

МИОКАРДНАТА ИНТЕРСТИЦИАЛНА ФИБРОЗА ПРИ РАЗЛИЧНИТЕ КАРДИОМИПАТИИ КАТО ОСНОВА НА СЪРДЕЧНА НЕДОСТАТЪЧНОСТ

Ц. Бонева¹, В. Грудева², К. Карамфилов¹

¹Клиника по кардиология, УМБАЛ „Александровска“, МФ, Медицински университет – София,

²Отделение по образна диагностика, УМБАЛ „Света Екатерина“, МФ, Медицински университет – София

MYOCARDIAL INTERSTITIAL FIBROSIS IN DIFFERENT CARDIOMYOPATHIES AS A BASIS OF HEART FAILURE

Ts. Boneva¹, V. Groudeva², K. Karamfiloff¹

¹Department of Cardiology, UMHAT Alexandrovska, Faculty of Medicine, Medical University – Sofia

²Diagnostic imaging department, UMHAT “Sveta Ekaterina”, Faculty of Medicine, Medical University – Sofia

Резюме. Миокардната интерстициална фиброза (МИФ) възниква при различни исхемични и неисхемични кардиомиопатии и допринася за левокамерна дисфункция, водеща до сърдечна недостатъчност (СН). Известни са два вида – репаративна и реактивна, с различни молекулярни механизми. Въпреки че МИФ представлява нарушение на колагеновия turnover, водещ до натрупвания, налице са и качествени промени в колагеновия състав при различните форми на сърдечни увреждания. Изследвания в тази посока проучват клетъчните и молекулярни механизми, които стоят зад този процес и начините, по които той влияе върху сърдечната функция, биомаркерите и потенциалните таргетни терапии за това..

Ключови думи: миокардна интерстициална фиброза, колаген, сърдечна недостатъчност, таргетни терапии, биомаркери

Адрес за кореспонденция: Д-р Ценка Бонева, Клиника по кардиология, УМБАЛ „Александровска“, ул. „Св. Георги Софийски“ №1, 1431 София, e mail: dr.boneva@abv.bg

Abstract. Myocardial interstitial fibrosis (MIF) occurs in several ischemic and non-ischemic cardiomyopathies and is associated with left ventricular dysfunction and progression to heart failure (HF). MIF exists in two types – reparative and reactive with different origin and molecular mechanisms. Although MIF arises mainly because of alterations in collagen turnover leading to collagen fiber accumulation, there are also qualitative changes in collagen fibers in cardiac diseases. There are several studies for cellular and molecular mechanisms and his role in cardiac function, biomarkers and potential target therapies.

Key words: myocardial interstitial fibrosis, collagen, heart failure, target therapies, biomarkers

Address for correspondence: Tsenka Boneva, MD, Department of Cardiology, University Hospital Alexandrovska, 1 Sveti Georgi Sofiyski Str., Bg – 1431 Sofia, e-mail: dr.boneva@abv.bg

ВЪВЕДЕНИЕ

Доскорошната теория за кардиомиоцит-ориентираната гледна точка в патогенезата на сърдечната недостатъчност (СН) сега се допълва с теорията за увреждане на интерстициалния клетъчен матрикс и коронарната микроциркулация. Тези фактори оказват важна роля в развитието на патологично структурно ремоделиране и определят еволюцията при СН. Миокардната интерстициална фиброза (МИФ) се дефинира като дифузно, непропорционално натрупване на колаген в интерстициума на миокарда [1]. Води

INTRODUCTION

The cardiomyocyte-oriented theory of heart failure (HF) accepted that alterations in the interstitial extracellular matrix (ECM) and the coronary microcirculation also play important role in the development of pathological structural myocardial remodeling that determines the evolution of HF. Myocardial interstitial fibrosis (MIF) is defined by the diffuse, disproportionate accumulation of collagen in the myocardial interstitium [1]. MIF contributes to left

до левокамерна (ЛК) дисфункция по различни механизми при пациенти със СН със запазена ЛК фракция на изтласкване (СНзФИ) и с потисната ЛК фракция на изтласкване (СНпФИ). Тук са обобщени механизмите, включени в патогенезата и последиците от МИФ при СН, циркулиращите и биомаркерите от образната диагностика, различните фенотипове, както и възможностите за таргетна терапия [1].

ХИСТОХИМИЧНИ АСПЕКТИ НА МИФ

Хистологично МИФ се дефинира като дифузно отлагане на ексцесивна фиброзна тъкан (колаген тип I и III) в миокардния интерстициум [1]. Има 2 основни типа МИФ [3]. В репаративната, или заместителна фиброза, МИФ замества малки участъци от мъртви кардиомиоцити, формирайки микроцикатрикси [1, 4, 5]. При реактивната фиброза натрупването на фиброзна тъкан е в периваскуларното пространство около интрамурални коронарни артерии, перимизиума и ендомизиума, около сърдечните мускулни влакна и отделните кардиомиоцити и се образуват дебели снопчета [1, 4, 5]. Не е ясно дали двата типа са отделни или съществуват едновременно. МИФ се характеризира с увеличаване процента на общата тъкан, заета от колагенови фибри, която се нарича колагенова обемна фракция (КОФ) [1, 4]. Въпреки огнищния характер на МИФ, площта ѝ с времето нараства от външната към вътрешната трета на свободната камерна стена в резултат на трансмуралния градиент на налягането, стреса на камерната стена и уврежданията на коронарната микроциркуляция, които са налице при исхемични и неисхемични сърдечни заболявания [1, 5, 7]. Налице са качествени промени в колагеновите влакна. При СН вследствие на артериална хипертония (АХ) [8] или аортна стеноза [9] съотношението между колаген тип I и колаген тип III се променя в посока абнормно натрупване на колаген тип I. При исхемичната кардиомиопатия това съотношение се променя в посока колаген тип III [10], което води до заключението, че съставът на колаген във фиброзната тъкан зависи от клиничната причина [11]. МИФ отразява баланса между отлагане на екстрацелуларен матрикс чрез миофибробластите и деградация посредством матриксните металлопротеинази (ММП). Активността на този процес при прогресираща (СН) в отсъствие на остра исхемия остава неясна. Ключова роля в МИФ имат сърдечните фибробласти и за развитието на антифибротични стратегии е важно да се установят факторите, които определят активността на тези клетки. В началото се счита, че фиброзната тъкан е резултат от експанзията и активацията на резерв от резидентни фибробласти с мезенхимен произход. През последните години двете хипотези са надградени, включвайки концепцията, че резидентни клетки от други клетъчни линии могат да се диференцират в мезенхимни [10] или че резерв

ventricular (LV) dysfunction and leads to HF in different mechanisms for preserved ejection fraction (HFpEF) and for reduced ejection fraction (HFrEF) his review summarizes the knowledge regarding mechanisms involved in the pathogenesis and consequences of MIF in HF, circulating and imaging biomarkers, different MIF phenotypes and future targeting therapies [1].

HISTOCHEMICAL ASPECTS OF MIF

Histologically MIF is defined by the diffuse deposition of excess fibrous tissue (collagen types I and III fibers) the myocardial interstitium [1]. There are 2 principal types of MIF [3]. In the reparative or replacement fibrosis, MIF replaces small area of dead cardiomyocytes, forming microscars [1, 4, 5]. In the reactive fibrosis, accumulation of fibrous tissue in the perivascular space around intramural coronary arteries, around the cardiac muscle bundles and individual cardiomyocytes and forms into thicker sheaths [1, 4, 5]. It is unclear whether these 2 types represent truly different entities as they coexist in most patients. Quantitatively, MIF is characterized by the increase in the percentage of total myocardial tissue occupied by collagen fibers, also called a collagen volume fraction (CVF) [1, 4]. Although MIF is patchy, the area of fibrosis increases from the outer to the inner third of the ventricular free wall, probably due to transmural pressure gradient, wall stress, and coronary microcirculation alterations that are present in ischemic and nonischemic cardiac diseases [1, 5, 7]. There are also qualitative changes in the collagen composition. In HF with hypertensive heart disease [8] or aortic stenosis [9], there is a predominance of collagen type I to collagen type III. However, in ischemic cardiomyopathy, this ratio is changed due to an excess of collagen type III fibers [10], suggesting that type of collagen in underlying fibrous tissue depend from clinical scenario [11]. MIF shows a balance between deposits of extracellular matrix from fibroblasts and matrix metalloproteinases (MMP), which remains unclear in progressive heart failure in absence of acute ischemia. Key role in MIF have heart fibroblasts and for antifibrotic strategies is important to establish factors for their activity. The fibrous tissue is a result from

от фиброцити, произлезли от костния мозък, могат да акумулират в тъканите при наличие на подходящи сигнали [10]. Проучва се хипотезата, че под влияние на миокардни сигнали, костно-мозъчни фиброцити акумулират в сърдечната тъкан при неischemична кардиомиопатия [6]. В едно клинично проучване за първи път е показано, че клетки от костния мозък акумулират в модел от опитни мишки с дилатативна кардиомиопатия и представляват 1/5 от всички фибробласти, участващи в процесите на фиброзиране на сърцето. РААС системата има важна роля в патогенезата на МИФ. Клетъчни култури с ангиотензин II посочват неговото значение като медиатор в патогенезата на фиброзата, като това води до усилен диференциация от фибробласти в миофибробласти посредством сигнални пътища [21, 22]. Фиброцитите са с произход от костния мозък и имат потенциал да навлизат в тъканите, да се трансформират във фибробласти, синтезиращи α -гладкомускулни влакна, колаген тип I и колаген тип III [25].

ПАТОФИЗИОЛОГИЯ И КЛИНИЧНИ АСПЕКТИ НА МИФ

Натрупването на фиброзна тъкан води до ЛК дисфункция, аритмия, нарушена кислородна миокардна доставка и неблагоприятен изход.

ЛК дисфункция

Обичайно МИФ е свързана с диастолна дисфункция. Ендомиокардната биопсия показва отлагания, които са сходни при СНзФИ и при неischemична СНпФИ [12, 22]. Излишъкът на колаген води до ЛК дисфункция посредством качествени промени (повече колаген тип I, отколкото колаген тип III) и нарушено отлагане му в миокарда. Това е свързано с ЛК хипертрофия и диастолна дисфункция [9, 12-14]. Колагеновите депозити около кардиомиоцитите нарушават контрактилитета и водят до ЛК систолна дисфункция [23].

МЕХАНИЗМИ НА МИОКАРДНАТА ИНТЕРСТИЦИАЛНА ФИБРОЗА

МИФ представлява краен резултат, вследствие на редица увреждания, причинени от сърдечни заболявания или системни фактори, активирани при извънсърдечни коморбидности като АХ, захарен диабет (ЗД) и хронично бъбречно заболяване (ХБЗ) [1, 15]. Процесът на МИФ се развива в различни фази. В първата са налице тригериращи стимули. Смъртта на кардиомиоцитите е основен тригер за развитие на репаративна МИФ. При реактивната са налице вариращи стимули (обемно натоварване, исхемия или метаболитно увреждане). Във фиброзната отговор са включени много клетъчни типове в това число ми-

expansion and activation of resident fibroblasts with mesenchymal origin. In the last years a new conception is that resident cells from several cellular lines can be differentiated in mesenchymal [10] or fibrocytes from bone marrow can accumulate in tissues in presence of appropriate signaling [10]. Under the myocardial signals these cells can migrate to cardiac tissue in nonischemic cardiomyopathy [6]. In one clinical trial is demonstrated that bone marrow cells from mice with dilative cardiomyopathy are accumulated and are 1/5 from all fibroblasts in the heart. Cell tissue with angiotensin II shows an important role like mediator in pathogenesis of MIF [21, 22]. Fibrocytes originate from bone marrow and have the potential to enter tissues, transform into fibroblasts synthesizing α -smooth muscle fibers, type I collagen and type III collagen [25].

PATHOPHYSIOLOGY AND CLINICAL ASPECTS OF MIF

Fibrous tissue accumulation leads to LV dysfunction, arrhythmia, impaired myocardial oxygen delivery, and adverse outcome.

LV dysfunction

MIF is commonly associated with diastolic dysfunction. Endomyocardial biopsy shows deposits that are similar in HFpFI and non-ischaemic HFpFI [12, 22]. Excess collagen leads to LV dysfunction through qualitative changes (more type I collagen than type III collagen) and impaired deposition in the myocardium. This is associated with LV hypertrophy and diastolic dysfunction [9, 12-14]. Collagen deposits around cardiomyocytes impair contractility and lead to LV systolic dysfunction [23].

MECHANISMS OF MYOCARDIAL INTERSTITIAL FIBROSIS

MIF represents a final common lesion following a variety of injuries caused by an intrinsic cardiac disease or by systemic factors activated in the context of extracardiac comorbidities such as arterial hypertension, diabetes mellitus, and chronic kidney disease [1, 15]. The process of MIF develops in several phases. Cardiomyocyte death is the triggering event responsible for the initiation of reparative MIF fibrosis. In reactive MIF, varied stimuli (pressure overload, ischemia or metabolic injury) may trigger the fibrotic response in the absence of cell death. Several cell types are included in the fibrotic re-

офибробласти или индиректно секретирани профибротични медиатори (макрофаги, мастоцити, лимфоцити, кардиомиоцити и съдови клетки) [1, 4, 5, 15].

Във втората фаза се образуват миофибробласти, които се активират. Освен фибробластите, фибробласт-прогениторни клетки в миокарда, също така и циркулиращи и мигриращи клетки, включващи фиброцити, епикардни, епителни и ендотелни клетки, претърпяват трансформация. Различни физични и химични фактори в увредения миокард стимулират трансформацията в миофибробласти [16]. Влияние оказват възпалителни цитокини, хемоатрактанти и продукти на оксидативния метаболизъм, както и механичен стрес, ренин-ангиотензин-алдостероновата система и фиброгенни растежни фактори [16, 17].

УВРЕЖДЕНИЯ НА СЪРДЕЧНАТА ФУНКЦИЯ

МИФ води до предсърдни и камерни аритмии, като представлява субстрат за риентри активност [24]. Миофибробластите могат да модулират електрическата активност на кардиомиоцитите посредством директни взаимодействия с тях или чрез секреция на паракринни фактори, водещи до камерна аритмогенна активност [24]. Камерната аритмия е свързана с МИФ, независимо от другите фактори, водещи до ЛК дисфункция [25]. Отлагането на фиброзна тъкан нарушава доставката на кислород до кардиомиоцитите [26]. Периваскуларната фиброза има обратна корелация с резерва на коронарния кръвоток при СН [27].

ЛК дисфункция и СН

Традиционната роля за МИФ принадлежи на резидентните фибробласти, под въздействието на паракринни и автокринни сигнали, включващи ангиотензин II, трансформиращ растежен фактор- β (TGF- β), ендотелин и съединително-тъканен растежен фактор [69]. Друг източник на сърдечни фибробласти, особено в условия на исхемия, е костният мозък [70]. Този механизъм намира потвърждение и в условията на несърдечно-съдови усложнения, каквато е белодробната фиброза [71]. Наличието на миокардна исхемия и освобождаването на фактори като SDF-1 играят важна роля в трафика на костномозъчни клетки към сърцето [72, 73].

МИФ, оценена хистологично или чрез ЯМР, е свързана с повишена твърдост на ЛК стена и диастолна дисфункция при пациенти с хипертонична сърдечна болест [2, 57], аортна стеноза [2, 9], хипертрофична кардиомиопатия [2, 66] и СНзФИ [2, 12, 57]. Излишъкът на колаген влияе върху левокамерната функция най-вече чрез качествените промени. Повечето колагенови връзки водят до твърдост на фиброзната тъкан [2, 21] и са свързани с ЛК диастолна дисфункция при пациенти със СН с АХ [2, 12-14, 68] или аортна стеноза

response, either directly by producing fibrous tissue (myofibroblasts) or indirectly by secreting profibrotic mediators (macrophages, mast cells, lymphocytes, cardiomyocytes, and vascular cells) [1, 4, 5, 15].

In the second phase, myofibroblasts are formed and activated. In addition to fibroblasts, fibroblast progenitor cells in the myocardium, also circulating and migrated cells including fibrocytes, epicardial, epithelial and endothelial cells undergo transformation. Various physical and chemical factors in the injured myocardium stimulate transformation into myofibroblasts [16]. Inflammatory cytokines, chemoattractants and products of oxidative metabolism, as well as mechanical stress, the renin-angiotensin-aldosterone system and fibrogenic growth factors are influential [16, 17].

IMPAIRMENT OF CARDIAC FUNCTION

MIF leads to atrial and ventricular arrhythmias, representing a substrate for re-entry activity [24]. Myofibroblasts can make a modulation of electrical activity of cardiomyocytes either with direct effects or with secretion of paracrine factors, lead to arrhythmogenic activity [24]. Ventricular arrhythmia is associated with MIF independent of other factors leading to LV dysfunction [25]. Accumulation of fibrous tissue disturb oxygen supply to cardiac myocytes [26]. Perivascular fibrosis has negative effect over coronary circulation in HF [27].

LV dysfunction and HF

Traditionally main role for MIF have resident fibroblasts over signaling pathways, including angiotensin II, transforming growth factor β (TGF β), endothelin and connective-tissue growth factor [69]. In ischemic conditions cardiac fibroblasts come from bone marrow [70]. This mechanism is studied in noncardiac complications like interstitial lung fibrosis [71]. Myocardial ischemia and factors like SDF-1 has important role in this bone marrow migration to the heart [72, 73].

MIF, assessed either histologically or by cardiac magnetic resonance (CMR) imaging, is associated with LV stiffness and diastolic dysfunction in patients with hypertensive heart disease [2, 57], aortic stenosis [2, 9], hypertrophic cardiomyopathy [2, 66] and HFpEF [2, 12, 57]. The excess of collagen on LV function is modulated by changes in collagen quality. It has been shown that increased collagen cross-linking results in stiffer fibrous tissue [2, 21] and is associated with LV stiffness and diastolic dysfunction in patients with HF

[74]. От друга страна, колагеновите фибри тип I имат по-голяма плътност и твърдост от тези на колаген тип III [2, 75] и те преобладават при аортната стеноза и СН [20]. Увеличаването на съотношението колаген тип I:III се открива при пациенти с дилатативна кардиомиопатия [2, 76]. При дилатативната кардиомиопатия новосформираният колаген не е достатъчен за формиране на стабилни връзки между фибрите, което може да доведе до камерна дилатация [2, 77].

Връзката между миокардната фиброза и типа на СН все още не е добре изяснен. В две студии на пациенти с АХ [78] и с аортна стеноза [79] и липса на ИБС се показва, че МИФ е по-тежка при СНпФИ, отколкото при СНзФИ. Подобни са резултатите от биопсичен материал на пациенти с хипертрофична кардиомиопатия и СН [79]. МИФ може да допринесе за ЛК диастолна дисфункция при СНзФИ посредством директно увеличаване на ЛК твърдост, при СНпФИ загубата на кардиомиоцити и контрактилен миокард може да е тригер за репаративна МИФ [2].

Клиничен изход

МИФ повлиява изхода при СН. Степента на разпространение на МИФ е свързана със степента на увреждане на ЛК, като това определя възстановяването и смъртността след аортно клапно протезиране [1, 28], както смъртността и сърдечно-съдовите събития при СНзФИ [1, 22]. Разпространението на фиброзата е предиктор за ефективността на дългосрочната терапия при СН (благоприятният ефект от бета-блокери възниква при пациенти с по-малко фиброза) [1, 29]. Въпреки количество на колагеновите депозити тяхното качество също повлиява изхода. По-голямото количество колаген тип I е свързано с повече хоспитализации и смъртност при СН [30, 31].

Неинвазивна диагноза на МИФ

Въпреки че ендомиокардната биопсия е златен стандарт се използват други неинвазивни методи, в това число биомаркери и неинвазивна диагностика [1].

Циркулиращи биомаркери

Основно 3 биомаркера имат връзка с хистологично доказана МИФ [32]. Първият е серумен карбокси-терминален пропептид (СКТП) на проколаген тип I. Той се освобождава директно от миокарда в циркулацията при СН [33, 34]. Неговите серумни концентрации корелират с общия обем на колаген в миокарда при СН [13, 34, 35]. Серумните концентрации и общия обем на колагена се променят при прием на тораземид [1, 37] и спиронолактон [1, 36]. СКПТ корелира с тежестта на протичане при СНпФИ [2, 37], със смъртността при

with hypertensive heart disease [2, 12-14, 68] or aortic stenosis [74]. In addition, collagen type I fibers exhibit greater stiffness than type III fibers [2, 75], and they predominate in aortic stenosis and HF [20]. An increase in the collagen type I:III ratio was found in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy [2, 76]. However, in dilated cardiomyopathy, newly formed collagen is deficient in forming stable cross-links, which may contribute to ventricular dilatation [2, 77].

The relations between MIF and the type of HF have not been systematically investigated. In 2 studies performed in patients with hypertensive heart disease [78] or aortic stenosis [79] and absence of coronary disease, it was reported that MIF was quantitatively more severe in patients with HFrEF than in patients with HFpEF. Similar results were obtained from biopsy material of patients with hypertrophic cardiomyopathy and HF [79]. MIF may contribute to LV diastolic dysfunction in HFpEF by directly increasing LV stiffness, in HFrEF the loss of cardiomyocytes and contractile mass may trigger MIF as a form of reparative response [2].

CLINICAL OUTCOMES

MIF also adversely influences HF outcome. The extent of fibrotic deposits is associated with the degree of LV functional improvement and mortality after aortic valve replacement [1, 28] and with death and cardiac events in HFrEF [1, 22]. The extent of fibrosis also predicts effectiveness of long-term HF therapy (improvement with beta-blockers is likely to occur in patients with less fibrosis) [1, 29]. Besides the quantity of collagen deposition, its quality also influences outcome. A higher quantity of type I collagen is associated with more hospitalizations and mortality in HF [30, 31].

NON-INVASIVE DIAGNOSIS OF MIF

Although endomyocardial biopsy is the gold standard method for diagnosing MIF, due to its several limitations, alternative non-invasive methods (e.g., biomarkers) are needed for routine practice [1].

Circulating biomarkers

Mainly 3 biomarkers demonstrate an association with histologically proven MIF [32]. The first is serum carboxy-terminal propeptide (SCTP) of procollagen type I. It is released directly from the myocardium into the circulation in HF [33, 34]. PICP concentrations correlate with CVF in HF [13, 34, 35]. Serum PICP levels and CVF change in parallel in response to torsemide [1, 37] and spironolactone [1, 36] in HF. Serum PICP is associated with the severity of HFrEF [2, 37] and

СНзФИ [2, 38] и при СНпФИ [2, 39]. Вторият е серумен аминок-терминален пропептид (САТП) на проколаген тип III. При пациенти, лекувани със спиронолактон, се наблюдава едновременно редуция в нивата на този биомаркер, както и на обема колаген в миокарда, като това корелира с тежестта и изхода при СН [36, 38, 42] независимо от ФИ. Третият биомаркер е съотношението серумен колаген (СК) тип 1 телопептид към матриксни металлопротеинази (ММП). Ниските стойности на това съотношение СК тип 1 телопептид към ММП и високите стойности на СКТП идентифицират пациенти със СН с висок риск [31]. Тестването на циркулиращите биомаркери има редица ограничения. Те не са специфични за миокардно увреждане и промените в техните концентрации могат представляват глобално нарушение в колагеновата обмяна [1, 32].

Образни биомаркери

Ядрено-магнитен резонанс с късно гадолиново контрастиране и извънклетъчен обем

Ядрено-магнитен резонанс (ЯМР) на сърце е съвременен метод, даващ възможност за отлична неинвазивна тъканна характеристика. Освен анатомична и функционална оценка основният принос на ЯМР е оценката на промените в самия миокард, включително и в случаите на фиброза. Класическата техника за оценка на тъканната характеристика на миокарда е късното гадолиниев контрастиране (КГК). Гадолиниевият контраст се натрупва екстрацелуларно и води до силен сигнален интензитет поради скъсяването на T1 релаксационните времена. При фиброзата екстрацелуларните пространства са значително разширени и това води до натрупването на контрастно вещество и съответно до висок сигнал в тези зони. Това позволява обективизиране на зоните на фиброза на фона на нормалния миокард. Късното контрастиране е особено подходящо за оценка на фокална заместителна фиброза [1, 43].

СПЕЦИФИЧНИ ТЕРАПИИ ЗА МИФ

Хистоморфологични данни от някои клинични проучвания с медикаменти, използвани като стандартна терапия при ССЗ, показват, че МИФ може да се лекува. Лечението на АХ с АСЕ инхибитор (лизиноприл) намалява обема на колаген в интерстициалното пространство, което подобрява ЛК диастолна функция [1, 56]. Подобен ефект при хипертензивни пациенти има АРБ (лосартан) и това е съпроводено с намаляване на ЛК хипертрофия [1, 57]. В добавка минералкортикоидния антагонист спиронолактон подобрява ЛК диастолна функция и намалява ЛК хипертрофия, едновременно с редуция на МИФ при пациенти със СН [1, 36]. При пациенти

with mortality in HFpEF [2, 38] and HFrEF [2, 39]. Second is serum amino-terminal propeptide (ATP) of procollagen type III. In patients treated with spironolactone, there was a concomitant reduction in the levels of this biomarker as well as myocardial collagen volume, and this correlated with the severity and outcome of HF [36, 38, 42] independent of FI. The third biomarker is the ratio of serum collagen (SC) type 1 telopeptide to matrix metalloproteinases (MMPs). Low values of this CK type 1 telopeptide to MMP ratio and high values of SCTP identify patients with high-risk HF [31]. Circulating biomarker testing has a number of limitations. They are not specific for myocardial injury and changes in their concentrations may represent a global disturbance in collagen metabolism [1, 32].

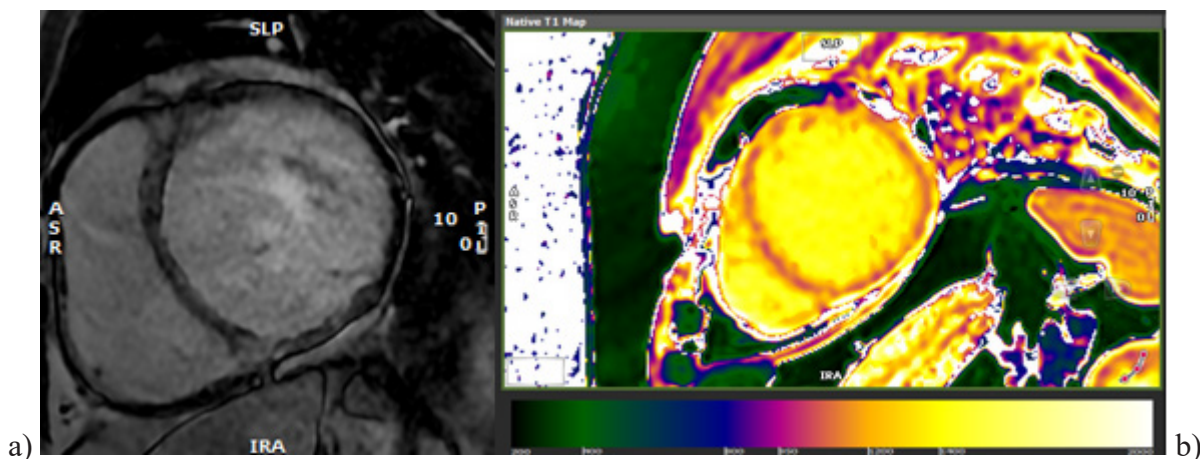
Imaging biomarkers

Late gadolinium enhancement and extracellular volume

CMR is modern technique, who gives a possibility for excellent non-invasive assessment, also in the cases with interstitial fibrosis. In addition to anatomical and functional assessment, the main contribution of MRI is the evaluation of changes in the myocardium itself, including in cases of fibrosis. Classical technique for tissue characteristics is late gadolinium enhancement (LGE). Gadolinium contrast is accumulated extracellular and gives powerful signalling intensity, because of shortness of T1 relaxational times. In the case of fibrosis extracellular areas are significantly enlarged with contrast accumulation and high signal in this zones. This allows objectification of areas of fibrosis against the background of normal myocardium. Late contrast enhancement is particularly suitable for the assessment of focal replacement fibrosis [1, 43].

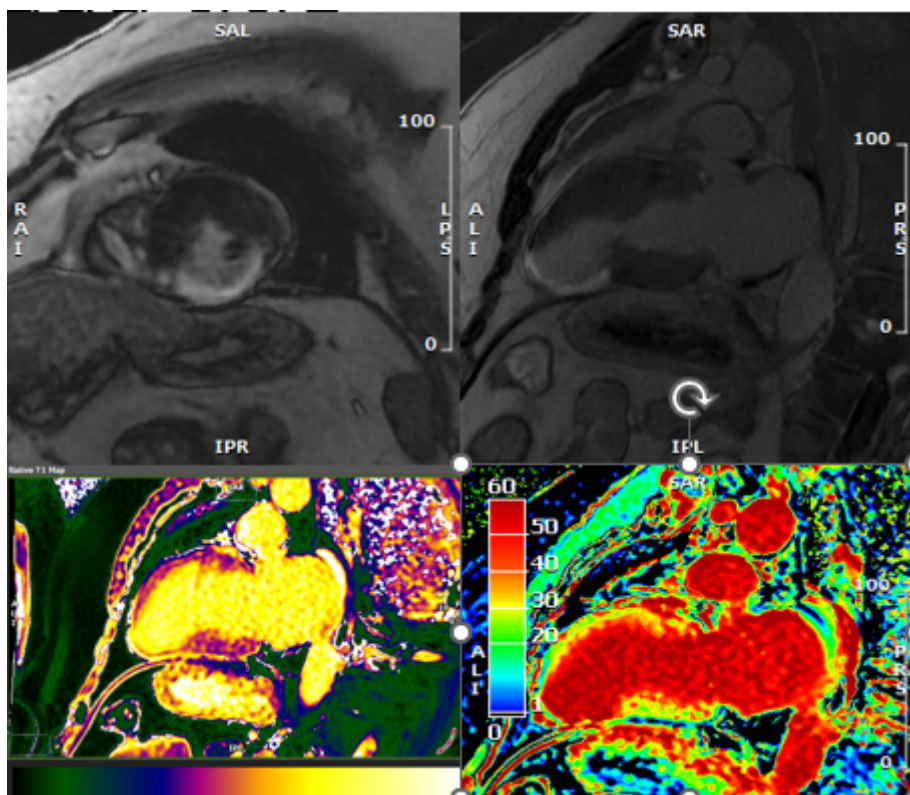
SPECIFIC THERAPIES FOR MIF

Histomorphological data from some clinical studies with drugs used as standard therapy in cardiac diseases support the notion that MIF can be targeted. For instance, treatment of hypertensive patients with the angiotensin-converting enzyme inhibitor lisinopril was able to reduce CVF, and this effect was associated with improved LV diastolic dysfunction [1, 56]. Similarly, treatment of hypertensive patients with the angiotensin-II receptor blocker losartan diminished LV hypertrophy [1, 57]. The mineralocorticoid receptor antagonist spironolactone ameliorated LV diastolic dysfunction and reduced LV stiffness in association with reduction of MIF in HF patients [1, 36]. On the other hand, in



Фиг. 1. Магнитен резонанс на сърце при пациент с дилатативна кардиомиопатия: а) Образ на късно контрастиране по късата ос. Дилатирана левокамерна кухина с изтънен миокард. Нормални сигнални характеристики на миокарда, без наличие на фокални зони на късно гадолинииево контрастиране. б) T1 картиране по късата ос демонстрира дифузно увеличени стойности на T1, кореспондиращи на дифузна интерстициална фиброза

Fig. 1. Magnetic resonance imaging of the heart in a patient with dilated cardiomyopathy: a) LGE in short axis. Dilated left ventricle with thin myocardium. Normal signaling characteristics of myocardium without focal zone of LGE b) T1 mapping in short axis with diffuse high levels of T1, which correspond to diffuse interstitial fibrosis



Фиг. 2. Магнитен резонанс на сърце при пациент с прекаран долен инфаркт: образ на късно гадолинииево контрастиране по късата ос (а) и двукухилен срез (б). Визуализира се трансмурална зона на късно гадолинииево контрастиране долноапикално, кореспондираща на цикатрикс. в) T1 картиране, двукухилен срез, демонстриращ увеличени T1 релаксационни времена долноапикално. Нормални T1 стойности в останалия миокард и д) и кореспондиращо на увеличен екстрацелуларен обем в същата зона КГУ оценява фокална миокардна фиброза, която често е с прогностична стойност, особено когато включва средната част на междукамерната преграда (източник [41]). Оцененият с ЯМР извънклетъчен обем разглежда интерстициалното пространство и ако няма миокарден едем или амилоидоза, тогава точно се измерва наличието на МИФ

Fig 2. CMR of patient with inferior myocardial infarction: LGE in short axis a) and two chambers b). There is a transmural zone of LGE inferoapical, corresponding to scar. c) T1 mapping in two chambers, demonstrate enhanced T1 relaxation times

inferoapical. Normal T1 in the other zones d) Enhanced ECV in the same zone. MIF represents a likely therapeutic target for cardiac protection and improved outcomes in HF

със СНзФИ или СНпФИ приложението на тораземид към стандартната терапия за СН е свързано с редукция на МИФ, намаляване обема на ко-лаген, редукция на ЛК хипертрофия и подобрене във функцията при 80% от пациентите без ЛК дилатация [1, 58].

patients with either HFpEF or HFrEF, administration of torsemide in addition to standard HF therapy was associated with reductions in myocardial hypertrophy, normalization of LV stiffness, and improvement of function in 80% of the patients, without LV enlargement [1, 58]

Комбинираният медикамент сакубитрил/валсартан редуцира МИФ с подобрение в ЛК функцията при опитни мишки със СН и ЗД [81]. Антифибротичният ефект на медикамента може да се дължи на инхибицията на неприлизин [2]. Натриево-глюкозните котранспортер 2 инхибитори (SGLT2), в частност empagliflozin, редуцират МИФ и са свързани с подобрена диастолна дисфункция при диабетни мишки [82]. Тъй като антифибротичният ефект не е свързан с хемодинамични или метаболитни промени и SGLT2 не се експресират върху сърцето, се отчита като плейотропен ефект [83]. Необходими са нови проучвания, за да се потвърди редукцията на МИФ при този клас медикаменти за СН. Няколко експериментални студии са доказали антифибротичния ефект на pirfenidone и tranilast, и двата с клинично доказана ефективност в инхибирането на TGF- β [84, 85], но с изразена хепатотоксичност. Въпреки че конвенционалните терапии, каквито са RAAS инхибиторите, редуцират МИФ, тя персистира при пациенти със СН, лекувани и с тези медикаменти, което налага необходимостта от нови и ефективни антифибротични терапии [59, 60].

Таргетните терапии са ориентирани в 3 основни направления: на ниво тригериращи стимули, генетични модулатори и екстрацелуларна фиброгенеза. Екстрацелуларният обем и циркулиращите биомаркери са основните критерии, използвани за оценка на МИФ в клиничните проучвания [62]. В данните от последното голямо клинично проучване не се установява корелация между тежестта на заболяването и промени в степента на МИФ нито при валсартан, нито за CLCZ696 [65].

ЗАКЛЮЧЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВИ

- МИФ е основа в еволюцията и патологичното структурно миокардно ремоделиране и развитието на СН.
- МИФ е дифузен и локален процес, възникващ като комбинация от интерстициални микроцикатрикси, периваскуларно отлагане на колаген и увеличаване на дебелина на колагеновите влакна.
- МИФ има важна роля при развитието на систолна и диастолна ЛК дисфункция, както и определя клиничния изход при пациенти с неischemични кардиомиопатии
- В този контекст проучването на биомаркерите при МИФ в следващите години се превръща в основен фокус, касаещ новите таргетни терапии.

Не е деклариран конфликт на интереси

Библиография/References

1. González A, Schelbert EB, Díez J, Butler J. Myocardial Interstitial Fibrosis in Heart Failure: Biological and Translational Perspectives. *J Am Coll Cardiol*. 2018 Apr 17;71(15):1696-1706. doi: 10.1016/j.jacc.2018.02.021

Combination of sacubitril/valsartan reduced MIF with improvement of LV function in HF mice with diabetes and cardiac pressure overload [81]. Additional data suggest that the antifibrotic effect of sacubitril/valsartan may be due to the specific inhibition of neprilysin, beyond the angiotensin receptor blocker effect [2]. Sodium-glucose cotransporter 2 (SGLT2) inhibitors, particularly empagliflozin, reduce MIF and are associated with improved diastolic dysfunction in diabetic mice [82]. Because the antifibrotic effect was not linked to metabolic and/or hemodynamic changes and SGLT2 is not expressed in the heart, it has been suggested that it likely reflects direct pleiotropic effects of the drug on the myocardium [2, 83]. Several experimental studies have demonstrated the antifibrotic effect of pirfenidone and tranilast, both with clinically proven effectiveness in inhibiting TGF- β [84, 85], but with pronounced hepatotoxicity. Although conventional therapies such as RAAS inhibitors reduce MIF, it persists in HF patients also treated with these drugs, necessitating the need for new and effective antifibrotic therapies [59, 60].

Target therapies are oriented in 3 basic lines: triggering stimuli, genetic modulators and extracellular fibrogenesis. Extracellular volume and circulating biomarkers are main criteria, which are useful for MIF assessment in clinical trials [62]. From the last clinical trial data, no correlation in severity of MIF either in Valsartan, neither in CLCZ696 [65].

SUMMARY AND PERSPECTIVES

- MIF is a critical component of evolution and pathological myocardial remodeling in patients with HF that occurs secondary to a number of nonischemic cardiac diseases.
- MIF is diffuse and local process, arising like combination of interstitial scars, perivascular collagen deposits and increased stiffness and thickening of collagen myofibres
- MIF has important role in HFpEF and HFrEF and clinical outcomes in patients with nonischemic cardiomyopathies
- In this context studying of biomarkers is important focus for new targeting therapies.

No conflict of interest was declared

2. Díez, J, González, A, Kovacic, J. Myocardial Interstitial Fibrosis in Nonischemic Heart Disease, Part 3/4: JACC Focus Seminar. *JACC*. 2020 May, 75 (17) 2204-2218. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2020.03.019>

3. Weber KT, Pick R, Jalil JE, Janicki JS, Carroll EP. Patterns of myocardial fibrosis. *J Mol Cell Cardiol* 1989;21 Suppl 5:121–31.
4. Weber KT, Sun Y, Guarda E. Structural remodeling in hypertensive heart disease and the role of hormones. *Hypertension* 1994;23:6 Pt 2:869–877.
5. Beltrami CA, Finato N, Rocco M, et al. Structural basis of end-stage failure in ischemic cardiomyopathy in humans. *Circulation* 1994;89:151–163.
6. Hoyt RH, Ericksen E, Collins SM, Skorton DJ. Computer-assisted quantitation of myocardial fibrosis in histologic sections. *Arch Pathol Lab Med* 1984;108:280–283.
7. Treibel TA, López B, González A, et al. Reappraising myocardial fibrosis in severe aortic stenosis: an invasive and non-invasive study in 133 patients. *Eur Heart J* 2018;39:699–709.
8. López B, González A, Querejeta R, Larman M, Rábago G, Díez J. Association of cardiostrophin-1 with myocardial fibrosis in hypertensive patients with heart failure. *Hypertension* 2014;63:483–489.
9. Echegaray K, Andreu I, Lazkano A, et al. Role of myocardial collagen in severe aortic stenosis with preserved ejection fraction and symptoms of heart failure. *Rev Esp Cardiol (English ed)* 2017;70: 832–840.
10. Mukherjee D, Sen S. Alteration of collagen phenotypes in ischemic cardiomyopathy. *J Clin Invest* 1991;88:1141–6
11. Shoulders MD, Raines RT. Collagen structure and stability. *Annu Rev Biochem* 2009;78:929–958.
12. Kasner M, Westermann D, López B, et al. Diastolic tissue Doppler indexes correlate with the degree of collagen expression and cross-linking in heart failure and normal ejection fraction. *J Am Coll Cardiol* 2011;57:977–985.
13. López B, Querejeta R, González A, et al. Collagen cross-linking but not collagen amount associates with elevated filling pressures in hypertensive patients with stage C heart failure: potential role of lysyl oxidase. *Hypertension* 2012; 60:677–683.
14. Zile MR, Baicu CF, Ikonomidis J, et al. Myocardial stiffness in patients with heart failure and a preserved ejection fraction: contributions of collagen and titin. *Circulation* 2015;131:1247–1259
15. Kong P, Christia P, Frangogiannis NG. The pathogenesis of cardiac fibrosis. *Cell Mol Life Sci* 2014;71:549–574.
16. Weber KT, Sun Y, Bhattacharya SK, Ahokas RA, Gerling IC. Myofibroblast-mediated mechanisms of pathological remodeling of the heart. *Nat Rev Cardiol* 2013;10:15–26.
17. Piccoli MT, Bär C, Thum T. Non-coding RNAs as modulators of the cardiac fibroblast phenotype. *J Mol Cell Cardiol* 2016;92:75–81.
18. Bomb R, Heckle MR, Sun Y, et al. Myofibroblast secretome and its auto-paracrine signaling. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2016;14:591–8
19. Bishop JE, Laurent GJ. Collagen turnover and its regulation in the normal and hypertrophying heart. *Eur Heart J* 1995;16 Suppl C:38–44.
20. Trackman PC. Lysyl oxidase isoforms and potential therapeutic opportunities for fibrosis and cancer. *Expert Opin Ther Targets* 2016;20: 935–945.
21. Van der Slot-Verhoven AJ, van Dura EA, Attema J, et al. The type of collagen cross-link determines the reversibility of experimental skin fibrosis. *Biochim Biophys Acta* 2005;1740: 60–67.
22. Aoki T, Fukumoto Y, Sugimura K, et al. Prognostic impact of myocardial interstitial fibrosis in non-ischemic heart failure. Comparison between preserved and reduced ejection fraction heart failure. *Circ J* 2011;75:2605–2613.
23. Villari B, Campbell SE, Hess OM, et al. Influence of collagen network on left ventricular systolic and diastolic function in aortic valve disease. *J Am Coll Cardiol* 1993;22:1477–1484.
24. Nguyen MN, Kiriazis H, Gao XM, Du XJ. Cardiac fibrosis and arrhythmogenesis. *Compr Physiol* 2017;7:1009–1049.
25. McLenachan JM, Dargie HJ. Ventricular arrhythmias in hypertensive left ventricular hypertrophy. Relationship to coronary artery disease, left ventricular dysfunction, and myocardial fibrosis. *Am J Hypertens* 1990;3:735–740.
26. Sabbah HN, Sharov VG, Lesch M, Goldstein S. Progression of heart failure: a role for interstitial fibrosis. *Mol Cell Biochem* 1995;147:29–34.
27. Dai Z, Aoki T, Fukumoto Y, Shimokawa H. Coronary perivascular fibrosis is associated with impairment of coronary blood flow in patients with non-ischemic heart failure. *J Cardiol* 2012;60: 416–421.
28. Azevedo CF, Nigri M, Higuchi ML, et al. Prognostic significance of myocardial fibrosis quantification by histopathology and magnetic resonance imaging in patients with severe aortic valve disease. *J Am Coll Cardiol* 2010;56: 278–287.
29. Yamada T, Fukunami M, Ohmori M, et al. Which subgroup of patients with dilated cardiomyopathy would benefit from long-term betablocker therapy? A histologic viewpoint. *J Am Coll Cardiol* 1993;21:628–633.
30. López B, Ravassa S, González A, et al. Myocardial collagen cross-linking is associated with heart failure hospitalization in patients with hypertensive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2016; 67:251–260.
31. Ravassa S, López B, Querejeta R, et al. Phenotyping of myocardial fibrosis in hypertensive patients with heart failure. Influence on clinical outcome. *J Hypertens* 2017;35:853–861.
32. López B, González A, Ravassa S, et al. Circulating biomarkers of myocardial fibrosis: the need for a reappraisal. *J Am Coll Cardiol* 2015;65:2449–2456.
33. Prockop DJ, Kivirikko KI. Collagens: molecular biology, diseases, and potentials for therapy. *Annu Rev Biochem* 1995;64:403–434.
34. Querejeta R, López B, González A, et al. Increased collagen type I synthesis in patients with heart failure of hypertensive origin: relation to myocardial fibrosis. *Circulation* 2004;110:1263–1268.
35. López B, Querejeta R, González A et al. Effects of loop diuretics on myocardial fibrosis and collagen type I turnover in chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2004;43: 2028–2035.
36. Izawa H, Murohara T, Nagata K et al. Mineralocorticoid receptor antagonism ameliorates left ventricular diastolic dysfunction and myocardial fibrosis in mildly symptomatic patients with idiopathic dilated cardiomyopathy: a pilot study. *Circulation* 2005;112:2940–2945.
37. Löfsjögård J, Kahan T, Díez J, et al. Biomarkers of collagen type I metabolism are related to B type natriuretic peptide, left ventricular size, and diastolic function in heart failure. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)* 2014;15:463–469.
38. Krum H, Elsik M, Schneider HG, et al. Relation of peripheral collagen markers to death and hospitalization in patients with heart failure and preserved ejection fraction: results of the I-PRESERVE collagen substudy. *Circ Heart Fail* 2011;4:561–568.
39. Löfsjögård J, Kahan T, Díez J, et al. Usefulness of collagen carboxy-terminal propeptide and telopeptide to predict disturbances of long-term mortality in patients ≥ 60 years with heart failure and reduced ejection fraction. *Am J Cardiol* 2017;119:2042–2048.
40. Flevari P, Theodorakis G, Leftheriotis D et al. Serum markers of deranged myocardial collagen turnover: their relation to malignant ventricular arrhythmias in cardioverter-defibrillator recipients with heart failure. *Am Heart J* 2012;164:530–537.
41. Klappacher G, Franzen P, Haab D et al. Measuring extracellular matrix turnover in the serum of patients with idiopathic or ischemic dilated cardiomyopathy and impact on diagnosis and prognosis. *Am J Cardiol* 1995;75:913–918.
42. Zannad F, Alla F, Dousset B et al. Limitation of excessive extracellular matrix APRIL 17, 2018:1696–706 turnover may contribute to survival benefit of spironolactone therapy in patients with congestive heart failure: insights from the randomized aldactone evaluation study (RALES). *Rales Investigators. Circulation* 2000;102:2700–2706.
43. Gulati A, Jabbou A, Ismail TF et al. Association of fibrosis with mortality and sudden cardiac death in patients with nonischemic dilated cardiomyopathy. *JAMA* 2013;309:896–908.

44. Schelbert EB, Sabbah HN, Butler J, Gheorghiadu M. Employing extracellular volume cardiovascular magnetic resonance measures of myocardial fibrosis to foster novel therapeutics. *Circ Cardiovasc Imaging* 2017;10:e005619.
45. Chin CW, Everett RJ, Kwieciniski J et al. Myocardial fibrosis and cardiac decompensation in aortic stenosis. *J Am Coll Cardiol Img* 2017;10: 1320-1333.
46. Schelbert EB, Piehler KM, Zareba KM et al. Myocardial fibrosis quantified by extracellular volume is associated with subsequent hospitalization for heart failure, death, or both across the spectrum of ejection fraction and heart failure stage. *J Am Heart Assoc* 2015;4:e002613.
47. Diao K, Yang Z, Xu H et al. Histologic validation of myocardial fibrosis measured by T1 mapping: a systematic review and meta-analysis. *J Cardiovasc Magn Reson* 2016;18:92.
48. Miller CA, Naish J, Bishop P et al. Comprehensive validation of cardiovascular magnetic resonance techniques for the assessment of myocardial extracellular volume. *Circ Cardiovasc Imaging* 2013;6:373-383.
49. Fontana M, White SK, Banyersad SM et al. Comparison of T1 mapping techniques for ECV quantification. Histological validation and reproducibility of ShMOLLI versus multibreath-hold T1 quantification equilibrium contrast CMR. *J Cardiovasc Magn Reson*. 2012;14(1):88. doi: 10.1186/1532-429X-14-88.
50. Schelbert EB, Testa SM, Meier CG et al. Myocardial extravascular extracellular volume fraction measurement by gadolinium cardiovascular magnetic resonance in humans: slow infusion versus bolus. *J Cardiovasc Magn Reson* 2011; 13:16.
51. Chin CW, Semple S, Malley T et al. Optimization and comparison of myocardial T1 techniques at 3T in patients with aortic stenosis. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2014;15:556-565.
52. Singh A, Horsfield MA, Bekele S et al. Myocardial T1 and extracellular volume fraction measurement in asymptomatic patients with aortic stenosis: reproducibility and comparison with age-matched controls. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2015;16:763-770.
53. Schelbert EB, Fridman Y, Wong TC et al. Temporal relation between myocardial fibrosis and heart failure with preserved ejection fraction: association with baseline disease severity and subsequent outcome *JAMA. Cardiol* 2017;2:1-12.
54. Treibel TA, Fontana M, Steeden JA et al. Automatic quantification of the myocardial extracellular volume by cardiac computed tomography: synthetic ECV by CCT. *J Cardiovasc Comput Tomogr* 2017;11:221-226.
55. Puntmann VO, Carr-White G, Jabbour A et al. T1-mapping and outcome in nonischemic cardiomyopathy: All-cause mortality and heart failure. *J Am Coll Cardiol Img* 2016;9:40-50.
56. Brilla CG, Funck RC, Rupp H. Lisinopril-mediated regression of myocardial fibrosis in patients with hypertensive heart disease. *Circulation* 2000;102: 1388-1393.
57. Díez J, Querejeta R, López B et al. Losartan-dependent regression of myocardial fibrosis is associated with reduction of left ventricular chamber stiffness in hypertensive patients. *Circulation* 2002;105:2512-2517.
58. López B, Querejeta R, González A et al. Impact of treatment on myocardial lysyl oxidase expression and collagen cross-linking in patients with heart failure. *Hypertension* 2009;53:236-242.
59. Gourdie RG, Dimmeler S, Kohl P. Novel therapeutic strategies targeting fibroblasts and fibrosis in heart disease. *Nat Rev Drug Discov* 2016;15:620-638.
60. Roubille F, Busseuil D, Merlet N et al. Investigational drugs targeting cardiac fibrosis. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2014;12:111-25.
61. Gyöngyösi M, Winkler J, Ramos I et al. Myocardial fibrosis: biomedical research from bench to bedside. *Eur J Heart Fail* 2017;19: 177-191.
62. Heydari B, Abdullah S, Pottala JV et al. Effect of omega-3 acid ethyl esters on left ventricular remodeling after acute myocardial infarction: the OMEGA-REMODEL randomized clinical trial. *Circulation* 2016;134:378-391.
63. Treibel TA, Kozor R, Schofield R et al. Reverse myocardial remodeling in aortic stenosis: Cellular hypertrophy and extracellular volume but not focal fibrosis regress following aortic valve replacement. *J Am Coll Cardiol* 2018;71: 860-871.
64. Zannad F, Radauceanu A. Effect of MR blockade on collagen formation and cardiovascular disease with a specific emphasis on heart failure. *Heart Fail Rev* 2005;10:71-8.
65. Zile MR, Jhund PS, Baicu CF et al., for the Prospective Comparison of ARNI with ARB on management of heart failure with preserved ejection fraction (PARAMOUNT) Investigators. Plasma biomarkers reflecting profibrotic processes in heart failure with a preserved ejection fraction: data from the Prospective Comparison of ARNI with ARB on Management of Heart Failure with Preserved Ejection Fraction study. *Circ Heart Fail*, 2016;9:e002551.
66. Maragiannis D, Alvarez PA, Ghosn MG et al. Left ventricular function in patients with hypertrophic cardiomyopathy and its relation to myocardial fibrosis and exercise tolerance. *Int J Cardiovasc Imaging*, 2018;34:121-129
67. Rommel KP, von Roeder M, Latuscynski K et al. Extracellular volume fraction for characterization of patients with heart failure and preserved ejection fraction. *J Am Coll Cardiol* 2016;67:1815-1825
68. López B, González A, Lindner D et al. Osteopontin-mediated myocardial fibrosis in heart failure: a role for lysyl oxidase? *Circ Cardiovasc Res*, 2013;99:111-120.
69. Berk BC, Fujiwara K, Lehoux S. ECM remodeling in hypertensive heart disease. *J Clin Invest*. 2007; 117: 568-575
70. Haudek SB, Xia Y, Huebener P et al. Bone marrow-derived fibroblast precursors mediate ischemic cardiomyopathy in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006; 103: 18284-18289.
71. Phillips RJ, Burdick MD, Hong K et al. Circulating fibrocytes traffic to the lungs in response to CXCL12 and mediate fibrosis. *J Clin Invest*. 2004; 114: 438-446
72. Abbott JD, Huang Y, Liu D et al. Stromal cell-derived factor-1alpha plays a critical role in stem cell recruitment to the heart after myocardial infarction but is not sufficient to induce homing in the absence of injury. *Circulation*. 2004;110(21):3300-5. doi: 10.1161/01.CIR.0000147780.30124.CF.
73. Zeisberg EM, Tarnavski O, Zeisberg M et al. Endothelial-to-mesenchymal transition contributes to cardiac fibrosis. *Nat Med*. 2007 Aug;13(8):952-61. doi: 10.1038/nm1613.
74. Beaumont J, López B, Ravassa S et al. Micro-RNA-19b is a potential biomarker of increased myocardial collagen cross-linking in patients with aortic stenosis and heart failure. *Sci Rep*, 2017;7:40696.
75. Collier P, Watson CJ, van Es MH et al. Getting to the heart of cardiac remodeling; how collagen subtypes may contribute to phenotype. *J Mol Cell Cardiol*, 2012;52:148-53.
76. Marijanowski MM, Teeling P, Mann J et al. Dilated cardiomyopathy is associated with an increase in the type I/type III collagen ratio: a quantitative assessment. *J Am Coll Cardiol*, 1995;25:1263-72.
77. Gunja-Smith Z, Morales AR, Romanelli R, Woessner JF Jr. Remodeling of human myocardial collagen in idiopathic dilated cardiomyopathy. Role of metalloproteinases and pyridinoline cross-links. *Am J Pathol*, 1996;148:1639-48.
78. López B, González A, Querejeta R et al. Alterations in the pattern of collagen deposition may contribute to the deterioration of systolic function in hypertensive patients with heart failure. *J Am Coll Cardiol*, 2006;48:89-96.
79. Hein S, Arnon E, Kostin S et al. Progression from compensated hypertrophy to failure in the pressure-overloaded human heart: structural deterioration and compensatory mechanisms. *Circulation*, 2003;107:984-991.

80. Herrmann S, Fries B, Salinger T et al. Myocardial fibrosis predicts 10-year survival in patients undergoing aortic valve replacement. *Circ Cardiovasc Imaging*, 2018;11:e007131
81. Suematsu Y, Miura S, Goto M et al. LCZ696, an angiotensin receptor-neprilysin inhibitor, improves cardiac function with the attenuation of fibrosis in heart failure with reduced ejection fraction in streptozotocin-induced diabetic mice. *Eur J Heart Fail*, 2016;18:386-93
82. Habibi J, Aroor AR, Sowers JR et al. Sodium glucose transporter 2 (SGLT2) inhibition with empagliflozin improves cardiac diastolic function in a female rodent model of diabetes. *Cardiovasc Diabetol*, 2017;16:9.
83. Packer M, Anker SD, Butler J et al Effects of sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors for the treatment of patients with heart failure: proposal of a novel mechanism of action. *JAMA Cardiol*, 2017;2:1025-1029.
84. Edgley AJ, Krum H, Kelly DJ. Targeting fibrosis for the treatment of heart failure: a role for transforming growth factor-beta. *Cardiovasc Ther*, 2012;30:e30-40.
85. Fang L, Murphy AJ, Dart AM. A clinical perspective of anti-fibrotic therapies for cardiovascular disease. *Front Pharmacol*, 2017;8:186.
86. Mewton N, Liu CY, Croisille P et al Assessment of myocardial fibrosis with cardiovascular magnetic resonance. *J Am Coll Cardiol*. 2011; 57(8):891-903
87. Schulz-Menger J, Bluemke DA, Bremerich J et al. Standardized image interpretation and post-processing in cardiovascular magnetic resonance – 2020 update: Society for Cardiovascular Magnetic Resonance (SCMR): Board of Trustees Task Force on standardized post-processing. *J Cardiovasc Magn Reson*, 2020;22:19.