

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



František Galatík

Úloha antioxidačního systému v kardioprotektivních modelech

The role of antioxidant system in cardioprotective models

Bakalářská práce

Vedoucí práce/Školitel:

Doc. RNDr. Jitka Žurmanová, Ph.D.

Praha, 2019

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 11.3.2019

Podpis:.....

František Galatík

Poděkování:

Nejprve bych rád poděkoval svojí vedoucí Doc. RNDr. Jitce Žurmanové, Ph.D. za trpělivost a podnětné rady, které mě dovedly k napsání této práce. Dále bych chtěl poděkovat ostatním kolegům z laboratoře za cenné rady a vřelé přijetí do kolektivu. V neposlední řadě chci poděkovat své rodině a nejbližším za veškerou podporu, která mi umožnila hladký průběh studia.

Abstrakt

Ischemicko/reperfúzní poškození je hlavní příčinou úmrtí u pacientů trpících kardiovaskulárním onemocněním. Snahy o vyřešení tohoto problému vedly k objevu kardioprotektivních adaptací a následně k formulaci několika kardioprotektivních modelů. Jedním z jejich dílčích mechanismů je stimulace antioxidantního systému organismu jakožto obrany proti volným radikálům, vznikajícím během potenciálního I/R poškození. Úkolem této práce je shrnout dosavadní poznatky o úloze antioxidantního systému v kardioprotektivních modelech a jejich porovnání z tohoto hlediska.

Klíčová slova: kardioprotektivní modely, antioxidantní systém, srdce

Abstract

Ischemia/reperfusion injury is the main cause of death in patients suffering from cardiovascular disease. The efforts of tackling this problem have led to the discovery of cardioprotective adaptations and subsequently – of several cardioprotective models. One of the mechanisms of the adaptations is the stimulation of antioxidant system as a protection against reactive oxygen species formed during reperfusion phase of ischemia/reperfusion. The aim of this thesis is to review the current knowledge regarding the role of antioxidant system in cardioprotective models and comparing them by this property.

Key-words: cardioprotective models, antioxidant system, heart

OBSAH

ÚVOD	1
1 ISCHEMICKO/REPERFÚZNÍ POŠKOZENÍ	2
1.1 Reaktivní formy kyslíku (ROS).....	2
1.1.1 NAD(P)H-oxidáza.....	3
2 ANTIOXIDAČNÍ SYSTÉM	4
2.1 Systém glutathionu	4
2.2 Mitochondriální antioxidanty	4
2.3 Cytosolické antioxidanty	5
2.4 Vitamíny	6
3 KARDIOPROTEKCE	6
3.1 Preconditioning.....	6
3.1.1 První okno IPC	7
3.1.2 Druhé okno IPC.....	7
3.2 Adaptace na hypoxii	9
3.2.1 Transkripční faktor HIF-1	9
3.2.2 Úloha vlastního antioxidačního systému.....	10
3.3 Fyzická aktivita.....	11
3.3.1 Úloha antioxidačního systému	11
3.3.1.1 Signální kaskáda Keap1 – Nrf2 – ARE	12
3.4 Kalorická restrikce.....	14
3.4.1 Úloha antioxidačního systému	14
3.5 Chladová adaptace	16
3.5.1 Adaptace na chlad a kardioprotekce.....	17
3.5.2 Úloha antioxidačního systému	17
ZÁVĚR.....	18
Seznam literatury.....	19

SEZNAM ZKRATEK

ACO1,2	Akonitáza 1,2
AngII	Angiotenzin II
ARE	Antioxidant response element; element antioxidační odpovědi
ATP	Adenosintrifosfát
CAT	Kataláza
CuZnSOD	Cytosolická superoxid-dismutáza
DAG	1, 2-diacylglycerol
Duox	Dual oxidase; „dvojná“ oxidáza
ETC	Electron transport chain; elektronový transportní řetězec
FPC	Farmakologický preconditioning
GSH	Glutathion
GSR	Glutathion-reduktáza
GSSG	Glutathion disulfid
GST	Glutathion-S-transferáza
GTPx	Glutathion-peroxidáza
HIF1 α , 2 α	Hypoxia inducible factor 1 α , 2 α ; hypoxií indukovatelný faktor 1 α , 2 α
HMOX1	Hem-oxygenáza 1
IM	Infarkt myokardu
iNOS	Indukovatelná syntáza oxidu dusnatého
IPC	Ischemický preconditioning
I/R	Ischemie/reperfúze
Keap1	Kelch-like ECH-associated protein 1
KR	Kalorická restrikce
MnSOD	Mitochondriální superoxid-dismutáza
MPTP	Mitochondrial permeability transition pore; mitochondriální pór proměnné propustnosti
NAD(P)H	Redukovaný nikotinamidadeninukleotidfosfát
Nox	NAD(P)H-oxidáza
NQO1	NAD(P)H-dehydrogenase (quinone) 1; NAD(P)H-dehydrogenáza (chinon) 1
Nrf2	Nuclear factor erythroid 2-related factor 2
NRF2	Nuclear respiratory factor; jaderný respirační faktor

P47 _{phox}	Phagocyte NAD(P)H oxidase organizer; jiné označení pro neutrofilní cytosolický faktor
PGC1 α	peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha
PKC	Proteinkináza C
pO ₂	Parciální tlak kyslíku
PON1	Sérová paraoxonáza/arylesteráza 1
Prx	Peroxiredoxin
ROS	Reactive oxygen species; reaktivní formy kyslíku
SIRT	Sirtuin
Trx	Thioredoxin
TrxR	Thioredoxin-reduktáza

ÚVOD

Kardiovaskulární onemocnění jsou dlouhodobě vedoucí příčinou úmrtí na světě. Je odhadováno, že ročně podlehne některému druhu kardiovaskulárního onemocnění zhruba 17,9 milionů lidí, což tvoří téměř třetinu všech světových úmrtí. Příčinou většiny těchto úmrtí jsou akutní formy ischemické choroby srdeční, infarkt myokardu (IM) a mozková mrtvice. Obě choroby jsou způsobené hypoxickými stavy a s nimi spojeným poškozením. Faktory vedoucí k jejich vzniku jsou většinou endogenního charakteru, zejména nezdravá strava, kouření, alkohol a sedavý životní styl, ale samozřejmě i vrozené vady a jiná onemocnění (World Health Organization, 2017).

Kardiovaskulární onemocnění nejsou fenoménem poslední doby, nýbrž narůstajícím problémem posledního století. Za tu dobu došlo k velkému pokroku v porozumění jejich patologii a rozvoji léčebných metod. Nemalé úsilí směřovalo také na výzkum profylaxe. Veškeré tyto snahy vedly k objevení tzv. kardioprotektivních intervencí, tedy přizpůsobení organismu na krátkodobý, či dlouhodobý stresový podnět, vedoucí k vyšší odolnosti srdce vůči ischemicko/reperfúznímu (I/R) poškození.

Kardioprotektivní adaptace na chronickou hypoxii byla poprvé pozorována v 50. letech minulého století u populací žijících ve vysokých nadmořských výškách, u kterých byla incidence infarktů myokardu přirozeně nižší, než u populací žijících v nížinách (Hurtado, 1960). V návaznosti na studium adaptace na chronickou hypoxii byl objeven fenomén odpovědi organismu na přerušovanou anoxii, tzv. preconditioning (Murry *et al.*, 1986). Brzy následoval výzkum odpovědi organismu na další podněty: fyzickou aktivitu, kalorickou restrikcii a v posledních letech i adaptace na chlad.

Dílní složkou adaptivního mechanismu je stimulace antioxidantního systému organismu. Ten za fyziologických podmínek zbavuje tělo a chrání jej před vznikem a působením škodlivých kyslíkových radikálů. Zvýšení koncentrace antioxidantních enzymů za účelem kontroly oxidačního stresu je dlouhodobě považováno za možnou strategii vedoucí ke zmírnění I/R poškození.

Jakou konkrétní úlohu má antioxidantní systém v mechanismu vzniku a fungování kardioprotektivních adaptací v různých kardioprotektivních modelech je tématem této práce.

1 ISCHEMICKO/REPERFÚZNÍ POŠKOZENÍ

Pojem „ischemie“ popisuje snížení toku krve, které vede k nedostatečnému zásobování tkáně kyslíkem a ostatními životně důležitými látkami. Nedostatek O_2 způsobuje změnu metabolismu z aerobní na anaerobní glykolýzu a vede k zastavení oxidační fosforylace a snížení produkce adenosintrifosfátu (ATP). Nedostatek ATP vede k rozvoji acidózy a zvýšenému toku Na^+ iontů do buňky. Současně snížená funkce Na^+K^+ ATPázy prohlubuje narušení iontové rovnováhy. Dochází k akumulaci Na^+ a Ca^{2+} uvnitř buňky a vzniká tzv. sodno-vápenaté přetížení. Tyto změny vedou k hyperkontrakci myofibril, změnám membránového potenciálu, průběhu elektrokardiogramu a odumírání tkáně (pro přehled, Jennings, 2002).

Včasně obnovení průtoku krve do tkáně neboli reperfúze, je nejlepší možností záchrany postižené oblasti. Reperfúze je nicméně popisována jako „dvousečný meč“, neboť v této fázi dochází k nevratnému poškození tkáně, tzv. reperfúzní poškození. Během reperfúze dochází k iniciaci mechanismů jako je aktivace komplementu, akumulace aktivovaných neutrofilů a vznik zánětu, které zvyšují produkci reaktivních forem kyslíku (ROS) a paradoxně tak vedou ke zhoršení předešlého ischemického poškození. Aktivita ROS vede ke ztrátě regulace Ca^{2+} a jeho hromadění v mitochondriích. To vede k otevření „mitochondriálního póru proměnné propustnosti“ (MPTP) a vylití cytochromu c a dalších apoptotických molekul do cytoplazmy. Doba, po kterou je MPTP otevřen, určuje, jestli proběhne apoptóza, nebo nekróza buňky (pro přehled, Halestrap *et al.*, 2004).

1.1 Reaktivní formy kyslíku (ROS)

ROS jsou produkovány v kontrolovaném množství jako produkty normálně fungujícího metabolismu. Během patologických procesů však dochází k porušení homeostázy a následné nadprodukci nebo akumulaci ROS. Vychýlení rovnováhy ve prospěch oxidantů, které má za následek poškození organismu, nazýváme „oxidační stres“. Hlavními endogenními ROS jsou superoxidový anion ($O_2^{\cdot-}$), peroxid vodíku (H_2O_2) a hydroxylový radikál ($\cdot OH$). $O_2^{\cdot-}$ vzniká adicí jednoho elektronu na molekulární kyslík. Je produkován zejména aktivitou mitochondrií. Asi 1-3 % elektronů uniká z elektron-transportního řetězce (ETC) a tvoří $O_2^{\cdot-}$. Dalšími mediátory vzniku $O_2^{\cdot-}$ jsou nikotinamidadenin dinukleotidfosfát-oxidáza (NAD(P)H-oxidáza) a xanthine-oxidáza. $O_2^{\cdot-}$ je převáděn na H_2O_2 pomocí antioxidantů superoxid-dismutáz. H_2O_2 je podobně jako superoxid produkován xanthine-oxidázou, NAD(P)H-oxidázou, ale také oxidázou aminokyselin a v metabolismu peroxizómu. Za přítomnosti transmisních kovů jako

Fe^{2+} , nebo Cu^{2+} , může z H_2O_2 vznikat $\cdot\text{OH}$ procesy tzv. Fentonovy nebo Haber-Weisovy reakce (Fenton, 1894). $\cdot\text{OH}$ je nejreaktivnější forma ROS poškozující většinu organických molekul. Mezi hlavní zdroje ROS v I/R poškození patří aktivované neutrofilny, NAD(P)H-oxidáza, xanthine-oxidáza, metabolismus kys. arachidonové a ETC (Kuppusamy & Zweier, 1989; Ide *et al.*, 1999; Kono *et al.*, 2018).

Přestože jsou ROS nejčastěji spojovány s oxidačním stresem a jeho negativními účinky, není to jejich jediná vlastnost. Stálá relativně nízká hladina ROS je nezbytná pro správné fungování organismu, kvůli jejich roli v buněčné signalizaci (Ruiz-Gines *et al.*, 2000).

1.1.1 NAD(P)H-oxidáza

NAD(P)H-oxidázy (Nox) hrají důležitou fyziologickou roli v regulaci hypertrofie a apoptózy kardiomyocytů. Nox jsou transmembránové proteiny produkující $\text{O}_2^{\cdot -}$ a H_2O_2 přenosem elektronu z NAD(P)H na molekulární kyslík. To je činí hlavním zdrojem ROS v kardiovaskulárních buňkách. Zatím je známo sedm izoform patřících do Nox rodiny proteinů (Nox1-Nox5, Duox1 a Duox2). Izoformy Nox2 a Nox4 jsou hojně exprimovány v srdci a udržují jak bazální produkci ROS, tak jejich zvýšenou produkci během stresu. Nox2 se primárně nalézá na plazmatické membráně, kdežto Nox4 na vnitrobuněčných membránách mitochondrií, endoplazmatického retikula a jádra (pro přehled, Maejima *et al.*, 2011).

Ve tkáňových kulturách kardiomyocytů ošetřených inhibitorem vazby Nox2 a její podjednotky neutrofilního cytosolického faktoru (p47_{phox}) došlo k přerušení angiotenzinem II (AngII) indukované apoptózy, což ukazuje na důležitou roli Nox2 v apoptóze kardiomyocytů *in vitro* (Qin *et al.*, 2006). Stejný efekt byl pozorován také *in vivo* u myši s delecí genu pro p47_{phox} (Erickson *et al.*, 2008).

Zvýšení exprese Nox4 zapříčiňuje oxidaci mitochondriálních proteinů, která vede k celkové mitochondriální dysfunkci a následné apoptóze kardiomyocytů (Ago *et al.*, 2010). Studie na myších nově přinesly důkazy o pozitivní úloze Nox4 v kardioprotekci. M. Zhang *et al.* (2010) ukázali zvýšení exprese Nox4 stresem, které vedlo ke stabilizaci hypoxií indukovatelného faktoru 1 α (HIF1 α), což implikuje funkci Nox4 jako pozitivního regulátoru angiogeneze a krvetvorby. Srdce zvířat se zvýšenou aktivitou Nox4 byly před stresem chráněny, zatímco u zvířat s delecí genu pro Nox4 se vytvořila hypertrofie a kontraktilní dysfunkce. Přestože si zvířata za experimentálních podmínek autorů vytvořila kardioprotekci závislou na Nox4, není jasné, je-li tento efekt dost silný, aby překonal mitochondriální dysfunkci a buněčnou smrt způsobenou zvýšenou expresí Nox4.

2 ANTIOXIDAČNÍ SYSTÉM

Antioxidační systém je tvořen celou řadou aktivních látek, sloužících k ochraně biomolekul před oxidativním stresem a udržování vhodného redoxního prostředí v organismu. Ochrana spočívá ve vycytávání prooxidantů a jejich následné detoxifikaci. Nejčastěji jsou antioxidy rozdělovány z hlediska jejich funkce na skupinu neenzymatických a enzymatických antioxidy a morfologicky podle lokalizace v buněčných kompartmentech.

2.1 Systém glutathionu

Glutathion (GSH) společně s třemi enzymy, glutathion-reduktázou (GSR), glutathion-peroxidázou (GTPx) a glutathion-S-transferázou (GST) tvoří systém glutathionu, důležitou část antioxidačního systému. GSH se hojně vyskytuje v mnoha buněčných typech a jejich kompartmentech, což ho činí nejrozšířenějším rozpustným endogenním antioxidem. GSH se podílí na redukci H_2O_2 jako substrát enzymu GTPx. Během této reakce funguje jako donor elektronu a je tak sám oxidován do formy disulfidu (GSSG). Ve zdravé buňce se GSH vyskytuje hlavně v redukované formě GSH, poměr mezi GSH a GSSG je důležitý indikátor oxidačního stresu (pro přehled, Schafer & Buettner, 2001).

Glutathion-reduktáza má za úkol regeneraci GSH, při této reakci vznikají z jednoho GSSG dva GSH. GSR chrání erythrocyty, hemoglobin a plazmatické membrány před oxidativním stresem právě tvorbou GSH. Její aktivita závisí na NAD(P)H a riboflavinu (vitamín B2) (Rosemeyer, 1987). GST katalyzuje konjugaci GSH s toxiny (peroxydy a xenobiotiky), zvýší tak jejich rozpustnost ve vodě a umožňuje jejich detoxifikaci (Leaver & George, 1998). Prx6 je zvláštní typ peroxiredoxinů, chybí mu N-koncový Cys zbytek, a tak využívá GSH a GST k dokončení svého katalytického cyklu. Peroxiredoxin 6 (Prx6) je jako jediný Prx schopen redukovat fosfolipidové hydrogenperoxydy svojí GTPx aktivitou. Obvykle se vyskytuje v cytoplazmě, ale může se nacházet ve většině organel a na plazmatické membráně (pro přehled, Arevalo & Vázquez-Medina, 2018).

2.2 Mitochondriální antioxidy

Mitochondriální superoxid-dismutáza (MnSOD) je enzym lokalizovaný v matrix, kde vycytává přebytečný superoxid, který je v srdci produkován zejména komplexy I a III ETC

(Raha *et al.*, 2000). MnSOD tvoří tetramer v komplexu s Mn jako kofaktorem (Borgstahl *et al.*, 1996).

Dalším významným enzymem je kataláza (CAT). Jejím úkolem v mitochondrii je vychytávání H_2O_2 produkovaného MnSOD a jeho rozklad na O_2 a H_2O (Purdue & Lazarow, 1996). Dalšími enzymy, jejichž úkolem je redukce peroxidů, jsou peroxiredoxiny. V mitochondriích se vyskytují Prx3 a Prx5 (Butterfield *et al.*, 1999; Knoops *et al.*, 1999). Obě izoformy mají jeden Cys zbytek v aktivním místě blízko N-konce a jeden Cys zbytek na konzervovaném místě blízko C-konce (u Prx5 blíže k C-konci). Prx3 tvoří homodimer s „head-tail“ konfigurací. N-koncový Cys je během redukce peroxidu přeměněn na kyselinu sulfenovou (-SOH), která následně reaguje s C-koncovým Cys druhého řetězce za vzniku intermolekulárního disulfidu a vody. Prx5 se vyskytuje jako monomer. Po vzniku sulfenové kys. (R-SOH) na N-koncovém Cys dochází k reakci s thiolem (R-SH) na C-koncovém Cys téhož proteinu, za vzniku intramolekulárního disulfidu. V mitochondriích srdce jsou Prx3 a Prx5 regenerovány systémem thioredoxin 2/thioredoxin-reduktáza 2 (Trx2/TrxR2). Trx2 funguje jako donor elektronu pro redukci oxidovaných forem Prx3 a Prx5. TrxR2 je NAD(P)H-dependentní enzym redukující Trx2 zpět do aktivní formy. TrxR2 sám o sobě vykazuje antioxidační aktivitu, když přímo redukuje lipidové peroxidy (Björnstedt *et al.*, 1995).

2.3 Cytosolické antioxidanty

Cytosolická superoxid-dismutáza (CuZnSOD) vychytává superoxid produkovaný primárně Nox, lipoxygenázou a cyklooxygenázou. Tvoří dimer v komplexu s Cu a Zn (Cao *et al.*, 2008). Podobně jako v mitochondriích se v cytoplazmě vyskytují peroxiredoxiny, Prx1 a Prx2. Jejich aktivní místa a způsob detoxifikace peroxidů je shodná s Prx3. Prx1 je dimerní enzym hojně se vyskytující ve všech tkáních, jehož hlavní úlohou je rozklad peroxidů. Dále funguje jako inhibitor protoonkogenu „Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1“ (c-ABL) vazbou na jeho „sarcoma homology 3“ (SH3) podjednotku a jako faktor posilující přirozené zabíječe (NKEF-A). Prx1 může být regenerován buď systémem Trx1/TrxR1, nebo GSH/GSR. Prx2 je dimerní peroxiredoxin mnohdy nazývaný „thiol-specifický antioxidant“ (TSA). Má funkci posilujícího faktoru přirozených zabíječů stejně jako Prx1 (NKEF-B) (Jin & Jeang, 1999).

2.4 Vitamíny

Kyselina askorbová (vitamín C) je ve vodě rozpustný vitamín, hlavní endogenní antioxidant člověka. Na rozdíl od většiny savců nejsou lidé schopni ji syntetizovat a je nutné ji přijímat se stravou. Její antioxidační aktivita vychází ze schopnosti předávat elektrony jiným látkám a zabránit jejich oxidaci. Askorbát může mít i prooxidační aktivitu, protože redukce železa může vést ke vzniku radikálů skrze Fentonovu reakci, jeho antioxidační aktivita nicméně převládá (pro přehled, Padayatty *et al.*, 2003).

Vitamín E (jeho nejaktivnější forma α -Tocopherol) je v tucích rozpustný endogenní antioxidant, koncentruje se v hydrofobním prostředí mezi vrstvami plazmatické membrány a je její hlavní ochranou před peroxidací lipidů. Funguje jako donor elektronu pro peroxylové radikály, čímž je neutralizuje. Během této reakce z něj vzniká radikál, který je zpětně regenerován vitamínem C (Di Mascio *et al.*, 1991).

Velkou většinu karotenoidů v lidském těle tvoří β -karoten, α -karoten, lykopen, lutein a kryptoxanthin. Jsou v těle důležitými zdroji ke tvorbě vitamínu A. Antioxidační efekt karotenoidů je závislý na spolupráci s ostatními antioxidanty, jako vitamíny C a E. Zároveň jsou karotenoidy výrazně ovlivněny koncentrací O_2 a hladinou parciálního tlaku kyslíku (pO_2). Při vysokých hodnotách ztrácejí svoje antioxidační vlastnosti (Young *et al.*, 2001). β -karotenu je připisována inhibice peroxidace lipidů v myším modelu (Iyama *et al.*, 1996).

3 KARDIOPROTEKCE

Pod pojmem kardioprotekce se obvykle rozumí ochrana srdce proti patologickým dějům, obzvláště I/R poškození. Nejčastěji je zkoumána míra redukce infarktu myokardu a výskytu arytmií v průběhu I/R po podání exogenních látek, nebo po indukci endogenních protektivních mechanismů.

3.1 Preconditioning

Krátké epizody ischemie následovány reperfúzí, aplikované před I/R, paradoxně chrání srdce před poškozením a vedou ke zmenšení velikosti infarktu během následující déle trvající ischemie. Tento fenomén byl poprvé demonstrován na psím modelu a je anglicky nazýván „ischaemic preconditioning“ (IPC). Podobně jako u ostatních modelů je molekulární

mechanismus vzniku kardioprotekce pomocí IPC komplexní proces rozdělený na tři úrovně. Spouštěče vznikající během prvotní ischemie, vnitrobuněčné mediátorové dráhy a efekторы (Ytrehus *et al.*, 1994). „Preconditioningu“ lze docílit i bez ischemie. „Farmakologický preconditioning“ (FPC) vzniká po podání látek napodobujících ischemií indukované spouštěče.

Kardioprotektivní efekt IPC je dvoufázový. První fáze vzniká krátce po stimulu a trvá méně než 2 hodiny, tzv. první okno IPC (Murry *et al.*, 1986). Druhá fáze neboli „druhé okno IPC“, nastupuje asi 12-24 hodin po IPC podnětu a trvá následujících 48-72 hodin (Kuzuya *et al.*, 1993).

3.1.1 První okno IPC

Z dostupné literatury obsahující více než 30 let výzkumu mechanismu IPC vyplývá, že akutní fáze IPC indukuje kardioprotekci jinak než pomocí antioxidantního systému.

Murry *et al.* (1986) při studiu IM způsobeného dlouhotrvající koronární okluzí jako první zaznamenali, že skupině psů vystavené čtyřem 5 min ischemiím, kdy každou následovala 5 min reperfúze, se po následné 40 min okluzi zmenšila velikost infarktu oproti kontrole až na 25 % původní hodnoty. Spouštěče jako adenosin mají receptory spřažené s G-proteiny, po jejich navázání dochází k aktivaci G-proteinů. Jejich prostřednictvím je signál přenesen na fosfolipázu C (PLC), která stimuluje produkci druhých posílů 1,2-diacylglycerolu (DAG) a inositoltrisfosfátu (IP3). DAG následně aktivuje protein kinázu C (PKC) (Downey *et al.*, 1994). Při testech IPC u králíků se ROS vznikající během prvotní ischemie zapojily do vzniku preconditioningu přímou aktivací PKC (Baines *et al.*, 1997). PKC následně fosforyluje mitochondriální a plazmatické K_{ATP} kanály nebo translokuje 5' nukleotidázu na povrch buňky. Mechanismus aktivovaných mitochondriálních K_{ATP} kanálů pravděpodobně vede ke zpomalení ATP hydrolýzy (Grover *et al.*, 1991), snížení membránového potenciálu ($\Delta\Psi$) a omezení hromadění Ca^{2+} v mitochondriích (Wang *et al.*, 2019). Hlavním mechanismem vzniku kardioprotekce indukované prvním oknem IPC je tedy fosforylace a potenciálně další posttranslační modifikace již existujících proteinů, spíše než exprese proteinů *de novo*.

3.1.2 Druhé okno IPC

Dosavadní informace o úloze antioxidantního systému v této fázi IPC jsou často protikladné, a tedy nelze dojít k jednoznačnému konsenzu. Na rozdíl od prvního okna IPC je hlavním mechanismem protekce zvýšení exprese stresových proteinů, vyznačující se ochranou před

postischemickým omrácením myokardu¹. u králíků, kterým byl podán cykloheximid jako inhibitor exprese, byla ochrana proti omrácení myokardu zcela ztracena, což implikuje zásadní roli vzniku nových proteinů (mediátorů) pro vznik druhého okna IPC (Rizvi *et al.*, 2017). Mediátorů této fáze IPC je hned několik. Potenciálně mezi ně patří i antioxidantní enzymy, zejména MnSOD. Studie prováděné na psech ukázaly, že 24 hodin po IPC dochází ke zvýšení aktivity a exprese MnSOD, beze změn u ostatních antioxidantních enzymů (Hoshida *et al.*, 1993). Pokusy s FPC zaznamenaly zvýšení aktivity MnSOD, CuZnSOD a CAT, 24-72 hodin po podání interleukinu-1 a endotoxinu (Maulik *et al.*, 1993, 1995). Přestože zvýšení aktivity antioxidantů časově koreluje se zvýšenou odolností myokardu vůči I/R poškození, kauzalita těchto dvou efektů není potvrzena. Tang *et al.* (2000) nepozorovali u králíků po 24 h od IPC podnětu žádné zvýšení aktivity či exprese antioxidantního systému. Při předchozích experimentech na prasečím modelu došli ke stejnému závěru (Tang *et al.*, 1997).

¹ **Omrácený myokard** je životaschopná část postischemického myokardu zachráněná reperfúzí, která však i po reperfúzi dlouhodobě vykazuje kontraktilní dysfunkci přetrvávající hodiny až dny. Je jedním z typů I/R poškození.

3.2 Adaptace na hypoxii

Objevena v 50. letech minulého století, je první známou kardioprotektivní adaptací a tím pádem nejlépe probádanou. Brzy po jejím objevu následovalo experimentální potvrzení protektivního účinku chronické hypoxie u laboratorních potkanů simulováním vysoké nadmořské výšky (7000 m n.m.) v hypobarické komoře. Srdce takových potkanů během reperfúze po akutní ischemii obnovila svoji kontraktilní funkci mnohem lépe než neadaptované kontroly (Kopecký & Daum, 1958). Tyto nálezy byly opakovaně potvrzeny za pomoci různých experimentálních modelů, adaptačních režimů a s různým průběhem I/R. Zároveň došlo k demonstraci významných mezipohlavních rozdílů z hlediska tolerance myokardu vůči anoxii. Samice potkanů se ukázaly být k nedostatku kyslíku tolerantnější než samci. Chronická hypoxie toleranci zvýšila, mezipohlavní rozdíl nicméně přetrvával. Efekt, který u obou pohlaví zůstává stejný, je rozvoj chronické plicní hypertenze a hypertrofie pravého srdce, faktory, které mohou vést až k srdečnímu selhání (Ošťádal *et al.*, 1984). Později bylo ukázáno, že mitochondrie samců a samic se liší. Samičí mitochondrie jsou odolnější k Ca^{2+} přetížení (Milerová *et al.*, 2016). Bylo demonstrováno, že i relativně krátké přerušované vystavení potkanů simulované hypoxii (4 h denně po 24 dní) navozuje ochranný efekt (Widimsky *et al.*, 1973). Tyto výsledky jsou zvláště významné, protože přerušovaná hypoxie je jev, se kterým se člověk setkává mnohem častěji než vystavení chronické hypoxii.

Ne všechny režimy hypoxie vedou ke vzniku kardioprotektivních adaptací. Chronicky hypoxičtí potkani (24 h denně) po 30 dnech adaptace zredukovali IM o 20 % oproti kontrolám. Kdežto skupina potkanů vystavená denně krátké (60 min) normoxii zcela ztratila kardioprotekci. Možným mechanismem ztráty kardioprotekce je v tomto případě inhibice mitochondriálních BK_{Ca} kanálů oxidačním stresem (Neckár *et al.*, 2013).

3.2.1 Transkripční faktor HIF1

Není známo, že by HIF1 přímo reguloval některé složky antioxidačního systému. Nicméně reguluje množství mechanismů odpovědných za ustálení redoxní rovnováhy podobně jako antioxidační systém a jeho transkripce je stimulována oxidačním stresem (Bonello *et al.*, 2007).

Heterodimerní transkripční faktor HIF1 je hlavním buněčným regulátorem kyslíkové homeostázy téměř ve všech savčích jaderných buňkách. Skládá se z konstitutivně exprimované

podjednotky HIF1 β a přísně regulované podjednotky HIF1 α závislé na hladině pO₂ v buňce (Wang *et al.*, 1995). Bylo dobře prozkoumáno, že přerušovaná hypoxie chrání srdce hlodavců proti I/R poškození mechanismem závislým na indukovatelné syntáze oxidu dusnatého (iNOS) (Ding *et al.*, 2005). Vzhledem k tomu, že gen pro iNOS má ve své promotorové oblasti „hypoxia responsive element“ (HRE), HIF1 α je tedy esenciálním regulátorem hypoxické exprese iNOS v srdci a lze postulovat důležitou úlohu HIF1 α během kardioprotekce navozené přerušovanou hypoxií (Jung *et al.*, 2000). Cai *et al.* (2003) později tuto teorii experimentálně potvrdili, když demonstrovali závislost vzniku kardioprotekce u myši adaptovaných přerušovanou hypoxií na HIF1 a jeho signalizaci. u heterozygotních zvířat s delecí alely pro HIF-1 α nevznikla žádná kardioprotekce.

ROS produkované mitochondriemi se zdají být nezbytnými pro stabilizaci HIF1 α během hypoxických podmínek. V experimentech na tkáňových kulturách se ukázalo, že podání antioxidantů pyrrolidin dithiocarbamátu a ebselenu zcela inhibovalo HIF-dependentní odpověď na hypoxii (Chandel *et al.*, 1998).

Kromě genů metabolismu oxidu dusnatého (NO) podporuje HIF1 také expresi genu glukózového transportéru 1 (GLUT1) a dalších glykolytických genů a vede tak k zefektivnění energetického metabolismu (Ebert *et al.*, 1995). Nejdůležitější nemetabolické geny, jejichž expresi HIF1 indukuje, jsou erythropoetin (EPO) a vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF), které vedou ke zvýšení kapacity přenosu O₂ v organismu (Wang *et al.*, 1996; Sanchez-Elsner *et al.*, 2001).

3.2.2 Úloha vlastního antioxidantního systému

Jak bude antioxidantní systém stimulován závisí na režimu hypoxie, který pro adaptaci organismu zvolíme. Zvýšení aktivity antioxidantního systému zaznamenáme pouze u režimů hypoxie, které vedou k vzniku kardioprotekce. To samo o sobě implikuje důležitou roli antioxidantního systému při vzniku kardioprotekce. Bylo zjištěno, že u skupiny potkanů vystavených normobarické hypoxii 24 h denně po dobu 21 dní došlo k výrazné stimulaci antioxidantního systému. V srdci došlo ke zvýšení exprese mitochondriálních antioxidantů: MnSOD, Prx5, Trx2, TrxR2 a GSR. Stimulované cytosolické antioxidanty byly: CuZnSOD, Prx2, GSR a GTPx4. Dále byla zvýšena exprese hem-oxygenázy 1 (HMOX1), akonitázy 2 (ACO2) a transkripčního faktoru HIF2 α .

U skupiny potkanů vystavených normobarické hypoxii 8 h denně a 24 h denně po dobu 21 dní byl antioxidantní systém stimulován rozdílně. Mitochondriální enzymy se zvýšenou

expresí byly: MnSOD, GSR, Trx a TrxR2. Stimulované cytosolické enzymy pak: Prx2, Prx6 a GSR. Navíc došlo ke zvýšení exprese ACO1, ACO2, HIF1 α , HIF-2 α , ale ne HMOX1.

Antioxidanty, které jsou pro oba tyto režimy hypoxie stejné, jsou MnSOD, Trx2, TrxR2, GSR a Prx2. Z toho MnSOD, Trx2 a TrxR2 jsou mitochondriální, GSR je jak mitochondriální, tak cytosolický a Prx2 je čistě cytosolický antioxidant. Vzhledem k tomu, že u obou skupin těchto potkanů se vytvořila kardioprotekce, je na místě předpokládat, že zvýšení exprese těchto antioxidantů je nezbytné pro indukci kardioprotekce (Kašparová *et al.*, 2015).

3.3 Fyzická aktivita

Podobně jako v případě chronické hypoxie, sahají počátky výzkumu vlivu fyzické aktivity na kardiovaskulární systém do 50. let 20. století, kdy byl poprvé publikován výzkum ukazující na schopnost fyzické aktivity ochránit kardiovaskulární systém před srdeční příhodou (Morris *et al.*, 1958). Na základě této a navazujících prací se ukazuje, že kromě snížení pravděpodobnosti vzniku srdeční příhody, vede fyzická aktivita k omezení I/R poškození pokud by k takové příhodě došlo (Brown *et al.*, 2003). Přestože mají tyto efekty společný původ, mechanismy jejich vzniku se zdají být velmi odlišné.

Pozitivním vlivem fyzické aktivity na kardiovaskulární systém se obecně považuje její schopnost omezovat rizikové faktory vedoucí k srdeční příhodě, např. snížení hypertenze (Pescatello *et al.*, 1991). Zároveň existují důkazy naznačující, že fyzická aktivita poskytuje podobnou formu ochrany jako IPC. Podobně jako u IPC dochází ke dvěma periodám ochrany. První krátkodobá, vznikající bezprostředně po cvičení (Tomai *et al.*, 1999). a druhá dlouhotrvající, nastupující po 24 h a přetrvávající dny až týdny (Lambiase *et al.*, 2003).

3.3.1 Úloha antioxidačního systému

Bylo ukázáno, že fyzická aktivita zvyšuje mitochondriální produkci CuZnSOD a MnSOD a snižuje produkci H₂O₂ v potkaních myocytech. Tyto změny v srdečních subsarkolemálních a intermyofibrilárních mitochondriích vedou ke zvýšené odolnosti vůči I/R poškození (Lee *et al.*, 2012). Ke zvýšení exprese SOD dochází pravděpodobně skrze aktivaci transkripčního faktoru Nrf2 pomocí ROS vznikajících během cvičení (Zhu *et al.*, 2005). ROS jsou v srdci produkovány jednak anoxií vzniklou cvičením, ale také ROS indukovanými cytokiny, faktorem nádorové nekrózy α (TNF α) a interleukinem 1 β (IL1 β). Tento mechanismus pozitivní zpětné

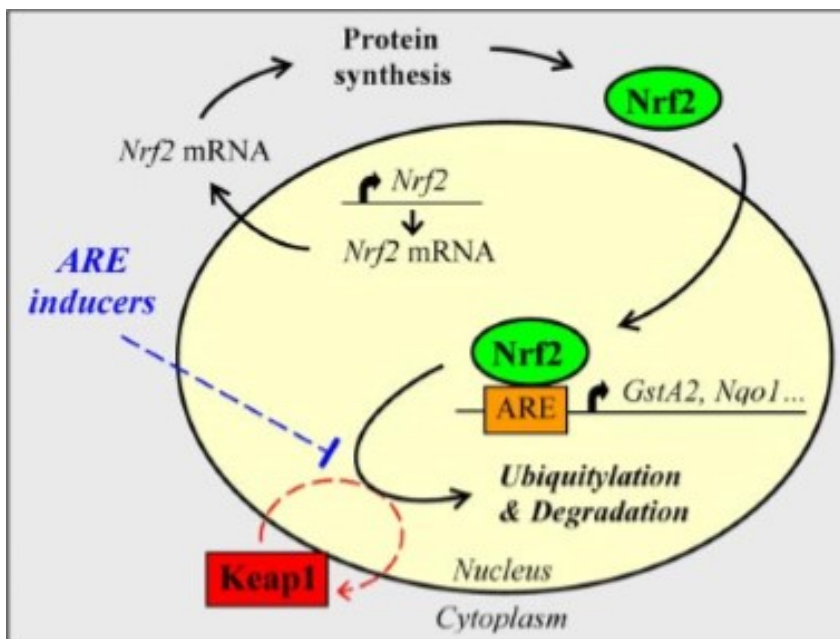
vazby pravděpodobně vede k aktivaci MnSOD 0,5 h po cvičení a indukci aktivity MnSOD 48 h po cvičení. Přestože funkce MnSOD během rané fáze není objasněna, vznik pozdní fáze kardioprotekce je na indukci MnSOD závislý. Inhibice MnSOD podáním antisens-oligodeoxynukleotidů (ASODN) totiž zcela zrušila kardioprotekci IM 48 h po cvičení (Yamashita *et al.*, 1999). Hamilton *et al.* (2004) tyto výsledky podpořili, když ukázali důležitou roli MnSOD v ochraně proti arytmiím vyvolaným I/R zraněním. Oproti tomu stojí práce Lennon *et al.* (2004), která demonstruje nadbytečnost MnSOD v ochraně proti omráčenému myokardu. To implikuje potenciální rozdíly v mechanismu vzniku cvičením indukované kardioprotekce proti IM, arytmiím a omráčenému myokardu.

3.3.1.1 Signální kaskáda Keap1 – Nrf2 – ARE

Indukce mnoha ochranných enzymů jako odpovědi na stres je primárně regulována na úrovni transkripce. Regulátorem této transkripce je „antioxidant response element“ (ARE). ARE se nachází v oblasti promotorů pro geny kódující detoxifikační enzymy glutathion-S-transferázu 2 (GSTA2) a NAD(P)H-chinon-dehydrogenáza (NQO1) (Favreau & Pickett, 1991; Friling *et al.*, 1990). ARE je aktivován v reakci na H₂O₂, ale i na jakoukoliv látku schopnou vytvořit reaktivní či elektrofilní meziprodukty. Těmi jsou nejčastěji metabolicky redukované aromatické látky tvořící volné radikály, které následně fungují jako redukční činidla při vzniku superoxidu (Rushmore *et al.*, 2006).

Aktivace ARE je primárně řízena transkripčním faktorem „nuclear factor erythroid 2-related factor 2“ (Nrf2). Na myším modelu bylo demonstrováno pozitivní působení Nrf2 na ARE několika genů kódujících aparát antioxidačního systému (Itoh *et al.*, 1997). u člověka byl Nrf2 identifikován jako jeden z transkripčních faktorů působících na ARE genu NQO1 (Venugopal & Jaiswal, 1996). Zdá se, že kromě zvýšení exprese genů během stresu řídí Nrf2 i bazální produkci v normální buňce (McMahon *et al.*, 2001). Tyto skutečnosti dále ukazují na jeho primárně jadernou lokalizaci viz Obr. 1.

Lokalizace Nrf2 je důležitá pro pochopení jeho dynamické regulace pomocí „Kelch-like ECH-associated protein 1“ (Keap1). Nové důkazy podporují teorii, že za fyziologických podmínek Keap1 přechodně translokuje do jádra a označuje Nrf2 poté, co vykoná svoji transkripční funkci a tím jej předurčí k degradaci. Působením oxidačního stresu pravděpodobně dochází k inhibici interakce Keap1 – Nrf2, která způsobí hromadění Nrf2 v jádře a zvýšení exprese antioxidantů (Nguyen *et al.*, 2005). Přesné mechanismy degradace a stabilizace Nrf2 nejsou však jasné.



Obr. 1 - Schematické zobrazení navrhovaného modelu genové exprese signální kaskádou Keap1 – Nrf2 – ARE; Keap1: Kelch-like ECH-associated protein 1, Nrf2: nuclear factor erythroid 2-related factor 2, ARE: antioxidant response element. Převzato z Nguyen *et al.*, 2005.

3.4 Kalorická restrikce

Kalorická restrikce (KR) je obvykle definována jako snížení příjmu kalorií bez úbytku esenciálních živin a je dlouhodobě považována za spolehlivý způsob prodloužení života. První písemné prameny pojednávající o přínosu kalorické restrikce pro člověka sahají do Itálie 15. století (Cornaro, 1903). Luigi Cornaro ve svých knihách horlivě propagoval střídmy životní styl, který mu evidentně svědčil. Dožil se 102 let, když průměrný věk dožití v Evropě byl méně než 30 let (Leon, 2011).

První experimentální studie se začaly tomuto tématu věnovat až na začátku 20. století. Stěžejní práci publikoval McCay *et al.* (1935), který ukázal, že 40% KR nastavená po odstavení mláďat, dramaticky prodlužuje život potkanů.

Vliv KR na kardiovaskulární systém byl poprvé zaznamenán, když byl nedostatek potravin během 2. světové války spojen se snížením úmrtnosti nemocí oběhového systému (Strom & Jensen, 1951). Dnes se optimálně nastavená KR považuje za účinný a neinvazivní způsob regulace rizikových faktorů způsobujících řadu chronických onemocnění spojených s přejídáním jako je obezita, cukrovka 2. typu, hypertenze a ateroskleróza (pro přehled, Soare *et al.*, 2014).

3.4.1 Úloha antioxidantního systému

Přesný mechanismus, kterým kalorická restrikce indukuje kardioprotekci není stoprocentně jasný, přesto máme poměrně dobrou představu o několika stěžejních bodech tohoto procesu. Ústředními mediátory asociovanými s antioxidantním systémem jsou sirtuiny (SIRT), „peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha“ (PGC1 α), HMOX1 a jejich interakce s mitochondriálním metabolismem (Waldman *et al.*, 2019).

SIRT3 zvyšuje aktivitu MnSOD její přímou deacetylací v játrech (Qiu *et al.*, 2010) a mozku (Someya *et al.*, 2010), důkazy o podobné činnosti v srdci ovšem chybí. Studie prováděná na křečcích pozorovala zvýšenou expresi MnSOD pomocí aktivovaného SIRT1 pravděpodobnou aktivací transkripčního faktoru „Forkhead box protein O1“ (FoxO1) (Tanno *et al.*, 2010). Experimenty prováděné na potkanech však nebyly schopné tyto výsledky replikovat. u osmnáctiměsíčních potkanů vystavených tříměsíční KR nebylo nalezeno žádné zvýšení exprese MnSOD v myokardu (Colom *et al.*, 2007). Další studie, provedená na dospělých potkanech vystavených šestiměsíční KR, nenalezla žádné zvýšení exprese MnSOD,

množství mitDNA, nebo jakýchkoliv jejích transkriptů souvisejících se stimulací antioxidantního systému. Naopak ukázala, že KR připravuje mitochondrie myokardu na stres pomocí posttranslačních modifikací, konkrétně deacetylací konkrétních proteinů ETC spojenou se zvýšením aktivity SIRT (Shinmura *et al.*, 2011).

Působení KR bylo v některých případech spojeno se snížením aktivity některých antioxidantů. u mladých potkanů vystavených krátkodobé KR (8 týdnů, 40% KR) bylo pozorováno snížení aktivity MnSOD a GTPx v mitochondriích, zatímco jejich cytoplazmatické hodnoty zůstaly stejné. Za možnou příčinu tohoto snížení byla označena snížená produkce H₂O₂ v mitochondriích. Nicméně hodnoty CAT aktivity byly v mitochondriích i cytoplazmě výrazně zvýšené. Nečekaným výsledkem bylo zvýšení výskytu bílkovinných karbonylů v cytoplazmě i přes normální aktivity MnSOD, GTPx a zvýšené aktivity CAT. Tato skutečnost nebyla vysvětlena, nicméně ukazuje na potenciální negativní účinky KR u mladých jedinců (Judge *et al.*, 2019).

V poslední době je věnována pozornost zejména regulaci diabetických kardiomyopatií pomocí KR. Primárními příčinami, které vedou k poškození srdce u pacientů trpících cukrovkou 2. typu, jsou hyperinzulinémie a inzulinová rezistence, hyperglykémie a zvýšená hladina volných mastných kyselin, vedoucí k lipotoxicitě (L. Zhang *et al.*, 2010). Sekundárními škodlivými faktory jsou oxidační stres, poruchy mitochondriálního metabolismu a chronický zánět (Zhang *et al.*, 2011). Cukrovka 2. typu je zároveň často doprovázena hypertenzí, způsobenou nadměrnou signalizací AngII (Mazzolai *et al.*, 1998). Waldman *et al.* (2018) vytvořili myší kardiomyopatický model stresováním diabetických zvířat pomocí AngII. Na tomto modelu ukázali zmenšení srdeční hypertrofie a sníženou hladinu markerů zánětu u myší s KR oproti *ad libitum* zvířatům. Zároveň ukázali, že KR ovlivňuje srdeční remodeling pomocí mechanismů asociovaných s mitochondriálním metabolismem a antioxidantním systémem, jejichž mediátory jsou SIRT1 a PGC1 α .

Stejná skupina později ukázala, že HMOX1 je klíčový faktor ve vzniku kardioprotekce pomocí KR. Diabetická zvířata měla nízké hladiny HMOX1 a zvýšené hladiny malondialdehydu (MDA, marker oxidačního stresu). KR zmenšila hypertrofii levého srdce, zvýšila hladiny HMOX1 a snížila hladiny MDA. Inhibice HMOX1 měla za následek nejen zpětné zhoršení patologií, ale i snížení hladin SIRT1 a PGC1 α . Inhibice SIRT1 měla podobný efekt, kdy došlo ke snížení hladin HMOX1 a PGC1 α . Indukce HMOX1 aktivity vedla ke zvýšení hladin SIRT1, PGC1 α a ke snížení produkce ROS. Tyto výsledky potvrzují spolupráci mezi SIRT1, PGC1 α a HMOX1, a implikují možnou pozitivní zpětnou vazbu mezi SIRT1 a HMOX1 (Waldman *et al.*, 2019).

3.5 Chladová adaptace

Adaptace na chladné prostředí má dlouhou historii, pravděpodobně sahá až do chvíle, kdy první lidé opustili africký kontinent a začali osidlovat území dál od rovníku. Tehdy byla ovšem adaptace na chlad otázkou přežití. Dnes jsou koupele v ledové vodě a celotělová kryoterapie široce používány ve sportu jako podpora regenerace a zotavení organismu, nebo jako rekreační aktivity. Plavání v ledové vodě je považováno za levný, široce dostupný a přírodní způsob zvýšení odolnosti organismu vůči nepříznivým podmínkám. Nicméně stres působící na lidské tělo při pobytu v ledové vodě či vzduchu může mít nevratné negativní následky. Proto je potřeba „dávky“ chladu vhodně regulovat a navyšovat pozvolna (pro přehled, Sosnowski *et al.*, 2015).

Rozeznáváme tři typy fyziologické adaptace na chlad. 1) Metabolická adaptace vyznačující se zrychleným metabolismem a zvýšenou termogenezí, vyšší teplotou kůže, ale normální rektální teplotou. Tato adaptace byla pozorována u Inuitů žijících za polárním kruhem a u bělochů v laboratorních podmínkách (Hart *et al.*, 1962; Adams & Heberling, 1958). 2) Hypotermická adaptace, která umožňuje jedinci dosáhnout nižší vnitřní teploty před aktivací ochranných mechanismů. Byla pozorována během noci u Křováků žijících na poušti Kalahari a u jedinců adaptovaných v laboratorních podmínkách. Její vznik je spojován s nízkým energetickým příjmem (Hammel *et al.*, 1963; Bruck *et al.*, 1976). 3) Izolační adaptace vyznačující se nižší teplotou kůže, ale normální rektální teplotou. Byla pozorována u Australců během sezónního snížení teploty a u lidí adaptovaných častým potápěním v chladné vodě (Hammel *et al.*, 1959; Skreslet & Aarefjord, 1968). Pravděpodobné hlavní faktory rozhodující o tom, který typ adaptace se vytvoří jsou a) intenzita chladu a b) individuální konstituce jednotlivce. a) Young (2011) postulují, že izolační adaptace vzniká, pokud zvýšení metabolismu není schopné vykompenzovat snížení vnitřní teploty chladem, kdežto metabolická adaptace vzniká, pokud je tělo schopné snížení vnitřní teploty vyrovnat. b) Jedinci s větším objemem tuku mají sklony k rozvoji izolační adaptace, zatímco fyzicky zdatnější jedinci s malým objemem tuku mají sklony k rozvoji metabolické adaptace (Bittel, 1987). Rozdíly mohou samozřejmě vznikat i odlišnými průběhy experimentů a protokoly adaptace.

3.5.1 Adaptace na chlad a kardioprotekce

O kardioprotektivním účinku chladové adaptace se pravděpodobně uvažovalo již dříve, ale používané modely na potkanech adaptovaných individuálně v teplotách 0-4 °C ukázaly mnoho negativních účinků (Fregly *et al.*, 1989). Nedávno naše pracoviště prokázalo snížení velikosti IM po 5 týdnech adaptace (8 °C) a 2 týdnech regrese (26 °C) u řádně podestlaných potkanů chovaných ve dvojicích. u takových zvířat došlo po 20 min ischemie a 3 h reperfúze ke zmenšení IM o 51 % oproti kontrolám (Tibenská *et al.*, 2018). Nedávná práce Tsibulnikov *et al.* (2019) ukazuje podobné výsledky. u potkanů adaptovaných při 4 °C po dobu 4 týdnů došlo po 45 min ischemie a 2 h reperfúze ke zmenšení IM o 33 % oproti kontrolám. Zároveň ukazuje, že chladová adaptace neměla žádný vliv na incidenci komorových arytmií vznikajících během ischemie/reperfúze.

3.5.2 Úloha antioxidačního systému

Množství studií zaznamenalo zvýšení regulace jednoho nebo více antioxidačních enzymů. Často ale došly k protichůdným výsledkům, a tak neexistuje jednoznačný konsenzus ohledně úlohy antioxidačního systému v chladové adaptaci. Lesná *et al.* (2015) pozorovali změny antioxidačního systému mezi zimními plavci a neadaptovanými kontrolami. u zimních plavců zaznamenali oproti kontrolám sníženou hladinu konjugovaných dienů jakožto markerů lipidové peroxidace a zvýšenou hladinu sérové paraoxonázy/arylesterázy 1 (PON1). PON1 chrání nízkodenzitní lipoprotein (LDL) proti peroxidaci a jeho zvýšená hladina společně se sníženou hladinou konjugovaných dienů vypovídá o zlepšené ochraně proti ateroskleróze.

Marvanová (2015) sledovala hladiny antioxidantů a jejich transkripčních faktorů u potkanů adaptovaných v chladu (5 týdnů, 10 °C), u adaptovaných potkanů s následnou regresí (5 týdnů, 10°C a 2 týdny, 25 °C) a srovnávala je s kontrolami. Hodnoty CAT, CuSOD, MnSOD, TrxR2, GTPx, HMOX1, HMOX2, ACO1 se nezměnily. Hladina TrxR1 u adaptovaných se ve srovnání s kontrolou nezměnila, u regresní skupiny však došlo k 16% poklesu proti kontrole. Hladina Prx6 se u adaptovaných snížila o 21 % proti kontrole a po regresí klesla o celých 31 % proti kontrole. Množství jaderného respiračního faktoru (NRF2) se mezi adaptovanými a kontrolou nezměnilo, u regresí však pokleslo o 35 % proti kontrole. Téměř jistě dochází k nějaké formě zapojení antioxidačního systému, jakým způsobem však není zatím zcela jasné.

ZÁVĚR

Ukazuje se, že téměř jakýkoliv stresový potenciálně škodlivý podnět, aplikován v kontrolovaném množství, může teoreticky vyvolat adaptivní reakci organismu. Adolf (1956) definuje adaptaci organismu takto: “Adaptace jsou modifikace organismu, ke kterým dochází v určitých prostředích a za určitých okolností...neomezují se však na modifikace zdající se být pro jednotlivce výhodné.“ Kardioprotektivní adaptace bohužel více či méně zapadají do této definice. Kromě jednoznačných pozitivních přínosů pro kardiovaskulární systém mohou vést k rozvoji patofyziologie a výsledně znevýhodnit celý systém. To je nutné mít na paměti a podobně jako při jakémkoliv jiném výzkumu se dívat na celou věc s odstupem.

Úloha antioxidantního systému v kardioprotektivních modelech byla v minulosti často opomíjena a až postupem času a ve světle nových důkazů mu začala být věnována větší pozornost. Většina kardioprotektivních modelů vykazuje větší či menší stimulaci antioxidantního systému. Málokdy má však jinou úlohu než zbavování se přebytečných ROS.

Antioxidantní systém pravděpodobně vůbec nefiguruje v kardioprotekci navozené akutním preconditioningem srdce. Ke stimulaci během kalorické restriktce dochází spíše okrajově. Na druhou stranu kardioprotekce vyvolaná zvýšením fyzické aktivity a hypoxie se zdají být úzce spjaty s aktivitou antioxidantního systému.

O chladové adaptaci a jejích molekulárních mechanismech indukce kardioprotekce se mnoho neví. Vhodný režim chladové adaptace se zdá být ideálním kandidátem pro budoucí výzkum kardioprotekce a profylaxe kardiovaskulárních onemocnění. Do budoucna bude tedy důležité zodpovědět několik stěžejních otázek. 1) Jakým způsobem navozuje adaptace na chlad kardioprotekci? 2) Přináší s sebou signifikantní vedlejší účinky? 3) Je možné ji kombinovat s jinými kardioprotektivními protokoly? 4) Je možné tyto poznatky přenést do klinické praxe?

Seznam literatury

Primární zdroje:

- Adams, T., & Heberling, E. J. (1958). Human Physiological Responses to a Standardized Cold Stress as Modified by Physical Fitness. *Journal of Applied Physiology*, 13(2), 226–230.
- Ago, T., Kuroda, J., Pain, J., Fu, C., Li, H., & Sadoshima, J. (2010). Upregulation of Nox4 by hypertrophic stimuli promotes apoptosis and mitochondrial dysfunction in cardiac myocytes. *Circulation Research*, 106(7), 1253–1264.
- *Arevalo, J., & Vázquez-Medina, J. (2018). The Role of Peroxiredoxin 6 in Cell Signaling. *Antioxidants*, 7(12), 172.
- Baines, C. P., Goto, M., & Downey, J. M. (1997). Oxygen radicals released during ischemic preconditioning contribute to cardioprotection in the rabbit myocardium. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 29(1), 207–216.
- Bittel, J. H. (1987). Heat debt as an index for cold adaptation in men. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 62(4), 1627–1634.
- Björnstedt, M., Hamberg, M., Kumar, S., Xue, J., & Holmgren, A. (1995). Human Thioredoxin Reductase Directly Reduces Lipid Hydroperoxides by NAD(P)H and Selenocystine Strongly Stimulates the Reaction via Catalytically Generated Selenols. *Journal of Biological Chemistry*, 270(20), 11761–11764.
- Bonello, S., Zähringer, C., BelAiba, R. S., Djordjevic, T., Hess, J., Michiels, C., ... Görlach, A. (2007). Reactive oxygen species activate the HIF-1 α promoter via a functional NF κ B site. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 27(4), 755–761.
- Borgstahl, G. E. O., Parge, H. E., Hickey, M. J., Johnson, M. J., Boissinot, M., Hallewell, R. A., ... Tainer, J. A. (1996). Human Mitochondrial Manganese Superoxide Dismutase Polymorphic Variant Ile58Thr Reduces Activity by Destabilizing the Tetrameric Interface. *Biochemistry*, 35(14), 4287–4297.

- Brown, D. A., Jew, K. N., Sparagna, G. C., Musch, T. I., & Moore, R. L. (2003). Exercise training preserves coronary flow and reduces infarct size after ischemia-reperfusion in rat heart. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, *95*(6), 2510–2518.
- Bruck, K., Baum, E., & Schwennicke, H. P. (1976). Cold-adaptive modifications in man induced by repeated short-term cold-exposures and during a 10-day and-night cold-exposure. *Pflugers Archiv : European Journal of Physiology*, *363*(2), 125–133.
- *Butterfield, L. H., Merino, A., Golub, S. H., & Shau, H. (1999). From cytoprotection to tumor suppression: the multifactorial role of peroxiredoxins. *Antioxidants & Redox Signaling*, *1*(4), 385–402.
- Cai, Z., Manalo, D. J., Wei, G., Rodriguez, E. R., Fox-Talbot, K., Lu, H., ... Semenza, G. L. (2003). Hearts from rodents exposed to intermittent hypoxia or erythropoietin are protected against ischemia-reperfusion injury. *Circulation*, *108*(1), 79–85.
- Cao, X., Antonyuk, S. V, Seetharaman, S. V, Whitson, L. J., Taylor, A. B., Holloway, S. P., ... Hart, P. J. (2008). Structures of the G85R variant of SOD1 in familial amyotrophic lateral sclerosis. *The Journal of Biological Chemistry*, *283*(23), 16169–16177.
- Chandel, N. S., Maltepe, E., Goldwasser, E., Mathieu, C. E., Simon, M. C., & Schumacker, P. T. (1998). Mitochondrial reactive oxygen species trigger hypoxia-induced transcription. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *95*(20), 11715–11720.
- Colom, B., Oliver, J., Roca, P., & Garcia-Palmer, F. J. (2007). Caloric restriction and gender modulate cardiac muscle mitochondrial H₂O₂ production and oxidative damage. *Cardiovascular Research*, *74*(3), 456–465.
- Cornaro, L. (1903). *The Art of Living Long. a New and Improved English Version of the Treatise by the Celebrated Venetian Centenarian Luigi Cornaro.* Butler, William F., Milwaukee.

- Di Mascio, P., Murphy, M. E., & Sies, H. (1991). Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 53(1 Suppl), 194S–200S.
- Ding, H., Zhu, H., Dong, J., Zhu, W., Yang, W., Yang, H., & Zhou, Z. (2005). Inducible nitric oxide synthase contributes to intermittent hypoxia against ischemia/reperfusion injury. *Acta Pharmacologica Sinica*, 26(3), 315–322.
- Downey, J. M., Cohen, M. V, Ytrehus, K., & Liu, Y. (1994). Cellular mechanisms in ischemic preconditioning: the role of adenosine and protein kinase C. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 723, 82–98.
- Ebert, B. L., Firth, J. D., & Ratcliffe, P. J. (1995). Hypoxia and Mitochondrial Inhibitors Regulate Expression of Glucose Transporter-1 via Distinct Cis-acting Sequences, 270(49), 29083–29089.
- Erickson, J. R., Joiner, M. A., Guan, X., Kutschke, W., Yang, J., Oddis, C. V, ... Anderson, M. E. (2008). a dynamic pathway for calcium-independent activation of CaMKII by methionine oxidation. *Cell*, 133(3), 462–474.
- Favreau, L. V, & Pickett, C. B. (1991). Transcriptional Regulation of the Rat NAD(P)H:Quinone Reductase. *Journal of Biological Chemistry*, 266(7), 4556–4561.
- Fenton, H. J. H. (1894). Oxidation of tartaric acid in presence of iron. *Journal of the Chemical Society, Transactions*, 65(0), 899–910.
- Fregly, M. J., Kikta, D. C., Threatte, R. M., Torres, J. L., & Barney, C. C. (1989). Development of hypertension in rats during chronic exposure to cold. *Journal of Applied Physiology*, 66(2), 741–749.
- Friling, R. S., Bensimon, A., Tichauer, Y., & Daniel, V. (1990). Xenobiotic-inducible expression of murine glutathione S-transferase Ya subunit gene is controlled by an electrophile-responsive element. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87(16), 6258–6262.

- Grover, G. J., Newburger, J., Sleph, P. G., Dzwonczyk, S., Taylor, S. C., Ahmed, S. Z., & Atwal, K. S. (1991). Cardioprotective effects of the potassium channel opener cromakalim: stereoselectivity and effects on myocardial adenine nucleotides. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 257(1), 156–162.
- *Halestrap, A. P., Clarke, S. J., & Javadov, S. A. (2004). Mitochondrial permeability transition pore opening during myocardial reperfusion - a target for cardioprotection. *Cardiovascular Research*, 61(3), 372–385.
- Hamilton, K. L., Quindry, J. C., French, J. P., Staib, J., Hughes, J., Mehta, J. L., & Powers, S. K. (2004). MnSOD antisense treatment and exercise-induced protection against arrhythmias. *Free Radical Biology & Medicine*, 37(9), 1360–1368.
- Hammel, H., Elsner, R., Le Messurier, D., Andersen, H., & Milan, F. (1959). Thermal and metabolic responses of the Australian aborigine exposed to moderate cold in summer. *Journal of Applied Physiology*, 14(4), 605–615.
- Hart, J. S., Sabeen, H. B., Hildes, J. A., Depocas, F., Hammel, H. T., Andersen, K. L., ... Foy, G. (1962). Thermal and metabolic responses of coastal Eskimos during a cold night. *Journal of Applied Physiology*, 17(6), 953–960.
- Hoshida, S., Kuzuya, T., Fuji, H., Yamashita, N., Oe, H., Hori, M., ... Tada, M. (1993). *Sublethal ischemia alters myocardial antioxidant activity in canine heart. The American journal of physiology* (Vol. 264).
- Hurtado, A. (1960). Some clinical aspects of life at high altitudes. *Annals of Internal Medicine*, 53, 247–258v.
- Ide, T., Tsutsui, H., Kinugawa, S., Utsumi, H., Kang, D., Hattori, N., ... Takeshita, A. (1999). Mitochondrial electron transport complex i is a potential source of oxygen free radicals in the failing myocardium. *Circulation Research*, 85(4), 357–363.

- Itoh, K., Chiba, T., Takahashi, S., Ishii, T., Igarashi, K., Katoh, Y., ... Nabeshima, Y. ichi. (1997). An Nrf2/small Maf heterodimer mediates the induction of phase II detoxifying enzyme genes through antioxidant response elements. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 236(2), 313–322.
- Iyama, T., Takasuga, A., & Azuma, M. (1996). beta-Carotene accumulation in mouse tissues and a protective role against lipid peroxidation. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research. Internationale Zeitschrift Fur Vitamin- Und Ernährungsforschung. Journal International de Vitaminologie et de Nutrition*, 66(4), 301–305.
- *Jennings, R. (2002). The Cell Biology Of Acute Myocardial Ischemia. *Annual Review of Medicine*, 42(1), 225–246.
- Judge, S., Judge, A., Grune, T., & Leeuwenburgh, C. (2019). Oxidative Stress Short-term CR decreases cardiac mitochondrial oxidant production but increases carbonyl content, *32611*, 254–259.
- Jung, F., Palmer, L. A., Zhou, N., & Johns, R. A. (2000). Hypoxic regulation of inducible nitric oxide synthase via hypoxia inducible factor-1 in cardiac myocytes. *Circulation Research*, 86(3), 319–325.
- Kašparová, D., Neckár, J., Dabrowska, L., Novotný, J., Mráz, J., Kolář, F., & Žurmanová, J. (2015). Cardioprotective and nonprotective regimens of chronic hypoxia diversely affect the myocardial antioxidant systems. *Physiological Genomics*, 47(12), 612–620.
- Knoops, B., Clippe, A., Bogard, C., Arsalane, K., Wattiez, R., Hermans, C., ... Bernard, A. (1999). Cloning and characterization of AOEB166, a novel mammalian antioxidant enzyme of the peroxiredoxin family. *The Journal of Biological Chemistry*, 274(43), 30451–30458.
- Kono, M., Saigo, K., Matsuihroya, S., Takahashi, T., Hashimoto, M., Obuchi, A., ... Kawano, S. (2018). Detection of activated neutrophils by reactive oxygen species production using a hematology analyzer. *Journal of Immunological Methods*, 463, 122–126.

- Kopecký, M., & Daum, S. (1958). Adaptation of the rat myocardium to altitude anoxia. *Ceskoslovenska fysiologie*, 7(3), 218–219.
- Kuppusamy, P., & Zweier, J. L. (1989). Characterization of free radical generation by xanthine oxidase. Evidence for hydroxyl radical generation. *The Journal of Biological Chemistry*, 264(17), 9880–9884.
- Kuzuya, T., Hoshida, S., Yamashita, N., Fuji, H., Oe, H., Hori, M., ... Tada, M. (1993). Delayed effects of sublethal ischemia on the acquisition of tolerance to ischemia. *Circulation Research*, 72(6), 1293–1299.
- Lambiase, P. D., Edwards, R. J., Cusack, M. R., Bucknall, C. A., Redwood, S. R., & Marber, M. S. (2003). Exercise-induced ischemia initiates the second window of protection in humans independent of collateral recruitment. *Journal of the American College of Cardiology*, 41(7), 1174–1182.
- Leaver, M. J., & George, S. G. (1998). A piscine glutathione S-transferase which efficiently conjugates the end-products of lipid peroxidation. *Marine Environmental Research*, 46(1), 71–74.
- Lee, Y., Min, K., Talbert, E. E., Kavazis, A. N., Smuder, A. J., Willis, W. T., & Powers, S. K. (2012). Exercise protects cardiac mitochondria against ischemia-reperfusion injury. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 44(3), 397–405.
- Lennon, S. L., Quindry, J. C., Hamilton, K. L., French, J. P., Hughes, J., Mehta, J. L., & Powers, S. K. (2004). Elevated MnSOD is not required for exercise-induced cardioprotection against myocardial stunning. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 287(2), H975-80.
- Leon, D. A. (2011). Trends in European life expectancy: a salutary view. *International Journal of Epidemiology*, 40(2), 271-277.

- Lesná Králová, I., Rychlíková, J., Vávrová, L., & Vybíral, S. (2015). Could human cold adaptation decrease the risk of cardiovascular disease? *Journal of Thermal Biology*, *52*, 192–198.
- *Maejima, Y., Kuroda, J., Matsushima, S., Ago, T., & Sadoshima, J. (2011). Regulation of myocardial growth and death by NAD(P)H oxidase. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, *50*(3), 408–416.
- Marvanová, A. (2015). Genová exprese vybraných genů v srdci potkana dlouhodobě adaptovaného na chlad v mírných podmínkách. *Diplomová Práce*, 13–91.
- Maulik, N., Engelman, R. M., Wei, Z., Lu, D., Rousou, J. A., & Das, D. K. (1993). Interleukin-1 alpha preconditioning reduces myocardial ischemia reperfusion injury. *Circulation*, *88*(5 Pt 2), II387—94.
- Mazzolai, L., Nussberger, J., Aubert, J. F., Brunner, D. B., Gabbiani, G., Brunner, H. R., & Pedrazzini, T. (1998). Blood pressure-independent cardiac hypertrophy induced by locally activated renin-angiotensin system. *Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)*, *31*(6),
- McCay, C. M., Maynard, L. A., & Crowell, M. F. (1935). The Effect of Retarded Growth Upon the Length of Life Span and Upon the Ultimate Body Size: One Figure. *The Journal of Nutrition*, *10*(1), 63–79.
- McMahon, M., Itoh, K., Yamamoto, M., Chanas, S. A., Henderson, C. J., McLellan, L. I., ... Hayes, J. D. (2001). The Cap 'n' Collar Basic Leucine Zipper Transcription Factor Nrf2 (NF-E2 p45-related Factor 2) Controls Both Constitutive and Inducible Expression of Intestinal Detoxification and Glutathione Biosynthetic Enzymes. *Cancer Research*, *61*(8), 3299 LP-3307.
- Milerová, M., Drahotka, Z., Chytilová, A., Tauchmannová, K., Houstek, J., & Ošťádal, B. (2016). Sex difference in the sensitivity of cardiac mitochondrial permeability transition pore to calcium load. *Molecular and Cellular Biochemistry*, *412*(1–2), 147–154.

- Morris, J. N., & Crawford, M. D. (1958). Coronary heart disease and physical activity of work; evidence of a national necropsy survey. *British Medical Journal*, 2(5111), 1485–1496.
- Murry, C. E., Jennings, R. B., & Reimer, K. A. (1986). Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*, 74(5), 1124–1136.
- Neckár, J., Borchert, G. H., Hlousková, P., Mícová, P., Nováková, O., Novák, F., ... Kolář, F. (2013). Brief daily episode of normoxia inhibits cardioprotection conferred by chronic continuous hypoxia. Role of oxidative stress and BKCa channels. *Current Pharmaceutical Design*, 19(39), 6880–6889.
- Nguyen, T., Sherratt, P. J., Nioi, P., Yang, C. S., & Pickett, C. B. (2005). Nrf2 controls constitutive and inducible expression of ARE-driven genes through a dynamic pathway involving nucleocytoplasmic shuttling by Keap1. *Journal of Biological Chemistry*, 280(37), 32485–32492.
- Ošťádal B., Procházka, J., Pelouch, V., Urbanová, D., & Widimsky, J. (1984). Comparison of cardiopulmonary responses of male and female rats to intermittent high altitude hypoxia. *Physiologia Bohemoslovaca*, 33(2), 129–138.
- *Padayatty, S. J., Katz, A., Wang, Y., Eck, P., Kwon, O., Lee, J.-H., ... Levine, M. (2003). Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *Journal of the American College of Nutrition*, 22(1), 18–35.
- Pescatello, L. S., Fargo, A. E., Leach, C. N. J., & Scherzer, H. H. (1991). Short-term effect of dynamic exercise on arterial blood pressure. *Circulation*, 83(5), 1557–1561.
- Purdue, P. E., & Lazarow, P. B. (1996). Targeting of human catalase to peroxisomes is dependent upon a novel COOH-terminal peroxisomal targeting sequence. *The Journal of Cell Biology*, 134(4), 849–862.

- Qin, F., Patel, R., Yan, C., & Liu, W. (2006). NAD(P)H oxidase is involved in angiotensin II-induced apoptosis in H9C2 cardiac muscle cells: effects of apocynin. *Free Radical Biology & Medicine*, *40*(2), 236–246.
- Qiu, X., Brown, K., Hirschey, M. D., Verdin, E., & Chen, D. (2010). Calorie restriction reduces oxidative stress by SIRT3-mediated SOD2 activation. *Cell Metabolism*, *12*(6), 662–667.
- Raha, S., McEachern, G. E., Myint, A. T., & Robinson, B. H. (2000). Superoxides from mitochondrial complex III: the role of manganese superoxide dismutase. *Free Radical Biology & Medicine*, *29*(2), 170–180.
- Rizvi, A., Tang, X., Qiu, Y., Xuan, Y., Takano, H., Jadoon, A. K., & Bolli, R. (2017). Increased protein synthesis is necessary for the development of late preconditioning against myocardial stunning. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, *277*(3), H874–H884.
- Rosemeyer, M. A. (1987). The biochemistry of glucose-6-phosphate dehydrogenase, 6-phosphogluconate dehydrogenase and glutathione reductase. *Cell Biochemistry and Function*, *5*(2), 79–95.
- Ruiz-Gines, J. A., Lopez-Ongil, S., Gonzalez-Rubio, M., Gonzalez-Santiago, L., Rodriguez-Puyol, M., & Rodriguez-Puyol, D. (2000). Reactive oxygen species induce proliferation of bovine aortic endothelial cells. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, *35*(1), 109–113.
- Rushmore, T. H., King, R. G., Paulson, K. E., & Pickett, C. B. (2006). Regulation of glutathione S-transferase Ya subunit gene expression: identification of a unique xenobiotic-responsive element controlling inducible expression by planar aromatic compounds. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *87*(10), 3826–3830.

- Sanchez-Elsner, T., Botella, L. M., Velasco, B., Corbi, A., Attisano, L., & Bernabeu, C. (2001). Synergistic cooperation between hypoxia and transforming growth factor-beta pathways on human vascular endothelial growth factor gene expression. *The Journal of Biological Chemistry*, 276(42), 38527–38535.
- *Schafer, F. Q., & Buettner, G. R. (2001). Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free Radical Biology & Medicine*, 30(11), 1191–1212.
- Shinmura, K., Tamaki, K., Sano, M., Nakashima-Kamimura, N., Wolf, A. M., Amo, T., ... Adachi, T. (2011). Caloric restriction primes mitochondria for ischemic stress by deacetylating specific mitochondrial proteins of the electron transport chain. *Circulation Research*, 109(4), 396–406.
- Skreslet, S., & Aarefjord, F. (1968). Acclimatization to cold in man induced by frequent scuba diving in cold water. *Journal of Applied Physiology*, 24(2), 177–181.
- *Soare, A., Weiss, E. P., & Pozzilli, P. (2014). Benefits of caloric restriction for cardiometabolic health, including type 2 diabetes mellitus risk. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 30(S1), 41–47.
- Someya, S., Yu, W., Hallows, W. C., Xu, J., Vann, J. M., Leeuwenburgh, C., ... Prolla, T. A. (2010). Sirt3 mediates reduction of oxidative damage and prevention of age-related hearing loss under caloric restriction. *Cell*, 143(5), 802–812.
- *Sosnowski, P., Mikrut, K., & Krauss, H. (2015). Hypothermia--mechanism of action and pathophysiological changes in the human body. *Postepy higieny i medycyny doswiadczalnej (Online)*, 69, 69–79.
- Strom, A., & Jensen, R. A. (1951). Mortality from circulatory diseases in Norway 1940-1945. *Lancet (London, England)*, 1(6647), 126–129.

- T. Hammel, H., A. Hildes, J., C. Jackson, D., & T. Andersen, H. (1963). *Thermal and metabolic responses of the Kalahari bushmen to moderate cold exposure at night.*
- Tang, X. L., Qiu, Y., Turrens, J. F., & Bolli, R. (2000). Ischemic preconditioning does not upregulate antioxidant enzymes in conscious rabbits. *J Mol Cell Cardiol*, 32, A54.
- Tang, X. L., Qiu, Y., Turrens, J. F., Sun, J. Z., & Bolli, R. (1997). Late preconditioning against stunning is not mediated by increased antioxidant defenses in conscious pigs. *The American Journal of Physiology*, 273(4 Pt 2), H1651-7.
- Tanno, M., Kuno, A., Yano, T., Miura, T., Hisahara, S., Ishikawa, S., ... Horio, Y. (2010). Induction of manganese superoxide dismutase by nuclear translocation and activation of SIRT1 promotes cell survival in chronic heart failure. *The Journal of Biological Chemistry*, 285(11), 8375–8382.
- Tibenská, V., Benešová, A., Kolář, D., Pospíšilová, B., Hejnová, L., Elsnicová, B., ... Žurmanová, J. M. (2018). Cold acclimation may serve as a novel cardioprotective intervention. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 120, 23.
- Tomai, F., Perino, M., Ghini, A. S., Crea, F., Gaspardone, A., Versaci, F., ... Gioffre, P. A. (1999). Exercise-induced myocardial ischemia triggers the early phase of preconditioning but not the late phase. *The American Journal of Cardiology*, 83(4), 586–588, A7-8.
- Tsibulnikov, S. Y., Maslov, L. N., Naryzhnaya, N. V, Ivanov, V. V, Bushov, Y. V, Voronkov, N. S., ... Oeltgen, P. R. (2019). Impact of cold adaptation on cardiac tolerance to ischemia/reperfusion and glucocorticoid, thyroid hormone levels. *General Physiology and Biophysics*, 38(3), 245–251.
- Venugopal, R., & Jaiswal, A. K. (1996). Nrf1 and Nrf2 positively and c-Fos and Fra1 negatively regulate the human antioxidant response element-mediated expression of NAD(P)H:quinone oxidoreductase1 gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(25), 14960 LP-14965.

- Waldman, M., Cohen, K., Yadin, D., Nudelman, V., Gorfil, D., Laniado-Schwartzman, M., ... Hochhauser, E. (2018). Regulation of diabetic cardiomyopathy by caloric restriction is mediated by intracellular signaling pathways involving "SIRT1 and PGC-1 α ." *Cardiovascular Diabetology*, 17(1), 1–12.
- Waldman, M., Nudelman, V., Shainberg, A., Zemel, R., Kornwoski, R., Aravot, D., ... Hochhauser, E. (2019). The role of heme oxygenase 1 in the protective effect of caloric restriction against diabetic cardiomyopathy. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(10).
- Wang, G. L., Jiang, B., Rue, E. A., & Semenza, G. L. (1995). Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension, 92(6), 5510–5514.
- Wang, G. L., & Semenza, G. L. (1996). Molecular basis of hypoxia-induced erythropoietin expression. *Current Opinion in Hematology*, 3(2), 156–162.
- Wang, L., Cherednichenko, G., Hernandez, L., Halow, J., Camacho, S. A., Figueredo, V., ... Preconditioning, S. S. (2019). Preconditioning limits mitochondrial Ca²⁺ during ischemia in rat hearts : role of K⁺ ATP channels, 95616, 2321–2328.
- Widimsky, J., Urbanová, D., Ressler, J., Ošřádal, B., Pelouch, V., & Procházka, J. (1973). Effect of intermittent altitude hypoxia on the myocardium and lesser circulation in the rat. *Cardiovascular Research*, 7(6), 798–808.
- Yamashita, N., Hoshida, S., Otsu, K., Asahi, M., Kuzuya, T., & Hori, M. (1999). Exercise provides direct biphasic cardioprotection via manganese superoxide dismutase activation. *The Journal of Experimental Medicine*, 189(11), 1699–1706.
- Young, A. (2011). Homeostatic Responses to Prolonged Cold Exposure: Human Cold Acclimatization.
- Young, A. J., & Lowe, G. M. (2001). Antioxidant and prooxidant properties of carotenoids. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 385(1), 20–27.

- Ytrehus, K., Liu, Y., & Downey, J. M. (1994). Preconditioning protects ischemic rabbit heart by protein kinase C activation. *The American Journal of Physiology*, 266(3 Pt 2), H1145-52.
- Zhang, C., Jin, S., Guo, W., Li, C., Li, X., Rane, M. J., ... Cai, L. (2011). Attenuation of diabetes-induced cardiac inflammation and pathological remodeling by low-dose radiation. *Radiation Research*, 175(3), 307–321.
- Zhang, L., Keung, W., Samokhvalov, V., Wang, W., & Lopaschuk, G. D. (2010). Role of fatty acid uptake and fatty acid beta-oxidation in mediating insulin resistance in heart and skeletal muscle. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1801(1), 1–22.
- Zhang, M., Brewer, A. C., Schroder, K., Santos, C. X. C., Grieve, D. J., Wang, M., ... Shah, A. M. (2010). NAD(P)H oxidase-4 mediates protection against chronic load-induced stress in mouse hearts by enhancing angiogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(42), 18121–18126.
- Zhu, H., Itoh, K., Yamamoto, M., Zweier, J. L., & Li, Y. (2005). Role of Nrf2 signaling in regulation of antioxidants and phase 2 enzymes in cardiac fibroblasts: Protection against reactive oxygen and nitrogen species-induced cell injury. *FEBS Letters*, 579(14), 3029–3036.

Elektronické zdroje:

Cardiovascular disease [online]. World Health Organization, 2017 [cit. 2019-04-30]. Dostupné z: [https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds))