

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



**Diana Hlaváčová**

Vzt'ah medzi renin-angiotenzín-aldosterónovým systémom a srdcom a jeho ovplyvnenie v priebehu 5 °C chladovej aklimatizácie.  
Relationship between the renin-angiotensin-aldosterone system and the heart and its influence during 5 °C cold acclimation.

Bakalárska práca

Školiteľ: RNDr. Daniela Horníková, Ph.D.

Praha, 2020

## **Pod'akovanie**

V prvom rade by som sa chcela veľmi poďakovať mojej školiteľke RNDr. Daniele Horníkovej, Ph.D. za všetok čas a energiu, ktorú venovala tejto práci a za jej cenné rady. Rada by som poďakovala svojmu priateľovi za trpezlivosť a motiváciu a taktiež svojim kamarátom a rodine za podporu pri písaní tejto práce.

## **Prehlásenie**

Prehlasujem, že táto práca je mojím samostatným dielom, ktoré som vypracovala na základe uvedenej literatúry. Súhlasím s použitím práce pre študijné účely. Zároveň prehlasujem, že táto práca nebola použitá k získaniu iného alebo rovnakého akademického titulu.

V Prahe, 4.6.2020

Diana Hlaváčová

## Abstrakt

Srdce ako jeden z najdôležitejších orgánov potrebných k životu, je ovplyvnené mnohými procesmi, ktoré v organizme prebiehajú. I najmenšie zmeny na molekulárnej úrovni dokážu významne ovplyvniť jeho fyziológiu a činnosť. Posledné roky sa mnoho štúdií sústreďujú na objasnenie renín-angiotenzín-aldosterónového systému (RAAS) a jeho vplyvu na srdce a obličky. Kardiovaskulárne ochorenia sú často spôsobené zmenami v tomto systéme, a preto stále viac odborníkov skúma, do akej miery je možné ochoreniam predísť a zlepšiť funkciu srdca. Jedným z faktorov, ktoré na RAAS a srdce vo veľkej miere vplývajú, je aj teplota prostredia. V tejto práci som sa pokúsila zhrnúť aktuálne poznatky o RAAS a jeho vplyve na organizmus, pričom som sa zamerala na ovplyvnenie fyziológie srdca. Nakoľko má teplota prostredia významný vplyv na RAAS a srdce, je v tejto práci poukázané na poznatky prepojené s chladovou aklimatizáciou pri 5 °C.

**Kľúčové slová:** renín-angiotenzín-aldosterónový systém, srdce, chlad, hypertenzia, adrenogerné receptory, natriuretické peptidy

## Abstract

Heart as one of the life-important organs is influenced by many ongoing processes in organism. Even the smallest molecular changes can importantly influence heart's physiology and activity. Last years, there were many studies concentrating on clarification of renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) and its influence on heart and kidneys. Cardiovascular diseases are usually caused by changes in RAAS and that is the reason why more and more experts are examining the extent to which diseases can be prevented and heart function improved. Ambient temperature is one of the factors that greatly affects the RAAS and the heart. In this thesis I tried to summarize current knowledge about RAAS and its effects on organism, focusing on influencing the physiology of the heart. While ambient temperature has significant effect on the RAAS and the heart, this thesis points to the knowledge associated with cold acclimation at 5 °C.

**Key words:** renin-angiotensin-aldosterone system, heart, cold, hypertension, adrenergic receptors, natriuretic peptides

## Zoznam skratiek

<b>AA</b>	Arachidonová kyselina
<b>ACE</b>	Angiotenzín konvertujúci enzým
<b>AngI</b>	Angiotenzín I
<b>AngII</b>	Angiotenzín II
<b>AngIII</b>	Angiotenzín III
<b>AngIV</b>	Angiotenzín III
<b>Ang-(1-5)</b>	Angiotenzín-(1-5)
<b>Ang-(1-7)</b>	Angiotenzín-(1-7)
<b>Ang-(1-9)</b>	Angiotenzín-(1-9)
<b>ANP</b>	Atriálny natriuretický peptid
<b>Aog</b>	Angiotenzinogén
<b>AT1</b>	Receptor angiotenzínu typu 1
<b>AT2</b>	Receptor angiotenzínu typu 2
<b>BAT</b>	Hnedé tukové tkanivo
<b>BNP</b>	Natriuretický peptid typu B
<b>CaM kináza</b>	Proteínkináza závislá od vápnika/calmodulínu
<b>cAMP</b>	Cyklický adenosínmonofosfát
<b>cGMP</b>	Cyklický guanozíntrifosfát
<b>CIH</b>	Chladom indukovaná hypertenzia
<b>CNP</b>	Natriuretický peptid typu C
<b>CNS</b>	Centrálne nervová sústava
<b>DAG</b>	Diacylglycerol
<b>GPCR</b>	Receptor spojený s G-proteínom
<b>GTP</b>	Guanozíntrifosfát
<b>IP<sub>3</sub></b>	Inositoltrifosfát
<b>IRAP</b>	Inzulín-regulovaná aminopeptidáza
<b>K<sup>+</sup></b>	Draselné ióny
<b>M6P</b>	Manóza-6-fosfát
<b>MAP</b>	Mitogénom aktivovaný proteín

<b>MPK1</b>	MAP kináza fosfatáza 1
<b>MR</b>	Mineralokortikoidný receptor
<b>MRA</b>	Antagonisti mineralokortikoidných receptorov
<b>Na<sup>+</sup></b>	Sodné ióny
<b>NEP</b>	Neutrálne endopeptidázy
<b>NP</b>	Natriuretické peptidy
<b>NPR</b>	Receptory natriuretických petidov
<b>PKC</b>	Proteínkináza C
<b>PLA2</b>	Fosfolipáza A2
<b>PEP</b>	Prolyl endopeptidázy
<b>PiP2</b>	Fosfátidylinositolbifosfát
<b>PP-2A</b>	Serín/treonín fosfatáza typu 2A
<b>RAAS</b>	Renín-angiotenzín-aldosterónový systém
<b>SNS</b>	Sympatický nervový systém
<b>UCP1</b>	Nenaviazaný proteín 1

# Obsah

1. Úvod.....	1
2. Ciele práce.....	1
3. Renín-angiotenzín-aldosterónový systém.....	2
3.1. Mechanizmus dráhy.....	2
3.2. Renín.....	4
3.3. Angiotenzinogén.....	5
3.4. Angiotenzín I.....	6
3.5. Angiotenzín - konvertujúci enzým (ACE).....	6
3.6. Angiotenzín II.....	7
3.7. Angiotenzín - konvertujúci enzým 2 (ACE2).....	8
3.8. Angiotenzín III.....	8
3.9. Angiotenzín IV.....	9
3.10. Angiotenzín (1-7).....	9
3.10.1. Vplyv na srdce a cievy.....	9
3.10.2. Vplyv na obličky.....	10
3.10.3. Vplyv na centrálnu nervovú sústavu.....	10
3.11. Aldosterón.....	10
3.11.1. Mineralokortikoidné receptory.....	11
4. Bunečná signalizácia RAAS.....	12
4.1. Receptor AT <sub>1</sub> .....	12
4.1.1. Receptor AT <sub>1</sub> a chlad.....	14
4.2. Receptor AT <sub>2</sub> .....	14
4.3. Receptor AT <sub>4</sub> .....	15
5. RAAS a jeho vplyv na obličky.....	16
6. Srdce a vplyv na jeho fyziológiu.....	17
6.1. RAAS.....	17
6.2. Adrenoreceptory.....	17
6.3. RAAS a adrenergický systém.....	18
6.4. Natriuretické peptidy.....	19
6.4.1. Atriálny natriuretický peptid.....	20
6.4.2. Natriuretický peptid typu B.....	20
6.4.3. Natriuretický peptid typu C.....	21
6.5. Signalizácia natriuretických peptidov.....	21

7.	Vplyv chladu na kardiovaskulárny systém .....	22
7.1.	Adrenoreceptory a chlad.....	23
7.1.1.	Hnedé tukové tkanivo .....	23
7.2.	Natriuretické peptidy a chlad.....	24
8.	Fyziologické zmeny kardiovaskulárneho systému ovplyvnené mechanizmom RAAS za chladových podmienok.....	25
9.	Liečba kardiovaskulárnych problémov spôsobených aktivitou RAAS .....	28
10.	Záver.....	30
11.	Bibliografia.....	31

# 1. Úvod

Napriek tomu, že renín-angiotenzín-aldosterónový systém má za úlohu regulovať niekoľko fyziologických procesov a udržiavať v organizme homeostázu tekutín, za určitých podmienok dokáže spôsobiť niekoľko závažných porúch a chorôb, ktoré sa z väčšej časti týkajú kardiovaskulárneho systému a obličiek. Mnoho štúdií sa zaoberalo vplyvom krátkodobého i dlhodobého vystaveniu chladu na kardiovaskulárny systém a na následne vyvolanú hypertenziu (Chan et al., 2018).

Chronická aktivácia RAAS podporuje a udržiava syndrómy kongestívneho zlyhania srdca, systémovej hypertenzie a chronického ochorenia obličiek. Dráha RAAS spôsobuje uvoľňovanie a cirkuláciu tkanivového angiotenzínu II a aldosterónu, ktoré v nadmernom množstve v organizme spôsobujú dysfunkciu v kardiovaskulárnych a obličkových tkanivách (Ames et al., 2019). Arteriálna hypertenzia, ktorá taktiež môže byť spôsobená funkciou RAAS, je jedným z najčastejších rizikových faktorov pre koronárne a mozgovo-cievne ochorenia, medzi ktoré patria rôzne srdcové choroby a mŕtvica (Milliez et al., 2005).

Otázkou je, ako veľmi RAAS dráha ovplyvňuje srdce hlodavcov a v akej miere sa na tom podieľa chladová aklimatizácia.

## 2. Ciele práce

Cieľom tejto bakalárskej práce je priblížiť mechanizmus dráhy RAAS a poukázať na prepojenie tejto dráhy a jej vplyv na srdce hlodavcov vystavených chladovým podmienkam pohybujúcim sa okolo 5 °C. Táto práca by mala zhrnúť doposiaľ nadobudnuté vyskúmané poznatky o vplyve RAAS na kardiovaskulárny systém a zmeny v dráhe pri chladovej aklimatizácii.



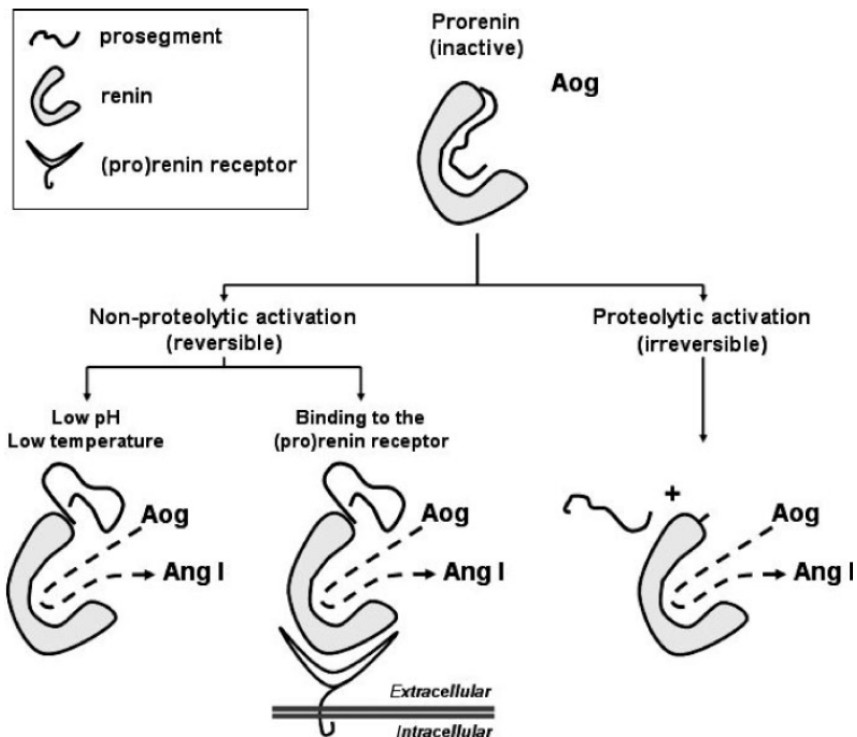
### 3. Renín-angiotenzín-aldosterónový systém

Renín-angiotenzín-aldosterónový systém (RAAS) ako jeden z najdôležitejších hormonálnych systémov zastáva kľúčovú úlohu v regulácii objemu extra-celulárnych tekutín a v arteriálnej vazokonstrikcii. Je jedným z regulátorov krvného tlaku a kardiovaskulárnych funkcií pomocou enzýmovej katalýzy. RAAS dráha je aktivovaná v prípade, že dôjde k zníženiu prietoku krvi v obličkách alebo sa zmení hladina sodných iónov ( $\text{Na}^+$ ) v krvi. Renín sa začne automaticky produkovať v stenách aferentných arteriol juxtaglomerulárnych buniek obličiek, a následne sa uvoľňovať do krvného obehu (Davis O. & Freeman H., 1976).

Najväčší vplyv na organizmus v rámci RAAS má angiotenzín II (AngII), ktorý má priamy účinok na bunecnej úrovni. AngII spôsobuje najmä vazokonstrikciu a aktivuje sekréciu aldosterónu. Spolu s aldosterónom ovplyvňujú niekoľko orgánov a vyvolávajú v tele fyziologické zmeny, ktoré budú priblížené v ďalších kapitolách. Prítomnosť RAAS bola najnovšie preukázaná nie len v orgánoch ako sú srdce, obličky, veľké tepny a arterioly, ale aj v ďalších orgánoch ako sú mozog či semenníky, u ktorých aktiváciou RAAS nastávajú funkčné a štrukturálne zmeny (Bader & Ganten, 2008).

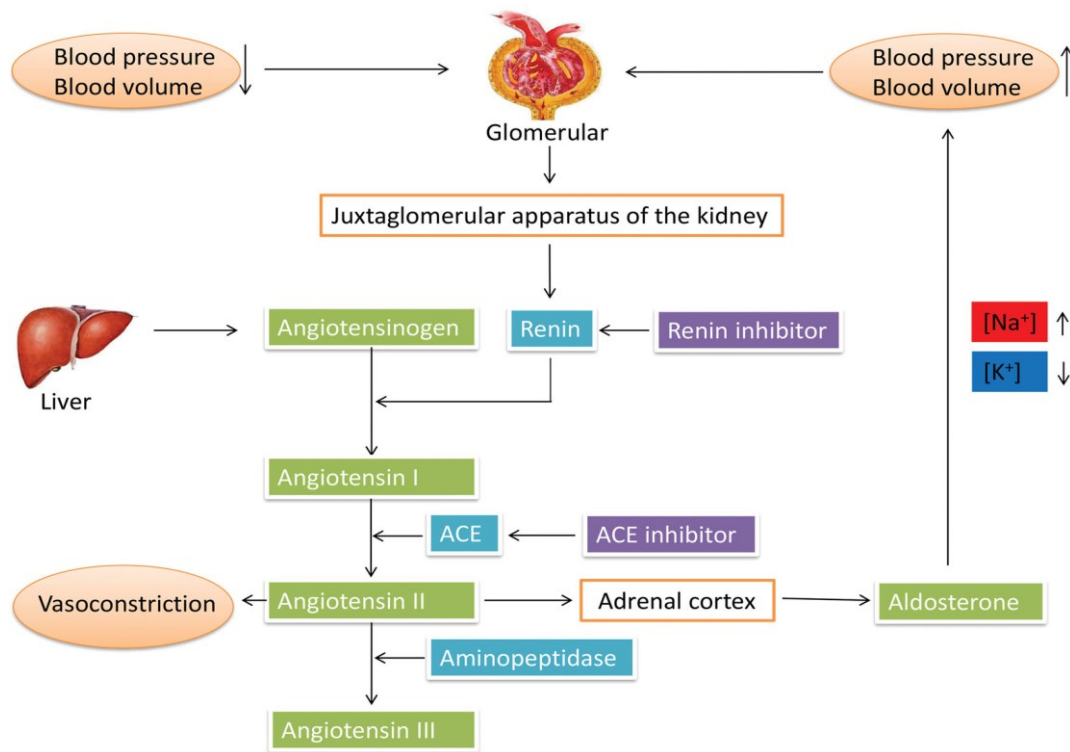
#### 3.1. Mechanizmus dráhy

V bunkách juxtaglomerulárneho epitelu sa renín začína syntetizovať ako prorenín. Prorenín je v tele bežne prítomným proteínom. K jeho aktivácii dochádza pomocou proteolytických a neproteolytických mechanizmov juxtaglomerulárnych buniek. Rovnako ako renín môže byť aj prorenín viazaný na renínový receptor. Prorenín bol mnoho rokov považovaný len za neaktívny prekursor renínu bez akejkoľvek vlastnej funkcie. Bolo však preukázané, že prorenín taktiež prispieva k tvorbe AngI v obličkách (Obr. 1). Pri chronickej stimulácii RAAS väčšinou dochádza k zvýšeniu premeny renálneho prorenínu na renín, čím je množstvo prorenínu v obehu znížené. Renín je teda na počiatku tejto dráhy syntetizovaný v obličkách a vo svojej neaktívnej forme renínových granúl sa uvoľňuje do obehu. Uvoľňovanie renínu nastáva ako odpoveď na nízku hladinu intratubulárnych  $\text{Na}^+$ , hypotenziu v aferentných arteriolách glomerulu obličiek, a taktiež vzhľadom na aktiváciu sympatiku v mozgu. Renínové granule sa uvoľňujú kontrolovaným spôsobom, čo spôsobuje jednu z limitácií rýchlosti RAAS dráhy (Jan Danser et al., 2007; Tobian et al., 1959).



Obrázok 1 Proteolytická a neproteolytická aktivácia prorenín. Prevzaté z (Jan Danser et al., 2007).

Aktívny renín je teda v tejto dráhe zodpovedný za hydrolyzáciu krvného globulínu angiotenzinogénu (Aog) uvoľňujúceho sa z pečene, čím dochádza k vzniku neaktívneho deka-peptidu angiotenzín I (AngI) (Page & Helmer, 1940). AngI je ďalej aktivovaný štiepením angiotenzín-konvertujúcim enzýmom (ACE), ktorý hrá hlavnú úlohu v kardiovaskulárnej homeostáze. ACE štiepi konkrétne C-koniec AngI, čím dáva vznik hlavnému vazokonstriktoru AngII, ktorý sa vo vysokých koncentráciách vyskytuje na povrchu endoteliálnych buniek pľúcneho obehu (Tipnis et al., 2000). AngII ďalej pôsobí na špecifické receptory, čím sa navodí vazokonstrikcia v hladkých svalových bunkách ciev a taktiež stimulácia uvoľňovania aldosterónu zo zonálnej glomeruly nadobličiek. AngII spúšťa vazokonstrikciu a uvoľňovanie aldosterónu v ráde niekoľkých sekúnd až minút (Griffin et al., 1991). Aldosterón následne spôsobí v organizme retenciu  $\text{Na}^+$  a vody, a zvyšuje aktivitu sympatického nervového systému (SNS), čím dochádza k stimulácii smádu a vyvolaniu potreby príjmu soli (Obr.2) (Ames et al., 2019).



Obrázok 2 Schéma mechanizmu Renín-angiotenzín-aldosterón systému, Prevzaté z (Fu et al., 2020).

### 3.2. Renín

Renín bol jedným z prvých objavených hormónov. Tento enzým, tvoriaci sa v juxtaglomerulárnych bunkách, bol popísaný už pred viac ako 100 rokmi Robertom Tigerstedtom a Per Bergmanom. Renín patrí do skupiny aspartylových proteáz, teda je podobný tráviacim enzýmom ako je pepsín či chymozín (Imai et al., 1983). Tak ako aj iné proteíny, je renín najprv syntetizovaný ako molekulárny prekursor s molekulárnou váhou 55 kDa. Prekursor je ďalej konvertovaný až na aktívnu formu renínu o hmotnosti 44 kDa. Rozlišujeme dve formy renínu - jednoret'azcovú a dvojret'azcovú. Predpokladá sa, že v hlodavcoch majú obe formy odlišnú fyziologickú úlohu pri spracovaní a vylučovaní renínu. Jednoret'azcový renín sa z Golgiho aparátu uvoľňuje bez toho, aby bol zabalený do skladovacích granúl a teda sa po syntéze okamžite vylučuje. Dvojret'azcový renín je vylučovaný až neskôr a zostáva formou, ktorá je uskladnená v sekrečných granulách (Do et al., 1987). Predpokladá sa, že ten „hlavný“ renín sa primárne vyskytuje v kôre obličiek vo forme granúl s cytoplazmou z modifikovaných buniek hladkého svalstva. Tieto juxtaglomerulárne granule renínu sa nachádzajú v blízkosti glomerulov a pozdĺž aferentných arteriol (Nushiro et al., 1990).

Sekrécia renínu z obličiek môže byť vyvolaná niekoľkými spôsobmi.

- Prvým z nich je mechanizmus buniek Macula densa, ktoré sa nachádzajú v oblasti steny distálneho stočeného kanálíka v obličkách v blízkosti juxtaglomerulárnych buniek. Bunky Macula densa kontrolujú koncentráciu tubulárnych solí. Pri poklese krvného tlaku nastáva v Macula densa pokles koncentrácií solí a je vyslaný signál pre sekréciu renínu (Skøtt & Briggs, 1987).
- Druhým regulátorom sekrécie renínu je SNS, ktorý stimuluje sekréciu renínu pomocou  $\beta$ -adrenergických receptorov v juxtaglomerulárnych bunkách (Pfeifer et al., 1995).
- Tretím spôsobom, ako je možné regulovať sekréciu renínu, je mechanizmus citlivý na zmenu tlaku v artériách. Aktivácia tohto mechanizmu je spätá s aktiváciou sympatického nervového systému (Thrasher et al., 2000).

Renín sa viaže na receptor manóza-6-fosfát (M6P), ktorý je spojený s G-proteínmi. Renín sa na tento receptor môže naviazať len pokiaľ je glykozylovaný. M6P neviaže len renín, ale celkovo sa podieľa na väzbe proteínov, ktoré obsahujú M6P zvyšky. Po naviazaní renínu na M6P receptor dochádza k aktivácii, následnému uvoľňovaniu z väzbových miest proteolytickým štiepením. Ďalej dochádza k degradácii renínu, ktorá bola pozorovaná napríklad v bunkách srdca novorodených potkanov. Väzba renínu na receptory na povrchu buniek v tkanivách má veľký fyziologický význam nakoľko umožňuje syntézu lokálneho AngII vo väčšom množstve než je syntetizovaný AngII v plazme (Paul et al., 2006).

### 3.3. Angiotenzinogén

Aog je prekurzorom peptidov AngI a AngII s funkciou kontroly tlaku krvi. Štruktúra Aog je veľmi podobná serpínom, práve preto je považovaný za neinhibičného člena skupiny serpínových bielkovín (serínovo-proteázových inhibítorov) (Carrell & Travis, 1985).

Aog je  $\alpha$ -2 globulínom, ktorý je produkovaný pečeňou (Ohkubo et al., 1983). Jeho molekulárna váha sa pohybuje v rozmedzí 52-60 kDa v závislosti na organizme a technike merania (Ménard et al., 1983). Aog môže byť syntetizovaný aj v iných extrahepatických tkanivách ako je mozog alebo obličky (Campbell & Habener, 1986). Vzhľadom na mozog sa primárne syntetizuje v astrocytoch, neurónoch, a jeho prítomnosť bola zistená v neuronálnych bunkách (Thomas et al., 1992; 1988).

Rola Aog v RAAS spočíva v úlohe darcu peptidu pre AngI. Aby k tomu došlo je potrebné aby renín svojou aspartyl-proteázovou aktivitou štiepil N-koniec Aog (Phillips & Summers, 1998).

### 3.4. Angiotenzín I

AngI je peptidovým hormónom odvodeným od jeho proteínového prekurzoru Aog postupným pôsobením proteolytických enzýmov. Bežná syntéza AngI je spätá s ACE - katalyzovanou reakciou, ktorá prebieha nie len v plazme, ale aj v obličkách, nadobličkách, mozgu či ováriách (Johnston, 1992).

Receptory AngI sú rozmiestnené v cievach hladkého svalstva, a prípadne aj v endoteliálnych bunkách. Na rovnakých miestach je rozšírený aj ACE, aby reakcia premeny AngI na AngII bola čo najrýchlejšia (Rosenthal et al., 1984).

### 3.5. Angiotenzín - konvertujúci enzým (ACE)

ACE je peptidyldipeptid hydrolázou (Soffer, 1976). Táto zinková metaloproteináza je silne exprimovaná endoteliálnymi a epiteliálnymi bunkami obličiek, pľúc a ciev (Skeggs et al., 1956). Ako enzým je ACE zodpovedný za odštiepenie dipeptidu (histidínu a leucínu) z karboxylového konca AngI. Týmto zmení neaktívny dekaeptid AngI na aktívny oktapeptid AngII (Yang et al., 1970).

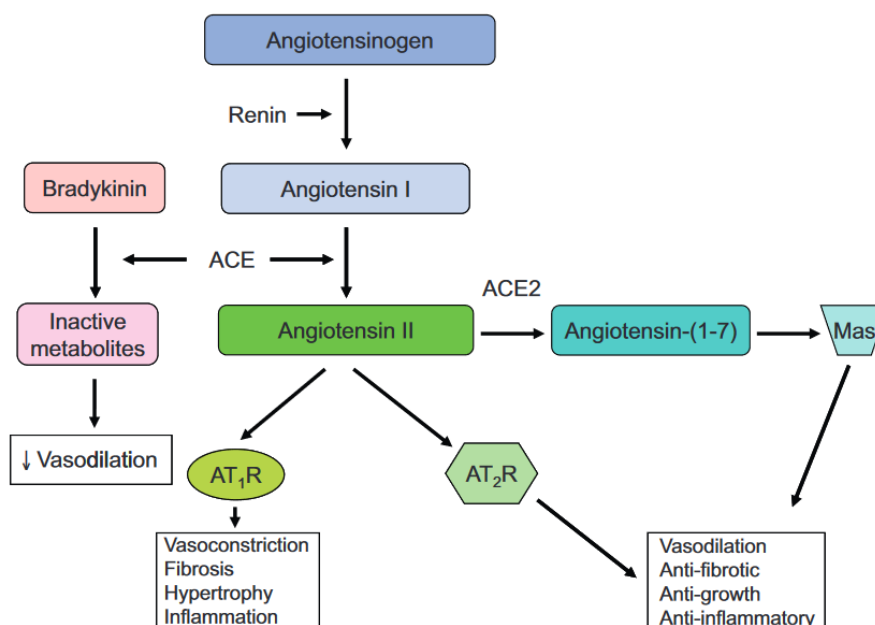
Zistilo sa, že ACE je identický s kinázou II, ktorá je jedným z enzýmov, ktoré degradujú bradykinín. Nie je náhodou, že telo využíva ten istý enzým (ACE/kinázu II) pre aktiváciu AngII ako vazokonstriktora a zároveň pre degradáciu vazodilatátora bradykinínu (Obr. 3). V prípade, že je ACE inhibovaný dochádza k zvýšeniu bradykinínu v plazme, ktorý vazodilatáciou rozširuje cievy (Yang et al., 1970). ACE nie je natoľko špecifickým enzýmom ako je renín. Okrem AngI a bradykinínu pôsobí ACE aj na neuropeptidové substráty ako sú neurotenzíny či enkefalíny (Skidgel et al., 1984).

### 3.6. Angiotenzín II

AngII je prvou biologicky aktívnou molekulou v dráhe RAAS (Yang et al., 1970). Jeho prvou preukázanou fyziologickou funkciou bola úloha vazokonstriktora (Helmer, 1957). Dnes už vieme, že je veľmi dôležitým pre stimuláciu uvoľňovania aldosterónu z adrenálneho kortexu a je spojený s hypertenziou, zlyhaním srdca či diabetom. Medzi ďalšie účinky pôsobenia AngII patrí regulácia produkcie oxidatívneho stresu a vyvolanie srdcovej ventrikulárnej hypertrofiie a vaskulárneho rastu (Bayorh et al., 2011; Jaisser & Farman, 2016). Vzhľadom na tieto zistenia bolo vytvorených mnoho farmakologických látok pre liečbu hypertenzie a zlyhania srdca, ktoré pôsobia ako inhibítory sekrécie AngII (napr. inhibícia ACE) alebo ako inhibítory účinkov AngII (napr. antagonisti receptora pre AngII) (Johnston, 1990). AngII však toho v tele ovplyvňuje podstatne viac. Má vplyv aj na regulácie metabolizmu mnohých systémov v tele. Medzi ovplyvnené systémy patrí napríklad nervový a tráviaci systém, reprodukčný trakt, zmyslové orgány, lymfatické a tukové tkanivo, koža, nadobličky a obličky (Jaisser & Farman, 2016).

AngII nevzniká len prostredníctvom následných reakcií RAAS, ale aj lokálnou produkciou orgánov ako sú mozog, srdce, obličky či oči. Produkcia AngII srdcom bola zaznamenaná už v osemdesiatych rokoch (Dzau, 1987). Vďaka svojim receptorom AT<sub>1</sub> a AT<sub>2</sub> ovplyvňuje fyziologické procesy v tele. Väčšina známych proliferatívnych a profibrotických účinkov AngII prebiehajú cez AT<sub>1</sub> receptor, ale môžu byť spojené aj s receptorom AT<sub>2</sub> receptor, čím sú vyvolané opačné účinky ako naviazaním na AT<sub>1</sub> receptor (Ames et al., 2019). AT<sub>1</sub> receptor je v súhrne zodpovedný za vazokonstrikciu, zadržiavanie solí a vody obličkami, centrálnu kontrolu osmolarity, stimuláciu rastu buniek a vedie k fibróznym a hypertrofickým ochoreniam. Na druhej strane AT<sub>2</sub> receptor zodpovedá za vazodilatáciu a má anti-hypertrofické a anti-fibrotické účinky (Obr. 3) (Ito et al., 1995).

U AngII to však nekončí. Z AngII môže pomocou aminopeptidázy A vzniknúť angiotenzín III (AngIII), ktorý môže byť ďalej aminopeptidázou N prevedený na angiotenzín IV (AngIV). AngII môže byť konvertovaný aj na angiotenzín-(1-7) (Ang-(1-7)) a to pomocou inej proteázy alebo za pomoci angiotenzín-konvertujúceho enzýmu 2 (ACE2) (Paul et al., 2006).



Obrázok 3 Klasický RAAS systém. ACE hydrolyzuje AngI na AngII, ktorý po naviazaní na AT<sub>1</sub> receptory spôsobuje vazokonstrikciu a zároveň metabolizuje bradykinín na neaktívne metabolity, ktoré znižujú vazodilatáciu. V prípade, že sa AngII naviaže na AT<sub>2</sub> receptory či keď naň pôsobí ACE, dôjde k opačným účinkom než je tomu pri naviazaní na AT<sub>1</sub> receptory.

Prevzaté z (Nguyen Dinh Cat & Touyz, 2011)

### 3.7. Angiotenzín - konvertujúci enzým 2 (ACE2)

ACE2 je karboxypeptidáza štiepiaca AngII na Ang-(1-7). ACE2 môže pôsobiť aj na AngI za vzniku Ang-(1-9), ktorý môže byť pomocou ACE metabolizovaný na Ang-(1-7). Častejšie a pravdepodobnejšie je, že ACE2 bude konvertovať AngII. Miestom výskytu ACE2 je najčastejšie vaskulárny endotel a hladké svalstvo, prípadne kardiomyocyty. Myši s defícitom ACE2 vykazujú zníženú srdečnú kontraktilitu, nižší tlak v aortálnej komore a taktiež stenčenú stenu ľavej komory (Bader, 2013).

### 3.8. Angiotenzín III

N-koniec angiotenzínu II je štiepený aminopeptidázou A za vzniku heptapeptidu AngIII. V ľudskom organizme formácia AngIII nie je častá. Na druhej strane, v hlodavcoch sa AngIII tvorí v podstatne väčších koncentráciách (Nagatsu et al., 1965). Aj keď je AngIII výrazne (o 60-70%) slabším vazokonstriktorom, než jeho „materský“ peptid AngII, je schopný rovnako dobre stimulovať syntézu a sekréciu aldosterónu z nadobličiek (Kemp et al., 2019).

### 3.9. Angiotenzín IV

AngIV vzniká pôsobením aminopeptidázy N na AngIII a v organizme má schopnosť zvýšiť prietok krvi obličkami či vyvolať vazodilatáciu. AngIV taktiež zlepšuje funkciu srdca a má niekoľko účinkov na nervový systém. Niektoré z týchto účinkov sú sprostredkované prostredníctvom AT<sub>1</sub> receptoru, iné zase pomocou väzby na AT<sub>4</sub> receptor, ktorý býva označovaný aj ako transmembránový enzým inzulín-regulovanej aminopeptidázy (IRAP) (Nguyen Dinh Cat & Touyz, 2011). Táto oblasť však nie je zatiaľ dostatočne preskúmaná.

### 3.10. Angiotenzín (1-7)

Tak ako bolo už vyššie popísané, Ang-(1-7) vzniká z AngII konvertovaním pomocou ACE2 alebo z AngI, ktorý je vďaka ACE2 konvertovaný na Ang-(1-9), a následne pomocou ACE konvertovaný na Ang-(1-7). Na premene z AngI sa môžu priamo podieľať aj neutrálne endopeptidázy (NEP) ako je neprilysin či prolyl endopeptidázy (PEP). Ang-(1-7) má v tele niekoľko funkcií. Ovplyvňuje mozog, srdce, pečeň, pľúca i obličky (Bader, 2013; Donoghue et al., 2000).

#### 3.10.1. Vplyv na srdce a cievy

V srdci a cievach rozširuje koronárne tepny, čím sa zvyšuje koronárny prietok krvi, a to ovplyvňuje srdečnú kontraktilitu. Má taktiež antiarytmické účinky a zabraňuje rozvoju fibrózy srdca a hypertrofiie. Vzhľadom na to, že prirodzene znižuje množstvo AngII v organizme a v srdci, zmierňuje tak kardiovaskulárne dysfunkcie, ktoré bývajú spôsobené diabetom. Zároveň zmierňuje vazokonstrikciu spôsobnú AngII a zosilňuje vazodilatačné účinky bradykinínu. Vazodilatačný účinok Ang-(1-7) závisí aj na citlivosti endotelu, kde Ang-(1-7) môže vyvolávať uvoľňovanie oxidu dusnatého (NO) cez endoteliálnu NO-syntázu (le Tran & Forster, 1997).



### 3.10.2. Vplyv na obličky

V obličkách Ang-(1-7) podporuje vylučovanie  $\text{Na}^+$  a vody bez toho, aby to ovplyvnilo renovaskulárny odpor. Zároveň reguluje  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPázu v bazolaterálnych proximálnych tubuloch. Z proximálnych tubúl môže uvoľňovať kyselinu arachidonovú a inhibovať prostaglandíny, čím spôsobí zoslabenie prietoku moču a vylučovanie  $\text{Na}^+$  z organizmu. To následne vedie k vazodilatácii aferentných arteriol a inhibícii vazokonstriktívnych účinkov AngII. Blokáda Ang (1-7) spôsobuje pokles glomerulárnej filtrácie, antidiurézu a zvýšenú tubulárnu reabsorbciu  $\text{Na}^+$  (Hilchey & Bell-Quilley, 1995).

### 3.10.3. Vplyv na centrálnu nervovú sústavu

Bolo preukázané, že Ang (1-7) v centrálnej nervovej sústave (CNS) súvisí so syntézou a uvoľňovaním vazopresínu. Pri demonštrácii uvoľnenia vazopresínu z hypotalamického systému bola objavená prvá biologická aktivita Ang (1-7), kedy sa znížil krvný tlak pri injekcii mikrodávky Ang (1-7) do chrbticovej miechy potkana (Schiaivone et al., 1988).

## 3.11. Aldosterón

Aldosterón je steroidným hormónom, ktorý je ďalším efektorom dráhy RAAS. Jeho syntéza a sekrécia je stimulovaná AngII cez  $\text{AT}_1$  receptor v kôre nadobličiek. Aldosterón ďalej pôsobí cez mineralokortikoidné receptory (MR), pomocou ktorých moduluje expresiu iónových kanálov, púmp a výmenníkov v epitelových tkanivách ako sú obličky, hrubé črevo a slinné a potné žľazy. Týmto špecificky pôsobí na distálny nefrón obličiek a podporuje reabsorbciu  $\text{Na}^+$ , zadržiavanie vody v tele organizmu a vylučovanie draselných ( $\text{K}^+$ ) a horčíkových ( $\text{Mg}^{2+}$ ) katiónov, čím je ovplyvňovaný krvný tlak a objem extracelulárneho priestoru (Spät & Hunyady, 2004).

Nadmerná sekrécia aldosterónu vedie k značnému zvýšeniu pomeru aldosterónu a renínu v organizme, zvýšeniu krvného tlaku a tým aj k zvýšeniu rizika kardiovaskulárnych chorôb. Vysoká sekrécia aldosterónu zvyšuje riziko zlyhania obličiek, infarktu myokardu a abnormálneho rytmu srdca (Rossi et al., 1993; Spät & Hunyady, 2004). Vysoké hladiny aldosterónu boli tiež spojené s hypertrofiou a ischémiou myokardu, remodelovaním komôr, zníženým prietokom krvi a srdcovou fibrózou, ktorá vedie k maladaptívnej remodelácii v srdci.

Tieto stavy okrem toho, že podporujú fibrózu tiež indukujú bunecnú smrť a zápal. Aldosterón môže navyše stimulovať aktivitu komplexu NADPH oxidázy, čím zvyšuje oxidačný stres v aorte, makrofágoch a endoteliálnych bunkách (Muñoz-Durango et al., 2016).

### 3.11.1. Mineralokortikoidné receptory

Pomocou MR môže aldosterón ovplyvňovať minerálny metabolizmus v tele. MR sa nachádzajú v neepiteliálnych tkanivách ako sú sietnica, mozog, bunky hladkého svalstva ciev, makrofágy, myokard, fibroblasty a adipocyty. Z toho dôvodu dokáže aldosterón pôsobiť na podstatne viac orgánov než len na obličky. Aldosterón je primárnym ligandom MR, môžu sa však naň viazať aj glukokortikoidy ako je napríklad kortizol. Nenaviazaný MR sa primárne vyskytuje v cytoplazme, kde je viazaný ligandom, a napokon presunutý do jadra, kde začne pôsobiť ako transkripčný faktor (Ames et al., 2019).

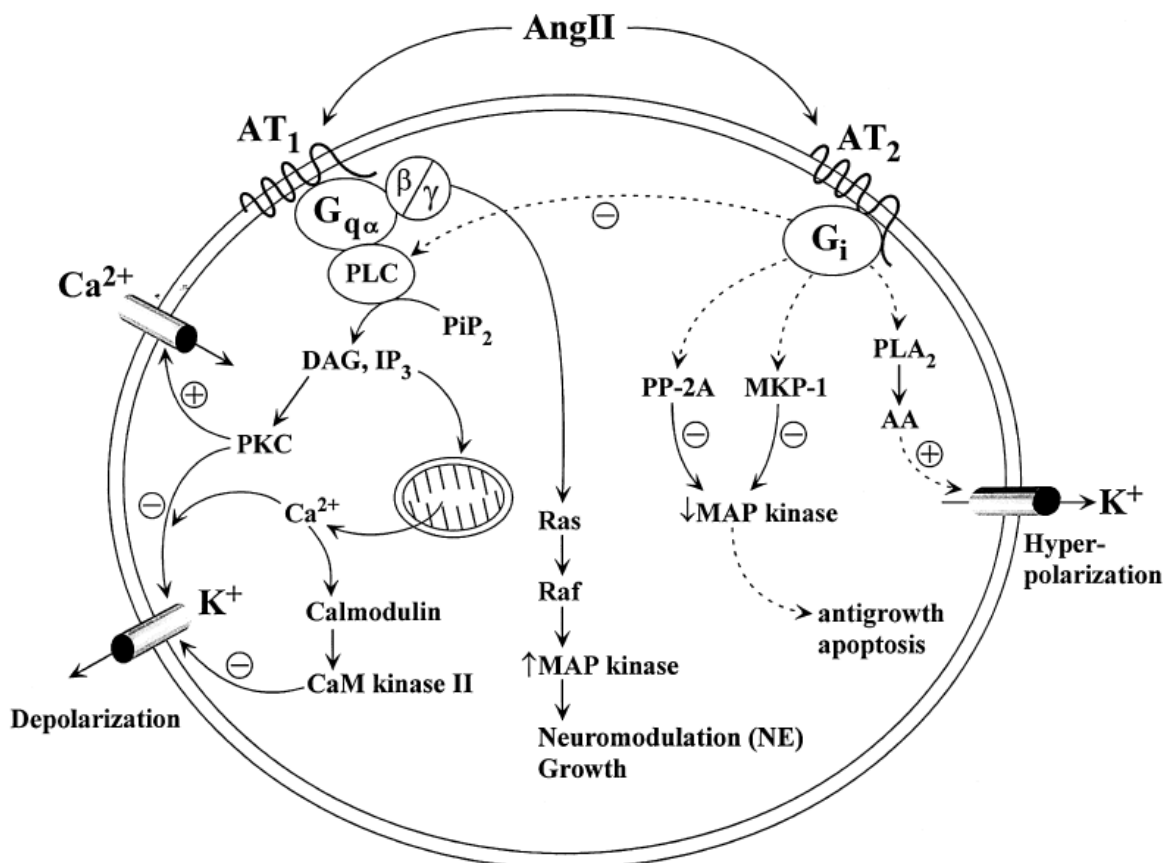
## 4. Bunečná signalizácia RAAS

Signalizácia v rámci RAAS je sprostredkovaná tromi podtypmi receptorov pre angiotenzín-AT<sub>1</sub>, AT<sub>2</sub> a AT<sub>4</sub>. Receptory AT<sub>1</sub> a AT<sub>2</sub> sú si štrukturálne podobné nakoľko oba patria do skupiny receptorov spojených s G-proteínom. Receptor AT<sub>4</sub> je podstatne väčší než receptory AT<sub>1</sub> a AT<sub>2</sub> a na rozdiel od nich nedokáže viazať guanínové nukleotidy. Väčšinu fyziologických účinkov na organizmus sprostredkúva receptor AT<sub>1</sub> (de Gasparo et al., 1990; Wright et al., 2008).

### 4.1. Receptor AT<sub>1</sub>

Receptor AT<sub>1</sub> sa vyskytuje v srdci, obličkách, nadobličkách, mozgu, bunkách hladkých svalov ciev, adipocytoch, krvných doštičkách a v placentе (Burnier, 2001). V mozgu sa AT<sub>1</sub> receptory najviac vyskytujú v jadrách mozgového kmeňa a v paraventriculárnych a supraoptických jadrách hypotalamu (Phillips & Sumners, 1998).

AT<sub>1</sub> receptor je receptorom spojeným s G-proteínom (GPCR), u ktorého prebieha signalizácia prostredníctvom fosfolipázy C a vápnika. AngII sa viaže na AT<sub>1</sub> receptor, a indukuje tým konformačnú zmenu v receptorovom proteíne, ktorý aktivuje G-proteíny. Tie sprostredkujú transdukciu signálu, ktorá zahŕňa niekoľko mechanizmov prebiehajúcich na plazmatickej membráne. Aktiváciou fosfolipázy C dochádza ku katalýze fosfatidylinositolbifosfátu (PIP<sub>2</sub>) za vzniku inositoltrifosfátu (IP<sub>3</sub>), ktorý indukuje zvýšenie cytosolového vápnika ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>) a diacylglycerolu (DAG), čím dochádza k zvýšeniu činnosti proteínkinázy C (PKC). Zvýšenie [Ca<sup>2+</sup>] zase vedie k aktivácii proteínkinázy II závislej na vápniku/calmodulíne (CaM kináza II). PKC spolu s CaM kinázou II sprostredkováva ďalšie krátkodobé účinky AngII na tok draselných a vápenatých iónov membránou smerom k uľahčeniu neuronálnej depolarizácie (Obr. 4) (Phillips & Sumners, 1998).



Obrázok 4 Signálne dráhy angiotenzínových receptorov (Phillips & Summers, 1998)

AT<sub>1</sub> receptor je najdôležitejším spúšťačom biologickej aktivity AngII. Tento receptor je v súhrne zodpovedný za vazokonstrikciu, zadržiavanie solí a vody obličkami, centrálnu kontrolu osmolarity a stimuláciu rastu buniek (Ito et al., 1995). Akútne zvýšená hladina AngII vedie k zvýšeniu aktivity AT<sub>1</sub> receptorov (Burnier, 2001).

V ľudskom genóme bol identifikovaný len jeden gén, kódujúci AT<sub>1</sub> receptor, myši a potkany ho však majú dva. Tieto dva vysoko homologické gény AT<sub>1</sub> receptorov kódujú receptorové izoenzýmy AT<sub>1A</sub> a AT<sub>1B</sub> a signalizujú rovnakým spôsobom (Iwai & Inagami, 1992). Cieľným molekulárnym rozrušením receptorových génov sa zistilo, že mRNA týchto izoenzýmov sa vyskytuje v dvoch formách, pričom každá sa vyskytuje prednostne v iných tkanivách a má rozdielny vplyv na fyziologické procesy v tele hlodavcov (Kitami et al., 1992).

AT<sub>1A</sub> receptor je hlavnou izoformou AT<sub>1</sub> receptora v myšiach a hlodavcoch, a je najbližším homológom k ľudskému AT<sub>1</sub> receptoru (Crowley et al., 2006). Výskyt mRNA AT<sub>1A</sub> receptorov v srdci, aorte, obličkách, semenníkoch, mozgu a mozochku bol špecificky detekovaný dvakrát častejšie než výskyt mRNA AT<sub>1B</sub> receptorov. V pľúcach a pečeni bola prevažne exprimovaná

forma AT<sub>1A</sub> mRNA, zatiaľ čo v nadobličkách a hypofýze prevládala exprimácia formy AT<sub>1B</sub> (Kitami et al., 1992). Týmto bolo poukázané na to, že forma AT<sub>1A</sub> je podstatne dôležitejšia pri kontrole krvného tlaku. U myší, u ktorých chýba AT<sub>1A</sub> bolo zaznamenané zníženie systolického krvného tlaku (Ito et al., 1995).

AT<sub>1B</sub> receptor je približne z 94% homologický s aminokyselinovou sekvenciou podtypu AT<sub>1A</sub>. Spoločný výskyt mRNA receptorov AT<sub>1B</sub> a AT<sub>1A</sub> je na mnohých miestach v organizme, napriek tomu AT<sub>1A</sub> receptor ovplyvňuje vo vyššej miere srdce a mozog, čím je považovaný za významnejšieho v spojení s účinkami AngII (Kitami et al., 1992).

AT<sub>1</sub> receptor môže byť blokovaný rodinou takzvaných „sartanových“ zlúčenín medzi ktoré patrí losartan, valsartan, eprosartan, irbesartan, kandesartan a telmisartan (Burnier, 2001).

#### 4.1.1. Receptor AT<sub>1</sub> a chlad

Obsah mRNA AT<sub>1</sub> receptora v hypotalame je zvýšený pri chladovej aklimatizácii. Z toho vyplýva, že regulácia smerom k zvýšeniu centrálnych AT<sub>1</sub> receptorov hrá úlohu vo vývoji chladom indukovanej hypertenzie (CIH). Bolo dokázané, že chronická blokáda receptora AT<sub>1</sub> môže zabrániť zvýšeniu krvného tlaku spôsobeného chladom (Zhongjie Sun et al., 2002). Je zaujímavé, že chronické centrálné podávanie losartanu (blokátora AT<sub>1</sub> receptorov) má podobné účinky na vývoj CIH. Hypertenzia sa po ukončení liečby losartanom vyvinie u potkanov za rovnako dlhé obdobie ako to potrvá v prípade CIH. Toto zistenie potvrdzuje, že vývoj CIH je závislý od času (Zhongjie Sun et al., 1998, 2002).

V novej štúdií bolo dokázané, že AT<sub>1A</sub> receptory sú nevyhnutné pre vyvolanie CIH. Táto štúdia preukázala, že ciele prerušenie génu AT<sub>1A</sub> receptora významne zmiernuje zvýšený krvný tlak vyvolaný vystavením chladu (Zhongjie Sun et al., 2004).

#### 4.2. Receptor AT<sub>2</sub>

AT<sub>2</sub> receptor sa od AT<sub>1</sub> receptora líši najmä vplyvom na rozdielne fyziologické procesy v tele. Expresia AT<sub>2</sub> receptora dosahuje vyšších hodnôt v období vývoja plodu, no po jeho narodení začne rapídne klesať (Grady et al., 1991). Bolo preukázané, že AngII aktivuje ako AT<sub>1</sub> receptor, tak aj AT<sub>2</sub> receptor a oba na seba navzájom pôsobia hemodynamickými účinkami.

AT<sub>2</sub> receptor myší a potkanov je cca z 32% homologický s aminokyselinovou sekvenciou receptora AT<sub>1</sub> a približne zo 72% homologický so sekvenciou ľudského AT<sub>2</sub> receptora. Ľudský

aj myšací gén pre receptor AT<sub>2</sub> je umiestnený na chromozóme X (Hein et al., 1995; Lazard et al., 1994). V štúdií (Siemens et al., 1994) bolo preukázané, že bunka neuroblastómu myši má dva odlišné AT<sub>2</sub> receptory, ktoré sú z imunologického hľadiska odlišné. Hladiny mRNA receptora AT<sub>2</sub> sú vysoké v niektorých častiach limbického systému a na mnohých miestach v rámci CNS ako sú napríklad cerebrálne či talamické jadrá. Súhrnne tieto oblasti výskytu vyšších hladín mRNA AT<sub>2</sub> receptora majú za úlohu reguláciu príjmu vody, senzorické integrácie a motorické funkcie (Hein et al., 1995; Ichiki et al., 1995; Phillips & Summers, 1998).

Spojenie AT<sub>2</sub> receptora s G-proteínom je dôležité pre moduláciu rady signálnych molekúl. Aktiváciou receptora dochádza k stimulácii fosfolipázy A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>), ktorá katalyzuje tvorbu arachidonovej kyseliny (AA). Aktivácia G-proteínu spôsobí inhibíciu MAP kinázy pomocou aktivácie serín/treonín fosfatázy typu 2A (PP-2A) v neurónoch alebo prostredníctvom indukcie tyrozín fosfatázy (MAP kináza fosfatáza 1 – MPK1) v iných bunkách, čím dôjde k stimulácii apoptózy. Aktiváciou G-proteínu môže dochádzať aj k inhibícii hydrolýzy fosfátidylinositoldifosfátu (Obr. 4) (Phillips & Summers, 1998).

### 4.3. Receptor AT<sub>4</sub>

Receptor AT<sub>4</sub> bol nájdený v rôznych tkanivách ako sú srdce, obličky, nadobličky, močový mechúr, hrubé črevo, prostata, mozog a miecha. AT<sub>4</sub> receptor s vysokou afinitou viaže AngIV. Tento receptor je iný než AT<sub>1</sub> a AT<sub>2</sub>, nakoľko nie je spojený s G-proteínom. V novších štúdiách sú preň navrhnuté dve odlišné štruktúry. V jednej sa predstavuje ako receptor IRAP a v druhej je považovaný za identický s hepacytovým rastovým faktorom c-Met. Dnes však ešte nie je možné s istotou povedať, ktorá z možností je správna (Wright et al., 2008).

## 5. RAAS a jeho vplyv na obličky

Obličky sú dôležitým regulátorom krvného tlaku pomocou niekoľkých mechanizmov - natriurézy a diurézy, nehormonálnych faktorov ako je RAAS a pomocou regulácie aktivity sympatického nervového systému (Muñoz-Durango et al., 2016).

Jedna zo štúdií na myšom modeli odhalila, že  $AT_1$  receptor, exprimovaný výlučne v obličkách, je dostatočný pre vytvorenie hypertenzie sprostredkovanej infúziou AngII a 2% NaCl. Okrem toho bolo v tejto štúdii poukázané na to, že hypertrofia a poškodenie tkaniva v srdci sú s väčšou pravdepodobnosťou riešené expresiou  $AT_1$  receptora v obličkách než jeho systémovou expresiou. Tieto zistenia poukazujú na to, že deregulácia AngII vedie nie len k regulácii krvného tlaku, ale aj ku kardiovaskulárnym komplikáciám (Crowley et al., 2006).

Taktiež bolo preukázané, že zníženie hladiny  $Na^+$  v moči živočícha spôsobuje nárast plazmatického renínu a AngI, zatiaľ čo prebytok  $Na^+$  v moči spôsobuje zníženie množstva renínu v plazme. Tento objav bol následne zdôraznený dokázaním, že zmeny koncentrácie  $Na^+$  v moči majú vplyv aj na stimulačný efekt AngII k sekrécii aldosterónu. Aktivita aldosterónu a AngII má v tomto prípade význam pri zadržiavaní  $Na^+$  v čase jeho nedostatku (Brown et al., 1963).

Bola preukázané, že konštantný arteriálny tlak je udržateľný pri rôznych dávkach podaného  $Na^+$  pomocou regulácie aktivity RAAS. Ak by bola aktivita RAAS potlačená, krvný tlak by sa stal citlivým na zmeny koncentrácie  $Na^+$  v tele. Táto schopnosť spočíva v dôležitosti vzťahu medzi RAAS aktivitou a koncentráciou renínu v plazme (Cholewa & Mattson, 2001).

Obličky sú jedným z orgánov, ktoré bývajú poškodené hypertenziou, čo má za následok funkčné a štrukturálne následky. Medzi tieto následky patrí aj renálna dysfunkcia, ktorá vedie k exacerbovanému fenotypu hypertenzie. Práve preto nie je dostačujúce sa v liečbe hypertenziou poškodených orgánov sústrediť len na ovplyvnenie krvného tlaku (Muñoz-Durango et al., 2016).

## 6. Srdce a vplyv na jeho fyziológiu

Funkcie srdca a jeho štruktúru poškodzuje niekoľko signálnych kaskád a aktivovaných neurohormónov. Aktivácia RAAS a adrenergického systému úzko súvisí so zlyhaním srdca (Alves et al., 2010).

### 6.1. RAAS

Vysoké cirkulujúce hladiny AngII a aldosterónu v organizme majú škodlivý vplyv na kardiovaskulárny systém a obličky. Medzi nich patrí napríklad vaskulárna endotelová dysfunkcia, proteinuria, remodelácia myokardu a mnohé ďalšie (Ames et al., 2019).

RAAS hrá kľúčovú úlohu pri zlyhaní srdca. Zlyhanie srdca je sprevádzané výraznými poruchami metabolizmu energie srdca, ktoré môžu viesť k zníženiu zásobovania srdca energiou a zoslabovať činnosť srdca. Je preukázané, že za ovplyvnenie metabolizmu srdca je pravdepodobne zodpovedný AngII. Na druhej strane iné zložky RAAS ako napríklad ACE alebo Ang-(1-7) vykazujú pozitívne účinky na energetický metabolizmus srdca (Semeri et al., 2001). Zlyhávajúce srdce v pokročilom štádiu tiež zhoršuje oxidatívnu fosforyláciu v mitochondriách, nakoľko je AngII indukovaná hypertenzia sprevádzaná mitochondriálnym poškodením (Dai et al., 2011).

V zlyhávajúcom srdci je zvýšená lokálna koncentrácia AngII. Medzi enzýmy podieľajúce sa na tvorbe AngII v myokarde patria chymázy a ACE. Inhibítory ACE zlepšujú funkciu ľavej komory srdca a zmierňujú jej remodeláciu, čím znižujú úmrtnosť na zlyhanie srdca (Semeri et al., 2001).

Zložky RAAS priamo ovplyvňujú aj progresiu renálnej fibrózy. AngII pôsobí na bunky hladkého svalstva ciev a spôsobuje vazokonstrikciu aferentných a eferentných arteriol. V dôsledku tohoto môže dôjsť k rozvoju glomerulárnej kapilárnej hypertenzie, zníženému toku krvi obličkami a k zníženiu glomerulárnej filtrácie (Mennuni et al., 2014).

### 6.2. Adrenoreceptory

Adrenoreceptory patria medzi receptory spojené s G-proteínom, podobne ako AT<sub>1</sub> a AT<sub>2</sub> receptory. Adrenoreceptory sú cieľom katecholamínov ako je adrenalín a noradrenalín a delíme ich na  $\alpha$ - a  $\beta$ -adrenoreceptory. Podrobnejšie sa rozlišujú ešte na  $\alpha_1$ -,  $\alpha_2$ -adrenoreceptory a  $\beta_1$ -,



$\beta_2$ -,  $\beta_3$ -adrenoreceptory, pričom každý má trochu inú funkciu. Každý podtyp  $\alpha$ -adrenoreceptorov sa vyskytuje na inom chromozóme, pričom  $\alpha_1$ -adrenoreceptory sú translatované a funkčné v srdci.  $\alpha_2$ -adrenoreceptory sú dôležité pri regulácii uvoľňovania noradrenalínu v presynaptických nervových zakončeníach (Alves et al., 2010).

Pre fungovanie srdca sú dôležitejšie  $\beta_1$ - a  $\beta_2$ -adrenoreceptory, nakoľko sa podieľajú na viacerých procesoch srdca (Szentmiklósi et al., 2015). Zatiaľ čo aktivácia  $\beta_1$ -adrenoreceptorov je užitočná najmä pri urgentnom reštartovaní srdca v medicíne, selektívna aktivácia  $\beta_2$ -adrenoreceptorov podporuje vazodilatáciu (Jozwiak et al., 2010).

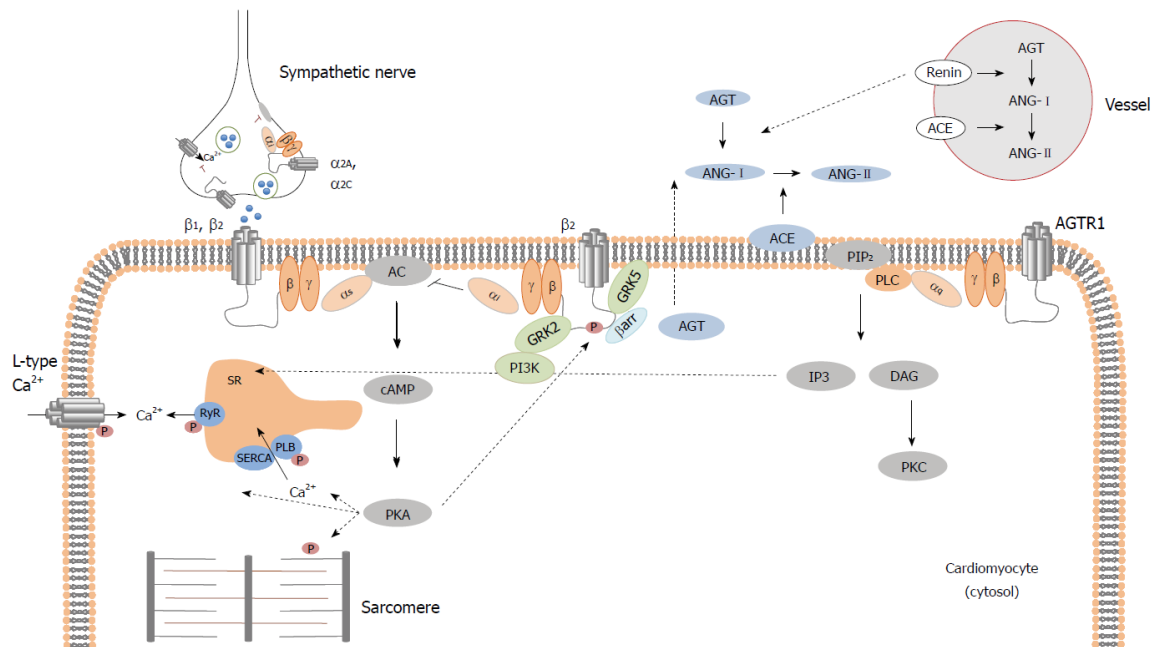
Akútna aktivácia  $\beta_1$ - a  $\beta_2$ -adrenoreceptorov vedie k pozitívnym tropickým účinkom. Chronická aktivácia  $\beta_1$ -adrenoreceptorov spôsobuje maladaptívnu remodeláciu srdca vrátane hypertrofie, apoptózy a nekrózy pomocou CaM kinázy. Všetky tieto zmeny pravdepodobne prispievajú k rozvoju chronického zlyhania srdca. Naopak trvalá stimulácia  $\beta_2$ -adrenoreceptorov je považovaná za kardioprotektívnu, nakoľko sa ukázalo, že vedie k zlepšeniu funkcií srdca a životaschopnosti myocytov (Szentmiklósi et al., 2015).  $\beta_3$ -adrenoreceptory sa nachádzajú na povrchu hnedých a bielych adipocytov a ich aktiváciou dochádza k stimulácii energetického výdaja hnedého tukového tkaniva (BAT) (Cypess et al., 2015).

### 6.3. RAAS a adrenergický systém

SNS hrá dôležitú úlohu v neurohumorálnej kontrole kardiovaskulárneho systému. Katecholamíny (adrenalín, noradrenalín, mediátory SNS) dominantne pôsobia na  $\beta$ -adrenoreceptory v srdci. Keďže je noradrenalín hlavným prenášačom sympatických nervových vláken, pôsobí najmä na  $\beta_1$ -adrenoreceptor, ktorý je v srdci najviac zastúpený. V prípade stresu sú však oba srdcové podtypy  $\beta$ -adrenoreceptorov rovnako aktivované adrenalínom uvoľňujúcim sa z drene nadobličiek.  $\beta$ -adrenoreceptory sú spojené s kaskádou transdukcie signálu, čo vedie k aktivácii adenylátcyklázy a proteínkinázy A závislej od cyklického adenozinmonofosfátu (cAMP). Tá ďalej fosforyluje niekoľko enzýmov, iónových kanálov a prenášačov v bunkovej membráne aj v sarkoplazmatickom retikulu. Vzhľadom na tieto procesy sa zvýši koncentrácia cytosolických vápenatých iónov a spustí sa CaM kináza. Zvýšená aktivita CaM kinázy bola pozorovaná pri srdcovom zlyhaní (Kaumann et al., 1999; Molenaar et al., 2000).

Obe signálne dráhy (RAAS a adrenergického systému) vplývajú na sarkoplazmatické retikulum, z ktorého sa začnú uvoľňovať vápenaté ióny (Obr. 5). Nadmerné množstvo

uvoľnených vápenatých iónov spôsobuje kalcifikáciu niektorých intracelulárnych štruktúr. Kalcifikácia mitochondrií môže viesť k bunecnej smrti (Spät & Hunyady, 2004). Signálna dráha RAAS je bližšie popísaná vo štvrtej kapitole.



Obrázok 5 Signálna dráha RAAS a adrenerického systému. Prevzaté z (Alves et al., 2010)

## 6.4. Natriuretické peptidy

Natriuretické peptidy (NP) spolu so svojimi receptormi tvoria skupinu, ktorá hrá dôležitú úlohu vo fyziologickej kontrole kardiovaskulárnych funkcií. Objav NP významne prispel k pochopeniu fyziologickej regulácie krvného tlaku, srdca a funkcií obličiek. NP sú zapojené aj do patogenézy kardiovaskulárnych ochorení ako je hypertenzia, zlyhanie srdca či mozgová príhoda (Volpe et al., 2016).

NP sú cirkulujúcimi hormónmi, ktoré významne ovplyvňujú homeostázu vody a iónov v organizme. Ich tvorba a uvoľňovanie sú stimulované tlakovým či objemovým preťažením kardiomyocytov v stene myokardu. Majú kardioprotektívnu funkciu a medzi ich hlavné účinky patrí vazodilatácia, natriuréza a diuréza, ktoré sú spôsobené zvýšenou glomerulárnou filtráciou. NP sú prirodzenými antagonistami dráhy RAAS (de Bold et al., 1981).

Momentálne je niekoľko známych druhov NP. Prvým objaveným je atriálny natriuretický peptid/atrinatriuretický peptid (ANP), ktorý sa kardiomyocytmi srdcových komôr syntetizuje vo forme prohormónu (de Bold et al., 1981). Ďalším NP je peptid typu B (pôvodne nazývaný mozgový NP) (BNP), ktorý je taktiež vo forme prohormónu syntetizovaný v srdcových komorách kardiomyocytov. Oba NP sú sekretované zvýšením napätia srdcových komôr. BNP je navyše sekretované tiež pri dilatácii komorového myokardu (Sudoh, Minamino, et al., 1988). Tretím NP je peptid typu C (CNP), ktorý je syntetizovaný v endotele ciev. Jeho sekréciu stimuluje endoteliálny stres. Primárnou funkciou CNP je stimulácia rastu kostí (Chun et al., 1997). ANP, BNP a CNP interagujú s tromi NP receptormi (NPR -A, -B a -C), pričom hlavné fyziologické efekty sú sprostredkované cez NPRA (Potter et al., 2006).

#### 6.4.1. Atriálny natriuretický peptid

V roku 1984 bolo na potkanoch preukázané, že ANP zvyšuje koncentráciu cGMP v tkanivách, primárnych bunkových kultúrach a v moči (Hamet et al., 1984). ANP je ako prohormón primárne ukladaný v atriálnych granulách, ale v nižších koncentráciách je prítomný aj v iných tkanivách ako sú obličky či srdcové komory. Po tom, čo je ANP sekretovaný, perfunduje do koronárneho sínusu, čo uľahčí distribúciu endokrinným spôsobom do jeho cieľových orgánov (Potter et al., 2006).

Ischemicko-reperfúzne poškodenie myokardu je jednou z pooperačných príčin akútneho zlyhania srdca a zahŕňa poškodenie kardiomyocytov, buniek hladkého svalstva ciev a endoteliálnych buniek. ANP zmierňuje ischemicko-reperfúzne poškodenie myokardu a zlepšuje funkciu ľavej komory srdca po reperfúzii. Naopak však môže ANP pôsobiť aj škodlivo, a to v prípade, že bol myokard od narodenia chronicky hypoxickým. Výsledkom toho môžu byť vysoké hladiny cyklického guanozíntrifosfátu (cGMP) produkované v myokarde (Fujii et al., 2012).

#### 6.4.2. Natriuretický peptid typu B

BNP pôvodne dostal názov „mozgový NP“ podľa jeho prvotnej purifikácie z mozgových extraktov ošípaných (Sudoh, Kangawa, et al., 1988). Neskôr bolo zistené, že sa v omnoho väčších koncentráciách vyskytuje v srdcových komorách pri srdcovom strese, ktorý môže byť spôsobený kongestívnym zlyhaním srdca či infarktomyokardu (Mukoyama et al.,

1991). Na rozdiel od ANP je BNP primárne po sekrécii vylučovaný a neukladá sa (Maisel et al., 2002).

### 6.4.3. Natriuretický peptid typu C

CNP je najviac exprimovaným NP v mozgu a vo vysokých koncentráciách sa nachádza aj v chondrocytoch a endotelových bunkách exprimovaných cytokínom. Neukladá sa v granulách. V kultivovaných endotelových bunkách je jeho sekrécia podporovaná napríklad  $\beta$ -rastovými faktormi a stresom. K jeho inhibícii dochádza pomocou inzulínu (Potter et al., 2006).

## 6.5. Signalizácia natriuretických peptidov

V krvných cievach je majoritne zastúpený NPRA a minoritne NPRB. Oba receptory sa nachádzajú aj v obličkách a nadobličkách. ANP a BNP aktivujú transmembránovú guanylátcyklázu pomocou väzby na natriuretický peptidový receptor A (NPR-A), čím dôjde k premene guanozíntrifosfátu (GTP) na cGMP (Antos & Potter, 2007).

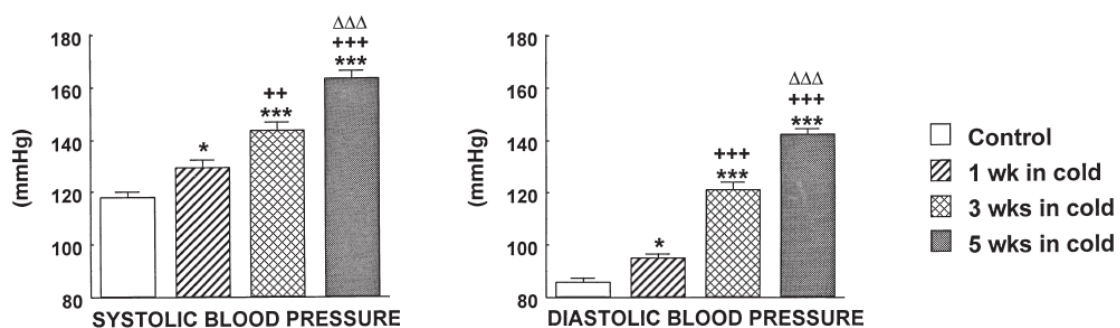
ANP signalizácia vedie k zníženiu krvného tlaku, natriuréze a diuréze, pričom sú tieto fyziologické zmeny vytvárané prevažne obličkami. ANP zároveň rozširuje aferentné arterioly, obmedzuje efektorové arterioly a zvyšuje prietok krvi obličkami, čo vedie k zvýšenej glomerulačnej filtrácii (Marin-Grez et al., 1986). To inhibuje AngII sprostredkovanú reabsorpciu  $\text{Na}^+$  a vody v proximálnom kanáliku a antagonizuje vazopresín, čím dôjde k zníženej reabsorpcii vody v zbernom systéme obličiek, čím dochádza k diuréze a natriuréze (Harris et al., 1987).

Mimo obličiek vedie ANP signalizácia k zníženiu krvného tlaku znížením sympatického výdaja a zvýšením kapacity žíl a vaskulárnej permeability. ANP má priamy účinok na srdce a jeho ochranu pred hypertrofiou (Wijeyaratne & Moulton, 1993). Cirkulujúce BNP sa viaže na NP receptory v cieľových tkanivách, čím sa spúšťajú zvýšené cGMP signálne kaskády, ktoré znižujú srdcové predpätie a následné zaťaženie. Tým sa predíde škodlivým účinkom spôsobených tlakovým či objemovým preťažením. Tento proces okrem iného zahŕňa aj inhibíciu RAAS (Potter et al., 2006).

## 7. Vplyv chladu na kardiovaskulárny systém

Dnes už vieme, že nízka teplota (okolo 5 °C) má negatívny vplyv na kardiovaskulárny systém. U potkanov môže chronické vystavenie chladu vyvolať hypertenziu a srdcovú hypertrofiu v ráde jedného až troch týždňov. Napriek tomu, že je účasť SNS a RAAS detailne skúmaná, stále nie sú plne pochopené všetky mechanizmy súvisiace s CIH (Yuan et al., 2009).

Hodnota krvného tlaku je taktiež závislá od teploty prostredia (Aubinière-Robb et al., 2013). Práve preto existuje mnoho experimentov skúmajúcich zmeny v kardiovaskulárnom systéme spôsobené krátkodobým aj dlho-dobejším vystavením chladu väčšinou pri teplote 5 °C. Zároveň bolo dokázané, že hodnota systolického a diastolického tlaku je zvýšená pri nízkej teplote prostredia (Giacconi et al., 1989). Na tento fakt poukazuje aj štúdia zameraná na distribúciu tekutín v potkanoch s CIH. Zistili, že hodnota systolického, diastolického a stredného arteriálneho tlaku bola v chladnom prostredí (5 °C) signifikantne zvýšená. Pravidelné merania poukazujú na to, že zvýšenie diastolického tlaku bolo výraznejšie než zvýšenie systolického tlaku po dobe jedného, troch a piatich týždňov vystavenia chladu. Tento rozdiel sa preukázal zmenami pulzového tlaku, ktorý predstavuje rozdiel medzi systolickým a diastolickým tlakom. Pulzový tlak bol nameraný ako podstatne nižší počas merania po treťom a piatom týždni, než po prvom týždni vystavenia nízkym teplotám. Nebol však zistený žiadny významný rozdiel v hodnote pulzového tlaku medzi tretím a piatym týždňom v chlade. Objem krvi, plazmy a extracelulárnych tekutín bol výrazne zvýšený po týchto týždňoch vystavenia chladovým podmienkam (Obr. 6) (Zhongjie Sun et al., 1998).



Obrázok 6 Systolický a diastolický krvný tlak u neanestetizovaných potkanov pri 25 °C (kontrolná skupina) a 1,3 a 5 týždňov vystavenia chladu o teplote 5 °C. Prevzaté z (Zhongjie Sun et al., 1998).

\*p , 0.05, \*\*p , 0.01, \*\*\*p , 0.001, porovnanie s kontrolnou skupinou; 11p , 0.01, 111p , 0.001, porovnanie s 1 týždňom vystavenia chladu; nnp , 0.001, porovnanie s 3 týždňami vystavenia chladu

Niekoľko ďalších experimentov poukázalo na to, že hlodavce vystavené chladnému prostrediu ( $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) po dobu troch až štyroch týždňov zažívajú fyziologické zmeny, medzi ktoré patrí hypertenzia zahrňujúca nie len zvýšenie priemerného krvného tlaku, ale aj srdcovú hypertrofiu (Fregly et al., 1989; Papanek et al., 1990).

## 7.1. Adrenoreceptory a chlad

Bolo preukázané, že modifikácie aktivity adrenoreceptorov zohrávajú dôležitú úlohu v mechanizmoch zodpovedných za adaptáciu organizmu na chlad. Napriek tomu, že je účinok agonistu  $\beta_2$ -adrenoreceptorov v chlade nižší než za bežných teplotných podmienok organizmu, po ich podaní dochádza k zvýšeniu frekvencie srdca (približne o 60%). Na druhej strane podanie  $\beta_1$ -agonistov nemá na srdce za chladových podmienok žiadny vplyv (Janský et al., 2008).

Dlhodobé vystavenie chladu tiež vyvoláva zvýšenie koncentrácie noradrenalínu, čo sa odrazí zvýšenou prítomnosťou  $\beta$ -adrenoreceptorov, na ktoré sa noradrenalín viaže (Barney et al., 1980; Fregly et al., 1977). Stimulácia  $\beta$ -adrenoreceptorov vedie k vyššiemu uvoľňovaniu renínu z obličiek, čo samozrejme prispieva k produkcii AngII (Scammell & Fregly, 1981; Winer et al., 1969).

### 7.1.1. Hnedé tukové tkanivo

Vzhľadom na chlad a adrenergický systém má význam spomenúť aj BAT. Prirodzene sa u človeka vyskytuje v životnom štádiu novorodenca, kedy tvorí až 5 % celkovej hmotnosti tela. BAT je silne inervovaný SNS a môže byť stimulovaný agonistami  $\beta$ -adrenoreceptorov (Leitner et al., 2017). K jeho aktivácii dochádza prostredníctvom SNS za pôsobenia chladu alebo prostredníctvom agonistov  $\beta_3$ -adrenoreceptorov (Cypess et al., 2015). Bunky BAT majú veľký počet mitochondrií a cytochrómov C, ale malú aktivitu ATP-syntézy. To znamená, že pri oxidácii glukózy nevzniká primárne ATP, ale uvoľňuje sa teplo. Vďaka tomu vzniká netriašková termogenéza. V prípade, že je v tele termogenéza potrebná, postgangliové sympatické neuróny začnú uvoľňovať noradrenalín, ktorý začne pôsobiť na  $\beta$ -adrenoreceptory, čo aktivuje nenaviazaný proteín 1 (UCP1) vo vnútornej mitochondriálnej membráne. Pomocou UCP1 dôjde k odpojeniu dýchacieho reťazca, a teda protónový gradient, ktorý sa vytvára v medzi-membránovom priestore mitochondrií sa nevyužije na tvorbu ATP, ale na výrobu

tepla. Stimulácia  $\beta$ -adrenoreceptorov vedie k zvýšeniu srdcovej frekvencie. Existujú dôkazy o tom, že u zvierat je BAT pod sympatickou kontrolou a je možné ho aktivovať stimuláciou  $\beta$ -adrenoreceptorov (Vosselman et al., 2012). Na potkanoch bol pri chladovej aklimatizácii na základe metabolizmu glukózy, metabolizmu mastných kyselín, stimulácii noradrenalínu a perfúzii krvi preukázaný dvojnásobný nárast BAT (Paulus et al., 2019).

## 7.2. Natriuretické peptidy a chlad

SNS má zásadný význam pre reguláciu kardiovaskulárnych a obličkových funkcií, metabolizmu a sekrécie hormónov prostredníctvom adrenoceptorov. Vystavenie chladu prostredníctvom sympatickej aktivácie indukuje hypertenziu a hypertrofiu srdca. U potkanov s CIH bolo zistené trvalé zvýšenie SNS aktivity a zmena v reakcii na katecholamíny. Aj preto sa predpokladá, že sympatická hyperaktivita zohráva dôležitú úlohu pri vývoji CIH (Barney et al., 1980). SNS je zásadne dôležitý pre reguláciu sekrécie ANP. Na druhej strane ANP je cirkulujúcim hormónom predsieňového pôvodu, ktorý hrá dôležitú úlohu pri regulácii objemu krvi a cievného tonusu. Zmeny v objeme v srdečnej predsieni a v aktivátoroch PKC a endotelínu-1 sú najdôležitejšími faktormi ovplyvňujúcimi sekréciu ANP (Yuan et al., 2009).

Bolo preukázané, že pri chladovej aklimatizácii sa hladina mRNA ANP a plazmatická koncentrácia ANP zvýšili. V izolovaných perfúzných predsieňach potkanov vystavených chladu sa zvýšila bazálna sekrécia ANP a znížil sa pulzový tlak. Stimulácia sekrécie ANP indukovaná fenylefrínom (agonistom  $\alpha_1$ -adrenoreceptoru) a supresia sekrécie ANP vyvolaná izoproterenolom (agonistom  $\beta_1$  a  $\beta_2$ -adrenoreceptorov) boli podstatne oslabené. Výsledkom týchto poznatkov je, že chladom vyvolaná zvýšená hladina ANP v plazme a predsieni srdca je pravdepodobne kompenzačnou reakciou na zmeny hemodynamiky a rovnováhy telesných tekutín. Zároveň je predpokladané, že fenylefrínom a izoproterenolom indukovaný útlm sekrécie ANP v predsieni podchladených potkanov môže byť spôsobený znížením hladín mRNA  $\alpha_1$ - a  $\beta_1$ -adrenoreceptorov (Yuan et al., 2009).

## 8. Fyziologické zmeny kardiovaskulárneho systému ovplyvnené mechanizmom RAAS za chladových podmienok

Mozog aj obličky obsahujú vysoké hladiny mRNA  $AT_{1A}$  receptorov. Tie sú dôležité v regulácii krvného tlaku a zároveň hrajú dôležitú úlohu vo vývoji CIH a srdečnej hypertrofie (Zhongjie Sun et al., 2004). Už v staršom experimente sa predpokladalo, že práve zvýšenie produkcie AngII by mohlo byť spojené so vznikom CIH. Predpoklad bol založený na výsledkoch štúdie ACE inhibítora, kaptoprilu, ktorý zabránil zvýšeniu krvného tlaku u hlodavcov vystavených chladu (Van Bergen et al., 1990). Výsledky štúdií (Kikita & Fregly, 1982, 1983; Okuno et al., 1979) však nebolo jednoduché priamo interpretovať, preto bola súvislosť hypertenzie a chladovej aklimatizácie testovaná v ďalšej štúdií.

V štúdií, zameranej na revezibilitu CIH, po návrate hlodavcov do normálnych teplotných podmienok preukázali zmenu hmotnosti kardiovaskulárnych orgánov. Potkany boli vystavené teplote  $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  po dobu 39 dní. Po štyroch týždňoch od ukončenia vystavenia chladu sa potkanom oproti kontrolnej skupine zvýšila hmotnosť celého srdca a ľavej komory. Hmotnosť týchto orgánov u potkanov vystavených chladu bola štatisticky významne ( $p < 0,05$ ) vyššia než u kontrolných, ktoré boli celý čas udržiavané pri normálnej laboratórnej teplote  $26\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Papanek et al., 1990).

Je taktiež preukázané, že hladina pozitívneho  $\text{Na}^+$  hrá úlohu vo vývoji hypertenzie vyvolanej mineralokortikoidmi. Výsledky štúdie zameranej na vplyv množstva  $\text{Na}^+$  na vyvolanie CIH dokázali, že závislosť medzi chladom, množstvom prijatého  $\text{Na}^+$  a zvýšením krvného tlaku naozaj existuje. Zvýšenie tlaku krvi bolo proporčne úmerné zvýšeniu množstva pozitívneho  $\text{Na}^+$ . Zároveň bolo vyskúmané, že krvný tlak sa v chladných teplotných podmienkach zvýšil aj pri nízkom množstve pozitívneho  $\text{Na}^+$  (Van Bergen et al., 1992).

V ďalšej štúdií boli testované potkany, ktoré boli po dobu štyroch týždňov vystavené teplote  $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Šlo o 30 samčekov podobnej váhy (200-250g), ktorým bol v pravidelných týždenných intervaloch meraný systolický krvný tlak, váha, príjem vody a množstvo vylučovanej moči. Po dobu experimentu im bola akútne podávaná dávka AngII ( $150\text{ }\mu\text{g/kg}$ ). Výsledkom tejto štúdie bolo poukázanie na zvýšenie systolického krvného tlaku skupiny hlodavcov vystavených nízkym teplotným podmienkam a to najmä v treťom týždni experimentu. Hmotnosť obličiek, nadobličiek a hnedého tukového tkaniva (v chrbtovej oblasti) hlodavcov sa po štyroch týždňoch vystavenia chladu výrazne zvýšila oproti kontrolnej skupine. V tejto štúdií bolo poukázanie na priame prepojenie medzi systolickým krvným tlakom a odpoveďou na akútne



podanie AngII počas chladovej aklimatizácie. RAAS za chladových podmienok ovplyvnil hmotnosť orgánov primárne prepojených s touto dráhou (Freegly et al., 1990). Zároveň bolo pozorované, že plazmatické hladiny IgG protilátok boli pozitívne spojené s nárastom hladiny aldosterónu v tele, ktorý vznikol v dôsledku vystavenia chladnému prostrediu. Ďalšie výsledky poukazujú na to, že vystavenie chladu môže už do jednej hodiny vyvolať akútnu RAAS sprostredkujúcu hypertenziu, pričom táto hypertenzia sa v tele myši udrží po dobu niekoľkých hodín (Chan et al., 2018). Navyše bolo dokázané, že zvýšený tlak krvi živočíchov sa po ukončení chladovej aklimatizácie a navrátení k normálnym teplotným podmienkam (25 °C) nedokáže rýchlo vrátiť späť na bežnú hodnotu tlaku krvi, ktorú mali živočichy pred chladovou aklimatizáciou. Potkany vystavené chladu po dobu siedmich týždňov mali natoľko zvýšený krvný tlak, že po ukončení chladovej aklimatizácie sa im nevrátil na pôvodnú hodnotu (pred vystavením chladu) ani po štyroch týždňoch v normálnych teplotných podmienkach (Papanek et al., 1990).

Mimo iné bolo potvrdené, že v potkanoch, ktoré sú chronicky vystavené chladu (5 °C), sa po dobu jedného až troch týždňov vyvinie syndróm hypertenzie, zvýši sa diastolický, systolický a priemerný krvný tlak, a taktiež dôjde ku vzniku tachykardie a hypertrofie srdca počas doby podchladenia (Fregly et al., 1994; Z. Sun & Cade, 2000). Je zaujímavé, že takto vzniknutý syndróm hypertenzie je jediným prirodzene dosiahnutým, bez akéhokoľvek nadmerného použitia liekov, hormónov či genetických manipulácií.

Väčšina štúdií je zameraných na vplyv chladovej aklimatizácie na RAAS pri teplotách 5 °C ± 2 °C, pričom bola pozorovaná hypertenzia, hypertrofia a ďalšie negatívne účinky na kardiovaskulárny systém. Pri postupnej chladovej aklimatizácii s teplotou 8 °C však boli preukázané kardioprotektívne účinky RAAS. Bola zistená zvýšená tolerancia voči reperfúznemu poškodeniu myokardu a nebola pozorovaná hypertrofia ani hypertenzia. Srdcová frekvencia a stredný arteriálny krvný tlak sa nezmenili. Zároveň bola touto postupnou chladovou aklimatizáciou o tretinu redukovaná veľkosť infarktu v rizikovej oblasti (Tibenska et al., 2020).

Vystavenie chladu je sprevádzané aj ďalšími fyziologickými zmenami ako je zvýšenie termogenézy, zvýšenie príjmu vody a potravy (vzhľadom na zrýchlený metabolizmus), vyššia produkcia moču, adrenalínu a noradrenalínu a v neposlednom rade aj zvýšenie hmotnosti niektorých orgánov, ako bolo popísané vyššie (Cade et al., 1997). V štúdií Orita Shechtmana a kolegov zistili, že jedným z faktorov ovplyvňujúcich CIH je aj vek. Konkrétne prišli na to, že čím je potkan mladší, tým ľahšie sa u neho vyvinie hypertenzia v závislosti na nízkej teplote okolia v porovnaní so staršími jedincami. Zároveň prišli na to, že pre rýchle navodenie

hypertenzie je ideálna teplota chladovej aklimatizácie v teplotnom rozmedzí 5-9 °C (Shechtman et al., 1990).

## 9. Liečba kardiovaskulárnych problémov spôsobených aktivitou RAAS

Posledné desiatky rokov existuje mnoho štúdií zaoberajúcich sa ovplyvnením RAAS, ktoré cieľia na prevenciu pred kardiovaskulárnymi ochoreniami a poškodením srdca, nakoľko sú kardiovaskulárne problémy častými dôvodmi úmrtia (Ames et al., 2019). Vzhľadom na to, že krvný tlak je v určitej miere regulovaný pomocou RAAS, akákoľvek nevyváženosť v tomto systéme spôsobí zmeny arteriálneho krvného tlaku. Potlačenie RAAS je kľúčovou stratégiou pri liečení chronických kardiovaskulárnych a obličkových chorôb. Na potlačenie aktivity RAAS dráhy sa podávajú inhibítory ACE, blokátory receptorov AngII a antagonisti mineralokortikoidných receptorov (MRA), či už samostatne alebo v kombinácii (Muñoz-Durango et al., 2016).

Vývoj liekov, ktoré účinne blokujú rôzne zložky RAAS má niekoľko významných terapeutických výhod, nakoľko inhibícia RAAS pomáha pri liečbe hypertrofiie, zlyhania srdca, diabetu a ďalších patofyziologických stavov. Inhibítory RAAS predstavujú posledných 30 rokov základ liečby kardiovaskulárnych a obličkových ochorení (Mirabito Colafella et al., 2019).

Inhibítory ACE sú jedny z najpoužívanejších liečiv pri kardiovaskulárnych ochoreniach. Inhibítory ACE sú podávané ako liečivo vyžadujúce aktiváciu esterifikáciou v pečeni. Tieto liečivá znižujú nie len tvorbu AngII, ale aj degradáciu bradykinínu. Medzi najbežnejšie nepriaznivé účinky liečby inhibítormi ACE patrí kašeľ či angioedém. Ako liečivá sa používajú aj blokátory AT<sub>1</sub> receptoru, tie však na rozdiel od ACE inhibítorov žiadne vedľajšie nepriaznivé účinky nemajú. Práve naopak, pripisuje sa im čiastočne pozitívny účinok, ktorým je stimulácia AT<sub>2</sub> receptora (Ames et al., 2019). Vzhľadom na liečbu inhibítormi ACE a blokátormi AT<sub>1</sub> receptorov dochádza k zvýšenému uvoľňovaniu renínu z obličiek, nakoľko sa organizmus snaží vyrovnať účinky blokády RAAS. V dôsledku toho sa zvýši hladina renínu v plazme čím sa paralelne zvýši aj hodnota AngI v organizme (Mirabito Colafella et al., 2019).

Ďalším používaným liečivom sú MRA, ktoré blokujú efekt aldosterónu, ale neovplyvňujú na tvorbu angiotenzínov. MRA sa viažu na MR a blokujú tak väzbu aldosterónu, čím dochádza k zníženej expresii Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPázy a zníženému objemu plazmy. Medzi dva klinicky dostupné MRA patrí spironolaktón a eplerenón. V porovnaní s inými triedami diuretík sú však účinky MRA na zníženie krvného tlaku relatívne slabé (Mirabito Colafella et al., 2019).

Agonisti AT<sub>2</sub> receptorov sa tiež využívajú na liečbu spojenú s inhibíciou RAAS. Najviac študovaným agonistom AT<sub>2</sub> receptorov je zlúčenina C21, u ktorej boli hlásené priaznivé kardiovaskulárne, renálne a neurologické účinky (Mirabito Colafella et al., 2019).

Aj priame inhibítory renínu ako je aliskiren z teoretického hľadiska bránia iniciácii RAAS. V niektorých výskumoch však neboli priame inhibítory renínu preukázané ako funkčné liečivá na kardiovaskulárne ochorenia a ochorenia obličiek (Ames et al., 2019). Čo však bolo preukázané, je schopnosť aliskirenu a inhibítora AngII losartanu významne potlačiť CIH (Chan et al., 2018). Už dávnejšie bolo preukázané, že lieky, ktoré na rôznych úrovniach ovplyvňujú RAAS (propranolol, losartan, kaptopril, klonidin, spironolakton) sú schopné predísť vývoju CIH (Baron et al., 1991; Fregly et al., 1993). Ako bolo popísané už v predchádzajúcich kapitolách, endogénnymi agonistami  $\beta$ -adrenoreceptorov sú adrenalín a noradrenalín, pričom ich antagonistami sú neselektívne  $\beta$ -blokátory aprenolol a propranolol, ktoré sú často využívané pri liečbe vysokého krvného tlaku.  $\beta$ -blokátory blokujú receptory na ktoré sa noradrenalín a adrenalín viažu a tým dokážu inhibovať účinky týchto stresových hormónov (Szentmiklósi et al., 2015). Bolo preukázané, že klonidin ako agonista  $\alpha_2$ -adrenoreceptorov a inhibítor sekrécie renínu výrazne ovplyvňuje zvýšenie krvného tlaku u chladom aklimatizovaných potkanov (Baron et al., 1991).

Klasické blokátory RAAS sú už relatívne dobre zavedenými liečivami kardiovaskulárnych a obličkových chorôb. Bolo zistené, že použitie viacerých blokátorov súčasne nie je nevyhnutne efektívnejšou liečbou. Táto stratégia má za následok viacero vedľajších účinkov. Momentálne sú pre lepšiu liečbu skúmané rôzne kombinácie samotných blokátorov i blokátorov v kombinácii so stimulantmi iných hormonálnych systémov (Mirabito Colafella et al., 2019).

## 10. Záver

V tejto práci boli zhrnuté poznatky o RAAS a jeho vplyve na fyziológiu organizmu. Práca bola zameraná najmä na ovplyvnenie fyziológie srdca, a to i pri chladovej aklimatizácii o teplote 5 °C. V spojení s chladom ovplyvňujú kardiovaskulárne štruktúry aj NP a adrenergický systém.

RAAS aj za bežných teplotných podmienok môže poškodzovať srdce a kardiovaskulárny systém. Medzi jeho najnepriaznivejšie účinky patrí hypertenzia, poruchy energetického metabolizmu srdca, vaskulárna endotelová dysfunkcia, proteinuria, remodelácia myokardu a mnohé ďalšie, pričom väčšina týchto účinkov vedie až k zlyhaniu srdca.

Pri chladovej aklimatizácii (okolo 5 °C) má RAAS ešte výraznejší vplyv na srdce. To sa prejavuje vývojom CIH, zvýšením hmotnosti ľavej komory srdca a srdca samotného, zvýšením systolického a diastolického tlaku i vznikom tachykardie a hypertrofie srdca. S funkciou RAAS počas chladovej aklimatizácie sú spojené aj adrenoreceptory, ktoré sú chladom stimulované a ich zvýšená prítomnosť vedie k stimulácii RAAS kaskády, nakoľko zvyšujú uvoľňovanie renínu z obličiek. NP v chlade taktiež zohrávajú svoju úlohu, a to v hypertenzii a hypertrofii srdca prostredníctvom aktivácie SNS.

Rôznymi výskumami teda bolo preukázané, že chlad skutočne na srdce vplýva. Nižšie teploty chladovej aklimatizácie (okolo 5 °C) majú zväčša negatívne účinky na kardiovaskulárny systém. Chlad však naopak vykazuje aj kardioprotektívne účinky, ako bolo preukázané pri postupnej chladovej aklimatizácii za teploty 8 °C. Je teda zrejmé, že i malý rozdiel v teplotách chladovej aklimatizácie môže mať podstatne odlišný dopad na organizmus. Aj z toho dôvodu je téma chladovej aklimatizácie stále aktuálnym predmetom skúmania mnohých štúdií.

## 11. Bibliografia

- Alves, A. J., Eynon, N., Oliveira, J., & Goldhammer, E. (2010). RAAS and adrenergic genes in heart failure: Function, predisposition and survival implications. *World Journal of Cardiology*, 2(7), 187.
- Ames, M. K., Atkins, C. E., & Pitt, B. (2019). The renin-angiotensin-aldosterone system and its suppression. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 33(2), 363–382.\*
- Antos, L. K., & Potter, L. R. (2007). Adenine nucleotides decrease the apparent Km of endogenous natriuretic peptide receptors for GTP. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 293(6), 1756–1763.
- Aubinière-Robb, L., Jeemon, P., Hastie, C. E., Patel, R. K., McCallum, L., Morrison, D., Walters, M., Dawson, J., Sloan, W., Muir, S., Dominiczak, A. F., McInnes, G. T., & Padmanabhan, S. (2013). Blood pressure response to patterns of weather fluctuations and effect on mortality. *Hypertension*, 62(1), 190–196.
- Bader, M. (2013). ACE2, angiotensin-(1-7), and Mas: The other side of the coin. *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*, 465(1), 79–85.\*
- Bader, M., & Ganten, D. (2008). Update on tissue renin-angiotensin systems. *Journal of Molecular Medicine*, 86(6), 615–621.\*
- Barney, C. C., Katovich, M. J., Fregly, M. J., & Tyler, P. E. (1980). Changes in  $\beta$ -adrenergic responsiveness of rats during chronic cold exposure. *Journal of Applied Physiology Respiratory Environmental and Exercise Physiology*, 49(6), 923–929.
- Baron, A., Riesselmann, A., & Fregly, M. J. (1991). Effect of chronic treatment with clonidine and spironolactone on cold-induced elevation of blood pressure. *Pharmacology*, 43(4), 173–186.
- Bayorh, M. A., Rollins-Hairston, A., Adiyiah, J., Lyn, D., & Eatman, D. (2011). Eplerenone suppresses aldosterone/salt-induced expression of NOX-4. *JRAAS - Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*, 12(3), 195–201.
- Brown, J. J., Davies, D. L., Lever, A. F., & Robertson, J. I. S. (1963). Influence of Sodium Loading and Sodium Depletion on Plasma-Renin in Man. *The Lancet*, 282(7302), 278–279.
- Burnier, M. M. (2001). Angiotensin II Type 1 Receptor Blockers. *Cardiovascular Drugs*, 9, 904–912.\*
- Cade, J. R., Sun, Z., & Fregly, M. J. (1997). Cold-Induced Hypertension. A model of mineralocorticoid-induced hypertension. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 813(352), 682–688.
- Campbell, D. J., & Habener, J. F. (1986). Angiotensinogen gene is expressed and differentially regulated in multiple tissues of the rat. *Journal of Clinical Investigation*, 78(1), 31–39.
- Carrell, R., & Travis, J. (1985).  $\alpha$ 1-Antitrypsin and the serpins: variation and countervariation. *Trends in Biochemical Sciences*, 10(1), 20–24.
- Chan, H., Huang, H. S., Sun, D. S., Lee, C. J., Lien, T. S., & Chang, H. H. (2018). TRPM8

- and RAAS-mediated hypertension is critical for cold-induced immunosuppression in mice. *Oncotarget*, 9(16), 12781–12795.
- Cholewa, B. C., & Mattson, D. L. (2001). Role of the renin-angiotensin system during alterations of sodium intake in conscious mice. *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 281(3 50-3), 987–993.
- Chun, T. H., Itoh, H., Ogawa, Y., Tamura, N., Takaya, K., Igaki, T., Yamashita, J., Doi, K., Inoue, M., Masatsugu, K., Korenaga, R., Ando, J., & Nakao, K. (1997). Shear Stress Augments Expression of C-type Natriuretic Peptide and Adrenomedullin. *Hypertension*, 29(6), 1296–1302.
- Crowley, S. D., Gurley, S. B., Herrera, M. J., Ruiz, P., Griffiths, R., Kumar, A. P., Kim, H. S., Smithies, O., Le, T. H., & Coffman, T. M. (2006). Angiotensin II causes hypertension and cardiac hypertrophy through its receptors in the kidney. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(47), 17985–17990.
- Cypess, A. M., Weiner, L. S., Roberts-toler, C., Elia, E. F., Kessler, H., Kahn, P. A., English, J., Chatman, K., Trauger, S. A., Doria, A., & Kolodny, G. M. (2015). Activation of Human Brown Adipose Tissue by a  $\beta$ 3-Adrenergic Receptor Agonist. *Cell Metabolism*, 21(1), 33–38.
- Dai, D.-F., Johnson, S. C., Villarin, J. J., & Chin, M. T. (2011). Mitochondrial oxidative stress mediates Angiotensin II-induced cardiac hypertrophy and Gαq overexpression-induced heart failure. *Circulation Research*, 108(7), 837–846.
- Davis O., J., & Freeman H., R. (1976). Mechanisms Regulating Renin Release. *Physiological Reviews*, 56(1), 1–56.
- de Bold, A. J., Borenstein, H. B., Veress, A. T., & Sonnenberg, H. (1981). A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sciences*, 28(1), 89–94.
- de Gasparo, M., Whitebread, S., Mele, M., Whitcombe, P. J., Ramjoué, H. ., & Kamber, B. (1990). Biochemical characterization of two angiotensin II receptor subtypes in the rat. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 16, 4:S31-5.
- Do, Y. S., Shinagawa, T., Tam, H., Inagami, T., & Hsueh, W. A. (1987). Characterization of pure human renal renin. Evidence for a subunit structure. *Journal of Biological Chemistry*, 262(3), 1037–1043.
- Donoghue, M., Hsieh, F., Baronas, E., Godbout, K., Gosselin, M., Stagliano, N., Donovan, M., Woolf, B., Robison, K., Jeyaseelan, R., Breitbart, R. E., & Acton, S. (2000). A Novel Angiotensin-Converting Enzyme – Related to Angiotensin 1-9. *Circulation Research*, 87(5), 1–10.
- Dzau, V. J. (1987). Implications of local angiotensin production in cardiovascular physiology and pharmacology. *The American Journal of Cardiology*, 59(2), 59A-65A.
- Freegly, M. J., Shechtman, O., Bergen, P. van, Reeber, C., & Papanek, P. E. (1990). Changes in blood pressure and dipsogenic responsiveness to angiotensin II during chronic exposure of rats to cold. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 38(4), 837–842.
- Fregly, M. J., Field, F. P., Nelson, E. L., Tyler, P. E., & Dasler, R. (1977). Effect of chronic exposure to cold on some responses to catecholamines. *Journal of Applied Physiology Respiratory Environmental and Exercise Physiology*, 42(3), 349–354.

- 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.
- Fregly, M. J., Rossi, F., Brummermann, M., & Cade, J. R. (1993). Effect of chronic treatment with losartan potassium (Dup 753) on the elevation of blood pressure during chronic exposure of rats to cold. *Pharmacology*, *46*(4), 198–205.
- Fregly, M. J., Rossi, F., Sun, Z., Tumer, N., Cade, R., Hegland, D., & Yurekli, M. (1994). Effect of chronic treatment with prazosin and L-arginine on the elevation of blood pressure during cold exposure. *Pharmacology*, *49*(6), 351–362.
- Fu, Y., Ge, S., Qiu, X., Cui, R., Zhang, C., Xu, X., Feng, J., Bai, J., Sun, M., & Liu, W. (2020). Effect of sample delivery conditions on Renin- Angiotensin-Aldosterone System ( RAAS ) assay. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, *5513*, 1–7.
- Fujii, Y., Ishino, K., Tomii, T., Kanamitsu, H., Fujita, Y., Mitsui, H., & Sano, S. (2012). Atrionatriuretic Peptide Improves Left Ventricular Function After Myocardial Global Ischemia-Reperfusion in Hypoxic Hearts. *Artificial Organs*, *36*(4), 379–386.
- Giacconi, S., Ghione, S., Palombo, C., Genovesi-Ebert, A., Marabotti, C., Fommei, E., & Donato, L. (1989). Seasonal influences on blood pressure in high normal to mild hypertensive range. *Hypertension*, *14*(1), 22–27.
- Grady, E. F., Sechi, L. A., Griffin, C. A., Schambelan, M., & Kalinyak, J. E. (1991). Expression of AT<sub>2</sub> receptors in the developing rat fetus. *Journal of Clinical Investigation*, *88*(3), 921–933.
- Griffin, S. A., Brown, W. C. B., MacPherson, F., McGrath, J. C., Wilson, V. G., Korsgaard, N., Mulvany, M. J., & Lever, A. F. (1991). Angiotensin II causes vascular hypertrophy in part by a non-pressor mechanism. *Hypertension*, *17*(5), 626–635.
- Hamet, P., Tremblay, J., Pang, C. S., Garcia, R., Thibault, G., Gutkowska, J., Cantin, M., & Genes, J. (1984). Effect of native and synthetic atrial natriuretic factor on cyclic GMP. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *123*(2), 515–527.
- Harris, P. J., Thomas, D., & Morgan, T. O. (1987). Atrial natriuretic peptide inhibits angiotensin-Stimulated proximal tubular sodium and water reabsorption. *Nature*, *326*(6114), 697–698.
- Hein, L., Dzau, V. J., & Barsh, G. S. (1995). Linkage Mapping of the Angiotensin AT<sub>2</sub>Receptor Gene (Agtr2) to the Mouse X Chromosome. *Genomics*, *30*(2), 369–371.
- Helmer, O. M. (1957). Differentiation between two forms of angiotonin by means of spirally cut strips of rabbit aorta. *The American Journal of Physiology*, *188*(3), 571–577.
- Hilchey, S. D., & Bell-Quilley, C. P. (1995). Association Between the Natriuretic Action of Angiotensin-(1-7) and Selective Stimulation of Renal Prostaglandin I<sub>2</sub> Release. *Hypertension*, *25*, 1238–1244.
- Ichiki, T., Labosky, P. A., Shiota, C., Okuyama, S., Imagawa, Y., Fogo, A., Niimura, F., Ichikawa, I., Hogan, B. L. M., & Inagami, T. (1995). Effects on blood pressure and exploratory behaviour of mice lacking angiotensin II type-2 receptor. In *Nature* (Vol. 377, Issue 6551, pp. 748–750).



- Imai, T., Miyazaki, H., Hirose, S., Hori, H., Hayashi, T., Kageyama, R., Ohkubo, H., Nakanishi, S., & Murakami, K. (1983). Cloning and sequence analysis of cDNA for human renin precursor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 80(24 I), 7405–7409.
- Ito, M., Oliverio, M. I., Mannon, P. J., Best, C. F., Maeda, N., Smithies, O., & Coffman, T. M. (1995). Regulation of blood pressure by the type 1A angiotensin II receptor gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(8), 3521–3525.
- Iwai, N., & Inagami, T. (1992). Identification of two subtypes in the rat type I angiotensin II receptor. *FEBS Letters*, 298(2–3), 257–260.
- Jaisser, F., & Farman, N. (2016). Emerging roles of the mineralocorticoid receptor in pathology: Toward new paradigms in clinical pharmacology. *Pharmacological Reviews*, 68(1), 49–75.\*
- Jan Danser, A. H., Batenburg, W. W., & van Esch, J. H. M. (2007). Prorenin and the (pro)renin receptor - An update. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 22(5), 1288–1292.
- Janský, L., Vybíral, S., Truba, M., & Okrouhlik, J. (2008). Modulation of adrenergic receptors and adrenergic functions in cold adapted humans. *European Journal of Applied Physiology*, 104(2), 131–135.
- Johnston, C. I. (1990). Biochemistry and Pharmacology of the Renin-Angiotensin System. *Drugs*, 39(1), 21–31.
- Johnston, C. I. (1992). Franz Volhard Lecture. Renin-angiotensin system: a dual tissue and hormonal system for cardiovascular control. *Journal of Hypertension. Supplement : Official Journal of the International Society of Hypertension*, 10(7), S13–26.
- Jozwiak, K., Toll, L., Jimenez, L., Woo, A. Y.-H., Xiao, R.-P., & Wainer, I. W. (2010). The effect of stereochemistry on the thermodynamic characteristics of the binding of fenoterol stereoisomers to the  $\beta$ 2-adrenoceptor. *Biochemical Pharmacology*, 79(11), 1610–1615.
- Kaumann, A., Bartel, S., Molenaar, P., Sanders, L., Burrell, K., Vetter, D., Hempel, P., Karczewski, P., & Krause, E. (1999). Activation of  $\beta$ 2 -Adrenergic Receptors Hastens Relaxation and Mediates Phosphorylation of Phospholamban, Troponin I, and C-Protein in Ventricular Myocardium From Patients With Terminal Heart Failure. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 386, 353–356.
- Kemp, B. A., Howell, N. L., Keller, S. R., Gildea, J. J., Shao, W., Navar, L. G., & Carey, R. M. (2019). Defective Renal Angiotensin III and AT2 Receptor Signaling in Prehypertensive Spontaneously Hypertensive Rats. *Journal of the American Heart Association*, 8(9), 1–17.
- Kikta, D. C., & Fregly, M. J. (1982). Effect of in vitro administration of captopril on vascular reactivity of rat aorta. *Hypertension*, 4(1), 118–124.
- Kikta, D. C., & Fregly, M. J. (1983). Effect of chronic treatment with captopril on reactivity of aortic smooth muscle from normotensive and renal hypertensive rats. *Journal of Hypertension*, 8(3), 267–275.
- Kitami, Y., Okura, T., Marumoto, K., Wakamiya, R., & Hiwada, K. (1992). Differential Gene

- Expression and Regulation of Type-I Angiotensin II Receptor Subtypes in the Rat. *Journal of Clinical Investigation*, 93(4), 1592–1601.
- Lazard, D., Briend-Sutren, M. M., Villageois, P., Mattei, M. G., Strosberg, A. D., & Nahmias, C. (1994). Molecular characterization and chromosome localization of a human angiotensin II AT2 receptor gene highly expressed in fetal tissues. *Receptors & Channels*, 2(4), 271—280.
- le Tran, Y., & Forster, C. (1997). Angiotensin-(1-7) and the Rat Aorta: Modulation by the Endothelium. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 30(5), 676–682.
- Leitner, B. P., Huang, S., Brychta, R. J., Duckworth, C. J., Baskin, A. S., McGehee, S., Tal, I., Dieckmann, W., Gupta, G., Kolodny, G. M., Pacak, K., Herscovitch, P., Cypess, A. M., & Chen, K. Y. (2017). Mapping of human brown adipose tissue in lean and obese young men. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(32), 8649–8654.
- Maisel, A. S., Krishnaswamy, P., Nowak, R. M., McCord, J., Hollander, J. E., Duc, P., Omland, T., Storrow, A. B., Abraham, W. T., Wu, A. H. B., Clopton, P., Steg, P. G., Westheim, A., Knudsen, C. W., Perez, A., Kazanegra, R., Herrmann, H. C., & McCullough, P. A. (2002). Rapid measurement of B-type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure. *New England Journal of Medicine*, 347(3), 161–167.
- Marin-Grez, M., Fleming, J. T., & Steinhausen, M. (1986). Atrial natriuretic peptide causes pre-glomerular vasodilatation and post-glomerular vasoconstriction in rat kidney. *Nature*, 324(6096), 473–476.
- Ménard, J., Bouhnik, J., Clauser, E., Richoux, J. P., & Corvol, P. (1983). Biochemistry and regulation of angiotensinogen. *Clinical and Experimental Hypertension*, 5(7–8), 1005–1019.
- Mennuni, S., Rubattu, S., Pierelli, G., Tocci, G., Fofi, C., & Volpe, M. (2014). Hypertension and kidneys: Unraveling complex molecular mechanisms underlying hypertensive renal damage. *Journal of Human Hypertension*, 28(2), 74–79.\*
- Milliez, P., Girerd, X., Plouin, P. F., Blacher, J., Safar, M. E., & Mourad, J. J. (2005). Evidence for an increased rate of cardiovascular events in patients with primary aldosteronism. *Journal of the American College of Cardiology*, 45(8), 1243–1248.
- Mirabito Colafella, K. M., Bovée, D. M., & Danser, A. H. J. (2019). The renin-angiotensin-aldosterone system and its therapeutic targets. *Experimental Eye Research*, 186, 107680.\*
- Molenaar, P., Bartel, S., Cochrane, A., Vetter, D., Jalali, H., Pohlner, P., Burrell, K., Karczewski, P., Krause, E. G., & Kaumann, A. (2000). Both  $\beta$ 2- and  $\beta$ 1-adrenergic receptors mediate hastened relaxation and phosphorylation of phospholamban and troponin I in ventricular myocardium of fallot infants, consistent with selective coupling of  $\beta$ 2-adrenergic receptors to G(s)-protein. *Circulation*, 102(15), 1814–1821.
- Mukoyama, M., Nakao, K., Hosoda, K., Suga, S. I., Saito, Y., Ogawa, Y., Shirakami, G., Jougasaki, M., Obata, K., Yasue, H., Kambayashi, Y., Inouye, K., & Imura, H. (1991). Brain natriuretic peptide as a novel cardiac hormone in humans: Evidence for an exquisite dual natriuretic peptide system, atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide. *Journal of Clinical Investigation*, 87(4), 1402–1412.

- Muñoz-Durango, N., Fuentes, C. A., Castillo, A. E., González-Gómez, L. M., Vecchiola, A., Fardella, C. E., & Kalergis, A. M. (2016). Role of the renin-angiotensin-aldosterone system beyond blood pressure regulation: Molecular and cellular mechanisms involved in end-organ damage during arterial hypertension. *International Journal of Molecular Sciences*, *17*(7), 1–17.\*
- Nagatsu, I., Gillespie, L., Folk, J. E., & Glenner, G. G. (1965). Serum aminopeptidases, “angiotensinase,” and hypertension-I. Degradation of angiotensin II by human serum. *Biochemical Pharmacology*, *14*(5), 721–728.
- Nguyen Dinh Cat, A., & Touyz, R. M. (2011). A new look at the renin-angiotensin system - Focusing on the vascular system. *Peptides*, *32*(10), 2141–2150.\*
- Nushiro, N., Ito, S., & Carretero, O. A. (1990). Renin release from microdissected superficial, midcortical, and juxtamedullary afferent arterioles in rabbits. *Kidney International*, *38*(3), 426–431.
- Ohkubo, H., Kageyama, R., Ujihara, M., Hirose, T., Inayama, S., & Nakanishi, S. (1983). Cloning and sequence analysis of cDNA for rat angiotensinogen. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *80*(8 I), 2196–2200.
- Okuno, T., Kondo, R., Konishi, K., Kato, E., & Saruta, T. (1979). SQ 14225 attenuates the vascular response to norepinephrine in the rat mesenteric arteries. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *91*(2), 498–501.
- Page, I. H., & Helmer, O. M. (1940). A crystalline pressor substance (angiotonin) resulting from the reaction between renin and renin-activator. *Journal of Experimental Medicine*, *71*(1), 29–42.
- Papanek, P. E., Shechtman, O., & Fregly, M. J. (1990). Reversibility of cold-induced hypertension after removal of rats from cold. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, *68*(7), 830–835.
- Paul, M., Mehr, A. P., & Kreutz, R. (2006). Physiology of local renin-angiotensin systems. *Physiological Reviews*, *86*(3), 747–803.\*
- Paulus, A., van Ewijk, P. A., Nascimento, E. B. M., De Saint-Hubert, M., Hendriks, G., Vogg, A., Pooters, I., Schnijderberg, M., Vanderlocht, J., Bos, G., Brans, B., Schrauwen-Hinderling, V. B., Mottaghy, F. M., & Bauwens, M. (2019). Characterization of BAT activity in rats using invasive and non-invasive techniques. *PLoS ONE*, *14*(5), 1–18.
- Pfeifer, C. A., Suzuki, F., & Jackson, E. K. (1995). Selective A1 adenosine receptor antagonism augments  $\beta$ -adrenergic- induced renin release in vivo. *American Journal of Physiology - Renal Fluid and Electrolyte Physiology*, *269*(4), F469-79.
- Phillips, M. I., & Sumners, C. (1998). Angiotensin II in central nervous system physiology. *Regulatory Peptides*, *78*(1–3), 1–11.\*
- Potter, L. R., Abbey-Hosch, S., & Dickey, D. M. (2006). Natriuretic peptides, their receptors, and cyclic guanosine monophosphate-dependent signaling functions. *Endocrine Reviews*, *27*(1), 47–72.\*
- Rosenthal, J. H., Pfeifle, B., Michailov, M. L., Pschorr, J., Jacob, I. C. M., & Dahlheim, H. (1984). Investigations of components of the renin-angiotensin system in rat vascular tissue. *Hypertension*, *6*(3), 383–390.

- Rossi, G., Rossi, A., Zanin, L., Calabro, A., Crepaldi, G., & Pessina, A. C. (1993). Prevalence of extracranial carotid artery lesions at duplex in primary aldosteronism. *American Journal of Hypertension*, 6(1), 8–14.
- Scammell, J. G., & Fregly, M. J. (1981). Attenuation of Isoproterenol-Stimulated Plasma Renin Activity by Chronic Estrogen Treatment. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 167(1), 117–121.
- Schiavone, M. T., Santos, R. A. S., Brosnihan, K. B., Khosla, M. C., & Ferrario, C. M. (1988). Release of vasopressin from the rat hypothalamo-neurohypophysial system by angiotensin-(1-7) heptapeptide. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85(11), 4095–4098.
- Semeri, G. G. N., Boddi, M., Cecioni, I., Vanni, S., Coppo, M., Papa, M. L., Bandinelli, B., Bertolozzi, I., Polidori, G., Toscano, T., Maccherini, M., & Modesti, P. A. (2001). Cardiac angiotensin II formation in the clinical course of heart failure and its relationship with left ventricular function. *Circulation Research*, 88(9), 961–968.
- Shechtman, O., Fregly, J., & Papanek, P. E. (1990). Factors Affecting Cold-Induced Hypertension. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 195(3), 364–368.
- Siemens, I. R., Reagan, L. P., Yee, D. K., & Fluharty, S. J. (1994). Biochemical Characterization of Two Distinct Angiotensin AT2 Receptor Populations in Murine Neuroblastoma N1E-115 Cells. *Journal of Neurochemistry*, 62(6), 2106–2115.
- Skeggs, L. T., Kahn, J. R., & Shumway, N. P. (1956). The Preparation and function of the hypertensin converting enzyme. *Journal of Experimental Medicine*, 103(3), 295–299.
- Skidgel, R. A., Engelbrecht, S., Johnson, A. R., & Erdős, E. G. (1984). Hydrolysis of substance P and neurotensin by converting enzyme and neutral endopeptidase. *Peptides*, 5(4), 769–776.
- Skøtt, O., & Briggs, J. P. (1987). Direct demonstration of macula densa - Mediated renin secretion. *Science*, 237(4822), 1618–1620.
- Soffer, R. L. (1976). Angiotensin-Converting Enzyme and the Regulation of Vasoactive Peptides. *Annual Review of Biochemistry*, 45(1), 73–94.
- Spät, A., & Hunyady, L. (2004). Control of Aldosterone Secretion: A Model for Convergence in Cellular Signaling Pathways. *Physiological Reviews*, 84(2), 489–539.\*
- Sudoh, T., Kangawa, K., Minamino, N., & Matsuo, H. (1988). A new natriuretic peptide in porcine brain. *Nature*, 332(6159), 78–81.
- Sudoh, T., Minamino, N., Kangawa, K., & Matsuo, H. (1988). Brain natriuretic peptide-32: N-terminal six amino acid extended form of brain natriuretic peptide identified in porcine brain. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 155(2), 726–732.
- Sun, Z., & Cade, R. (2000). Cold-induced hypertension and diuresis. *Journal of Thermal Biology*, 25(1–2), 105–109.
- Sun, Zhongjie, Cade, R., Katovich, M. J., & Fregly, M. J. (1998). Body fluid distribution in rats with cold-induced hypertension. *Physiology and Behavior*, 65(4–5), 879–884.
- Sun, Zhongjie, Cade, R., & Morales, C. (2002). Role of central angiotensin II receptors in

- cold-induced hypertension. *American Journal of Hypertension*, 15(11), 85–92.
- Sun, Zhongjie, Wang, X., Wood, C. E., & Cade, J. R. (2004). Genetic AT1A receptor deficiency attenuates cold-induced hypertension. *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 288(2 57-2), R433–R439.
- Szentmiklósi, A. J., Szentandrassy, N., Hegyi, B., Horváth, B., Magyar, J., & Nánási, P. P. (2015). Chemistry, Physiology, and Pharmacology of  $\beta$ -Adrenergic Mechanisms in the Heart. Why are  $\beta$ -Blocker Antiarrhythmics Superior? *Current Pharmaceutical Design*, 21(8), 1030–1041.\*
- Thomas, W. G., Greenland, K. J., Shinkel, T. A., & Sernia, C. (1992). Angiotensinogen is secreted by pure rat neuronal cell cultures. *Brain Research*, 588(2), 191–200.
- Thomas, W. G., & Sernia, C. (1988). Immunocytochemical localization of angiotensinogen in the rat brain. *Cell and Tissue Research*, 25(1), 319–341.
- Thrasher, T. N., Chen, H. G., & Keil, L. C. (2000). Arterial baroreceptors control plasma vasopressin responses to graded hypotension in conscious dogs. *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 278(2 47-2), 469–475.
- Tibenska, V., Benesova, A., Vebr, P., Liptakova, A., Hejnová, L., Elsnicová, B., Drahotka, Z., Hornikova, D., Galatík, F., Kolar, D., Vybiral, S., Alánová, P., Novotný, J., Kolar, F., Novakova, O., & Zurmanova, J. M. (2020). Gradual cold acclimation induces cardioprotection without affecting  $\beta$ -adrenergic receptor-mediated adenylyl cyclase signaling. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 128(4), 1023–1032.
- Tipnis, S. R., Hooper, N. M., Hyde, R., Karran, E., Christie, G., & Turner, A. J. (2000). A human homolog of angiotensin-converting enzyme: Cloning and functional expression as a captopril-insensitive carboxypeptidase. *Journal of Biological Chemistry*, 275(43), 33238–33243.
- Tobian, L., Tomboulian, A., & Janecek, J. (1959). The effect of high perfusion pressures on the granulation of juxtaglomerular cells in an isolated kidney. *The Journal of Clinical Investigation*, 38(4), 605–610.
- Van Bergen, P., Fregly, M. J., & Papanek, P. E. (1992). Effect of a reduction in sodium intake on cold-induced elevation of blood pressure in the rat. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 200(4), 472–479.
- Van Bergen, P., Shechtman, O., Fregly, M. J., & Papanek, P. E. (1990). Prevention of cold-induced increase in blood pressure of rats by captopril. *Hypertension*, 17(6), 763–770.
- Volpe, M., Carnovali, M., & Mastromarino, V. (2016). The natriuretic peptides system in the pathophysiology of heart failure: From molecular basis to treatment. *Clinical Science*, 130(2), 57–77.\*
- Vosselman, M. J., Van Der Lans, A. A. J. J., Brans, B., Wierds, R., Van Baak, M. A., Schrauwen, P., & Van Marken Lichtenbelt, W. D. (2012). Systemic  $\beta$ -adrenergic stimulation of thermogenesis is not accompanied by brown adipose tissue activity in humans. *Diabetes*, 61(12), 3106–3113.
- Wijeyaratne, C. N., & Moul, P. J. (1993). The Effect of Alpha Human Atrial Natriuretic Peptide on Plasma Volume and Vascular Permeability in Normotensive Subjects. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 76(2), 343–346.

- Winer, N., Freedman, A. D., Chokshi, S. D., & Yoon, M. S. (1969). Adrenergic Receptor Mediation of Renin Secretion. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 29(9), 1168–1175.
- Wright, J. W., Yamamoto, B. J., & Harding, J. W. (2008). Angiotensin receptor subtype mediated physiologies and behaviors: New discoveries and clinical targets. *Progress in Neurobiology*, 84(2), 157–181.\*
- Yang, H. Y. T., Erdös, E. G., & Levin, Y. (1970). A dipeptidyl carboxypeptidase that converts angiotensin I and inactivates bradykinin. *BBA - Protein Structure*, 214(2), 374–376.
- Yuan, K., Jin, X., Park, W. H., Kim, J. H., Park, B. H., & Kim, S. H. (2009). Modification of atrial natriuretic peptide system in cold-induced hypertensive rats. *Regulatory Peptides*, 154(1–3), 112–120.