

# Papel da MMP-2 e MMP-9 na Resistência à Terapia Medicamentosa em Pacientes com Hipertensão Arterial Resistente

*Role Of MMP-2 and MMP-9 in Resistance to Drug Therapy in Patients with Resistant Hypertension*

Leandro Lacerda<sup>1</sup>, Ana Paula de Faria<sup>2</sup>, Vanessa Fontana<sup>2</sup>, Heitor Moreno<sup>2</sup>, Valéria Sandrim<sup>1</sup>

Núcleo de Pós-Graduação e Pesquisa - Santa Casa de Belo Horizonte<sup>1</sup>, Belo Horizonte, MG; Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP<sup>2</sup>, Campinas, SP – Brasil

## Resumo

**Fundamento:** A despeito da crescente evidência do importante papel das metaloproteinases da matriz extracelular (MMP-9 e MMP-2) na fisiopatologia da hipertensão, o perfil dessas moléculas na hipertensão arterial resistente (HAR) permanece desconhecido.

**Objetivo:** Comparar os níveis plasmáticos de MMP-9 e MMP-2 e seus inibidores teciduais (TIMP-1 e TIMP-2, respectivamente), assim como as suas razões MMP-9/TIMP-1 e MMP-2/TIMP-2, entre pacientes com HAR controlada (HARC, n = 41) e HAR não controlada (HARNC, n = 35). Além disso, a associação desses parâmetros com as características clínicas, pressão arterial (PA) de consultório e rigidez arterial (determinada pela velocidade da onda de pulso) foi avaliada nesses subgrupos.

**Métodos:** Este estudo incluiu 76 indivíduos com HAR submetidos a exame físico, eletrocardiografia e exames laboratoriais para a avaliação de parâmetros bioquímicos.

**Resultados:** Valores semelhantes de MMP-9, MMP-2, TIMP-1, TIMP-2, e razões MMP-9/TIMP-1 e MMP-2/TIMP-2 foram encontrados nos subgrupos HARNC e HARC ( $p > 0,05$ ). Observou-se uma correlação significativa entre PA diastólica (PAD) e razão MMP-9/TIMP-1 ( $r = 0,37$ ;  $p = 0,02$ ) e PAD e MMP-2 ( $r = -0,40$ ;  $p = 0,02$ ) no subgrupo HARNC. Por outro lado, não se observou correlação no subgrupo HARC. Os modelos de regressão logística demonstraram que MMP-9, MMP-2, TIMP-1, TIMP-2 e suas razões não se associaram com a falta de controle da PA.

**Conclusão:** Esses achados sugerem que MMP-2 e MMP-9 não afetem o controle da PA em indivíduos com HAR. (Arq Bras Cardiol. 2015; 105(2):168-175)

**Palavras-chave:** Metaloproteinases da Matriz; Hipertensão/fisiopatologia; Endopeptidases; Hiperaldosteronismo/ fisiopatologia.

## Abstract

**Background:** Despite the increased evidence of the important role of matrix metalloproteinases (MMP-9 and MMP-2) in the pathophysiology of hypertension, the profile of these molecules in resistant hypertension (RHTN) remains unknown.

**Objectives:** To compare the plasma levels of MMP-9 and MMP-2 and of their tissue inhibitors (TIMP-1 and TIMP-2, respectively), as well as their MMP-9/TIMP-1 and MMP-2/TIMP-2 ratios, between patients with controlled RHTN (CRHTN, n = 41) and uncontrolled RHTN (UCRHTN, n = 35). In addition, the association of those parameters with clinical characteristics, office blood pressure (BP) and arterial stiffness (determined by pulse wave velocity) was evaluate in those subgroups.

**Methods:** This study included 76 individuals diagnosed with RHTN and submitted to physical examination, electrocardiogram, and laboratory tests to assess biochemical parameters.

**Results:** Similar values of MMP-9, MMP-2, TIMP-1, TIMP-2, and MMP-9/TIMP-1 and MMP-2/TIMP-2 ratios were found in the UCRHTN and CRHTN subgroups ( $p > 0.05$ ). A significant correlation was found between diastolic BP (DBP) and MMP-9/TIMP-1 ratio ( $r = 0.37$ ;  $p = 0.02$ ) and DPB and MMP-2 ( $r = -0.40$ ;  $p = 0.02$ ) in the UCRHTN subgroup. On the other hand, no correlation was observed in the CRHTN subgroup. Logistic regression models demonstrated that MMP-9, MMP-2, TIMP-1, TIMP-2 and their ratios were not associated with the lack of BP control.

**Conclusion:** These findings suggest that neither MMP-2 nor MMP-9 affect BP control in RHTN subjects. (Arq Bras Cardiol. 2015; 105(2):168-175)

**Keywords:** Matrix Metalloproteinases; Hypertension/physiopathology; Endopeptidases; Hyperaldosteronism/physiopathology.

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

**Correspondência:** Leandro Heleno Guimaraes Lacerda •

Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG. Rua Santa Rita do Sapucaí, 70, Vale das Palmeiras. CEP 35701168, Sete Lagoas, MG – Brasil

E-mail: leandroguimaraes2011@yahoo.com.br

Artigo recebido em 17/09/14; revisado em 21/01/15; aceito em 22/01/15.

DOI: 10.5935/abc.20150060

## Introdução

Hipertensão arterial resistente (HAR) é uma condição clínica caracterizada pela persistência de níveis de pressão arterial (PA) acima da meta (140/90 mmHg), a despeito do uso simultâneo de três ou mais anti-hipertensivos de diferentes classes. Idealmente, um desses fármacos deve ser um diurético, devendo todos ser prescritos em doses ótimas [subgrupo denominado HAR não controlada (HARNC)]. O subgrupo de pacientes hipertensos resistentes, cuja PA é controlada com quatro ou mais fármacos, é denominado HAR controlada (HARC)<sup>1</sup>.

As metaloproteinases da matriz extracelular (MMPs), um grupo de endopeptidases dependentes de zinco e cálcio, e seus inibidores teciduais endógenos (TIMPs) são primariamente responsáveis pelo remodelamento da matriz estromal<sup>2</sup>. Hoje há evidência de que essas moléculas desempenham um papel nos processos hipertensivos<sup>3</sup>.

Estudos experimentais sobre hipertensão relataram a associação da espessura da íntima e da média de vasos condutores com o aumento da expressão de MMP-9 e MMP-2, podendo tal evento ser evitado com o uso de inibidor não seletivo de MMP (doxiciclina)<sup>4,5</sup>. Estudos prévios relataram que a atividade da MMP-2 é aumentada em resposta à alta pressão intraluminal<sup>6</sup>, sendo observada a elevação de seus níveis nas artérias mamárias de hipertensos<sup>7</sup>. Há evidência de que MMP-2 possa degradar *big* endotelina-1, causando vasoconstricção<sup>8</sup>. Foi demonstrado que as MMPs suprimem a vasodilatação induzida por  $\beta$ -agonistas em ratos hipertensos<sup>9</sup>. Em pacientes hipertensos, aumento da atividade de MMP-9 pode levar à degradação de elastina, enquanto a redução da atividade de TIMP-1 pode levar ao acúmulo de produtos de degradação da fibrina, resultando em deposição desordenada de colágeno<sup>10</sup>.

Esses estudos experimentais estimularam investigação adicional de MMPs e TIMPs como potenciais biomarcadores na hipertensão. A concentração circulante dessas moléculas pode estar associada com complicações e prognóstico da hipertensão, sendo útil na prática clínica<sup>11</sup>. Além disso, MMP-2, MMP-9, TIMP-1 e TIMP-2 podem estar diretamente associadas com HAR, desempenhando um papel no controle da PA desses pacientes<sup>12</sup>.

Embora os níveis plasmáticos de MMP-9, MMP-2, TIMP-1 e TIMP-2 tenham sido avaliados em hipertensos<sup>13</sup>, desconhecem-se tais concentrações em pacientes com HAR. Este é o primeiro estudo que compara os níveis plasmáticos dessas moléculas, assim como as razões MMP-9/TIMP-1 e MMP-2/TIMP-2, entre pacientes com HARC e com HARNC.

## Métodos

### População do estudo

Este estudo transversal incluiu todos os 76 indivíduos diagnosticados com HAR em acompanhamento regular no ambulatório de Hipertensão Resistente, da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil. Os pacientes foram classificados em dois subgrupos, HARNC (n = 35) e HARC (n = 41), de acordo com as diretrizes estabelecidas pela *American Heart Association*<sup>1</sup>.

Todos os pacientes foram submetidos a exame físico, eletrocardiograma e exames laboratoriais para avaliar parâmetros bioquímicos. Os pacientes com formas secundárias de hipertensão, assim como, insuficiência renal, cardiopatia isquêmica, hepatopatias, doença vascular periférica, acidente vascular encefálico, tabagismo ou outra doença foram identificados e excluídos do estudo. Realizou-se monitoração ambulatorial da PA (Spacelabs 90207, Spacelabs Inc, Redmond, WA, EUA) para excluir hipertensão pseudo-resistente e caracterizar pacientes com HARC e HARNC. Adesão ao tratamento foi determinada pela contagem dos comprimidos (limiar de pelo menos 80% da medicação prescrita).

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas, da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil, tendo sido conduzido de acordo com a Declaração de Helsinki. Todos os participantes foram informados da natureza de pesquisa deste estudo e assinaram o termo de consentimento livre e informado antes de serem arrolados neste estudo.

Os seguintes parâmetros foram avaliados: PA no consultório; velocidade da onda de pulso (VOP); concentrações plasmáticas de MMP-9, MMP-2, TIMP-1 e TIMP-2; concentração plasmática de aldosterona (CPA); e atividade de renina plasmática (ARP).

### Medidas da PA no consultório

Os níveis de PA sistólica e diastólica (PAS e PAD, respectivamente) foram avaliados três vezes, usando-se um esfigmomanômetro digital (Omron HEM-711DLX, OMRON Healthcare Inc., Bannockburn, IL, EUA) no braço direito, com o paciente na posição sentada e após descanso de 10 minutos. Utilizou-se a média de duas medidas consecutivas, com uma variação inferior a 5 mmHg.

### Avaliação da velocidade da onda de pulso

A VOP foi medida usando-se o *Sphygmocor System* (Atcor Medical, Sydney, Austrália) com o paciente na posição supina<sup>15</sup>. Analisou-se a VOP nas artérias carótida e femoral direitas, estimando-se o retardo em relação à onda do eletrocardiograma. As medidas de distância foram tomadas entre o sítio de registro femoral e a fúrcula esternal menos a distância da fúrcula esternal até o sítio de registro carotídeo. A VOP carótida-femoral foi calculada dividindo-se a distância viajada pelo tempo de trânsito [VOP = distância(m)/tempo(s)]. Realizaram-se pelo menos duas medidas; se elas diferiram em mais de 0,5 m/s, uma terceira medida foi tomada.

### Avaliações laboratoriais

As amostras de sangue para os parâmetros bioquímicos foram coletadas às 8 horas da manhã, após um jejum noturno. As CPA e ARP foram medidas por radioimunoensaio, com as técnicas padrão. Os níveis plasmáticos dos biomarcadores MMP-9 e TIMP-1 foram medidos usando-se o teste imunoenzimático ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) (R&D System®, Minneapolis, EUA). De forma semelhante, os biomarcadores plasmáticos MMP-2 e TIMP-2 foram medidos usando-se ELISA, conforme as instruções do fabricante (RayBiotech®, Georgia, EUA).

### Análise estatística

Utilizaram-se a versão 3.02 do *Statistical Analysis System* (GraphPad Prism Inc., 2000) e a versão 12.0 do *SigmaPlot* (Systat software, Inc.) para todas as análises estatísticas deste estudo.

Todos os valores foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão. Avaliou-se a normalidade da distribuição usando-se o teste de Kolmogorov-Smirnov. Os subgrupos foram comparados usando-se o teste *t* de Student ou de Mann-Whitney, conforme a distribuição dos dados. Usou-se o teste do qui-quadrado para as variáveis categóricas. A correlação dos biomarcadores com os parâmetros clínicos foi avaliada com o teste de Pearson ou Spearman. Modelos de regressão foram realizados para testar a associação das variáveis, corrigidas para os potenciais fatores de confusão. Adotou-se o nível de significância de 0,05.

### Resultados

A Tabela 1 mostra os dados clínicos e laboratoriais dos dois subgrupos, e a Tabela 2 mostra os níveis plasmáticos dos biomarcadores. Como esperado, valores aumentados de PAS, PAD e VOP foram identificados em pacientes com HARNC em comparação àqueles com HARC. Não houve diferença significativa com relação a idade, sexo, índice de massa corporal (IMC) e parâmetros bioquímicos. Valores similares de MMP-9, TIMP-1, MMP-2, TIMP-2, razão MMP-9/TIMP-1 e razão MMP-2/TIMP-2 foram observados nos subgrupos HARNC e HARC ( $P > 0,05$ ; Tabela 2).

Quanto à medicação anti-hipertensiva, os pacientes com HARNC estavam tomando um número significativamente maior de fármacos anti-hipertensivos, demonstrado pelo uso de bloqueadores dos canais de cálcio, em comparação aos indivíduos controlados (Tabela 1).

**Tabela 1 – Características gerais dos subgrupos de hipertensão arterial resistente (HAR)**

	HARNC (n = 35)	HARC (n = 41)
Sexo feminino (%)	63	66
Idade (anos)*	57 $\pm$ 11	61 $\pm$ 9
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	30,0 $\pm$ 4,4	30,1 $\pm$ 4,4
PAS (mmHg)*	158 $\pm$ 20	136 $\pm$ 14
PAD (mmHg)*	91 $\pm$ 14	80 $\pm$ 7
VOP (m/s) *	11,9 $\pm$ 1,8	10,6 $\pm$ 1,3
Colesterol total (mg/dl)	203 $\pm$ 50	202 $\pm$ 39
LDL (mg/dl)	126 $\pm$ 38	125 $\pm$ 35
HDL (mg/dl)	44 $\pm$ 12	48 $\pm$ 14
Triglicerídeos (mg/dl)	160 $\pm$ 96	149 $\pm$ 66
Ureia (mg/dl)	38,1 $\pm$ 11,8	35,9 $\pm$ 7,5
Creatinina (mg/dl)	1,0 $\pm$ 0,2	0,9 $\pm$ 0,2
Glicemia de jejum (mg/dl)	125,4 $\pm$ 54,1	106,7 $\pm$ 34,2
Ácido úrico (mg/dl)	5,9 $\pm$ 1,6	5,8 $\pm$ 1,5
Aldosterona (pg/ml) *	109,7 $\pm$ 82,0	101,1 $\pm$ 70,5
Renina (pg/ml)	22,4 $\pm$ 19,6	21,2 $\pm$ 18,2
<b>Anti-hipertensivos</b>		
<b>Número total (diário) *</b>	<b>4,6 <math>\pm</math> 0,9</b>	<b>4,2 <math>\pm</math> 0,9</b>
Espironolactona (%)	43	37
Diuréticos (%)	100	100
Betabloqueadores(%)	69	68
IECA (%)	46	29
BRA (%)	54	51
BCC (%)*	97	68
Anti-hipertensivos de ação central (%)	37	17

HARNC: hipertensão arterial resistente não controlada; HARC: hipertensão arterial resistente controlada; IMC: índice de massa corporal; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; VOP: velocidade de onda de pulso; LDL: lipoproteína de baixa densidade; HDL: lipoproteína de alta densidade; IECA: inibidores da enzima de conversão da angiotensina; BRA: bloqueador do receptor da angiotensina II; BCC: bloqueadores dos canais de cálcio. Valores expressos como média  $\pm$  DP ou percentagem. \*  $p < 0,05$  entre os grupos.

Análises de correlação para o subgrupo HARNC indicaram que a PAD correlacionou-se com a razão MMP-9/TIMP-1 ( $r = 0,37$ ;  $p = 0,02$ ); entretanto, a PAD relacionou-se inversamente com os níveis de MMP-2 ( $r = -0,40$ ;  $p = 0,02$ ). Naquele subgrupo, CPA e idade também se correlacionaram com a razão MMP-9/TIMP-1 ( $r = 0,57$ ,  $p < 0,001$  e  $r = -0,37$ ,  $p = 0,02$ , respectivamente) e, apenas naquele subgrupo, MMP-2 correlacionou-se com idade ( $r = 0,42$ ,  $p = 0,01$ ). Além disso, essas associações permaneceram significativas após ajuste para sexo e IMC incluídos no modelo de regressão linear [coeficiente beta = 11,5; erro padrão (EP) = 5,5,  $p = 0,04$ ; coeficiente beta = -0,08, EP = 0,04,  $p = 0,04$ , respectivamente]. Por fim, os

níveis plasmáticos desses biomarcadores não se correlacionaram com qualquer parâmetro clínico nos indivíduos com HARC (Tabelas 3 e 4). Considerando-se todo o grupo HAR ( $n = 76$ ), observou-se que: (i) a razão MMP-9/TIMP-1 associou-se inversamente com IMC ( $r = -0,25$ ,  $p = 0,03$ ), mas positivamente com os níveis de aldosterona ( $r = 0,24$ ,  $p = 0,04$ ); e (ii) MMP-2 associou-se inversamente com PAD ( $r = -0,26$ ,  $p = 0,02$ ), mas positivamente com idade ( $r = 0,40$ ,  $p < 0,001$ ). Por fim, os modelos de regressão logística demonstraram que MMP-9 e MMP-2, seus inibidores teciduais 1 e 2 e suas razões não se associaram com a falta de controle da PA (dados não mostrados) na HAR quando ajustados para sexo, idade e IMC.

**Tabela 2 – Características dos biomarcadores nos subgrupos de hipertensão arterial resistente (HAR)**

Biomarcadores	HARNC (n = 35)	HARC (n = 41)
MMP-9 (ng/ml)	253 ± 134	225 ± 121
TIMP-1 (ng/ml)	499 ± 406	407 ± 249
Razão MMP-9/TIMP-1	0,68 ± 0,45	0,77 ± 0,59
MMP-2 (ng/ml)	330 ± 71	312 ± 69
TIMP-2 (ng/ml)	306 ± 132	339 ± 184
Razão MMP-2/TIMP-2	1,31 ± 0,79	1,24 ± 0,78

HARNC: hipertensão arterial resistente não controlada; HARC: hipertensão arterial resistente controlada; MMP-9: metaloproteinase da matriz extracelular-9; TIMP-1: inibidor tecidual da MMP-1; MMP-2: metaloproteinase da matriz extracelular-2; TIMP-2: inibidor tecidual da MMP-2. Valores expressos como média ± DP ou percentagem. \*  $p < 0,05$  entre os grupos.

**Tabela 3 – Correlação entre parâmetros clínicos e MMP-9, TIMP-1 e MMP-9/TIMP-1**

Grupos	Biomarcadores	PAS	PAD	VOP
HARC	MMP-9	0,23 (0,14)	0,06 (0,67)	0,06 (0,66)
	TIMP-1	0,03 (0,85)	0,12 (0,44)	-0,06 (0,67)
	Razão MMP-9/TIMP-1	0,07 (0,64)	-0,12 (0,42)	-0,02 (0,86)
HARNC	MMP-9	0,04 (0,82)	0,14 (0,41)	-0,03 (0,82)
	TIMP-1	-0,23 (0,17)	-0,33 (0,05)	-0,07 (0,68)
	Razão MMP-9/TIMP-1	0,15 (0,38)	0,37 (0,02*)	0,02 (0,91)

Os dados são expressos como coeficiente de correlação (p-valor); HARNC: hipertensão arterial resistente não controlada; HARC: hipertensão arterial resistente controlada; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; VOP: velocidade de onda de pulso. \*  $p < 0,05$ .

**Tabela 4 – Correlação entre parâmetros clínicos e MMP-2, TIMP-2 e MMP-2/TIMP-2**

Grupos	Biomarcadores	PAS	PAD	VOP
HARC	MMP-2	-0,01 (0,93)	0,02 (0,88)	-0,09 (0,54)
	TIMP-2	-0,14 (0,25)	-0,03 (0,83)	0,04 (0,77)
	Razão MMP-2/TIMP-2	0,23 (0,13)	0,04 (0,75)	-0,24 (0,12)
HARNC	MMP-2	-0,21 (0,20)	-0,40 (0,02*)	0,18 (0,29)
	TIMP-2	0,21 (0,21)	-0,01 (0,97)	0,03 (0,85)
	Razão MMP-2/TIMP-2	-0,26 (0,11)	-0,28 (0,09)	0,06 (0,72)

Os dados são expressos como coeficiente de correlação (p-valor); HARNC: hipertensão arterial resistente não controlada; HARC: hipertensão arterial resistente controlada; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; VOP: velocidade de onda de pulso. \*  $p < 0,05$ .

## Discussão

Este é o primeiro estudo a analisar a associação dos biomarcadores MMP-2 e MMP-9 com os níveis de PA na população com HAR. Interessante notar que as correlações de PAD e idade com razão MMP-9/TIMP-1 e de PAD com MMP-2 foram observadas apenas no subgrupo HARNC. As CPA e idade também correlacionaram-se com a razão MMP-9/TIMP-1 na HARNC. Nesse contexto, como previamente demonstrado<sup>1,16,17</sup>, reforçamos a ideia de várias diferenças importantes na fisiopatologia dos subgrupos de HAR. Entretanto, não se encontrou qualquer associação entre os biomarcadores e PAS, provavelmente porque a PAD é uma variável mais estável do que o componente sistólico.

Em condições fisiológicas, existe equilíbrio entre MMPs e TIMPs. Por outro lado, nos processos patológicos, como hipertensão, um desequilíbrio na razão MMPs/TIMPs contribui para a degradação excessiva das proteínas da matriz extracelular (MEC)<sup>18</sup>, com consequente remodelamento vascular patológico<sup>19</sup>. Logo, a razão MMP-9/TIMP-1 pode ser um melhor indicador daquele processo. Em conjunto, a razão MMP-9/TIMP-1 em associação aos níveis de PAD em HARNC poderia reforçar a importância de alguns fenótipos diferentes na fisiopatologia dos pacientes não controlados.

Resultados inconsistentes foram obtidos sobre os níveis das gelatinases (MMP-2 e MMP-9) na hipertensão essencial<sup>3</sup>. Entretanto, nosso estudo difere desse achado anterior sobre a avaliação das gelatinases e seus inibidores na HAR. Sabe-se que a HAR está associada com elevação do risco cardiovascular<sup>20</sup>, mas hipertensos não controlados estão provavelmente expostos a risco cardiovascular mais aumentado, o que pode refletir um pior prognóstico quando comparado a indivíduos controlados. Além disso, nosso estudo encontrou uma correlação inversa entre MMP-2 e PAD no subgrupo HARNC, sugerindo uma associação entre MMP-2 e controle da PA naquele subgrupo.

As MMPs são endopeptidases zinco-dependentes, com aquele íon no sítio ativo. Da mesma forma, a enzima de conversão da angiotensina (ECA) é zinco-dependente e inibida pelos inibidores da ECA, amplamente utilizados no tratamento anti-hipertensivo atual. Portanto, a MMP-9 também pode ser inibida pelos inibidores da ECA pela sua ligação com zinco no sítio ativo<sup>21</sup>, sugerindo que o tratamento com inibidores da ECA possa inibir a atividade da MMP-9<sup>22</sup>.

Embora altos níveis de MMP-9 fossem esperados no subgrupo HARNC, tal achado negativo pode dever-se ao fato de que todos os indivíduos com HAR têm a doença hipertensiva por um longo período e tomam um grande número de anti-hipertensivos, que poderiam reduzir a atividade da MMP-9, particularmente se relacionada ao uso de inibidores da ECA, como evidenciado em vários estudos<sup>21,22</sup>.

Por exemplo, alguns estudos avaliaram a relação entre MMP-9 e TIMP-1 em pacientes com hipertensão essencial, tendo demonstrado que, após o tratamento anti-hipertensivo, os níveis circulantes dessas moléculas eram significativamente mais altos em hipertensos do que em controles normotensos. Em alguns casos, observou-se redução dos níveis plasmáticos de MMP-9 com consequente

elevação dos níveis plasmáticos de TIMP-1 após tratamento anti-hipertensivo<sup>23</sup>. Outros achados incluem: as alterações de MMP no perfil de TIMP, favorecendo a diminuição da degradação da MEC (diminuição de MMP-2, MMP-9 e MMP-13 e aumento de TIMP-1), estão associadas com hipertrofia ventricular esquerda e disfunção diastólica; e níveis elevados de TIMP-1 predisseram a presença de insuficiência cardíaca crônica<sup>11</sup>.

Além disso, níveis significativamente mais elevados de TIMP-1 foram relatados em hipertensos em comparação a normotensos; no entanto, os níveis de TIMP-1 não estão elevados na hipertensão isolada, apenas em pacientes com disfunção diastólica e fibrose. Isso sugere que a síntese e liberação de TIMP-1 sejam independentes da PA e provavelmente dependentes de uma variedade de fatores neuro-hormonais, sendo um nível de TIMP-1 superior a 500 ng/ml um indicador preciso de disfunção diastólica e lesão de órgão-alvo<sup>24</sup>.

Uma hipótese a se considerar a respeito da elevação dos níveis plasmáticos de TIMP-1 é gerar uma resposta para modular ou limitar a degradação de colágeno, contribuindo, portanto, para o desenvolvimento de rigidez arterial. Diferentemente da MMP-9, alguns estudos indicam um aumento de TIMP-1 após tratamento anti-hipertensivo<sup>10,23,24</sup>.

Em contraste, alguns estudos relataram a associação de níveis elevados de TIMP-1 com um aumento da incidência de hipertensão e risco de progressão da PA<sup>25</sup>. Outros estudos mostraram aumento de TIMP-1 em normotensos vs. Hipertensos<sup>26</sup>, e também TIMP-1 inalterado<sup>27</sup> ou diminuído<sup>28</sup>.

Além disso, os TIMPs desempenham importante papel nos processos de remodelamento cardiovascular, a despeito de sua atividade inibidora de MMP, i.e., tais inibidores podem ter um importante papel na PA, independente da ação das MMPs<sup>23</sup>.

A VOP é amplamente usada como índice de elasticidade e rigidez arterial, sendo as propriedades da parede arterial, como espessura e diâmetro da luz, os fatores que mais influenciam a VOP<sup>29</sup>. A VOP é o método padrão-ouro para medir rigidez arterial, desempenha papel essencial na fisiopatologia da hipertensão e prediz mortalidade em pacientes com hipertensão<sup>30</sup>. Os mecanismos envolvidos na rigidez arterial não são completamente entendidos; há evidência, no entanto, de que são complexos, incluindo alterações estruturais da MEC e a participação das MMPs. No nosso estudo, os níveis de gelatinases e TIMPs não se correlacionaram com os valores da VOP. Tais achados negativos podem estar relacionados com rigidez vascular na HAR, como já mostrado<sup>31</sup>. Além disso, a rigidez das grandes artérias parece ser uma inevitável consequência do envelhecimento, i.e., esse processo torna-se mais pronunciado na idade mais avançada, que, segundo alguns autores, é o principal determinante da rigidez arterial<sup>1</sup>. Nos pacientes deste estudo, o processo de rigidez arterial pode ter sido concluído ou perdido, pois esses indivíduos tinham idade avançada, que está relacionada diretamente ao aumento de VOP e pressão de pulso (PP), em especial no grupo de HARNC. Essa pode ser uma explicação para a falta de correlação dos biomarcadores estudados com VOP e PP.



Aldosteronismo primário é a segunda causa mais comum de HAR<sup>32</sup>. Tal condição caracteriza-se por excessiva secreção de aldosterona pelas glândulas adrenais, sendo as formas principais a produção de adenomas e o hiperaldosteronismo idiopático<sup>33,34</sup>.

É importante notar que pacientes com HAR apresentam níveis elevados de aldosterona, mas isso não se deve a aldosteronismo primário. Estudos anteriores mostraram que indivíduos com HARNC apresentam CPA mais alta do que aqueles com HARC<sup>1</sup>. Um estudo com 88 pacientes consecutivos com HAR relatou uma incidência de 20% de aldosteronismo primário, definido pela medida de dois parâmetros: ARP e concentração urinária de aldosterona<sup>35</sup>. Em conformidade com esses achados, outros centros médicos relataram uma prevalência de 17%–22% de aldosteronismo primário em pacientes com HAR<sup>36,37</sup>. Alta CPA leva a remodelamento de pequenas e grandes artérias, causando síntese de colágeno, que resulta em aumento da rigidez arterial e da PA<sup>38</sup>.

Embora este estudo tenha encontrado uma correlação positiva entre CPA e razão MMP-9/TIMP-1, o hiperaldosteronismo é um conhecido fator de risco independente na hipertensão arterial, e, portanto, no processo de rigidez arterial<sup>32</sup>.

A principal limitação deste estudo foi o pequeno número de pacientes com HARNC e HARC arrolados. Neste estudo, o tamanho da amostra não foi calculado, pois todos os 76 indivíduos em acompanhamento regular no ambulatório de Hipertensão Resistente foram incluídos. Estudos recentes demonstraram achados importantes, inclusive em HARC e HARNC, com uma população assim tão pequena<sup>16,17,39</sup>. Por outro lado, a falta de associação entre os principais achados pode ser atribuída ao baixo poder estatístico ou erro tipo II. Além disso, os anti-hipertensivos podem influenciar os níveis de gelatinases, como demonstrado por Fontana e cols.<sup>13</sup> e outros estudos. Realizamos análise de regressão linear múltipla para a predição de biomarcadores (MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2, e suas razões) ajustada para os anti-hipertensivos. Tais modelos de regressão indicaram que apenas o uso de betabloqueadores foi preditor dos níveis de TIMP-1 e razão MMP-9/TIMP-1 em todos os indivíduos com HAR. No entanto, esse possível fator de confusão não afetou nossos achados, pois os subgrupos HARC e HARNC apresentaram proporção similar de uso de betabloqueadores. Devido a questões éticas,

os anti-hipertensivos não foram suspensos nos indivíduos com HAR para excluir a influência desses fármacos nos níveis plasmáticos dos biomarcadores.

### Conclusão

Este estudo demonstrou que, embora a razão MMP-9/TIMP-1 e a MMP-2 estejam associadas aos níveis de PAD, aldosterona e idade no subgrupo de HARNC, não parecem influenciar a resistência à terapia anti-hipertensiva, uma vez que os biomarcadores não se associaram à falta de controle da PA na HAR. Estudos prospectivos adicionais com uma maior população com HAR devem ser realizados para confirmar os achados deste estudo.

### Agradecimentos

Este estudo foi apoiado por Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

### Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa: Moreno Júnior H, Sandrim VC. Obtenção de dados: Lacerda LHG, Sandrim VC. Análise e interpretação dos dados: Faria AP, Moreno Júnior H, Sandrim VC. Análise estatística: Faria AP, Sandrim VC. Obtenção de financiamento: Moreno Júnior H, Sandrim VC. Redação do manuscrito: Lacerda LHG, Faria AP, Sandrim VC. Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Lacerda LHG, Faria AP, Fontana V, Moreno Júnior H, Sandrim VC.

### Potencial Conflito de Interesse

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

### Fontes de Financiamento

O presente estudo foi financiado por FAPEMIG, FAPESP e CNPq.

### Vinculação Acadêmica

Este artigo é parte de dissertação de Mestrado de Leandro Heleno Guimarães Lacerda pelo Instituto de Ensino e Pesquisa da Santa Casa de Belo Horizonte.

## Referências

1. Martins LC, Figueiredo VN, Quinaglia T, Boer-Martins L, Yugar-Toledo JC, Martin JF, et al. Characteristics of resistant hypertension: ageing, body mass index, hyperaldosteronism, cardiac hypertrophy and vascular stiffness. *J Hum Hypertens*. 2011;25(9):532-8.
2. Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc Res*. 2006;69(3):562-73.
3. Fontana V, Silva PS, Gerlach RF, Tanus-Santos JE. Circulating matrix metalloproteinases and their inhibitors in hypertension. *Clin Chim Acta*. 2012; 413(7-8):656-62.
4. Castro MM, Rizzi E, Prado CM, Rossi MA, Tanus-Santos JE, Gerlach RF. Imbalance between matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinases in hypertensive vascular remodeling. *Matrix Biol*. 2010;29(3):194-201.
5. Hansson J, Vasan RS, Amlöv J, Ingelsson E, Lind L, Larsson A, et al. Biomarkers of extracellular matrix metabolism (MMP-9 and TIMP-1) and risk of stroke, myocardial infarction, and cause-specific mortality: cohort study. *PLoS One*. 2011;6(1):e16185.
6. Lehoux S, Lemarie CA, Esposito B, Lijnen HR, Tedgui A. Pressure-induced matrix metalloproteinase-9 contributes to early hypertensive remodeling. *Circulation*. 2004;109(8):1041-7.
7. Chung AW, Booth AD, Rose C, Thompson CR, Levin A, van Breemen C. Increased matrix metalloproteinase 2 activity in the human internal mammary artery is associated with ageing, hypertension, diabetes and kidney dysfunction. *J Vasc Res*. 2008;45(4):357-62.
8. Fernandez-Patron C, Radoski MW, Davidge ST. Vascular matrix metalloproteinase-2 cleaves big endothelin-1 yielding a novel vasoconstrictor. *Circ Res*. 1999;85(10):906-11.
9. Chow AK, Cena J, Schulz R. Acute actions and novel targets of matrix metalloproteinases in the heart and vasculature. *Br J Pharmacol*. 2007;152(2):189-205.
10. Onal IK, Altun B, Onal ED, Kirkpantur A, Gul Oz S, Turgan C. Serum levels of MMP-9 and TIMP-1 in primary hypertension and effect of antihypertensive treatment. *Eur J Intern Med*. 2009;20(4):369-72.
11. 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(17):2089-96.
12. Zhou S, Feely J, Spiers JP, Mahmud A. Matrix metalloproteinase-9 polymorphism contributes to blood pressure and arterial stiffness in essential hypertension. *J Hum Hypertens*. 2007;21(11):861-7.
13. Fontana V, Silva PS, Belo VA, Antonio RC, Ceron CS, Biagi C, et al. Consistent alterations of circulating matrix metalloproteinases levels in untreated hypertensives and in spontaneously hypertensive rats: a relevant pharmacological target. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2011 Aug;109(2):130-7.
14. Calhoun DA, Jones D, Textor S, Goff DC, Murphy TP, Toto RD, et al. Resistant hypertension: diagnosis, evaluation, and treatment: a scientific statement from the American Heart Association Professional Education Committee of the Council for High Blood Pressure Research. *Circulation*. 2008;117(25):e510-26.
15. Laurent S, Cockcroft J, Van Bortel L, Boutouyrie P, Giannattasio C, Hayoz D, et al. Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. *Eur Heart J*. 2006;27(21):2588-605.
16. Sabbatini AR, Faria AP, Barbaro NR, Gordo WM, Modolo RG, Pinho C, et al. Deregulation of adipokines related to target organ damage on resistant hypertension. *J Hum Hypertens*. 2014;28(6):388-92.
17. de Faria AP, Demacq C, Figueiredo VN, Moraes CH, Santos RC, Sabbatini AR, et al. Hypoadiponectinemia and aldosterone excess are associated with lack of blood pressure control in subjects with resistant hypertension. *Hypertens Res*. 2012;36(12):1067-72.
18. Murphy G, Nagase H. Progress in matrix metalloproteinase research. *Mol Aspects Med*. 2008;29(5):290-308.
19. Sluijter JP, de Kleijn DP, Pasterkamp G. Vascular remodeling and protease inhibition--bench to bedside. *Cardiovasc Res*. 2006;69(3):595-603.
20. Pierdomenico SD, Lapenna D, Bucci A, Di Tommaso R, Di Mascio R, Manente BM, et al. Cardiovascular outcome in treated hypertensive patients with responder, masked, false resistant, and true resistant hypertension. *Am J Hypertens*. 2005;18(11):1422-8.
21. Sorbi D, Fadly M, Hicks R, Alexander S, Arbeit L. Captopril inhibits the 72 kDa and 92 kDa matrix metalloproteinases. *Kidney Int* 1993;44(6):1266-72.
22. Inoue N, Takai S, Jin D, Okumura K, Okamura N, Kajiura M, et al. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibitor on matrix metalloproteinase-9 activity in patients with Kawasaki disease. *Clin Chim Acta*. 2010;411(3-4):267-9.
23. 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.
24. Lindsay MM, Maxwell P, Dunn FG. TIMP-1: a marker of left ventricular diastolic dysfunction and fibrosis in hypertension. *Hypertension*. 2002;40(2):136-41.
25. Dhingra R, Pencina MJ, Schrader P, Wang TJ, Levy D, Pencina K, et al. Relations of matrix remodeling biomarkers to blood pressure progression and incidence of hypertension in the community. *Circulation*. 2009;119(8):1101-7.
26. Tan J, Hua Q, Xing X, Wen J, Liu R, Yang Z. Impact of the metalloproteinase-9/tissue inhibitor of metalloproteinase-1 system on large arterial stiffness in patients with essential hypertension. *Hypertension Res*. 2007;30(10):959-63.
27. Visscher DW, Hoyhtya M, Ottosen SK, Liang CM, Sarkar FH, Crissman JD, et al. Enhanced expression of tissue inhibitor of metalloproteinase-2 (TIMP-2) in the stroma of breast carcinomas correlates with tumor recurrence. *Int J Cancer*. 1994;59(3):339-44.
28. Korem S, Kraiem Z, Shiloni E, Yehezkel O, Sadeh O, Resnick MB. Increased expression of matrix metalloproteinase-2: a diagnostic marker but not prognostic marker of papillary thyroid carcinoma. *Isr Med Assoc J (IMAJ)*. 2002;4(4):247-51.
29. Safar ME, Henry O, Meaume S. Aortic pulse wave velocity: an independent marker of cardiovascular risk. *Am J Geriatr Cardiol*;11(5):295-8.
30. Laurent S, Boutouyrie P, Asmar R, Gautier I, Laloux B, Guize L, et al. Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients. *Hypertension*. 2001;37(5):1236-41.
31. Figueiredo VN, Yugar-Toledo JC, Martins LC, Martins LB, de Faria AP, de Haro Moraes C, et al. Vascular stiffness and endothelial dysfunction: Correlations at different levels of blood pressure. *Blood Press*. 2011;21(1):31-8.
32. Umpierrez GE, Cantey P, Smiley D, Palacio A, Temponi D, Luster K, et al. Primary aldosteronism in diabetic subjects with resistant hypertension. *Diabetes Care*. 2007;30(7):1699-703.
33. Mulatero P, Dluhy RG, Giacchetti G, Boscaro M, Veglio F, Stewart PM. Diagnosis of primary aldosteronism: from screening to subtype differentiation. Trends in endocrinology and metabolism. *Trends Endocrinol Metab*. 2005;16(3):114-9.

## Artigo Original

34. Mulatero P, Stowasser M, Loh KC, Fardella CE, Gordon RD, Mosso L, et al. Increased diagnosis of primary aldosteronism, including surgically correctable forms, in centers from five continents. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(3):1045-50.
35. Calhoun DA, Nishizaka MK, Zaman MA, Thakkar RB, Weissmann P. Hyperaldosteronism among black and white subjects with resistant hypertension. *Hypertension.* 2002; 40(6): 892-6.
36. Eide IK, Torjesen PA, Drolsum A, Babovic A, Lilledahl NP. Low-renin status in therapy-resistant hypertension: a clue to efficient treatment. *J Hypertens.* 2004; 22(11): 2217-26.
37. Strauch B, Zelinka T, Hampf M, Bernhardt R, Widimsk J Jr. Prevalence of primary hyperaldosteronism in moderate to severe hypertension in the Central Europe region. *J Hum Hypertens* 2003; 17(5): 349-52.
38. Duprez DA. Aldosterone and the vasculature: mechanisms mediating resistant hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2007; 9(1 Suppl 1): 13-8.
39. de Haro Moraes C, Figueiredo VN, de Faria AP, Barbaro NR, Sabbatini AR, Quinaglia T, et al. High-circulating leptin levels are associated with increased blood pressure in uncontrolled resistant hypertension. *J Hum Hypertens.* 2013;27(4):225-30.