

Molekularne mechanizmy niewydolności serca u psów*

Magdalena Hulanicka¹, Magdalena Garncarz², Marta Parzeniecka-Jaworska², Michał Jank¹

z Katedry Fizjologii Zwierząt¹ oraz Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej² Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie

Niewydolność serca według definicji z 1985 r. światowej sławy brytyjskiego kardiologa Philipa Poole-Wilsona to zespół kliniczny wywołany nieprawidłowościami serca o charakterystycznym obrazie hemodynamicznym, któremu towarzyszy upośledzenie funkcji nerek oraz odpowiedź ze strony układów nerwowego i hormonalnego. Najczęstszymi przyczynami niewydolności serca u psów są endokardioza zastawek przedsionkowo-komorowych oraz kardiomiopatia rozstrzeniowa. Artykuł ten ma na celu podsumowanie dotychczasowej wiedzy na temat głównych mechanizmów zaangażowanych w rozwój niewydolności serca u psów.

Przyczyny niewydolności serca u psów

Endokardioza zastawek przedsionkowo-komorowych jest najczęstszą przyczyną zastoinowej niewydolności serca (congestive heart failure – CHF) u psów (1). Dotyczy przede wszystkim zastawki dwudzielnej, jednak w około 30% przypadków może obejmować także zastawkę trójdzielną. Zwana jest inaczej przewlekłą zwrodnienią chorobą zastawek lub śluzowatym zwrodnieniem zastawek. Endokardioza to przewlekła, nabyta choroba występująca u psów dorosłych z predyspozycją do ras małych i średnich. Rasy szczególnie predysponowane w jej kierunku to: cavalier king charles spaniel, pekińczyk, chihuahua, pudel miniaturowy i maltańczyk (2, 3, 4). Obecnie wiadomo, że endokardioza zastawki dwudzielnej może mieć charakter dziedziczny, m.in. u psów rasy jamnik, u których podejrzewa się poligeniczny charakter dziedziczenia (5, 6).

Zmiany ultrastrukturalne w przebiegu endokardiozy polegają na zaburzeniu i fragmentacji włókien kolagenowych oraz odkładaniu się mukopolisacharydów w warstwie gąbczastej i włóknistej płatków zastawek. Na skutek tego dochodzi do powstawania węzłowatych zgrubień, które powodują zaburzenia dopasowania brzegów zastawki podczas skurczu mięśnia sercowego (2).

Kardiomiopatia rozstrzeniowa (dilated cardiomyopathy – DCM) to pierwotna

idiopatyczna choroba mięśnia sercowego, charakterystyczna dla psów ras średnich i dużych, najczęściej w wieku 2–5 lat. Rasy predysponowane to: doberman, bokser, owczarki niemieckie, nowofundlandy, wilczarze irlandzkie. W przebiegu kardiomiopatii rozstrzeniowej upośledzeniu ulega czynność skurczowa i kurczliwość mięśnia sercowego. Chory mięsień sercowy nie jest w stanie generować ciśnienia zapewniającego utrzymanie rzutu serca na odpowiednim poziomie. W efekcie komory serca ulegają poszerzeniu (rozstrzeni; 7, 8, 9).

Zaburzenia gospodarki jonami wapnia

Jony wapnia odgrywają istotną rolę w pobudzeniu oraz regulacji skurczu komórek mięśnia sercowego. Gradient stężeń wolnego wapnia pomiędzy cytoplazmą a siateczką śródplazmatyczną kardiomiocytów utrzymywany jest dzięki obecności pomp wapniowych zależnych od ATP zlokalizowanych w błonie komórkowej oraz błonie siateczki śródplazmatycznej. Różnica stężeń jest niezbędna do zainicjowania skurczu oraz rozkurczu mięśnia sercowego.

Podczas depolaryzacji wywołanej zmianą potencjału z ujemnego (od –85 do –90 mV) na dodatni (+30 mV) dochodzi do otwarcia kanałów wapniowych typu L. Potencjało-zależne kanały typu L zbudowane są z receptorów dihydropirydynowych (DHPR). Aktywacja tych receptorów powoduje napływ Ca^{2+} do komórki. Lokalny wzrost stężenia jonów Ca^{2+} powoduje aktywację oraz otwarcie kanałów rianodynowych (RYR) zlokalizowanych w błonie siateczki śródplazmatycznej, na skutek czego dochodzi do napływu wapnia do cytoplazmy z tej siateczki. Ten mechanizm dodatniego sprzężenia zwrotnego z udziałem Ca^{2+} jest określany mianem uwalniania wapnia przez jony wapnia (calcium induced calcium release – CIRC), a jego skutkiem jest aktywacja białek aparatu kurczliwego kardiomiocytów. Nie występuje on w mięśniach szkieletowych, w których receptory dihydropirydynowe są bezpośrednio sprzężone z receptorem rianodynowym (10, 11).

Podczas rozkurczu komórek mięśnia sercowego dochodzi do usuwania wolnych

Molecular mechanisms of heart failure in dogs

Hulanicka M.¹, Garncarz M.², Parzeniecka-Jaworska M.², Jank M.¹,

Department of Physiological Sciences¹, Department of Pathology and Veterinary Diagnostic² Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences – SGGW

This paper aims at the reviewing mechanisms involved in development of heart failure in dogs. Although in the recent years some advances have been made in the investigation of the molecular background of canine heart disease, we are still far from elucidating the etiology and pathophysiology of heart failure. The most common causes of heart failure in dogs are valvular disease, predominantly endocardiosis and myocardial disease, predominantly dilated cardiomyopathy. There are many different mechanisms involved in canine heart disease development. One of them is the altered function of calcium-regulatory proteins. There is an opinion that if certain genes are expressed, their products could lead to change/alteration of myocardial contractility. Also inflammatory process is believed to play important role in affecting heart functions due to pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines network imbalance. Increased and/or decreased levels of cytokines, namely TNF- α , interleukins (IL-2, IL-6, IL-8, IL-10) and TGF- β in blood and diseased organ were accompanying failing heart. In this review molecular background of heart failure in dogs is discussed.

Keywords: heart failure, endocardiosis, dilated cardiomyopathy, calcium regulatory proteins, cytokines.

jonów wapnia z cytoplazmy. Odbyna się to na dwa sposoby. Pierwszy polega na transporcie Ca^{2+} do siateczki śródplazmatycznej poprzez ATP-azę wapniową siateczki śródplazmatycznej (sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium ATPase – SERCA). Kolejny sposób to transport poza komórkę za sprawą wymiany jonów Ca^{2+} na jony Na^+ przez wymiennik sodowo-wapniowy (NCX-1; 10).

Rozróżnia się dwa rodzaje receptorów rianodynowych – RyR1 zlokalizowany w mięśniach szkieletowych oraz RyR2 zlokalizowany w mięśniu sercowym (12). W mięśniu lewej komory serca dogów niemieckich z kardiomiopatią rozstrzeniową dochodzi do zmian w ekspresji genów, których produkty oddziałują z receptorem rianodynowym. Stwierdzono, że wśród 123 genów, których ekspresja różniła mięsień lewej komory pochodzący od psów zdrowych oraz psów z kardiomiopatią rozstrzeniową, największą krotnością zmian cechowały się geny kodujące: kalstabinę 2 oraz triadynę

* Artykuł finansowany z grantu badawczego nr N N308 607538 Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

(13). Produkty obu genów pełnią funkcję regulatorową i stabilizują kanał rianodynowy. Kalstabina 2 wiąże się do receptora rianodynowego podczas rozkurczu mięśnia sercowego, pomagając tym samym w utrzymaniu RyR2 w stanie zamkniętym. Zapobiega to wyciekowi wapnia z siateczki śródplazmatycznej do cytoplazmy podczas rozkurczu serca (14, 15).

Kolejnym ważnym elementem w regulacji skurczu mięśni są wspomniane już ATPazy wapniowe siateczki śródplazmatycznej (SERCA). Rozróżnia się trzy rodzaje pomp SERCA charakterystyczne dla różnych tkanek (tab. 1). SERCA to grupa pomp jonowych zaliczanych do ATPaz typu P, które w obecności ATP aktywnie transportują kationy wbrew gradientowi stężeń (10). Ich aktywność regulowana jest m.in. przez oddziaływanie z fosfolambanem (phospholamban – PLN). Fosfolamban jest białkiem, które w nieufosforylowanej formie hamuje aktywność pompy SERCA2, co przyczynia się do zwiększenia stężenia jonów wapnia w cytoplazmie. Fosforylacja fosfolambanu za sprawą noradrenaliny uwalniającej z zakończeń pozazwojowych układu współczulnego powoduje aktywację pompy SERCA2 i transport jonów Ca^{2+} do siateczki śródplazmatycznej (16).

Summerfield i wsp. (17) porównali ekspresję białka SERCA1 i SERCA2 w mięśni sercowym owczarków niemieckich z kardiomiopatią rozstrzeniową oraz psów zdrowych. Stwierdzono ekspresję białka SERCA1 kodowanego przez gen *ATPA1* w mięśni sercowym psów chorych. Nie zaobserwowano większych zmian w ekspresji białka SERCA2 kodowanego przez gen *ATPA2* pomiędzy psami zdrowymi i chorymi. Autorzy sugerują, że ekspresja białka charakterystycznego dla mięśni szkieletowych w mięśni sercowym chorych psów może świadczyć o rozwinięciu naturalnej odpowiedzi adaptacyjnej (17). Stwierdzony został także spadek ekspresji genu kodującego fosfolamban we krwi obwodowej psów z endokardiozą zastawki dwudzielnej w porównaniu do psów zdrowych. Wyniki tego samego badania nie wykazały zmian w ekspresji genu *ATPA2* (18).

Transport jonów wapnia przez pompę SERCA2a jest możliwy dzięki jej oddziaływaniu z SUMO1 (small ubiquitin-related modifier). W przebiegu niewydolności

serca dochodzi do niedoboru białka SUMO1, skutkiem czego są zaburzenia pracy pompy SERCA2 prowadzące do upośledzenia czynności rozkurczowej serca (19).

Kolejnym elementem zaangażowanym w rozkurcz mięśnia sercowego jest wspomniany już wymiennik sodowo-potasowy kodowany przez gen *NCX-1*. Został on wytypowany jako potencjalny genomiczny marker stopnia zaawansowania endokardiozy u psów. Stwierdzono wzrost jego ekspresji w komórkach krwi obwodowej psów z niewydolnością serca w porównaniu do psów zdrowych oraz jego korelację ze stopniem nasilenia choroby (20, 21). Taką samą zależność stwierdzono w mięśni lewej komory psów z niewydolnością serca (22).

Współczesna kardiologia podejmuje się leczenia poprzez regulację ekspresji genów, których patologiczna ekspresja prowadzi m.in. do zaburzeń w gospodarce jonami wapnia w mięśni sercowym. Z tego powodu warto bliżej przyjrzeć się mechanizmom leżącym u podstaw gospodarki wapniowej kardiomiocytu, ponieważ opisane geny kodujące pompy wapniowe zależne od ATP, receptory rianodynowe, czy też czynniki, które na nie wpływają (kalstabina2, fosfolamban) stają się obecnie celami terapii genowej (23).

Jony wapnia odgrywają także rolę wtórnych przekaźników, a przez to i regulatorów ekspresji genów. Zwiększenie ilości jonów wapnia w cytoplazmie prowadzi do kalmodulinozależnej aktywacji kalcyneuryny. Kalcyneuryna jest białkiem, które odłącza resztę fosforanową od ufosforylowanego czynnika transkrypcyjnego NFAT (nuclear factor of activated T cells), co powoduje jego translokację do jądra komórkowego, gdzie razem z innymi czynnikami transkrypcyjnymi (m. in. GATA4, AP1) przyczynia się do zwiększenia ekspresji genów zaangażowanych w przerost mięśnia sercowego, m. in. endoteliny 1 oraz peptydów natriuretycznych ANP i BNP (24).

Mediatory zapalenia

Układ immunologiczny jest naturalną linią obrony organizmu przed zakażeniami i czynnikami stresowymi. Składa się z kilku komponentów, które oddziałują ze sobą w sposób kompleksowy. Głównymi czynnikami związanymi z patogenezą

zastoinowej niewydolności serca są cytokiny, cząsteczki adhezji komórkowej, tlenek azotu oraz endotelina 1 (25).

Najważniejszymi cytokinami odgrywającymi rolę w patofizjologii niewydolności serca są interleukina 6 (IL-6) oraz czynnik martwicy nowotworów typu alfa (tumor necrosis factor alpha – TNF- α). Levine i wsp. (27) jako pierwsi stwierdzili wyższy poziom TNF- α w surowicy pacjentów z niewydolnością serca w porównaniu do osób zdrowych (28). Wykazano także istotną zależność pomiędzy stężeniem TNF- α a stanem wyniszczenia psów z niewydolnością krążenia (27). Czynniki martwicy nowotworów w zdrowym sercu jest właściwie nieobecny, produkowany jest natomiast w dużych ilościach przez niewydolny mięsień sercowy. TNF- α swoje działanie biologiczne wywiera za pomocą receptorów – TNFR1 oraz TNFR2. Wyniki badania 1200 pacjentów z zaawansowaną niewydolnością serca wykazały, że TNFR1 oraz TNFR2 mogą być wskaźnikami prognostycznymi odnośnie do szans na przeżycie pacjenta (28).

Interleukina 6 wywiera ujemny efekt inotropowy na mięsień sercowy, zmniejsza kurczliwość mięśnia sercowego poprzez aktywację syntazy tlenu azotu (nitric oxide synthase – NOS; 29). Stwierdzono, że poziom IL-2, IL-7, IL-8 w osoczu psów spada wraz powiększeniem lewego przedsionka oraz stopniem zaawansowania choroby serca. Dodatkowo wykazano zwiększony poziom białka chemotaktycznego monocytów-1 (monocyte chemoattractant protein-1 – MCP-1) u psów z endokardiozą zastawki dwudzielnej w porównaniu do psów zdrowych (30). Podobne wyniki uzyskali Fonfara i wsp. (31), którzy zaobserwowali, że podczas niewydolności serca u psów dochodzi do zmian w ekspresji genów kodujących IL-2, IL-6, IL-8, IL-10 oraz genów macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP9, TIMP1) we krwi obwodowej (31).

Transformujący czynnik wzrostu beta 1 (transforming growth factor beta 1 – TGF- β 1) reguluje przebieg wielu procesów w organizmie, m.in. proliferacji i różnicowania się komórek oraz aktywacji procesów naprawczych i zapalnych. Stymulujące działanie TGF β 1 skierowane jest głównie na komórki tkanki łącznej. Zwiększa on ekspresję metaloproteinaz (MMP-2 i MMP-3), a hamuje funkcję kolagenazy MMP-1. Przez to działa aktywnie na produkcję kolagenów I i III. Dodatkowo stymuluje także proliferację fibroblastów (32). Wyniki badania przeprowadzonego przez zespół Aupperle i wsp. (33) świadczą o zaangażowaniu nie tylko TGF- β 1, ale także innych czynników z tej rodziny (TGF- β 2 i TGF- β 3) w patomechanizm endokardiozy zastawki dwudzielnej u psów (33).

Tabela 1. Podział i występowanie ATP-az wapniowych siateczki śródplazmatycznej

Typ pompy	Kodowana przez gen	Występowanie
SERCA1	<i>ATPA1</i>	mięśnie szkieletowe
SERCA2	<i>ATPA2</i>	mięśnie szkieletowe
		mięśnie gładkie
		mięsień sercowy
SERCA3	<i>ATPA3</i>	płytki krwi komórki tłuszczowe

Kolejną substancją istotną w przebiegu niewydolności serca jest endotelina 1. Podobnie jak TNF- α , w zdrowym sercu produkowana jest w niewielkich ilościach. Pod wpływem działania cytokin lub neurohormonów dochodzi do znacznego podwyższenia syntezy tego związku. Stężenie endoteliny 1 w osoczu psów z niewydolnością mięśnia sercowego jest znacznie wyższe niż u psów zdrowych (34).

Receptory serotoninowe

Serotonina, poprzez wpływ na mięśnie gładkie, kurczy żyły, naczynia krwionośne trzewi, nerek, płuc i mózgu. Wyniki wielu badań wskazują na zaangażowanie receptorów serotoninowych w rozwój niewydolności serca. Stwierdzono, że doświadczalnie wywołane rozciąganie zastawki aorty świnia powoduje znaczne zmiany w ekspresji receptorów 5HT-R2A i 5HT-R2B (35, 36). Podwyższona ekspresja 5HT-R2 prowadzi do patologicznej ekspresji fibroblastów zastawek szczerów, co skutkuje ciężkimi wadami zastawek (37). W zastawkach psów z endokardiozą także stwierdzono wzrost ekspresji genu 5HT-R2B, w porównaniu do psów zdrowych (38).

Macierz zewnątrzkomórkowa

Głównymi mediatorami przebudowy w obrębie macierzy zewnątrzkomórkowej (extracellular matrix – ECM) są metaloproteinazy (matrix metalloproteinases – MMPs), czyli enzymy o zdolności degradacji białek strukturalnych ECM. Metaloproteinazy pełnią istotną rolę w rozwoju różnych narządów i przebudowie tkanek w wyniku uszkodzenia oraz rozwoju stanu zapalnego (39). Badania immunohistochemiczne wykazały wzrost ekspresji kolagenaz MMP-1 oraz MMP-2 w zastawkach psów z endokardiozą oraz ich korelację ze stopniem zaawansowania choroby (40). W mięśniu sercowym psów z endokardiozą zaobserwowano podwyższoną ekspresję genów kodujących MMP-1 oraz MMP-9 [41].

Podsumowanie

Niewydolność serca jest bardzo złożonym procesem patofizjologicznym, na który składa się wiele mechanizmów i szlaków sygnałowych. Wiele z nich jest znanych, ale wiele wymaga jeszcze odkrycia i opisania. Sytuacji nie ułatwia fakt, że etiopatogeneza chorób serca u psów jest inna niż u ludzi i nie zawsze wyniki badań przeprowadzonych na ludziach z chorobami serca można bezpośrednio wykorzystać u psów. Dokładniejsze poznanie molekularnych mechanizmów rozwoju chorób mięśnia sercowego u psów jest niezbędne

do opracowania leków oraz metod terapii, które będą działały nie tylko objawowo, lecz zlikwidują przyczynę choroby.

Piśmiennictwo

- Borgarelli M., Savarino P., Santilli R.A., Poggi M., Chiavegato D., Crosara S., Bruno B., Bellino C., Tarducci A.: Natural History of Canine Mitral Valve Disease. 2006, ACVIM.
- Donnelly K.B.: Cardiac valvular pathology: comparative pathology and animal models of acquired cardiac valvular diseases. *Toxicol Pathol.* 2008, **36**, 204-217.
- Hägström J., Duelund Pedersen H., Kvart C.: New insights into degenerative mitral valve disease in dogs. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2004, **34**, 1209-1226.
- Oyama M.A., Levy R.J.: Insights into serotonin signaling mechanisms associated with canine degenerative mitral valve disease. *J Vet Intern Med.* 2010, **24**, 27-36.
- Rush J.E.: Canine Chronic Valvular Heart: Pathology and Pathogenesis. 2004, ACVIM.
- Olsen L.H., Fredholm M., Pedersen H.D.: Epidemiology and inheritance of mitral valve prolapse in Dachshunds. *J Vet Intern Med.* 1999, **13**, 448-456.
- Philipp U., Broschek C., Vollmar A., Distl O.: Evaluation of tafazzin as candidate for dilated cardiomyopathy in Irish wolfhounds. *J Hered.* 2007, **98**, 506-509.
- Richardson P., McKenna W., Bristow M., Maisch B., Mautner B., O'Connell J., Olsen E., Thiene G., Goodwin J., Gyrfas L., Martin I., Nordet P.: Report of the 1995 World Health Organization/International Society and Federation of Cardiology Task Force on the Definition and Classification of cardiomyopathies. *Circulation.* 1996, **93**, 841-842.
- Tidholm A., Jönsson L.: Histologic characterization of canine dilated cardiomyopathy. *Vet Pathol.* 2005, **42**, 1-8.
- Martonosi A.N., Pikula S.: The network of calcium regulation in muscle. *Acta Biochim Pol.* 2003, **50**, 1-30.
- Mackiewicz U., Emanuel K., Lewartowski B.: Dihydropyridine receptors functioning as voltage sensors in cardiac myocytes. *J Physiol Pharmacol.* 2000, **51**, 777-798.
- Yano M.: Ryanodine receptor as a new therapeutic target of heart failure and lethal arrhythmia. *Circ J.* 2008, **72**, 509-514.
- Oyama M.A., Chittur S.V., Reynolds C.A.: Decreased triadin and increased calstabin2 expression in Great Danes with dilated cardiomyopathy. *J Vet Intern Med.* 2009, **23**, 1014-1019.
- Wehrens X.H., Lehnart S.E., Reiken S.R., Deng S.X., Vest J.A., Cervantes D., Coromilas J., Landry D.W., Marks A.R.: Protection from cardiac arrhythmia through ryanodine receptor-stabilizing protein calstabin2. *Science* 2004, **304**, 292-296.
- Wehrens X.H., Lehnart S.E., Reiken S., Nagel R., Morales R., Sun J., Cheng Z., Deng S.X., Windt L.J., Landry D.W., Marks A.R.: Enhancing calstabin binding to ryanodine receptors improves cardiac and skeletal muscle function in heart failure. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005, **102**, 9607-9612.
- Gupta R.C., Mishra S., Rastogi S., Sharov V.G., Sabbah H.N.: Improvement of cardiac sarcoplasmic reticulum calcium cycling in dogs with heart failure following long-term therapy with the Acorn Cardiac Support Device. *Heart Fail Rev.* 2005, **10**, 149-155.
- Summerfield N., Peters M.E., Hercocock C.A., Mobasheeri A., Young I.S.: Immunohistochemical evidence for expression of fast-twitch type sarco(endo)plasmic reticulum Ca²⁺ ATPase (SERCA1) in German shepherd dogs with dilated cardiomyopathy myocardium. *J Vet Cardiol.* 2010, **12**, 17-23.
- Lee J.S., Pak S.I., Hyun C.: Calcium reuptake related genes as a cardiac biomarker in dogs with chronic mitral valvular insufficiency. *J Vet Intern Med.* 2009, **23**, 832-839.
- Kho C., Lee A., Jeong D., Oh J.G., Chaanine A.H., Kizana E., Park W.J., Hajjar R.J.: SUMO1-dependent modulation of SERCA2a in heart failure. *Nature* 2011, **477**, 601-605.
- Moon H.S., Choi E., Hyun C.: The cardiac sodium-calcium exchanger gene (NCX-1) is a potential canine cardiac biomarker of chronic mitral valvular insufficiency. *J Vet Intern Med.* 2008, **22**, 1360-1365.
- Nam S.J., Han S.H., Kim H.W., Hyun C.: The cardiac biomarker sodium-calcium exchanger (NCX-1) can differentiate between heart failure and renal failure: a comparative study of NCX-1 expression in dogs with chronic mitral valvular insufficiency and azotemia. *J Vet Intern Med.* 2010, **24**, 1383-1387.
- Mishra S., Sabbah H.N., Rastogi S., Imai M., Gupta R.C.: Reduced sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ uptake and increased Na⁺-Ca²⁺ exchanger expression in left ventricle

- myocardium of dogs with progression of heart failure. *Heart Vessels* 2005, **20**, 23-32.
- Kairouz V., Lipskaia L., Hajjar R.J., Chemaly E.R.: Molecular targets in heart failure gene therapy: current controversies and translational perspectives. *Ann N Y Acad Sci.* 2012, **1254**, 42-50.
 - Barry S.P., Townsend P.A.: What causes a broken heart--molecular insights into heart failure. *Int Rev Cell Mol Biol.* 2010, **284**, 113-79.
 - Sharma R., Coats A.J., Anker S.D.: The role of inflammatory mediators in chronic heart failure: cytokines, nitric oxide, and endothelin-1. *Int J Cardiol.* 2000, **72**, 175-186.
 - Levine B., Kalman J., Mayer L., Fillit H.M., Packer M.: Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure. *N Engl J Med.* 1990, **323**, 236-241.
 - Freeman L.M., Rush J.E., Kehayias J.J., Ross J.N., Meydani S.N., Brown D.J., Dolnikowski G.G., Marmor B.N., White M.E., Dinarello C.A., Roubenoff R.: Nutritional alterations and the effect of fish oil supplementation in dogs with heart failure. *J Vet Intern Med.* 1998, **12**, 440-8.
 - Belge K.U., Dayyani F., Horelt A., Siedlar M., Frankenberger M., Frankenberger B., Espevik T., Ziegler-Heitbrock L.: The proinflammatory CD14+CD16+DR+ monocytes are a major source of TNF. *J Immunol.* 2002, **168**, 3536-3542.
 - Francis S.E., Holden H., Holt C.M., Duff G.W.: Interleukin-1 in myocardium and coronary arteries of patients with dilated cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol.* 1998, **30**, 215-223.
 - Zois N.E., Moesgaard S.G., Kjølgaard-Hansen M., Rasmussen C.E., Falk T., Fossing C., Hægström J., Pedersen H.D., Olsen L.H.: Circulating cytokine concentrations in dogs with different degrees of myxomatous mitral valve disease. *Vet J.* 2012, **192**, 106-11.
 - Fonfara S., Tew S.R., Cripps P., Dukes-McEwan J., Clegg P.D.: Increased blood mRNA expression of inflammatory and anti-fibrotic markers in dogs with congestive heart failure. *Res Vet Sci.* 2012, **93**, 879-885.
 - Stawowy P., Margeta C., Kallisch H., Seidah N.G., Chrétien M., Fleck E., Graf K.: Regulation of matrix metalloproteinase MT1-MMP/MMP-2 in cardiac fibroblasts by TGF- β 1 involves furin-convertase. *Cardiovasc Res.* 2004, **63**, 87-97.
 - Aupperle H., März L., Thielebein J., Schoon H.A.: Expression of transforming growth factor- β 1, - β 2 and - β 3 in normal and diseased canine mitral valves. *J Comp Pathol.* 2008, **139**, 97-107.
 - Tessier-Vetzel D., Tissier R., Chetboul V., Carlos C., Nicolle A., Benbaron D., Dandrieux J., Thoulon F., Carayon A., Pouchelon J.L.: Diagnostic and prognostic value of endothelin-1 plasma concentrations in dogs with heart and respiratory disorders. *Vet Rec.* 2006, **158**, 783-788.
 - Balachandran K., Bakay M.A., Connolly J.M., Zhang X., Yoganathan A.P., Levy R.J.: Aortic valve cyclic stretch causes increased remodeling activity and enhanced serotonin receptor responsiveness. *Ann Thorac Surg.* 2011, **92**, 147-153.
 - Balachandran K., Hussain S., Yap C.H., Padala M., Chester A.H., Yoganathan A.P.: Elevated cyclic stretch and serotonin result in altered aortic valve remodeling via a mechanosensitive 5-HT(2A) receptor-dependent pathway. *Cardiovasc Pathol.* 2012, **21**, 206-213.
 - Elangbam C.S., Job L.E., Zadrozny L.M., Barton J.C., Yoon L.W., Gates L.D., Slocum N.: 5-hydroxytryptamine (5HT)-induced valvulopathy: compositional valvular alterations are associated with 5HT2B receptor and 5HT transporter transcript changes in Sprague-Dawley rats. *Exp Toxicol Pathol.* 2008, **60**, 253-262.
 - Oyama M.A., Chittur S.V.: Genomic expression patterns of mitral valve tissues from dogs with degenerative mitral valve disease. *Am J Vet Res.* 2006, **67**, 1307-1318.
 - Groblewska M., Tycińska A., Mroczko B., Musiał W., Szmítkowski M.: Metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej w chorobach układu krążenia. *Pol. Merk. Lek.* 2011, **178**, 235-240.
 - Disatian S., Ehrhart E.J., Zimmerman S., Orton E.C.: Interstitial cells from dogs with naturally occurring myxomatous mitral valve disease undergo phenotype transformation. *J Heart Valve Dis.* 2008, **17**, 402-412.
 - Zheng J., Chen Y., Pat B., Dell'Italia L.A., Tillson M., Dillon A.R., Powell P.C., Shi K., Shah N., Denney T., Husain A., Dell'Italia L.J.: Microarray identifies extensive downregulation of noncollagen extracellular matrix and profibrotic growth factor genes in chronic isolated mitral regurgitation in the dog. *Circulation.* 2009, **119**, 2086-2095.

Magdalena Hulanicka,
e-mail: magda.loy@gmail.com