

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Chemie

Chemie a biologie se zaměřením na vzdělávání



Pavčina Zajčková

Kardioprotektivní účinky adaptace na pravidelnou fyzickou zátěž
Cardioprotective effects of regular exercise training

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Jan Neckář, Ph.D.

Praha, 2011

Prohlášení:

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

V Praze, 8.5.2011

Podpis

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala svému školiteli RNDr. Janu Neckářovi, PhD. za trpělivost, vstřícnost a čas, které mi při psaní této práce věnoval. Dále bych chtěla poděkovat své rodině, která mě ve studiu vždy podporovala.

Abstrakt

Ischemicko-reperfúzní poškození myokardu je jednou z hlavních příčin úmrtnosti v důsledku kardiovaskulárních onemocnění. Vzhledem k tomu, že každým rokem přibývá stále více pacientů s tímto onemocněním, je předmětem zájmu klinické i experimentální kardiologie vytvoření programu prevence. Jednou z možností je pravidelná fyzická aktivita, jejíž ochranný vliv na ischemický myokard byl opakovaně prokázán. Stále, ale není určeno, jaký druh fyzické aktivity a intenzita jsou nejvhodnější. Další neznámou jsou mechanismy, které jsou za ochranu srdce vyvolanou pravidelnou fyzickou zátěží zodpovědné.

Tato práce je zaměřena na ischemickou chorobu srdeční, možné způsoby tréninku a potenciální mechanismy navozující zvýšenou odolnost srdce k ischemii.

Klíčová slova: srdce, ischemie/reperfúze, fyzická zátěž

Abstract

Ischemia-reperfusion myocardial injury is one of the main causes of death as a result of cardiovascular disease. Creation of a programme aimed at prevention attracts attention because number of patients suffering from this disease is increasing. One possibility is a regular physical activity whose positive effect on ischemic myocardium has been confirmed by empirical evidence. On the other hand we still do not know what activities are the most suitable and which intensity is the best for our health. Mechanisms which are created by regular exercise and contribute to heart protection have not been fully identified yet.

The objective of this paper is to discover potential mechanisms and describe their role in protecting our heart. Moreover, it deals with possible ways of training which could activate such mechanisms and thus reduce significantly the risk of myocardial injury.

Keywords: heart, ischemia/reperfusion, physical activity

Seznam použitých zkratek

Acetyl-CoA	Acetylkoenzym A
Acyl-CoA	Acyloenzym A
ATP	Adenosintrifosfát
CuZnSOD	Měď, zinek superoxid dismutáza
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
FAD ⁺	Flavinadenindinukleotid oxidovaný
FADH ₂	Flavinadenindinukleotid redukovaný
HSF („heat shock factor“)	Transkripční faktor teplotního stresu
HSP („heat shock protein“)	Protein teplotního stresu
ICHS	Ischemická choroba srdeční
I/R	Ischemicko/reperfúzní
K _{ATP}	ATP závislý draslíkový kanál
mitoK _{ATP}	K _{ATP} na mitochondriální membráně
MK	Mastné kyseliny
MnSOD	Nikotinamidadenindinukleotid oxidovaný
NAD ⁺	Mangan superoxid dismutáza
NADH	Nikotinamidadenindinukleotid redukovaný
NADP ⁺	Nikotinamidadenindinukleotidfosfát oxidovaný
NADPH	Nikotinamidadenindinukleotidfosfát redukovaný
O ₂ ⁻	Oxidový radikál
PKA	Proteinkináza A
PKC	Proteinkináza C
ROS („reactive oxygen species“)	Reaktivní formy kyslíku
sarcK _{ATP}	K _{ATP} na sarkolemální membráně
SOD	Superoxid dismutáza

Obsah

1	Úvod.....	8
2	Ischemie	9
2.1	Metabolismus.....	9
2.2	Změny vyvolané ischemií.....	10
2.3	Změny vyvolané reperfúzí.....	12
2.4	Ireverzibilní změny při I/R poškození	13
2.5	Projevy ischemického poškození.....	13
3	Cvičení a kardioprotekce	15
4	Zvířecí modely a způsoby tréninku.....	16
4.1	Hlodavci.....	16
4.2	Ostatní savci	17
5	Mechanismy, které mohou být příčinou kardioprotekce	18
5.1	Koronární oběh a angiogeneze	18
5.2	Proteiny teplotního stresu (HSP)	18
5.3	Antioxidanty	19
5.3.1	SOD.....	19
5.4	Draslíkové kanály závislé na ATP (K_{ATP}).....	20
6	Závěr	22
7	Použitá literatura	23

1 Úvod

Kardiovaskulární onemocnění, mezi které řadíme ischemickou chorobu srdeční (ICHS) nebo mozkovou mrtvici, patří k nejčastějším příčinám úmrtí nejen v Evropě, ale i v ostatních vyspělých státech světa. Hlavními příčinami jsou zhoršující se životní styl a prostředí, ve kterém žijeme. Každým rokem se počet pacientů s těmito onemocněními zvyšuje, a proto jsou prevence a léčba jednou z priorit současného zdravotnictví, ale i biomedicínského výzkumu. Nejúspěšnější strategií jak s touto chorobou bojovat, je ji předcházet.

Již v druhé polovině 18. století bylo pozorováno, že cvičení (fyzický trénink) může snížit počet rizikových faktorů způsobujících kardiovaskulární onemocnění. Ale skutečnost, že pravidelná fyzická zátěž může být kardioprotektivní, začala být brána vážně až v druhé polovině 20. století (Powell et al., 1987). Od té doby je předmětem zkoumání pravidelná fyzická zátěž, jejímž výsledkem je aktivace molekulárně-biologických mechanismů snižující poškození srdce v důsledku ischemie/reperfúze (I/R).

Cílem této bakalářské práce bylo shrnout poznatky o možných způsobech ochrany srdce před ICHS pravidelnou fyzickou zátěží a nastínit některé potenciální mechanismy odpovědné za zmenšení následků způsobených I/R.

2 Ischemie

ICHS vzniká jako důsledek mnoha rizikových faktorů a často se vyskytuje společně s jinými onemocněními, které mají metabolické účinky na srdce a mohou vyvolat jeho poškození (Ferdinandy et al., 2007). Je to stav, kdy není zajištěno dostatečné zásobení tkání kyslíkem a živinami a nejsou v dostatečné míře odplavovány metabolity v důsledku omezení perfúze, což vede k okamžitým metabolickým a s prodlužující dobou trvání ischemie i strukturálním změnám buněk (Halestrap et al., 2004). Ischemie je vždy charakterizována regionálně, neboť dochází k postupnému nebo náhlému uzavření koronární tepny nebo její větve. Okluze může být vyvolána embolií, trombózou nebo spasem koronární tepny, zatímco pomalý nárůst aterosklerotického plátu ve stěně tepny má za následek její postupné uzavírání.

Ischemie může být následována reperfúzí, obnovení toku krve. Pokud dojde k reperfuzi v krátkém časovém horizontu od jejího uzavření (minuty), změny vzniklé v důsledku ischemie jsou reverzibilní. Pokud doba trvání ischemie přesáhne desítky minut, změny jsou považovány za nevratné, ireverzibilní. To znamená, že i když dojde k obnovení průtoku krve, dochází k umírání buněk. Míra poškození je dána řadou faktorů např. velikostí ohrožené plochy, dobou trvání ischemie, teplotou myokardu. (Ferdinandy et al. 2007, Halestrap et al., 2004).

2.1 Metabolismus

Energie je nepostradatelnou pro všechny životní pochody v buňkách (Bytešník et al., 2002). Srdeční buňka získává energii především oxidací mastných kyselin (MK), glukózy a jejich metabolitů, např. ketolátek a laktátu. Buňky myokardu získávají tyto živiny z krve, v níž se octnou po vyplavení ze zásobních forem (triacylglyceroly tukové tkáně, jaterní glykogen), po vyplavení z jater (ketolátky) nebo ze svalů (laktát). Poté jsou v kardiomyocytech odbourávány na látky jednodušší, případně jsou skladovány v zásobní formě triacylglycerolů nebo glykogenu. Zásoby těchto živin však mají energetický význam jen na velmi krátkou dobu, několik desítek sekund, maximálně minut (Gregor a Widimský, 1999).

Triacylglyceroly jsou v plazmě hydrolyzovány na MK, neboť přicházejí z krevního řečiště ve formě nízkodenzitních lipoproteinů nebo chylomikronů. MK jsou v buňce s koenzymem A esterifikovány na acylkoenzym A (acyl-CoA) nebo s glycerolem na triacylglyceroly. Aby MK mohly projít vnitřní membránou mitochondrie, musí se navázat na

karnitin a vytvořit acylkarnitin. Po vstupu do mitochondrie je acylkarnitin rozštěpen za vzniku karnitinu a acyl-CoA, který následně vstupuje do Krebsova cyklu kde je postupně oxidován, z kofaktorů FAD^+ , NAD^+ a NADP^+ vznikají jejich redukované formy, tj. FADH_2 , NADH a NADPH , které následně vstupují do dýchacího řetězce. (Ošťádal a Vízek, 2003).

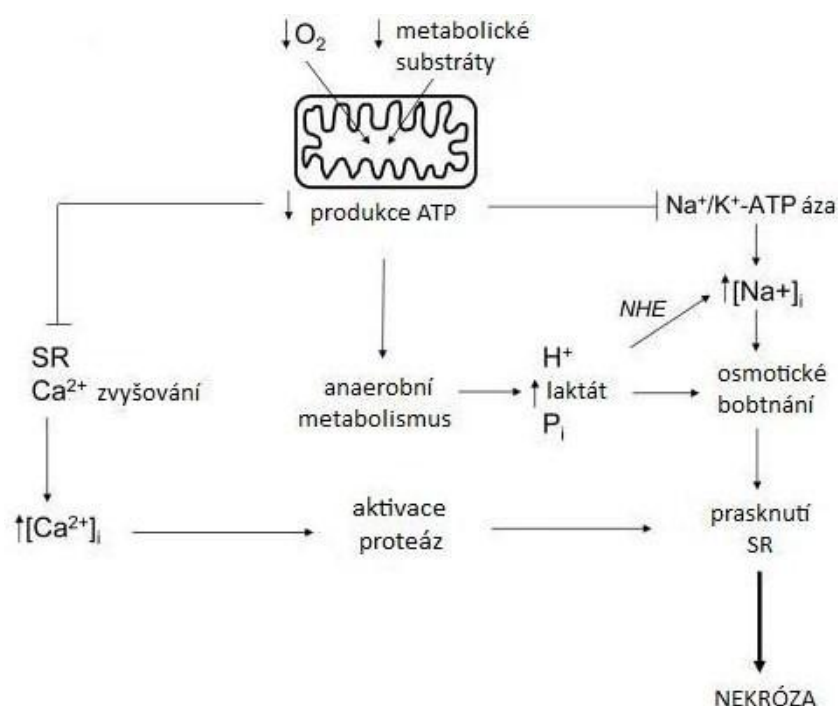
Glukóza se v buňce vyskytuje ve formě zásobního glykogenu a může být podrobena anaerobní glykolýze až na pyruvát, z něhož se tvoří acetylkoenzym A (acetyl-CoA), který vstupuje do mitochondrií a poté do Krebsova cyklu. Při oxidativní fosforylaci se vytvoří 38 molekul ATP, zatímco při anaerobní glykolýze pouze 2 molekuly ATP. Pouze s malým výtěžkem, ale přesto může glykolýza probíhat i za nedostatku kyslíku na rozdíl od oxidace MK, které kyslík vyžadují (Bytešník et al., 2002).

2.2 Změny vyvolané ischemií

Myokard získává energii za normálních podmínek oxidativní fosforylaci, ke které využívá z 60-90% oxidaci MK. Zbývající část produkce ATP je pokryta z glykolýzy a oxidace laktátu. Při nedostatečném zásobení kyslíkem dochází k přechodu na anaerobní glykolýzu. Nevýhodou glykolýzy je však malá energetická výtěžnost. Přitom jen na udržení iontové homeostázy myokard potřebuje 10 mmol ATP/min. Proto se v důsledku nedostatku kyslíku v srdečních buňkách hromadí laktát, který se vytváří z pyruvátu a rychle inhibuje glykolytické enzymy. Stejně jako laktát se do myokardu vyplavuje i alanin, který se tvoří transaminací nahromaděného pyruvátu. Glykolýza nejen, že není schopna dlouhodobě zajistit energetickou potřebu myokardu, ale vede k produkci H^+ a acidóze, která ve výsledku inaktivuje enzymy energetického metabolismu. Lokální deficit ATP a následné porušení buněčné integrity je vyvolán nedostatečnou tvorbou ATP. Schopnost srdečních buněk vytvářet energii z kreatinfosfátu a ATP je snížena, což vede ke spotřebě energetických zásob, které jsou však rychle vyčerpávány. Dalším důvodem, proč se schopnost kontraktility ischemických kardiomyocytů snižuje je, že se hromadí ionty H^+ , které vytěsňují ionty Ca^{2+} z vazby na myofibrily. V extracelulárním prostoru jsou ionty K^+ nahrazovány ionty Na^+ . Pokud se Na^+ uvnitř buňky hromadí, dochází k jejímu otoku, zvýšená hladina K^+ v extracelulárním prostoru ovlivňuje velikost membránového potenciálu a může výrazně ovlivnit vzrušivost kardiomyocytů. (Aschermann et al., 2004).

Již v časných fázích ischemie dochází ke zvyšování koncentrace Ca^{2+} v intracelulárním prostoru. Příčiny tohoto komplexního děje se nacházejí vně i uvnitř buňky. Z extracelulárního

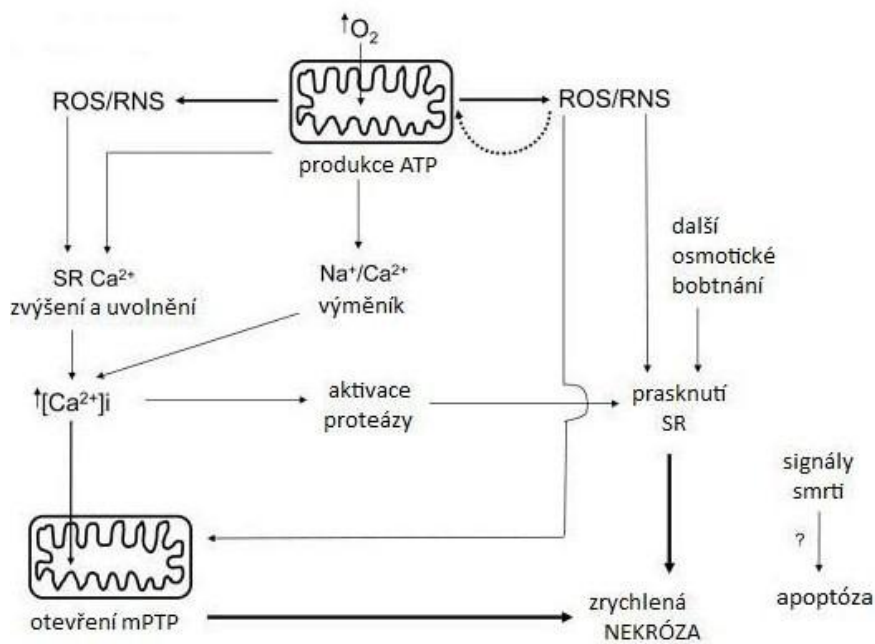
prostředí dochází ke vstupu malých množství Ca^{2+} výměnou za Na^+ (činností $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ výměníku). V důsledku zvýšené produkce volných kyslíkových radikálů (ROS), které nejsou v dostatečné míře eliminovány antioxidačními systémy, dochází k poškození buněčné membrány a zvýšení její propustnosti. V tomto případě však mají rozhodující vliv intracelulární mechanismy. V důsledku ischemie dochází ke zvýšenému vyplavování Ca^{2+} ze sarkoplazmatického retikula (SR), které je provázené snížením jeho reabsorbce Ca^{2+} pumpou jejímž úkolem je odstraňování Ca^{2+} proti koncentračnímu gradientu zpět do retikula. V neposlední řadě se na zvýšení Ca^{2+} v cytosolu podílí H^+ řízené vyplavování Ca^{2+} z mitochondrií. S prodlužující dobou ischemie přestává být sarkolema celistvou, pravděpodobně díky neustále tvořícím se ROS, které působí na membránové fosfolipidy. Zvýšená intracelulární koncentrace Ca^{2+} má za následek aktivaci lysozomálních proteáz a fosfolipáz, což vede k strukturálnímu poškození kardiomyocytů, prohlubující se akumulací Ca^{2+} v cytoplazmě, odbourávání zásob ATP, stimulaci tvorby ROS a aktivaci latentních, na vápníku závislých ATPáz (viz obr. 1) (Ferdinandy et al., 2007, Halestrap et al., 2004, Buja and Entman, 1998).



Obrázek 1: Mechanismy vzniku nekrotického poškození myokardu při ischemii; SR- sarkoplazmatické retikulum, NHE- Na^+/H^+ výměník; (převzato z Ferdinandy et al., 2007)

2.3 Změny vyvolané reperfúzí

Reperfúze, tj. opětovné zprůchodnění uzavřené koronární cévy a zásobení srdce kyslíkem a živinami, je klíčovým krokem léčby akutního infarktu myokardu. Pokud je provedena včas, je minimalizován rozsah poškození myokardu a zlepšuje se prognóza nemocných s infarktem myokardu. Jestliže ale dojde k obnově průtoku v době, kdy již jsou energetické zásoby vyčerpány, kdy koncentrace cytosolického Ca^{2+} zásadně vzrostla, došlo k osmotickému rozvratu a k vyčerpání antioxidantních systémů, může být následkem prohloubení poškození i těch buněk, které dosud neodumřely a byly potenciálně schopné kontrakce. V tomto případě hovoříme o tzv. reperfúzním poškození. To je zapříčiněno především dvěma faktory. Prvním z nich, je prudké zvýšení ROS v okamžiku reperfúze. Druhým je nekontrolovatelný vstup Ca^{2+} do nitra buňky, který je zapříčiněn zvýšenou činností $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ výměníku, zvýšeným vstupem Ca^{2+} vápníkovými kanály sarkoplazmatického retikula a především nekontrolovatelným vstupem molekul přes porušenou buněčnou membránu (viz obr. 2) (Ferdinandy et al., 2007, Halestrap et al., 2004).



Obrázek 2: Mechanismy vzniku nekrotického poškození myokardu při reperfúzi; SR-sarkoplazmatické retikulum, ROS/RNS-reaktivní formy kyslíku a dusíku, mPTP-mitochondriální póry; (převzato z Ferdinandy et al., 2007)

2.4 Ireverzibilní změny při I/R poškození

Pokud dojde k uzavření tepny na delší dobu (desítky minut), srdeční buňky zanikají. Ireverzibilní poškození nejčastěji začíná endokardiálně a šíří se směrem k epikardu. Srdeční buňky mohou zanikat dvojnásobným způsobem, apoptózou a nekrózou (Frangogiannis et al., 2002).

Apoptóza představuje řízenou buněčnou smrt, vyznačující se kondenzací buňky a jádra a kontrolovatelným rozkladem organel a makromolekul. Hlavní úlohu má aktivace tzv. kaspáz-proteolytických enzymů, které jsou řízeny geny aktivovanými poškozením buňky. Přesné mechanismy způsobující programovanou buněčnou smrt nebyly dosud detailně objasněny (Ošťádal a Vízek, 2003).

Poškozením buněčných organel současně je vyvolán energeticky nezávislý proces - nekróza. Dochází k edému buňky, k aktivaci lysozomálních hydrolytických enzymů a k nekontrolovatelnému rozpadu buňky. Do mezibuněčného prostoru se vylévá obsah buněk, který může vyvolat zánětlivou reakci. Jasně rozlišení podílu apoptózy a nekrózy v ischemickém srdci by umožnilo významně snížit následky akutního infarktu myokardu. Proto je toto téma v současné době intenzivně sledováno (Aschermann et al., 2004).

2.5 Projevy ischemického poškození

Myokard za normálních podmínek pracuje jako celek a zcela koordinovaně. K narušení této rovnováhy a k vzniku abnormalit kontraktilní funkce myokardu dochází v případě, je-li část tkáně postižena nedostatečnou perfúzí a metabolickými změnami vyvolanými ischemií. Mezi hlavní příčiny vzniku abnormalit patří nedostatek energie a zvyšující se koncentrace H^+ , která má za následek vytěšňování Ca^{2+} z vazby na myofibrily (Špinar et al., 2003). Mezi zdravou a postiženou částí myokardu dochází k časové poruše průběhu kontrakce k tzv. desynchronizaci, také k poklesu systolické kontrakce ischemické oblasti nebo k jejímu úplnému vymizení (Aschermann et al, 2004). I když je myokard stále schopen na počátku ischemie kontrahovat, ischemická oblast se více a více vyklenuje, neboť vnitrokomorový tlak produkovaný normálně perfundovanou tkání nedovede překonat. Heterogenita kontrakcí, ať z pohledu síly či rychlosti, je způsobena nedostatečným prokrvením postižené oblasti. Výsledkem je pokles minutového srdečního výdeje (Opie, 1998).

Pro organismus jako celek má porucha kontrakce srdečního svalu negativní důsledky, hypoperfuzi periferních tkání. V oblasti ischemického poškození však snížení

kontraktility může mít do jisté míry prospěšné účinky, neboť energie potřebná pro průběh reakcí přispívajících k udržení integrity buněk a tedy k oddálení nástupu nekrózy je ušetřena.

Zmenšující se zásoby energie (koncentrace ATP) během ischemie mají zásadní vliv na relaxaci srdeční svaloviny, která je na ATP přímo závislá. Pro přerušení vazeb mezi aktinem a myozinem a k odstranění Ca^{2+} během diastoly z cytosolu transportní Ca^{2+} ATPázou SR je ATP zcela nezbytné. Následkem neúplné relaxace během diastoly tak dochází k rozvoji kontraktury.

Další z velmi častých funkčních projevů ischemie jsou arytmie, tedy poruchy vzniku a šíření elektrických vzruchů srdeční tkání. Příčinou jejich vzniku je existence elektricky i strukturálně abnormálního myokardu (Aschermann et al, 2004). Arytmie můžeme rozdělit podle účinku na srdeční frekvenci: jestliže srdeční frekvenci zrychlují, jedná se o tzv. tachykardie, pokud ji zpomalují, mluvíme o tzv. bradykardiích. Dále je můžeme rozdělit podle mechanismu vzniku na arytmie vzniklé následkem poruch vedení nebo arytmie vzniklé následkem poruchy automacie. Podle doby vzniku v průběhu akutního infarktu myokardu je dělíme na arytmie ischemické a reperfúzní (Neckář, 1998). Konečně podle místa jejich vzniku je dělíme na ventrikulární arytmie, vznikající v komorách nebo nižších patrech převodního systému a arytmie supraventrikulární, jejichž vznik je situován v sinoatriálním uzlu, síních a atrioventrikulárním uzlu (Asemu et al., 1999).

3 Cvičení a kardioprotekce

Za fyzickou aktivitu je považován jakýkoliv tělesný pohyb vyvolaný kosterními svaly vedoucí k výdeji energie. Nejčastější a nejjednodušší dělení fyzické aktivity je z pohledu každodenního života, tj. aktivita vykonávaná ve spánku, při práci a během volného času. Volnočasové aktivity lze rozdělit na sport, kondiční cvičení, domácí práce a další aktivity (Thompson et al., 2003, Caspersen et al., 1985). Fyzická aktivita bývá často zaměňována s termínem cvičení. Cvičení je její podkategorií, je plánované, strukturované, opakované a vykonávané za účelem zlepšení nebo udržení fyzické zdatnosti. Může také představovat část nebo celou z kategorií denních činností mimo spánku (Caspersen et al., 1985). Většina vědců se shoduje, že fyzická činnost má příznivé účinky na kardiovaskulární systém. Pravidelná fyzická aktivita snižuje nejen riziko vzniku ICHS, ale také jiné rizikové faktory, tj. nadváhu a obezitu, krevní tlak, výskyt cukrovky, dyslipidémie, zánětů, zlepšuje citlivost na inzulín, kontrolu glykémie, podporuje fibrinolýzu a endoteliální funkce (Bassuk et al., 2003, Ignarro et al., 2007).

Intenzita, frekvence a doba trvání fyzické aktivity, které by byly optimální pro kardiovaskulární systém, jsou stále předmětem výzkumů. Ze studií z roku 1990, které se prováděly především na mužské populaci, je zřejmé, že fyzicky aktivní jedinci měli asi o polovinu snížené riziko ICHS oproti fyzicky neaktivním. Podobně u žen, které byly pohybově aktivní, byl prokázán snížený výskyt ICHS (Berlin et al., 1990). Dlouho přetrvával názor, že fyzická aktivita musí být intenzivní, aby její účinky byly pro srdce prospěšné. Tento názor byl však v posledních letech přehodnocen. V roce 1995 bylo sportovními lékaři ustanoveno, že 30 min přiměřené fyzické aktivity každý den je mnohem prospěšnější než do té doby uznávaných 20 min intenzivního cvičení třikrát týdně (Pate et al., 1995).

Pozitivní účinek fyzické aktivity na srdce byl také prokázán experimentálně. Například pokusy prováděné na potkanech kmene Sprague-Dawley obou pohlaví, na psech (Murry et al., 1986) potvrdily, že jak krátkodobé (dny), tak dlouhodobé (týdny až měsíce) cvičení zvyšují odolnost proti I/R. Pokud je trénování přerušeno, zvýšená odolnost přetrvává až po dobu osmnácti dní (Lennon et al., 2004).

V souvislostech s cvičením je velmi důležité nezapomínat na rizika, kterými mohou být srdeční hypertrofie, svalová zranění, přehřátí nebo vyčerpání organismu atd., a brát je v úvahu při doporučování fyzické aktivity, ať pro širokou veřejnost či osoby s vyšším rizikem nebo s kardiovaskulárními chorobami.

4 Zvířecí modely a způsoby tréninku

Na různých zvířecích modelech bylo studováno mnoho strategií fyzického tréninku. Bez ohledu na výhody a nevýhody daného modelu, či fyzického tréninku u všech byla zjištěna fyziologická hypertrofie měřená na úrovni celého srdce, srdečních komor a i velikosti kardiomyocytů. Dosud není zcela jasné, zda lze zvýšit rozvoj hypertrofie zvýšením intenzity fyzické aktivity či dávkou tréninku.

4.1 Hlodavci

Mezi nejčastěji experimentálně využívaná laboratorní zvířata patří myši a potkani. Hlavními důvody jejich používání jsou snadná manipulace, vysoký počet potomků za krátkou dobu březosti matky. Další z výhod je rychlé dosažení dospělosti jedince, která odpovídá 2-3 měsícům života. Nevýhodou těchto zvířecích modelů je odlišnost v některých kardiovaskulárních parametrech v porovnání s myokardem člověka (Wang et al., 2010).

Jedním z hlavních způsobů trénování hlodavců je pravidelné běhání na pásu. Jeho hlavní předností je kontrolovatelnost samotné fyzické zátěže (rychlost, sklon, doba trvání, uběhnutá vzdálenost), což umožňuje jasně charakterizovat experimentální skupiny, u kterých lze sledovat i malé změny. Ať již u člověka, nebo v tomto případě u zvířat, je velkým problémem motivace, jejíž vynucování vede ke stresové reakci daného jedince, která se může podílet na vzniku srdeční hypertrofie. Nicméně i při dobrovolné fyzické zátěži je stresová odpověď vyvolána (Droste et al., 2007). Zdá se tedy, že stresová odpověď je nedílnou součástí každé fyzické zátěže a přispívá k rozvoji srdeční hypertrofie (McMullen et al., 2004).

Další možností jak podrobit zvíře fyzické zátěži je dobrovolné běhání „v kole“. V tomto případě není možné kontrolovat intenzitu fyzické zátěže. Ačkoliv si každé zvíře určuje cvičicí program „individuálně“, což vede s postupem času ke snižování fyzického výkonu, i zde byl pozorován rozvoj fyziologické hypertrofie (Allen et al., 2001, Konhilas et al., 2004).

Třetím způsobem trénování je pravidelné plavání ve vodní nádrži. Její hloubka, množství jedinců, pohyb vody mají vliv na výsledný účinek pravidelného plavání na kardiovaskulární systém. Výhodou tohoto modelu je větší počet najednou trénovaných zvířat. Negativní stránkou je výrazný stres vyvolaný nechtěným potápěním, či pocitem utonutí (Kioukia-Fougia et al., 2002). Bylo ale prokázáno, že doba plavání není jediným faktorem ovlivňující odpověď

organismu na fyzickou zátěž. Zvýšení tělesné hmotnosti 2-4% závažím významně zvyšuje míru hypertrofie srdce navozené pravidelným plaváním (Evangelista et al., 2003).

4.2 Ostatní savci

Podobnost srdce velkých savců s lidským, ať už z hlediska spotřeby kyslíku, srdeční mechaniky, kinetiky, koronární cirkulace nebo buněčné struktury, vede k jejich častému používání pro studování funkce a struktury srdce (Hasenfuss, 1998). Na rozdíl od hlodavců je však manipulace s nimi velmi složitá a jedná se o velmi nákladné experimenty (Wang et al., 2010). Značným problémem jsou různé druhy pohybu, které jsou nutné brát v úvahu při tvoření tréninku. Lokomoční různorodost se vyskytuje nejen mezi kmeny, ale i mezi jednotlivými zvířecími druhy (Wang et al., 2010).

Nejčastěji se v souvislosti s pravidelným cvičením využívají králíci, neboť patologická srdeční remodelace a srdce samotné je podobné lidskému v mnoha aspektech (Hasenfuss, 1998). U prasečího modelu bylo provedeno několik studií, které ukazují, že postupné zvyšování rychlosti a délky trvání zátěže vyvolalo hypertrofii srdce (Hinken et al., 2006). Posledním modelem velkých savců je model psí. Ačkoliv je velmi těžké experimentálně porovnávat cvičící psy a necvičící, i tyto studie ukázaly hypertrofii srdce u fyzicky vysoce aktivních jedinců (Carew and Covell, 1978).

5 Mechanismy, které mohou být příčinou kardioprotekce

Je zřejmé, že cvičení zvyšuje odolnost srdce před akutním I/R poškozením. Dosud však není objasněno, které mechanismy a jakým způsobem se na kardioprotekci podílejí, i když existuje mnoho studií zabývajících se touto problematikou. V této kapitole uvedu některé potenciální adepty podílející se na zvýšené ischemické toleranci.

5.1 Koronární oběh a angiogeneze

Koronární arterie neboli věnčité tepny jsou cévy, jejichž úkolem je zásobovat myokard okysličenou krví. Chronické cvičení (několik měsíců) zlepšuje funkci endotelu těchto cév po I/R a podporuje růst nových, jedná se o tzv. angiogenezi. U krátkodobého cvičení (několik dní), prozatím nebyla prokázána žádná ochrana srdce, která by měla spojení se změnami koronárního oběhu (Laughlin et al., 1998, Powers et al., 2008). Jiné studie poukazují na to, že změny v koronárním oběhu nejsou nezbytné, neboť cvičení přímo protektivně ovlivňuje myocyty, což bylo dokázáno na kardiomyocytech získaných ze srdcí trénovaných zvířat, které byly odolnější vůči akutní hypoxii (Kang et al., 2004).

5.2 Proteiny teplotního stresu (HSP)

Dalším možným vysvětlením pozitivního vlivu cvičení na ischemický myokard je aktivace a zvýšená exprese HSP. Jsou to proteiny zajišťující stresovou odpověď buněk. Při environmentálním stresu je řada funkcí buněk, jako transportní procesy, syntéza DNA, RNA a proteinů zpomalena nebo úplně zastavena. Právě za těchto nepříznivých podmínek jsou exprimovány HSP. Tyto proteiny jsou schopné organizovat skládání vlastních proteinů, pomáhají opravovat poškozené nebo chybně složené bílkoviny a usnadňují odbourávání nevratně poškozených bílkovin (Locke et al., 1995).

HSP můžeme rozdělit podle molekulové hmotnosti do sedmi skupin. Za největšího možného kandidáta v ochraně buněk srdce proti I/R jsou považováni členové 70-kDa skupiny, zejména HSP72 a HSP70 (Ascensao et al., 2006, Esposito et al., 2010, Powers et al., 2008). Tyto proteiny jsou exprimovány jak během chronického, tak i během akutního cvičení. Po zahájení fyzické aktivity dochází k aktivaci tzv. transkripčního faktoru teplotního stresu 1 (HSF 1), který se následně naváže na HSP70, což vede ke zvýšené expresi mRNA pro HSP70 v myokardu potkanů. Předpokládá se, že k aktivaci HSF 1 dojde po fosforylaci některých jeho

serinových zbytků. Za klíčovou je považována také souhra různých proteinkináz, především proteinkinázy A (PKA) a proteinkinázy C (PKC). Po podání inhibitoru PKA byl po akutním cvičení prokázán pokles hladiny mRNA HSP70. Nicméně inhibice PKA nezměnila jadernou lokalizaci ani afinitu HSF 1 na promotorové oblasti HSP70 (Ascensao et al., 2006). Některé studie ukazují, že větší schopnost posílení obranyschopnosti srdce proti I/R mají HSP72, neboť jejich exprese je spojená se zvýšenou expresí a aktivitou mangan superoxid dismutáz (MnSOD) (Brown and Moore, 2007). Nelze nezmínit, že trénování zvířat za nízké teploty má za následek zvýšení ochrany srdce bez zvýšení exprese HSP72, což ukazuje, že i jiné mechanismy aktivované pravidelným cvičením mají významnou roli v kardioprotekci (Ascensao et al., 2006, Powers et al., 2008).

5.3 Antioxidanty

Jsou to látky, které jsou schopny vychytávat vysocí reaktivní ROS. ROS mají schopnost, díky ztrátě svého elektronu, navázat elektron jiné sloučeniny, což vede ke zvýšené možnosti spojit se s jinými sloučeninami, změnit jejich strukturu a dát tak vzniknout dalším radikálům, které jsou pro tělo nebezpečné. To může mít za následek poškození buněk, oslabení imunitního systému či vznik různé řady nemocí.

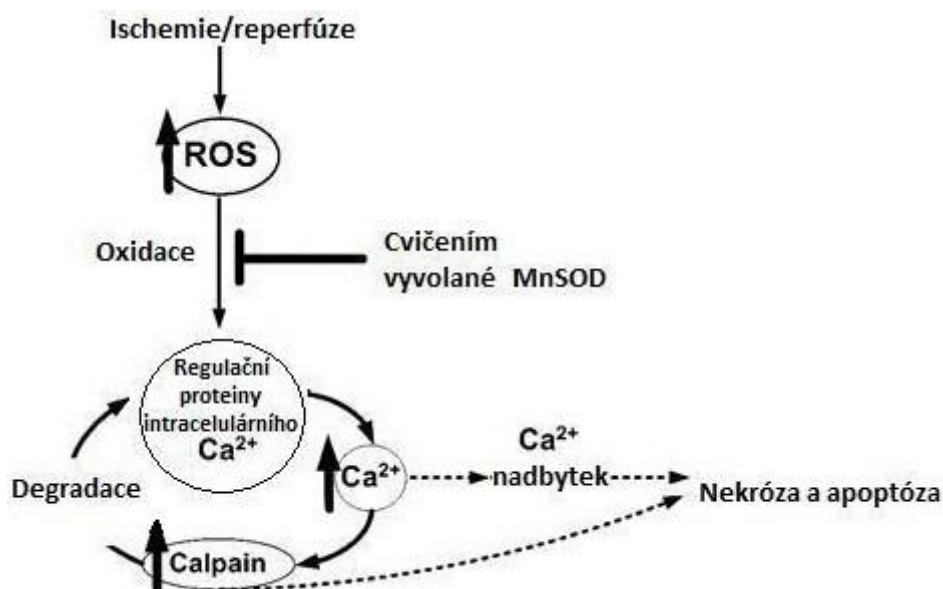
Není nic překvapujícího, že během I/R je zvýšená aktivita antioxidantních systémů, které minimalizují následky akutního poškození. Primárními enzymatickými antioxidanty vyvolávajícími obranu jsou především superoxid dismutáza (SOD), kataláza a glutathion peroxidáza. Mezi důležité neenzymatické řadíme mimo jiné redukovaný glutathion, vitamín E a vitamín C (Powers et al., 2003).

5.3.1 SOD

V savčích buňkách mohou SOD existovat především ve dvou isoformách. První vyžaduje jako kofaktor mangan a druhá měď a zinek. Zatímco MnSOD se primárně vyskytuje v mitochondriích, měď, zinek superoxid dismutáza (CuZnSOD) se nachází v cytosolu. Společným znakem obou izoform je přeměna superoxidových radikálů (O_2^-) na H_2O_2 (Powers et al., 1998).

Studie ukazují, že pravidelná fyzická aktivita vyvolává zvýšenou expresi MnSOD v myokardu. Tyto enzymatické antioxidanty zmírňují oxidaci a degradaci transportních proteinů vápníkového metabolismu, které zeslabují aktivaci proteinu calpainu (zvyšuje

poškození srdce) během I/R, což vede ke kardioprotekci, respektive ke snížení apoptózy srdečních buněk (viz obr. 3) (Ji, 1997, French et al., 2008).



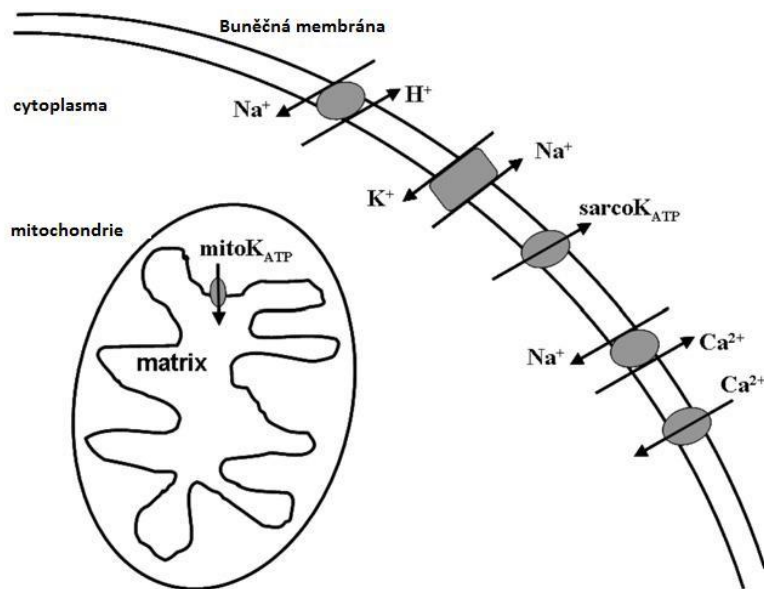
Obrázek 3: Mechanismus zvyšující produkci MnSOD vedoucí ke kardioprotekci; ROS-reaktivní formy kyslíku, MnSOD-mangan superoxid dismutáza; (převzato z French et al., 2008)

5.4 Draslíkové kanály závislé na ATP (K_{ATP})

Těmto významným mediátorům různých forem krátkodobé či dlouhodobé kardioprotekce je v současné kardiologii věnována značná pozornost. K_{ATP} kanály nacházející se na vnitřní straně mitochondriální membrány (mito K_{ATP}) (viz obr. 4) kde hrají klíčovou roli v redox signalizaci a rozvoji zvýšené ischemické odolnosti. Spolu s K^+/H^+ antiportem regulují objem matrix. Mito K_{ATP} kanály řídí vstup K^+ do matrix, zatímco antiportem jsou K^+ přenášeny z matrix do cytosolu. Pravidelnou fyzickou aktivitou se zvyšuje hustota v mitochondriích kardiomyocytech a jejich aktivací dochází k alkalizaci mitochondriální matrix, snižování produkce ROS během reperfúze, snižování akumulace Ca^{2+} během ischemie (Powers et al., 2008, Gross and Peart, 2003).

Významnou roli v kardioprotekci navozené fyzickou zátěží hraje i druhý typ K_{ATP} kanálů nacházejících se na sarkolemální membráně (sarc K_{ATP}) (viz obr. 4). V důsledku otevření sarc K_{ATP} kanálů dochází ke zkrácení akčního potenciálu na sarkolemě, což vede

k redukci vstupu Ca^{2+} do cytosolu a následnému snížení síly kontrakce kardiomyocytu. Srdeční exprese těchto kanálů se zvyšuje už po jedné epizodě tréninku a přetrvává i několik měsíců. Jistě zajímavým nálezem je zjištění, že míra ischemického poškození (velikost infarktu) korelovala s expresí $\text{sarcoK}_{\text{ATP}}$ (Powers et al., 2008).



Obrázek 4: Lokalizace mitochondriálních a sarkolemálních K_{ATP} kanálů v kardiomyocytech (převzato z Powers et al., 2008)

6 Závěr

Výskyt ischemické choroby srdeční se v populaci neustále zvyšuje a způsobuje vysokou úmrtnost. Proto není divu, že jedním z hlavních zájmů kardiologické společnosti je snížení výskytu tohoto onemocnění. Vzdávající počet nemocných je způsoben nejen zhoršujícím se prostředím, ale především nedostatečným pohybem. Mnoho experimentálních i klinických studií prokázalo, že pravidelná fyzická zátěž má na myokard příznivý vliv. Nejasnými ale stále zůstávají mechanismy zvýšené ischemické tolerance. Řada z nich je předmětem zkoumání, ale zatím žádný nebyl popsán jako stěžejní.

Cílem této bakalářské práce bylo vypracovat literární přehled, zorientovat se v dané problematice, jejíž znalost je nezbytná k vypracování diplomové práce.

7 Použitá literatura

- Allen D. L., Harrison B. C., Maass A., Bell M. L., Byrnes W.C. and Leinwand L. A., 2001, Cardiac and skeletal muscle adaptations to voluntary wheel running in the mouse, *J Appl Physiol* 90:1900–1908.
- Asemu G., Papoušek F., Ošťádal B., Kolář F., 1999, Adaptation to high altitude hypoxia proteus the rat heart against ischemia-induced arrhythmias. Involvement of mitochondrial K_{ATP} channel, *J Mol Cell Cardiol* 31:1821-1831.
- Ascensão A., Ferreira R., Magalhães R., 2006, Exercise-induced cardioprotection biochemical, morphological and functional evidence in whole tissue and isolated mitochondria, *Br J Sports Med* 41(2):101-105.
- Aschermann M., Toman J., Špinarová J., 2004, *Kardiologie*, Galén.
- Avkiran M., Gross G., Karmazyn M., Klein H., Murphy E., Ytrehus K., 2001, Na^+ /H^+ exchange in ischemia, reperfusion and preconditioning, *Cardiovasc Res* 50:162–163.
- Bassuk S. S., Manson J. E., 2003, Physical Activity and the Prevention of Cardiovascular Disease, *Curr Atheroscler Rep* 5(4):299-307.
- Batty G.D., 2002, Physical activity and coronary heart disease in older adults, *Eur J Publ health* 12:171–176.
- Berlin J. A., Colditz G. A., 1990, A meta-analysis of physical activity in the prevention of coronary heart disease, *Am J Epidemiol* 132:612–628.
- Brown D. A., Chicco A. J., Jew K. J., Johnson M. S., Lynch J. M., Watson P. A. and Moore R. L., 2005, Cardioprotection afforded by chronic exercise is mediated by the sarcolemmal, and not the mitochondrial, isoform of the K_{ATP} channel in the rat, *J Physiol* 569.3 (Pt3):913-24.
- Brown D. A., Korinne N. J., Genevieve C. S., Timothy I. M., and Russell L. M., 2003, Exercise training preserves coronary flow and reduces infarct size after ischemia-reperfusion in rat heart, *J Appl Physiol* 95:2510–2518.
- Brown D.A., Moore R.L., 2007, Perspectives in innate and acquired cardioprotection: cardioprotection acquired through exercise, *J Appl Physiol* 103:1894–1899.
- Buja L.M. and Entman M.L., 1998, Modes of Myocardial Cell Injury and Cell Death in Ischemic Heart Disease, *Circulation* 98:1355-1357.

- Bytešník J., Fejfar Z., Kalvach P., Kvasnička J., Ošťádal B., Poledne R., Přerovský I., Riedel M., Staněk V., Šochman J., 2002, *Klinická fyziologie*, Galén.
- Carew T. E., Covell J. W., 1978, Left ventricular function in exercise-induced hypertrophy in dogs, *Am J Cardiol* 42:82-88.
- Caspersen C. J., Powell K.E., Christenson G.M., 1985, Physical Activity, Exercise, and Physical Fitness, Definitions and Distinctions for Health-Related Research, *Public health Rep* 100(2):126-31.
- Demirel H. A., Powers S. K., Zergeroglu M. A., Shanely R. A., Hamilton K., Coombes J., Naito H., 2001, Short-term exercise improves myocardial tolerance to in vivo ischemia-reperfusion in the rat, *J Appl Physiol* 91:2205–2212.
- Dickson E. W., Hogrefe C. P., Ludwig P. S., Ackermann L. W., Stoll L. L., Denning G.M., 2008, Exercise enhances myocardial ischemic tolerance via an opioid receptor-dependent mechanism, *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 294:H402–H408.
- Droste S. K., Chandramoha Y., Hill L. E., Linthorst A. C., Reul J. M., 2007, Voluntary exercise impacts on the rat hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis mainly at the adrenal level, *Neuroendocrinology* 86:26-37.
- Esposito F., Ronchi R., Milano G., Margonato V., Di Tullio S., Marini M., Veicsteinas A., Samaja M., 2010, Myocardial tolerance to ischemia–reperfusion injury, training intensity and cessation, *Eur J Appl Physiol* 111(5):859-68.
- Evangelista F. S., Brum P. C., Krieger J. E., 2003, Duration-controlled swimming exercise training induces cardiac hypertrophy in mice, *Braz J Med Biol Res* 36:1751-1759.
- Ferdinandy P., Schulz R., Baxter G. F., 2007, Interaction of Cardiovascular Risk Factors with Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury, Preconditioning, and Postconditioning, *Pharmacol Rev* 59:418–458.
- Fliss H. and Gattinger D., 1996, Apoptosis in Ischemic and Reperfused Rat Myocardium, *Circ Res* 79:949-956.
- Frangogiannis N. G., Smith C. W., Etman M. L., 2002, The inflammatory response in myocardial infarction, *Cardiovasc Res* 53:31-47.
- Forbes R. A., Steenbergen C., and Murphy E., 2001, Diazoxide-induced cardioprotection 497 requires signaling through a redox-sensitive mechanism, *Circ Res* 88: 802-809.

- French J. P., Hamilton K. L., Quindry J. C., Lee Y., Upchurch P. A., Powers S. K., 2008, Exercise-induced protection against myocardial apoptosis and necrosis: MnSOD, calcium-handling proteins, and calpain, *FASEB J* 22:2862–2871.
- Galva T.F.G., Matos K. C., Brum P.C., Negra C.E., Lemos da Luz P., Chagas I A.C.P., 2011, Cardioprotection conferred by exercise training is blunted by blockade of the opioid system, *Clinics* 66(1):151-157.
- Giusti B., Marini M., Rossi L., Lapini I., Magi A., Capalbo A., Lapalombella R., Tullio S., Samaja M., Esposito F., Margonato V., Boddi M., Abbate R. and Veicsteinas A., 2009, Gene expression profile of rat left ventricles reveals persisting changes following chronic mild exercise protocol: implications for cardioprotection, *BMC Genomics* 10:342.
- Gregor P., Widimský P., 1999, *Kardiologie*, Galén.
- Gross G. J. and Peart J. N., 2003, K_{ATP} channels and myocardial preconditioning: an update, *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 285:H921–H930.
- Halestrap A. P., Clarke S. J., Javadov S. A., 2004, Mitochondrial permeability transition pore opening during myocardial reperfusion—a target for cardioprotection, *Cardiovasc Res* 61:372-385.
- Hamilton K. L., Powers S. K., Sugiura T., Kim S., Lennon S., Tumer N., Mehta J. L., 2001, Short-term exercise training can improve myocardial tolerance to I/R without elevation in heat shock proteins, *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 281:H1346–H1352.
- Hasenfuss G., 1998, Animal models of human cardiovascular disease, heart failure and hypertrophy, *Cardiovasc Res* 39:60-76.
- Haskell W.L., Lee I., Pate R.R., Powell K.E., Blair S.N., Franklin B.A., Macera C.A., Heath G.W., Thompson P.D. and Bauman A., 2007, Physical Activity and Public Health, Updated Recommendation for Adults From the American College of Sports Medicine and the American Heart Association, *Circulation* 116(9):1081-93.
- Hinken A. C., Korte F. S., McDonald K. S., 2006, Porcine cardiac myocyte power output is increased after chronic exercise training, *J Appl Physiol* 101: 40-46.
- Ignarro L. J., Balestrieri M.L., Napoli C., 2007, Nutrition, physical activity, and cardiovascular disease: An update, *Cardiovasc Res* 73, 326–340.
- Ji L. L., 1997, Exercise and oxidative stress: sources of free radicals and their impact on antioxidant systems, *Age* :91–106.

- Kang, P. M., Yue, P., Liu, Z., Tarnavski, O., Bodyak, N., Izumo, S., 2004, Alterations in apoptosis regulatory factors during hypertrophy and heart failure, *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 287:H72–H80.
- Kavazis A. N., Alvarez S., Talbert E., Lee Y., Powers S.K., 2009, Exercise training induces a cardioprotective phenotype and alterations in cardiac subsarcolemmal and intermyofibrillar mitochondrial proteins, *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 297: H144–H152.
- Kavazis A. N., McClung J. M., Hood D. A., Powers S. K., 2008, Exercise induces a cardiac mitochondrial phenotype that resists apoptotic stimuli, *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 294: H928–H935.
- Kioukia-Fougie N., Antoniou K., Bekris S., Liapi C., Christofidis I., Papadopoulou-Daifoti Z., 2002, The effects of stress exposure on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, thymus, thyroid hormones and glucose levels. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 26:823-830.
- Kohnilas J. P., Maass A. H., Luckey S. W., Stauffer B. L., Olson E. N., Leinwand L. A., 2004, Sex modifies exercise and cardiac adaptation in mice, *Am J Physiol* 287:H2768-H2776.
- Laughlin M. H., Oltman C. L., Bowles D. K., 1998, Exercise training induced adaptations in the coronary circulation, *Med Sci Sports Exerc* 30:352–360.
- Lennon S.L., Quindry J.C., French J.P., Kim S., Mehta J.L. and Powers S.K., 2004, Exercise and myocardial tolerance to ischaemia-reperfusion, *Acta Physiol Scand* , 182:161–169.
- Lennon S.L., Quindry J., Hamilton K.L., French J., Staib J., Mehta J.L. and Powers S.K., 2003, Loss of exercise-induced cardioprotection after cessation of exercise, *J Appl Physiol* 96:1299-1305.
- Locke M., Tanguay R. M., Klabunde R. E., Ianuzzo C. D., 1995, Enhanced postischemic myocardial recovery following exercise induction of HSP 72, *Am J Physiol* 1(Pt 2):H320–5.
- McElroy C.L., Gissen S.A. and Fishbein M.C., 1978, Exercise-induced reduction in myocardial infarct size after coronary artery occlusion in the rat, *Circulation* 57(5):958-962.
- McMullen J. R., Shioi T., Zhang L. , Tarnavski O., Sherwood M. C., Dorfman A. L., Longnus S., Pende M., Martin K. A., Thomas G., Izumo S., 2004, Deletion of ribosomal S6 kinases does not attenuate pathological, physiological, or insulin-like growth factor 1 receptor-phosphoinositide 3-kinase-induced cardiac hypertrophy, *Mol Cell Biol* 24: 6231-6240.

- Murry C.E., Jennings R.B. and Reimer K.A., 1986, Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium, *Circulation* 74:1124-1136.
- Neckář J., 1998 Protektivní vliv chronické hypoxie na akutní ischemické poškození myokardu, Diplomová práce, PřF UK v Praze.
- Opie L. H., 1998, *The heart (Physiology, from Cell to Circulation)*, Lippincot-Raven, Philadelphia USA.
- Osman H. S., Barbato J. C., Koch L. G., Metting P. J. and Britton S. L., 2001, Cardiac function in rats selectively bred for low- and high-capacity running, *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* 281:R1787–R1791.
- Ošťádal B., Vízek M., 2003, *Patologická fyziologie srdce a cév*, Karolinum.
- Pain T, Yang XM, Critz SD, Yue Y, Nakano A, Liu GS, Heusch G, Cohen MV, Downey JM, 2000, Opening of mitochondrial K(ATP) channels triggers the preconditioned state by generating free radicals, *Circ Res* 87:460-6.
- Pate R. R., Pratt M., Blair S. N., Haskell W. L., Macera C. A., Bouchard C., Buchner D., Ettinger W., Heath G. W., King A. C. et al, 1995, Physical activity and public health: a recommendation from the Centers for Disease Control and Prevention and the American College of Sports Medicine, *JAMA* 273:402–407.
- Powell K.E., Thompson P.D., Caspersen C.J., Kendrick J.S., 1987, Physical activity and the incidence of coronary heart disease, *Annu Rev Public Health* 8:253-287.
- Powers S. K., Quindry J. C., Kavazis A. N., 2008, Exercise-induced cardioprotection against myocardial ischemia–reperfusion, *Free Radic Biol Med* 44(2):193-201.
- Špinar J., Vítovec J., Kala P., 2003, *Ischemická choroba srdeční*, Grada.
- Thompson P.D., Buchner D., Piña I.L., Balady G.J., Williams M.A., Marcus B.H., Berra K., Blair S.N., Costa F., Franklin B., Fletcher G.F., Gordon N.F., Pate R.R., Rodriguez B.L., Yancey A.K., Wenger N.K., 2003, Exercise and Physical Activity in the Prevention and Treatment of Atherosclerotic Cardiovascular Disease , *Circulation* 107:3109-16.
- Tomai F., Crea F., Chiariello L., Gioffre P.A., 1999, Ischemic Preconditioning in Humans Models, Mediators, and Clinical Relevance, *Circulation* 100:559-563.
- Wang Y., Wisloff U., Kemi O. J., 2010, Animal Models in the Study of Exercise-Induced Cardiac Hypertrophy, *Physiol Res* 59(5):633-44.

Yamashita N., Baxter G. F., Yellon D. M., 2001, Exercise directly enhances myocardial tolerance to ischaemia–reperfusion injury in the rat through a protein kinase C mediated mechanism, *Heart* 85(3):331-336.

Zhang D. X., Chen Y. F., Campbell W. B., Zou A. P., Gross G. J., Li P. L., 2001, Characteristics and superoxide-induced activation of reconstituted myocardial mitochondrial ATP-sensitive potassium channels, *Circ Res* 89: 1177-83.