

МЕХАНИЗЪМ И ДИАГНОЗА НА ЛЕВОКАМЕРНАТА ДИАСТОЛНА ДИСФУНКЦИЯ

А. Иванов¹, Е. Левунлиева²

¹Клиника по кардиология и ангиология, Сърдечносъдов център, Аджикадем Сити Клиник – София

²Клиника по детска кардиология, Национална кардиологична болница – София

MECHANISM AND DIAGNOSIS OF LEFT VENTRICULAR DIASTOLIC DYSFUNCTION

A. Ivanov¹, E. Levunlieva²

¹Clinic of Cardiology and Angiology, Cardiovascular Center, Acibadem City Clinic – Sofia

²Clinic of Pediatric Cardiology, National Cardiology Hospital – Sofia

Резюме. Диастолната дисфункция е състояние, при което камерното пълнене е нарушено, независимо от наличието на симптоми и независимо дали фракцията на изтласкване е нормална или понижена. Левокамерната диастолна дисфункция е резултат от сложни взаимосвързани биохимични и клетъчни механизми. Сред тях водещо място заемат нарушената миокардна релаксация вследствие на калциева дисрегулация, промененото фосфорилиране на титина, повлияващо пасивната еластичност на миокарда, както и ремоделирането на извънклетъчния матрикс с развитие на фиброза, медирана от сигнални пътища като TGF- β /SMAD и MAPK. Допълнителни фактори са оксидативен стрес и митохондриална дисфункция, хронично възпаление и активиране на цитокинови каскади, метаболитни нарушения като диабет и затлъстяване, както и протеинова дисфункция, свързана със стрес на ендоплазмения ретикулум и нарушена протеолиза. Този комплекс от фактори води до затруднено диастолно пълнене на лявата камера – диастолна дисфункция. Поради своята достъпност и доказана клинична стойност ехокардиографията е основен метод за диагностика на диастолната дисфункция. Инвазивните и другите образни методики предоставят допълнителна информация при комплексни или гранични случаи, както и при пациенти, при които ехокардиографската оценка е затруднена или невъзможна.

Ключови думи: диастолна дисфункция, релаксация, къмплайънс, ригидност, диагноза

Адрес

за кореспонденция: д-р Андрей Иванов, дм, e-mail: andrewaivanov12@gmail.com

Abstract. Diastolic dysfunction is a condition in which ventricular filling is impaired, regardless of the presence of symptoms and irrespective of whether the ejection fraction is normal or reduced. Left ventricular diastolic dysfunction results from complex and interconnected biochemical and cellular mechanisms. Among them, impaired myocardial relaxation due to calcium dysregulation, altered titin phosphorylation affecting the passive elasticity of the myocardium, and extracellular matrix remodeling with the development of fibrosis mediated by signalling pathways such as TGF- β /SMAD and MAPK play a leading role. Additional contributing factors include oxidative stress and mitochondrial dysfunction, chronic inflammation and activation of cytokine cascades, metabolic disturbances such as diabetes and obesity, as well as protein dysfunction related to endoplasmic reticulum stress and impaired proteolysis. All these processes in complex lead to impaired diastolic filling of the left ventricle, i.e., diastolic dysfunction. Due to its broad availability and proven clinical value, echocardiography is the primary method for diagnosing diastolic dysfunction. Invasive and other imaging modalities offer complementary information in complex or borderline cases, or when echocardiographic evaluation is difficult or impossible.

Key words: diastolic dysfunction, relaxation, compliance, stiffness, diagnosis

Address

for correspondence: Andrey Ivanov, MD, PhD, e-mail: andrewaivanov12@gmail.com

ВЪВЕДЕНИЕ

Диастолната дисфункция е състояние, при което камерното пълнене е нарушено, независимо дали фракцията на изтласкване е нормална или понижена, както и дали при пациента са налице симптоми или такива липсват [1]. В процеса на развитието ѝ участват множество биохимични и клетъчни механизми, активиращи се на различни етапи от заболяването и водещи в част от случаите до клинична изява на сърдечна недостатъчност.

Нарушението на диастолните свойства на камерния миокард включва два основни компонента – нарушение на процеса на камерна релаксация и повишена ригидност (понижен кълмплайънс) на камерата [2].

В този обзор са разгледани диастолните свойства релаксация и кълмплайънс, както и причините и механизмите на развитие на диастолна дисфункция. Използваните съкращения са дадени в таблица 1.

INTRODUCTION

Ventricular diastolic dysfunction (DD) is a state with impaired ventricular filling, regardless of whether the ejection fraction is normal or reduced, and whether the patient is symptomatic or not [1]. In the process of its development, numerous biochemical and cellular mechanisms are involved, activated at different stages of the disease, and leading in some cases to clinical manifestations of heart failure.

The impairment of the diastolic properties of the ventricular myocardium includes two main components – an abnormal ventricular relaxation and increased stiffness (decreased compliance) of the ventricle [2].

This review discusses diastolic properties of relaxation and compliance, as well as the causes and mechanisms of diastolic dysfunction. The abbreviations used are given in Table 1.

Таблица 1. Основни използвани в текста съкращения
Table 1. Main abbreviations used in the text

Abbreviation // Съкращения	Meaning // Значение	
ЛК (LV)	Left ventricle, left ventricular	Лява камера, левокамерен
ЛП (LA)	Left atrium, left atrial	Ляво предсърдие, левопредсърден
AGEs	Advanced glycation end products	Крайни продукти на напреднало гликиране
АКТ	Protein kinase B (PKB)	Протеин киназа В (ПКВ)
АМРК	AMP-activated protein kinase	АМФ активирана протеин киназа
АТФ	Adenosine triphosphate	Аденозин трифосфат
ВІР	Binding immunoglobulin protein	Имуноглобулин-свързващ протеин
СаМКII	Ca ²⁺ /calmodulin-dependent protein kinase II	Са ²⁺ /калмодулин-зависима протеин киназа II
СМР	Cardiac magnetic resonance	Сърдечен магнитен резонанс
СНОР	C/EBP homologous protein	С/ЕВР хомоложен протеин
COL1A1, COL1A2, COL3A1	Collagen type I alpha 1, type I alpha 2, type III alpha 1 chains	Колаген тип I алфа 1, тип I алфа 2, тип III алфа 1 вериги
DT	Deceleration time	Време на децелерация
ЕСМ	Extracellular matrix	Екстрацелуларен матрикс
ER	Endoplasmic reticulum	Ендоплазмен ретикулум
ERK1/2	Extracellular signal-regulated kinases 1 and 2	Екстрацелуларни сигнал-регулирани кинази 1 и 2
НSP	Heat shock protein	Протеин на термичния шок
GRP	Glucose-regulated protein	Глюкоза-регулиран протеин
IRE1	Inositol-requiring enzyme-1	Инозитол-изискващ ензим-1
IVRT	Isovolumic relaxation time	Време на изоволуметрична релаксация
ЈAK	Janus kinase	Јанус киназа
ЈNK	c-Jun N-terminal kinase	с-Jun N-терминална киназа
ЛАС	Left atrial conduit strain	Левопредсърден проводен стрейн
ЛАРS	Left atrial reservoir strain	Левопредсърден резервоарен стрейн
ЛАСct	Left atrial contractile strain	Левопредсърден контрактилен стрейн
ЛАVi	Left atrial volume index	Индексиран левопредсърден обем
LOX, LOXL-3	Lysyl oxidase, lysyl oxidase-like 3	Лизилоксидаза, лизилоксидаза подобна 3
МАРК	Mitogen-activated protein kinase	Митоген-активирана протеин киназа
ММР	Matrix metalloproteinase	Матриксна металопроотеиназа

Abbreviation // Съкращения	Meaning // Значение	
mTOR	Mechanistic target of rapamycin	Механистичен таргет на рапамицина
MuRF	Muscle-specific ring finger protein	Мускулно-специфичен протеин на безименния пръст
MyBP-C	Myosin-binding protein C	Миозин-свързващ протеин C
NCX	Na ⁺ /Ca ²⁺ exchanger	Na ⁺ /Ca ²⁺ обменник
NF-κB	Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells	Нуклеарен фактор на активирани В-клетки
NO	Nitric oxide	Азотен оксид
PGC-1α	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1α	Коактиватор-1α на гама-рецептора, активиран от пероксизомни пролифератори
PI3K	Phosphoinositide 3 kinase	Фосфоинозитид 3 киназа
PKC	Protein kinase C	Протеин киназа C
PKA	Protein kinase A	Протеин киназа A
PKG	cGMP-dependent protein kinase	цГМФ-зависима протеин киназа
PLB	Phospholamban	Фосфоламбан
PERK	Protein kinase R-like ER kinase	R-подобна протеин киназа на ендоплазмения ретикулум
RAGE	Receptor for advanced glycation end products	Рецептор за крайни продукти на напреднало гликиране
ROCK	Rho-associated coiled-coil containing protein kinase	Rho-асоцирана киназа, съдържаща коил-коил домени
ROS	Reactive oxygen species	Реактивни кислородни видове
RyR2	Ryanodine receptor type 2	Рианодинов рецептор тип 2
SERCA2a	Sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca ²⁺ -ATPase 2a	Ca ²⁺ -АТФаза 2a на саркоплазмения/ ендоплазмения ретикулум
SMAD	"Small body size" (C. elegans) and "Mothers against decapentaplegic" (Drosophila)	От англ. "small body size" (C. elegans) и "Mothers against decapentaplegic" (Drosophila)
SR	Sarcoplasmic reticulum	Саркоплазмен ретикулум
STAT	Signal transducer and activator of transcription	Сигнален трансдюсер и активатор на транскрипцията
TGF-β	Transforming growth factor-beta	Трансформиращ растежен фактор бета
TIMP	Tissue inhibitor of metalloproteinases	Тъканен инхибитор на металопротеиназите
TNF-α	Tumor necrosis factor-alpha	Тумор-некротизиращ фактор алфа
TnI	Troponin I	Тропонин I
TnT	Troponin T	Тропонин T
UPS	Ubiquitin-proteasome system	Убиквитин-протеазомна система
UPR	Unfolded protein response	Отговор на неправилно нагнати протеини
Wnt/β-catenin	Wnt/β-catenin signaling pathway	Сигнален път Wnt/β-катенин

КАМЕРНА РЕЛАКСАЦИЯ

Релаксацията е активен процес, при който след съкращението миокардът се връща до изходните си дължина и напрежение [3]. Нормално тя обхваща голяма част от фазата на камерно изтласкване, периодът с понижаване на вътрекамерното налягане и началната част на фазата на бързо пълнене [4]. При физиологични условия саркомерите се съкращават и удължават в отговор на промените на [Ca²⁺]_i в миоцитите [5]. На клетъчно ниво релаксацията зависи от понижаването на интрацелуларната концентрация на Ca²⁺ и дисоциацията му от тропонин C, което води до разкъсване на актомиозиновите мостчета и прекратяване на мускулното съкращение [6]. За нормалното протичане на процеса е необходимо достатъчно количество АТФ. Отстраняването на калциевите йони от цитозола се осъществява чрез: 1) фосфолам-

RELAXATION

Relaxation is an active process in which, after contraction, the myocardium returns to its original length and tension [3]. Typically, it includes a large part of the phase of ventricular ejection, the period of ventricular pressure drop, and the initial part of the rapid filling phase [4]. Under physiological conditions, sarcomeres shorten and lengthen in response to changes in [Ca²⁺]_i in the myocytes [5]. At the cellular level, relaxation depends on the decrease in intracellular Ca²⁺ concentration and its dissociation from troponin C, which leads to the breaking of actomyosin bridges and the cessation of muscle contraction [6]. A sufficient amount of ATP is required for the normal course of the process. The removal of calcium ions from the cytosol is carried out by: 1) phospholamban-modulated uptake of Ca²⁺ into

бан-модулирано поемане на Ca^{2+} в саркоплазмения ретикулум посредством Ca^{2+} -АТФаза (sarcolemmal Ca^{2+} -ATPase, SERCA) [7]; 2) извеждане на Ca^{2+} посредством натриево-калциевия обменник (NCX) на сарколемата, обменящ един Ca^{2+} йон срещу три Na^+ йона [8]; 3) транспорт към митохондриите [9]; 4) транспорт от Ca^{2+} -АТФаза на сарколемата [10].

Първите два механизма за извеждане на калциевите йони са основни, докато с помощта на другите два се отстранява минимално количество.

Допълнително, важна роля играе Ca^{2+} /калмодулин-зависима протеин киназа II (CaMKII). Тя фосфорилира калциевите канали и рианодиновите рецептори, увеличавайки спонтанното преминаване на Ca^{2+} от саркоплазмения ретикулум към цитоплазмата [11]. В резултат на това настъпва калциева дисрегулация и нарушаване на процеса на релаксация.

РИГИДНОСТ И РАЗТЕГЛИВОСТ (КЪМПЛАЙЪНС)

Ригидността и кмплайънсът на камерата са пасивно свойство, представено по противоположен начин, имащо значение през всичките 3 фази на диастолата, с постепенно нарастване на ролята му от началото на диастазата и основно във втората половина на диастолата.

Елементи на камерната ригидност са [4, 12, 13]: миокардната ригидност и ригидността на кухината (отразявана от наклона на кривата *диастолно налягане-обем*), повишаваща се при увеличена големина на камерата и/или дебелина на стената ѝ. *Ригидността* се представя от отношението *промяна на вътрекамерното налягане/промяна на камерния обем* при пълненето на кухината: **Ригидност = $\Delta P/\Delta V$** , където ΔP – промяна на налягането, а ΔV – промяна на обема.

Кмплайънсът е противоположното свойство, представяно от отношението *промяна на камерния обем/промяна на вътрекамерното налягане* по време на диастолата (фиг. 1): **Кмплайънс = $\Delta V/\Delta P$** .

Ригидността и кмплайънсът зависят от характеристики както на миоцитите, така и на екстрацелуларната среда в миокарда. Повишаването на миокардната ригидност се развива по-късно от нарушаването на процеса на релаксация, при напреднал стадий на заболяването.

Миоцитни фактори

При физиологична дължина на саркомерите титинът е основният елемент в миоцитите, противодействащ на пасивните миокардни сили [5]. Съставен е от два елемента: 1) А-ивица, изградена от имуноглобулиноподобни (Ig) и фибронектин 3 последователности и 2) I-ивица, основа на вискоеластичността на титина. Гигантските протеинови

the sarcoplasmic reticulum by the sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase (SERCA) [7]; 2) Ca^{2+} removal via the sodium-calcium exchanger (NCX) of the sarcolemma, exchanging one Ca^{2+} ion for three Na^+ ions [8]; 3) transport to mitochondria [9]; 4) transport by Ca^{2+} -ATPase in the sarcolemma [10].

The first two mechanisms for the removal of calcium ions are the main ones, while the other two remove a small amount.

Additionally, CaMKII (Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase II) plays an important role. It phosphorylates calcium channels and ryanodine receptors, increasing the spontaneous passage of Ca^{2+} from the sarcoplasmic reticulum to the cytoplasm [11]. This results in calcium dysregulation and impairment of the relaxation process.

STIFFNESS AND COMPLIANCE

The stiffness and compliance of the ventricle is a passive property presented in an opposite way, having importance during all three phases of diastole, with a gradual increase in its role from the beginning of diastasis and mainly in the second half of diastole.

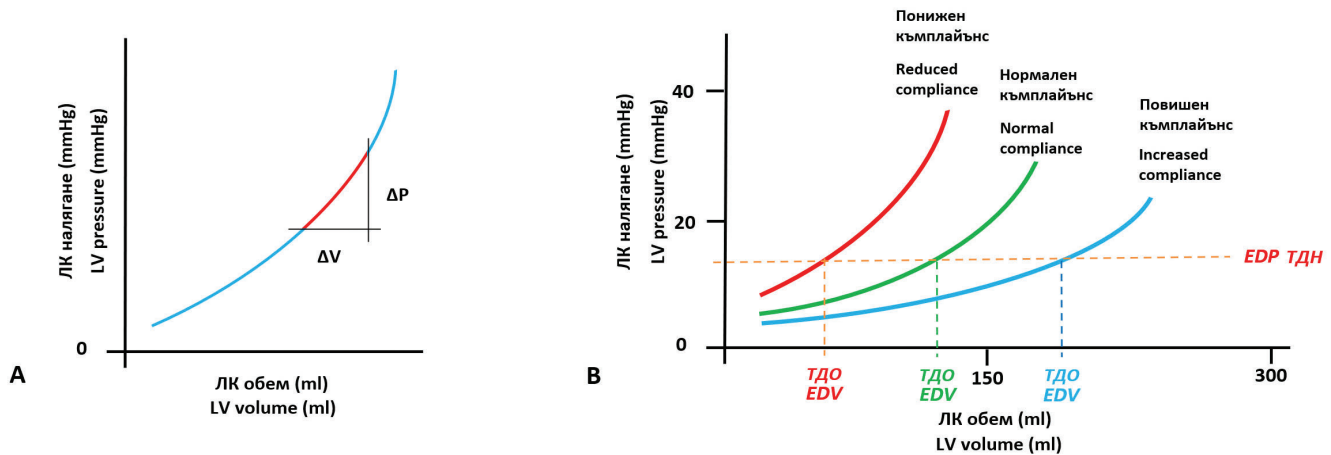
Elements of ventricular stiffness are [4, 12, 13]: myocardial stiffness, and chamber stiffness (reflected by the slope of the *diastolic pressure-volume curve*), increasing with increased chamber size and/or wall thickness. *Stiffness* is represented by the ratio of ventricular *pressure change to ventricular volume change during filling of the ventricle*: **Stiffness = $\Delta P/\Delta V$** , where ΔP – pressure change, and ΔV – volume change.

Compliance is the opposite property represented by the ratio of *ventricular volume change to ventricular pressure change during diastole* (Figure 1): **Compliance = $\Delta V/\Delta P$** .

Stiffness and compliance depend on characteristics of both myocytes and the extracellular milieu in the myocardium. Increased myocardial stiffness develops later than the disturbance of the relaxation process, in advanced stages of the disease.

Myocyte factors

At physiological sarcomere lengths, titin is the main component in myocytes counteracting passive myocardial forces [5]. It is composed of two elements: (1) the A-band, built from immunoglobulin-like (Ig) and fibronectin 3 sequences, and (2) the I-band, the basis of titin's viscoelasticity. Giant titin protein molecules



ЛК – левокамерен, ТДН – теледиастоно налягане, ТДО – теледиастолен обем
 LV – left ventricular, EDP – end-diastolic pressure, EDV – end-diastolic volume

Фиг. 1. Отношение ЛК обем/ЛК налягане, отразяващо ЛК кмплайънс ($\Delta V/\Delta P$): А) в общия случай; В) при нормален, понижен и повишен кмплайънс на камерата; показани са различните левокамерни обеми в теледиастола при различен кмплайънс при едно и също теледиастоно налягане. (схема на авторите)

Fig. 1. The ratio LV volume/LV pressure, reflecting LV compliance ($\Delta V/\Delta P$): A) in the general case; B) with normal, reduced and increased chamber compliance; the different left ventricular volumes in end-diastole are shown for different compliance at the same end-diastolic pressure (authors' scheme)

молекули на титина образуват мрежа от филаменти в кардиомиоцита, имащи механични и сигнални функции. Те са един от основните детерминанти на независимата от Ca^{2+} пасивна ригидност на изолираните кардиомиоцити, като допринасят за ригидността основно при по-малки дължини на саркомера (от 1,8 до 2,2 μm) [14]. В миокарда титинът се установява основно в 2 изоформи – N2B (ригидна, къса) и N2BA (по-еластична) [15, 16]. Балансът между тях корелира с пасивната ригидност и разтегливост на миокарда. При сърдечна недостатъчност със запазена фракция на изтласкване се наблюдава изместване към N2B, което е свързано с по-голяма ригидност на миокарда.

Фосфорилирането на титина от PKA и PKG намалява ригидността му, а намаленото фосфорилиране (особено при нарушение в сигналния път NO–cGMP–PKG) увеличава ригидността [17-19]. Фактически фосфорилирането на PEVK домейна увеличава ригидността на титина, докато фосфорилирането на N2-Bus намалява ригидността [20, 18]. Фосфорилирането на N2-Bus от PKA и PKG е критичен механизъм за регулиране на пасивната ригидност на миокарда. Изключването на този път (напр. при нарушена NO–cGMP–PKG сигнална активност) може значимо да увеличи ригидността и да допринесе за развитието на диастолна дисфункция.

Екстрацелуларни фактори

Тензионното обременяване на лявата камера води до развитие на хипертрофия, която е причина

form a network of filaments in the cardiomyocyte, having mechanical and signaling functions. They are one of the main determinants of Ca^{2+} -independent passive stiffness of isolated cardiomyocytes, contributing to stiffness mainly at shorter sarcomere lengths (from 1.8 to 2.2 μm) [14]. In the myocardium, titin is mainly found in two isoforms – N2B (rigid, short) and N2BA (more elastic) [15, 16]. The balance between these isoforms correlates with the passive stiffness and compliance of the myocardium. In heart failure with preserved ejection fraction, a shift towards N2B is observed, which is associated with greater myocardial stiffness.

Phosphorylation of titin by PKA and PKG reduces its stiffness, and reduced phosphorylation increases stiffness (especially in the case of abnormality in the NO–cGMP–PKG signaling pathway) [17-19]. In fact, phosphorylation of the PEVK domain increases titin stiffness, while phosphorylation of N2-Bus decreases it [20, 18]. Phosphorylation of N2-Bus by PKA and PKG is a critical mechanism for regulating passive myocardial stiffness and elasticity. Disabling this pathway (e.g., by impaired NO–cGMP–PKG signaling) can significantly increase stiffness and contribute to the development of diastolic dysfunction.

Extracellular factors

Pressure overloading of the left ventricle leads to the development of hypertrophy, which decreases

за понижаване на кълмплайънса на камерата и влошаване на диастолното ѝ пълнене. Хипертрофията на миоцитите обикновено се съпътства от увеличаване на екстрацелуларния матрикс, изграден основно от колаген I и III и по-малко от еластин, ламинин и фибронектин. Приносът на екстрацелуларния колаген за миокардната ригидност е по-голям при дължини на саркомера $> 2,2 \mu\text{m}$, т.е. при наличие на ЛК дилатация [14]. От значение за диастолната дисфункция са както количеството на фибриларния колаген в екстрацелуларния матрикс, така и кръстосаното му свързване с образуване на мрежа от колагенови влакна [21]. От своя страна, образуването на мрежа от фибриларния колаген зависи от ензимната активност на лизилоксидазата (LOX и LOXL-3), освобождавана от фибробластите и вероятно от миоцитите [22-25].

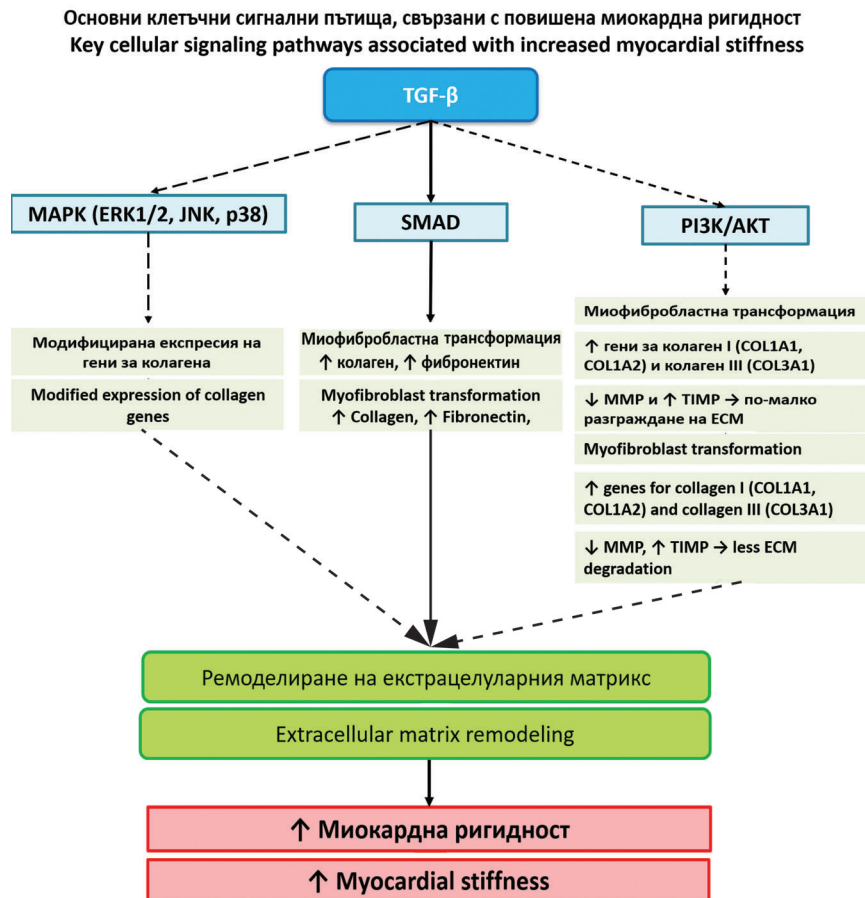
Следните основни сигнални пътища (фиг. 2) имат значение за структурата на екстрацелуларния матрикс и съответно за миокардната ригидност [26-28]:

- **TGF- β /SMAD** – основен регулатор на фиброгенезата чрез стимулиране на синтеза на колаген и фибронектин, като TGF β активира SMAD каскадата, стимулираща синтеза на колаген и фибронектин от фибробластите и усилваща миофибробластната трансформация и ремоделирането на екстрацелуларния матрикс.

compliance of the ventricle and deteriorates its diastolic filling. Myocyte hypertrophy is usually accompanied by an increase in the extracellular matrix, consisting mainly of collagen I and III and less of elastin, laminin and fibronectin. The contribution of extracellular collagen to myocardial stiffness is greater at sarcomere lengths $> 2.2 \mu\text{m}$, i.e. in the presence of LV dilation [14]. Both the amount of fibrillar collagen in the extracellular matrix and its cross-linking to form a network of collagen fibers are important for diastolic dysfunction [21]. In turn, the formation of a network of fibrillar collagen depends on the enzymatic activity of lysyl oxidase (LOX and LOXL-3) released by fibroblasts and probably by myocytes [22-25].

The following major signaling pathways (Figure 2) are important for the structure of the extracellular matrix and, consequently, for myocardial stiffness [26-28]:

- **TGF- β /SMAD** – a key regulator of fibrogenesis by stimulating the synthesis of collagen and fibronectin, with TGF- β activating the SMAD cascade, stimulating the synthesis of collagen and fibronectin by fibroblasts and enhancing myofibroblast transformation and remodeling of the extracellular matrix;



Фиг. 2. Основни клетъчни сигнални пътища, свързани с повишена миокардна ригидност (схема на авторите)

Fig. 2. Major cellular signaling pathways associated with increased myocardial stiffness (authors' scheme)

- **MAPK (ERK1/2, JNK, p38)** – активирани от механично напрежение, хормони и цитокини, те регулират експресията на гени за колагена.

- **PI3K/АКТ** – медира хипертрофия и благоприятства оцеляването на кардиомиоцитите, но хроничното му активиране е свързано с патологично ремоделиране.

ПРИЧИНИ ЗА РАЗВИТИЕ НА ЛЕВОКАМЕРНА ДИАСТОЛНА ДИСФУНКЦИЯ

Множество етиологични и предразполагащи фактори могат да стоят в основата на развитието на диастолна дисфункция [41, 60, 85, 86, 97, 107, 119]. Такива фактори са: заболявания с хемодинамично обременяване (артериална хипертония, аортна стеноза/инсуфициенция), исхемична болест на сърцето (остри и хронични форми), кардиомиопатии (хипертрофична, рестриктивна, дилатативна), метаболитни и ендокринни, автоимунни, инфилтративни и възпалителни заболявания, токсични увреждания, генетични и наследствени синдроми с мутации в саркомерни протеини.

МЕХАНИЗМИ НА ДИАСТОЛНАТА ДИСФУНКЦИЯ

- **Нарушена калциева регулация** (фиг. 3): Нарушената калциева хомеостаза на ниво клетка е един от основните биохимични механизми, участващи в диастолната дисфункция. Калциевите йони играят основна роля в процеса на мускулната контракция и релаксация. В нормални условия по време на диастола те се транспортират обратно в саркоплазмения ретикулум чрез саркоплазмената калциева АТФаза (SERCA2a) [7]. При диастолна дисфункция обаче активността на SERCA2a е намалена, което води до задържане на калциевы йони в цитозола и до нарушена релаксация на миоцита. Освен това при някои състояния като хипертония и диабет може да се наблюдава повишена активност на натриево-калциевия обменник (NCX), което допълнително влошава калциевата хомеостаза. NCX обикновено работи в *режим напред* (извежда 1 Ca²⁺ навън срещу въвеждане на 3 Na⁺ навътре). В патологични условия обаче може да се активира и в *обратен режим*, т.е. да въвежда Ca²⁺ във вътрешността на клетката и да извежда Na⁺ от нея [8]. Това допринася за калциевото обременяване на миоцитите и за диастолната дисфункция. Нарушеното функциониране на SERCA2a може да е свързано с различни молекулни механизми, вкл. оксидативен стрес и възпаление, които водят до посттранслационни модификации на SERCA2a. Освен това генетични мутации също могат да играят роля за нарушението на калциевата регулация, като пряко или косвено влияят върху активността на SERCA2a и NCX.

- **MAPK (ERK1/2, JNK, p38)** – activated by mechanical stress, hormones and cytokines, they regulate the expression of collagen genes;

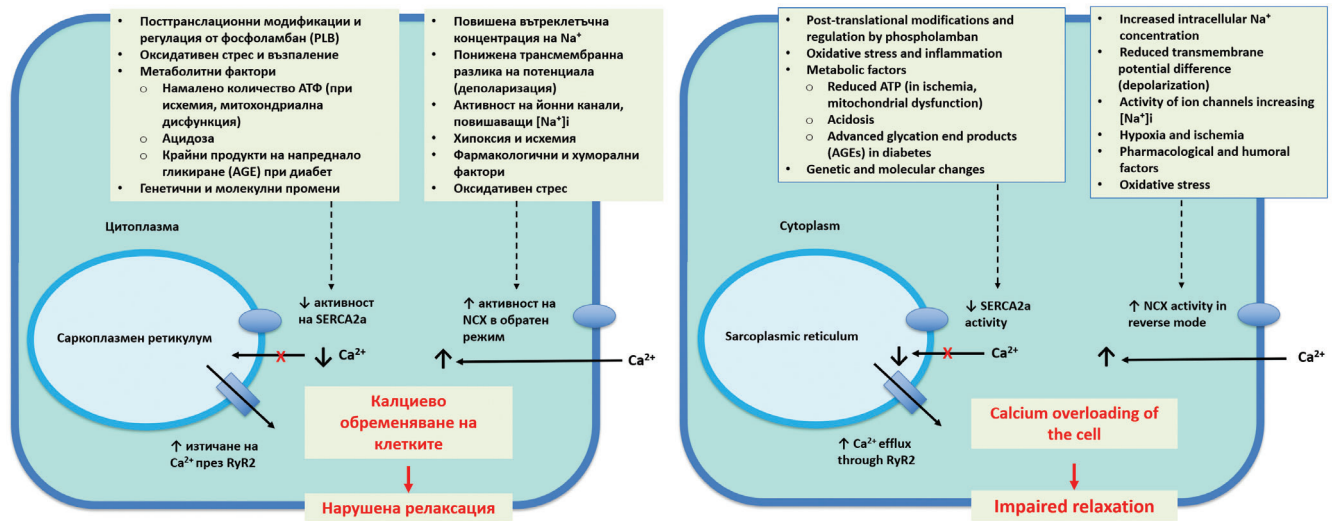
- **PI3K/АКТ** – mediates hypertrophy and promotes cardiomyocyte survival, but its chronic activation is associated with abnormal remodeling.

CAUSES OF LEFT VENTRICULAR DIASTOLIC DYSFUNCTION

A number of etiological and predisposing factors may contribute to the development of diastolic dysfunction [41, 60, 85, 86, 97, 107, 119]. These include diseases associated with hemodynamic overload (hypertension, aortic stenosis and/or regurgitation), coronary artery disease (both acute and chronic forms), cardiomyopathies (hypertrophic, restrictive, or dilated), metabolic and endocrine, autoimmune, infiltrative and inflammatory diseases, toxic injuries, and genetic and hereditary syndromes with mutations in sarcomeric proteins.

MECHANISMS OF DIASTOLIC DYSFUNCTION

- **Calcium dysregulation** (Figure 3): Impaired calcium homeostasis at the cellular level is one of the main biochemical mechanisms involved in diastolic dysfunction. Calcium ions play a fundamental role in the process of muscle contraction and relaxation. Under normal conditions, during diastole, they are transported back to the sarcoplasmic reticulum by the sarcoplasmic calcium ATPase (SERCA2a) [7]. In diastolic dysfunction, SERCA2a activity is reduced, leading to retention of calcium ions in the cytosol and impaired myocyte relaxation. In addition, in some diseases such as hypertension and diabetes, increased activity of the sodium-calcium exchanger (NCX) can be observed, further impairing calcium homeostasis. NCX normally operates in a *“forward mode”* (expelling 1 Ca²⁺ against bringing in 3 Na⁺). However, in pathological states it can also be activated in a *“reverse mode”*, i.e. to bring Ca²⁺ into the cell and remove Na⁺ from it [8]. This contributes to the calcium load of myocytes and diastolic dysfunction. The impaired functioning of SERCA2a can be related to various molecular mechanisms, including oxidative stress and inflammation, which lead to post-translational modifications of SERCA2a. In addition, genetic mutations can also play a role in the disturbance of calcium regulation, directly or indirectly affecting the activity of SERCA2a and NCX.



Фиг. 3. Намалването на активността на SERCA2a води до намалване на поемането на Ca^{2+} от саркоплазмения ретикулум. Това е основният механизъм за повишаване на вътреклетъчната концентрация на Ca^{2+} . С по-малка значимост е повишаването на активността на натриево-калциевия обменник (NCX), функциониращ в „обратен режим“, т.е. въвеждане в клетката на Ca^{2+} и извеждане на Na^{+} . В добавка, при оксидативен стрес, фосфорилиране от CaMKII и PKA, както и загуба на стабилизиращи протеини е налице увеличен ефлукс на Ca^{2+} през RyR2-каналчетата на саркоплазмения ретикулум, което допълнително увеличава калциевото обременяване на клетките. RyR2 – рианоидинови рецептори тип 2 (схема на авторите)

Fig. 3. Decreased SERCA2a activity leads to reduced Ca^{2+} uptake by the sarcoplasmic reticulum. This is the main mechanism for increasing intracellular Ca^{2+} concentration. Of lesser importance is the increase in the activity of the sodium-calcium exchanger (NCX) functioning in a “reverse mode”, i.e. Ca^{2+} entry into the cell and Na^{+} exit. In addition, under oxidative stress, phosphorylation by CaMKII and PKA, as well as loss of stabilizing proteins, there is an increased efflux of Ca^{2+} through the RyR2 channels of the sarcoplasmic reticulum, which further increases the calcium load of the cells. RyR2 – ryanodine receptors type 2 (authors' scheme)

- **Хуморални фактори:** Ангиотензин II активира AT1 рецепторите и стимулира сигналния път TGF- β /SMAD, което води до развитие на фиброза. Активирането на MAPK- и JAK/STAT сигналните пътища също допринася за развитието на миокардна хипертрофия и фиброза. Алдостеронът повишава активността на лизилоксидазата (LOX) [25], вследствие на което се увеличава кръстосаното свързване на колагена и повишена ригидност на миокарда. Освен това той активира минералкортикоидните рецептори в кардиомиоцитите и фибробластите, като по този начин благоприятства хипертрофията и фиброзата. Катехоламините (посредством β -адренергичните рецептори) активират PKA и CaMKII. Вследствие на това се увеличава навлизането на калциеви йони в клетката и се повишават енергийните нужди на миокарда. При хронична β -адренергична стимулация тези механизми водят до калциева дисрегулация, оксидативен стрес и индуциране на апоптоза, допринасящи за прогресирането на диастолната дисфункция.

- **Миокардна исхемия:** Ролята ѝ за развитието на диастолна дисфункция е комплексна, като включва:

- **Нарушено генериране на енергия в кардиомиоцита.** Редуцираното доставяне на кислород

- **Humoral factors:** Angiotensin II activates AT1 receptors and stimulates the TGF- β /SMAD signaling pathway, leading to the development of fibrosis. Activation of the MAPK and JAK/STAT signaling pathways also contributes to the development of myocardial hypertrophy and fibrosis. Aldosterone increases the activity of lysyl oxidase (LOX) [25], resulting in greater collagen cross-linking and increased myocardial stiffness. It also activates mineralocorticoid receptors in cardiomyocytes and fibroblasts, thus favoring hypertrophy and fibrosis. Catecholamines (via β -adrenergic receptors) activate PKA and CaMKII. As a result, calcium ions enter the cell and myocardial energy requirements increase. In chronic β -adrenergic stimulation, these mechanisms lead to calcium dysregulation, oxidative stress, and induction of apoptosis, contributing to the progression of diastolic dysfunction.

- **Myocardial ischemia:** Its role in the development of diastolic dysfunction is complex, including:

- **Impaired energy generation in the cardiomyocyte.** Reduced oxygen delivery leads to de-

води до намаляване на синтеза на АТФ в митохондриите. Недостигът на АТФ компрометира активността на SERCA2a и Ca²⁺-АТФаза в сарколемата с резултат повишаване на диастолното ниво на Ca²⁺ в цитозола (калциево обременяване на клетките).

– **Нарушена клетъчна Ca²⁺ динамика.** Калциево обременяване на миоцитите е причина за забавена дисоциация на Ca²⁺ от тропонин С, вследствие на което клетката изпада в състояние на *контрактура*.

– **Оксидативен стрес и митохондриална дисфункция.** Т.нар. *low-flow ischemia* и особено реперфузията след временно прекъсване на кръвотока водят до изразено повишаване на нивата на ROS [29, 30]. ROS предизвикват S-нитрозилиране и окисление на критични сулфхидрилни групи в рианодиновите рецептори (RyR2) [31, 32]. Резултатът е спонтанен диастолен ефлукс на Ca²⁺ от SR, повишаване на цитоплазменото Ca²⁺ ниво и нарушаване на релаксацията. ROS индуцират окислителни модификации и нитрозилиране на PLB, които намаляват неговата способност да се фосфорилира от PKA/PKG. В нефосфорилирано състояние PLB инхибира SERCA2a.

– **Ацидоза** [33, 34]. Допълнително, натрупването на лактат и протони води до вътреклетъчна ацидоза, която променя чувствителността на контрактилните протеини към Ca²⁺ и потиска релаксацията. Ацидозата също така инхибира Na⁺/K⁺-АТФаза, което нарушава йонния баланс и увеличава калциевото обременяване на клетките с участието на NCX.

– **Фиброза и ремоделиране на екстрацелуларния матрикс** [35-37]. Хроничната исхемия стимулира и фиброзното ремоделиране, медирано от активиране на TGF-β/SMAD и MAPK пътища в миофибробластите. В резултат на това нараства продукцията на колаген тип I и III и се увеличава пасивната ригидност на камерата.

• **Стрес на ендоплазмения ретикулум:** Хроничният стрес на ендоплазмения ретикулум може да доведе до неконтролирана клетъчна смърт и фиброза, в резултат на което се нарушава диастолната функция (вж. по-долу) [38-40].

• **Ендотелна дисфункция:** Тя (често свързана с фактори като хипертония, тютюнопушене, дислипидемия, захарен диабет) също е от значение за развитието на диастолната дисфункция. Ендотелните клетки регулират съдовия тонус и кръвотока чрез освобождаване на азотен оксид и други вазодилатори като простаглицин (PGI₂), кинини, ендотелен хиперполяризиращ фактор (EDHF). При ендотелна дисфункция намалява продукцията на NO и се увеличава образуването на ендотелин-1, вследствие на което настъпват вазоконстрикция и повишено съдово съпротивление. Освен това ендотелната дисфункция може да доведе до нарушена

increased ATP synthesis in the mitochondria. ATP deficiency compromises the activity of SERCA2a and Ca²⁺-ATPase in the sarcolemma, resulting in an increase in diastolic Ca²⁺ levels in the cytosol (calcium overloading of the cells).

– **Impaired cellular Ca²⁺ dynamics.** Calcium overloading of myocytes causes a delayed dissociation of Ca²⁺ from troponin C, as a result of which the cell falls into a “contracture” state.

– **Oxidative stress and mitochondrial dysfunction.** *Low-flow ischemia* and especially reperfusion after temporary interruption of blood flow lead to a marked increase in ROS levels [29, 30]. ROS induce S-nitrosylation and oxidation of critical sulfhydryl groups in ryanodine receptors (RyR2) [31, 32]. The result is spontaneous diastolic Ca²⁺ efflux from the SR, an increase in cytoplasmic Ca²⁺ level, and impaired relaxation. ROS induce oxidative modifications and nitrosylation of PLB, which reduce its ability to be phosphorylated by PKA/PKG. In the unphosphorylated state, PLB inhibits SERCA2a.

– **Acidosis** [33,34]. Additionally, the accumulation of lactate and protons leads to intracellular acidosis, which alters the Ca²⁺ sensitivity of the contractile proteins and inhibits relaxation. Acidosis also inhibits Na⁺/K⁺-ATPase, which disturbs ion balance and increases cell calcium load with the participation of NCX.

– **Fibrosis and remodeling of the extracellular matrix** [35-37]. Chronic ischemia also stimulates fibrotic remodeling through activation of TGF-β/SMAD and MAPK pathways in myofibroblasts. As a result, the production of collagen types I and III activates and passive stiffness of the chamber increases.

• **Endoplasmic reticulum stress:** Chronic endoplasmic reticulum stress can lead to uncontrolled cell death and fibrosis, resulting in impaired diastolic function (see below) [38-40].

• **Endothelial dysfunction:** Endothelial dysfunction (often associated with factors such as hypertension, smoking, dyslipidemia, diabetes mellitus) is also important in the development of diastolic dysfunction. Endothelial cells regulate vascular tone and blood flow by releasing nitric oxide and other vasodilators such as prostacyclin (PGI₂), kinins, endothelial hyperpolarizing factor (EDHF). In endothelial dysfunction, NO production is decreased and endothelin-1 production is increased, resulting in vasoconstriction and increased vascular resistance. In addition, endothelial dysfunction can lead to impaired angiogenesis and reduction of

ангиогенеза и капилярна редукция. Това допълнително влошава сърдечната функция [41]. Активира се сигналният път RhoA/ROCK, което води до повишаване на чувствителността на миозина към Ca^{2+} , с повишаване на контрактилитета и стимулиране на фиброзното ремоделиране [42, 43].

• **Оксидативен стрес и митохондриална дисфункция:** Оксидативният стрес е един от основните елементи в развитието на диастолната дисфункция. Повишеното образуване на ROS води до [44-46]:

- увреждане на митохондриални мембрани и нарушен синтез на АТФ;
- S-нитрозилиране/нитриране и оксидиране на SERCA2a, титин и други протеини;
- активиране на NF-κB и повишена експресия на TNF-α, IL-1β и IL-6.

Митохондриалната дисфункция е свързана с нарушена биогенеза на митохондриите, контролирана от PGC-1α, и с дисфункция на електронно-отранспортната верига. Освен това при високи нива ROS активират JNK и p38 MAPK, стимулиращи апоптозата и ремоделирането [47].

• **Възпаление, имунна реакция, роля на цитокините:** Хроничното възпаление е характерно за редица състояния, водещи до диастолна дисфункция. Макрофаги и Т-лимфоцити инфилтрират миокарда и освобождават цитокини, като [48-51]:

- IL-6 и TNF-α, стимулиращи хипертрофия и фиброза;
- IL-1β, активиращ MMP и модифициращ ремоделирането на ECM;
- TGF-β, трансформиращ фибробластите в миофибробласти.

NF-κB е основен транскрипционен регулатор, който се активира от ROS, AGE и механично напрежение и поддържа хроничното възпаление.

• **Фиброза и хипертрофия на миокарда:** В много случаи диастолната дисфункция е свързана със структурни промени в миокарда като фиброза и хипертрофия. Фиброзата е натрупване на коллаген и други елементи на екстрацелуларния матрикс, намаляващи къмплайънса на миокарда. Този процес се медуира от фибробластите и е стимулиран от биохимични фактори като ангиотензин II, трансформиращ растежен фактор-бета и ендотелин-1. Хипертрофията на миокарда, развиваща се като адаптивен отговор към повишено хемодинамично натоварване, се отразява както на релаксацията, така и на ригидността на миокарда. Развитието на миокардната хипертрофия и фиброза се осъществява по следния основен механизъм [52-55]:

- механичното напрежение активира т.нар. stretch-activated каналчета и интегрини, които предават сигнала към цитоскелета и ядрените транскрипционни фактори;

the capillary bed, which further worsens cardiac function [41]. The RhoA/ROCK signaling pathway is activated, resulting in increased myosin sensitivity to Ca^{2+} with increased contractility and stimulation of fibrous remodeling [42, 43].

• **Oxidative stress and mitochondrial dysfunction:** Oxidative stress is one of the main factors in the development of diastolic dysfunction. Increased ROS formation leads to [44-46]:

- damage to mitochondrial membranes and impaired ATP synthesis,
- S-nitrosylation/nitration and oxidation of SERCA2a, titin and other proteins,
- activation of NF-κB and increased expression of TNF-α, IL-1β, and IL-6.

Mitochondrial dysfunction is associated with impaired mitochondrial biogenesis, controlled by PGC-1α, and dysfunction of the electron transport chain. In addition, at high levels, ROS activate JNK and p38 MAPK, promoting apoptosis and remodeling [47].

• **Inflammation, immune response, role of cytokines:** Chronic inflammation is characteristic of a number of conditions leading to diastolic dysfunction. Macrophages and T-lymphocytes infiltrate the myocardium and release cytokines, such as [48-51]:

- IL-6 and TNF-α, stimulating hypertrophy and fibrosis,
- IL-1β, activating MMPs and modifying ECM remodeling,
- TGF-β, transforming fibroblasts into myofibroblasts.

NF-κB is a main regulator of transcription that is activated by ROS, AGEs, and mechanical stress, and maintains chronic inflammation.

• **Myocardial fibrosis and hypertrophy:** In many cases, diastolic dysfunction is associated with structural changes in the myocardium, such as fibrosis and hypertrophy. Fibrosis represents the accumulation of collagen and other extracellular matrix components, reducing myocardial compliance. This process is mediated by fibroblasts and is stimulated by biochemical factors such as angiotensin II, transforming growth factor-beta, and endothelin-1. Myocardial hypertrophy, which develops as an adaptive response to increased hemodynamic stress, affects both relaxation and stiffness of the myocardium. The development of myocardial hypertrophy and fibrosis occurs through the following basic mechanism [52-55]:

- mechanical stress activates the stretch-activated channels and integrins, which transmit the signal to the cytoskeleton and nuclear transcription factors;

– MAPK (ERK1/2, JNK, p38) каскадите индуцират експресия на гени, свързани с хипертрофия и фиброза;

– JAK/STAT пътят се активира от цитокини и ангиотензин II и стимулира пролиферацията на фибробласти, като Wnt/ β -катенин сигналният път също е от значение за активирането на миофибробластите.

• **Метаболитни нарушения:** Инсулиновата резистентност и хипергликемията при захарен диабет и обезитет са свързани с образуване на т.нар. advanced glycation end products (AGE), свързващи кръстосано колагена и повишаващи миокардната ригидност [56, 57]. AGE взаимодействат с RAGE рецептори, активират NF- κ B и MAPK пътища, което усилва възпалението и фиброзата. Адипокини като лептин и резистин стимулират фиброзата чрез сигналните пътища на JAK/STAT и MAPK, докато адипонектинът има защитна антифиброзна роля [58-61]. Нивата му при обезитет са понижени.

Протеинова дисфункция и връзката ѝ с диастолната дисфункция

Нарушенията в синтеза, оформянето на пространствена структура, модификацията и разграждането на миокардните протеини оказват съществено влияние върху структурата и функцията на сърдечния мускул. Когато тези процеси са нарушени, се достига до влошаване на релаксацията и повишаване на ригидността на миокарда, затрудняващо диастолното пълнене.

Нарушения в синтеза и оформянето на пространствена структура на протеини

• **Стрес на ендоплазмения ретикулум (ER):** При претоварване или исхемия, натрупването на неправилно структурирани протеини активира т.нар. *unfolded protein response* (UPR). Активират се PERK, IRE1 и ATF6 с резултат – транскрипция на т.нар. *протеини-придружители* (BiP/GRP78, HSP70) [62, 63]. При хронична активация UPR преминава от адаптивна в проапоптотична програма, което намалява броя на функционалните кардиомиоцити. Това води до структурни дефекти в миофиламентите и до нарушаване на диастолната функция.

Нарушения в посттранслационните модификации на структурните протеини

• **Титин** [18-20, 64]:

– **хипофосфорилиране на титин** (при намалено PKA и PKG предаване на сигнали), водещо до повишаване на ригидността;

– **оксидативни модификации** с резултат промяна на вискоеластичността.

• **Миозин-свързващ протеин С (MyBP-C).** Фосфорилирането му от PKA регулира кинетиката на напречните мостчета, като при хипофосфорилиране е налице по-бавно отделяне на миозина от актина [65, 66].

– MAPK (ERK1/2, JNK, p38) cascades induce expression of genes associated with hypertrophy and fibrosis;

– the JAK/STAT pathway is activated by cytokines and angiotensin II and stimulates fibroblast proliferation; and the Wnt/ β -catenin signaling pathway is also important for the activation of myofibroblasts.

• **Metabolic disorders:** Insulin resistance and hyperglycemia in diabetes mellitus and obesity are associated with the formation of advanced glycation end products (AGE), which cross-link collagen and increase myocardial stiffness [56, 57]. AGEs interact with RAGE receptors, activating NF- κ B and MAPK pathways, which enhances inflammation and fibrosis. Adipokines such as leptin and resistin promote fibrosis through the JAK/STAT and MAPK signaling pathways, while adiponectin has a protective anti-fibrotic role [58-61]. Its levels are reduced in obesity.

Protein dysfunction and its relation to diastolic dysfunction

Disturbances in the synthesis, structure formation, modification, and degradation of myocardial proteins have a significant impact on the structure and function of the heart muscle. When these processes are impaired, relaxation deteriorates and myocardial stiffness increases, hindering diastolic filling.

Disorders in the synthesis and formation of the spatial structure of proteins

• **Endoplasmic reticulum (ER) stress:** In overload or ischemia, the accumulation of misfolded proteins activates the *unfolded protein response* (UPR). PERK, IRE1 and ATF6 are activated, resulting in transcription of *chaperone proteins* (BiP/GRP78, HSP70) [62, 63]. Upon chronic activation, the UPR switches from an adaptive to a proapoptotic program, which reduces the number of functional cardiomyocytes. This leads to structural defects in myofilaments and impaired diastolic function.

Disorders in post-translational modifications of structural proteins

• **Titin** [18-20, 64]:

– **Titin hypophosphorylation** (with reduced PKA and PKG signaling), leading to increased stiffness.

– **Oxidative modifications** resulting in a change in viscoelasticity.

• **Myosin-binding protein C (MyBP-C).** Its phosphorylation by PKA regulates the kinetics of cross-bridges, with hypophosphorylation resulting in slower separation of myosin from actin [65, 66].

Нарушения в разграждането и протеолизата

• **Убиквитин-протеазомната система (UPS)** е основният механизъм за разграждане на увредени протеини. Протеазомната функция е от критично значение за поддържането на сърдечната структура, а нарушението ѝ е свързано с патологични промени [67, 68]. При диастолна дисфункция се установява намалена протеазомна активност, което води до натрупване на полиубиквитинирани и непълноценни протеини. Активирането на E3-лигази (напр. MuRF1, атрогин-1) регулира разграждането на саркомерни протеини [69]. Увеличената експресия на атрогин-1 и MuRF1 предотвратява хипертрофията, индуцирана от агенти като фенилефрин и ендотелин-1 [70]. Атрогин-1 инхибира свързаната с остаряването сърдечна фиброза, вероятно чрез регулиране на активността на MMP-8 и MMP-9 [71].

• **Автофагия** – основен клетъчен процес, поддържащ хомеостазата чрез разграждане на белтъци, увредени органели и митохондрии [72, 73]. При хроничен стрес автофагията може да е прекомерно активирана или потисната, което води до натрупване на токсични протеинови агрегати.

• **Калпаини и каспази** – калций-зависими протеази. При Ca^{2+} обременяване на клетките калпаините се активират и целенасочено разграждат основни саркомерни протеини като тропонин I и титин, което нарушава структурната цялост и модифицира ригидността на миокарда [74, 75]. Каспазите, активирани при апоптотични сигнали, участват в разграждането на структурни и регулаторни белтъци, което задълбочава клетъчната дисфункция и загубата на функционални кардиомиоцити.

Абнормни натрупвания в миокарда

• **Амилоидоза** [76]. Отлагането на амилоидни протеини в интерстициума води до значително повишаване на миокардната ригидност.

• **Болест на Фабри** [77]. Характеризира се с натрупване на липидни субстрати (като Gb3 и lysoGb3) в лизозомите на миоцитите и ендотелните клетки, което води до лизозомна дисфункция, възпаление, оксидативен стрес и ремоделиране на ЕСМ, способстващо за повишена диастолна ригидност.

Мутации на гени за протеини на саркомерите

Мутации в гени за β -миозиновите тежки вериги (MYH7), тропонин T, тропонин I, титин и др. са причина за повишена чувствителност към Ca^{2+} , нарушена кинетика на актомиозиновите „мостчета“ и нарушена релаксация [78].

Молекулни сигнални каскади, свързани с протеинова дисфункция

• **NF- κ B**. Активира се при протеинова агрегация и оксидативен стрес, усилва възпалението и ремоделирането [79, 80].

Degradation and proteolysis disorders

• **The ubiquitin-proteasome system (UPS)** is the main mechanism for the degradation of damaged proteins. Proteasome function is of critical importance for the maintenance of the heart structure, and its disturbance is associated with pathological changes [67, 68]. In diastolic dysfunction, reduced proteasome activity is found, leading to the accumulation of polyubiquitinated and defective proteins. Activation of E3-ligases (e.g. MuRF1, atrogin-1) regulates the degradation of sarcomeric proteins [69]. Increased expression of atrogin-1 and MuRF1 prevents hypertrophy induced by agents such as phenylephrine and endothelin-1 [70]. Atrogin-1 inhibits aging-related cardiac fibrosis, possibly by regulating the activity of MMP-8 and MMP-9 [71].

• **Autophagy** – a basic cellular process that maintains homeostasis by degrading proteins, damaged organelles and mitochondria [72, 73]. Under chronic stress, autophagy can be overactivated or suppressed, leading to the accumulation of toxic protein aggregates.

• **Calpains and caspases** – calcium-dependent proteases. When cells are overloaded with Ca^{2+} , calpains are activated and degrade key sarcomeric proteins such as troponin I and titin, disturbing structural integrity and modifying myocardial rigidity [74, 75]. Caspases activated upon apoptotic signals are involved in the degradation of structural and regulatory proteins, which exacerbates cellular dysfunction and loss of functional cardiomyocytes.

Abnormal depositions in myocardium

• **Amyloidosis** [76]. The deposition of amyloid proteins in the interstitium results in a significant increase in myocardial stiffness.

• **Fabry disease** [77]. It is characterized by accumulation of lipid substrates (such as Gb3 and lysoGb3) in the lysosomes of myocytes and endothelial cells, leading to lysosomal dysfunction, inflammation, oxidative stress and ECM remodeling contributing to increased diastolic stiffness.

Mutations in genes for sarcomere proteins

Mutations in genes encoding β -myosin heavy chains (MYH7), troponin T, troponin I, titin, etc. result in increased Ca^{2+} sensitivity, impaired actomyosin cross-bridge kinetics and abnormal relaxation [78].

Molecular signaling cascades associated with protein dysfunction

• **NF- κ B**. It is activated upon protein aggregation and oxidative stress, enhancing inflammation and remodeling [79,80].

- **mTOR.** Инхибира автофагията, водейки до натрупване на патологични протеини [81].
- **AMPK.** Активира автофагията и разрушаването на протеини [82]. Дефицитът му при диабет и затлъстяване влошава протеиновата дисфункция.
- **CaMKII.** При нарушена Ca^{2+} регулация стимулира протеолизата и модифицирането на протеини на миофиламентите.

ДИАГНОСТИКА НА ДИАСТОЛНАТА ДИСФУНКЦИЯ

Оценката на диастолната функция трябва да се предшества от преценка за наличие на рискови фактори за ДД, за структурни сърдечни промени и ЛК систолна дисфункция [83]. Диастолната дисфункция може да се диагностицира както при инвазивно изследване, така и с използване на неинвазивни методи.

Инвазивна оценка

Инвазивната оценка на левокамерната диастолна функция включва няколко основни показателя – времева константа на ЛК релаксация, налягане на ЛК пълнене и константа на ригидност на ЛК кухина.

Времева константа на ЛК релаксация (τ) [84, 85]. Времевата константа на релаксация е времето, за което налягането в ЛК намалява $1/e$ или $1/2$ пъти, като „e“ е основата на натуралния логаритъм. Факторът $1/e$ се използва в случаите, когато налягането се понижава експоненциално, а факторът $1/2$ – при неекспоненциално понижаване [86]. Тау-константата може да бъде изчислена въз основа на данните от манометрия в ЛК, като $\tau = -P/(dP/dt)$. Определя се от стойностите на ЛК налягане с начало в момента на пиковото $-dP/dt_{min}$ и край в момента, когато налягането се понижава до нивото на теледиастолното налягане по време на предшестващия сърдечен цикъл [86]. При здрави възрастни горната граница на нормата на τ -константата е 48 ms [87].

Налягане на левокамерно пълнене. То може да се дефинира като налягането, необходимо за напълване на ЛК до нормалния ѝ размер [88]. Няколко налягания, измервани при инвазивно изследване, отразяват налягането на ЛК пълнене [89]. Такива са средното ЛК диастолно налягане [90], налягането непосредствено преди началото на А-вълната (пре-А налягане) [91, 92], левокамерното теледиастолно налягане [93], средното левопредсърдно налягане [90], клиненото пулмокапиллярно налягане [94].

Константа на ригидност на ЛК кухина [95]. Константата на ригидност на кухината „ β “ е показател, определян въз основа на връзката между теледиастолното камерно налягане и обем (end-diastolic pressure-volume relationship – EDPVR) [96].

• **mTOR.** Inhibits autophagy, leading to the accumulation of abnormal proteins [81].

• **AMPK.** Activates autophagy and protein degradation [82]. Its deficiency in diabetes and obesity worsens protein dysfunction.

• **CaMKII.** In Ca^{2+} dysregulation, it stimulates proteolysis and modification of myofilament proteins.

DIASTOLIC DYSFUNCTION DIAGNOSIS

Diastolic function evaluation should be preceded by an assessment for the presence of risk factors for DD, structural cardiac changes, and LV systolic dysfunction [83]. It can be diagnosed both by invasive and non-invasive methods.

Invasive assessment

Invasive assessment of left ventricular diastolic function includes following main parameters – time constant of LV relaxation, LV filling pressure, and LV chamber stiffness constant.

LV relaxation time constant during the isovolumic relaxation period (τ) [84, 85]. The relaxation time constant represents the time required for LV pressure to fall by $1/e$ or by $1/2$, where “e” is the base of the natural logarithm. The factor $1/e$ is used when pressure decreases exponentially, whereas the factor $1/2$ is used when pressure decreases non-exponentially [86]. Tau constant can be calculated from LV manometry data, as $\tau = -P/(dP/dt)$. It is determined from the values of LV pressure starting at the moment of peak $-dP/dt_{min}$ and ending at the moment when the pressure decreases to the level of the end-diastolic pressure during the previous cardiac cycle [86]. In healthy adults, the upper limit of Tau constant normal values is 48 ms [87].

Left ventricular filling pressure. It can be defined as the pressure required to fill the LV to its normal size [88]. Several pressures measured during invasive study reflect LV filling pressure [89]. These include the mean LV diastolic pressure [90], the pressure immediately before the onset of the A-wave (pre-A pressure) [91, 92], the left ventricular end-diastolic pressure [93], the mean left atrial pressure [90], and the pulmonary capillary wedge pressure [94].

LV chamber stiffness constant [95]. The chamber stiffness constant “ β ” is a measure of the end-diastolic pressure-volume relationship (EDPVR) [96].

Константата се получава при анализ на бримката *налягане-обем* при променящо се преднатоварване. ЛК ригидност се приема за повишена при $\beta \geq 0.015 \text{ ml}^{-1}$ при симптомни пациенти независимо от нормалната фракция на изтласкване [97].

Ехокардиография

При ехокардиографската оценка за диастолна дисфункция се използват показатели от пулсов доплер, тъканен доплер, както и левопредсърдни показатели [89, 98-100]:

- **Пулсов доплер** (трансмитрален диастолен кръвоток)
 - отношение „E/A“
 - време на изоволуметрична релаксация (isovolumic relaxation time – IVRT)
 - време на децелерация (deceleration time DT).
- **Пулсов тъканен доплер**
 - e' скорост (в септалната и латералната ануларна зона, като и осреднено от двете зони);
 - отношение „E/e'“ (за оценка на налягането на левокамерно пълнене).
- **Ляво предсърдие (left atrium – LA)**
 - индексирани ЛП обем (left atrial volume index – LAVi);
 - ЛП стрейн (LA strain);
 - √ LARS (left atrial reservoir strain) е показател за къмплайънса на ЛП, корелиращ с PCWP, средното ЛП налягане, ЛК пре-А налягане и средното ЛК диастолно налягане;
 - √ LACS (left atrial conduit strain), отразяващ левокамерната релаксация;
 - √ LASct (left atrial contractile strain), корелиращ с левокамерното теледиастолно налягане.
- **Скорост на струята на трикуспидална регургитация** (tricuspid regurgitation velocity – TRV), отразяваща нивото на деснокамерното и белодробното артериално налягане.

Ехокардиографска оценка на инвазивно отчитаните показатели на диастолната функция

Изчисляване на τ -константата на ЛК релаксация от ЕхоКГ изследване. Предложени са методи за изчисляване/оценка на τ -константата от доплеровия спектър на митрална (cw Doppler) [101] и аортна регургитация (cw Doppler) [102], от pw доплер на трансмитралния кръвоток [103], М-мод цветен доплер на кръвотока [104], speckle tracking ехокардиография [105].

Оценка на налягането на ЛК пълнене. При ЕхоКГ оценка на налягането на ЛК пълнене обикновено се използва отношението E/e'. За изчисляването/преценката му са предложени формули, валидирани при инвазивни изследвания: PCWP = 1.91 + (1.24 × E/e') (Nagueh), PCWP = 1.55 + (1.47 × E/e')

The constant is obtained by analysing the pressure-volume loop under varying preload. LV stiffness is considered to be increased when $\beta \geq 0.015 \text{ ml}^{-1}$ in symptomatic patients regardless of normal ejection fraction [97].

Echocardiography

In echocardiographic assessment of diastolic dysfunction, pw Doppler, tissue Doppler, and left atrial indices are used [89, 98-100]:

- **Pulsed wave Doppler** (mitral diastolic blood flow)
 - E/A ratio
 - Isovolumic relaxation time (IVRT)
 - Deceleration time (DT)
- **Pulsed tissue Doppler**
 - e' velocity (in septal and lateral mitral annulus, as well as averaged)
 - E/e' ratio (for left ventricular filling pressure assessment)
- **Left atrium (LA)**
 - LA volume index (LAVi, left atrial volume index)
 - LA strain
 - √ LARS (left atrial reservoir strain), an indicator of left atrial compliance, which correlates with PCWP, mean left atrial pressure, left ventricular pre-A pressure, and mean left ventricular diastolic pressure
 - √ LACS (left atrial conduit strain), reflecting left ventricular relaxation
 - √ LASct (left atrial contractile strain), correlating with left ventricular end-diastolic pressure.
- **Tricuspid regurgitation velocity** (TRV), reflecting the level of right ventricular and pulmonary artery pressure.

Echocardiographic correlates of invasive indices of diastolic function

Calculation of the τ -constant of LV relaxation from echocardiographic examination. Methods have been proposed for calculation/estimation of the τ -constant of LV relaxation by the cw Doppler spectrum of mitral [101] and aortic regurgitation [102], by mitral blood flow pw Doppler [103], M-mode color Doppler of blood flow [104], speckle tracking echocardiography [105].

Estimation of LV filling pressure. In the echocardiographic assessment of LV filling pressure, the E/e' ratio is usually used. For its calculation/estimation, formulas validated in invasive studies have been proposed: PCWP = 1.91 + (1.24 × E/e') (Nagueh), PCWP = 1.55 + (1.47 × E/e') in sinus tachycardia (Na-

при синусова тахикардия (Nagueh), PCWP = $2 + (1.3 \times E/e')$ за практически цели (Nagueh), PCWP = $5.27 \times (E/Vp) + 4.6$, базирана на отношението *ранна диастолна скорост на трансмитралния кръвоток/ скорост на вътрекамерно разпространение на кръвотока* (Garcia), $(E + LAVi)/2$ и $(PAP + LAVi)/2$ – комбинирани индекси, използващи ЛП обем, Е-вълната и пулмоналното налягане (Dokainish), PCWP = $4.5 \times (1000/[2 \times IVRT + Vp]) - 9$ – метод, комбиниращ времето на изоволуметрична релаксация и скоростта на разпространение на потока (Gonzalez-Vilchez), PCWP = $0.9 \times$ систолно налягане в аортата $\times e^{-IVRT/(TE-Ea)}$, базирано на времевата константа на релаксация, получена от интервала между началото на Е-скоростта на митралния кръвоток и началото на е'-скоростта (Rivas-Götz) [106].

Алгоритъмът за преценка за повишено ЛП налягане по ASE (2025 г.) е даден по-долу в текста.

Константа на ригидността на ЛК кухина. За оценка на ригидността на ЛК кухина могат да се използват показатели като: 1) отношение E/e' към левокамерен теледиастолен обем ($E/e'/\text{ЛКТДО}$); 2) отношение E/SRe (ранен диастолен strain rate)/ЛКТДО [107].

Оценка за наличие на диастолна дисфункция. По препоръките на American Society of Echocardiography (ASE) от 2025 г. оценката за наличие на диастолна дисфункция се извършва в няколко стъпки [89]:

Стъпка 1: Оценка на е'-скоростта, отразяваща левокамерната релаксация

- е' в септалната зона ≤ 6 cm/s или
- е' в латералната зона ≤ 7 cm/s или
- осреднена е'-скорост ≤ 6.5 cm/s.

Стъпка 2: Оценка на показателите за ремоделиране и повишено налягане в лявото предсърдие

- $E/e' > 14$ (осреднена е'-скорост от латералната и медиалната зона);
- LARS $\leq 18\%$;
- $E/A \leq 0.8$ или ≥ 2 ;
- LAVi > 34 ml/m².

При оценката на тези показатели диастолна дисфункция е налице, когато: 1) е'-скоростта е понижена и един или повече от показателите от стъпка 2 са положителни или 2) е'-скоростта е запазена, но ≥ 2 от показателите от стъпка 2 са положителни [89].

Е' скорост. Трябва да се има предвид, че нормите за ранната диастолна скорост е' от pwTDI в различните възрастови групи не са еднакви. Дадените по-горе стойности на е' за оценка за наличие на диастолна дисфункция са патологични във всички възрастови групи. По-долу са представени стойностите, използвани за диагностициране на нарушена ЛК релаксация според възрастовата група [89]:

20 до 39 години

- е' септално < 7 cm/s

gueh), PCWP = $2 + (1.3 \times E/e')$ for practical purposes (Nagueh), PCWP = $5.27 \times (E/Vp) + 4.6$, based on the ratio of early *diastolic transmitral blood flow velocity to intraventricular blood flow propagation velocity* (Garcia), $(E + LAVi)/2$ and $(PAP + LAVi)/2$ – combined indices using left atrial volume, E-wave and pulmonary pressure (Dokainish), PCWP = $4.5 \times (1000/[2 \times IVRT + Vp]) - 9$ – method combining isovolumetric relaxation time and flow propagation velocity (Gonzalez-Vilchez), PCWP = $0.9 \times$ aortic systolic pressure $\times e^{-IVRT/(TE-Ea)}$, based on the relaxation time constant obtained from the interval between the onset of the mitral blood flow E-velocity and the onset of the e'-velocity (Rivas-Götz) [106].

The algorithm for assessing elevated left atrial pressure according to ASE (2025) is presented below in text.

LV Chamber Stiffness Constant. Surrogate indices of chamber stiffness such as E/e' to left ventricular end-diastolic volume ratio ($E/e'/LVEDV$) and E/SRe (early diastolic strain rate)/LVEDV ratio can be used [107].

According to the American Society of Echocardiography (ASE) Guidelines from 2025, the assessment for the presence of diastolic dysfunction is carried out as follows [89]:

Step 1: Assessment of the e' velocity, reflecting left ventricular relaxation

- Septal e' ≤ 6 cm/s or
- Lateral e' ≤ 7 cm/s or
- Averaged e' ≤ 6.5 cm/s.

Step 2: Evaluation of indices of remodeling and increased pressure in the left atrium

- $E/e' > 14$ (averaged e' velocity from the lateral and medial zones)
- LARS $\leq 18\%$
- $E/A \leq 0.8$ or ≥ 2
- LAVi > 34 ml/m² ¶

When evaluating these parameters, diastolic dysfunction is present when: (1) e' velocity is reduced and one or more of the indices from “step 2” are positive, or (2) e' velocity is preserved, but two or more of the indices from “step 2” are positive [89].

E' velocity. It should be kept in mind that the norms for early diastolic velocity e' from pwTDI in different age groups are not the same. The values of e' given above for assessing the presence of diastolic dysfunction are abnormal in all age groups. Below are the values used to diagnose impaired LV relaxation according to age group [89]:

Twenty to 39 years

- e' septal < 7 cm/s

- e' латерално < 10 cm/s
- e' (осреднена) < 9 cm/s.

40 до 65 години

- e' септално < 6 cm/s
- e' латерално < 8 cm/s
- e' (осреднена) < 7 cm/s.

Над 65 години

- e' септално < 6 cm/s
- e' латерално < 7 cm/s
- e' (осреднена) < 6.5 cm/s.

E/A-отношение. Отношението „E/A“ също показва връзка с възрастта, като намалява значимо с напредването ѝ [108, 109]. По данни на Carvalho и сътр. например във възрастовата група от 31 до 40 год. средното E/A-отношение е 1,5 (от 0.9 до 2.4, 5-ти–95-ти перцентил), докато във възрастта от 61 до 70 години то е 0.9 (от 0.6 до 1.6, 5-ти–95-ти перцентил) [108].

ТЕЖЕСТ НА ДИАСТОЛНАТА ДИСФУНКЦИЯ

Според своята тежест диастолната дисфункция се дели на 3 степени. По препоръките на ASE/EACVI от 2016 г. за класифицирането ѝ се използват показателите: отношение E/A на митралния кръвоток, осреднено отношение E/e', пикова скорост на струята на трикуспидална регургитация, индексирани ЛП обем (LAVi) [100]:

Степен 1

- Отношение E/A ≤ 0.8
- Осреднено E/e' < 10
- Пикова TRV < 2.8 m/s
- LAVi – в норма или увеличен.

Степен 2

- Отношение E/A > 0.8 до < 2.0
- Осреднено E/e' – от 10 до 14
- Пикова TRV > 2.8 m/s
- LAVi – увеличен.

Степен 3

- Отношение E/A > 2.0
- Осреднено E/e' > 14
- Пикова TRV > 2.8 m/s
- LAVi – увеличен

При липса на диастолна дисфункция и 4-те показателя са в норма, ЛК релаксация е запазена и ЛП налягане е с нормални стойности. При ДД 1 степен ЛК релаксация е нарушена, а налягането в ЛП обикновено е нормално в покой, като може да се повиши при натоварване. При ДД 2 и 3 степен ЛК релаксация е нарушена и ЛП налягане е повишено [100]. Препоръките на ASE/EACVI от 2016 г. са важна основа за преценката на тежестта на диастолната дисфункция, но използваните показатели са ограничени и в много случаи степента на дисфункцията остава неуточнена [110].

- e' lateral < 10 cm/s
- e' averaged < 9 cm/s.

Forty to 65 years

- e' septal < 6 cm/s
- e' lateral < 8 cm/s
- e' averaged < 7 cm/s.

Over 65 years

- e' septal < 6 cm/s
- e' lateral < 7 cm/s
- e' averaged < 6.5 cm/s.

E/A ratio. The E/A ratio also shows a relationship with age, decreasing significantly with advancing age [108, 109]. According to Carvalho et al., for example, in the age group from 31 to 40 years the average E/A ratio is 1.5 (from 0.9 to 2.4, 5th to 95th percentile), while in the age group from 61 to 70 years it is 0.9 (from 0.6 to 1.6, 5th to 95th percentile) [108].

SEVERITY OF DIASTOLIC DYSFUNCTION

Based on severity, diastolic dysfunction is divided into three grades. According to the 2016 ASE/EACVI Guidelines, the following indices are used for its classification: E/A ratio of mitral blood flow, E/e' averaged ratio, peak tricuspid regurgitation jet velocity, LA volume index [100]:

Grade 1

- E/A ratio ≤ 0.8
- E/e' (averaged) < 10
- Peak TRV < 2.8 m/s
- LAVi – normal or increased

Grade 2

- E/A ratio > 0.8 to < 2.0
- Average E/e' – from 10 to 14
- Peak TRV > 2.8 m/s
- LAVi – increased

Grade 3

- E/A ratio > 2.0
- Average E/e' > 14
- Peak TRV > 2.8 m/s
- LAVi – increased

In the absence of diastolic dysfunction, all four parameters are in normal range, LV relaxation is preserved, and LA pressure is normal. In grade 1 DD, LV relaxation is impaired, while LA pressure is usually normal at rest and may increase during exercise. In grade 2 and 3 DD, LV relaxation is impaired and LA pressure is elevated [100]. The 2016 ASE/EACVI Guidelines are an important basis for assessing the severity of diastolic dysfunction, but the parameters used are limited, and in many cases, the degree of dysfunction remains unspecified [110].

В издадените от ASE осъвременени *Указания за оценка на левокамерната диастолна функция чрез ехокардиография и диагностициране на сърдечната недостатъчност със запазена фракция на изтласкване* от 2025 г. се въвеждат по-широк набор показатели и нов алгоритъм за оценка на диастолната функция и ЛП налягане, вкл. ЛП стрейн. Разширяват се стари и се въвеждат нови препоръки за оценка при пациенти с комплексна патология – клапни сърдечни заболявания, трансплантирано сърце, пулмонална хипертония, проводни нарушения и електростимулация, рестриктивна кардиомиопатия, перикардна констрикция, хипертрофична кардиомиопатия, предсърдно мъждане [89]. Оценката на тежестта на дисфункцията в тези указания е фокусирана върху налягането на ЛК пълнене, левопредсърдното налягане и предсърдната функция (ЛП стрейн).

Базисен алгоритъм за оценка на диастолната функция и ЛП налягане по ASE, 2025 г.

Алгоритъмът може да се използва при пациенти в синусов ритъм, при които липсват високостепенна първична митрална инсуфициенция, митрална стеноза, независимо от нейната тежест, както и умерена или тежка калциноза на митралния пръстен, несърдечно обусловена пулмонална хипертония, перикардна констрикция. Алгоритъмът е неприложим и при пациенти със сърдечна трансплантация, ЛК assist device и осъществени коригиращи интервенции или протезиране на митралната клапа [89].

• Изходно оценявани показатели

- Понижена e' -скорост: септално ≤ 6 cm/s или латерално ≤ 7 cm/s, или средно ≤ 6.5 cm/s
- Повишено отношение E/e' : септално ≥ 15 или латерално ≥ 13 , или средно ≥ 14
- Повишени TRV ≥ 2.8 m/s или систолно пулмонално налягане ≥ 35 mmHg.

• Оценка

- И трите показателя са в норма → **нормално ЛП налягане (ЛПН), нормална диастолна функция;**
- Понижена е само e' -скоростта, а $E/A \leq 0.8$ → **нормално ЛПН, ДД 1 степен** (насочване на симптомните пациенти с ДД 1 степен за работна проба с оценка на диастолната функция);
- Понижена е само e' -скоростта, а $E/A > 0.8$ → **оценка за повишено ЛПН** (S/D на пулмоналния венозен кръвоток ≤ 0.67 или LARS $\leq 18\%$ или LAVi > 34 ml/m²; алтернативно – IVRT ≤ 70 ms). Ако ≥ 1 показател е налице → **повишено ЛПН.**
- От изходно оценяваните показатели са повишени единствено TRV/СПН (СПН – систолно пулмонално налягане) или единствено E/e' , или са абнормни 2 показателя → **оценка за повишено ЛПН.** Ако ≥ 1 показател е налице → **повишено ЛПН;**

The 2025 ASE update of Recommendations for the Evaluation of Left Ventricular Diastolic Function by Echocardiography and for Heart Failure with Preserved Ejection Fraction Diagnosis introduces a broader set of indicators and a new algorithm for assessing diastolic function and left atrial pressure, including LA strain. Old recommendations are expanded and new recommendations are introduced for the assessment of patients with complex pathology – valvular heart disease, transplanted heart, pulmonary hypertension, conduction disorders and pacing, restrictive cardiomyopathy, pericardial constriction, hypertrophic cardiomyopathy, atrial fibrillation [89]. The assessment of dysfunction severity in these guidelines focuses on LV filling pressure, left atrial pressure, and atrial function (LA strain).

Basic algorithm for assessing diastolic function and LA pressure according to ASE, 2025

The algorithm can be used in patients with sinus rhythm who do not have severe primary mitral regurgitation, mitral stenosis, regardless of its severity, as well as moderate or severe calcification of the mitral annulus, non-cardiac pulmonary hypertension, pericardial constriction. The algorithm is also not applicable in patients with heart transplantation, LV assist devices, or those who have undergone mitral valve reconstruction or replacement [89].

• Baseline assessed parameters

- Decreased e' velocity: septal ≤ 6 cm/s or lateral ≤ 7 cm/s, or average ≤ 6.5 cm/s
- Increased E/e' ratio: septal ≥ 15 or lateral ≥ 13 , or average ≥ 14
- Increased TRV ≥ 2.8 m/s or systolic pulmonary pressure ≥ 35 mmHg

• Assessment

- All three parameters are in normal range → **normal LA pressure, normal diastolic function.**
- Only the e' velocity is decreased, and $E/A \leq 0.8$ → **normal LA pressure, grade 1 DD** (refer symptomatic patients with grade 1 DD to a stress test with diastolic function assessment)
- Only the e' velocity is decreased, and $E/A > 0.8$ → **assessment for increased LA pressure** (pulmonary venous blood flow S/D ≤ 0.67 or LARS $\leq 18\%$, or LAVi > 34 ml/m²; alternatively – IVRT ≤ 70 ms). If ≥ 1 positive → **elevated LA pressure.**
- Of the baseline assessed parameters, only TRV/SPAP (SPAP, systolic pulmonary artery pressure) or only E/e' is increased, or two indicators are abnormal → **assessment for increased LA pressure.** If ≥ 1 positive → **elevated LA pressure.**
- Elevated LA pressure and $E/A < 2$ → **grade 2 DD (mildly/moderately elevated LA pressure)**

- Повишено ЛПН и $E/A < 2 \rightarrow$ **ДД 2 степен (леко/ умерено повишено ЛПН)**;
- Повишено ЛПН и $E/A \geq 2 \rightarrow$ **ДД 3 степен (изразено повишено ЛПН)**.

Магнитнорезонансна томография

Сърдечната магнитнорезонансна томография (cardiac magnetic resonance – CMR) дава възможност за точна количествена оценка на диастолното пълнене. От полза е при несигурен резултат от ЕхоКГ изследване. Основните изследвани показатели и методи за оценка на диастолната функция при CMR са:

- **Обемно-времени криви на лявата камера (LV volume-time curves)**. Измерват се чрез cine-SSFP последователности. От тях се извличат показателите: пикова скорост на пълнене (peak filling rate – PFR), време до пиковата скорост на пълнене (time to PFR – TPFR), нормализирана PFR (PFR/EDV) [111, 112]:

- **Пикова скорост на пълнене (PFR)**. Понижената PFR е показател за нарушена диастолна функция. PFR може да се изследва като *PFR_e* (ранна PFR, отразяваща ранната фаза на диастолата, обусловена от активната релаксация на лявата камера) и *PFR_a* (активна PFR, отразяваща късната фаза на диастолата по време на съкращението на лявото предсърдие) [113]. *PFR_e* съответства на E-вълната на трансмитралния кръвоток при доплер-ЕхоКГ, а *PFR_a* – на неговата A-вълна. По данни на Maceira и сътр. с напредването на възрастта се установява понижение на нормалната *PFR_e*, като същевременно нормално късната PFR се повишава [**мъже**: *PFR_e* (20-29 год.) – средно 759 ml/s, *PFR_e* (70-79 год.) – средно 296 ml/s; *PFR_a* (20-29 год.) – средно 260 ml/s, *PFR_a* (70-79 год.) – средно 486 ml/s; **жени**: *PFR_e* (20-29 год.) – средно 680 ml/s, *PFR_e* (70-79 год.) – средно 274 ml/s; *PFR_a* (20-29 год.) – средно 193 ml/s, *PFR_a* (70-79 год.) – средно 374 ml/s] [113].

- **Време до PFR (TPFR)** – интервал от края на систолата до пиковата ранна скорост на пълненето. Hieda и сътр. съобщават, че при пациенти със сърдечна недостатъчност със запазена фракция на изтласкване (СНзФИ) TPFR е 246 ± 17.2 ms, докато при здравите контроли то е 188 ± 15.7 ms ($P = 0.04$) [114].

- **Нормализиран PFR (PFR/EDV)** – съпоставя скоростта на пълнене с камерния обем. Установеният от Hieda и сътр. PFR/EDV при здрави лица е 3.59 ± 0.87 s⁻¹, докато при пациенти със СНзФИ резултатът е 2.68 ± 0.85 s⁻¹ ($P = 0.03$) [114].

- **Левопредсърден и левокамерен стрейн (feature tracking CMR)**. Изчисляват се левопредсърдният и левокамерният диастолен стрейн (strain) и strain rate [115-117].

- **Tagging MRI**. Може да се използва за оценка на миокардната деформация и диастолната функция [118-120].

- Elevated LA pressure and $E/A \geq 2 \rightarrow$ **grade 3 DD (severely elevated LA pressure)**

Magnetic resonance imaging

Cardiac magnetic resonance imaging (CMR) allows an accurate quantitative assessment of diastolic filling. It is useful in cases with uncertain results from echocardiography. The main studied indicators and methods for assessing diastolic function using CMR are:

- **Left ventricular volume–time curves**. They are measured using cine-SSFP sequences. The following indicators are derived: peak filling rate (PFR), time to peak filling rate (TPFR), normalized PFR (PFR/EDV) [111, 112]:

- **Peak filling rate (PFR)**. A decreased PFR is an indicator of impaired diastolic function. PFR can be studied as *PFR_e* (early PFR, reflecting the early phase of diastole, corresponding to the active relaxation of the left ventricle) and *PFR_a* (active PFR, reflecting the late phase of diastole during left atrial contraction) [113]. *PFR_e* corresponds to the E-wave of mitral blood flow by Doppler echocardiography, and *PFR_a* – to the A-wave. According to Maceira et al., with advancing age, a decrease in normal early PFR is found, while at the same time the normal late PFR increases [men: mean *PFR_e* (20-29 years) – 759 ml/s, mean *PFR_e* (70-79 years) – 296 ml/s; mean *PFR_a* (20-29 years) – 260 ml/s, mean *PFR_a* (70-79 years) – 486 ml/s; women: mean *PFR_e* (20-29 years) – 680 ml/s, mean *PFR_e* (70-79 years) – 274 ml/s; mean *PFR_a* (20-29 years) – 193 ml/s, mean *PFR_a* (70-79 years) – 374 ml/s] [113].

- **Time to PFR (TPFR)** – the interval from end-systole to peak early filling velocity. Hieda et al. reported that in patients with preserved ejection fraction (HFpEF) the TPFR was 246 ± 17.2 ms, while in healthy controls it was 188 ± 15.7 ms ($P = 0.04$) [114].

- **Normalized PFR (PFR/EDV)**. It represents filling velocity to ventricular volume ratio. Hieda et al. found PFR/EDV in healthy subjects to be 3.59 ± 0.87 s⁻¹, while in patients with HFpEF the result was 2.68 ± 0.85 s⁻¹ ($P = 0.03$) [114].

- **Left atrial and left ventricular strain (feature tracking CMR)**. Left atrial and left ventricular diastolic strain and strain rate are calculated [115-117].

- **Tagging MRI**. This method can be used to assess myocardial deformation and diastolic function [118-120].

- **Phase-contrast magnetic resonance imaging (PC-MRI)**. Provides information on both blood flow

• **Фазовоконтрастна магнитнорезонансна томография (PC-MRI).** Дава информация както за скоростта на кръвотока, така и за тъканните скорости [111, 118, 121]. Намира приложение при оценката на диастолното пълнене и кръвотока.

• **Индиректни белези**

– Увеличен обем на лявото предсърдие [122-124].
– Данни за миокардна фиброза, свързана с диастолна дисфункция (T1 картиране, даващо количествена оценка на характеристиките на миокардната тъкан; късно гадолиниеве усилване, позволяващо визуализиране на фокална миокардна фиброза) [125-127].

Компютърна томография

Компютърнотомографското (КТ) изследване по-рядко се използва за оценка на диастолната функция. То дава възможност за измерване на обемите на сърдечните кухини и оценка на промяната им във времето, като по такъв начин позволява неинвазивна оценка на диастолната функция на лявата камера. При КТ изследване е възможно изчисляване на трансмитралния кръвоток въз основа на промяната на ЛК обем между две последователни фази от сърдечния цикъл, като също така е възможна оценката на максималния ранен (E) и късен (A) трансмитрален кръвоток [128]. По данни на Boogers и сътр. точността на КТ при диагностицирането на диастолната дисфункция е 79% [128]. КТ може да се използва като допълнително средство при затруднена ЕхоКГ оценка и невъзможност за съществуване на CMR.

Радиоизотопна вентрикулография

Тя се използва много рядко за оценка на диастолната функция. Някои от ограниченията ѝ са по-ниската пространствена и времева резолюция в сравнение с методи като CMR, както и излагането на йонизираща радиация. Получаваните с използване на този метод данни корелират с ехокардиографските показатели за диастолна дисфункция (като E/A и E/e') и могат да се използват в случаи, когато ехокардиографското изследване е технически затруднено или невъзможно [129].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Левокамерната диастолна дисфункция е резултат от нарушения в калциевата хомеостаза, митохондриалната функция, ригидността на титина и ремоделирането на екстрацелуларния матрикс. В развитието ѝ участват фактори като левокамерна хипертрофия, миокардна исхемия, оксидативен стрес, възпалителни процеси, нарушения в про-

velocity and tissue velocities [111, 118, 121]. It is useful in assessing diastolic filling and blood flow.

• **Indirect signs**

– Increased left atrial volume [122-124].
– Evidence of myocardial fibrosis associated with diastolic dysfunction (T1 mapping, providing a quantitative assessment of myocardial tissue characteristics; late gadolinium enhancement, allowing visualization of focal myocardial fibrosis) [125-127].

Computed tomography

Computed tomography (CT) is less commonly used to assess diastolic function. It allows measurement of the volumes of the heart chambers and assessment of their change over time, thus allowing non-invasive evaluation of the left ventricular diastolic function. By CT examination, it is possible to calculate the mitral blood flow based on the change in left ventricular volume between two consecutive phases of the cardiac cycle, and it is also possible to assess the maximum early (E) and late (A) mitral blood flow [128]. According to Boogers et al., the accuracy of CT in diagnosing diastolic dysfunction is 79% [128]. CT can be used as an auxiliary tool when echocardiographic assessment is difficult and CMR is not feasible.

Radioisotope ventriculography

It is rarely used to assess diastolic function. Some of its limitations include lower spatial and temporal resolution compared to methods such as CMR and exposure to ionizing radiation. The data obtained using this method correlate with echocardiographic indices of diastolic dysfunction (such as E/A and E/e') and can be used in cases where echocardiographic examination is technically difficult or impossible [129].

CONCLUSION

Left ventricular diastolic dysfunction results from disturbances in calcium homeostasis, mitochondrial function, titin rigidity, and extracellular matrix remodeling. Its development depends on a complex interaction of factors such as left ventricular hypertrophy, myocardial ischemia, oxidative stress, inflammatory processes, proteolysis disorders, myocardial deposition diseases, and genetic predisposition. Knowledge of these factors is essential for the development of new therapeutic agents for patients with diastolic dysfunc-

теолизата, заболявания с миокардно отлагане и генетична предиспозиция. Диагностиката на диастолната дисфункция се базира на неинвазивни и инвазивни методи, като инвазивната оценка е златен стандарт, а ехокардиографията има водеща роля поради своята достъпност и доказана клинична стойност.

He e деклариран конфликт на интереси

Библиография / References

1. Gaasch WH, Zile MR. Left ventricular diastolic dysfunction and diastolic heart failure. *Annu Rev. Med* 2004;55:373-394.
2. Pasipoularides A. Evaluation of right and left ventricular diastolic filling. *J Cardiovasc Transl Res*. 2013;6:623-639.
3. Brutsaert DL, Housmans PR, Goethals MA. Dual control of relaxation. Its role in the ventricular function in the mammalian heart. *Circ Res*. 1980;47:637-52.
4. Leite-Moreira AF. Current perspectives in diastolic dysfunction and diastolic heart failure. *Heart*. 2006;92:712-718
5. Fukuda N, Granzier H, Ishiwata S, Morimoto S. Editorial: Recent Advances on Myocardium Physiology, Volume II. *Frontiers Physiol*. 2023; 14:2023.
6. Little SC, Biesiadecki BJ, Kilic A et al. The rates of Ca²⁺ dissociation and cross-bridge detachment from ventricular myofibrils as reported by a fluorescent cardiac troponin C. *J Biol Chem*. 2012;287:27930-40.
7. Periasamy M, Bhupathy P, Babu GJ. Regulation of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase pump expression and its relevance to cardiac muscle physiology and pathology. *Cardiovasc Res*. 2007;77:265-273.
8. Rodrigues T, Piccirillo S, Magi S et al. Control of Ca²⁺ and metabolic homeostasis by the Na⁺/Ca²⁺ exchangers (NCXs) in health and disease. *Biochemical Pharmacology*. 2022;203:115163.
9. Fearnley CJ, Roderick HL, Bootman MD. Calcium signaling in cardiac myocytes. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2011;3:a004242.
10. Choi HS, Eisner DA. The role of sarcolemmal Ca²⁺-ATPase in the regulation of resting calcium concentration in rat ventricular myocytes. *J Physiol*. 1999;515 (Pt 1):109-118.
11. Beckendorf J, van den Hoogenhof MMG, Backs J. Physiological and unappreciated roles of CaMKII in the heart. *Basic Res Cardiol*. 2018;113:29.
12. Gaasch WH, Bing OHL, Mirsky I. Chamber compliance and myocardial stiffness in left ventricular hypertrophy. *Eur Heart J*. 1982;3:139-145.
13. Hauge-Iversen IM, Nordén ES, Melleby AO et al. Non-invasive estimation of left ventricular chamber stiffness using cardiovascular magnetic resonance and echocardiography. *J Cardiovasc Magn Reson*. 2025;27:101849.
14. Chung CS, Granzier HL. Contribution of titin and extracellular matrix to passive pressure and measurement of sarcomere length in the mouse left ventricle. *J Mol Cell Cardiol* 2011;50:731-9
15. Loescher CM, Hobbach AJ, Linke WA. Titin (TTN): from molecule to modifications, mechanics, and medical significance. *Cardiovasc Res*. 2021;118:2903-2918.
16. van der Pijl R, Nusayr E, Strom J et al. Importance of N2BA Titin in Maintaining Cardiac Homeostasis and Its Role in Dilated Cardiomyopathy. *Circ Heart Fail*. 2025;18:e012083.
17. Ahmed SH, Lindsey ML. Titin phosphorylation: myocardial passive stiffness regulated by the intracellular giant. *Circ Res*. 2009;105:611-613.

tion. The diagnosis of diastolic dysfunction is based on non-invasive and invasive methods, with invasive assessment being the gold standard, and echocardiography playing a leading role due to its broad accessibility and proven clinical value.

No conflict of interest was declared

18. Kötter S, Gout L, Von Frieling-Salewsky M et al. Differential changes in titin domain phosphorylation increase myofilament stiffness in failing human hearts. *Cardiovasc Res*. 2013;99:648-656.
19. Krüger M, Kötter S, Grütznier A et al. Protein kinase G modulates human myocardial passive stiffness by phosphorylation of the titin springs. *Circ Res*. 2009;104:87-94.
20. Koser F, Loescher C, Linke WA. Posttranslational modifications of titin from cardiac muscle: how, where, and what for? *The FEBS Journal*. 2019;286:2240-2260.
21. Yu Q, Vazquez R, Zabadi S et al. T-lymphocytes mediate left ventricular fibrillar collagen cross-linking and diastolic dysfunction in mice. *Matrix Biol* 2010;29:511-8
22. González-Santamaría J, Villalba M, Busnadiego O et al. Matrix cross-linking lysyl oxidases are induced in response to myocardial infarction and promote cardiac dysfunction. *Cardiovasc Res*. 2015;109:67-78.
23. López B, González A, Hermida N et al. Role of lysyl oxidase in myocardial fibrosis: from basic science to clinical aspects. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 2010;299:H1-H9.
24. Park SH, Choi SH, Park HY et al. Role of Lysyl Oxidase-Like Protein 3 in the Pathogenesis of Graves' Orbitopathy in Orbital Fibroblasts. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2024;65:33.
25. Rodríguez C, Martínez-González J. The Role of Lysyl Oxidase Enzymes in Cardiac Function and Remodeling. *Cells* 2019;8,12:1483.
26. Ghafouri-Fard S, Khanbabapour Sasi A, Hussen BM et al. Interplay between PI3K/AKT pathway and heart disorders. *Mol Biol Rep*. 2022;49:9767-9781.
27. Han X, Zhu Q-Q, Li Z et al. 4-Hydroxychalcone attenuates AngII-induced cardiac remodeling and dysfunction via regulating PI3K/AKT pathway. *Hypertension Research* 2025;48:1054-1067
28. Liu G, Ma C, Yang H, Zhang P-Y. Transforming growth factor β and its role in heart disease (Review). *Exp Ther Med*. 2017;13:2123-2128.
29. Cadenas S. ROS and redox signaling in myocardial ischemia-reperfusion injury and cardioprotection. *Free Radical Biology and Medicine*. 2018;117:76-89.
30. Granger DN, Kviety PR. Reperfusion injury and reactive oxygen species: The evolution of a concept. *Redox Biol*. 2015;6:524-551.
31. Gonzalez DR, Beigi F, Treuer AV, Hare JM. Deficient ryanodine receptor S-nitrosylation increases sarcoplasmic reticulum calcium leak and arrhythmogenesis in cardiomyocytes. *Proc Natl Acad Sci*. 2007;104:20612-7.
32. Gonzalez DR, Treuer AV, Castellanos J et al. Impaired S-nitrosylation of the ryanodine receptor caused by xanthine oxidase activity contributes to calcium leak in heart failure. *J Biol Chem*. 2010;285:28938-28945.
33. Karmazyn M, Gan XT, Humphreys RA et al. The Myocardial Na⁺-H⁺ Exchange. *Circulation Research* 1999;85:777-786.

34. Shattock MJ, Ottolia M, Bers DM et al. $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange and Na^+/K^+ -ATPase in the heart. *The Journal of Physiology*. 2015;593:1361-1382.
35. Dobaczewski M, Bujak M, Li N et al. Smad3 Signaling Critically Regulates Fibroblast Phenotype and Function in Healing Myocardial Infarction. *Circulation Research* 2010;107:418-428
36. Hanna A, Humeres C, Frangogiannis NG. The role of Smad signaling cascades in cardiac fibrosis. *Cellular Signalling* 2021;77:109826
37. Ma ZG, Yuan YP, Wu HM et al. Cardiac fibrosis: new insights into the pathogenesis. *Int J Biol Sci*. 2018;14:1645-1657.
38. Belmadani S, Matrougui K. Broken heart: A matter of the endoplasmic reticulum stress bad management? *World J Cardiol*. 2019;11:159-170.
39. Keyhani K, Arbab Mojeni F, Khalaji A et al. Endoplasmic reticulum as a target in cardiovascular diseases: Is there a role for flavonoids? *Frontiers Pharmacol*. 2023;13:2022.
40. Mi K, Wang X, Ma C et al. NLRX1 attenuates endoplasmic reticulum stress via STING in cardiac hypertrophy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Cell Research* 2024;1871:119852
41. Gaydarski L, Petrova K, Stanchev S et al. Morphometric and Molecular Interplay in Hypertension-Induced Cardiac Remodeling with an Emphasis on the Potential Therapeutic Implications. *International Journal of Molecular Sci*. 2025;26:4022.
42. Hauke M, Eckenstaler R, Ripperger A et al. Active RhoA Exerts an Inhibitory Effect on the Homeostasis and Angiogenic Capacity of Human Endothelial Cells. *Journal of the American Heart Association*. 2022;11,12: e025119
43. Shi J, Wei L. Rho kinases in cardiovascular physiology and pathophysiology: the effect of fasudil. *J Cardiovasc Pharmacol* 2013;62:341-54
44. Ghiasi M. Investigating the NF- κ B signaling pathway in heart failure: Exploring potential therapeutic approaches. *Heliyon*. 2024;10:e40812
45. Guo C, Sun L, Chen X, Zhang D. Oxidative stress, mitochondrial damage and neurodegenerative diseases. *Neural Regen Res*. 2013;8:2003-14.
46. Santos CX, Anilkumar N, Zhang M et al. Redox signaling in cardiac myocytes. *Free Radic Biol Med* 2011;50:777-93.
47. Moris D, Spartalis M, Tzatzaki E et al. The role of reactive oxygen species in myocardial redox signaling and regulation. *Annals of Translational Medicine*. 2017;5:324.
48. Fan D, Takawale A, Lee J, Kassiri Z. Cardiac fibroblasts, fibrosis and extracellular matrix remodeling in heart disease. *Fibrogenesis & Tissue Repair*. 2012;5:15
49. Frangogiannis NG. Transforming growth factor- β in tissue fibrosis. *Journal of Experimental Medicine*. 2020;217.
50. Liu H, Huang Y, Zhao Y et al. Inflammatory Macrophage Interleukin-1 β Mediates High-Fat Diet-Induced Heart Failure With Preserved Ejection Fraction. *JACC Basic Transl Sci*. 2023;8:174-185.
51. Zitta K, Brandt B, Wuensch A et al. Interleukin-1 β regulates cell proliferation and activity of extracellular matrix remodelling enzymes in cultured primary pig heart cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2010;399:542-547.
52. Di X, Gao X, Peng L et al. Cellular mechanotransduction in health and diseases: from molecular mechanism to therapeutic targets. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2023;8:282.
53. Garvin AM, Khokhar BS, Czubyrt MP, Hale TM. RAS inhibition in resident fibroblast biology. *Cell Signal*. 2021;80:109903.
54. Liu J, Xiao Q, Xiao J et al. Wnt/ β -catenin signalling: function, biological mechanisms, and therapeutic opportunities. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2022;7:3.
55. Tao H, Yang J-J, Shi K-H, Li J. Wnt signaling pathway in cardiac fibrosis: New insights and directions. *Metabolism*. 2016;65:30-40
56. Hegab Z, Gibbons S, Neyses L, Mamas MA. Role of advanced glycation end products in cardiovascular disease. *World J Cardiol*. 2012;4:90-102
57. Snedeker JG, Gautieri A. The role of collagen crosslinks in ageing and diabetes - the good, the bad, and the ugly. *Muscles Ligaments Tendons J*. 2014;4:303-8
58. Feijóo-Bandín S, Aragón-Herrera A, Moraña-Fernández S et al. Adipokines and Inflammation: Focus on Cardiovascular Diseases. *Int J Mol Sci* 2020;21
59. Marangoni RG, Masui Y, Fang F et al. Adiponectin is an endogenous anti-fibrotic mediator and therapeutic target. *Scientific Reports* 2017;7:4397
60. Theodorakis N, Kreouzi M, Hitas C et al. Adipokines and Cardiometabolic Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: A State-of-the-Art Review. *Diagnostics*. 2024;14:2677
61. Zhao S, Kusminski CM, Scherer PE. Adiponectin, Leptin and Cardiovascular Disorders. *Circulation Res*. 2021;128:136-149
62. Liu M, Dudley SC. Role for the Unfolded Protein Response in Heart Disease and Cardiac Arrhythmias. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016;17:52
63. Pan YX, Lin L, Ren AJ et al. HSP70 and GRP78 induced by endothelin-1 pretreatment enhance tolerance to hypoxia in cultured neonatal rat cardiomyocytes. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2004;44 (Suppl 1):S117-20
64. LeWinter MM, Granzier HL. Cardiac titin and heart disease. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2014;63:207-12
65. Giles J, Fitzsimons DP, Patel JR et al. cMyBP-C phosphorylation modulates the time-dependent slowing of unloaded shortening in murine skinned myocardium. *Journal of General Physiology*. 2021;153
66. Moss RL, Fitzsimons DP, Ralphe JC. Cardiac MyBP-C regulates the rate and force of contraction in mammalian myocardium. *Circ Res*. 2015;116:183-92
67. Day SM. The ubiquitin proteasome system in human cardiomyopathies and heart failure. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 2013;304:H1283-H1293
68. Herrmann J, Wohlert C, Saguner AM et al. Primary proteasome inhibition results in cardiac dysfunction. *Eur J Heart Fail*. 2013;15:614-23
69. Kedar V, McDonough H, Arya R et al. Muscle-specific RING finger 1 is a bona fide ubiquitin ligase that degrades cardiac troponin I. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:18135-40
70. Mearini G, Schlossarek S, Willis MS, Carrier L. The ubiquitin-proteasome system in cardiac dysfunction. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. 2008;1782:749-763
71. Mota R, Parry TL, Yates CC et al. Increasing Cardiomyocyte Atrogin-1 Reduces Aging-Associated Fibrosis and Regulates Remodeling in Vivo. *Am J Pathol*. 2018;188:1676-1692.
72. De Meyer GRY, Martinet W. Autophagy in the cardiovascular system. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*. *Molecular Cell Res*. 2009;1793:1485-1495.
73. Nishida K, Kyoji S, Yamaguchi O et al. The role of autophagy in the heart. *Cell Death & Differentiation*. 2009;16:31-38.
74. Kositprapa C, Zhang B, Berger S et al. Calpain-mediated proteolytic cleavage of troponin I induced by hypoxia or metabolic inhibition in cultured neonatal cardiomyocytes. *Molecular and Cellular Biochem*. 2000;214:47-55.
75. Neuhof C, Neuhof H. Calpain system and its involvement in myocardial ischemia and reperfusion injury. *World J Cardiol*. 2014;6:638-52.
76. Griffin JM, Rosenblum H, Maurer MS. Pathophysiology and Therapeutic Approaches to Cardiac Amyloidosis. *Circ Res*. 2021;128:1554-1575.
77. Pieroni M, Zocchi C, Ciabatti M. Cardiac involvement in Fabry disease: Recent advances, unresolved issues, and unmet needs. *Eur Heart J. Suppl*. 2025;27:i51-i55.

78. Knight WE, Woulfe KC. Dysfunctional sarcomeric relaxation in the heart. *Curr Opin Physiol.* 2022;26.
79. Matsumori A. Nuclear Factor- κ B is a Prime Candidate for the Diagnosis and Control of Inflammatory Cardiovascular Disease. *Eur Cardiology Rev.* 2023;18:e40.
80. Nivon M, Fort L, Muller P et al. NF κ B is a central regulator of protein quality control in response to protein aggregation stresses via autophagy modulation. *Molecular Biology of the Cell.* 2016;27:1712-1727.
81. Sciarretta S, Volpe M, Sadoshima J. Mammalian target of rapamycin signaling in cardiac physiology and disease. *Circ Res.* 2014;114:549-564.
82. Triolo M, Hood DA. Manifestations of Age on Autophagy, Mitophagy and Lysosomes in Skeletal Muscle. *Cells.* 2021;10:1054.
83. Popescu BA, Beladan CC, Nagueh SF, Smiseth OA. How to assess left ventricular filling pressures by echocardiography in clinical practice. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* 2022;23:1127-1129.
84. Frais MA, Bergman DW, Kingma I et al. The dependence of the time constant of left ventricular isovolumic relaxation (τ) on pericardial pressure. *Circulation.* 1990;81:1071-1080.
85. Weiss JL, Frederiksen JW, Weisfeldt ML. Hemodynamic determinants of the time-course of fall in canine left ventricular pressure. *J Clin Invest* 1976;58:751-60
86. Рунев Н. Инвазивна оценка на левокамерната диастолна функция. София, 2014 г. // Runev N. Invasive assessment of left ventricular diastolic function. Sofia, 2014]
87. Shen W, Xu X, Lee TF et al. The Relationship Between Heart Rate and Left Ventricular Isovolumic Relaxation During Normoxia and Hypoxia-Asphyxia in Newborn Piglets. *Front Physiol.* 2019;10:525.
88. Sohn D-W. Heart failure due to abnormal filling function of the heart. *J Cardiol.* 2011;57:148-159.
89. Nagueh SF, Sanborn DY, Oh JK et al. Recommendations for the Evaluation of Left Ventricular Diastolic Function by Echocardiography and for Heart Failure With Preserved Ejection Fraction Diagnosis: An Update From the American Society of Echocardiography. *J Am Soc of Echocardiography.* 2025;38:537-569.
90. Ommen SR, Nishimura RA, Appleton CP et al. Clinical utility of Doppler echocardiography and tissue Doppler imaging in the estimation of left ventricular filling pressures: A comparative simultaneous Doppler-catheterization study. *Circulation.* 2000;102:1788-94.
91. Dokainish H, Sengupta R, Pillai M et al. Usefulness of new diastolic strain and strain rate indexes for the estimation of left ventricular filling pressure. *Am J Cardiol.* 2008;101:1504-9.
92. Dorosz JL, Lehmann KG, Stratton JR. Comparison of tissue Doppler and propagation velocity to invasive measures for measuring left ventricular filling pressures. *Am J Cardiol.* 2005;95:1017-20.
93. Schober KE, Stern JA, DaCunha DN, et al. Estimation of left ventricular filling pressure by Doppler echocardiography in dogs with pacing-induced heart failure. *J Vet Intern Med.* 2008;22:578-585.
94. Galderisi M, Rapacciuolo A, Esposito R et al. Site-dependency of the E/e' ratio in predicting invasive left ventricular filling pressure in patients with suspected or ascertained coronary artery disease. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2013;14:555-561.
95. Popovic D, Alogna A, Omar M et al. Ventricular stiffening and chamber contracture in heart failure with higher ejection fraction. *Eur J Heart Fail* 2023;25:657-668
96. Thatte N, Hammer PE, Hiremath G. Evaluating Diastolic Dysfunction in Children with Congenital Heart Disease: The Role of Stiffness Constant β . *J Soc Cardiovasc Angiogr Interv* 2025;4:102576
97. Sinning D, Kasner M, Westermann D et al. Increased left ventricular stiffness impairs exercise capacity in patients with heart failure symptoms despite normal left ventricular ejection fraction. *Cardiol Res Pract.* 2011;2011:692862.
98. Кинова Е. Трансторакална ехокардиография. Интерактивно практическо ръководство. София, Инфинита, 2024. [Kinova E. Transthoracic echocardiography: Interactive practical guide. Sofia, Infinita, 2024.]
99. Kittleson MM, Panjath GS, Amancherla K et al. 2023 ACC Expert Consensus Decision Pathway on Management of Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: A Report of the American College of Cardiology Solution Set Oversight Committee. *J Am Coll Cardiol.* 2023;81:1835-1878.
100. Nagueh SF, Smiseth OA, Appleton CP et al. Recommendations for the Evaluation of Left Ventricular Diastolic Function by Echocardiography: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *J Am Soc Echocardiogr.* 2016;29:277-314.
101. Chen C, Rodriguez L, Levine RA et al. Noninvasive measurement of the time constant of left ventricular relaxation using the continuous-wave Doppler velocity profile of mitral regurgitation. *Circulation.* 1992;86:272-8.
102. Bai X. Calculation of left ventricular relaxation time constant-Tau in patients with aortic regurgitation by continuous-wave Doppler. *Open Cardiovasc Med J.* 2008;2:28-30.
103. Scalia GM, Greenberg NL, McCarthy PM et al. Noninvasive assessment of the ventricular relaxation time constant (τ) in humans by Doppler echocardiography. *Circulation* 1997;95:151-5.
104. De Boeck BW, Oh JK, Vandervoort PM et al. Colour M-mode velocity propagation: a glance at intra-ventricular pressure gradients and early diastolic ventricular performance. *Eur J Heart Fail.* 2005;7:19-28.
105. Yoshizane T, Kawamura I, Kawasaki M et al. Validation by Cardiac Catheterization of Noninvasive Estimation of Time Constant of Left Ventricular Pressure Decline as an Index of Relaxation by Speckle Tracking Echocardiography. *Am J Cardiol.* 2018;121:1645-1651.
106. Ivanov A, Levunlieva E. Echocardiographic estimation of left ventricular filling pressure. *Bulg J Cardiol.* 2014;3:48-64.
107. Zhang N, Tang L, Zhang L et al. Evaluation of left ventricular stiffness with echocardiography. *Echocardiography* 2024;41:e15737.
108. Carvalho JC, Farand P, Do HD et al. Effect of age and sex on echocardiographic left ventricular diastolic function parameters in patients with preserved ejection fraction and normal valvular function. *Cardiol J.* 2013;20:513-8.
109. Parikh JD, Hollingsworth KG, Wallace D et al. Normal age-related changes in left ventricular function: Role of afterload and subendocardial dysfunction. *Int J Cardiol.* 2016;223:306-312.
110. Goldberg YH, Megyesi D, Flam M et al. Mechanistic validation of the 2016 American Society of Echocardiography/European Association of Cardiovascular Imaging Guidelines for the assessment of diastolic dysfunction in heart failure with reduced ejection fraction. *Cardiovasc Ultrasound.* 2020;18:42.
111. Rajiah PS, Moore A, Broncano J et al. Diastology with Cardiac MRI: A Practical Guide. *RadioGraphics.* 2023;43:e220144.
112. Schoennagel BP, Fischer R, Grosse R et al. Peak Filling Rates Assessed by CMR Imaging Indicate Diastolic Dysfunction From Myocardial Iron Toxicity. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2016;9:1353-1354.
113. Maceira AM, Prasad SK, Khan M, Pennell DJ. Normalized left ventricular systolic and diastolic function by steady state free precession cardiovascular magnetic resonance. *J Cardiovasc Magn Reson.* 2006;8:417-26.
114. Hieda M, Parker J, Rajabi T et al. Left Ventricular Volume-Time Relation in Patients With Heart Failure With Preserved Ejection Fraction. *Am J Cardiol.* 2018;121:609-614.
115. He J, Yang W, Wu W et al. Early Diastolic Longitudinal Strain Rate at MRI and Outcomes in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction. *Radiology.* 2021;301:582-592.
116. Truong VT, Palmer C, Wolking S et al. Normal left atrial strain and strain rate using cardiac magnetic resonance feature tracking in healthy volunteers. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* 2020;21:446-453.
117. Yeo JL, Dattani A, Alfuhied A et al. Cardiovascular MRI Feature-Tracking Strain Rate for Assessment of Diastolic Function. *Radiol Cardiothorac Imaging.* 2025;7:e240447.

118. Ibrahim E-SH, Dennison J, Frank L, Stojanovska J. Diastolic Cardiac Function by MRI—Imaging Capabilities and Clinical Applications. *Tomography* 2021;7:893-914
119. Ibrahim el SH. Myocardial tagging by cardiovascular magnetic resonance: evolution of techniques--pulse sequences, analysis algorithms, and applications. *J Cardiovasc Magn Reson* 2011;13:36
120. Shehata ML, Cheng S, Osman NF, Bluemke DA, Lima JA. Myocardial tissue tagging with cardiovascular magnetic resonance. *J Cardiovasc Magn Reson* 2009;11:55
121. Srichai MB, Lim RP, Wong S, Lee VS. Cardiovascular Applications of Phase-Contrast MRI. *American Journal of Roentgenology* 2009;192:662-675
122. Kawel-Boehm N, Hetzel SJ, Ambale-Venkatesh B et al. Reference ranges (“normal values”) for cardiovascular magnetic resonance (CMR) in adults and children: 2020 update. *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance* 2020;22:87
123. Lamy J, Xiang J, Shah N et al. Diastolic dysfunction evaluation by cardiovascular magnetic resonance derived E, a, e': Comparison to echocardiography. *Physiological Reports* 2024;12:e70078
124. Nguyen J, Weber J, Hsu B, Mulyala RR, Wang L, Cao JJ. Comparing left atrial indices by CMR in association with left ventricular diastolic dysfunction and adverse clinical outcomes. *Scientific Reports* 2021;11:21331
125. Ellims AH, Shaw JA, Stub D et al. Diffuse myocardial fibrosis evaluated by post-contrast t1 mapping correlates with left ventricular stiffness. *J Am Coll Cardiol* 2014;63:1112-8
126. Everett RJ, Stirrat CG, Semple SIR, Newby DE, Dweck MR, Mirsadraee S. Assessment of myocardial fibrosis with T1 mapping MRI. *Clinical Radiology* 2016;71:768-778
127. Fujikura K, Sathya B, Acharya T et al. CMR provides comparable measurements of diastolic function as echocardiography. *Sci Rep* 2024;14:11658
128. Boogers MJ, van Werkhoven JM, Schuijf JD et al. Feasibility of Diastolic Function Assessment With Cardiac CT: Feasibility Study in Comparison With Tissue Doppler Imaging. *JACC: Cardiovascular Imaging* 2011;4:246-256
129. Naar J, Málek F, Lang O et al. Assessment of left ventricular diastolic function by radionuclide ventriculography in patients with chronic heart failure and reduced ejection fraction. *Vnitř Lek* 2014;60:110-3