

PROBLEMAS RELEVANTES EN CARDIOLOGÍA 1999

Diagnóstico bioquímico de la fibrosis miocárdica hipertensiva

Javier Díez*, Concepción Laviades**, Nerea Varo***, Ramón Querejeta**** y Begoña López*

*Área de Riesgo Vascular. Clínica Universitaria y Unidad de Fisiopatología Vascular. Facultad de Medicina. Pamplona. **Sección de Nefrología. Hospital General San Jorge. Huesca. ***Servicio de Bioquímica Clínica. Clínica Universitaria. Pamplona. ****Sección de Cardiología. Hospital Nuestra Señora de Aránzazu. San Sebastián.

Se ha descrito que en el ventrículo izquierdo de animales y de humanos con hipertensión arterial el contenido de fibras de colágeno está aumentado. La fibrosis es el resultado de la acumulación de fibras de colágeno de tipo I y de tipo III debido a que su síntesis está estimulada y su degradación está inhibida o es normal. En el origen del desequilibrio entre la síntesis y la degradación participarían tanto factores hemodinámicos como no hemodinámicos. Clínica y experimentalmente se ha demostrado que la acumulación exagerada de colágeno fibrilar en el miocardio ventricular facilita el desarrollo de alteraciones de la función cardíaca, de la reserva coronaria y de la actividad eléctrica. Aunque el examen microscópico de biopsias endomiocárdicas es el método más fiable para evaluar la fibrosis miocárdica, en los pacientes hipertensos se impone el desarrollo de métodos no invasivos. Nuestro grupo ha desarrollado un método bioquímico consistente en la determinación de los péptidos que aparecen en la sangre cuando se sintetizan y se degradan las moléculas de colágeno fibrilar y lo ha aplicado al estudio de la fibrosis miocárdica en las ratas con hipertensión espontánea y en los pacientes con hipertensión arterial esencial.

Palabras clave: Colágeno. Fibrosis miocárdica. Hipertensión arterial. Péptidos.

(*Rev Esp Cardiol* 2000; 53 [Supl 1]: 8-13)

Biochemical Diagnosis of Hypertensive Myocardial Fibrosis

A substantial increase in fibrillar collagen has been observed in the left cardiac ventricle of animals and humans with arterial hypertension. Hypertensive myocardial fibrosis is the result of both increased collagen types I and III due to the fact that its synthesis by fibroblasts and myofibroblasts is stimulated and its extracellular collagen degradation unchanged or decreased extracellular collagen degradation. Hemodynamic and non-hemodynamic factors may be involved in the disequilibrium between collagen synthesis and degradation that occurs in hypertension. As shown experimentally and clinically, an exaggerated rise in fibrillar collagen content promotes abnormalities of cardiac function, contributes to the decrease in coronary reserve and facilitates alterations in the electrical activity of the left ventricle. Although microscopic examination of cardiac biopsies is the most reliable method for documenting and measuring myocardial fibrosis, the development of non-invasive methods to indicate the presence of myocardial fibrosis in hypertensive patients would be useful. We have therefore applied a biochemical method based on the measurement of serum peptides derived from the tissue formation when synthesized and degradation of fibrillar collagens to monitor the turnover of these molecules in rats with spontaneous hypertension and patients with essential hypertension.

Key words: Collagen. Myocardial fibrosis. Arterial hypertension. Peptides.

(*Rev Esp Cardiol* 2000; 53 [Supl 1]: 8-13)

INTRODUCCIÓN

La hipertensión arterial altera la estructura y compromete la función del músculo cardíaco, dando lugar a la cardiopatía hipertensiva. Además, la hipertensión facilita el desarrollo de aterosclerosis coronaria, por lo que también propicia la aparición de la cardiopatía isquémica. Por todo ello, la morbimortalidad cardíaca

asociada con la hipertensión arterial es elevada¹. De hecho, la mayoría de los pacientes con insuficiencia cardíaca tienen historia de hipertensión².

Desde el punto de vista fisiopatológico, la hipertensión afecta al miocardio en dos períodos evolutivos³. La sobrecarga de presión se caracteriza por un período inicial de compensación en el que la hipertrofia concéntrica del ventrículo izquierdo normaliza el estrés sistólico parietal y la función contráctil se preserva. El período de adaptación, que puede durar de meses a años, se sigue por la transición hacia la insuficiencia cardíaca cuando el tratamiento antihipertensivo no es

Correspondencia: Dr. J. Díez.
Unidad de Fisiopatología Vascular. Facultad de Medicina.
Irunlarrea, s/n. 31080 Pamplona.
Correo electrónico: jadimar@unav.es

eficaz. La transición se caracteriza por el compromiso del llenado ventricular durante la diástole (disfunción diastólica) y/o por el compromiso progresivo de la contractibilidad (disfunción sistólica) y la dilatación de la cámara ventricular. Numerosas observaciones sugieren que la transición de la hipertrofia compensadora a la insuficiencia cardíaca se relaciona con diversos cambios celulares y tisulares: pérdida del número de cardiomiocitos debido tanto a apoptosis como a necrosis^{4,5}; cambios en la unidad motora y el citoesqueleto de los cardiomiocitos^{6,7}, y alteraciones en el metabolismo de la matriz extracelular que conducen a la fibrosis del miocardio^{8,9}.

Este artículo se centrará en la fibrosis miocárdica hipertensiva. Concretamente, se describirán las bases conceptuales de un método aplicable al diagnóstico bioquímico indirecto de la misma y se comentarán los hallazgos experimentales y clínicos disponibles sobre el particular.

ASPECTOS GENERALES DE LA FIBROSIS MIOCÁRDICA HIPERTENSIVA

Desde el punto de vista histológico, la fibrosis miocárdica hipertensiva presenta las siguientes características definitorias^{10,11}: está constituida por el depósito exagerado de fibras de colágeno tipo III inicialmente y tipo I a medida que el proceso progresa; las fibras se disponen como haces que surcan el intersticio y en torno a los vasos intramiocárdicos; la acumulación de fibras se objetiva tanto en la pared libre del ventrículo izquierdo como en el tabique interventricular y en la pared libre del ventrículo derecho; la cuantía del depósito de fibras se relaciona inversamente con el número de cardiomiocitos y directamente con el grado de hipertrofia de los mismos.

Aunque se ha demostrado que la fibrosis miocárdica hipertensiva forma parte obligada del remodelado estructural miocárdico hipertensivo¹², su prevalencia está poco estudiada. En un estudio reciente de nuestro grupo, biopsiando el tabique interventricular de pacientes con hipertensión arterial esencial, se objetivó que el 11% de los enfermos presentaban fibrosis nula-mínima, el 58% presentaban fibrosis ligera-moderada y el 31% presentaban fibrosis severa (fig. 1)¹³.

Son abundantes las evidencias que sugieren que la combinación de la sobrecarga hemodinámica hipertensiva con la activación local de ciertos mecanismos (hormonas, factores de crecimiento, citocinas e integrinas) facilita la fibrosis miocárdica hipertensiva^{11,14,15}. De especial interés son las evidencias que incriminan a la angiotensina II^{16,17}. En concreto, se ha podido demostrar *in vivo* que la interacción directa de la angiotensina II con sus receptores AT₁ presentes en los fibroblastos miocárdicos estimula la síntesis e inhibe la degradación de las fibras de colágeno tipo I y tipo III en el ventrículo izquierdo de ratas con hipertensión espontánea (SHR)^{18,19}.

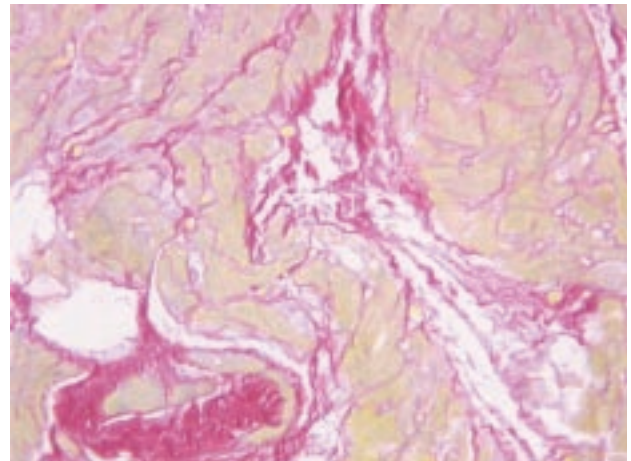


Fig. 1. Imagen del tejido endomiocárdico de un paciente hipertensivo esencial con fibrosis severa. La muestra fue tratada con rojo de picrosirio, que tiñe de color rojo las fibras de colágeno ($\times 20$).

La fibrosis progresiva del ventrículo izquierdo puede ser el factor estructural que establezca la diferencia entre la hipertrofia compensadora y el remodelado patológico asociados con la hipertensión arterial. De hecho, la intensidad de la fibrosis se asocia con la severidad de las distintas manifestaciones fisiopatológicas de la cardiopatía hipertensiva: disfunción diastólica²⁰ y sistólica²¹, disminución de la reserva coronaria²² y arritmias ventriculares²¹.

APROXIMACIÓN AL DIAGNÓSTICO BIOQUÍMICO DE LA FIBROSIS MIOCÁRDICA HIPERTENSIVA

Del apartado precedente se desprende que tanto por su prevalencia como por sus consecuencias fisiopatológicas, la fibrosis que afecta al miocardio en la hipertensión requiere la atención del clínico, para detectarla y para prevenirla o revertirla.

El diagnóstico de la fibrosis miocárdica hipertensiva es básicamente histológico, pero dadas las complicaciones técnicas y los riesgos del procedimiento, así como el gran número de sujetos susceptibles de ser sometidos a la misma, es preciso desarrollar métodos alternativos no invasivos. En este sentido, dos son los métodos que se están desarrollando actualmente: un método ecocardiográfico que permite discriminar la textura del tejido miocárdico²³ y un método bioquímico que determina en sangre la presencia de marcadores de la síntesis y la degradación del colágeno tipo I y tipo III^{24,25}. A continuación se revisan de forma resumida los aspectos fundamentales de este método bioquímico.

Biofisiología del colágeno fibrilar

Los fibroblastos presentes en el intersticio miocárdico y los cardiomiocitos transformados en miofibro-

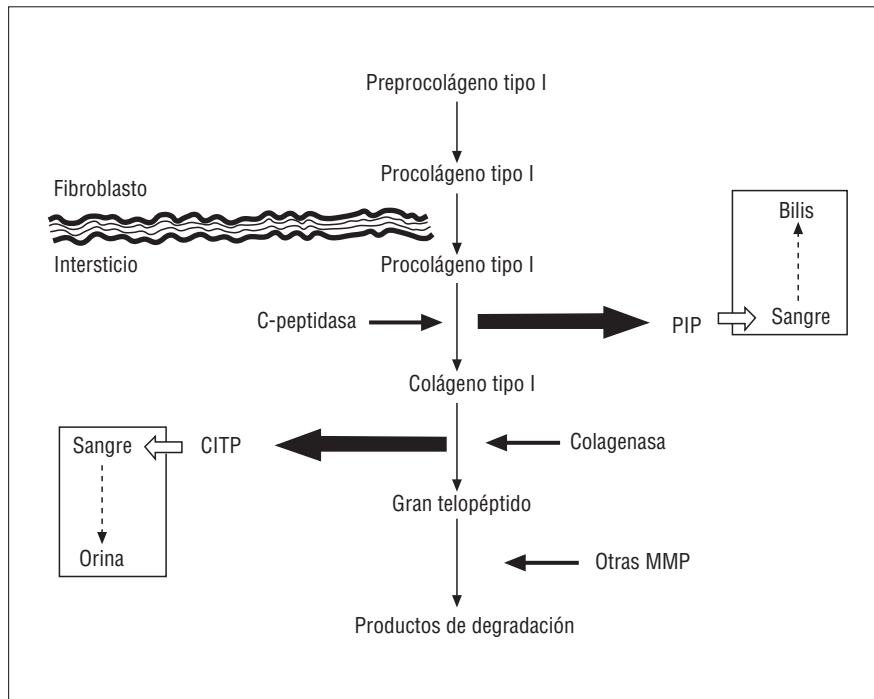


Fig. 2. Esquema representativo de la formación y del paso a la sangre de los péptidos originados durante la síntesis y la degradación del colágeno fibrilar tipo I. MMP: metaloproteinasas de la matriz; CITP: pequeño telopéptido del colágeno I.

blastos secretan al espacio extracelular moléculas de procolágeno. Dichas moléculas son sometidas a un proceso de proteólisis que las convertirá en moléculas estables capaces de formar fibras²⁶. La proteólisis consiste en la eliminación de los péptidos terminales y está catalizada por dos grupos de proteinasas específicas para cada tipo de procolágeno: las endopeptidasas N-terminales que hidrolizan el péptido del extremo N-terminal y las endopeptidasas C-terminales que hidrolizan el péptido del extremo C-terminal. Estas enzimas son secretadas por los fibroblastos y otras especies celulares y requieren un pH neutro y calcio para ser activas.

Las moléculas de colágeno interactúan entre sí a lo largo de un proceso de polimerización que implica la formación de enlaces covalentes entre moléculas adyacentes y que acabará conduciendo a la formación de la fibra definitiva²⁶. Estas fibras son altamente resistentes a la acción de la mayoría de las proteinasas, por lo que su vida media es de aproximadamente 100-110 días. Transcurrido este tiempo, las moléculas de colágeno fibrilar son hidrolizadas en dos péptidos por una enzima de la familia de las metaloproteinasas de la matriz (MMP), la colagenasa o MMP-1²⁷. En condiciones normales, el 98% de la colagenasa se halla latente en el intersticio, o sea, inhibida por unos compuestos endógenos denominados inhibidores tisulares de las metaloproteinasas de la matriz (TIMP) y de los que el TIMP-1 es el más importante²⁷. Por ello, la interacción entre estos compuestos y la colagenasa determina críticamente la degradación de las fibras de colágeno.

Marcadores séricos del metabolismo del colágeno fibrilar

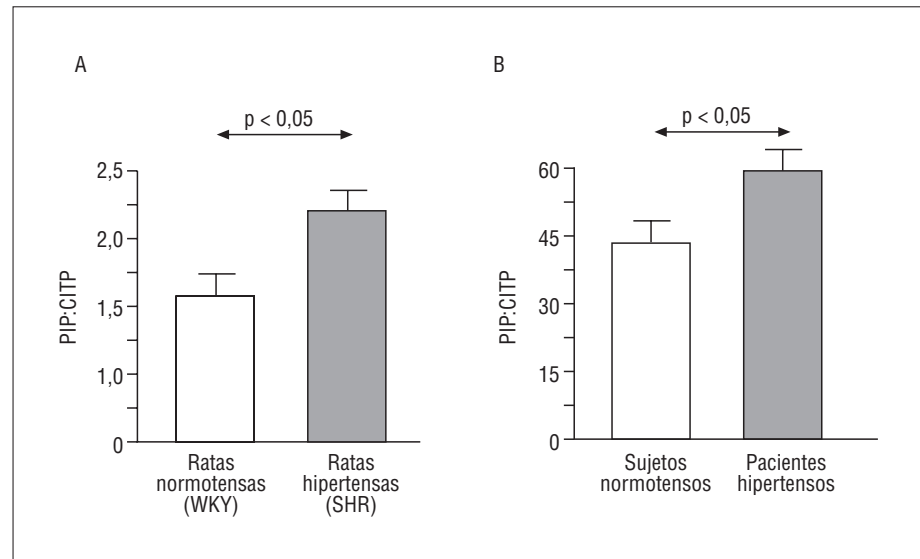
Durante la conversión del procolágeno tipo I en colágeno tipo I, una endopeptidasa-C-terminal específica hidroliza un péptido de 100 kD del extremo C-terminal: el PIP (fig. 2)²⁶. Por cada molécula de procolágeno tipo I convertida en molécula de colágeno tipo I se forma una molécula de PIP que pasa a la sangre (estequiometría 1:1), donde se puede detectar mediante un radioinmunoanálisis específico²⁸.

Análogamente, durante la conversión del procolágeno tipo III en colágeno tipo III, una endopeptidasa N-terminal específica hidroliza un péptido de 30 kD del extremo N-terminal que pasará a la sangre con una estequiometría 1:1, el PIIP²⁶. El PIIP también se determina en sangre mediante radioinmunoanálisis específico²⁹.

Como se ha señalado anteriormente, la colagenasa hidroliza a las moléculas de colágeno fibrilar en dos fragmentos: un telopéptido grande equivalente al 75% de la molécula y un telopéptido pequeño equivalente al 25% restante, que contiene el extremo C-terminal y que pasa a la sangre con una estequiometría 1:1²⁷. El pequeño telopéptido del colágeno tipo I (CITP) tiene 12 kD y se determina en sangre mediante radioinmunoanálisis específico (fig. 2)³⁰.

Diversos estudios experimentales y clínicos han demostrado que, en condiciones de normofunción hepática y renal, la determinación de las concentraciones séricas de PIP y de CITP informa acerca de la cuantía de la síntesis y la degradación sistémicas de colágeno

Fig. 3. El cociente PIP:CITP da una idea del grado de acoplamiento entre la síntesis y la degradación del colágeno fibrilar tipo I. Tanto en las ratas (A, adaptado de referencia 31), como en los pacientes (B, adaptado de referencias 32 y 33) con hipertensión se observa un aumento anormal del cociente, lo que indica que la síntesis de colágeno tipo I no es adecuadamente compensada por su degradación. PIP: CITP: pequeño telopéptido del colágeno I.



tipo I, respectivamente^{24,25}. La determinación de PIIP también informa sobre la cuantía de la síntesis de PIIP, pero como no todas las moléculas de procolágeno tipo III son hidrolizadas, su representatividad es menor.

Marcadores séricos en la hipertensión genética de la rata

En un estudio efectuado en ratas SHR adultas con hipertrofia y fibrosis del ventrículo izquierdo³¹ se ha observado que las concentraciones séricas de PIP estaban anormalmente elevadas y que se correlacionaban directamente con la cuantía del depósito de colágeno tipo I en el miocardio. Este dato y la constatación de que en dichas ratas no existía depósito exagerado de colágeno tipo I en otros órganos apoya la idea de que el PIP sérico es un buen marcador de la fibrosis miocárdica.

En el mismo trabajo se observó que las ratas SHR presentaban concentraciones séricas de CITP similares a las de las ratas normotensas Wistar-Kyoto (WKY)³¹. Es decir, que en las ratas SHR coexistían una síntesis excesiva de moléculas de colágeno tipo I con una degradación normal de las mismas. Este predominio de la síntesis sobre la degradación se ha confirmado en trabajos recientes^{18,19} y apoya el concepto de que la fibrosis miocárdica hipertensiva ocurre porque el exceso de fibras de colágeno que se producen no está suficientemente degradado (fig. 3).

Cuando las ratas SHR eran tratadas con el inhibidor de la ECA quinapril³¹ o con el antagonista de los receptores AT₁ losartán^{18,19}, se observó que las concentraciones de PIP y el balance PIP:CITP se normalizaban, que ambos efectos eran independientes de la eficacia antihipertensiva y que coincidían con la pre-

vención del desarrollo de la fibrosis miocárdica. Es interesante mencionar que los resultados observados en las ratas SHR tratadas con losartán sugieren que la angiotensina II estimula la síntesis postranscripcional de colágeno tipo I, a la par que estimula la actividad de la colagenasa^{18,19}.

Marcadores séricos en la hipertensión arterial esencial

En pacientes hipertensos esenciales se han hallado concentraciones séricas de PIP más elevadas que en los sujetos normotensos control³². En un estudio reciente se ha observado que los valores de PIP sérico se correlacionaban directamente con los valores de la fracción de miocardio ocupado por colágeno en la biopsia de los pacientes¹³.

En los pacientes hipertensos también se han objetivado concentraciones séricas de CITP inadecuadamente bajas para las correspondientes concentraciones de PIP³³. Hay que señalar que en ese mismo trabajo se observa que los hipertensos presentaban concentraciones circulantes de colagenasa anormalmente bajas y concentraciones circulantes de TIMP-1 anormalmente elevadas³³. De todo ello se deduce que también en el paciente hipertenso la síntesis de colágeno tipo I está estimulada y su degradación inhibida, lo que confirma que existe un desacoplamiento entre ambos procesos que facilitará la fibrosis (fig. 3).

Al igual que sucede en las ratas SHR, el tratamiento modifica el metabolismo del colágeno tipo I en los pacientes hipertensos. Así, en los pacientes tratados con el inhibidor de la ECA lisinopril disminuían las concentraciones séricas de PIP³² y aumentaban las de CITP³³. La falta de relación de estos efectos bioquímicos con el impacto del tratamiento sobre la presión ar-

terial sugiere que el balance angiotensina/bradiginina participa en las alteraciones del metabolismo del colágeno tipo I en la hipertensión arterial esencial.

Se ha descrito que las concentraciones séricas de PIII están anormalmente elevadas en los pacientes con hipertensión arterial esencial y que se normalizan tras el tratamiento con lisinopril^{32,34}, lo que sugeriría que la síntesis de colágeno tipo III también está estimulada en los hipertensos.

CONCLUSIONES

La evolución de diversas cardiopatías está determinada por la respuesta reparativa que sigue a la lesión, sea ésta hemodinámica, isquémica, inmunológica o desconocida. Por ello, para comprender la evolución fisiopatológica de las cardiopatías y para diseñar medidas destinadas a su modulación es importante valorar la intensidad y la duración de la respuesta reparativa³⁵. La cardiopatía hipertensiva constituye un buen ejemplo de esta estrategia.

En efecto, un tercio de los pacientes con hipertensión arterial presentan un grado severo de fibrosis miocárdica, lo que puede propiciar el desarrollo de complicaciones cardíacas que condicionen negativamente el pronóstico de los mismos. Es por ello que se están desarrollando métodos no invasivos que permitan al clínico detectar fiablemente esta lesión. Más aún, métodos que proporcionen al médico parámetros objetivos para evaluar el verdadero impacto del tratamiento antihipertensivo sobre la estructura del miocardio. En este artículo se han revisado los datos experimentales y clínicos que sugieren que los péptidos circulantes derivados del metabolismo del colágeno fibrilar, especialmente el de tipo I, pueden ser útiles en este sentido. Sin embargo, su verdadera utilidad clínica vendrá dada por estudios clínicos a gran escala, actualmente en curso, diseñados para comprobar si se trata de parámetros de alta especificidad y sensibilidad y con un elevado grado de reproducibilidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Frohlich ED. Risks mechanisms in hypertensive heart disease. *Hypertension* 1999; 34: 782-789.
2. Vasan RS, Levy D. The role of hypertension in the pathogenesis of heart failure: a clinical mechanistic overview. *Arch Intern Med* 1996; 156: 1789-1796.
3. Levy D, Larson MG, Varsan RS, Kannel WB, Ho KKL. The progression from hypertension to congestive heart failure. *JAMA* 1996; 275: 1557-1562.
4. Anversa P, Kajstura J, Olivetti G. Myocyte death in heart failure. *Curr Opin Cardiol* 1996; 11: 245-251.
5. Díez J, Fortuño MA, Ravassa S. Apoptosis in hypertensive heart disease. *Curr Opin Cardiol* 1998; 13: 317-325.
6. Wagoner LE, Walsh RA. The cellular pathophysiology of progression to heart failure. *Curr Opin Cardiol* 1996; 11: 237-244.

7. James J, Robbins J. Molecular remodeling of cardiac contractile function. *Am J Physiol* 1997; 273: H2105-H2118.
8. Weber KT. Cardiac interstitium in health and disease: the fibrillar collagen network. *J Am Coll Cardiol* 1989; 13: 1637-1652.
9. Weber KT, Brilla CG, Janicki JS. Myocardial fibrosis: functional significance and regulatory factors. *Cardiovasc Res* 1993; 27: 341-348.
10. Olivetti G, Melissari M, Balbi T, Quaini F, Cigola E, Sonnenblick EH et al. Myocyte cellular hypertrophy is responsible for ventricular remodeling in the hypertrophied heart of middle aged individuals in the absence of cardiac failure. *Cardiovasc Res* 1994; 28: 1199-1208.
11. Weber KT, Sun Y, Dhalla AK, Guntaka RV. Extracellular matrix and fibrosis in cardiac hypertrophy. En: Sheridan DJ, editor. *Left Ventricular Hypertrophy*. Londres: Churchill Livingstone, 1998; 37-44.
12. Pardo-Mindán FJ, Panizo A. Alterations in the extracellular matrix of the myocardium in essential hypertension. *Eur Heart J* 1993; 14 (Supl J): 12-14.
13. Querejeta R, Varo N, López B, Larman M, Artiñano E, Etayo JC et al. Serum carboxy-terminal propeptide of procollagen type I is a marker of myocardial fibrosis in hypertensive heart disease. *Circulation*. En prensa.
14. Weber KT, Sun Y, Guarda E. Structural remodeling in hypertensive heart disease and the role of hormones. *Hypertension* 1994; 23: 869-877.
15. Hsueh WA, Law RE, Do YS. Integrins, adhesion, and cardiac remodeling. *Hypertension* 1998; 31: 176-180.
16. Weber KT. Extracellular matrix remodeling in heart failure. A role for de novo angiotensin II generation. *Circulation* 1997; 96: 4065-4082.
17. Sun Y, Ramirez FJA, Zhou G, Ganjam VK, Weber KT. Fibrous tissue and angiotensin II. *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29: 2001-2012.
18. Varo N, Etayo JC, Zalba G, Beaumont J, Iraburu MJ, Montiel C et al. Losartan inhibits the post-transcriptional synthesis of collagen type I and reverses left ventricular fibrosis in spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 1999; 17: 107-114.
19. Varo N, Iraburu MJ, Varela M, López B, Etayo JC, Díez J. Chronic AT₁ blockade stimulates extracellular collagen type I degradation and reverses myocardial fibrosis in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*. En prensa.
20. Hess OM, Schneider J, Kock R, Bamert C, Grimm J, Krayenbuehl HP. Diastolic function and myocardial structure in patients with myocardial hypertrophy. *Circulation* 1981; 63: 360-371.
21. McLenachan JM, Dargie HJ. Ventricular arrhythmias in hypertensive left ventricular hypertrophy: relationship to coronary artery disease, left ventricular dysfunction and myocardial fibrosis. *Am J Hypertens* 1990; 3: 735-740.
22. Kozáková M, Palombo C, Pratali L, Pittella G, Galetta F, L'Abbate A. Mechanisms of coronary flow reserve impairment in human hypertension. An integrated approach by transthoracic and transesophageal echocardiography. *Hypertension* 1997; 29: 551-559.
23. Ciulla M, Paliotti R, Hess DB, Tjahja E, Campbell SE, Magrini F et al. Echocardiographic patterns of myocardial fibrosis in hypertensive patients: endomyocardial biopsy versus ultrasonic tissue characterization. *J Am Soc Echocardiogr* 1997; 10: 657-664.
24. Díez J, Laviades C, Monreal I, Gil MJ, Panizo A, Pardo J. Toward the biochemical assessment of myocardial fibrosis in hypertensive patients. *Am J Cardiol* 1995; 76: D14-D17.
25. Díez J, Laviades C. Monitoring fibrillar collagen turnover in hypertensive heart disease. *Cardiovasc Res* 1997; 35: 202-205.
26. Nimmi ME. Fibrillar collagens: their biosynthesis, molecular structure, and mode of assembly. En: Zern MA, Reid LM, editors. *Extracellular matrix*. Nueva York: Marcel Dekker, 1993; 121-148.
27. Janicki JS. Collagen degradation in the heart. En: Eghbali-Webb M, editor. *Molecular Biology of Collagen Matrix in the Heart*. Austin: RG Lanes, 1995; 61-76.

28. Meikko J, Niemi S, Risteli L, Risteli J. Radioimmunoassay of the carboxyterminal propeptide of human type I collagen. *Clin Biochem* 1993; 26: 191-198.
29. Risteli J, Niemi S, Trivedi P, Mäentausta O, Mowat AP, Risteli L. Rapid equilibrium radioimmunoassay for the aminoterminal propeptide of human type III procollagen. *Clin Chem* 1988; 34: 715-718.
30. Risteli J, Elomaa I, Niemi S, Novamo A, Risteli L. Radioimmunoassay for the pyridoline cross-linked carboxyterminal telopeptide of type I collagen: a new serum marker of bone collagen degradation. *Clin Chem* 1993; 39: 635-640.
31. Díez J, Panizo A, Gil MJ, Monreal I, Hernández M, Pardo Mindán J. Serum markers of collagen type I metabolism in spontaneously hypertensive rats. Relation to myocardial fibrosis. *Circulation* 1996; 93: 1026-1032.
32. Díez J, Laviades C, Mayor G, Gil MJ, Monreal I. Increased serum concentration of procollagen peptides in essential hypertension. Relation to cardiac alterations. *Circulation* 1995; 91: 1450-1456.
33. Laviades C, Varo N, Fernández J, Mayor G, Gil MJ, Monreal I et al. Abnormalities of extracellular degradation of collagen type I in essential hypertension. *Circulation* 1998; 98: 535-540.
34. Laviades C, Mayor G, Díez J. Treatment with lisinopril normalizes serum concentrations of procollagen type III amino-terminal peptide in patients with essential hypertension. *Am J Hypertens* 1994; 7: 52-58.
35. Weber KT. Monitoring tissue repair and fibrosis from a distance. *Circulation* 1997; 96: 2488-2492.