

Goryachiy A. V., Gozhenko A. I., Levchenko E. M., Goryachiy V. V., Kuznetsova M. A., Arapu M. I. Extracellular matrix change in patients with various forms of atrial fibrillation. Journal of Education, Health and Sport. 2017;7(6):1223-1235. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.1472947> <http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/6232>

The journal has had 7 points in Ministry of Science and Higher Education parametric evaluation. Part B item 1223 (26.01.2017).  
1223 Journal of Education, Health and Sport eISSN 2391-8306 7

© The Author 2017;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland

Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

Received: 03.06.2017. Revised: 20.06.2017. Accepted: 30.06.2017.

## EXTRACELLULAR MATRIX CHANGE IN PATIENTS WITH VARIOUS FORMS OF ATRIAL FIBRILLATION

A. V. Goryachiy, A. I. Gozhenko, E. M. Levchenko, V. V. Goryachiy,  
M. A. Kuznetsova, M. I. Arapu

Ukrainian Research Institute of Transport Medicine,  
Odessa Regional Clinical Hospital

### Abstract

**Purpose:** We studied the change in serum collagen markers in patients with various forms of atrial fibrillation (AF)

**Methods:** Collagen type C-terminal propeptide (CTPK-I), C-terminal telopeptide of type I collagen (CTTK-I), matrix metalloproteinase I, and tissue inhibitors of matrix metalloproteinase I were used as markers for collagen synthesis. The study group comprised - 70 people, control - 20.

**Results:** The level of CTCP-I and CTPP-I in patients with AF was significantly higher in comparison with the control group (91 +27 ng / ml, 67 + 11 ng / ml, p <0.001 and 0.38 + 0.20 ng / ml, 0.25 +0.08 ng / ml, p <0.001, respectively). The level of TSCP-I in patients with persistent and chronic AF was significantly higher (105 +28 ng / ml and 126 + 26 ng / ml vs. 80 +21 ng / ml, p <0.001) compared with patients with paroxysmal AF. A significantly lower level of matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) was observed in patients with persistent and chronic forms of AF, but the level of tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 (TIMMP-1) was increased in comparison with patients with paroxysmal AF (09.67 + 4.41 ng / ML, 11.90 + 4.79 ng / ml vs. 14.98 + 6.28 ng / ml, p = 0.03 and 187 + 49 ng / ml, 155 + 45 ng / ml

vs. 130 + 38 ng / ml, p <0.001, respectively). The level of TIMMP-1 was significantly lower in the control group compared with patients with paroxysmal and persistent and chronic forms of AF (102 + 15 ng / ml, 130 +38 ng / ml, 155 + 45 ng / ml and 194 + 49 ng / ml , Respectively, p <0.001).

**Conclusions:** The serum level of type I collagen markers differs significantly between healthy people and patients with AF. Moreover, these markers also differ depending on AF form. It can be assumed that the intensity of extracellular synthesis and degradation of type I collagen can be related to the severity and type of AF.

**Key words:** serum collagen markers, atrial fibrillation, catheter ablation.

УДК: 616.127-074:577.12+616.12-008.64-036.1+616.12-008.313:615.849

## **ЗМІНА ПОЗАКЛІТИННОГО МАТРИКСУ У ПАЦІЄНТІВ З РІЗНИМИ ФОРМАМИ ФІБРИЛЯЦІЇ ПЕРЕДСЕРДЬ**

**О. В. Горячий, А. І. Гоженко, О. М. Левченко, В. В. Горячий,  
М. О. Кузнєцова, М. І. Арапу**

**Український науково-дослідницький інститут медицини транспорту,  
Одеська обласна клінічна лікарня**

**Мета:** нами було досліджено зміну сироваткових маркерів колагену у пацієнтів з різними формами фібриляції передсердь (ФП)

**Методи:** Як маркери синтезу колагену використовувалися С-термінальний пропептид колагену І типу (ЦТПК-І), С-термінальний телопептиду колагену І типу (ЦТТК-І), матриксна металлопротеїназа-І, і тканинні інгібітори матриксної металлопротеїнази І. Досліджувану групу склали - 70 осіб, контрольну - 20.

**Результати:** Рівень ЦТПК-І і ЦТТК-І у пацієнтів з ФП був значно вище в порівнянні з контрольною групою (91±27 нг/мл., 67±11 нг/мл, p<0.001 і 0.38±0.20 нг/мл, 0.25±0.08 нг/мл, p<0.001, відповідно). Рівень ЦТПК-І у пацієнтів з персистоючою та хронічною формами ФП був значно вище (105±28 нг/мл і 126±26 нг/мл проти. 80±21 нг/мл, p<0.001) в порівнянні з пацієнтами з пароксизмальною формою ФП. У пацієнтів з персистоючою та хронічною формами ФП відзначався

значно нижчий рівень матричної металопротеїнази-1 (ММП-1) проте рівень тканинного інгібітора матричної металопротеїнази-1 (ТІММП-1) був підвищений в порівнянні з пацієнтами з пароксизмальною ФП ( $09.67 \pm 4.41$  нг/мл,  $11.90 \pm 4.79$  нг/мл проти  $14.98 \pm 6.28$  нг/мл,  $p=0.03$  і  $187 \pm 49$  нг/мл,  $155 \pm 45$  нг/мл проти  $130 \pm 38$  нг/мл,  $p < 0.001$ , відповідно). Рівень ТІММП-1 був значно нижче в контрольній групі в порівнянні з пацієнтами з пароксизмальною, персистуючою і хронічною формами ФП ( $102 \pm 15$  нг/мл,  $130 \pm 38$  нг/мл,  $155 \pm 45$  нг/мл і  $194 \pm 49$  нг/мл, відповідно,  $p < 0.001$ ).

**Висновки:** Сироватковий рівень маркерів колагену I типу значно відрізняється між здоровими людьми та пацієнтами з ФП. Більш того ці маркери також відрізняються в залежності від форми ФП. Можна припустити, що інтенсивність позаклітинного синтезу і деградації колагену I типу може бути пов'язана з тяжкістю і типом ФП.

**Ключові слова:** сироваткові маркери колагену, фібриляція передсердь, катетерная абляція.

## ИЗМЕНЕНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА У ПАЦИЕНТОВ С РАЗЛИЧНЫМИ ФОРМАМИ ФП

А. В. Горячий, А. И. Гоженко, Е. М. Левченко, В. В. Горячий,  
М. А. Кузнецова, М. И. Арапу

Украинский научно-исследовательский институт медицины транспорта, Одесская  
Областная клиническая больница

**Цель:** нами было исследовано изменение сывороточных маркеров коллагена у пациентов с различными формами фибрилляции предсердий (ФП)

**Методы:** В качестве маркеров синтеза коллагена использовались С-терминальный пропептид коллагена I типа (ЦТПК-I), С-терминальный телопептид коллагена I типа (ЦТТК-I), матриксная металопротеиназа- I, и тканевые ингибиторы матриксной металопротеиназы I. Исследуемую группу составили - 70 человек, контрольную - 20.

**Результаты:** Уровень ЦТПК-I и ЦТТК-I у пациентов с ФП был значительно выше по сравнению с контрольной группой ( $91 \pm 27$  нг/мл.,  $67 \pm 11$  нг/мл,  $p < 0.001$  и  $0.38 \pm 0.20$  нг/мл,  $0.25 \pm 0.08$  нг/мл,  $p < 0.001$ , соответственно). Уровень ЦТПК-I у

пациентов с персистирующей и хронической формами ФП был значительно выше ( $105 \pm 28$  нг/мл и  $126 \pm 26$  нг/мл против  $80 \pm 21$  нг/мл,  $p < 0.001$ ) по сравнению с пациентами с пароксизмальной формой ФП. У пациентов с персистирующей и хронической формами ФП отмечался значительно более низкий уровень матричной металлопротеиназы-1 (ММП-1) однако уровень тканевого ингибитора матричной металлопротеиназы-1 (ТИММП-1) был повышен в сравнении с пациентами с пароксизмальной ФП ( $09.67 \pm 4.41$  нг/мл,  $11.90 \pm 4.79$  нг/мл против  $14.98 \pm 6.28$  нг/мл,  $p = 0.03$  и  $187 \pm 49$  нг/мл,  $155 \pm 45$  нг/мл против  $130 \pm 38$  нг/мл,  $p < 0.001$ , соответственно). Уровень ТИММП-1 был значительно ниже в контрольной группе в сравнении с пациентами с пароксизмальной и персистирующей и хронической формами ФП ( $102 \pm 15$  нг/мл,  $130 \pm 38$  нг/мл,  $155 \pm 45$  нг/мл и  $194 \pm 49$  нг/мл, соответственно,  $p < 0.001$ ).

**Выводы:** Сывороточный уровень маркеров коллагена I типа значительно отличается между здоровыми людьми и пациентами с ФП. Более того эти маркеры также отличаются в зависимости от формы ФП. Можно предположить, что интенсивность внеклеточного синтеза и деградации коллагена I типа может быть связана с тяжестью и типом ФП.

**Ключевые слова:** сывороточные маркеры коллагена, фибрилляция предсердий, катетерная абляция.

Недавние исследования показали существенное увеличение уровня отложения коллагена в предсердиях у пациентов с ФП в отличие от пациентов находящихся на синусовом ритме (СР) (1-3). Предварительные экспериментальные и клинические данные предположили наличие обратной связи между наличием фиброза в образцах биопсии и наличием артериальной гипертензией (АГ). В дальнейшем было показано, что такие маркеры отличаются у пациентов с АГ и без, исследования их связи с гипертрофией или другими эхокардиографическими параметрами привели также противоречивы (5, 6).

Коллаген I типа самый распространенный коллагеновый продукт сердечных фибробластов (7). Нами было оценено количество фиброза у пациентов с пароксизмальной, персистирующей и хронической изолированными формами ФП используя иммуноферментный анализ (4). Также оценивался уровень ММП-I и ТИММП-I.

**Материалы и методы:** Этическим комитетом нашего учреждения было одобрено проведение исследования. Данное исследование соответствовало

принципам, изложенным в Хельсинской Декларации. Всеми пациентами было подписано информированное согласие на участие.

В исследование вошло 96 амбулаторных пациента в возрасте от 24 до 78 лет с изолированной ФП, определенной как ФП без клинических или эхокардиографических признаков сердечно-легочного заболевания, включая артериальную гипертензию. Аритмия считалась пароксизмальной с продолжительностью менее 24 часов и персистирующей продолжительностью не менее 3 месяца до момента включения. Хронической формой ФП называлось нарушение ритма более одного года, резистентного к медикаментозной терапии. Формы фибрилляции предсердий определялись согласно стандарта руководства европейского общества кардиологов 2016 (8). Контрольную группу составили 24 пациента с отсутствием в анамнезе ФП.

Критерии исключения: состояния ассоциированные с повышением уровня сывороточного маркера миокардиального или тканевого фиброза, такие как: печеночные заболевания, нарушения функции почек, легочной фиброз, обширные раневые поверхности, метаболические заболевания костной ткани, злокачественные новообразования, заболевания соединительной ткани, хронические воспалительные заболевания, недавно перенесенные инфекционные заболевания и хирургические вмешательства, возраст более 80 лет или наличие имплантированного водителя ритма/кардиовертера-дефибрилятора.

В процессе исследования, у пациентов исследуемых и контрольной группах сравнивались серологические маркеры коллагена I типа, эхокардиографический размер ЛП и фракции выброса левого желудочка (ФВЛЖ). Для контроля частоты желудочковых сокращений позволялось использовать дилтиазем и бета-блокаторы. Все пациенты с ФП получали антитромботическое лечение.

На момент забора крови у всех пациентов наблюдалась ФП. Образцы крови набирались во время клинического исследования и немедленно помещались на лед и центрифугировались в течении 1 часа. Образцы сохранялись при -80 С до момента анализа.

Сывороточный уровень ТИМП-1 и ММП-1 оценивался с помощью иммуноферментного анализа с использованием лабораторных наборов (Human Biotrack, Amersham Biosciences, США). Уровень ЦТПК-I типа определяли с помощью ферментного иммуносорбентного анализа с использованием набора (Metra C1CP, Quidel, США), в то время как ЦТТК-I измеряли, используя анализ Elecsys V-CrossLaps/сыворотки (Roche Diagnostics, Мангейм, Германия). Измерение

выполнялось персоналом заслепленным к клинической информации о состоянии пациентов. Внутри и межпробирочные коэффициенты вариации составили <8% и <10% соответственно.

**Статистический анализ.** Полученные результаты обрабатывали статистически с помощью компьютерной программы Statistica 6.1. Количественные признаки с нормальным распределением представлены как  $M \pm \sigma$  (среднее  $\pm$  стандартное отклонение), с ненормальным распределением — в виде медианы и интерквартильного размаха (Me). Для выявления существующих различий по порядковым признакам использовали непараметрический критерий Манна-Уитни. Корреляционный анализ проводили с использованием критерия *R* Спирмена для количественных значений. При  $p < 0,05$  различия считали статистически значимыми. Дизайн исследования представлен открытым контролируемым исследованием.

### **Результаты**

**Пациенты.** Исходные клинические и демографические характеристики исследуемой популяции представлены в таблице 1. Группу I – составили 24 пациента с пароксизмальной формой ФП, группу II – 26 пациентов с персистирующей формой ФП, группу III – 22 пациента с хронической формой ФП и группу IV (контрольную) – 24 пациента без ФП. Не было существенных различий в половой принадлежности ( $p = 0,40$ ) или возрасте ( $p = 0,058$ ) между группами ФП и контрольной группой. Пациенты с персистирующей и хронической формой ФП имели более низкие уровни фракции выброса левого желудочка (ФВЛЖ) ( $p = 0,038$ ) и большие размеры ЛП ( $p < 0,001$ ) по сравнению с пациентами с пароксизмальной формой ФП и контрольной группой.

**Сывороточные маркеры коллагена.** Результаты приведены в таблице 1. Уровни ЦТПК-I и ЦТТК-I были значительно выше у пациентов с пароксизмальной, персистирующей и хронической формами ФП по сравнению с контрольными субъектами ( $p \leq 0,016$ ). У пациентов с персистирующей и хронической формами ФП также были более высокие уровни ЦТПК-I по сравнению с пациентами с пароксизмальной формой ФП ( $p < 0,001$ ), тогда как не было значимой разницы в уровнях ЦТПК-I ( $p = 0,57$ ) (Таблица 1, Рис.1 и 2).

Значения выражены как среднее  $\pm$  SD. Последующий анализ показал, что:

1) возраст и диаметр левого предсердия (ЛП) значительно различались между пациентами контрольной группы и пациентами с персистирующей фибрилляцией предсердий (ФП);

2) ЦТПК-I у пациентов с персистирующей ФП значительно отличался по

сравнению с пациентами с пароксизмальной формой и пациентами контрольной группы (рисунок 1);

Таблица 1

Общая характеристика пациентов

	I гр. n=24	II гр. n=26	III гр. n=22	IV гр. n=24	p
Возраст(лет)	62.45±13.17	64.44±13.81	67.88±13.31	63.65 ± 13.34	0.025
Пол(м/ж)	16/8	19/7	15/7	17/7	0.621
ФВЛЖ(%)	55.39±3.32	53.65±3.27	51.65±3.21	60.09±3.2	0.227
ЛП(мм)	36.23±3.87	43.47±4.52	45.57±4.75	37.45±3.68	<0.001
ИМТ(кг/м <sup>2</sup> )	27.32±1.64	27.65±1.73	27.91±1.71	26.85±1.42	0.919
САД(мм.рт.ст)	137.35±11.90	138.59±12.52	138.59±12.52	131.75±10.03	0.079
ДАД(мм.рт.ст)	84.74±4.34	83.91±4.35	83.91±4.35	83.75±4.55	0.633
ЦТПК-I(нг/мл)	78.74±20.13	104.05±26.47	109.76±31.37	68.31±12.16	<0.001
ЦТТК-I(нг/мл)	0.36±0.17	0.40±0.19	0.44±0.21	0.27±0.11	0.016
ММП-1(нг/мл)	13.89±5.34	11.87±4.79	10.90±4.91	12.53±6.16	0.033
ТИМП-1(нг/мл)	131.51±36.92	149.63±43.71	155.90±45.86	103.61±14.96	<0.001

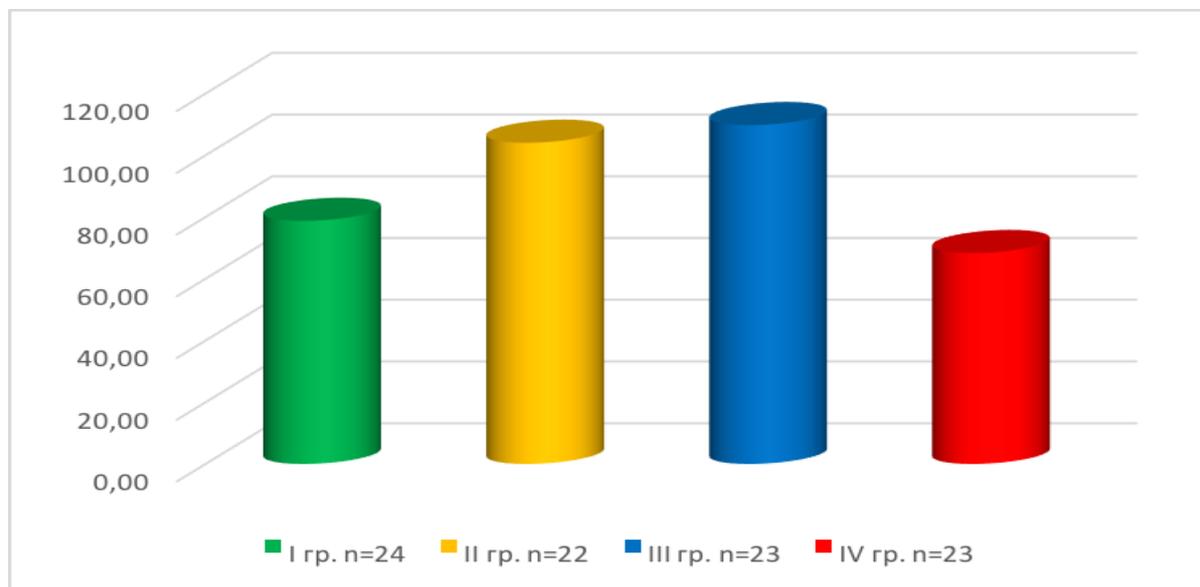


Рисунок 1. Уровень ЦТПК-I у пациентов с ФП.

3) уровень ЦТТК-I значительно отличался у пациентов контрольной группы и пациентов с различными формами ФП (рисунок 2);

4) уровень ММП-1 значительно отличались у пациентов с персистирующей,

хронической и пароксизмальной формами ФП (рисунок 3);

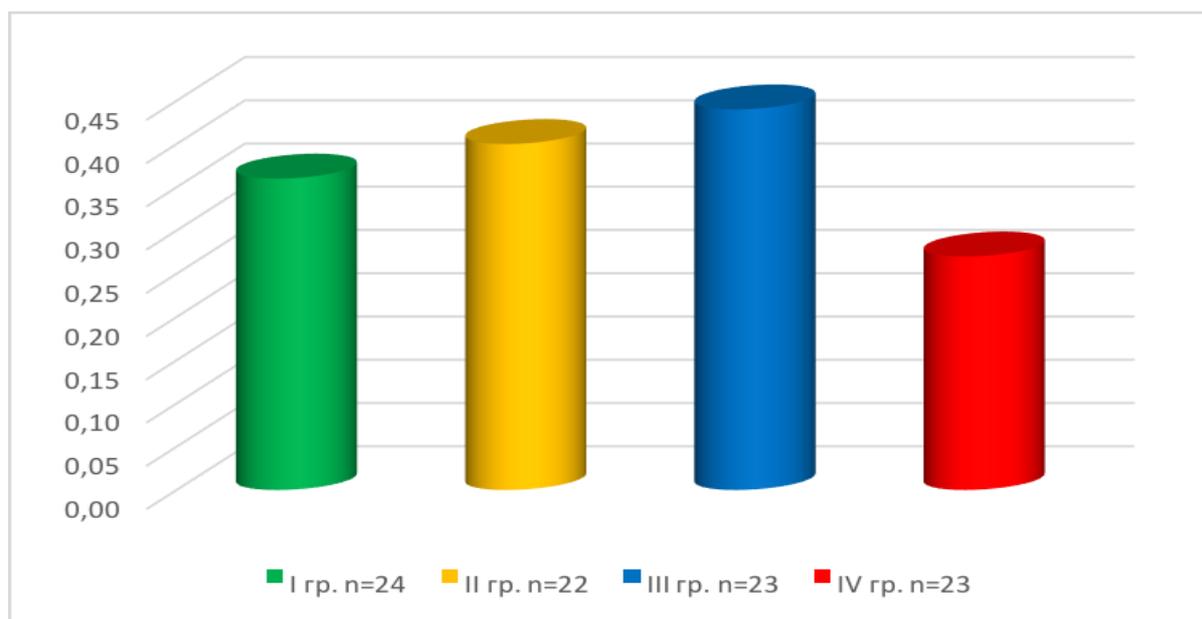


Рисунок 2. Уровень ЦТТК-I у пациентов с ФП

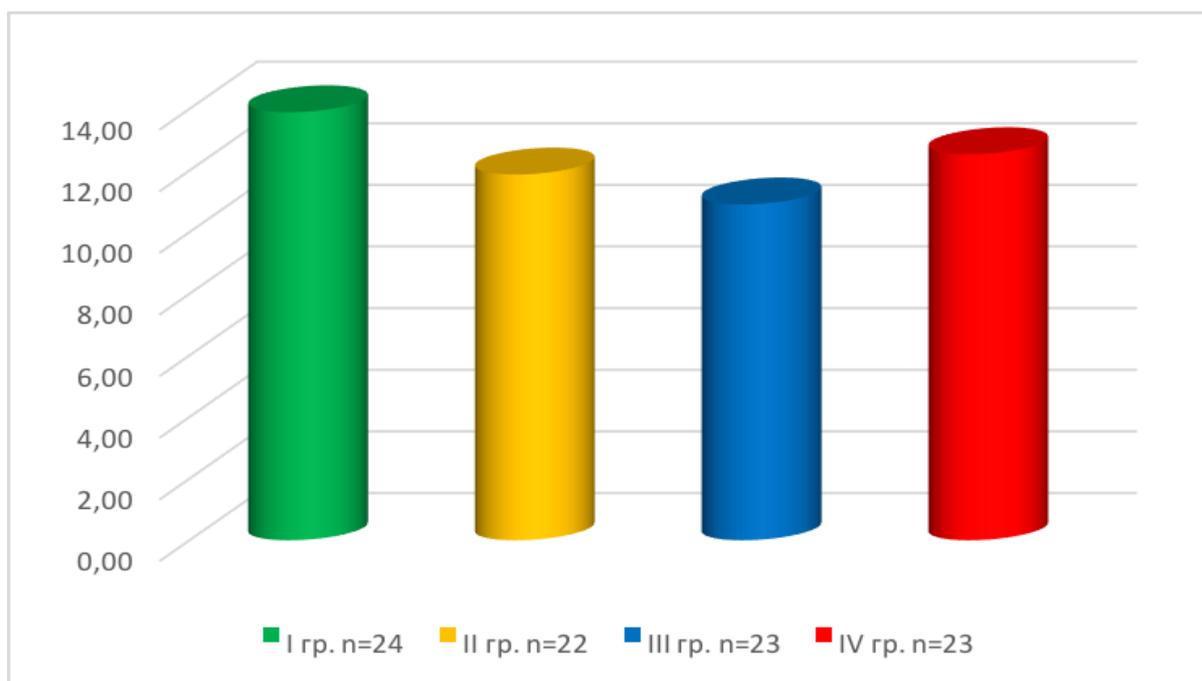


Рисунок 3. Уровень ММП-1 у пациентов с ФП.

5) уровень ТИМП-1 значительно различался во всех межгрупповых сравнениях (рисунок 4).

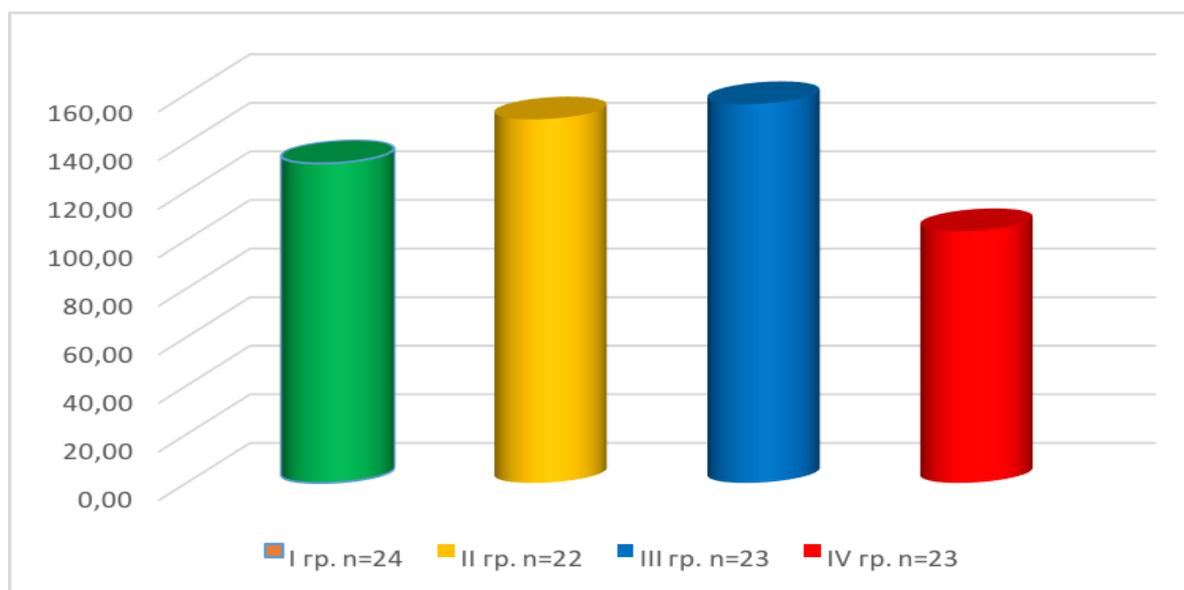


Рисунок 4. Уровень ТИМП-1 у пациентов с ФП.

Пациенты с персистирующей и хроническим формами ФП имели более низкие уровни ММП-1 ( $p=0,026$ ), но более высокие уровни ТИМП-1 ( $p=0,013$ ) по сравнению с пациентами с пароксизмальной ФП (таблица 1, рисунки 3 и 4). Тканевой ингибитор матричных металлопротеиназ-1 был значительно ниже ( $p<0,001$ ) у контрольных субъектов по сравнению с исследуемыми пациентами (фиг.4). Уровень ММП-1 в плазме не отличался достоверно ( $p=0,20$ ) между исследуемыми пациентами разных групп и контрольной группой (фиг.3).

Наконец, у всех пациентов с ФП, взятых вместе, наблюдалась положительная корреляция между уровнями ЦТПК-I, ТИМП-1 и размерами ЛП ( $r=0,635$ ,  $p<0,001$  и  $r=0,563$ ,  $p<0,001$  соответственно) (фиг.5), тогда как связь между уровнями ЦТПК-I, ТИМП-1 и ФВ ЛЖ выражена слабо ( $r=-0,234$ ,  $p=0,05$  и  $r=-0,278$ ,  $p=0,020$ , соответственно). Положительная корреляция наблюдалась также между уровнями ММП-1 и ФВ ЛЖ ( $r=0,30$ ,  $p=0,012$ ), тогда как была обратная связь между уровнями ММП-1 и размером ЛП ( $r=-0,615$ ,  $p<0,001$ ). Логистический регрессионный анализ показал, что возраст, пол, размер ЛП, уровень коллагеновых маркеров ТИМП-1, ММП-1, возраст и ЦТПК-I ассоциированы с наличием ФП (таблица 2).

## Пошаговый логистический регрессионный анализ, предикторы ФП

Переменная	Соотношение	95% ДИ	
ТИМП-1	1.18	1.07-1.29	0.002
ММП-1	1.76	1.27-2.27	0.001
Возраст	1.16	1.06-1.34	0.005
ЦТПК-I	1.07	1.003-1.14	0.037

ДИ – доверительный интервал

### Обсуждение

Пациенты, изначально имеющие пароксизмальную ФП, часто прогрессируют до персистирующей ФП и в конечном итоге процесс переходит в хроническую форму ФП. Хотя точные патофизиологические механизмы плохо изучены, считается, что персистирующая ФП возникает в результате ремоделирования предсердий (9, 10). Однако чисто электрическое ремоделирование не может объяснить развитие устойчивой ФП (10, 11). Возможно участие фиброза предсердий, как фактора с более медленным течением вовлечено в данный процесс (3, 12, 13).

В этом исследовании мы продемонстрировали повышение ЦТПК-I и ЦТТК-I в группе пациентов с ФП, взятое в целом по сравнению с пациентами находящимися на СР. Интересно, что у пациентов с персистирующей и хронической формами ФП были самые высокие концентрации ЦТПК-I в сыворотке крови, тогда как между пациентами с персистирующей, хронической и пароксизмальной формами ФП не было различий в уровнях ЦТТК-I. Таким образом, ЦТПК-I продемонстрировал постепенный рост от контрольной группы к группе пациентов с пароксизмальной, персистирующей а затем и к постоянной форме ФП, однако данной связи не наблюдалось у ЦТТК-I, предположительно, интенсивность внеклеточной деградации коллагена I типа была недостаточной для компенсации его повышенного синтеза, что привело к увеличению фиброза у пациентов с персистирующей и хронической формами ФП.

Кроме того, у пациентов с хронической и персистирующей формами ФП уровни ММП-1 снижались, тогда как уровни ТИМП-1 повышались по сравнению с пациентами с пароксизмальной формой ФП. Уровень ТИМП-1 был также выше у пациентов с пароксизмальной формой ФП, чем у контрольной группы пациентов. Кроме того, в контрольной группе наблюдался более низкий уровень ММП-1, чем при пароксизмальной ФП, но выше чем у пациентов с постоянной и персистирующей

формами ФП (хотя различия не достигли статистической значимости). Это кажется парадоксальным, но это может быть результатом активации ММП-1, который зависит от природы раздражителя и отличается при острой и хронической стимуляции (14). Таким образом, пароксизмальная ФП может приводить к резкой перегрузке давления или объема, активируя систему ММП-1, которая затем компрометируется пролонгированием и стабилизацией стимула.

Еще одно интересное открытие состояло в том, что уровни ЦТПК-1 и ТИМП-1 положительно коррелировали с диаметром ЛП и обратно связаны с ФВЛЖ, тогда как у пациентов с ФП с большими размерами ЛП и меньшей ФВЛЖ, вероятно, в результате более длительной продолжительности аритмии были более низкие уровни ММП-1.

Поскольку в нашем исследовании принимали участие только пациенты с изолированной ФП, мы можем предположить, что вышеупомянутые изменения были связаны с самой аритмией, а не с наличием или отсутствием какого-либо сопутствующего фактора с прогрессирующим увеличением фиброза от пароксизмальной до хронической формы ФП. Кроме того, усиленный фиброз, особенно у пациентов с хронической формой ФП, может также является причинной, как инициации, так и поддержания ФП.

**Ограничения исследования и клинические последствия.** Сывороточные маркеры коллагена не специфичны для сердца. Кроме того, мы не подтвердили наши данные с использованием данных биопсии предсердной ткани или отбора проб коронарного синуса. Тем не менее, мы приложили максимальные усилия для исключения из исследования субъектов с условиями, связанными с образованием фиброза.

Серийные измерения индексов коллагена после восстановления СР для оценки потенциальных временных изменений уровня коллагена недоступны, хотя эти данные, несомненно, были бы ценным дополнением к нашему исследованию и могли бы подтвердить наши результаты.

И, наконец, небольшая выборка пациентов не позволяет сделать серьезных выводов относительно взаимосвязи между системным фиброзом и ФП. Однако необходимо проведение дальнейших исследований.

## **Выводы**

Маркеры сыворотки коллагена I типа могут обеспечить неинвазивный метод документирования и мониторинга степени и механизмов фиброза миокарда у пациентов с ФП, а также дать оценку фармакологическим мерам, предназначенным для

лечения этой аритмии. Однако необходимо дальнейшее изучение и проведение рандомизированных исследований для выяснения точной роли фиброза в формировании ФП и оценки клинической важности и ценности биохимического мониторинга уровня коллагена в этой клинической ситуации. Хотя сердечная биопсия является золотым стандартом для документирования и мониторинга фиброза миокарда, неинвазивные методы предлагают альтернативный взгляд на решение данной проблемы, который может иметь более широкое применение.

## References

1. Frustaci A, Chimenti C, Bellocci F, Morgante E, Russo MA, Maseri A. Histological substrate of atrial biopsies in patients with lone atrial fibrillation. *Circulation* 1997;96:1180–4.
2. Fan D, Takawale A, Lee J, et al. Cardiac fibroblasts, fibrosis and extracellular matrix remodeling in heart disease. *Fibrogenesis Tissue Repair* 2012; 5: 15.
3. Veidal SS, Nielsen MJ, Leeming DJ, et al. Phosphodiesterase inhibition mediates matrix metalloproteinase activity and the level of collagen degradation fragments in a liver fibrosis ex vivo rat model. *BMC Res Notes* 2012; 5: 686.
4. López B, González A, Varo N, Laviades C, Querejeta R, Díez J. Biochemical assessment of myocardial fibrosis in hypertensive heart disease. *Hypertension* 2001;38:1222–6.
5. Ducharme A, Frantz S, Aikawa M, et al. Targeted deletion of matrix metalloproteinase-9 attenuates left ventricular enlargement and collagen accumulation after experimental myocardial infarction. *J Clin Invest* 2000; 106: 55–62.
6. Z. Hijazi, J. Oldgren, A. Siegbahn, and L. Wallentin Application of Biomarkers for Risk Stratification in Patients with Atrial Fibrillation *Clinical Chemistry* 63:1 152–164 (2017)
7. Lijnen P, Petrov V, Fagard R. Induction of cardiac fibrosis by transforming growth factor- $\beta$ 1. *Mol Genet Metab* 2000;71:418–35.
8. Paulus Kirchhof, Stefano Benussi, Dipak Kotecha, Anders Ahlsson, Dan Atar, Barbara Casadei, Manuel Castella, Hans-Christoph Diener Hein, Heidbuchel Jeroen Hendriks. *Eur Heart J* (2016) 37 (38): 2893-2962.
9. Morishima M, Iwata E, Nakada C, Tsukamoto Y, Takanari H, Miyamoto S, Moriyama M, Ono K. Atrial Fibrillation-Mediated Upregulation of miR-30d Regulates Myocardial Electrical Remodeling of the G-Protein-Gated K(+) Channel, IK.ACh. *Circ J*. 2016 May 25;80(6):1346-55. doi: 10.1253/circj.CJ-15-1276.
10. Martin Aguilar, Xiao Yan Qi, Hai Huang, Philippe Comtois, Stanley Nattel

11. Kato K, Fujimaki T, Yoshida T, et al. Impact of matrix metalloproteinase-2 levels on long-term outcome following pharmacological or electrical cardioversion in patients with atrial fibrillation. *Europace* 2009; 11: 332–337.

12. Kostin S, Klein G, Szalay Z, Hein S, Bauer E, Schaper J. Structural correlate of atrial fibrillation in human patients. *Cardiovasc Res* 2002;54:361–79.

13. Chiang CE, Naditch-Bru<sup>^</sup> le<sup>´</sup> L, Murin J, et al. Distribution and risk profile of paroxysmal, persistent, and permanent atrial fibrillation in routine clinical practice: insight from the real-life global survey evaluating patients with atrial fibrillation international registry. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2012; 5: 632–639.

14. Santos MC, de Souza AP, Gerlach RF, et al. Inhibition of human pulpal gelatinases (MMP-2 and MMP-9) by zinc oxide cements. *J Oral Rehabil* 2004; 31: 660–664.