

## Profile ekspresji genów związanych z procesem włóknienia miokardium u chorych z zaawansowanym niedokrwieniem oraz po zawale serca oceniane techniką mikromacierzy oligonukleotydowych

Chronic myocardial ischemia and post-infarction myocardium — expression profiles of genes associated with myocardial fibrosis assessed by oligonucleotide microarray analysis

Józefa Dąbek<sup>1</sup>, Andrzej Bochenek<sup>2</sup>, Andrzej Kułach<sup>1</sup>, Joanna Orchel<sup>3</sup>, Zbigniew Gąsior<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Klinika Kardiologii Wydziału Opieki Zdrowotnej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach (Department of Cardiology, Medical University of Silesia, Katowice, Poland)

<sup>2</sup>Katedra i Klinika Kardiologii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach (1<sup>st</sup> Department of Cardiac Surgery, Medical University of Silesia, Katowice, Poland)

<sup>3</sup>Katedra i Zakład Biologii Molekularnej Wydziału Farmaceutycznego Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach, Sosnowiec (Department of Molecular Biology, Medical University of Silesia, Sosnowiec, Poland)

### Streszczenie

**Wstęp:** Niewydolność serca o podłożu choroby niedokrwiennej serca staje się coraz większym problemem współczesnej kardiologii. Remodeling mięśnia sercowego zachodzi szczególnie intensywnie w wielonaczyniowej chorobie wieńcowej, a zwłaszcza po zawale, który jest szczególnie silnym czynnikiem stymulującym włóknienie. Mikromacierze oligonukleotydowe pozwalają na jednoczasową ocenę aktywności tysięcy genów i określenie profilu ekspresji typowego dla danej patologii i potencjalnie pozwala na dostosowanie indywidualnej terapii u danego pacjenta.

Celem pracy była ocena metodą mikromacierzy oligonukleotydowych profilu ekspresji genów związanych z procesem fibrozy w miokardium chorych: z przeżytym zawałem, z zaawansowaną chorobą wieńcową oraz u osoby bez choroby niedokrwiennej serca.

**Materiał i metody:** Analizie poddano uszka prawego przedsionka pochodzące od 3 chorych uzyskane w trakcie operacji kardiologicznej w krążeniu pozaustrojowym. Po izolacji RNA z tkanki, za pomocą mikromacierzy Affymetrix HG-U133A oceniano ekspresję 475 genów zaangażowanych w proces włóknienia. Podobieństwo transkryptomów chorych porównano metodą klasteryzacji hierarchicznej.

**Wyniki i wnioski:** Na podstawie metody klasteryzacji hierarchicznej wykazano, że profil ekspresji badanych genów w miokardium pacjenta po zawale różni się od transkryptomów pozostałych próbek. Dalsza analiza wykazała, że geny *ENG*, *GSN*, *CTGF* i *NPPB* wykazały nadekspresję, a gen *SGK* obniżoną ekspresję w próbce chorego po zawale w odniesieniu do klasteryzujących wspólnie pozostałych próbek.

**Słowa kluczowe:** mikromacierze oligonukleotydowe, włóknienie, zawał serca

Chirurgia Polska 2008, 10, 164-169

### Abstract

**Introduction:** Heart failure associated with ischemic heart disease (IHD) is becoming a significant clinical issue. Myocardial remodeling of ischemic etiology tends to result from advanced coronary artery disease (CAD), and especially myocardial infarction which is an extremely potent stimulus of fibrosis. Oligonucleotide microarray analysis allows simultaneous evaluation of the activities of thousands of genes. The method enables one to determine expression profiles of genes typically involved in a given pathology, and allows one to develop an individual treatment strategy depending on the result obtained.

The purpose of the study was to use oligonucleotide microarrays to determine expression profiles of genes associated with myocardial fibrosis in a patient with advanced CAD and a history of myocardial infarction, another presenting advanced CAD with no history of myocardial infarction, as well as a subject with normal coronary vessels.

**Material and methods:** Tissue samples were obtained during elective surgery from the right cardiac auricles of three patients. The expression of 475 genes involved in fibrosis was assessed using the Affymetrix HG-U133A microarray. The patients' transcriptomes were compared using hierarchical clusterization.

**Results and conclusions:** Differentiating genes were determined using regression analysis and a Bland-Altman graph analysis. Hierarchical clusterization demonstrated that the profile of gene expression in postinfarction myocardium was different from those in the remaining specimens. Further analysis showed that ENG, GSN, CTGF, and NPPB genes were the differentiating transcripts overexpressed in post-MI, whereas serum/glucocorticoid regulated kinase (SGK) was underexpressed.

**Key words:** oligonucleotide microarray, fibrosis, myocardial infarction

Polish Surgery 2008, 10, 164–169

## Wstęp

Niewydolność serca, której podłożem jest kardiomiopatia niedokrwienna, stanowi w krajach rozwiniętych coraz istotniejszy problem kliniczny [1]. Stanem predysponującym do rozwoju niekorzystnego remodelingu mięśnia sercowego o etiologii niedokrwienną są: zaawansowana choroba niedokrwienna serca, a w szczególności zawał serca, będący szczególnie silnym stymulatorem włóknienia. W proces rozwoju kardiomiopatii zaangażowane są jednak liczne mechanizmy prowadzące do niekorzystnej przebudowy — różne patomechanizmy ulegają aktywacji w zależności od przyczyny kardiomiopatii [2], a ich złożoność i wzajemne interferencje w znacznym stopniu utrudniały badania nad tymi zjawiskami.

W ostatnich latach pojawiło się nowe narzędzie w medycynie molekularnej — mikromacierze oligonukleotydowe, pozwalające na jednoczasową ocenę aktywności setek bądź tysięcy genów, które podejrzewa się o udział w zjawisku. Narzędzia te dają możliwość opracowania profili ekspresji genów typowych dla danej patologii oraz na indywidualizację podejścia do pacjenta w zależności od profilu [3].

Celem niniejszej pracy była ocena profilu ekspresji genów związanych z włóknieniem w miokardium chorych z przebyłym zawałem, z zaawansowaną chorobą wieńcową (bez przebytego zawału mięśnia sercowego) oraz u osoby bez zmian w naczyniach wieńcowych metodą mikromacierzy oligonukleotydowych.

## Material i metody

### Pacjenci

Analizie poddano uszka prawego przedsionka pochodzące od 3 chorych (tab. I) operowanych w trybie planowym w I Klinice Kardiologii 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 chorego zaawansowaną dławicą po przebyłym za-

## Introduction

In developed countries cardiac insufficiency associated with ischemic heart disease (IHD) is becoming more and more a significant clinical issue [1]. Myocardial remodeling of ischemic etiology tends to result from advanced coronary artery disease (CAD), and especially myocardial infarction, which has been recognized as an extremely potent stimulator of fibrosis. Depending on the cause of cardiomyopathy, its pathogenesis involves the activation of numerous mechanisms of disadvantageous remodeling [2]. Moreover, their complexity and mutual interference has significantly hindered investigations of their possible roles.

However, in recent years new research modalities have emerged in the expanding field of molecular medicine. Oligonucleotide microarray analysis allows simultaneous evaluation of the activities of hundreds or even thousands of genes implicated in a given process. This method also enables a researcher to determine expression profiles of genes typically involved in a given pathology, and to develop an individual treatment strategy depending on the profile obtained [3].

The purpose of the present study was to use oligonucleotide microarray analysis to determine expression profiles of genes associated with myocardial fibrosis in a patient with advanced CAD and a history of myocardial infarction, another presenting advanced CAD and no history of myocardial infarction, as well as a subject with normal coronary vessels.

## Material and methods

### Patients

The tissue samples used were sections from the right cardiac auricles obtained during elective surgery performed in 3 patients of the First Department of Cardiac Surgery (Medical University of Silesia, Katowice); all three were operated on using a cardiopulmonary bypass system (Tab. 1). The patients selected for our study had an ECG, echocardiography, coronary angiography, com-

**Tabela I. Charakterystyka pacjentów**  
**Table I. Patients' characteristics**

| Próbka<br>Sample | Płeć/Gender | Wiek/Age | Diagnoza/Diagnosis                                      | Zawał/MI [history] | NT/AH   | Palenie tytoniu<br>Smoking |
|------------------|-------------|----------|---------------------------------------------------------|--------------------|---------|----------------------------|
| 2                | M/M         | 57       | Dusznicza stabilna, po zawale<br>Stable angina, post-MI | Tak/Yes            | Tak/Yes | Nie/No                     |
| 7                | K/F         | 65       | Dusznicza stabilna<br>Stable angina                     | Nie/No             | Tak/Yes | Nie/No                     |
| 11               | K/F         | 63       | Stenoza mitralna<br>Mitral stenosis                     | Nie/No             | Nie/No  | Nie/No                     |

MI (myocardial infarction) — zawał serca; AH (arterial hypertension) — nadciśnienie tętnicze; M (male) — mężczyzna; F (female) — kobieta

wale ściany dolnej (okluzja prawej tętnicy wieńcowej) (próbka 2), przeprowadzono operację pomostowania tętnic wieńcowych. U chorej ze stenozą mitralną (próbka 11) wykonano operację wymiany zastawki mitralnej. Wszystkie operacje przeprowadzone były w krążeniu pozaustrojowym.

Podczas zabiegu w krążeniu pozaustrojowym rutynowo zostaje usunięta część prawego przedsionka, którą następnie się wyrzuca. Ten fragment tkanki został, za zgodą uczestników, wykorzystany do badań genetycznych. Próbkę bezpośrednio po pobraniu umieszczono w ciekłym azocie, a następnie przechowywano w temperaturze  $-70^{\circ}\text{C}$  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 przy pomocy 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 — wyznakowane biotyną (reakcja transkrypcji *in vitro*, Enzo kit). Biotynylowany cRNA został pofragmentowany, a następnie zhybrydowany z mikromacierzą Test3 oraz HG-U133A (Affymetrix) i znakowany kompleksem streptawidyna-fikoerytryna. Intensywność fluorescencji była analizowana przy użyciu skanera GeneArray Scanner G2500A. Analiza otrzymanych wyników została przeprowadzona z wykorzystaniem programów MicroArray Suite 5.0 i Data Mining Tool (Affymetrix).

#### Analiza statystyczna

Pośród 22 283 transkryptów, których aktywność transkrypcyjną można analizować z zastosowaniem mikromacierzy oligonukleotydowej HG-U133A Affymetrix wyszukano numery (tzw. ID) genów związanych z proce-

plete blood count and leukocyte differential count performed, while plasma levels of troponine I, CK and CK-MB were also assessed. The patient with advanced CAD (sample 7), and the patient with advanced angina and a history of inferior wall myocardial infarction caused by right coronary artery occlusion (sample 2) received coronary bypass grafts. Another patient, with mitral stenosis and normal coronary angiography results (sample 11) underwent a mitral valve replacement (Tab. I).

The excision of the right cardiac auricle is routinely performed during a surgical procedure with extracorporeal circulation; the specimen is then disposed of. By consent of the study subjects and Bioethics 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  $-70^{\circ}\text{C}$ .

#### RNA extraction

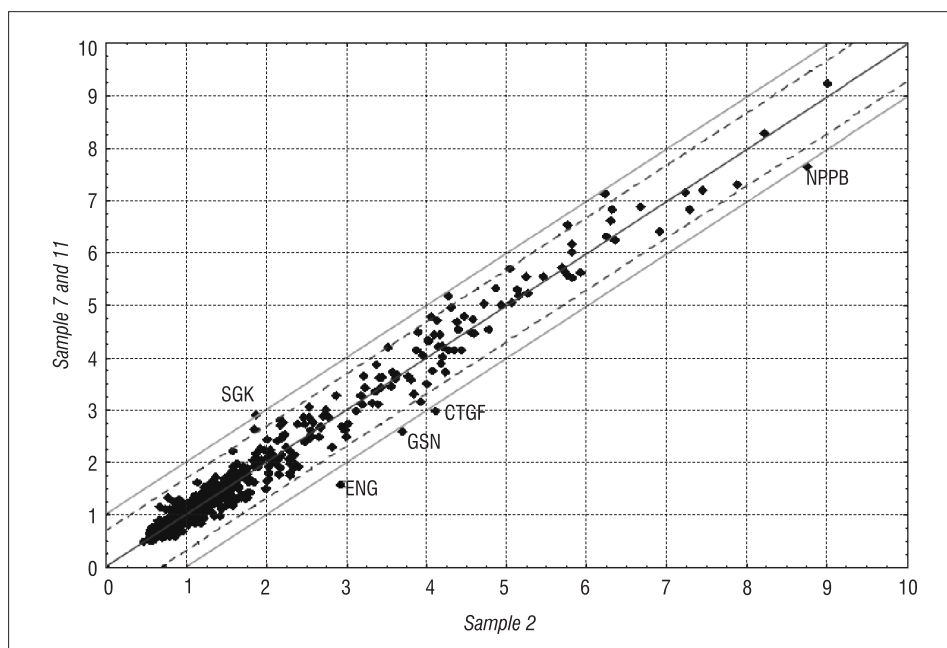
The investigations were carried out on Trizol™ (Invitrogen)-extracted mRNA, which was then purified and digested with DNase I on the RNeasy Mini Kit from Qiagen. Extraction efficiency was assessed with Gene Quant II spectrophotometry. The quality of total RNA, cDNA, and cRNA was determined in 1.2% agarose 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, streptavidin-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 whose activity can be analyzed using HG-U133A Affymetrix microarrays, fibrosis-associated gene IDs were sought (475 transcripts). The similarity of the patients' transcriptomes was compared using



**Rycina 1. Geny różnicujące**  
**Figure 1. Differentiating genes**

sem włóknienia (475 transkryptów). 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-procentowym obszarem prognozy („kryterium statystyczne”), na które nałożono „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 najszerszym.

## Wyniki

Na podstawie metody klasteryzacji hierarchicznej wykazano, że 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 ENG, GSN, CTGF i NPPB (tab. I) wykazujące nadekspresję w próbce nr 2 oraz gen SGK, wykazujący wyższą ekspresję w klasteryzujących wspólnie próbkach 7 i 11 (ryc. 1).

## Dyskusja

Wyniki niniejszego badania wskazują, że profil ekspresji genów związanych z włóknieniem jest wyraźnie różny w miokardium pozawałowym w porównaniu z miokardium chorego z przewlekłym niedokrwieniem oraz mięśniówką serca pacjenta bez choroby niedokrwiennej serca. Analiza klasteryzacji wykazała, że profile ekspresji genów fibrozy są bardziej jednorodne w grupie bez za-

hierarchical clusterization (agglomeration including the Euclidean distance; Cluster 3.0), which resulted in dividing them into two subgroups. 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 analyzed. Only those genes were considered as differentiating which were beyond the criteria.

## Results

Based on hierarchical clusterisation, it was demonstrated that the profile of gene expression in specimen 2 was shown to be different than that determined in the remaining specimens. Regression curves and the biological criterion showed that ENG, GSN, CTGF, and NPPB genes were the differentiating transcripts overexpressed in specimen 2, whereas serum/glucocorticoid regulated kinase (SGK) was shown to have higher expression in specimens 7 and 11 (Fig. 1).

## Discussion

The results of our study indicate differences in fibrosis-associated gene expression profiles between advanced CAD/post-MI myocardium, advanced CAD/non-MI myocardium, and a non-ischemic myocardium. Clusterization analysis revealed that expression profiles of the above-mentioned genes were more homogenous for advanced CAD/non-MI, and non-ischemic myocardium than for advanced CAD/post-MI. This might suggest that myocardial infarction predisposes one to fibrosis more significantly than does advanced chronic ischemia.

wału (zaawansowana MIC i chory bez MIC) niż w parze obejmującej zaawansowaną MIC z przebyłym zawałem i MIC bez zawału. Sugeruje to, że zawał serca bardziej predysponuje do włóknienia niż nawet przewlekłe zaawansowane niedokrwienie.

Szczegółowa analiza transkryptów związanych z włóknieniem w pozawałowym sercu zwróciła uwagę na istotne znaczenie w tym procesie 5 z 475 analizowanych genów, z których 4 wykazały w miokardium pozawałowym nadekspresję, a jeden — obniżoną aktywność.

Jednym z kluczowych mechanizmów prowadzących do włóknienia w pozawałowym remodelingu jest aktywacja transformującego czynnika wzrostu beta (TGF- $\beta$ , *transforming growth factor beta*) oraz jego receptorów (zwłaszcza receptora I) [4]. Mimo że w badanym miokardium pozawałowym gen samego TGF- $\beta$  nie wykazał nadekspresji, obserwowano ekspresję genu receptora typu III (endoglin), który „wychwytuje” z otoczenia ligand dla receptorów błonowych i w ten sposób moduluje skuteczność TGF- $\beta$ . Co interesujące, receptor ten jest jednym z celów działania inhibitorów konwertazy angiotensyny [5] — leków o uznanym działaniu hamującym remodeling pozawałowy. Poza TGF- $\beta$ RIII (endoglin) o aktywacji układu TGF- $\beta$  w badanym miokardium świadczy również pośrednio wzmożona ekspresja czynnika wzrostu tkanki łącznej (CTGF, *connective tissue growth factor*) — jednego z podstawowych efektorów profibrotycznego działania TGF- $\beta$  [6]. Z drugiej jednak strony obserwowano także nadekspresję genu dla prekursora peptydu natriuretycznego typu B, który wywiera działanie przeciwne do TGF- $\beta$  w włókniejącym miokardium [7]. Świadczy to również o aktywnych procesach przeciwdziałających niekorzystnej przebudowie mięśnia sercowego.

Poza układami ściśle związanymi z procesem włóknienia w pozawałowym myokardium dochodzi również do degradacji obumarłej mięśniówki serca. Jednym z białek pełniących taką funkcję jest gelsolina (GSN, *gelsolin*) zajmująca się degeneracją filamentów aktyny [8]. W badanej próbce obserwowano również nadekspresję genu *GSN*.

Jedynym różnicującym genem wykazującym niższą ekspresję w badanym pozawałowym miokardium jest gen SGK (*serum/glucocorticoid regulated kinase*) — kinazy aktywowanej głównie przez aldosteron (układ RAA — renina–angiotensyna–aldosteron). Wiadomo, że natywnie SGK ma swój udział w zależnej od aldosteronu hipertrofii mięśnia sercowego oraz hamowaniu apoptozy [9]. Spadek ekspresji genu tej kinazy może w tym przypadku wynikać jednak z zahamowania układu RAA (pozawałowa terapia inhibitorem konwertazy angiotensyny).

Przedstawione dane prezentują z pewnością tylko część mechanizmów zaangażowanych w pozawałowe włóknienie, a niniejsze doniesienie ma charakter badań wstępnych. Co więcej, omawiane wyniki pochodzą z badań na mięśniówce przedsionka i mogą przebiegać inaczej w miokardium komory [10, 11]. Tym niemniej dają przybliżony wgląd w istotę procesu włóknienia mięśniówki serca, zwłaszcza że mięśniówka komór jest materiałem trudnym do pozyskania dla badań eksperymentalnych. Potrzebne są szersze badania prowadzące do wy-

A detailed analysis of fibrosis-associated transcripts in the post-MI specimen demonstrated that 5 of the 475 genes were significantly involved in those pathologies. Four of those showed overexpression while one displayed underexpression.

One of the key-mechanisms underlying the process of fibrosis in post-MI remodeling is the activation of transforming growth factor beta (TGF- $\beta$ ) and its receptors (and especially RI) [4]. Although no TGF- $\beta$  gene up-regulation was found in the post-MI myocardium, overexpression of the TGF $\beta$ -RIII gene (endoglin) was demonstrated. The latter is engaged in ligand uptake for membrane receptors, and thus modulates TGF- $\beta$  signaling. Interestingly, the receptor is also known to be a target of angiotensin-converting enzyme inhibitors — drugs recognized to play a regulatory role in post-MI remodeling [5]. Apart from TGF- $\beta$ RIII overexpression, TGF- $\beta$  activation in the post-MI myocardium is also evidenced, although indirectly, by the up-regulation of connective tissue growth factor. Moreover, CTGF has been proposed as a mediator of the profibrotic action of TGF- $\beta$  [6]. On the other hand, the overexpression of gene NPPB (natriuretic peptide precursor B) has also been observed, which exerts TGF- $\beta$ -opposite effects [7]. This would suggest the activation of processes which reduce disadvantageous remodeling after myocardial infarction.

Fibrosis is not the only process in a post-MI myocardium. Degradation of the necrotic scar also occurs through actin-filament-severing proteins such as gelsolin (GSN) [8]. Gelsolin overexpression was actually found in our post-MI specimen.

The only differentiating gene whose expression was down-regulated in the same specimen was the gene for SGK. Serum/glucocorticoid-regulated kinase is mainly activated through aldosterone (RAA, the rennin–angiotensin–aldosterone system), and is involved in aldosterone-dependent myocardial hypertrophy, and the inhibition of apoptosis [9]. SGK gene underexpression in our post-MI specimen might have resulted from RAA system inhibition (*i.e.* post-MI therapy with an angiotensin converting enzyme inhibitor).

The results represent only some of the mechanisms involved in post-MI fibrosis, and should certainly be considered as preliminary. Moreover, the results obtained represent the processes taking place in the myocardium of atria, which may differ from the processes in ventricles [10, 11], where the remodeling is more pronounced and clinically much more important. Nevertheless, they can still give an approximate insight into the problem, while the tissue samples from human ventricle myocardium are difficult to obtain for experimental purposes. Considering the limitations, further studies are necessary to select the processes most important to become targets for anti-fibrotic therapies.

## Conclusions

1. Expression analysis of fibrosis-associated genes has revealed their post-MI upregulation, which might sug-

selekcjonowania procesów o najwyższym znaczeniu i stwarzających możliwości ingerencji w te mechanizmy celach terapeutycznych.

## Wnioski

1. Analiza profilu ekspresji genów związanych z włóknieniem wykazała ich nadekspresję po zawale serca, co może sugerować, że zawał serca znacznie bardziej predysponuje do włóknienia niż przewlekłe zaawansowane niedokrwienie.
2. Spośród genów związanych z włóknieniem w pozawałowym sercu zwraca uwagę udział czynników wzrostu (CTGF, TGF- $\beta$ ), peptydów natriuretycznych, białek związanych z degradacją filamentów aktyny (GSN) oraz kinaz zaangażowanych w przekazywanie między innymi układu RAA.

## Piśmiennictwo (References)

1. Weir RA, McMurray JJ, Velazquez EJ. Epidemiology of heart failure and left ventricular systolic dysfunction after acute myocardial infarction: prevalence, clinical characteristics, and prognostic importance. *Am J Cardiol.* 2006; 97: 13F–25F.
2. Hwang JJ, Allen PD, Tseng GC. Microarray gene expression profiles in dilated and hypertrophic cardiomyopathic end-stage heart failure. *Physiol Genomics.* 2002; 10: 31–44.
3. Kittleson MM, Hare JM. Molecular signature analysis: using the myocardial transcriptome as a biomarker in cardiovascular disease. *Trends Cardiovasc Med.* 2005; 15: 130–138.
4. Thompson NL, Bazoberry F, Speir EH *et al.* Transforming growth factor beta-1 in acute myocardial infarction in rats. *Growth Factors.* 1988; 1: 91–99.
5. Chen K, Metha JK, Li D, Joseph L, Joseph J. Transforming growth factor- $\beta$  receptor endoglin is expressed in cardiac fibroblasts and modulates profibrogenic actions of angiotensin II. *Circ Res.* 2004; 95: 1167–1173.
6. Chen MM, Lam A, Abraham JA, Schreiner GF, Joly AH. CTGF expression is induced by TGF- $\beta$  in cardiac fibroblasts and cardiac myocytes: a potential role in heart fibrosis. *J Mol Cell Cardiol.* 2000; 32: 1805–1819.
7. Kapoun AM, Liang F, O'Young G *et al.* B-type natriuretic peptide exerts broad functional opposition to transforming growth factor-beta in primary human cardiac fibroblasts: fibrosis, myofibroblast conversion, proliferation, and inflammation. *Circ Res.* 2004; 94: 453–461.
8. Yang J, Moravec CS, Sussman MA *et al.* Decreased SLIM1 expression and increased gelsolin expression in failing human hearts measured by high-density oligonucleotide arrays. *Circulation* 2000; 102: 3046–3052.
9. Aoyama T, Matsui T, Novikov M, Park J, Hemmings B, Rosenzweig A. Serum and glucocorticoid-responsive kinase-1 regulates cardiomyocyte survival and hypertrophic response. *Circulation* 2005; 111: 1652–1659.
10. Ellinghaus P, Scheubel RJ, Dobrev D *et al.* Comparing the global mRNA expression profile of human atrial and ventricular myocardium with high-density oligonucleotide arrays. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2005; 129: 1383–1390.
11. Barth AS, Merk S, Arnoldi E *et al.* Functional profiling of human atrial and ventricular gene expression. *Pflugers Arch.* 2005; 450: 201–208.

### 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

Praca wpłynęła do redakcji: 8.01.2009 r.