

PROMENE KARDIOVASKULARNOG SISTEMA PASA USLOVLJENE STARENJEM

Spasojević-Kosić Ljubica¹ *, Trailović Dragiša R.²

¹Poljoprivredni fakultet Novi Sad, Departman za veterinarsku medicinu,
Trg Dositeja Obradovića 8, Novi Sad

²Fakultet veterinarske medicine, Bulevar oslobođenja 18, Beograd

Kratak sadržaj

Poznavanje karakteristika starenja i promena kardiovaskularnog sistema pasa, izazvanih starenjem, pomažu kliničarima u postavljanju dijagnoze, ali i odgajivačima u definisanju prioriteta za preduzimanje profilaktičkih mera. Proučavanje starenja pasa predstavlja paradigmu u biomedicinskim istraživanjima. Starenje dovodi do brojnih promena kardiovaskularnog sistema koje mogu da se sagledaju morfološki, funkcionalno, sa endokrinog, genetskog aspekta i kao biohemijske promene. Kompleksnost aspekata procesa starenja otvara brojne dijagnostičke mogućnosti njihovog registrovanja, terapijskih procedura, ali i preventivnih postupaka. U ovom radu je poseban akcenat stavljen na promene kardiovaskularnog sistema izazvane starenjem koje se klinički mogu registrovati ili na koje se može uticati terapijom ili profilaksom.

Ključne reči: starenje, kardiovaskularni sistem, psi

CHANGES UN CARDIOVASCULAR SYSTEM OF DOGS DUE TO AGEING

Spasojević Kosić Ljuica¹, Trailović Dragiša R.²

¹Agricultural faculty Novi Sad, Department for veterinary medicine, Novi Sad

²Faculty of veterinary medicine, Beograd

Abstract

The characteristics of aging and the changes of cardiovascular system with aging are important in clinical decision making and in designing preventive measures. Studies of aging in dogs represent paradigm in biomed-

* E mail: ljubicask@polj.uns.ac.rs

cal researches. Aging leads to numerous changes of cardiovascular system, which could be looked from morphological, functional, endocrinological, genetic and biochemical points of view. These aspects of aging enable many diagnostic procedures, therapeutic procedures and preventive measures as well. In this paper special emphasis was put on changes of cardiovascular system, caused by aging, which are clinically free to registered or may be affected by therapy or prophylaxis.

Key words: aging, cardiovascular system, dogs

UVOD

Era poznavanja genoma pasa nameće populacionu statistiku zdravstvenog stanja i oboljenja kao krucijalni deo strategije gajenja i programa unapređenja zdravstvenog stanja rasa (Egenvall i sar., 2005; Bonnett i sar., 2005). Bez sumnje, gajenje određenih rasa pasa ima uticaj na opšte zdravlje celokupne populacije pasa i praćenje njihovih naslednih oboljenja (Ott, 1996). Sa druge strane, poboljšanje ukupnog zdravlja i dobrobiti u populaciji pasa zahteva da kvantifikujemo i pratimo bolesti i uzroke smrti među različitim rasama. Informacije koje se odnose na očekivanu dužinu života i postojanje rizika za određena oboljenja pojedinih rasa treba da su dostupna budućim vlasnicima. Donošenje odluka, koje se odnose na uvođenje i korišćenje visoko invazivnih i skupih veterinarskih procedura kod starijih pasa, treba da obuhvati razmatranje i verovatne dužine i kvaliteta života koji se mogu očekivati kod pojedinih rasa.

Osim toga, pas (*Canis familiaris*) je jedna od primarnih vrsta sisara koje se koriste za komparativna biomedicinska istraživanja (Patronek i sar., 1997). U tom smislu su psi kućni ljubimci naročito pogodni kao model za proučavanje starenja kod ljudi iz nekoliko razloga. Psi – kućni ljubimci žive u istoj životnoj sredini kao i ljudi. Obzirom na viši nivo veterinarskih usluga, koje se koriste kod pasa, na raspolaganju stoji obimna medicinska dokumentacija (klinička, biohemijska i patološka ispitivanja, imidžing dijagnostika). Na kraju, niz fenotipskih domena se može tačno proceniti kod pasa, od funkcije određenih organa, preko kvaliteta života i interakcije sa ljudima (Waters, 2011).

Starenje pasa

Znatan napredak u medicini i hirurgiji, ishrani i preventivnoj zdravstvenoj nezi tokom poslednjih nekoliko decenija produžio je životni vek kod pasa. Različite rase stare različitom brzinom, iako kod mnogih rasa mortalitet počinje da raste oko šeste, sedme godine života (Egenvall i sar., 2000; 2005). Ne postoji

prihvaćen nivo starosti prema kome psa svrstavamo u odraslu ili gerijatrijsku kategoriju. Nije pogodno smatrati da psi različitih rasa imaju istu biološku starost ili sličan rizik za bolesti uslovljene starošću, zbog neslaganja među različitim rasama u procentu mortaliteta u određenom životnom dobu.

Za razliku od drugih vrsta sisara, veličina tela kod pasa je obrnuto srazmerna njihovoj dužini života. U okviru kategorije pasa iste telesne mase, dužina života je veća kod pasa čistih rasa nego kod mešanaca. Među psima kao vrstom, mali psi imaju brži metabolizam i kraći period metaboličkog sazrevanja nego veliki psi. Predviđa se da bi laboratorijska istraživanja mogla da ispitaju biološku osnovu razlike u dužini života među psima u vezi sa rasom i telesnom masom (Patronek i sar., 1997).

Uz postojanje razlike između rasa, smrtnost usled različitih uzroka varirira sa starošću i polom kod pasa (Egenvall i sar., 2005; Bonnett i sar., 2005). Nekoliko studija (Bonnett i sar., 1997; Bronzon, 1982; Michell, 1999) je pokazalo da su tumori najčešći uzrok smrti kod pasa. Prema studiji koja je izvedena na 9248 pasa (Eichelberg, Seine, 1996), srčana i cirkulatorna oboljenja su na drugom mestu kao uzrok smrti kod pasa, sa zastupljenošću od 16,3%. Što se tiče rizika od smrtnog ishoda čiji je uzrok izvesno srčano oboljenje, irski vučji hrt i nemačka doga imaju najveći rizik od 20 rasa koje su obuhvaćene ispitivanjem. Srčana oboljenja kod King Čarls španijela u preko 50% slučajeva predstavljaju uzrok smrti za pse ispod 10 godina starosti, što čini preko 1/4 smrtnog ishoda zbog srčanih problema u celokupnoj ispitivanoj populaciji od preko 350000 pasa (Egenvall i sar., 2005; Bonnett i sar., 2005). Rasa, starost i pol pasa utiču na mortalitet nastao zbog srčanog oboljenja. Oboljenje srca kao uzrok smrti kod pasa mlađih od 10 godina je najčešći prisutno kod pomenute tri rase: irski vučji hrt, King Čarls španijel, nemačka doga (Egenvall i sar., 2006). Drugo veliko ispitivanje, sprovedeno na 80306 pasa pripadnika 82 rase, je pokazalo da su oboljenja kardiovaskularnog sistema vodeći uzrok smrti kod bernskog plavninskog psa, čivave, dobermana, foksterijera, malteškog i njufaundlandskog psa (Fleming i sar., 2011).

Strukturne i funkcionalne promene kardiovaskularnog sistema uslovljene starošću

Generalno uzevši, proces starenja je povezan sa strukturnim i funkcionalnim promenama kardiovaskularnog sistema, koje su lokalizovane na srčanom mišiću, valvulama, sprovodnom sistemu srca i velikim arterijama. Ovakve promene imaju za posledicu različite manifestacije bolesti kod gerijatrijskih pacijenata u odnosu na mlade pacijente. Da bi se postavila dijagnoza "ostarelog srca" kod starih pacijenata, suočeni smo sa teškoćama zbog atipičnih simptoma ili prihvatanja simptoma kao manifestacije starog životnog doba. Starenje

je, štaviše, često praćeno padom fizičke aktivnosti, što može da ima za posledicu "gubitak kondicije" kardiovaskularnog sistema (Cafagna, Ponte, 1997).

Starenje kod pasa se karakteriše promenama kardiovaskularne funkcije koje obuhvataju smanjenje krvotoka i brzine protoka krvi, smanjenje arterijske elastičnosti (komlijanse) i rastegljivosti (Miller i sar., 1976; Haidet, 1993a; Haidet i sar., 1996), kao i povećanje sistemskog vaskularnog otpora i smanjenje minutnog volumena srca (Haidet i sar., 1996). Smanjenje kontraktilnosti miokarda, povećanje sistolne i dijastolne krutosti leve komore i produženo trajanje kontrakcije zapaženo je kod biglova kao posledica starosti (Templeton i sar., 1976; 1979). Progresivni gubitak rezerve i adaptibilnosti organa, verovatno zbog funkcionalnih promena adrenergičkog nervnog sistema predstavlja, najverovatnije, početni mehanizam za nastanak kardiovaskularnih oboljenja kod starijih pasa (Strasser i sar., 1997). Smanjeni odgovor kardiovaskularnog sistema na stimulaciju α i β (alfa i beta) adrenergičkih receptora takođe je dokazana kod starih pasa (Yin i sar., 1979; Haidet 1993b). Starenje dovodi do smanjenja maksimuma frekvencije srca tokom fizičkog opterećenja. Smanjenje hronotropnog odgovora sa starošću nastaje zbog smanjene osetljivosti kardiovaskularnog sistema na stimulaciju β adrenergičkih receptora, a ne zbog smanjenog odgovora pejsmejker ćelija na direktnu električnu stimulaciju (Yin i sar., 1979).

Tačnu vezu između pomenutih negativnih modifikacija kardiovaskularne funkcije, koje se dešavaju sa starošću i razvoja specifičnih kardiovaskularnih oboljenja je teško potvrditi (Guglielmini, 2003). Sa starošću povezane promene u strukturi i funkciji srca mogu da smanje prag za pojavu kliničkih simptoma bolesti. Kod ljudi postoji kontinuiranost u ispoljavanju strukturnih i funkcionalnih promena na srcu, što se manifestuje povećanom učestalošću hipertrofije leve komore, srčane insuficijencije i atrijalne fibrilacije sa starenjem (Lakatta i Levy D., 2003).

Iako je postojanje funkcionalnih modifikacija kardiovaskularnog sistema sa starenjem pokazano kod anestetisanih i neanestetisanih pasa pod eksperimentalnim uslovima (Miller i sar., 1976; Haidet i sar., 1993a; Haidet i sar., 1996; Templeton i sar., 1976; Templeton i sar., 1979; Strasser i sar., 1997), obimna klinička ispitivanja kod pasa nisu obavljena. Predispozicija pojedinih rasa za određena stećena srčana oboljenja nameće potrebu da se klinička ispitivanja sprovedu kod pasa koji pripadaju istoj rasi. Ispitivanje sprovedeno na zdravim nemačkim ovčarima različite starosti je pokazalo povećanje debljine zida leve komore koje je moglo da se registruje ehokardiografski (Spasojević-Kosić, 2008).

Nedavno sprovedeno ispitivanje ukupnog preovladavanja patoloških poremećaja na srcu kod biglova je pokazalo da je valvularna endokardioza najčešće primećena srčana lezija, a slede je različite alteracije koje se dešavaju sa nižom

frekvencijom, kao što su endokarditis, degeneraciju miokarda, hipertrofiju miokarda, dilataciju komora (srčanih šupljina), kalcifikaciju miokarda, fibrozu miokarda, nekrozu miokarda, primarne i sekundarne neoplazije (Van Vleet, 2001).

Kardiovaskularna oboljenja koja preovlađuju kod starijih pasa su hronično degenerativno oboljenje valvula (CDVD) ili valvularna endokardioza, sekundarna hipertrofija miokarda, dilataciona kardiomiopatija (DCM), neoplazije srca, amilodosis, valvularni endokarditis, lipofuscinosis, sindrom bolesnog sinusa i druge miokardijalne i vaskularne lezije (Guglielmini, 2003). Pored toga, kardiopulmonalne manifestacije često prate sistemske bolesti (Miller i sar., 1989).

Endokrini aspekt starenja

Hipertenzija i starenje imaju slične efekte na strukturu i funkciju krvnih sudova i srca. Oba procesa dovode do smanjenja vaskularne elastičnosti (kompiljanse), disfunkcije endotela, hipertrofije i krutosti leve komore. Zbog toga se javila ideja da oba procesa mogu da imaju iste ili zajedničke uzroke (Booz, 2005). Ideja da je angiotenzin II (AII) veza između starenja i hipertenzije, sugerisana je kao posledica dokaza da inhibitori reninangiotenzin sistema (RAS), pored toga što su značajni u tretmanu kardiovaskularnih i renalnih oboljenja, štite kardiovaskularni sistem, bubrege i mozak od štetnih efekata starenja (Basso i sar., 2005). Prekomerna aktivacija RAS ubrzava starenje srca, proces koji se sastoji od hipertrofije ćelija miokarda, kapilarne rarefakcije, fibroze i ventrikularnog remodeliranja (Kim, Iwao, 2000).

Kao odgovor na povećanje pritiska i istežanje srčanih šupljina dolazi do sinteze natrijumuretičnih peptida (atrijalni – ANP, moždani – BNP). Atrijalni natrijumuretični peptid (ANP) se sintetiše u pretkomorama zdravih pasa. Natrijumuretični peptid A se u obliku prepro-ANP forme pojavljuje kod fetalnih komornih miocita, ali ne i kod odraslih, osim kada postoji hipertrofija i oštećenje srca. Kod pasa sa hipertrofijom srca i kardiomiopatijom, količina ANP i ANP-specifične mRNA je redukovana u pretkomorama, a povećana u komorama (Colbatzky i sar., 1993). Pod normalnim okolnostima, kod zdravih pasa srčani BNP, iRNK i BNP tkiva srca je atrijalnog porekla. U ranoj disfunkciji leve komore, BNP iRNK i tkivni BNP su značajno povećani u levoj pretkomori zajedno sa povećanjem cirkulirajućeg BNP, ali ostaje ispod granica ili pri granici detekcije u levoj komori. Kod manifestne srčane insuficijencije, BNP iRNK se dalje povećava u levoj pretkomori i u levoj komori zajedno sa povećanjem tkivnog BNP leve komore i daljeg povećanja cirkulirajućeg BNP (Luchner i sar., 1998). Natrijumuretični peptidi A i B deluju kao srčani hormon sa raznovrsnim fiziološkim dejstvima uključujući natrijumurezu, diurezu, vazorelaksaciju i inhibiciju sekrecije renina i aldosterona (Nakao i sar., 1992).

Ispitivanje na zdravim psima rase King Čarls španijel, rase sa predispozicijom za mitralnu regurgitaciju, je pokazalo da starenje ima jak pozitivan uticaj na koncentraciju NT-ANP, dok povećanje telesne mase prouzrokuje umereno smanjenje NT-ANP. Promene u koncentraciji BNP plazme nisu u korelaciji sa starošću pasa (Eriksson i sar., 2001). Ispitivanje sprovedeno na zdravim nemačkim ovčarima je takođe pokazalo da ne postoji korelacija između starosti i koncentracije BNP (Spasojević Kosić, 2008). Kod ljudi se, međutim, koncentracija BNP u plazmi povećava sa starošću (Sayama i sar., 1999), što se pripisuje smanjenoj funkciji bubrega i srčanoj hipertrofiji bez ispoljene srčane insuficijencije.

Genetski aspekt starenja

Vaskularne glatkomišićne ćelije koje su stimulisane angiotenzinom II ispoljavaju povećanu ekspresiju proteina p66Shc (Yoshizumi i sar., 2001). Ovaj protein postoji u 3 izoforme sa odnosnom molekularnom masom od 46, 52, i 66 kDa (P46Shc, P52SHC, P66Shc) i zasebnim fiziološkim ulogama. Dok P46Shc i P52Shc unapređuju proliferaciju i diferencijaciju ćelija, P66Shc je ključni faktor u kontroli procesa u vezi sa starenjem. Miševi bez ovog proteina (p66Shc^{-/-}) pokazuju povećanu ćelijsku rezistentnost na oksidativni stres i produženje života za 30% (Migliaccio i sar., 1997; Migliaccio i sar., 1999). Koristeći genetski modifikovane miševe (miševi kojima nedostaje gen za protein P66Shc), postavljena je hipoteza da p66Shc učestvuje u kaskadnim reakcijama dovodeći do ventrikularnog remodeliranja indukovano AII. Rezultati su pokazali da se prekidanje P66Shc suprotstavlja AII-indukovanoj hipertrofiji miokarda i da štiti srčane i endotelijalne ćelije od apoptoze (Graiani i sar., 2005).

Ćelije miokarda normalno ispoljavaju malo p66Shc, ali njegov nivo se povećava kod dilatacione miopatije srca pasa indukovane stimulacijom komora (ventrikularni pejsing) (Cesselli i sar., 2001). Interesantno je, takođe, da su sve tri Shc izoforme aktivirane u humanom fetalnom srcu, u periodu koji karakteriše apoptoza i proliferativni procesi (Fiorina i sar., 2004). Apoptoza participira u intrauterinom i ranom postgestacionom razvoju srca (Kajstura i sar., 1995; Fiorina i sar., 2004), a sve komponente RAS su izražene od strane fetalnog srca i učestvuju u njegovom normalnom razvoju (Lamparter i sar., 1999; Price i sar., 1997).

Postavlja se pitanje razloga postojanja ekspresije proteina p66Shc, ako je on štetan za srce? Objašnjenje koje su ponudili Graiani i saradnici (Graiani i sar., 2005) je da p66Shc može da igra ulogu u normalnoj apoptozi u srcu tokom njegovog razvoja. U ovom kontekstu, povećana p66Shc ekspresija može da bude protumačena kao još jedna manifestacija parcijalnog i uzaludnog po-

vratka na fetalni fenotip, koji je primećen u ćelijama miokarda kao odgovor na stres. Reaktivacija lokalnog srčanog RAS ili ekspresije angiotenzinogena, izgleda da je takođe deo ovakvog neuspelog fetalnog reprogramiranja. U toku razvoja srca, p66Shc i lokalni RAS mogu zajedno da pomažu u kontroli celularne proliferacije delimično preko apoptoze; međutim, re-ekspresija p66Shc i lokalnog RAS nema takvu prednost kod zrelog srca, koji se sastoji uglavnom od terminalno diferenciranih ćelija miokarda nesposobnih za ponovni ulazak u ćelijski ciklus, ali podložnih apoptozi (Booz, 2005).

Biohemijske promene na srcu uslovljene starenjem

Srčane performanse su usko povezane sa korišćenjem kiseonika od strane mitohondrija, zato što mitohondrije čine preko 1/3 zapremine ćelija srca i skoro u potpunosti podržavaju energetske zahteve za srčanom kontrakcijom. Sinteza ATP i homeostaza Ca^{2+} , procesi tako značajni za preživljavanje ćelije, zavise od mitohondrija, transportnih sistema u membrani mitohondrija i membranskog potencijala preko unutrašnje membrane mitohondrija (Gunter, Pfeifer, 1990).

Sadržaj fosfolipida membrane mitohondrija menja se ishranom i starenjem. Povećanje vremena dijastolne relaksacije kod starijih jedinki u odnosu na mlađe može da bude delimično vezano za redukovanu sposobnost Ca^{2+} - pumpe sarkoplazmatkog retikuluma i Na^{+} - Ca^{2+} izmene starijeg srca da ekstrahuje Ca^{2+} iz citosola (Narayanan, 1981; Heylinger i sar., 1988, 1989; Josephson i sar., 1991). Akumulacija kalcijuma u citosolu ćelija miokarda ima glavnu ulogu u genezi malignih aritmija (Billman i sar., 1991; Billman, 1992; Lee i Allen, 1991; Opie i du Troit., 1992).

Dokazano je smanjenje odnosa ω -3/ ω -6 nezasićenih masnih kiselina mitohondrijalne membrane, kao i smanjenje mitohondrijalnog fosfolipida u srcu starijih pacova (McLennan i sar., 1989; Pepe i sar., 1999). U izolovanim ćelijama miokarda komora srca, akutno dodavanje ω -3 nezasićenih masnih kiselina u medijum štiti od prepunjenosti Ca^{2+} (Halaq i sar., 1992). Mehanizam ovakvog delovanja u vezi je sa direktnim efektima ω -3 nezasićenih masnih kiselina na svojstva L-tipa kalcijumovih kanala (Pepe i sar., 1994; Bogdanov i sar., 1998). Osim toga, infuzija ω -3 nezasićenih masnih kiselina značajno povećava PR interval elektrokardiograma, koji odražava provodljivost impulsa kroz atri-ventrikularni (AV) čvor, a koji zavisi od ulaska Ca^{2+} u ćeliju (Billman, 1992). Zapaženo je da ω -3 nezasićene masne kiseline redukuju srčanu frekvencu, čime indirektno štite od ishemičnih aritmija preko smanjenja srčanog metabolizma i obezbeđivanja vremena da se visok nivo kalcijuma iz citosola ukloni. Na modelu infarkta kod neanestetisanih pasa, eksperimentalno indukovana

akutna ventrikularna fibrilacija može da se spreči prethodnom intravenskom infuzijom emulzije ω -3 nezasićenih masnih kiselina (Billman i sar., 1994).

Smanjenje količine ω -3 nezasićenih masnih kiselina u ćelijskim membrana miokarda sa starenjem može da dovede do povećane vulnerabilnosti ćelija prema prepunjenosti jonima kalcijuma. Osetljivost miokarda naročito može da bude izražena u stanjima kao što su težak rad, ishemija i reperfuzija ili oksidativni stres. Dijeta bogata u ω -3 nezasićenim masnim kiselinama direktno modulira odnos ω -3 / ω -6 nezasićenih masnih kiselina membrane mitohondrija i sadržaj kardiolipina, slabi promene koje se javljaju u ćelijskoj membrani sa starenjem i utiče na procese u ćelijama zavisne od jona kalcijuma. Na taj način, dijeta bogata u ω -3 nezasićenim masnim kiselinama menja uticaj ishemije i reperfuzije na ćelije "ostarelog" srca (Pepe, 2000).

Literatura

1. Basso N., Paglia N., Stella I., de Cavanagh E.M., Ferder L., del Rosario Lorez Arnaiz M., Inserra F.: Protective effect of the inhibition of the renin-angiotensin system on aging. *Regul Pept*, 128, 247–252, 2005.
2. Billman G.E., Hallaq H., Leaf A.: Prevention of ischemia-induced ventricular fibrillation by ω 3 fatty acids. *Proc Natl Acad Sci USA*, 91,4427–4430, 1994.
3. Billman G.E., McIlroy B., Johnson J.D.: Elevated myocardial calcium and its role in sudden cardiac death. *FASEB J*,5,11, 2586–2592, 1991.
4. Billman G.E.: Cellular mechanisms for ventricular fibrillation. *News Physiol Sci*,7, 254-259, 1992.
5. Billman G.E.: Ro 40-5967, a novel calcium channel antagonist protects against ventricular fibrillation. *Eur J Pharmacol*, 229,2-3, 179-187, 1992.
6. Bogdanov K., Spurgeon H., Vinogradova T., Lakatta E.: Modulation of the transient outward current in adult rat ventricular myocytes by polyunsaturated fatty acids. *Am. J Physiol*, 274, 571-579, 1998.
7. Bonnett B.N., Egenvall A., Hedhammar A., Olson P.: Mortality in over 350000 Insured Swedish dogs from 1995 - 2000: I Breed-, Gender-, Age- and couse-specific rates. *Acta Vet Scand*, 46, 3,105–120, 2005.
8. Bonnett B.N., Egenvall A., Olson P., Hedhammar A.: Mortality in insured Swedish dogs: rates and diagnostic category of death in various breeds. *Vet Rec*, 141, 40-44, 1997.
9. Booz G.W.: Growing old, angiotensin II, cardiac hypertrophy and death, making connection with p66Shc, Editorial Commentary. *Hypertension*, 46, 259–260, 2005.
10. Bronzon R.T.: Variation in age at death of dogs of different sexes and breeds. *Am J Vet Res*, 43, 2057–2059, 1982.

11. Cafagna D., Ponte E.: Morphological and functional aspects of the cardiovascular system related to aging: does "aging heart" exist?. *Minerva Med*, 88,12, 491-500, 1997.
12. Cesselli D., Jakoniuk I., Barlucchi L., Beltrami A.P., Hintze T.H., Nadal-Ginard B., Kajstura J., Leri A., Anversa P.: Oxidative stress-mediated cardiac cell death is a major determinant of ventricular dysfunction and failure in dog dilated cardiomyopathy. *Circ Res*, 89, 279 - 286, 2001.
13. Colbatzky F., Vollmar A., Monch U., Hermanns W.: Synthesis and distribution of atrial natriuretic peptide (ANP) in hearts from normal dogs and those with cardiac abnormalities. *J Comp Pathol*, 108, 149-163, 1993.
14. Egenvall A., Bonnett B.N., Haggstrom J.: Heart disease as a cause of death in insured Swedish dogs younger than 10 years of age. *J Vet Intern Med*, 20,4, 894 -903, 2006.
15. Egenvall A., Bonnett B.N., Hedhammar A., Olson P.: Gender, age, breed and geographic pattern of morbidity and mortality in insured dogs during 1995 and 1996. *Vet Rec*, 146, 519-525, 2000.
16. Egenvall A., Bonnett B.N., Hedhammar A., Olson P.: Mortality in over 350000 Insured Swedish dogs from 1995 - 2000: II Breed - specific age and survival patterns and relative risk for cause of death. *Acta Vet Scand*, 46, 121-136, 2005.
17. Eichelberg H., Seine R.: Life expectancy and expectancy and cause of death in dogs. I. The situation in mixed breeds and various dog breeds. *Berliner Munchner Tierarzliche Wochenschrift*, 109, 292-303, 1996.
18. Eriksson A.S., Jarvinen A.-K., Eklund K.K., Vuolteenaho O.J., Toivari M.H., Neiminen M.S.: Effect of age and body weight on neuromuscular variables in healthy Cavalier King Charles Spaniels. *Am J Vet Res*, 62,11, 1818-1824, 2001.
19. Fiorina P., Corradi D., Pinelli S., Maestri R., Lagrasta C., Buscaglia M., Davalli A., Folli F., Astorri E.: Apoptotic/myogenic pathways during human heart development. *Int J Cardiol*, 96, 409-417, 2004.
20. Fleming J.M., Creevy K.E., Promislow D.E.L.: Mortality in North American dogs from 1984 to 2004: an investigation into age-, size-, and breed-related causes of death. *J Vet intern Med*, 25, 187-198, 2011.
21. Graiani G., Lagrasta C., Migliaccio E., Spillmann F., Meloni M., Mededdu P., Quiani F., Padura I.M., Lanfrancone L., Pelicci P.G., Emanuelli C.: Genetic deletion of the p66Shc adaptor protein protects from angiotensin II-induced myocardial damage. *Hypertension*, 46, 433-440, 2005.
22. Guglielmini C.: Cardiovascular diseases in the aging dog: diagnostic and therapeutic problems. *Veterinary Research Communications*, Kluwer Academic Publishers, Netherland, 27 Suppl 1, 555-560, 2003.

23. Gunter T.E., Pfeifer D.R.: Mechanisms by which mitochondria transport calcium. *Am J Physiol*, 258, 755–786, 1990.
24. Haidet G.C., Wennberg P.W., Finkelstein S.M., Morgan D.J.: Effects of aging per se on arterial stiffness: systemic and regional compliance in beagles. *Am Heart J*, 132, 319–327, 1996.
25. Haidet G.C.: Alpha-adrenergic-mediated reflex responses to induced muscular contraction are changed with age in dogs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 265,6, 1899–1908, 1993b.
26. Haidet G.C.: Effects of age on beta-adrenergic-mediated reflex responses to induced muscular contraction in beagles. *Mechanisms of aging and development*, 68, 89–104, 1993a.
27. Halaq H., Smith T., Leaf A.: Modulation of dihydropyridine-sensitive calcium channels in heart cells by fish oil fatty acids. *Proc Natl Acad Sci USA*, 89, 1760-1764, 1992.
28. Heylinger C., Prakash A., McNeil J.: Alterations in membrane Na⁺-Ca²⁺ exchange in the aging myocardium. *Age*, 11, 1–6, 1988.
29. Heylinger C., Prakash A., McNeil J.: Effect of calmodulin on sarcoplasmic reticular Ca²⁺ transport in the aging heart. *Mol Cell Biochem*, 85, 75–79, 1989.
30. Josephson R., Silverman H., Lakatta E., Stern M., Zweier J.: Study of the mechanisms of hydrogen peroxide and hydroxyl free radical-induced cellular injury and calcium overload in cardiac myocytes. *J Biol Chem*, 266, 2354–2361, 1991.
31. Kajstura L., Mansukhani M., Cheng W., Reiss K., Krajewski S., Reed J.C., Quiani F., Sonnenblick E.H., Anversa P.: Programmed cell death and expression of the protooncogene bcl-2 in myocytes during postnatal maturation of the heart. *Exp Cell Res*, 219, 110–121, 1995.
32. Kim S., Iwao H.: Molecular and cellular mechanisms of angiotensin II-mediated cardiovascular and renal diseases. *Pharmacol rev*, 52, 11–34, 2000.
33. Lakatta E.G., Levy D.: Arterial and cardiac aging: Major shareholders in cardiovascular disease enterprises, part II: The aging heart in health: link to heart disease. *Circulation*, 107, 346–354, 2003.
34. Lamparter S., Sun Y., Weber K.T.: Angiotensin II receptor blockade during gestation attenuates collagen formation in the developing rat heart. *Cardiovasc Res*, 43, 165–172, 1999.
35. Lee J.H., Allen D.G.: Mechanisms of acute ischemic contractile failure of the heart. Role of intracellular calcium. *J Clin Invest*, 88,2, 361–367, 1991.
36. Luchner A., Stevens T.L., Borgeson D.D., Redfield M., Wei C.M., Porter J.G., Burnett J.C.Jr.: Differential atrial and ventricular expression of BNP during evolution of heart failure. *Am J Physiol*, 274 (Heart Circ Physiol 43), H1684–1689, 1998.

37. McLennan P., Abeywardena M., Charnock J.: The influence of age and dietary fat in animal model of sudden cardiac death. *Aust.NZ J Med*, 19, 1-5, 1989.
38. Michell A.R.: Lonevity of British breeds of dog and its relationships with sex, size, cardiovascular variables and disease. *Vet Rec*, 145,22, 625-629, 1999.
39. Migliaccio E., Giorgio M., Mele S., Pelicci G., Reboldi P., Pandolfi P.P., Lanfrancone L., Pelicci P.G.: The p66Shc adaptor protein controls oxidative stress response and life span in mammals. *Nature*, 402, 309-313, 1999.
40. Migliaccio E., Mele S., Salcini A.E., Pelicci G., Lai K.M., Superti-Furga G., Pawson T., Di Fiore P.P., Lanfrancone L., Pelicci P.G.: Opposite effects of the p52Shc p46Shc and p66Shc splicing isoforms on the EGF receptor-MAP kinase-fos signalling pathway. *EMBO J*, 16, 706-716, 1997.
41. Miller C.W., Nealeigh R.C., Crowder M.E.: Evaluation of the cardiovascular changes associated with aging in a colony of dogs. *Biomed Sci Instrum*, 12, 107-110, 1976.
42. Miller M.S., Tilley L.P., Smith F.W.Jr.: Cardiopulmonary disease in the geriatric dog and cat. *Vet Clin North Am Small Anim pract*, 19,1, 87-102, 1989.
43. Nakao K., Ogawa Y., Suga S., Imura H.: Molecular biology and biochemistry of natriuretic peptide system I: Natriuretic peptides. *J Hypertension*, 10, 907-912, 1992.
44. Narayanan N.: Differential alterations in ATP-supported calcium transport activities of sarcoplasmic reticulum and sarcolemma of ageing myocardium. *Biochim Biophys Acta*, 678, 442-459, 1981.
45. Opie L.H., du Troit E.F.: Post-ischæmic stunning: The two-phased model for the role of calcium as pathogen. *J Cardiovasc Pharm*, 20,Suppl. 5, S1-S4, 1992.
46. Ott R.S.: Animal selection and breeding techniques that create diseased populations and compromise welfare. *J Am Vet Med Ass*, 12, 1969-1974, 1996.
47. Patronek G.J., Waters D.J., Glickman L.T.: Comparative longevity of pet dogs and humans: Implications for gerontology research. *Journal of gerontology Biological sciences*, 52,B171-B178, 1997.
48. Pepe S., Bogdanov K., Hallaq H., Spurgeon H., Leaf A., Lakatta E.: ω 3 polyunsaturated fatty acid modulates dihydropyridine effects on L-type Ca^{2+} channels, cytosolic Ca^{2+} , and contraction in adult rat cardiac myocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 91, 8832-8836, 1994.
49. Pepe S., Tsuchiya N., Lakatta E., Hansford R.: PUFA and aging modulate cardiac mitochondrial membrane lipid composition and Ca^{2+} activation of PDH. *Am J Physiol*, 276, 149-158, 1999.

50. Pepe S.: Mitochondrial function in ischaemia and reperfusion of the ageing heart. *CEPP*, 27, 745–750, 2000.
51. Price R.L., Carver W., Simpson D.G., Fu L., Zhao J., Borg T.K., Terracio L.: The effects of angiotensin II and specific angiotensin receptor blockers on embryonic cardiac development and looping patterns. *Dev Biol*, 192, 572–584, 1997.
52. Sayama H., Nakamura Y., Saito N., Kinoshita M.: Why is the concentration of plasma brain natriuretic peptide in elderly patients greater than normal?. *Coron Artery Dis*, 10, 537–540, 1999.
53. Spasojević-Kosić Lj.: Natrijumuretični peptid B kao biomarker u proceni starenjem izazvanih promena i funkcionalne rezerve srca pasa. Doktorska disertacija, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, 2008.
54. Strasser A., Simunek M., Seiser M., Hofecker N.G.: Age-dependent changes in cardiovascular nad metabolic responses to exercise in beagle dogs. *Zentrablatt fur Veterinarmedizin*, 44, 449–460, 1997.
55. Templeton G.H., Willerson J.T., Platt M.R., Wiesfeldt M.: Contraction duration and diastolic stiffness in aged canine left ventricle. *Recent Advances in Studies on Cardiac Structure and metabolism*, 11, 169–173, 1976.
56. Templeton G.H., Willerson J.T., Platt M.R., Wiesfeldt M.L.: Influence of aging on left ventricular hemodynamics and stiffness in beagles. *Circ Res*, 44, 189 – 194, 1979.
57. Van Vleet J.F.: Age-related non-neoplastic lesions of the heart. In: Mohr U., Carlton W.W., Dungworth D.L., Benjamin S.A., Capen C.C., Hahn F.F., editors, *Pathobiology of the aging dog*, 2 (Iowa State University Press, Ames), 101–107, 2001.
58. Waters D.J.: Aging research 2011: exploring the pet dog paradigm. *ILAR Journal*, 52, 1, 97–105, 2011.
59. Yin F.C.P., Spurgeon H.A., Greene H.L., Lakatta E.G., Weisfeldt M.: Age-associated decrease in heart rate response to isoproterenol in dogs. *Mechanisms of ageing and development*, 10,1-2, 17–25, 1979.
60. Yoshizumi M., Tsuchiya K., Kirima K., Kyaw M., Suzaki Y., Tamaki T.: Quercetin inhibits Shc- and phosphatidylinositol 3-kinase-mediated c-Jun N-terminal kinase activation by angiotensin II in cultured rat aortic smooth muscle cells. *Mol Pharmacol*, 60, 656–665, 2001.

Primljeno: 15.02.2011.

Odobreno: 20.02.2011.