

Transkryptom rodziny TGF- β , jego receptorów i ścieżek sygnałowych u chorych z zaawansowaną chorobą wieńcową oraz po zawale serca

Transcriptome of TGF- β family, TGF- β receptors, and TGF- β receptor-activated signaling pathways in advanced coronary artery disease (CAD) and post-MI patients

Józefa Dąbek¹, Andrzej Bochenek², Andrzej Kułach¹, Justyna Szota³, Zbigniew Gąsior¹

¹Katedra i Klinika Kardiologii Wydziału Opieki Zdrowotnej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach (Department of Cardiology, Medical University of Silesia in Katowice)

²Katedra i Klinika Kardiologii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach (1st Department of Cardiac Surgery, Medical University of Silesia in Katowice)

³Katedra i Zakład Biologii Molekularnej Wydziału Farmaceutycznego Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach (Department of Molecular Biology, Medical University of Silesia in Katowice)

Streszczenie

Wstęp: Transformujący czynnik wzrostu beta (TGF- β , *transforming growth factor beta*) jest jedną z kluczowych cytokin biorących udział w procesie włóknienia, w tym przebudowy miokardium po zawale serca. Celem pracy była ocena metodą mikromacierzy oligonukleotydowych profilu ekspresji genów rodziny TGF- β w miokardium chorych: po przebytych zawale, z zaawansowaną chorobą wieńcową oraz u osoby bez choroby niedokrwiennej serca.

Materiał i metody: Spośród 22 283 transkryptów analizowanych za pomocą mikromacierzy HG-U133A Affymetrix badano geny związane z TGF- β i jego ścieżkami sygnałowymi. Wyłoniono następujące geny różnicujące: ENG, TGFBR1 oraz NPR1 (ANP-GC-A).

Wyniki: Zwiększoną ekspresję genów różnicujących stwierdzono w miokardium pozawałowym w porównaniu z pozostałymi próbkami, potwierdzając w ten sposób rolę mechanizmów TGF- β — zależnych w remodelingu pozawałowym.

Wnioski: Uzyskane ilościową techniką mikromacierzy oligonukleotydowych wstępne wyniki wymagają potwierdzenia metodą ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym (QRT-PCR, *quantitative real time polymerase chain reaction*) po zebraniu odpowiednio dużej grupy chorych.

Słowa kluczowe: TGF- β , mikromacierze, remodeling pozawałowy

Chirurgia Polska 2008, 10, 158-163

Abstract

Introduction: Transforming growth factor beta (TGF- β) is one of the most important cytokines which participate in fibrotic processes, including post-MI fibrosis. The purpose of this research was to determine TGF- β family gene expression profiles in the myocardium of patient after a myocardial infarction and to compare the results to a transcriptome in multivessel coronary artery disease (with no history of MI) and a subject with normal coronary vessels.

Material and methods: After a statistical analysis of 22,283 transcripts analyzed using HG-U133A Affymetrix microarrays, the differentiating transcripts were, i.e. ENG, TGFBR1 and NPR1 (ANP-GC-A).

Results: Although in the post-MI myocardium the differentiating genes were overexpressed, they were downregulated in the myocardium with no MI history, thus suggesting a role for TGF- β in post-infarction cardiac remodeling.

Conclusions: The preliminary and, in our opinion, interesting semi-quantitative results of the oligonucleotide microarray technique need confirmation through a quantitative real time-polymerase chain reaction (QRT-PCR), as well as being based on a larger group of patients.

Key words: TGF β , microarrays, myocardial remodeling

Polish Surgery 2008, 10, 158-163

Wstęp

Transformujący czynnik wzrostu beta (TGF- β) jest cytokiną o licznych, dobrze poznanych funkcjach w procesach fizjologicznych i patologicznych, takich jak wzrost i różnicowanie komórek, zapalenie, nowotworzenie, miażdżyca, angiogeneza, procesy naprawy tkanek oraz włóknienie [1, 2].

Układ receptorowy TGF- β obejmuje 2 receptory błonowe: TGF- β RI i RII, które ulegają pobudzeniu po połączeniu liganda z koreceptorem TGF- β RIII (betaglikanem lub endogliną), jedynie pośrednio zaangażowanym w transdukcję sygnału [3, 4]. Ostateczny efekt przyłączenia ligandu zależy w dużym stopniu od proporcji tych receptorów. Wysoka ekspresja receptora typu II promuje efekt wazoprotekcyjny, przeciwzapalny i przeciwmiażdżycowy. Nadekspresja indukowalnego TGF- β RI z kolei promuje zjawiska patologiczne, takie jak włóknienie [2, 5-9]. W świetle powyższych danych procesy TGF- β -zależne w niedokrwionym miokardium wydają się być szczególnie interesujące, zwłaszcza w aspekcie włóknienia i neowaskularyzacji niedokrwionego miokardium.

Celem niniejszej pracy była ocena profilu ekspresji genów rodziny TGF- β w miokardium chorych po przebytym zawale, z zaawansowaną chorobą wieńcową (bez zawału serca w wywiadzie) oraz u osoby bez zmian w naczyniach wieńcowych, wykonana metodą mikromacierzy oligonukleotydowych.

Materiał i metody

Pacjenci

Analizie poddano uszka prawego przedsionka pochodzące od 3 chorych (tab. I) operowanych w trybie planowym w I Klinice Kardiochirurgii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach. U wszystkich pacjentów wykonano EKG, UKG, koronarografię, morfologię krwi z rozmazem oraz oznaczono troponinę I, CK, CK-MB. U chorej z zaawansowaną chorobą wieńcową (próbka 7) oraz u chorego z zaawansowaną dławicą po przebytym zawale ściany dolnej (niedrożność prawej tętnicy wieńcowej) (próbka 2), przeprowadzono operację pomostowania tętnic wieńcowych. Natomiast u chorej ze zwężeniem zastawki mitralnej (próbka 11) wykonano operację wymiany tej zastawki mitralnej. Wszystkie operacje przeprowadzone były w krążeniu pozaustrojowym.

Podczas zabiegu w krążeniu pozaustrojowym rutynowo została usunięta część prawego przedsionka, którą następnie wyrzucano. Ten fragment tkanki został, za zgodą uczestników, wykorzystany do badań genetycz-

Introduction

The diverse effects of TGF- β on physiological and pathological processes have been widely recognized and involve cell growth and differentiation, inflammation, carcinogenesis, fibrosis, tissue repair, atherogenesis and angiogenesis [1, 2].

The cell TGF- β signaling system consists of membrane type I and II receptors and a type III coreceptor (betaglycan and endoglin). Receptors RI and RII are responsible for betaglycan- or endoglin-modulated signal transmission, which themselves do not participate in signaling pathways [3, 4]. Depending on signal transmission by the two receptors, two diverse and contradictory functions of TGF- β have been observed. When the type II receptor is overexpressed, protective effects can be observed in the cardiovascular system (vasoprotection, antiatherosclerotic and anti-inflammatory actions). In the case of RI enhancement, pathologies such as fibrosis excess can be found [2, 5-9]. Considering the above, the role of the TGF- β system in tissues increased with ischemia, as well as its potential effect on myocardial remodeling, especially on fibrosis and neovascularisation, seems very interesting.

The purpose of the present study was to determine TGF- β family gene expression profiles in patients with multivessel coronary artery disease. An additional aim was a comparative analysis of the results obtained from patients with multivessel coronary artery disease, but presenting no history of MI, with those presenting advanced CAD and a history of myocardial infarction, as well as with a subject with normal coronary vessels.

Material and methods

Patients

Our study subjects comprised two patients selected for surgical management of coronary artery disease, and one patient with normal coronary vessels on coronary angiography who had undergone mitral valve surgery (Tab. I). All subjects had an ECG, echo, coronary angiography, complete blood count and leukocyte differential count performed while plasma levels of troponine I, CK and CK-MB were also assessed. The investigated tissue samples were sections from the right cardiac auricles obtained during elective surgery performed in the First Department of Cardiosurgery (Medical University of Silesia, Katowice). The patient with advanced CAD (sample 7), and the patient with a history of inferior wall

Tabela I. Charakterystyka badanych chorych
Table I. Investigated patients' characteristics

Próbka Sample	Płeć Sex	Wiek Age	Diagnoza Diagnosis	Przebyty zawał History of MI	Palenie tytoniu Smoking
2	M/M	57	Dusznicza stabilna, stan po zawale Stable angina, post-MI	Tak/Yes	Nie/No
7	K/F	65	Dusznicza stabilna Stable angina	Nie/No	Nie/No
11	K/F	63	Stenoza mitralna Mitral stenosis	Nie/No	Nie/No

MI (myocardial infarction) — zawał serca; M (male) — mężczyzna; F (female) — kobieta

nych. Próbkę bezpośrednio po pobraniu umieszczono w ciekłym azocie, a następnie przechowywano w temp. -70°C do czasu analizy.

Ekstrakcja kwasów rybonukleinowych

Ekstrakcji mRNA dokonano przy użyciu odczynnika do izolacji całkowitego RNA — Trizol™ (Invitrogen). Po wyizolowaniu kwasu rybonukleinowego RNA oczyszczano poprzez trawienie DNazą I na kolumnach zestawu RNeasy Mini Kit firmy Qiagen. Wydajność ekstrakcji oceniano spektrofotometrycznie za pomocą spektrofotometru Gene Quant II. Jakość całkowitego RNA, cDNA i cRNA została oceniona techniką elektroforezy w 1,2% żelu agarozowym.

Aktywność transkrypcyjna genów wyznaczona techniką mikromacierzy oligonukleotydowych

Całkowite RNA (8 mg) wyizolowane z komórek prawego przedsionka zostało wykorzystane do syntezy dwuniciowego cDNA (Invitrogen SuperScript Choice System). W kolejnym etapie syntetyzowano cRNA wyznaczone biotyną (reakcja transkrypcji *in vitro*, Enzo kit). Biotynylowany cRNA został pofragmentowany, a następnie poddany hybrydyzacji z mikromacierzą Test3 oraz HG-U133A (Affymetrix) i znakowany kompleksem streptawidyna-fikoerytryna. Intensywność fluorescencji była analizowana z użyciem skanera GeneArray Scanner G2500A. Analiza otrzymanych wyników została przeprowadzona z wykorzystaniem programów MicroArray Suite 5.0 i Data Mining Tool (Affymetrix).

Analiza statystyczna

Spośród 22 283 transkryptów, których aktywność transkrypcyjną można analizować z zastosowaniem mikromacierzy oligonukleotydowej HG-U133A Affymetrix, wyszukano numery (tzw. ID) genów związanych z TGF- β i jego ścieżkami sygnałowymi. Następnie przy udziale programu Cluster 3.0 porównano podobieństwo transkryptomów chorych metodą klasteryzacji hierarchicznej (aglomeracja z miarą Euklidesa), która pozwoliła podzielić badaną grupę na dwie podgrupy. W celu znalezienia genów różnicujących podgrupy zastosowano regresję liniową z 99% obszarem prognozy („kryterium statystyczne”) oraz „kryterium biologiczne”, które zdefiniowano jako 2-krotny wzrost lub obniżenie ekspresji danego genu w analizowanych próbkach. Za geny różnicujące zostały uznane tylko te, które znalazły się poza obszarem najszybszym.

myocardial infarction caused by a right coronary artery occlusion (sample 2) received coronary bypass grafts. The patient with mitral stenosis and a normal coronarangiography result (sample 11) had undergone a mitral valve replacement. All three subjects were operated on with the use of a cardiopulmonary bypass system.

Excision of right cardiac auricle is routinely performed during a surgical procedure with extracorporeal circulation; the specimen is usually disposed of. By consent of the study subjects, and Bioethic Committee at the Medical University of Silesia the tissue was used in genetic research. Immediately after collection, tissue samples were placed in liquid nitrogen, and then stored for analysis at a temperature of minus 70°C .

RNA extraction

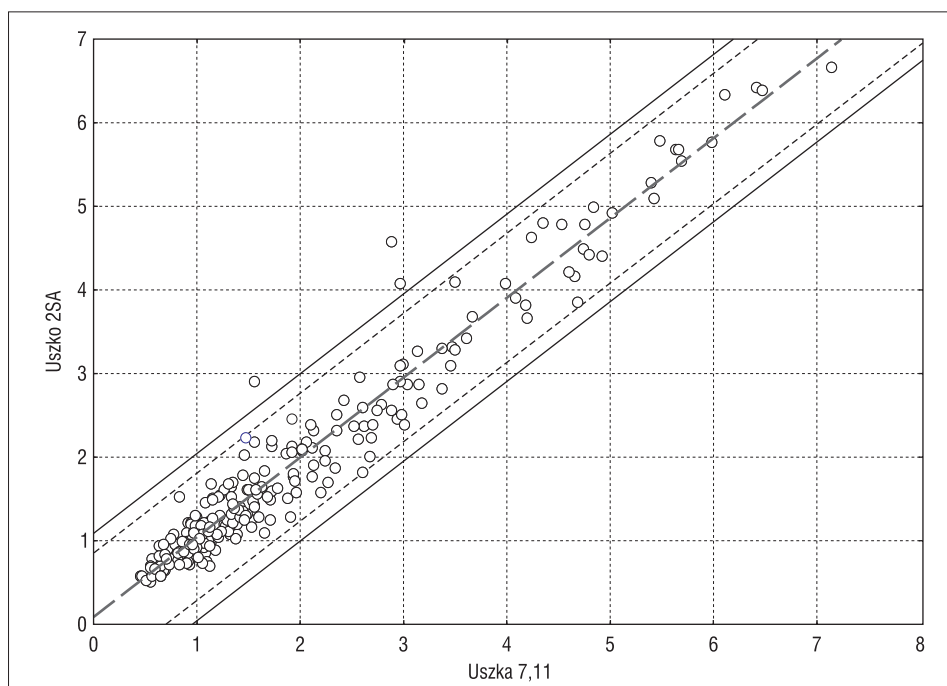
The investigations were carried out on Trizol™ (Invitrogen)-extracted mRNA, which was then purified and digested with DNase I on the RNeasy Mini Kit from Qiagen. The extraction efficiency was assessed with Gene Quant II spectrophotometry. The quality of total RNA, cDNA, and cRNA was determined in 1.2% agarose gel electrophoresis.

Transcriptive activity of the genes determined using oligonucleotide microarray

About 8 mg of total RNA extracted from the right cardiac auricle was used in the synthesis of double-stranded cDNA (Invitrogen SuperScript Choice System). The next stage of the process was the synthesis of biotin-labelled cRNA (*in vitro* transcription, Enzo kit), which was subsequently fragmented and hybridised onto Test 3 and HG-U133A (Affymetrix) microarrays. Following that, streptavidine-phycoerythrin complex labelling was used; fluorescence intensity was measured with a GeneArray Scanner G2500A. A result analysis was carried out using MicroArray Suite 5.0 and Data Mining Tool (Affymetrix).

Statistical analysis

Among 22,283 transcripts analysed using HG-U133A Affymetrix microarrays, TGF- β family gene IDs were sought. The similarity of the patients' transcriptomes was compared using hierarchical clusterisation (agglomeration including the Euclidean distance; Cluster 3.0), which



Rycina 1. Geny różnicujące chorych: z zaawansowaną chorobą wieńcową, po przebyłym zawale i osobę zdrową na podstawie analizy regresji liniowej; linie przerywane oznaczają 95% obszar prognozy, natomiast linie ciągłe oznaczają 2-krotny wzrost lub obniżenie ekspresji

Figure 1. Genes differentiating coronary artery disease patients, myocardial infarction patients and healthy subject: dashed lines mark 95% prognosis area, continuous lines mark two-fold expression increase or decrease.

Wyniki

Na podstawie metody klasteryzacji hierarchicznej wykazano, iż profil ekspresji badanych genów w próbce numer 2 odbiega od transkryptomów pozostałych próbek. Na podstawie krzywej regresji oraz zdefiniowanego kryterium biologicznego wykazano, że transkryptami różnicującymi są geny endogliny (ENG), receptora II typu dla TGF- β (TGF-BRII) i receptora peptydu natriuretycznego typu A (NPR1) wykazujące nadekspresję w próbce numer 2 w porównaniu z klasteryzującymi wspólnie próbkami 7 i 11 (ryc. 1).

Dyskusja

Profil ekspresji genów związanych z TGF- β okazuje się być znacząco różny w miokardium chorego po zawale w porównaniu z pozostałymi analizowanymi próbkami (choroba wieńcowa oraz wada zastawki mitralnej bez zmian w naczyniach wieńcowych). Wykazano istotną nadekspresję transkryptów ENG, TGF-BRII i NPR1 (ANP-GC-A) w tkance miokardium chorego po zawale w porównaniu z pozostałymi.

Znany jest potencjalny efekt profibrotyczny TGF- β poprzez aktywację receptora typu I. Z drugiej jednak strony, TGF- β wywiera też liczne działania korzystne w układzie naczyniowym. Jednym z mechanizmów decydujących o tym, który efekt będzie dominował, jest udział odpowiedniego koreceptora (receptora typu III), jakim między innymi jest endogлина.

resulted in dividing them into two subgroups, i.e., subgroup A: samples 7 and 11, and subgroup B: sample 2. In order to identify the subgroup-differentiating genes, linear regression analysis was used with a 99 per cent prognosis area (*statistical criterion*) with a *biological criterion* superimposed. The latter was defined as a twofold increase or decrease of a given gene expression in the specimens analysed. Only those genes were considered as differentiating which did not meet the set criteria.

Results

Based on hierarchical clusterisation, the profile of gene expression in specimen 2 was demonstrated to be different from the transcriptomes of the remaining specimens. Regression curves and the biological criterion showed that the differentiating transcripts were endoglin (ENG), transforming growth factor beta type II receptor (TGF-BRII) and natriuretic peptide receptor 1 [NPR1 (ANP-GC-A)] genes, which showed at least a twofold expression increase in specimen 2 as compared to the other two samples (Fig. 1).

Discussion

Expression profiles of TGF- β family genes were shown to be significantly different in the post-infarction myocardium, when compared to the other two samples (CAD and mitral valve defect with no coronary disease). The differentiating transcripts, i.e., ENG, TGF-BRII and NPR1 (ANP-GC-A) genes, were over expressed in the post-MI

Wyniki analizy mikromacierzy oraz charakterystyka genów różnicujących nasuwają hipotezę, że w miokardium pozawałowym dochodzi do nadekspresji tych genów związanych z TGF- β , które są zaangażowane w procesy naprawcze, przeciwdziałające niekorzystnemu remodelingowi i włóknieniu mięśnia sercowego.

W zdrowym mięśniu sercowym ekspresja endogliny jest niska. W przeprowadzonym przez nas badaniu wstępnym ekspresja genu endogliny w tkance pozawałowej była wysoka. Jak wspomniano, endoglina wiąże się z ligandem i wpływa na kaskadę pobudzenia receptorowego i wewnątrzkomórkowego zależnego od TGF- β [9]. Gen endogliny, podobnie jak TGF- β i jego receptory błonowe, wykazuje zwiększoną ekspresję w odpowiedzi na uszkodzenie niedokrwiennie tkanek, prowadząc do angiogenezy. Podobne zjawisko występuje w tkankach, w których angiogeneza zachodzi intensywnie, w tym w nowotworach, gojącej się ranie oraz obszarach zawałowych [10]. Taki wpływ endogliny leży u podstaw hipotezy, w myśl której jest ona czynnikiem redukującym skutki niedokrwienia i stymulującym angiogenezę. Ponadto efektem działania endogliny w odpowiedzi tkanek na stymulację TGF- β jest spadek syntezy składników macierzy zewnątrzkomórkowej. Prowadzi to do hamowania włóknienia i niekorzystnego remodelingu, a także ma znaczenie w hamowaniu procesów patologicznych w chorobach nerek, sklerodermii czy w uszkodzeniach popromiennych [11–13].

W miokardium pozawałowym obok endogliny wykazano nadekspresję TGF- β RII. Jak wspomniano, nadekspresja TGF- β i jego receptorów może przemawiać za nasiloną angiogenezą [12, 13]. Znany jest także korzystny wpływ TGF- β poprzez aktywację receptora typu II. Zwiększona ekspresja RII hamuje włóknienie i przebudowę miokardium komory w modelach eksperymentalnych zawału oraz przemawia za lepszą kurczliwość komory [7, 8].

W miokardium po zawale stwierdzano także zwiększoną ekspresję NPR1 (ANP-GC-A, *atrial natriuretic peptide receptor A*). Produkt białkowy tej rodziny genów — ANP (przedsionkowy peptyd natriuretyczny) jest markerem o znaczeniu diagnostycznym i prognostycznym u chorych z zawałem i niewydolnością krążenia. Receptor ANP odgrywa istotną rolę ochronną w hamowaniu remodelingu. ANP-cGMP hamuje proliferację fibroblastów i produkcję macierzy międzykomórkowej (w tym kolagenu) poprzez hamowanie endoteliny i kinazy RAS. Na modelach zwierzęcych dowiedziono, że ANP redukuje obszar zawałowy [14–17]. Nadekspresja ANP może dowodzić aktywacji procesów naprawczych po zawale i jest kolejnym czynnikiem zmniejszającym uszkodzenia po zawale.

Niniejsza analiza jedynie częściowo określa procesy zachodzące w pozawałowym miokardium. Efekty związane z TGF wydają się być ważnymi, ale niejedynymi zjawiskami zachodzącymi w mięśniówce serca po zawale. Należy pamiętać także, że omawiane wyniki pochodzą z badań na mięśniówce przedsionka i mogą przebiegać nieco odmiennie w miokardium komory. Tym niemniej dają przybliżony wgląd w istotę procesu i równowagę mechanizmów pro- i przeciwwłóknieniowych w pozawałowym miokardium, zwłaszcza w obliczu faktu, że mięś-

niokardium and down regulated in the remaining specimens.

Although a potential TGF- β -mediated effect on fibrosis through RI has been well recognized, on the other hand, the beneficial role of the TGF- β family has also been observed. One of the “switch” mechanisms of TGF- β action may be the regulatory role of the type III receptor (including endoglin).

Based on the results, character and roles of genes, we hypothesize that differentiating genes' profile obtained for the infarcted myocardium might demonstrate some enhancement of reparative and neovascularization processes which protect the heart muscle against fibrosis and remodeling.

Although, it is known that the level of endoglin is low in a normal myocardium, in our study, the post-MI sample overexpressed the endoglin gene. Endoglin interacts with TGF- β receptors on cell surfaces, and affects TGF- β -mediated signaling [9]. The expression of the endoglin gene, as well as TGF- β and TGF- β receptors genes, increases in response to ischemic tissue injury which might cause augmented angiogenesis. The hypothesis is supported by the fact that endoglin expression is found to be high in the endothelium and tissues with a high intensity of angiogenesis, such as tumors, healing wounds, and infarcted tissues [10]. Thus, TGF- β and endoglin (in TGF- β signaling pathways) could be proposed to reduce the results of ischemic injury and to stimulate angiogenesis. Endoglin influence on cellular response to TGF- β also involves the reduction of the synthesis and accumulation of extracellular matrix components (collagen I, fibronectin). This leads to the inhibition of fibrosis and remodeling within the myocardium (but also in kidney disease, scleroderma and following irradiation therapy) [11–13].

The upregulation of TGF- β RII was consistent with the endoglin expression profile. As already mentioned, the above-observed overexpression of TGF- β and its receptors in ischemic tissue injury might argue for enhanced reparative angiogenesis [12, 13]. The beneficial effect of TGF- β family via type II receptor activation has also been described by others; RII overexpression attenuates fibrosis and remodeling in the infarcted myocardium, thus improving the contractile function of the left ventricle [7, 8].

Overexpression of NPR1 (atrial natriuretic peptide receptor A; ANP-GC-A) was also found in the infarcted myocardium and is an acknowledged diagnostic and prognostic marker in patients with myocardial infarction and heart failure. Atrial natriuretic peptide receptor A plays a considerably beneficial role in preventing myocardial fibrosis and remodeling. The ANP-cGMP system suppresses fibroblast proliferation and extracellular matrix production (including collagen) by RAS and endothelin inhibition; ANP has been found to reduce myocardial infarction size in animal models [14–17]. Overexpression of the ANP gene might support the reparative effects of ANP in the cardiovascular system following myocardial infarction. ANP might be another factor to minimize ischemic injury and postinfarction remodeling.

niówka komory jest materiałem trudnym do pozyskania dla badań eksperymentalnych.

Wnioski

Analiza transkryptomu rodziny TGF- β wskazuje na zwiększoną ekspresję genów zaangażowanych w procesy przeciwdziałające niekorzystnemu remodelingowi pozawałowemu. Podwyższona ekspresja genów receptora II TGF- β , endogliny i ANP-cGMP świadczą o aktywacji mechanizmów przynajmniej częściowo przeciwdziałających licznym mechanizmom sprzyjającym włóknieniu w mięśniu wstępnym po zawale.

Uzyskane ilościową techniką mikromacierzy oligonukleotydowych wstępne wyniki wymagają potwierdzenia metodą ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym po zebraniu odpowiednio dużej grupy chorych.

Piśmiennictwo (References)

- Javelaud D, Mauviel A. Mammalian transforming growth factor-betas: smad signaling and physio-pathological roles. *Int J Biochem Cell Biol.* 2004; 36: 1161–1165.
- Bertolino P, Deckers M, Lebrin F *et al.* Transforming growth factor- β signal transduction in angiogenesis and vascular disorders. *Chest.* 2005; 128: 585S–590S.
- Miyazono K. Transforming growth factor-beta and its receptors. *Nippon Yakurigaku Zasshi.* 1996; 107: 133–140.
- Agrotis A, Kalinina N, Bobik A. Transforming growth factor- β , cell signaling and cardiovascular disorders. *Current Vascular Pharmacology* 2005; 3: 55–61.
- Mallat Z, Gojova A, Marchiol-Fournigault C *et al.* Inhibition of transforming growth factor-beta signaling accelerates atherosclerosis and induces an unstable plaque phenotype in mice. *Circ Res.* 2001; 89: 930–934.
- Grainger DJ. Transforming growth factor beta and atherosclerosis: so far, so good for the protective cytokine hypothesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004; 24: 399–404.
- McCaffrey TA, Consigli S, Du B *et al.* Decreased type II/type I TGF-beta receptor ratio in cells derived from human atherosclerotic lesions. Conversion from an antiproliferative to profibrotic response to TGF- β 1. *J Clin Invest.* 1995; 96: 2667–2675.
- Liao R. Yin and yang of myocardial transforming growth factor- β 1 — timing is everything. *Circulation.* 2005; 111: 2416–2417.
- Nimeh T, Haghghat-Mortazavi R, Khiabani K *et al.* Ischemia regulates endoglin expression in a pig skin flap model McGill. *Journal of Medicine* 2001; 6: 26–31.
- Ma X, Labinaz M, Goldstein J *et al.* Endoglin is overexpressed after arterial injury and is required for transforming growth factor-induced inhibition of smooth muscle cell migration. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000; 20: 2546–2552.
- Obreo J, Diez-Marques L, Lamas S *et al.* Endoglin expression regulates basal and TGF-beta1-induced extracellular matrix synthesis in cultured L6E9 myoblasts. *Cell Physiol Biochem.* 2004; 14: 301–310.
- Chen K, Mehta JL, Li D *et al.* Transforming growth factor β receptor endoglin is expressed in cardiac fibroblasts and modulates profibrogenic actions of angiotensin II circulation research. 2004; 95: 1167.
- Lastres P, Letamendia A, Zhang H *et al.* Endoglin modulates cellular responses to TGF- β 1. *J Cell Biol.* 1996; 133: 1109–11021.
- Drexler H, Hanze J, Finckh M *et al.* Atrial natriuretic peptide in a rat model of cardiac failure. Atrial and ventricular mRNA, atrial content, plasma levels, and effect of volume loading. *Circulation* 79: 620–633.
- Cameron VA, Rademaker MT, Ellmers LJ *et al.* Atrial (ANP) and brain natriuretic peptide (BNP) expression after myocardial infarction in sheep: ANP is synthesized by fibroblasts infiltrating the infarct. *Endocrinology* 2000; 141: 4690–4697.
- Tamura N, Ogawa Y, Chusho H *et al.* Cardiac fibrosis in mice lacking brain natriuretic peptide. *Proc Natl Acad Sci. USA.* 2000; 97: 4239–4244.
- Sutton J, Sharpe N. Left ventricular remodeling after myocardial infarction. *Pathophysiology and Therapy.* *Circulation* 2000; 101: 29.

Adres do korespondencji (Address for correspondence)

Dr hab. n. med. Józefa Dąbek
Katedra i Klinika Kardiologii Wydziału Opieki Zdrowotnej
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach
ul. Ziołowa 47, 40–635 Katowice
tel./faks: (032) 252–74–07