados através do teste *t* de Student para amostras independentes ou qui-quadrado. As associações entre as variáveis contínuas foram testadas com coeficiente de correlação de Pearson e regressão linear múltipla para identificar as variáveis independentemente associadas com a presença de SM.

Foi calculado um tamanho de amostra de 66 SM e 33 CTR, considerando um alfa de 0,05, um poder de 0,8 e uma diferença de 0,6 desvios-padrão nos níveis de MMP9 entre os grupos. Esse valor foi estimado como equivalente à diferença dos níveis de MMP9 descrita por Tayebjee e cols.²¹, em pacientes hipertensos – que também apresentam disfunção diastólica –

controles normais. Foi considerado estatisticamente significativo $p < 0,05$. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o pacote de software estatístico SPSS (SPSS 15.0 Inc., EUA).

Resultados

Foram analisados 76 pacientes com SM ($43,3 \pm 7,9$ anos, 65% homens) e 30 controles saudáveis ($40,9 \pm 6,6$ anos, 63% homens). As demais características clínicas e os achados laboratoriais dos grupos são apresentados na tabela 1. O grupo SM, como esperado, tinha maiores peso, circunferência abdominal, frequência cardíaca, pressão arterial e níveis de colesterol em comparação ao grupo CTR.

O Índice de Massa do Ventrículo Esquerdo (IMVE) foi maior no grupo SM (Tabela 2). O Volume Indexado do Átrio Esquerdo (IVAE) e a fração de ejeção não diferiram entre os grupos.

Em relação aos parâmetros de função diastólica, o grupo SM mostrou maior onda A ($63,4 \pm 14,1$ cm/s vs. $53,1 \pm 8,9$ cm/s, $p < 0,001$) e menor onda E' ($10,1 \pm 3,0$ cm/s vs. $11,9 \pm 2,6$ cm/s, $p = 0,005$) comparados aos controles, mas com valores médios ainda dentro da faixa da normalidade¹⁷. Essas diferenças refletiram-se em uma menor razão E/A ($p = 0,05$) e maior razão E/E' ($p < 0,001$) no grupo SM. A onda E ($p = 0,45$) e o tempo de desaceleração mitral ($p = 0,98$) não diferiram entre os grupos (Tabela 2).

Os biomarcadores de atividade da matriz extracelular mostraram níveis de MMP9 maiores no grupo SM ($502,9 \pm 237,1$ ng/mL vs. $330,4 \pm 162,7$ ng/mL, $p < 0,001$), mas sem diferença nos níveis de TIMP1 ($210,2 \pm 55,6$ ng/mL vs. $220,2 \pm 57,2$ ng/mL, $p = 0,41$) (Figura 1). A resistência a insulina medida pelo HOMA-RI ($p < 0,001$) e os níveis de PCR-us ($p = 0,001$) foram maiores no grupo SM, enquanto os níveis de NT-proBNP ($p = 0,19$) não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os grupos (Tabela 3).

Tabela 1 – Características clínicas e parâmetros laboratoriais dos grupos: síndrome metabólica (SM) e controles saudáveis (CTR)

	SM (n = 76)	CTR (n = 30)	p
Sexo masculino (%)	65,3	63,3	0,85
Idade (anos)	43,3(7,9)	40,9(6,6)	0,14
IMC (kg/m ²)	34,7(2,8)	24,9(2,6)	<0,001
Circunferência abdominal (cm)	106,7(7,3)	86,1(8,9)	<0,001
PAS (mmHg)	128,0(12,7)	115,8(10,2)	<0,001
PAD (mmHg)	81,2(9,7)	76,3(9,1)	0,02
Frequência cardíaca (bpm)	86,6(10,4)	69,9(11,0)	<0,001
Colesterol total (mg/dL)	215,8(38,9)	194,1(31,8)	0,01
HDL-colesterol (mg/dL)	45,6(10,9)	49,2(14,4)	0,17
Triglicérides (mg/dL)	189,6(224)	124,7(80,2)	0,13
Glicose (mg/dL)	93,8(8,45)	86,7(7,4)	<0,001

Valores apresentados como média (DP) ou porcentagem. IMC: índice de massa corpórea; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica.

Tabela 2 – Parâmetros ecocardiográficos e função diastólica no grupo síndrome metabólica (SM) e controles saudáveis (CTR)

	SM (n = 76)	CTR (n = 30)	p
IMVE(g/m ^{2.7})	37,8(7,5)	32,4(7,2)	0,001
Espessura Parietal Relativa	0,39(0,07)	0,36(0,05)	0,17
Fração de ejeção do ventrículo esquerdo (%)	68,5(5,4)	66,9(7,1)	0,22
IVAE(mL/m ²)	24,3(6,0)	25,6(5,9)	0,35
Onda E (cm/s)	76,9(15,7)	74,4(15,6)	0,45
Onda A (cm/s)	63,4(14,1)	53,1(8,9)	<0,001
Tempo de Desaceleração(ms)	205,2(28,6)	205,3(35,3)	0,98
Onda E' (cm/s)	10,1(3,0)	11,9(2,6)	0,005
Onda A' (cm/s)	11,0(2,3)	10,1(1,9)	0,04
Razão E/A	1,26(0,38)	1,42(0,3)	0,05
Razão E/E'	8,0(2,2)	6,3(1,2)	<0,001

Valores apresentados como média (DP). IMVE: índice de massa do ventrículo esquerdo; IVAE: índice de volume do átrio esquerdo; Onda E: velocidade máxima transmitral de enchimento precoce do VE; Onda A: velocidade máxima transmitral de enchimento tardio do VE; Onda E': velocidade máxima de deslocamento do anel mitral septal no início da diástole; Onda A': velocidade máxima de deslocamento do anel mitral septal no final da diástole.

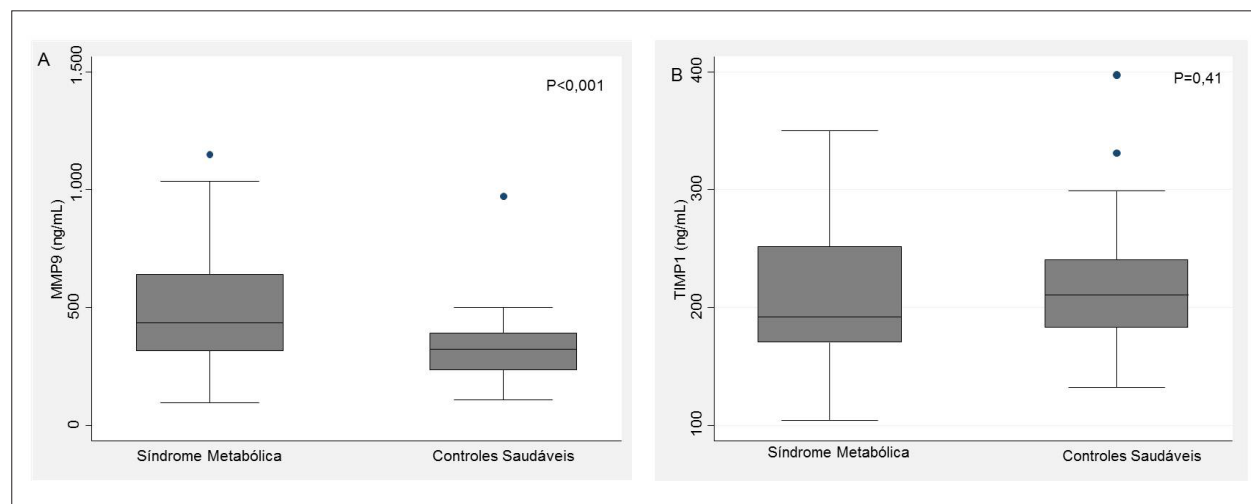


Figura 1 - Biomarcadores plasmáticos do remodelamento cardíaco na síndrome metabólica e em controles saudáveis. A) Metaloproteinase-9 (MMP9). B) Inibidor tecidual da metaloproteinase-1 (TIMP1).

Na regressão linear múltipla, investigamos as associações de pressão arterial, IMC, circunferência abdominal, níveis de HDL-colesterol, triglicerídeos, HOMA-RI, PCR-us, MMP9, TIMP1 e NT-proBNP, onda E, onda A, onda E' e onda A' com síndrome metabólica. Apenas MMP9 ($\beta = 0,13$; $p = 0,03$) foi independentemente associada com SM.

Discussão

Em nosso estudo, o grupo SM mostrou diferença nos parâmetros de função diastólica e maiores níveis de HOMA-RI, PCR-us e MMP9 em comparação a controles saudáveis, sem diferença nos níveis de TIMP1 e NT-proBNP. No entanto, quando ajustados para covariáveis, apenas os níveis de MMP9 foram independentemente associados com SM.

De las Fuentes e cols.⁴, investigando parâmetros ecocardiográficos de função diastólica na SM, mostraram aumento da onda A e diminuição da onda E', sem diferença na onda E no grupo SM. Embora tenhamos encontrado resultados semelhantes, esses parâmetros ecocardiográficos não foram independentemente associados com SM após o ajuste para covariáveis. Já os níveis de MMP9 mantiveram-se associados a SM, permitindo inferir que nas fases iniciais da SM, modulações da atividade da MEC representadas por aumento dos níveis de MMP9 antecipam alterações hemodinâmicas detectadas pelos níveis de NT-proBNP e por parâmetros ecocardiográficos usando o Doppler e dimensões do átrio esquerdo, métodos frequentemente utilizados como marcadores de sobrecarga pressórica^{22,23}.

Tabela 3 – Biomarcadores plasmáticos de remodelamento cardíaco na síndrome metabólica (SM) e em controles saudáveis (CTR)

	SM (n=76)	CTR (n=30)	p
MMP9 (ng/mL)	502,9(237,1)	330,4(162,7)	<0,001
TIMP1 (ng/mL)	210,2(55,6)	220,2(57,2)	0,41
NT-proBNP (ng/mL)	29,9(21,9)	23,6(21,7)	0,19
HOMA-RI	3,4(1,6)	1,6(0,8)	<0,001
PCR-us (mg/dL)	3,9(3,6)	1,5(1,5)	0,001

Valores apresentados como média (DP). MMP9: metaloproteinase-9; TIMP1: inibidor tecidual da metaloproteinase-1; NT-proBNP: peptídeo natriurético; HOMA-RI: modelo de homeostase para acessar resistência insulínica; PCR-us: proteína C reativa ultrasensível.

A atividade da matriz extracelular tem sido associada ao relaxamento e à rigidez do ventrículo esquerdo⁹. O aumento dos níveis de MMP9, na síndrome metabólica, pode representar um maior *turnover* de colágeno da matriz extracelular e contribuir para rigidez do ventrículo esquerdo e remodelamento ventricular adverso. Gonçalves e cols.²⁴, estudando 25 pacientes com SM e 25 controles saudáveis, encontraram níveis aumentados tanto de MMP9 como TIMP1 no grupo SM, refletindo o estado mais avançado de dismetabolismo comparados aos nossos pacientes.

A simplificação de mecanismos multifatoriais com o emprego de um número restrito de marcadores é uma limitação inerente a esse tipo de estudo, assim como a impossibilidade de inferências causais. Um potencial viés dessa análise foi a aquisição dos exames ecocardiográficos de forma não cega para os grupos, minimizado pela leitura *off-line* por um único investigador. Devemos também chamar a atenção para o potencial papel das tecnologias mais recentes, como o *speckle tracking*, que poderiam identificar alterações subclínicas precoces de forma mais precisa.

Conclusões

Encontramos diferenças em medidas ecocardiográficas de função diastólica, atividade da MEC medida pelos níveis de MMP9, PCR-us e HOMA-RI em pacientes com SM comparados a controles saudáveis. Porém, somente MMP9 foi independentemente associada com SM. Esses achados sugerem que os efeitos precoces da SM sobre a atividade da

MEC podem não ser detectados nas medidas ecocardiográficas usualmente empregadas para avaliar função diastólica.

Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa: Santos ABS, Junges M, Silvello D, Macari A, Araújo BS, Seligman BC, Duncan BB, Clausell N, Foppa M; Obtenção de dados: Santos ABS, Junges M, Silvello D, Macari A, Araújo BS, Seligman BC, Foppa M; Análise e interpretação dos dados: Santos ABS, Junges M, Silvello D, Seligman BC, Rohde LEP, Clausell N, Foppa M; Análise estatística: Santos ABS, Foppa M; Obtenção de financiamento: Santos ABS, Duncan BB, Foppa M; Redação do manuscrito: Santos ABS, Seligman BC, Duncan BB, Clausell N, Foppa M; Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual: Santos ABS, Seligman BC, Duncan BB, Rohde LEP, Clausell N, Foppa M.

Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de Financiamento

O presente estudo foi financiado pelo CNPq e FIPE/HCPA.

Vinculação Acadêmica

Este artigo é parte de dissertação de Mestrado de Angela Barreto Santiago Santos pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Referências

1. Ford ES. Prevalence of the Metabolic Syndrome Defined by the International Diabetes Federation among adults in the U.S. *Diabetes Care*. 2005;28(11):2745–9.
2. Ford ES, Li C, Zhao G. Prevalence and correlates of metabolic syndrome based on a harmonious definition among adults in the US. *J Diabetes*. 2010;2(3):180–93.
3. 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(12):1350–7.
4. 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(5):553–9.
5. 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(11):897–903.
6. Achong N, Wahi S, Marwick TH. Evolution and outcome of diastolic dysfunction. *Heart*. 2009;95(10):813–8.

7. Huggett RJ, Burns J, Mackintosh AF, Mary DA. Sympathetic neural activation in nondiabetic metabolic syndrome and its further augmentation by hypertension. *Hypertension*. 2004;44(6):847-52.
8. de Kloet AD, Krause EG, Woods SC. The renin angiotensin system and the metabolic syndrome. *Physiol Behav*. 2010;100(5):525-34.
9. López B, González A, Díez J. Circulating biomarkers of collagen metabolism in cardiac diseases. *Circulation*. 2010;121(14):1645-54.
10. 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(2):214-24.
11. Seligman BC, Polanczyk CA, Santos AS, Foppa M, Junges M, Bonzanini L, et al. Intensive practical lifestyle intervention improves endothelial function in metabolic syndrome independent of weight loss: a randomized controlled trial. *Metabolism*. 2011;60(12):1736-40.
12. National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). 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(25):3143-421.
13. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28(7):412-9.
14. Appleton CP, Jensen JL, Hatle LK, Oh JK. Doppler evaluation of left and right ventricular diastolic function: a technical guide for obtaining optimal flow velocity recordings. *J Am Soc Echocardiogr*. 1997;10(3):271-92.
15. 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(15):1788-94.
16. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, et al; American Society of Echocardiography's Nomenclature and Standards Committee; Task Force on Chamber Quantification; American College of Cardiology Echocardiography Committee; American Heart Association; European Association of Echocardiography, European Society of Cardiology. Recommendations for chamber quantification. *Eur J Echocardiogr*. 2006;7(2):79-108.
17. 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(2):107-33.
18. de Simone G, Devereux RB, Daniels SR, Koren MJ, Meyer RA, Laragh JH. 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*. 1995;25(5):1056-62.
19. Patel DA, Srinivasan SR, Chen W, Berenson GS. Influence of the metabolic syndrome versus the sum of its individual components on left ventricular geometry in young adults (from the Bogalusa Heart Study). *Am J Cardiol*. 2009;104(1):69-73.
20. Grothues F, Smith GC, Moon JC., Bellenger NG, Collins P, Klein HU, et al. Comparison of interstudy reproducibility of cardiovascular magnetic resonance with two-dimensional echocardiography in normal subjects and in patients with heart failure or left ventricular hypertrophy. *Am J Cardiol*. 2002;90(1):29-34.
21. 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. *Am J Hypertens*. 2004;17(9):770-4.
22. Maeda K, Tsutomoto T, Wada A, Hisanaga T, Kinoshita M. Plasma brain natriuretic peptide as a biochemical marker of high left ventricular end-diastolic pressure in patients with symptomatic left ventricular dysfunction. *Am Heart J*. 1998;135(5 Pt 1):825-32.
23. Tamura H, Watanabe T, Nishiyama S, Sasaki S, Arimoto T, Takahashi H, et al. Increased left atrial volume index predicts a poor prognosis in patients with heart failure. *J Card Fail*. 2011;17(3):210-6.
24. Gonçalves FM, Jacob-Ferreira AL, Gomes VA, Casella-Filho A, Chagas AC, 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(1-2):173-7.