



# Influência da Espironolactona na Metaloproteinase de Matriz 2 na Insuficiência Cardíaca Aguda Descompensada

*Influence of Spironolactone on Matrix Metalloproteinase-2 in Acute Decompensated Heart Failure*

João Pedro Ferreira<sup>1</sup>, Mário Santos<sup>1</sup>, José Carlos Oliveira<sup>1</sup>, Irene Marques<sup>1</sup>, Paulo Bettencourt<sup>2</sup>, Henrique Carvalho<sup>1</sup>  
Centro Hospitalar do Porto<sup>1</sup>; Centro Hospitalar São João<sup>2</sup>, Porto – Portugal

## Resumo

**Fundamento:** As metaloproteinases de matriz (MMPs) constituem uma família de enzimas importantes para a reabsorção da matriz extracelular e controle do remodelamento e da reparação vasculares. Demonstrou-se aumento da atividade de MMP2 na insuficiência cardíaca, e, na insuficiência cardíaca agudamente descompensada (ICAD), demonstrou-se uma diminuição nas MMPs circulantes juntamente com o tratamento bem-sucedido.

**Objetivos:** Testar a influência da espironolactona nos níveis de MMP2.

**Métodos:** Análise secundária de estudo prospectivo, intervencionista, incluindo 100 pacientes com ICAD, 50 designados não aleatoriamente para o uso de espironolactona (100 mg/dia) mais terapia padrão para ICAD (grupo espironolactona) e 50 para terapia padrão para ICAD apenas (grupo controle).

**Resultados:** Os pacientes do grupo espironolactona eram mais jovens e tinham níveis mais baixos de creatinina e ureia (todos  $p < 0,05$ ). Os valores basais de MMP2, NT-pro BNP e peso não diferiram entre os grupos espironolactona e controle. Observou-se tendência para uma redução mais pronunciada na MMP2 do basal para o dia 3 no grupo espironolactona (-21 [-50 a 19] vs 1,5 [-26 a 38] ng/ml,  $p = 0,06$ ). Os valores de NT-pro BNP e peso também apresentaram maior diminuição no grupo espironolactona. A proporção de pacientes com redução nos níveis de MMP2 do basal para o dia 3 também foi maior no grupo espironolactona (50% vs 66,7%), embora sem significado estatístico. As correlações entre as variações de MMP2, NT-pro BNP e peso não apresentaram significado estatístico.

**Conclusões:** Os níveis de MMP2 acham-se aumentados na ICAD. Pacientes tratados com espironolactona podem apresentar maior redução nos níveis de MMP2. (Arq Bras Cardiol. 2015; 104(4):308-314)

**Palavras-chave:** Insuficiência Cardíaca; Espironolactona/uso terapêutico; Metaloproteinase 2 da Matriz/uso terapêutico.

## Abstract

**Background:** Matrix metalloproteinases (MMPs) are a family of enzymes important for the resorption of extracellular matrices, control of vascular remodeling and repair. Increased activity of MMP2 has been demonstrated in heart failure, and in acutely decompensated heart failure (ADHF) a decrease in circulating MMPs has been demonstrated along with successful treatment.

**Objective:** Our aim was to test the influence of spironolactone in MMP2 levels.

**Methods:** Secondary analysis of a prospective, interventional study including 100 patients with ADHF. Fifty patients were non-randomly assigned to spironolactone (100 mg/day) plus standard ADHF therapy (spironolactone group) or standard ADHF therapy alone (control group).

**Results:** Spironolactone group patients were younger and had lower creatinine and urea levels (all  $p < 0.05$ ). Baseline MMP2, NT-pro BNP and weight did not differ between spironolactone and control groups. A trend towards a more pronounced decrease in MMP2 from baseline to day 3 was observed in the spironolactone group (-21 [-50 to 19] vs 1.5 [-26 to 38] ng/mL,  $p = 0.06$ ). NT-pro BNP and weight also had a greater decrease in the spironolactone group. The proportion of patients with a decrease in MMP2 levels from baseline to day 3 was also likely to be greater in the spironolactone group (50% vs 66.7%), but without statistical significance. Correlations between MMP2, NT-pro BNP and weight variation were not statistically significant.

**Conclusion:** MMP2 levels are increased in ADHF. Patients treated with spironolactone may have a greater reduction in MMP2 levels. (Arq Bras Cardiol. 2015; 104(4):308-314)

**Keywords:** Heart Failure; Spironolactone/therapeutic use; Matrix Metalloproteinase 2/ therapeutic use.

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

**Correspondência:** João Pedro Ferreira •  
Rua Dr. José Oliveira e Silva, nº 52, Salreu-Estarreja. CEP 3865-209, Porto – Portugal  
Email: jp7ferreira@hotmail.com  
Artigo recebido em 22/06/14; revisado em 13/09/14; aceito em 02/10/14.

DOI: 10.5935/abc.20140205

## Introdução

As metaloproteinases de matriz (MMPs) constituem uma família de enzimas intersticiais zinco-dependentes importantes para a reabsorção de matriz extracelular (MEC) tanto na saúde quanto na doença<sup>1</sup>. A MEC é uma estrutura dinâmica fundamental para o controle do remodelamento e da reparação vasculares<sup>1</sup>, principalmente devido à habilidade das MMPs para reabsorver e digerir quantidades excessivas de MEC responsáveis pela ruptura estrutural<sup>2,3</sup>.

Elevados níveis de MMPs promovem perda da contratilidade cardíaca através de proteólise celular e alterações na MEC, contribuindo para processos de remodelamento cardíaco e extra-cardíaco<sup>4</sup>. Na verdade, modelos clínicos e experimentais de insuficiência cardíaca (IC) de miocardiopatia dilatada e isquêmica mostraram um aumento da atividade de metaloproteinase de matriz-2 (MMP2)<sup>2,5-7</sup>. Em pacientes com IC, níveis aumentados de MMP2 foram associados a mortalidade por todas as causas<sup>8</sup>. Além disso, num quadro de IC agudamente descompensada (ICAD), demonstrou-se redução de MMPs circulantes juntamente com o tratamento bem-sucedido da ICAD<sup>3,9</sup>. Estudos prévios sugeriram que o uso de espironolactona na ICAD apresenta benefício terapêutico<sup>10</sup>. No entanto, nenhum estudo avaliou o efeito da espironolactona no remodelamento de MEC.

O presente estudo teve por objetivo examinar a influência da espironolactona no remodelamento de MEC em pacientes com ICAD. Levantamos a hipótese de que os níveis plasmáticos de MMP-2 em pacientes com ICAD apresentarão redução mais marcante com a adição de espironolactona ao tratamento padrão.

## Métodos

### Delineamento do estudo

Analisamos os dados de um ensaio clínico piloto, prospectivo e intervencionista, que realizamos entre os meses de fevereiro de 2012 e de 2013. Durante esse período, arrolamos 100 pacientes consecutivos com ICAD que se apresentaram em um hospital terciário português. Os pacientes elegíveis para o arrolamento tinham que apresentar descompensação de IC crônica com sintomas que levassem à hospitalização. A ICAD foi diagnosticada com base na história de IC crônica e em pelo menos um sintoma agudo (dispneia, ortopneia ou edema) e um sinal (estertores, edema periférico, ascite ou congestão vascular pulmonar na radiografia de tórax). Os pacientes foram designados de modo não aleatório, sequencialmente na razão de 1:1 para o grupo espironolactona (espironolactona mais tratamento padrão para ICAD) ou grupo controle (apenas tratamento padrão para ICAD), sendo 50 pacientes em cada braço. Eles foram designados de modo alternado para o braço 'espironolactona' ou para o braço 'tratamento padrão para ICAD', sequencialmente, sendo o primeiro paciente para um braço e o próximo para o outro. Essa sequência foi repetida até a obtenção de 100 pacientes (50 no grupo espironolactona e 50 no grupo controle). Os pacientes desconheciam sua alocação nos grupos, mas os médicos não. A dose recomendada de espironolactona foi de 100 mg/dia. No entanto, o médico assistente podia reduzir

essa dose para 50 mg/dia, 48 horas após a admissão. A dose de furosemida e sua via de administração foram ajustadas clinicamente de acordo com a hidratação dos pacientes.

Os critérios de exclusão foram: uso crônico de antagonistas do receptor de mineralocorticoide; cirurgia cardíaca nos 60 dias anteriores ao arrolamento; suporte cardíaco mecânico; tratamento de ressincronização cardíaca nos 60 dias anteriores ao arrolamento; comorbidades com expectativa de sobrevivência menor do que 6 meses; infarto agudo do miocárdio no momento da hospitalização; valvopatia cardíaca primária hemodinamicamente significativa não corrigida; necessidade de vasodilatadores intravenosos ou agentes inotrópicos; pressão arterial sistólica supina < 90 mmHg; creatinina plasmática > 1,5 mg/dL; potássio sérico > 5,0 mmol/L; hemoglobina < 9 g/dL; e sepse.

Obteve-se aprovação do conselho de revisão institucional ou do comitê de ética. Todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

### Avaliação clínica dos participantes

O status clínico dos pacientes, incluindo o exame físico, foi registrado prospectivamente pelo mesmo médico assistente no dia 1 e no dia 3. Os medicamentos e respectivas dosagens foram prospectivamente registrados pelos pesquisadores de acordo com as prescrições dos médicos assistentes.

Amostras de sangue foram coletadas nas primeiras 24 horas após a admissão (basal), sendo as do dia 3 coletadas entre 72 e 96 horas de hospitalização. Os exames foram realizados no laboratório central e incluíram creatinina e ureia plasmáticas, eletrólitos, NT-pro BNP e MMP2. A avaliação clínica e as análises de rotina foram realizadas diariamente durante a hospitalização. A taxa de filtração glomerular (TFG) foi estimada usando-se a equação do grupo *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI)*<sup>11</sup>. Todos os pacientes foram submetidos a ecocardiografia transtorácica em até 72 horas após a admissão. Calculou-se a fração de ejeção ventricular esquerda (FEVE) usando-se o método biplanar de Simpson.

A MMP2 foi medida usando-se o teste imunoenzimático ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) - Quantikine Elisa Human MMP-2 Immunoassay (R&D Systems, Inc®). A faixa de normalidade para os valores de MMP2 publicada pelo fabricante é de: mediana [intervalo interquartil]<sub>25-75</sub> = 199 [161 – 301] ng/ml. A sensibilidade do ensaio é de 0,047 ng/ml.

Dos 100 pacientes estudados, 87 tiveram suas amostras sanguíneas basais (dia 1) e do dia 3 analisadas, sendo que, em 13 pacientes, houve erros de transporte e/ou processamento de amostras. As amostras foram coletadas pela manhã com os pacientes na posição supina. O soro foi separado e armazenado a -80 °C até a análise.

### Definições das variáveis

Os pacientes foram classificados de acordo com o uso de espironolactona e suas respostas ao tratamento diurético.

Estudamos as relações entre as características basais, do dia 3 e as alterações ( $\Delta$ , diferença entre os valores do dia 3 e

os basais) de MMP2, NT-pro BNP e peso, referentes ao uso de espironolactona e resposta diurética.

### Análise estatística

As variáveis contínuas com distribuição normal são expressas como média  $\pm$  desvio padrão (DP), sendo as distribuições assimétricas apresentadas como mediana [IQ<sub>25-75</sub>].

As variáveis categóricas são expressas em proporções (%).

Os grupos foram comparados usando-se testes paramétricos (teste *t* para amostras independentes), não paramétricos (Mann-Whitney) ou qui-quadrado, quando apropriado.

As correlações de MMP2 foram examinadas por regressão linear com variável única apresentadas como coeficiente de correlação e intervalo de confiança de 95% [IC 95%].

Considerou-se um valor de  $p < 0,05$  para significado estatístico.

A análise estatística foi realizada com o programa SPSS, versão 19 (Chicago, IL, EUA).

## Resultados

### Características Basais nos Grupos Controle e Espironolactona

Os pacientes do grupo controle eram mais velhos ( $78,8 \pm 9,3$  versus [vs.]  $73,2 \pm 11,7$  anos,  $p = 0,01$ ), e apresentavam níveis mais elevados de creatinina e ureia ( $1,15 \pm 0,27$  vs.  $1,03 \pm 0,30$  mg/dl,  $p = 0,026$ ; e  $59,32 \pm 22,27$  vs.  $51,10 \pm 18,63$  mg/dL,  $p = 0,048$ ). Não houve diferença entre os grupos com relação às seguintes variáveis: sexo; diabetes mellitus; doença pulmonar obstrutiva crônica; demência; apneia do sono; ventilação não invasiva; cardiopatia isquêmica; fibrilação atrial; FEVE; peso; pressão arterial sistólica; potássio; sódio; hemoglobina; albumina; NT-pro BNP; MMP2; dose de furosemida; permanência no hospital; e proporção de pacientes usando inibidores da enzima conversora de angiotensina e betabloqueadores (Tabela 1).

### Influência da espironolactona nas alterações dinâmicas de MMP2, NT-pro BNP e peso

Não se observou diferença entre os grupos controle e espironolactona referente aos níveis de MMP2 basais e do dia 3 (Tabela 2). No entanto, o grupo espironolactona apresentou redução nos níveis de MMP2 das medidas basais ao dia 3, enquanto o grupo controle apresentou elevação nos níveis de MMP2, indicando uma tendência de redução nos níveis de MMP2 no grupo espironolactona ( $1,5 [-26 a 38]$  vs.  $-21 [-50 a 19]$  ng/mL,  $p = 0,06$ ) (Tabela 2 e Figura 1). A proporção de pacientes com redução nos níveis de MMP2 das medidas basais ao dia 3 foi também maior no grupo espironolactona. Tal diferença, no entanto, não alcançou significado estatístico: 21 pacientes do grupo controle (50%) vs. 30 pacientes do grupo espironolactona (66,7%),  $p = 0,115$ .

Não foram observadas diferenças nos níveis de NT-pro BNP nas medidas basais. No entanto, no dia 3, os pacientes do grupo espironolactona apresentavam níveis mais baixos

de NT-pro BNP (248 [923 – 5502] vs. 1555 [722 – 2554] pg/mL,  $p = 0,05$ ). Não foram observadas diferenças entre os grupos quanto à variação dos níveis de NT-pro BNP provavelmente devido aos níveis basais mais baixos (embora não significativamente mais baixos) de NT-pro BNP no grupo espironolactona, levando a menor amplitude de variação nesse grupo (Tabela 2).

Maior redução de peso foi também observada nos pacientes do grupo espironolactona ( $-2,9 \pm 2,4$  vs.  $-4,8 \pm 2,8$  kg,  $p < 0,001$ ) (Tabela 2).

### Correlações entre $\Delta$ MMP2, $\Delta$ NT-pro BNP e $\Delta$ peso

Não se observaram correlações significativas entre  $\Delta$  em MMP2, NT-pro BNP e peso (Tabela 3).

## Discussão

No presente estudo, observaram-se níveis basais elevados de MMP2 nos pacientes com ICAD. Aqueles tratados com espironolactona mostraram tendência a uma maior redução nos níveis de MMP2. Esses resultados são consistentes com achados prévios, demonstrando o impacto dos antagonistas dos receptores de mineralocorticoides no remodelamento da MEC e reforçam o potencial interesse do uso de espironolactona no tratamento de ICAD, onde aqueles mecanismos acham-se muito exacerbados.

Níveis séricos aumentados de MMP2 foram demonstrados em casos de ICAD<sup>3,9</sup>. No nosso estudo, a mediana [IQ] dos níveis de MMP2 à admissão foi 260 [225 - 312] ng/mL. Tais valores acham-se acima da faixa normal definida pelo fabricante, 199 [161 – 301] ng/mL, estando de acordo com relatos anteriores em pacientes com IC descompensada. Um estudo anterior de Shirakabe e cols.<sup>3</sup> também mostrou níveis séricos elevados de MMP2 na ICAD, com rápida redução à medida que ocorreu a compensação da IC. Além disso, um estudo intervencionista controlado por placebo, realizado por Tziakas e cols.<sup>9</sup>, mostrou uma significativa redução nos níveis de MMP2 no grupo de pacientes tratados com levosimendana. Em modelos animais, a ativação neurohormonal exacerbada leva a um aumento nos níveis de vários subtipos de MMPs miocárdicas<sup>12-14</sup>. As MMPs são importantes para a proteólise que pode afetar a composição da MEC e, conseqüentemente, o remodelamento miocárdico. Além disso, o aumento do *turnover* da MEC pode estar associado com remodelamento miocárdico patológico, que pode ser acelerado na IC descompensada<sup>3,15</sup>. Em consequência, uma redução nos marcadores do *turnover* da MEC pode servir como marcador substituto para desaceleração do *turnover* e do remodelamento miocárdico. Nosso estudo mostrou uma maior redução de MMP2 no grupo tratado com espironolactona. Os antagonistas dos receptores de mineralocorticoides melhoram a sobrevida e reduzem a morbidade em pacientes com IC e fração de ejeção reduzida e sintomas leves a graves, e em pacientes com disfunção sistólica ventricular esquerda e IC após infarto agudo do miocárdio<sup>16-18</sup>. Além disso, quando usados em doses natriuréticas, os antagonistas dos receptores de mineralocorticoides podem melhorar a congestão

**Tabela 1 - Características populacionais basais, resultados laboratoriais, medicações e permanência hospitalar nos grupos espironolactona e controle**

	Grupo Controle (n = 50)	Grupo Espironolactona (n = 50)	p Valor
Idade (anos)	78,8 ± 9,3	73,2 ± 11,7	0,010
Sexo masculino (%)	34	44	0,31**
Diabetes mellitus (%)	50	40	0,31**
Doença pulmonar obstrutiva crônica (%)	10	26	0,32**
Demência (%)	16	8	0,22**
Apneia do sono (%)	10	26	0,32**
Ventilação não invasiva (%)	14	20	0,42**
Cardiopatía isquêmica (%)	48	52	0,69**
Fibrilação atrial (%)	68	50	0,07**
Fração de ejeção ventricular esquerda < 40% (%)	56	68	0,22**
Peso (kg)	75,6 ± 16,3	76,1 ± 16,4	0,89
Pressão arterial sistólica (mmHg)	140,5 ± 23,9	139 ± 27,9	0,80
Creatinina plasmática (mg/dL)	1,15 ± 0,27	1,03 ± 0,30	0,03
eTFG (mL/min/1,73 m <sup>2</sup> )	54,5 ± 16,5	68,3 ± 23,6	0,001
Ureia plasmática (mg/dL)	59,3 ± 22,3	51,1 ± 18,6	0,05
Potássio sérico (mmol/L)	4,1 ± 0,4	4,0 ± 0,6	0,33
Sódio sérico (mmol/L)	140,5 ± 5,0	140,6 ± 3,7	0,96
Hemoglobina (g/dL)	12,2 ± 1,8	12,7 ± 2,3	0,22
Albumina (mg/dL)	3,7 ± 0,4	3,6 ± 0,4	0,63
NT-pro BNP (pg/mL)	3102 [1797 – 8204]	2701 [1463 – 5004]	0,17*
MMP2 (ng/mL)	260 [226 – 299]	268 [207 – 336]	0,52*
Dose de furosemida intravenosa (mg/d)	75,6 ± 20,7	76,0 ± 25,5	0,93
IECA/BRA (%)	38	50	0,20**
Betabloqueador (%)	42	32	0,30**
Espironolactona (%)	-	100	-
Dose de espironolactona (mg/d)	-	94,5 ± 23,3	-
Permanência hospitalar (dias)	9,0 ± 3,7	8,7 ± 3,0	0,59

Variáveis contínuas apresentadas como média ± desvio padrão [DP], p valor ou mediana [intervalo interquartil, IQ], p valor. Variáveis categóricas apresentadas em número absoluto (%), p valor.

\* teste não paramétrico de amostras pareadas; \*\* teste qui-quadrado.

Etfg: estimativa da taxa de filtração glomerular; NT-pro BNP: fragmento N-terminal do peptídeo natriurético tipo B pró-hormônio; MMP2: metaloproteinase de matriz 2; IECA/BRA: inibidores da enzima de conversão da angiotensina/bloqueadores do receptor de angiotensina.

na ICAD com boa tolerabilidade natriurética e poucos efeitos adversos<sup>19</sup>. Vários mecanismos foram propostos para explicar como os antagonistas dos receptores de mineralocorticoides melhoram os desfechos de IC, e essas vias incluem uma redução no remodelamento miocárdico<sup>20</sup>. Nosso estudo fornece importante informação para uma melhor compreensão dos processos de *turnover* de MEC. A abrupta redução de MMP2 observada em pacientes submetidos ao tratamento com espironolactona fornece uma real demonstração da potencial suavização do remodelamento nocivo através do uso de espironolactona. É interessante notar que pacientes sem redução de MMP2

ou aumento, após um episódio agudo de IC, têm pior prognóstico<sup>3</sup>. Logo, mudanças nos níveis de MMP2 são marcadores prognósticos potencialmente úteis em pacientes admitidos devido a ICAD.

O NT-pro BNP é um biomarcador muito preciso, bem validado e amplamente usado para o diagnóstico e estratificação de risco de IC<sup>21</sup>. Os pacientes tratados com espironolactona apresentaram níveis mais baixos de NT-pro BNP no dia 3, e uma mais pronunciada redução de peso quando comparados aos controles, enquanto pacientes com menor resposta diurética tiveram níveis mais altos de NT-pro BNP no dia 3 de hospitalização, uma tendência para menor

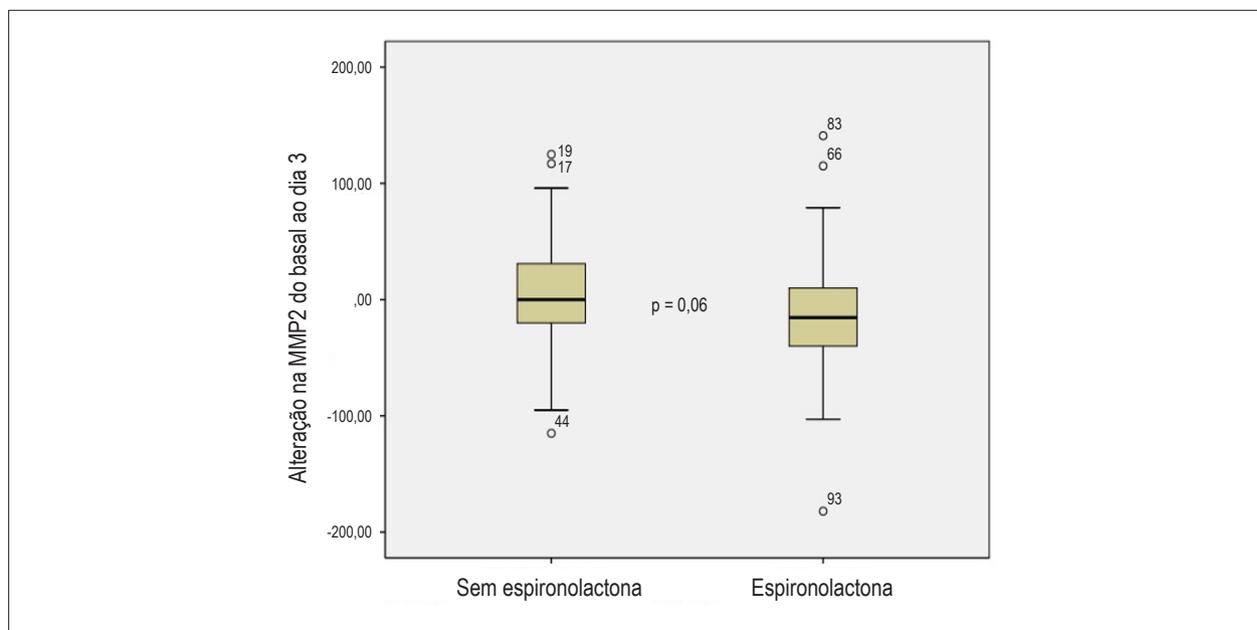
**Tabela 2 - Comparação das medidas de MMP2, NT-pro BNP e peso basais, no dia 3 e variações (Delta, Δ) entre os grupos do estudo**

	Grupo Controle	Grupo Espironolactona	p Valor
<b>MMP2</b>			
Basal	260 [226 – 299]	268 [207 – 336]	0,52*
Dia 3	266 [227 – 298]	261 [212 – 307]	0,49*
Δ (dia 3 – basal)	1,5 [-26 – 38]	-21 [-50 – 19]	0,06*
<b>NT-pro BNP</b>			
Basal	3102 [1792 – 8204]	2701 [1463 – 5004]	0,17*
Dia 3	2488 [923 – 5502]	1555 [722 – 2554]	0,05*
Δ (dia 3 – basal)	-945 [-2249 – -62]	-816 [-1833 – -106]	0,75*
<b>Peso</b>			
Basal	75,6 ± 16,3	76,1 ± 16,4	0,89
Dia 3	72,8 ± 16,3	71,3 ± 16,2	0,66
Δ (dia 3 – basal)	-2,9 ± 2,4	-4,8 ± 2,8	< 0,001

Variáveis contínuas apresentadas como média ± desvio padrão [DP], p valor ou mediana [intervalo interquartil, IQ], p valor, e teste t para amostras independentes ou teste não paramétrico para amostras independentes foram usados, respectivamente.

\* teste não paramétrico.

NT-pro BNP: fragmento N-terminal do peptídeo natriurético tipo B pró-hormônio; MMP2: metaloproteinase de matriz 2; Δ: delta ou diferença entre os valores do dia 3 e basais.



**Figura 1 - Comparação da variação (Δ) dos níveis de MMP2 do basal ao dia 3 entre os grupos controle e espironolactona.**

Observa-se tendência a uma redução mais pronunciada nos níveis de MMP2 no grupo espironolactona.

Comparou-se a variação (Δ, dia 3 - basal) dos níveis de MMP2 entre os grupos controle e espironolactona, usando-se testes não paramétricos de amostras independentes (1,5 [-26 a 38] versus -21 [-50 a 19], p = 0,06).

Legenda: MMP2 = metaloproteinase de matriz 2.

**Tabela 3 - Coeficientes de correlação e intervalos de confiança (IC) de 95% entre delta (Δ) MMP2, Δ NT-pro BNP e Δ peso**

	Δ MMP2 coeficiente de correlação	IC 95%	p Valor
Δ NT-pro BNP	0,11	-0,003 – 0,01	0,33
Δ Peso	0,12	-1,97 – 7,05	0,27

NT-pro-BNP: fragmento N-terminal do peptídeo natriurético tipo B pró-hormônio; MMP2: metaloproteinase de matriz 2; Δ: delta ou diferença entre os valores do dia 3 e basais.

redução de NT-pro BNP e menor perda de peso. Entretanto, as mudanças nos valores de MMP2 não se correlacionaram com a variação em NT-pro BNP ou em peso. O pequeno tamanho da amostra, a grande variação de NT-pro BNP e MMP2 e os diferentes mecanismos que influenciam esses biomarcadores podem explicar a falta de correlação.

Nosso estudo apresentou algumas limitações. Primeira, trata-se de estudo monocêntrico, não randomizado de um pequeno número de pacientes com várias etiologias de IC e variados tratamentos. Segunda, esta análise *post-hoc* apresenta limitações inerentes aos estudos observacionais. Terceira, a decisão de suspender o tratamento diurético foi baseada em avaliação subjetiva dos sinais e sintomas de congestão, logo, a variabilidade inter-observador não pode ser descartada. Entretanto, na vida real, a decisão de eliminar o tratamento diurético também se baseia em avaliação clínica subjetiva. Quarta, nosso estudo excluiu pacientes com IC e significativo comprometimento renal, uma vez que nível plasmático de creatinina < 1,5 mg/dl foi um critério de inclusão, levando a uma potencial seleção de um subconjunto de pacientes de baixo risco, o que pode afetar a validade externa de nossos resultados. Quinta, os pacientes do grupo espironolactona eram mais jovens e tinham níveis plasmáticos mais baixos de creatinina e ureia, o que pode afetar positivamente a resposta ao medicamento. Por fim, avaliou-se apenas MMP2, e as outras formas de MMPs podem apresentar diferentes efeitos e respostas nos pacientes com ICAD.

## Conclusão

O presente estudo mostrou que os níveis de MMP2 podem estar elevados na ICAD, e que pacientes tratados com

espironolactona podem apresentar maior redução nos níveis de MMP2. Um estudo adicional é necessário para estabelecer se tais achados têm significado prognóstico.

## Agradecimentos

Os autores agradecem aos técnicos de laboratório, em especial ao Sr. Fernando Santos, por sua ajuda e a todos os médicos que colaboraram neste estudo.

## Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa, Obtenção de dados, Análise estatística e Redação do manuscrito: Ferreira JP; Análise e interpretação dos dados: Ferreira JP, Santos M, Oliveira JC, Bettencourt P; Obtenção de financiamento: Carvalho H; Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Ferreira JP, Santos M, Marques I, Bettencourt P, Carvalho H.

## Potencial conflito de interesse

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

## Fontes de financiamento

O presente estudo foi parcialmente financiado por Johnson & Johnson.

## Vinculação acadêmica

Este artigo é parte de tese de Doutorado de João Pedro Ferreira pelo Centro Hospitalar do Porto.

## Referências

1. Dollery CM, McEwan JR, Henney AM. Matrix metalloproteinases and cardiovascular disease. *Circ Res*. 1995;77(5):863-8.
2. Altieri P, Brunelli C, Garibaldi S, Nicolino A, Ubaldi S, Spallarossa P, et al. Metalloproteinases 2 and 9 are increased in plasma of patients with heart failure. *Eur J Clin Invest*. 2003;33(8):648-56.
3. Shirakabe A, Asai K, Hata N, Yokoyama S, Shinada T, Kobayashi N, et al. Clinical significance of matrix metalloproteinase (MMP)-2 in patients with acute heart failure. *Int Heart J*. 2010;51(6):404-10.
4. Rouet-Benzineb P, Buhler JM, Dreyfus P, Delcourt A, Dorent R, Perennec J, et al. Altered balance between matrix gelatinases (MMP-2 and MMP-9) and their tissue inhibitors in human dilated cardiomyopathy: potential role of MMP-9 in myosin-heavy chain degradation. *Eur J Heart Fail*. 1999;1(4):337-52.
5. Tyagi SC, Campbell SE, Reddy HK, Tjahja E, Voelker DJ. Matrix metalloproteinase activity expression in infarcted, noninfarcted and dilated cardiomyopathic human hearts. *Mol Cell Biochem*. 1996;155(1):13-21.
6. Thomas CV, Coker ML, Zellner JL, Handy JR, Crumbley AJ 3rd, Spinale FG. Increased matrix metalloproteinase activity and selective upregulation in LV myocardium from patients with end-stage dilated cardiomyopathy. *Circulation*. 1998;97(17):1708-15.
7. Spinale FG, Coker ML, Heung LJ, Bond BR, Gunasenghe HR, Etoh T, et al. A matrix metalloproteinase induction/activation system exists in the human left ventricular myocardium and is upregulated in heart failure. *Circulation*. 2000;102(16):1944-9.
8. George J, Patal S, Wexler D, Roth A, Sheps D, Keren G. Circulating matrix metalloproteinase-2 but not matrix metalloproteinase-3, matrix metalloproteinase-9, or tissue inhibitor of metalloproteinase-1 predicts outcome in patients with congestive heart failure. *Am Heart J*. 2005;150(3):484-7.
9. Tziakas DN, Chalikias GK, Hatzinikolaou HI, Stakos DA, Papanas N, Tentas IK, et al. Levosimendan use reduces matrix metalloproteinase-2 in patients with decompensated heart failure. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2005;19(6):399-402.
10. Ferreira JP, Santos M, Almeida S, Marques I, Bettencourt P, Carvalho H. Tailoring diuretic therapy in acute heart failure: insight into early diuretic response predictors. *Clin Res Cardiol*. 2013;102(10):745-53.
11. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF 3rd, Feldman HI, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med*. 2009;150(9):604-12.
12. Brilla CG, Zhou G, Matsubara L, Weber KT. Collagen metabolism in cultured adult rat cardiac fibroblasts: response to angiotensin II and aldosterone. *J Mol Cell Cardiol*. 1994;26(7):809-20.

13. Coker ML, Jolly JR, Jofis C, Etoh T, Holder JR, Bond BR, et al. Matrix metalloproteinase expression and activity in isolated myocytes after neurohormonal stimulation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2001;281(2):H543-51.
14. Peterson JT, Hallak H, Johnson L, Li H, O'Brien PM, Sliskovic DR, et al. Matrix metalloproteinase inhibition attenuates left ventricular remodeling and dysfunction in a rat model of progressive heart failure. *Circulation.* 2001;103(18):2303-9.
15. Biolo A, Fisch M, Balog J, Chao T, Schulze PC, Ooi H, et al. Episodes of acute heart failure syndrome are associated with increased levels of. *Circ Heart Fail.* 2010;3(1):44-50.
16. Pitt B, Zannad F, Remme WJ, Cody R, Castaigne A, Perez A, et al. The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. Randomized Aldactone Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med.* 1999;341(10):709-17.
17. Pitt B, Remme W, Zannad F, Neaton J, Martinez F, Roniker B, et al. Eplerenone, a selective aldosterone blocker, in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. *N Engl J Med.* 2003;348(14):1309-21.
18. Zannad F, McMurray JJ, Krum H, van Velduisen DJ, Swedberg K Shi H, et al. Eplerenone in patients with systolic heart failure and mild symptoms. *N Engl J Med.* 2011;364(1):11-21.
19. Ferreira JP, Santos M, Almeida S, Marques I, Bettencourt P, Carvalho H. Mineralocorticoid receptor antagonism in acutely decompensated chronic heart failure. *Eur J Intern Med.* 2014;25(1):67-72.
20. Zannad F, Gattis Stough W, Rossignol P, Bauersachs J, McMurray JJ, Swedberg K, et al. Mineralocorticoid receptor antagonists for heart failure with reduced ejection fraction: integrating evidence into clinical practice. *Eur Heart J.* 2012;33(22):2782-95.
21. Bettencourt P, Azevedo A, Pimenta J, Frieos F, Ferreira S, Ferreira A. N-terminal-pro-brain natriuretic peptide predicts outcome after hospital discharge in heart failure patients. *Circulation.* 2004;110(15):2168-74.