

# Ekstrasellüler Matriks ve Bazı Kardiovasküler Hastalıklarla İlişkisi

## EXTRACELLULAR MATRIX AND ITS RELATION WITH SOME CARDIOVASCULAR DISEASES

Sevil SEYFELİ\*, İsmail ÜSTÜNEL\*\*, Necmi DEĞER\*\*\*, Ramazan DEMİR\*\*\*\*

\* Arş.Gör., Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, ANTALYA

\*\* Doç.Dr., Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, ANTALYA

\*\*\* Prof.Dr., Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji AD, ANTALYA

\*\*\*\* Prof.Dr., Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, ANTALYA

### Özet

Organizmayı oluşturan sistemlerin organ yapılarında ekstrasellüler matriks (ESM) proteinleri temel yapıyı oluşturur. ESM makromolekülleri esas olarak fibroblast hücreleri tarafından sentezlenir. ESM komponentleri, kalp ve damarların hem yapılıpmasında hem de görev yapmalarında önemli roller alırlar. Kollajen ve elastin gibi ESM proteinleri kalp dokusuna desteklik sağlarken, fibronektin ve laminin gibi yapıştırıcı moleküller hücrelerin ESM'e yapışmasını sağlar. Kardiyovasküler sistemde, miyokardiyal enfarktüs, hipertrofi ve hipertansiyondan sonra ESM'in birikmesi kalp yetmezliklerinin gelişmesine neden olur. Miyokardiyal enfarktüs, hipertrofi ve hipertansiyon kardiyak fibrosis ile sıkı ilişki içindedir. Anjiyotensin-II (AT-II) ve dönüştürücü büyüme faktörü beta-1 (TGF- $\beta$ 1) bu kardiyovasküler hastalıklarda, ESM'in normal olmayan birikiminde önemli rollere sahiptir. Kalp dokusunda, anjiyotensin dönüştürücü enzim (ADE) inhibitörü ve anjiyotensin reseptör tip 1 antagonisti uygulanması ise kardiyak hipertrofi ve fibrosisin gerilemesine neden olur. TGF- $\beta$ , Smad transkripsiyon faktörlerini aktive eden reseptör kompleksi sayesinde sinyal iletimini başlatır. Bu çalışmada, kardiyak sorunların temel mekanizmalarına ESM proteinlerinin olası etkilerini inceleyen literatür bilgisi derlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Ekstrasellüler matriks, Anjiyotensin, TGF- $\beta$ , Miyokardiyal enfarktüs, Hipertrofi, Hipertansiyon, Restenosis, Smad transkripsiyon faktörleri

T Klin Kardiyoloji 2001, 14:359-369

### Summary

Extracellular matrix proteins (ECM) proteins constitute the basement components of organ structures that form up the organism systems. ECM macromolecules are secreted by fibroblast cells. ECM components play important roles in maintenance of both structure and function of the heart and vascular tissues. While ECM proteins like collagen and elastin provide a support for heart tissue, adhesive molecules like fibronectin and laminin help cells attach to the extracellular matrix. The accumulation of ECM after myocardial infarction, hypertrophy and hypertension in the cardiovascular system leads to the development of heart failures. Myocardial infarction, hypertrophy and hypertension are strictly associated with cardiac fibrosis. Angiotensin II (AT-II) and transforming growth factor  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) have important roles in signalling the abnormal accumulation of ECM in these cardiovascular diseases. Administration of angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitor or angiotensin receptor type I antagonist leads to regression of cardiac hypertrophy and fibrosis. TGF- $\beta$  initiate signalling via receptor complexes that activate Smad transcription factors. In present study, recent literature examining the effects of ECM proteins to basic mechanism of cardiac failure was reviewed.

**Key Words:** Extracellular matrix, Angiotensin, TGF- $\beta$ , Myocardial infarction, Hypertrophy, Hypertension, Restenosis, Smad transcription factors

T Klin J Cardiol 2001, 14:359-369

Herhangi bir organdaki temel hacim, temel hücreler ve ekstrasellüler matriks (ESM) olarak belirlenen makromoleküllerin kompleks bir ağından

oluşmuştur. Bir çok organda temel ESM makromolekülleri fibroblast hücreleri tarafından salgılanır. ESM öğeleri, proteoglikanlar ve fibröz proteinlerden oluşmuştur (1).

**Geliş Tarihi:** 07.05.2001

**Yazışma Adresi:** Dr.Sevil SEYFELİ  
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Histoloji ve Embriyoloji AD  
07070 ANTALYA

Bu derlemede, kardiyak sorunların temel mekanizmalarına hücrenel ve hücre dışı etkilerle bir ölçüde yaklaşımda bulunmak amacıyla ESM proteinlerinin kompozisyonu ve muhtemel etkilerinin tartışıldığı bir bilgi buketini, bütünlük içinde sun-

mak ve konu ile ilgilenen genç akademisyenlere katkıda bulunmak hedeflenmiştir. Güncel konuları da kapsayan bu çalışmanın genç hekimlere yararlı olacağı kanısına varılmıştır.

## ESM'in Yapı ve Fonksiyonu

### 1. Proteoglikanlar

Proteoglikan, bir protein iskeletine glikozaminoglikan polisakkaritlerinin bağlanmasıyla oluşmuştur. Glikozami-noglikan ve proteoglikan molekülleri, fibröz proteinlerin gömüldüğü hidrate jel benzeri formdadır. Glikozaminoglikan (GAG), özellikle embriyonik dokularda, göç eden ve çoğalan hücreleri çevreleyen ekstrasellüler matriks'in önemli bir parçasıdır. Aynı zamanda, bir çok ekstrasellüler matriks'de bulunan kompleks proteoglikanların temel yapısal birimidir. GAG'lar şeker kuyruklarına, bu kuyruklar arasındaki bağlantı tipine ve de sülfat gruplarının lokalizasyonlarına göre 4 temel gruba ayrılırlar: 1- Hyaluronik asit 2- Kondrotin sülfat ve dermatan sülfat 3- Heparan sülfat ve heparin 4- Keratan sülfat . ESM'deki GAG miktarı genelde fibröz protein miktarından %10 kadar daha azdır. Fakat GAG zincirleri ekstrasellüler boşlukların çoğunu doldurur ve dokuya mekanik desteklik verir. Aynı zamanda suda çözünebilen moleküllerin hızlı difüzyonunu ve hücrelerin göçünü de sağlar (1).

### 2. Fibröz proteinler

Fibröz proteinler 2 tiptir. A- yapısal proteinler (kollajen ve elastin) B- yapıstırıcı proteinler (fibronektin, laminin, tenaskin, vitronektin) (1).

#### A. Yapısal proteinler

##### 1. Kollajen ve kollajen alttipleri

Kollajen; tüm memelilerde en bol bulunan ve bağ dokusu hücreleri tarafından salgılanan bir proteindir. Bugüne kadar 14'den daha fazla kollajen tipi tanımlanmış fakat kollajenlerin bu sayısı gün geçtikçe artmaktadır. En yaygın olarak bilinenleri, tip I, Tip II, Tip III, Tip IV ve tip V kollajen'dir. Kollajeni meydana getiren aminoasitler glisin (%33.5), prolin (%12) ve hidroksprolindir (%10). Kollajen fibrillerini meydana getirmek üzere polimerize olan protein birimi, uzunluğu 280 nm, genişliği 1.5 nm olan ve tropokollajen ismini alan uzamış moleküldür. Tropokollajen üçlü bir sarmal halinde örülmüş üç polipeptid zinciri altbiriminden

oluşur. Bu polipeptid zincirlerinin kimyasal yapısındaki farklılıklar kollajenin değişik tiplerinin ortaya çıkmasından sorumludur (2).

Kalp dokusundaki kollajenler tip I, tip III, tip IV, tip V, ve tip VI dir. Tip I ve Tip III kollajen, kardiyak kollajenlerin en bol bulunanlarıdır. Miyokardiyumdaki kollajen, kollajen molekülleri arasındaki intra ve inter moleküler kovalent bağlanmalardan dolayı oldukça sıkı bir yapıdadır (3,4). Trimerik yapılar halinde düzenlenmiş kollajen tip I ve tip III kas fibrilleri ve miyositler arasında dağılmıştır (5, 6).

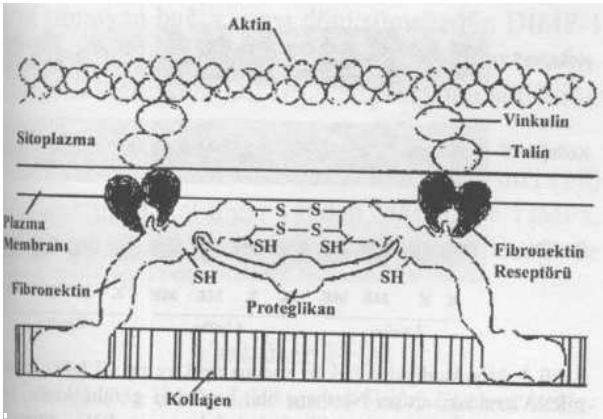
Kardiyak kollajenlerin belirlenmiş fonksiyonları şöyle özetlenebilir; a-miyokardiyal yapıyı korurlar, b-kalp dokusunda lenf, kan damarları ve kardiyak miyositler arasında yer alırlar ve onları destekleyerek, ventriküler çemberin geometrisi yanında, miyokardiyal sıklığı, sertliği sağlarlar, c-miyositlerce üretilen gücün iletimine katkıda bulunurlar ve miyositlerin aşırı gerilimlerini engellerler, d-sistol süresince enerji depolayarak relaksasyon sonucu miyositlerin yeniden uzamasını sağlarlar.

Kalp dokusunda tip IV, V, VI kollajenler düşük orandadırlar ve total kardiyak kollajenlerin yaklaşık %10'nu oluştururlar. Tip IV kollajen fibroblast ve kardiyak miyositlerin bazal membranlarında yerleşerek, hücre adhezyonu ve moleküler transportta rol oynar (5-8).

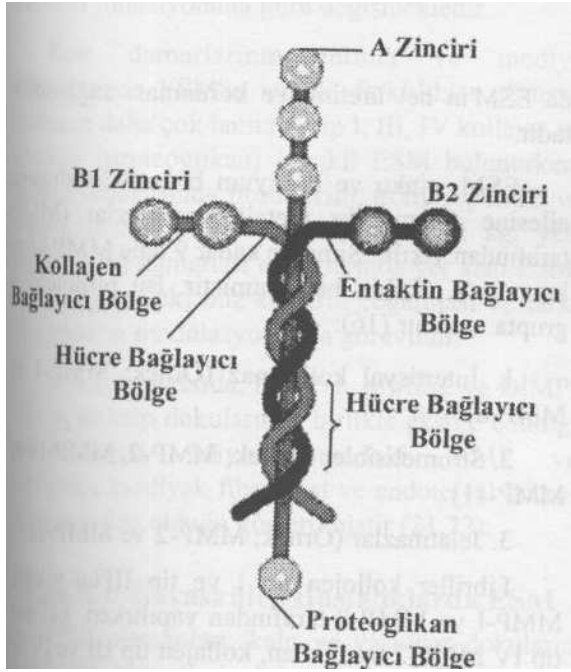
Tip V kollajen, tip IV ile birlikte kardiyak hücre tiplerinin bazal membranlarında bulunur. Ayrıca tip I ve tip III ile kardiyak intertisyumda yayıldıkları bilinmektedir.

#### 2. Elastin

Deri, kan damarları ve akciğerler gibi dokular, fonksiyon görebilmeleri için gerilip uzama yanında elastikiyete de ihtiyaç duyarlar. Bu organlardaki ekstrasellüler matriksdeki elastik lif ağı, gerilimden sonra onların tekrar eski haline dönmelerini sağlar. Elastik liflerin temel elemanı elastin'dir. Elastin oldukça hidrofobik olup yaklaşık 830 aminoasit (a.a) dizisi içerir. Kollajene benzer şekilde prolin ve glisin a.a'lerince zengindir. Fakat, kollajenden farklı olarak az sayıda hidroksprolin içerir. Hidroksilizin içermez. Elastin molekülleri, filament şeklini aldıkları ekstrasellüler alana salgılanırlar. Ekstrasellüler alanda, birbirlerine çapraz bağlarla bağlanarak geniş bir ağ sağlarlar. Bu çapraz bağlan-



**Şekil 1.** Fibronektinin plazma membranındaki reseptörü ile sitoplazmadaki aktin- vinkulin-talin bağlantısını gösteren üç boyutlu tasarım çizim (1).



**Şekil 2.** Klasik molekül yapı sarmalıyla lamininin moleküler yapısının üç boyutlu sarmalı gözleniyor (1).

malar, lizin kuyrukları arasında oluşmuştur. Elastin içindeki polipeptid zincirleri, elastik liflerin fonksiyon görebilmesi için, polipeptid zincirleri rastgele bükülmeler yapmıştır. Elastik lifler aynı zamanda glikoproteinler de içerirler ve hücrelerin plazma membranıyla yakın ilişkidedirler (1).

## B. Yapıştırıcı moleküller

### 1. Fibronektin

Fibronektin iki polipeptid zinciri içeren

dimerik bir glikoproteindir ve herbir zincir yaklaşık 2500 a.a içerir. Fibronektinler yapıştırıcı glikoproteinler olup üç homolog tekrar ünitesinden (tip I, II, III) oluşur.

Vücut sıvılarında fibronektinler çözünebilir promoterler halinde iken ekstrasellüler matrikslerde polimerik fibriller formlarda bulunmaktadır (9, 10).

Bu moleküllerin çok farklı fonksiyonları vardır, bunlardan bazıları; normal hücre morfolojisinin korunması ve devam ettirilmesi, hücre migrasyonunun sağlanması, hemeostaz, tromboz, yara iyileşmesi ve onkojenik transformasyonda rol oynamaları v.b. gibidir (9,11).

Fibronektinin 3 farklı formu vardır: a-plazma fibronektin olarak adlandırılan çözünebilir dimerik formu. Bu formu kanda ve diğer vücut sıvılarında bulunur. Yara iyileşmesi ve fagositozda görevlidir. b-Hücre-yüzey fibronektini. Hücrelerin yüzeyine yapışmış bir şekilde oligomer halinde bulunur. c-Matriks fibronektini. Hücre yüzeyi ve matriks topluluğunda, fibronektin dimerleri, ek disülfid bağlarıyla çapraz bağlanmalar yaparlar (1).

Fibronektin, endotel, düz kas ve fibroblastlarca üretilirler. Sıçan miyokardiyumunda vasküler endotelyumda lokalize olduğu bilinmektedir. Kollajen, heparin, fibrin ve proteoglikanlar için bağlanma alanlarına sahiptir. Fibronektin ESM ile miyosit hücre yüzeyi arasında bir köprü görevi yapar. Fibronektin sitoskeletle vinkulin-talin-aktin bağlantısı yoluyla ilişkidir (12, 13) (Şekil 1).

### 2. Laminin

Laminin, 70 nm uzunluğunda, tüm bazal lamina boyunca uzanan bir moleküldür (13). 400 kD'luk bir A zinciri ve 200 kD'luk 2 B (B1 ve B2) zincirleri olmak üzere 3 alt üniteden oluşmuştur. B1 ve B2 zincirleri birbirlerine ve A zincirinin N terminal proteininin 2/3'üne homologdur (12). Kardiyak laminin, kollajen tip I, III, IV'e bağlanabilir (Şekil 2).

Yetişkin kalbinde laminin bazal membranın tüm uzunluğu boyunca yerleşiktir ve sarkomerik Z bantları komşuluğunda daha bol bulunmaktadır. Hücre adhezyonu, göçü, büyümesi ve farklılaşmasına aracılık eder (8).

### 3. Tenaskin

Ekstrasellüler yapıştırıcı glikoproteinlerden birisidir ama fibronektin kadar geniş bir dağılım göstermez. Daha çok embriyonik dokularda bulunur. Sinir sisteminde gliyal hücreler tarafından salgılanır ve bazı nöronların tenaskin'e yapıştıkları bilinmektedir. Tenaskin, 6 disülfid bağlı polipeptid zincirinin kompleks ağından oluşmuştur (1).

### 4. Vitronektin

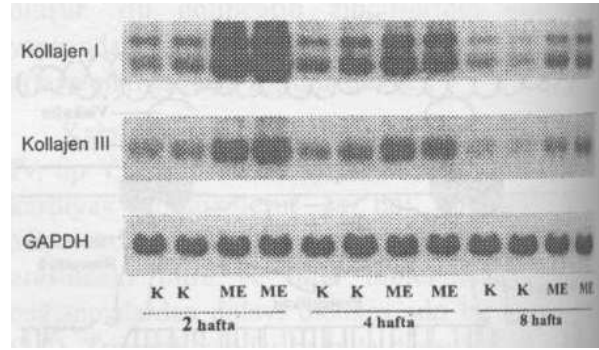
Vitronektin birçok dokuda plazma ve ekstrasellüler matriksde yer alan bir glikoproteindir. İn vivo fonksiyonu hakkında pek fazla bilgi bulunmasa da, hücre tutunması ve göçü gibi bazı biyolojik olaylarda görev aldığı bilinmektedir. Vitronektinin büyük bir miktarı karaciğer tarafından sentezlenmektedir. Fare organogenezisi sırasında beyinde de önemli rollere sahip olduğu bulunmuştur. Vitronektinden yoksun farelerle yapılan çalışmalarda, vitronektin'in fare gelişiminde hücre adhezyonu ve göçü için temel moleküllerden biri olduğu gösterilmiştir (14).

Vitronektin  $\alpha$ ,  $\beta$  3 ve  $\beta$  5 integrinler gibi hücre yüzeyindeki kendine özgü reseptörüne bağlanarak hücre ile ilişkisini sağlar. Vitronektinin ESM proteinleri ile olan ilişkisi, kollajen bağlama domeni ile gerçekleşir. Vitronektin, hücre tutunması, yayılması, çoğalması ve bir çok normal ve neoplastik hücrelerin farklılaşmasında işlev gören aracı bir glikoproteindir (15).

### Kalpde ESM Sentezi ve Yıkımının Düzenlenmesi

Kalpdeki total hücre topluluğunun 1/3'nü kardiyak miyositler oluştururken, 2/3'ünü miyosit olmayan hücreler oluşturmaktadır. Miyosit olmayan hücreler, fibroblastlar, endotelial hücreler ve vasküler düz kas hücreleridir. Fibroblastlar kalpte, miyosit olmayan hücre grubunun en büyüklere (8).

Kalpte net ESM konsantrasyonu, sentezi ve yıkımı arasındaki dengeye bağlıdır. AT-II (Anjiyotensin II) ve TGF (Dönüştürücü büyüme faktörü) içeren çeşitli sitokinler, ESM sentezinin regülasyonunda görev alırlar (7). TGF ailesine ait olan TGF $\beta$ , ESM'in sentezini stimüle etmekte fakat yıkımını inhibe etmektedir. Böylece çeşitli dokular-



**Şekil 3.** Miyokardiyal enfarktüs sonrası tip I ve tip III kollajenlerin mRNA'larındaki artışın Northern blot analizleri görülmektedir. 2-8 haftalar arasındaki zaman diliminde gözlenen mRNA düzeyleri konuya molekül boyutunda orijinal yaklaşım vermektedir.

K: Kontrol, ME: Miyokardiyal enfarktüs, GAPDH: Gliseraldehid 3-fosfat dehidrogenaz (8).

da ESM'in net üretimi ve korunması sağlanmaktadır.

ESM, çinko ve kalsiyum bağımlı enzimlerin ailesine ait matriks metalloproteinazlar (MMP) tarafından yıkılır. Şimdiye kadar 9 tane MMP klonlanmış ve dizileri belirlenmiştir. Bu proteinler 3 grupta toplanır (16):

1. İntertisyel kollejenaz (Örnek; MMP-1 ve MMP-8)
2. Stromelisinler (Örnek; MMP-2, MMP-10 ve MMP-11)
3. Jelatinazlar (Örnek; MMP-2 ve MMP-9)

Fibriller kollojen tip I ve tip III'ün yıkımı, MMP-I ve MMP-8 tarafından yapılırken, kollajen tip IV MMP-2 tarafından, kollajen tip III ve IV ile fibronektin, laminin ve proteoglikanlar stromelisin tarafından yıkılır.

Normal fizyolojik şartlar altında MMP'lar latent formdadırlar. Tümör nekrozis faktör alfa, interleukin-1, trombosit kökenli büyüme faktörü ve fibroblast büyüme faktörü gibi çeşitli faktörler, değişik hücre tiplerinde MMP'ların ekspresyonunu stimüle eder (16).

Doku inhibitor matriks metalloproteinaz'ları (DİMP), MMP doku inhibitörü olup, aktivasyonu kontrol eder. DİMP ailesinin 3 üyesi tanımlanmıştır (DİMP-1, DİMP-2, DİMP-3). DİMP-1, kollajenaz, stromelisin ve jelatinazın aktif formu için yüksek afiniteye sahiptir. DİMP-1'in hedef MMP'ye kova-

lent olmayan bağlanması dönüşümsüzdür. DİMP-1 ekspresyonu çeşitli sitokinler ve hormonlar tarafından indüklenirken, DİMP-2 ekspresyonu süreklidir (8).

TGF-B1'in, MMP-1 (17) ve stromelisin'i (18) inhibe ettiği fakat diğer yandan MMP-2 ve TIMP'i, kültüre edilmiş hücrelerde stimüle edebileceği de bildirilmiştir (19).

### Vasküler ESM

Vasküler duvardaki temel ESM öğeleri kollajen alt üniteleri, laminin, fibronektin, elastin ve çeşitli proteoglikanlardır (20). Vasküler ağaçdaki ESM proteinlerinin oranı ve içeriği spesifik damarın fonksiyonuna göre değişmektedir.

Kan damarlarının intima ve mediya tabakalarında ESM'in içeriği, farklılıklar gösterir. İntimada daha çok laminin, tip I, III, IV kollajen ve entaktin (proteoglikan) içerikli ESM bulunurken, mediya tabakasında fibronektin, trombospondin ve proteoglikanları içeren intertisyel ESM ağı yerleşiktir. Kan damarları duvarlarında yer alan ESM, aynı bölgelerdeki düz kasların çoğalması ve farklılaşmasının modülasyonunda görevlidir.

Son çalışmalarda, MMP-1, MMP-2 ve DİMP-1'in sıçan kalp dokularında birlikte ekspre edildiği gösterilmiştir. Miyokardiumdaki MMP ve DİMP'nin kardiyak fibroblast ve endotelial hücrelerde lokalize olduğu gösterilmiştir (21,22).

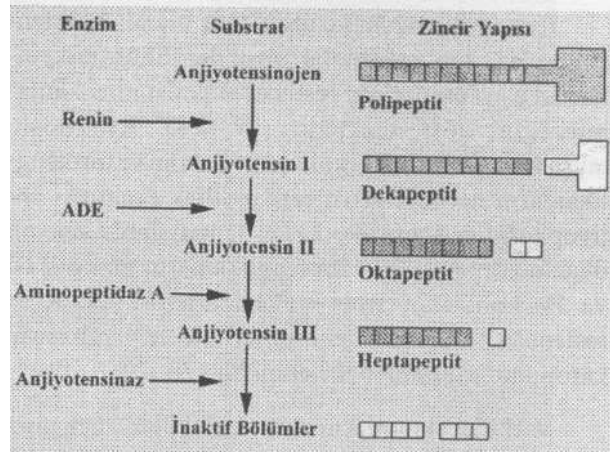
### Bazı Kardiovasküler Hastalıklarda ESM

ESM elemanları, kalp ve vasküler dokuların hem yapı hem de fonksiyonunun sağlanmasında önemlidir. Miyokardiyal enfarktüs (ME), hipertrofi, hipertansiyon ve kalp yetmezliğinin kardiyak fibrosis ile yakın ilişkisi vardır.

#### Miyokardiyal Enfarktüs (ME) ve ESM

ME, kalp kasında koroner arterin tıkanması sonucu oluşan nekroz durumudur. ME'da ESM'in birikimi ile; intertisyum fazlaşmış, oksijen ve tüm metabolik maddeler için difüzyon mesafesi artmış, miyosit-miyosit etkileşimi azalmış, miyositlerin laminin ile etkileşimleri değişmiştir.

Sıçan ve tavşan modellerinde yapılan bir çalışmada, ME indüklenmesinden sonraki 7., 14., 21. ve 35. günlerde, kollajen ve fibronektin ekspresyonu



Şekil 4. Renin-anjiyotensin reaksiyonunun şematik gösterimi.

Enzim zincirleri ve ara kademe etkileşmelerini özetleyen bu şema anjiyotensin serisini iyi belirlemektedir (60).

artmıştır. Bunun yanında tip I ve tip III kollajen mRNA'larında da kontrol gruplarına göre artışlar görülmüştür (Şekil 4). Yine aynı çalışmada sonradan ADE inhibitörü (enalapril) veya anjiyotensin tip I reseptör blokörü (losartan) uygulanmasından 4 hafta sonra ventriküler fibrozisin azaldığı tesbit edilmiştir (8). Bu sonuçlar AT-II'nin, ME'dan sonra sıçan kalbinde kardiyak fibrosisin stimülasyonunda temel faktör müdür, sorusunu akla getirmektedir.

### Kardiyak fibrosis ve kalp yetmezliğinde ESM

Kardiyak fibroblastlarda, AT-1 reseptörü, ESM proteinlerinin sentezinin indüksiyonuna ve mitojenik cevaplar aracılığı ile olan gen ekspresyonuna katılır (23). AT-II'nin in vivo uygulanmasının, deney hayvanlarında kardiyak kollajen ve fibronektinin artışıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (8). ADE inhibitörleri veya AT-1 reseptör antagonistleri ile yapılan klinik denemelerde, miyokardiyal ESM toplanmasının engellendiği ve de miyokardiyal enfarktüs sonrası yeniden yapılanmayı düzelttiği görülmüştür (24,25).

### Restenos ve ESM

Restenos, damar duvarında mediyal düz kas hücrelerinin, dinlenme fazından intimal tabakaya göç ederek çoğalmaları nedeniyle oluşan arteriyel daralmalardır. Restenos, bypass ameliyatı veya anjiyoplastinin 6. ayındaki hastaların %30-40'ında ortaya çıkmaktadır (26).

Restenosin mekanizması tam olarak belirlenemese de, son çalışmalar vasküler ESM proteinlerinin aşırı üretiminin restenosin gelişimine katılabileceğini göstermektedir (27, 28). Restenozlu tavşan modellerinde, kollajen, elastin ve proteoglikanların net içeriği ve sentezi iliak arterdeki anjiyoplastiden sonra 1., 2. ve 4. haftalarda önemli ölçüde artmıştır (27). Proteoglikanların ve tip I, III ve IV kollajenin artan sentezi arterosklerotik ve restenotik insan koroner arterlerinde ve yaralı sıçan karotid arterlerinde belirlenmiştir (28, 29).

Vasküler kalınlaşmanın moleküler mekanizmasını araştırmak için yaralı sıçan karotid arterlerinin kullanıldığı bir çalışmada; C-fos, C-jun, junB, junD ve Egr'i içeren genlerine ait mRNA'ların yaralanmadan 1 saat sonra, fibronektin ve TGF- $\beta$ 'nin mRNA larının ise yaralanmadan 6 saat sonra arttığı ve 7. güne kadar da artmasını sürdürdüğü gözlenmiştir. Yine aynı çalışmada, yaralı karotid arterli sıçanlara, AT-1 antogonisti uygulanmasının, fibronektin ve diğer ilgili genlerin mRNA'sının artışı inhibe ettiği sonuçta da ESM birikimi ve intimal kalınlığın azaldığı belirlenmiştir (30).

### Hipertansiyon ve ESM

Hipertansiyon, arteriyel ağacın vasküler duvarlarının kalınlaşması yanında, kalp yetmezliği ve hipertrofisi ile karakterizedir. Hipertansiyon vakalarında aortik bağlanmanın hemen ardından, sol ventrikülün vasküler yatağında, fibronektin ve tip I, III, IV kollajen mRNA'larında artış görülmektedir. Bu ekspresyon eğilimi, maksimal kardiyak hipertrofinin gelişimi öncesinde oluşmaktadır. Primer kardiyak miyopati nedeniyle, kalp yetmezliği ve hipertansiyonlu hastalarda, fibronektin, laminin ve vimentin yanında tip I, III, IV ve VI kollajenin artmış ekspresyonu gösterilmiştir (8). Kardiyak kollajen birikiminin, kas sıkılığı ve sertliği ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Vasküler duvarda ESM'in birikimi, arterlerin daralmasına dolayısıyla da hipertansiyona neden olur. Hem ACE inhibitörünün hem de AT-1 reseptör antogonistleri uygulanması ile yapılan çalışmaların sonuçları fibrosis ve kardiyak hipertrofinin regresyonunda rolleri olduğunu göstermektedir (31, 32).

Dixon ve arkadaşlarının (33) yaptığı bir çalışmada ventriküler miyositlerin mekanik olarak ge-

rilmesinin, invitro AT-II salgılanmasını indüklediği ve gerilim indüksiyonunun kardiyak hipertrofi için önemli bir mekanizma olduğu gösterilmiştir.

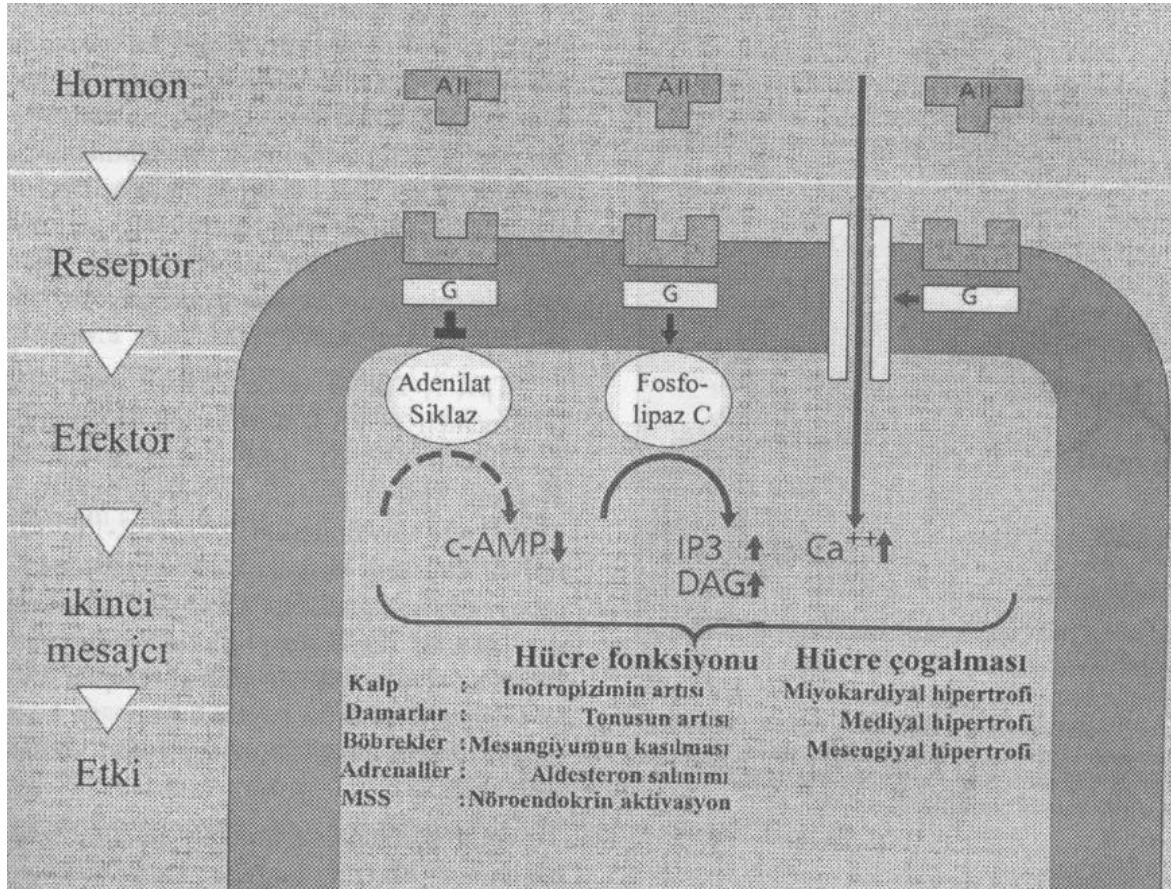
Neonatal kardiyak miyositler kullanılarak yapılan bir çalışmada (33), AT-II'nin hücre sel büyüme faktörü gibi davrandığı ve sol ventrikül gelişiminde rol oynadığı belirlenmiştir. Miyosit hipertrofisi ve kalp yetmezliğinde TGF- $\beta$  ve AT II'nin rolünü anlayabilmek için, bunların kalpdeki etkilerine bakmanın yararlı olacağı inancını taşı-maktayız.

Restenozisde rol oynayan etkenlerin etki mekanizmaları ile ilgili olarak Huckle ve arkadaşlarının (32) yaptığı bir çalışmada olası sinyal yollarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmada, kardiyak miyositlerin, endotelin ve fibroblastların TGF- $\beta$  ürettikleri belirlenmiş ve hem kardiyak miyositlerde hem de fibroblastlarda TGF- $\beta$ 'nin 3 reseptörünün mevcudiyeti vurgulanmıştır. Sonuçta, reseptörler ile sinyal iletiminin gerçekleştirilebileceği ileri sürülmüştür.

### Kalpde Anjiyotensin-II

Klasik olarak Renin-anjiyotensin-sistem (RAS) komponentleri, renin, anjiyotensinojen, anjiyotensin-dönüştürücü enzim (ADE) ve anjiyotensin-I ve II'den oluşmaktadır. Akciğer, büyük bir plasma proteini olan anjiyotensinojenin temel kaynağıdır ve böbreğin jukstaglomerular aparatında (hücrelerinde) üretilen reninin doğal substratı olduğu bilinmektedir (34). Renin anjiyotensinojeni ayırarak AT-I decapeptidi salınır ve bu inaktif öncül, ADE ile başlıca akciğerler ve ya diğer dokularda aktif AT-II 'ye dönüştürülür (35) (Şekil 4). ADE, kardiyovasküler sistemin arteriyel ve venöz ağacının damarlarında uzanan endotel hücrelerin sentez ürünü olarak iyi karakterize edilmiştir.

Kardiyak fibroblastlar ve miyositlerden de AT-II'nin üretildiği ve salındığı gösterilmiştir (36). Lokal olarak üretilsin ya da üretilmesin, AT-II, hem direkt hem de indirekt olarak miyokardiumu etkiler. AT-II'nin kardiyovasküler sistemdeki direkt etkisi, potent vasokonstriktör, pozitif kardiyak inotropismi ve pozitif kardiyak kronotropismi oluşturmaktadır. AT-II'nin kalpde indirekt etkisi ise aldes-teron sentezi stimülasyonu ve sempatik sistemin aktivasyonu nedeniyle kardiyak yüklenmeyi artırmasıdır (37).



**Şekil 5.** Anjiyotensin II'nin hedef hücrelerdeki etki mekanizması. Anjiyotensin II hücre yüzeyindeki reseptörüne tutunduktan sonra, G proteinlerinin aktive olmasıyla hücre-içi bir çok mekanizmaları başlatmaktadır (60).

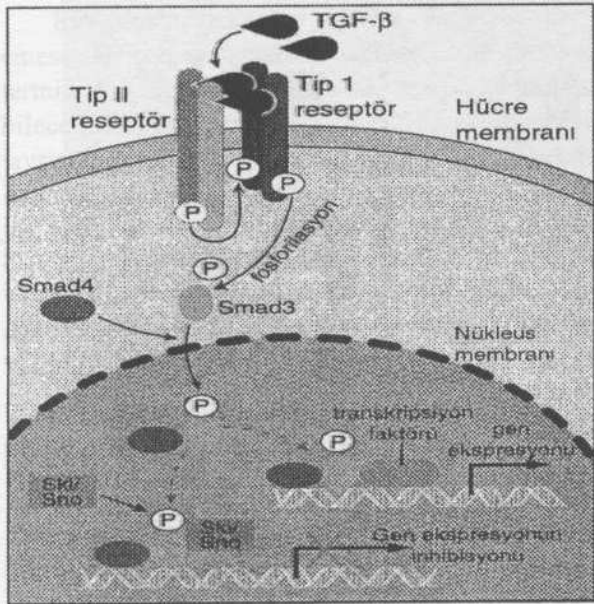
Kardiyak ve diğer dokulardaki AT-II tarafından indüklenen hücreyel olaylar, değişik AT-II reseptörlerinin dengeli aktivasyonuna bağlıdır. Biyokimyasal, moleküler ve farmakolojik çalışmalar, AT-II'nin 2 temel reseptör alt grubunun varlığını ortaya koymuştur. Bu reseptörler ATR-1 ve ATR-2 olarak bilinmektedir. Kardiyovasküler sistemdeki AT-II tarafından yönetilen olayların büyük çoğunluğu ATR-1 reseptörüne bağlanan AT-II tarafından gerçekleştirilir (37,38).

AT-II'nin AT-1 reseptörlerine bağlanması, G proteinlerini aktive eder. Hem ergin hem de neonatal kardiyak fibroblastları kullanarak yapılan çalışmalar, ATR-1 aktivasyonunun, fosfolipaz C-B (PLC-B)'nin aktivasyonu ile ilişkili olduğunu göstermiştir (39). ATR-1 yolu ile G proteininin aktivasyonu, fosfoinositol 4,5 bifosfat'ın (PIP2), PLC-B aracılığıyla inositol 1,4,5 trifosfat'a (IP3) ve 1,2

diasilgliserol (DAG)'a ayrılmasını sağlar. IP3 ve DAG birbiriyle paralel çalışırlar ve bunlar sinyal yolunun intraselüler mediyatörleridir. IP3'ün salınımı, miyosit sitosölünde intraselüler  $Ca^{+2}$ 'un hızla artışına neden olur. Bu fenomen, dış  $Ca^{+2}$  konsantrasyonundan bağımsızdır ve kalpte, akut pozitif inotropik etkilerde maksimum sınıra ulaşır (40,60) (Şekil 5).

Diğer yandan DAG bağlanması, membranbağımlı protein kinaz C yolunu aktive ederek miyokardiyal protein sentezinin indüksiyonu ve kardiyak hipertrofinin gelişinde rol alır (41). Bu yolda mitojen aktiviteli protein kinazın (MAPK) da, çekirdekle ilgili olaylar ve dış stimülasyonlar arasında koordinasyon sağlamada önemli rol oynadığı bilinmektedir (42).

Son olarak, AT-II'nin, vasküler düz kas hücrelerinde Janus kinaz (JAK) ailesine ait



**Şekil 6.** TGF- $\beta$  sinyal yolunda, TGF- $\beta$  ve Smad proteinlerinin etkileşimi (54).

TGF- $\beta$  hücre yüzeyindeki Tip II reseptörüne tutunduktan sonra TGF- $\beta$  ve tip II reseptör kompleksi, tip I reseptörünü fosforlar. Daha sonra Smad proteinleri fosforlanır. Aktive olmuş Smad'lar, nükleusa geçerek ilgili genin ekspresyonunu başlatırlar.

çözülebilir kinazı aktive ettiği gösterilmiştir (43). Aktive JAK proteinleri, sinyal taşıyıcıları ve transkripsiyon aktivatörleri (STAT) olarak bilinen protein ailesini spesifik olarak fosforlarlar. Böylece AT-II, çekirdekte, STAT proteinin translokasyonuna neden olur (44). Kültüre edilmiş neonatal kardiyak fibroblastlarda, AT-II, STAT proteinlerinin fosforilasyonunu indükler ve STAT'ın çekirdeğe geçişini başlatır (45). Böylece, AT-II hızlı bir şekilde miyokardiyal hücrelerin gelişimini stimüle eder.

### Miyokardiyumda TGF- $\beta$

TGF- $\beta$  süper ailesi, multifonksiyonel sitokinlerin bir grubudur. TGF- $\beta$  bir dizi biyolojik fenomene katılır: Embriyogenezin, hücre gelişiminin, hücre farklılaşma ve çoğalmasının, yarı iyileşmesinin, ESM komponentleri sentezinin ve de immun baskılanmasının regülasyonu gibi (46,47).

Memelilerde TGF- $\beta$ 'nin TGF- $\beta$ 1,  $\beta$ 2 ve  $\beta$ 3 olmak üzere 3 farklı tipi bulunmaktadır. Bunların tümü hedef hücrelerde benzer etkiler gösterirler. Tüm TGF- $\beta$  izoformları, yaklaşık 25 kD'luk altünit proteinlerinin homodimerlerine kovalent olarak bağlanırlar ve miyokardiyumda eksprese edildikleri

bilinmektedir. Kardiyak miyositlerin, endotelin ve fibroblastların TGF- $\beta$  üretebildikleri gösterilmiştir. Fakat miyokardiyal TGF- $\beta$ 'nin çoğunluğu kardiyak fibroblastlar tarafından sekrete edilmektedir (48-50). TGF- $\beta$  reseptörlerinin 3 tipi tanımlanmıştır. Bu reseptör tipleri, Tip I (T $\beta$ R-I, 53 kD), Tip II (T $\beta$ R-II, 70 kD), Tip III (T $\beta$ R-III, 200-400 kD) reseptörleridir. Bu reseptör tipleri, hem kardiyak miyositlerde hem de kardiyak miyosit olmayan hücrelerde lokalizedir (51).

T $\beta$ R-1, T $\beta$ R-II ve de T $\beta$ R-III reseptörlerinin, tüm memeli TGF $\beta$  izoformlarına bağlandıkları bilinmektedir (32,52). TGF- $\beta$ 'ya T $\beta$ R-1'in bağlanmasının, T $\beta$ R-II yardımı ile gerçekleşebileceği ve T $\beta$ R-II'nin sinyal iletimi için T $\beta$ R-1'in varlığına ihtiyaç duyacağı vurgulanmaktadır. Bu her iki reseptör de, serin/tirionin kinaz aktivitesi sergilese de, Tip-I ve Tip-II reseptörlerinin bağlanma özellikleri şu açıdan farklıdır: Tip-II reseptör, ortamdaki serbest TGF- $\beta$ 'ya bağlanır ama tip I reseptör sadece TGF- $\beta$  bağlı tip-II reseptör kompleksini tanıyabilir.

TGF- $\beta$  reseptör kompleks aracılı sinyaller ile başlatılan olaylar bugüne kadar az anlaşılır kalmıştır. Bu bağlamda, Drosophila proteinlerinin yeni bir grubu olan ve Mad'lar olarak adlandırılan proteinlerin, çeşitli dokularda çekirdeğe ait transkripsiyonu başlattığı bilinmektedir (53). Mad'lar oldukça korunmuş N ve C terminalleriyle 450 a.a'den ve çeşitli proline zengin merkezi 60 domainden oluşmuştur.

Son çalışmalar Mad proteinlerinin, nükleer transkripsiyonu başlatan TGF- $\beta$  için önemli fonksiyonlara sahip olduğunu bildirmektedir (54,55). TGF- $\beta$  sinyali için Mad'ların fosforilasyonunu önemli bir adımdır. İnsan ve fare Mad homologları Smad 1 ve Smad 2 olarak tanımlanmaktadır (56,57). Smad'lar, TGF- $\beta$  sinyal yolunda fonksiyonel olan stoplazmik proteinlerdir. Smad'lar fosforilasyon ile aktive edilmekte ve sonra çekirdeğe taşınıp, burada ilgili genin ifadesini sağlamaktadırlar (Şekil 6). Smad'ların 3 grubu tanımlanmıştır (58):

1. Reseptör regülasyonunu sağlayanlar (R-Smad 1, 2, 3, 5, 8)
2. Yaygın mediatörler (Co-Smad4)
3. İnhibitör Smad'lar (I-Smad 6, 7)



Çeşitli hücrelerde, TGF-β'nın parakrin ve otokrin mekanizmalar ile, ESM proteinlerinin ekspresyonunu kontrol ettiği bilinmektedir (47). TGF-β kültüre edilmiş kardiyak fibroblastlarda, kollajen, fibronektin ve proteoglikanları içeren ESM'in üretimini stimüle eder (59). TGF-β mRNA'sı ve proteinin artan ekspresyonu, sıçan kalbinde akut enfaktüs bölgesinde hipertrofik miyositlerde gösterilmiştir. Bu da, TGF-β'nın kardiyak yara iyileşmesinden sorumlu bir mediyatör olduğunu göstermektedir. TGF-β, erken dönemde, miyokardiyal doku tamiri için yararlı olduğu önerilen fakat geç dönemde kalp yetmezliğinin gelişimine katkıda bulunabilecek ESM genişlemesini stimüle eder.

TGF-β'nın, kardiyak matriks metalloproteinaz (MMP) ailesinin bir üyesi olan stromelisin'in promotor aktivasyonunu inhibe ettiği bilindiğinden (18), TGF-β, sadece kardiyak kollajen sentezi için değil aynı zamanda kollajen yıkımını da regüle etmektedir. Miyokardiyal enfarktüs, miyositlerin kaybına ve hayatlarını sürdüren kardiyak dokunun yeniden şekillenmesine katkıda bulunur. Bu da, enfarkte olmuş zon boyunca, artmış kollajenaz aktivitesi ile sonuçlanan, kollajenin hızlı bir yıkımını içerir. Akut ve kronik iskemik kalp hastalıklarında, intertisyel kardiyak kollajen matriksinin regülasyon mekanizmaları, TGF-β konsantrasyonundaki değişiklikler ile ilişkilidir. ME sonrası kalpte, enfarktüs zonunun araştırılması, yeni TGF-β'nın izoformlarının mRNA'sının ekspresyonunu ortaya çıkarmıştır.

Son in-vitro çalışmalar, AT-II'nin; TGF-β1 gen ekspresyonunu stimüle ettiği kardiyak fibroblast, miyosit, endotel ve vasküler düz kas hücrelerinde TGF-β'nın üretimini artırdığı gösterilmiştir. AT-II ile indüklenen TGF-β1 üretimi protein kinaz C (PKC) bağımlıdır.

Sonuç olarak bugüne kadar ESM ve kardiovasküler hastalıklarla olan bağlantısına ilişkin yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde, ESM'in kardiovasküler hastalıklarla direkt bir ilişkisi vardır denilenebilir. Bu ilişkinin moleküler temelleri üzerinde yapılan çalışmalar tüm hızıyla sürdürülmektedir. Böyle çalışmalar sürdürüldükçe temel mekanizmalar ile ilgili yeni bulgular elde edilecek ve tedaviye yönelik yeni yaklaşımlar geliştirilebilecektir.

## KAYNAKLAR

1. Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD. Molecular Biology of The Cell. In: Alberts B, ed.. The extracellular matrix. New York: Garland Publishing. 1990: 803, 815, 818.
2. Eghabali M, Blumenfeld O, Seifter S, Buttrick P, Leinwand D, Robinson T, Zern M, Giambone M. Localization of types I, III and IV collagen mRNAs in rat heart cells by in situ hybridization. J Mol Cell Cardiol 1989; 21: 103-15.
3. Bishop JE, Laurent GJ. Collagen turnover and its regulation in the normal and hypertrophic heart. Eur Heart J 1995; 16 ( Suppl C): 38-44.
4. Limoto DS, Covell JW, Harper E. Increase in cross-linking of type I and type III collagen associated with volume-overloaded hypertrophy. Circ Res 1988; 63:399-408.
5. Weber KT, Sun Y, Tyagi SC, Cleutjens JPM. Collagen network of the myocardium: function, structural remodeling and regulatory mechanisms. J Mol Cell Cardiol 1994; 26:279-92.
6. Pelouch V, Dixon IMC, Golfman L, Beamish RE, Dhalla NS. Role of the extracellular matrix proteins in heart function. Mol Cell Biochem 1993; 129:101-20.
7. Ju H, Dixon IMC. Effect of angiotensin II on myocardial collagen gene expression. Mol Cell Biochem 1996; 163/164:231-7.
8. Ju H, IMC Dixon. Extracellular matrix and cardiovascular diseases Can J Cardiol 1996; 12(12):1259-67.
9. Johansson S, Svineng G, Wennerberg K, Armulik A, Lohikangas L .Fibronectin-integrin interaction. Front Biosci 1997; 2:d126-46.
10. Demir AY. İnsan plasentasında fibronektin ve matriks metalloproteinazlarının dağılımı: Doku düzenlenmesi ve trofoblast invazyonu açısından rolleri. Doktora tezi. Antalya, 1999: 6,7.
11. Yamada KM. Cell biology of extracellular matrix. In: Hay ED editor. Fibronectin and other cell interactive glycoproteins, 2nd ed. New York: Plenum Press, 1991: 111-24.
12. Kreis T, Vale R, eds. Guidebook to Extracellular matrix and Adhesion Proteins. London: Oxford University Press, 1993: 66.
13. Darnell J, Lodish H, Baltimore D. Molecular cell biology. In: Darnell James E, ed. The Extracellular matrix serves many functions. New York: Scientific American Books. 1989: 920-3.
14. Zheng X, Saunders TL, Camper SA, Samuelson LC, Ginsbu. Vitronectin is not essential for normal mammalian development and fertility. Proc natl Acad Sci USA 1995 Dec 19; 92.
15. BD Labware, 2001
16. Birkedal-Hansen H, Moore WGI, Bodden MK. Matrix metalloproteinases: a review. Crit Rev Oral Biol Med 1993; 4:197-250.

17. Chua CC, Chua BHL, Zhao CZY, Krebs C, Diglio C, Perrin E. Effect of growth factors on collagen metabolism in cultured human heart fibroblasts. *Connect Tissue Research* 1991; 26:271-81.
18. Kerr LD, Miller DB, Matrisian LM. TGF- $\beta$ 1 inhibition of transin/stromelysin gene expression is mediated through a fos binding sequence. *Cell* 1990; 61:267-78.
19. Overall CM, Wrana JL, Sodek J. Transcriptional ve post transcriptional regulation of 72 kDa gelatinase/type IV collagenase by transforming growth factor- $\beta$ 1 in human fibroblast. *J Biol Chem* 1991; 266:14064-71.
20. Carey DJ. Control of growth and differentiation of vascular cells by extracellular matrix proteins. *Annu Rev Physiol* 1991; 53:161-77.
21. Tyagi SC, Kumar SG, Glover G. Induction of tissue inhibitor and matrix metalloproteinase in myocardium. *J Cell Biochem* 1995; 58:360-71.
22. Tyagi SC, Kumar SG, Banks J, Fortson W. Co-expression of tissue inhibitor and matrix metalloproteinases in myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 1995; 27:2177-89.
23. Brilla CG, Zhou G, matsubara L, Weber Kt. Collagen metabolism in cultured adult rat cardiac fibroblast: Responses the angiotensin II and aldosterone. *J Mol Cell Biochem* 1994; 26:809-20.
24. Schieffer B, Wirger A, Meybrunn M, Seitz S, Holtz J, Riede U, Drexler H. Comparative effects of chronic angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II type I receptor blockade on cardiac remodeling after myocardial infarction in the rat. *Circulation* 1994; 89:2273-82.
25. Makino N, Hata T, Sugano M, Dixon IMC, Yanaga T. Regression of hypertrophy after myocardial infarction is produced by the chronic blockade of angiotensin type 1 receptor in rats. *J Mol Cell Cardiol* 1996; 28:507-17.
26. Hermans WRM, Rensing BJ, Strauss BH, et al. Prevention of restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty (PTCA): the search for a 'magic bullet' *Am Heart J* 1991; 122:171-87.
27. Strauss BH, Chisholm RJ, Keely FW, Gotlieb AI, Logan RA, Armstrong PW. Extracellular matrix remodeling after balloon angioplasty injury in a rabbit model of restenosis. *Circ Res* 1994; 75:650-8.
28. Macleod DC, Struss BH, de Jong M, et al. Proliferation and extracellular matrix synthesis of smooth muscle cells cultured from human coronary atherosclerotic and restenotic lesions. *J Am Coll Cardiol* 1994; 23:59-65.
29. Reissen R, Isner JM, Blessing E, Loshin C, Nikol S, Wight TN. Regional differences in the distribution of the proteoglycans biglycan and decorin in the extracellular matrix of atherosclerotic and restenotic human coronary arteries. *Am J Pathol* 1994; 144:962-74.
30. Kim S, Kawamura M, Wanibuchi H, Ohta K, Hamaguchi A, Omura T, Yukimne T, Miura K, Iwao H. Angiotensin II type I receptor blockade inhibits the expression of immediate-early genes and fibronectin in rat injured artery. *Circulation* 1995; 92:88-95.
31. Pratt RE, Dzau VJ. Pharmacological strategies to prevent restenosis. Lessons learned from blockade of the renin-angiotensin system. *Circulation* 1996; 93:848-52.
32. Huckle WR, Drag MD, Acker WR, Powers M, McFall RC, Holder DJ, Fujita T, Stabilito II, Kim D, Ondeyka DL, Mantlo NB, Chan RS, Reilly CF, Schwartz RS, Greenlee WJ, Johnson RG. Effects of subtype-selective and balanced angiotensin II receptor antagonist in a porcine coronary artery model of vascular restenosis. *Circulation* 1996; 93:1009-19.
33. IAN M.C. Dixon ve ark. Angiotensin II and TGF-b in the Development of Cardiac Fibrosis, Miyocyte Hpertrophy, and Heart Failure. *Heart Failure Reviews* 1997; 2:107-16.
34. Dostal De, Baker KM. *The Failing Heart*. Philadelphia: Lippincott Raven, Publishers, 1995; 275-94.
35. Silbernagl S, Despopulas A. *Tascheyatlas der Physiologie*. Çeviren: Prof.Dr. Nuran Hariri 'Fizyoloji atlası', 1989: 138.
36. Sadoshima J, Xu Y, Slayter HS, Izumo S. Autocrine release of angiotensin II mediates stretch-induced hypertrophy of cardiac myocytes in vitro. *Cell* 1993; 75:977-84.
37. Goodfriend TL, Elliott ME, Catt KJ. Angiotensin receptors an their antagonists. *N Engl J Med* 1996; 334:1649-54.
38. Griendling KK, Lassegue B, Alexander RW. Angiotensin receptors and their therapeutic implications. *Annu Rev Pharmacol* 1996; 36:281-306.
39. Booz GW, Baker KM. Molecular signaling mechanisms controlling growth and function of cardiac fibroblasts. *Cardiovascular Research* 1995; 30:537-43.
40. J, Izumo S. Molecular characterization of angiotensin II-induced hypertrophy of cardiac myocytes and hyperplasia of cardiac fibroblast. Critical role of the AT1 receptor subtype. *Circ Res* 1993; 73:413-23.
41. Nishizuka Y. Intracellular signaling by hydrolysis of phospholipids and activation of protein kinase C. *Science* 1992; 258:607-14.
42. Sadoshima J, Qui Z, Morgan JP, Izumo S. Angiotensin II and other hypertrophic stimuli mediated by G protein-coupled receptors activated tyrosine kinase, mitogen-activated protein kinase, and 90-kd S6 kinase in cardiac myocytes. *Circ Res* 1995; 76:1-15.
43. Marrero MB, Schieffer B, Paxton WG, Heerdt L, Berk BC, Delafontaine P, Bernstein KE. Direct stimulation of Jak/STAT pathway by the angiotensin II AT1 reseptor. *Nature* 1995; 375:247-50.
44. Schieffer B, Paxton WG, Marrero MB, Berstein KE. Importance of tyrosine phosphorylation in angiotensin II type I receptor signaling. *Hypertension* 1996; 27:476-80.
45. Bhat CJ, Thekkumara TJ, Thomas WG, Conrad KM, Baker KM. Angiotensin II stimulates sis-inducing factor-like DNA binding activity:evidence that the AT1A reseptor activates transcription factor stat 91 and/or a related protein. *J Biol Chem* 1994; 269:31443-49.
46. Wrana JL, Attisano L, Wieser R, Ventura F, Massague J. Mechanism of activation of the TGF- $\beta$  receptor. *Nature* 1994; 370:341-7.

- 47.Border WA, Nobel NA. Transforming growth factorb in tissue fibrosis. *N Engl J Med* 1994; 331:1287-92.
- 48.Engelman GL, Boehm KD, Birchenall-Roberts MC, Ruscetti FW. Transforming growth factor-b in heart development. *Mechan Dev* 1992; 38:85-9.
- 49.Chua CC, Diglio CA, Siu BB, Chua BHL. Angiotensin II induces TGF- $\beta$  production in rat heart endothelial cells. *Biochim Biophys Acta* 1994; 1223:141-7.
- 50.Lee AA,Dillmann WH, McCulloch AD, Villarreal FJ. Angiotensin II stimulates the autocrine production of transforming growth factor- $\beta$ 1 in adult rat cardiac fibroblast. *J Mol Cell Cardiol* 1995.
- 51.Engelmann GL, Grutkoski PS. Coordinate TGF- $\beta$  reseptör gene expression during rat heart development. *Cell Mol Biol Res* 1994; 40:93-104.
- 52.Wrana JL, Attisona L, Carcamo J. TGF beta signals through a heteromeric protein kinase receptor complex. *Cell* 1992; 71:1008-14.
- 53.Jianming Hao ve ark. Elevation of Expression of Smads 2, 3, and 4, Decorin and TGF- $\beta$  in the Choronic Phase of Miyocardial Infarct Scar Healing. *J Mol Cell Cardiol* 1999; 31: 667-78.
- 54.Gretchen Vogel. A New Blocker for the TGF-B Pathway. *Science* 1999; 286: 665.
- 55.Korchynskiy O, Landström M, Stoika R, Funa K, Heldin CH, ten Dijke P, Souchelnyskiy S. Expression of Smad proteins in human colorectal cancer. *Int J Cancer* 1999; 82:197-202.
- 56.Hoodless PA, Haerry T, Abdollah S, Stapleton M, O'Connor MB, Attisano L, Wrana JL MADR1, aMAD related protein that functions in BMP2 signaling pathways. *Cell* 1996; 85:489-500.
- 57.Liu F, Hata A, baker JC, Doody J, Carcamo J, Harland RM, Massague J. A human Mad protein acting as a BMP-regulated transcriptional activator. *Nature* 1996; 381:620-3.
- 58.Massague Joan, Blain W Stacy, and Lo S Roger. TGF $\beta$  Signaling in growth control, cancer, and heritable disorders. *Cell* 2000; 103:295-309.
- 59.Heimer R, Bashey RI, Kyle J, Jimenez SA. TGF-B modulates the synthesis of proteoglycans by myocardial fibroblast in culture. *J Mol Cell Cardiol* 1995; 27:2191-98.
- 60.Hellige G, Spieckermann PG, Unger TH. Circulating and tissular renin-angiotensin systems. *Hoechst Frankfurt*, 2000:7-8.