

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie
Studijní obor: Biologie



Eliška Flégrová

Energetický metabolismus srdce ve vysokých nadmořských výškách a při fyzické zátěži
Energy metabolism of heart at high altitude and during physical exercise

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Jitka Žurmanová, Ph.D.

Praha, 2014

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, 15. 5. 2014

Eliška Flégrová

Poděkování:

Na tomto místě bych chtěla poděkovat své školitelce RNDr. Jitce Žurmanové, Ph.D za odborné vedení, ochotu a cenné rady při zpracování této práce. A v neposlední řadě i své rodině za podporu.

ABSTRAKT

Srdce jako orgán s vysokou oxidativní kapacitou je schopné aktivně modulovat svůj energetický metabolismus v závislosti na podmínkách organismu. Při stresových situacích jako je fyzická zátěž a pobyt ve vysokých nadmořských výškách je aktivován fetální program, který posiluje metabolismus sacharidů a naopak snižuje metabolismus mastných kyselin. Zdá se, že funkce mitochondrií a změny redoxního stavu buňky jsou klíčové pro aktivaci mnoha signalizačních drah a kináz a pod vlivem transkripčního faktoru HIF-1 α vedou ke změnám v expresi signálních i strukturních proteinů. Výsledkem působení těchto mechanismů je kardioprotektivní fenotyp, který zvyšuje odolnost srdce vůči akutnímu nedostatku kyslíku. Porozumění mechanismům těchto adaptačních změn je důležité pro vývoj prostředků, které by pomohly snížit následky akutního infarktu myokardu u člověka.

Klíčová slova

srdce, kardioprotektivní mechanismy, hypoxie, energetický metabolismus

ABSTRACT

Heart is a highly oxidative tissue with the ability to modulate its energetic metabolism according to prevailing conditions of the organism. Stress conditions such as exercise and prolonged staying at high altitude induce a fetal gene programme leading to increased carbohydrate and decreased fatty acid utilization. It seems that mitochondrial function and the changes in redox state of the cell play a key role in activation of various transcriptional factors, mainly HIF-1 α modulating expression of numerous signalling and metabolic pathways as well as changes in structural proteins in the heart. Activation of these mechanisms results in cardioprotective phenotype which increased the tolerance of the heart to acute lack of oxygen. Understanding the mechanisms of these adaptive changes is important for the development of tools that would help reduce the effects of acute myocardial infarction in humans.

Key words

heart, cardioprotective mechanisms, hypoxia, energy metabolism

OBSAH

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	1
ÚVOD.....	2
CÍLE PRÁCE	3
Fyziologie srdce	4
Funkční kapacita srdce.....	4
Srdeční výdej při fyzické zátěži	4
Koronární cirkulace při fyzické zátěži.....	6
Energetický metabolismus srdce při fyzické zátěži.....	6
Okamžitý zdroj energie - kreatinfosfát/kreatinkinázový systém.....	7
Isoformy CK.....	8
Kreatin.....	9
Přednostní metabolický tok - „Metabolic channelling“	9
Asociace CK s glykolýzou	10
Antiapoptotický účinek CK.....	10
Adenylát kináza	11
AMP-aktivovaná protein kináza	11
Metabolismus srdce	12
Metabolismus mastných kyselin a jeho regulace.....	13
Metabolismus laktátu.....	14
Adaptace srdce na chronickou hypoxii.....	15
HIF-1 α	16
Mitochondriální energetický metabolismus při intermitentní hypoxii	16
Kardioprotektivní účinek adaptace na hypoxii.....	17
K _{ATP} kanál	18
Kardioprotektivní mechanismy fyzické zátěže	19
Fyzická zátěž v hypoxii	20
ZÁVĚR.....	21
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	22

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

ADP	adenosindifosfát
AMP	adenosinmonofosfát
AMPK	AMP-aktivovaná kináza
ANT	mitochondriální adenin nukleotidový translokátor
ATP	adenosintrifosfát
B-CK	mozková isoforma kreatinkinázy
cGMP	cyklický guanosinmonofosfát
CK	kreatinkináza
_{mt} CK	mitochondriální kreatinkináza
CPT	karnitin palmitoyltransferáza
G	Gibbsova volná energie
HIF-1 α	hypoxií indukovaný faktor
IH	intermitentní hypoxie
M-CK	svalová isoforma kreatinkinázy
MK	mastné kyseliny
MPTP	„mitochondrial permeability transition pore“
O ₂ a-v	arteriovenózní rozdíl v množství O ₂
PCr	kreatinfosfát
PCr/CK systém	kreatinfosfát/kreatinkinázový systém
PFK	fosfofruktokináza
P _i	anorganický fosfát
VDAC	mitochondriální napětově řízený aniontový kanál
V _{O₂}	spotřeba O ₂
V _{O₂max}	maximální aerobní kapacita

ÚVOD

Nepřetržité zásobování kyslíkem je nezbytné k udržení energetické homeostáze celého organismu pro zachování lidského života. Srdce je vysoce aerobní orgán, jehož primární funkcí je zásobovat tělo kyslíkem a živinami a jeho poškození přináší vážné důsledky nejen pro srdce samotné, ale i pro celý organismus. Kardiovaskulární onemocnění patří v současné době k nejčastějším příčinám úmrtí na celém světě, a proto je věnována pozornost mechanismům, které zvyšují odolnost srdeční tkáně k ischemickému a reperfučnímu poškození. V mnoha studiích bylo prokázáno, že obyvatelé žijící ve vysokých nadmořských výškách vykazují nižší výskyt infarktu myokardu. To ukazuje na vznik adaptivních regulačních mechanismů vedoucích ke kardioprotektivnímu fenotypu. Vystavení organismu chronicky hypoxickým podmínkám je tedy spojené s prevencí kardiovaskulárních onemocnění. Stejně tak, pravidelná fyzická zátěž má prokazatelně pozitivní účinky na kardiovaskulární systém.

Mechanismy této kardioprotekce zahrnují souhru mnoha molekul a signalizačních drah, z nichž nejdůležitější jsou pravděpodobně ty dráhy, které modulují činnost a metabolismus mitochondrií, či dráhy závislé na redoxním stavu buňky, který je převážně určován přímo jejich činností. Z toho vyplývá jejich centrální úloha v buňce. Mezi základní obranné a adaptivní principy můžeme řadit zejména působení reaktivních forem kyslíku, oxidu dusnatého, transkripčního faktoru HIF1- α , aktivaci mnoha kináz, otevření ATP-senzitivního draselného kanálu a v neposlední řadě i posílenou erythropoézu a angiogenezi.

Intermitentní hypoxie a fyzická zátěž jsou tedy možné nefarmakologické strategie vedoucí k protekci před srdečním selháním a mitochondriální disfunkcí.

CÍLE PRÁCE

Cílem této práce je literární rešerše, která by měla postihnout dosavadní poznatky o hlavních mechanismech regulace energetického metabolismu srdce a jejich modulaci při působení stresových podmínek jako je hypoxie a fyzická zátěž. Důraz je kladen také na jejich možnou kardioprotektivní úlohu a její základní principy vzniku.

Fyziologie srdce

Srdce pracuje po celý život bez odpočinku. V klidu přečerpá zhruba 144 hektolitrů krve za den, což je 400 milionů litrů za život člověka při průměrné délce života 75 let. Srdeční sval patří tedy mezi vysoce oxidativní svalovou tkáň, která je vytrvalá a nepodléhá únavě. To je umožněno na sebe navazujícími metabolickými ději, které udržují vysoký poměr ATP/ADP a tím udržují Gibbsovu volnou energii hydrolyzy ATP na vysoké úrovni (Boron & Boulpaep, 2012).

Srdce má vysoké energetické požadavky plynoucí z potřeby ATP pro svalovou kontrakci a ze zachování hlavních ATP-dependentních buněčných procesů jako je transport iontů a zachování intracelulární homeostáze Ca^{2+} iontů (W. C. Stanley *et al.*, 2005).

Při zvýšené fyzické zátěži může výkon srdce vzrůst až pětkrát, což vyžaduje i odpovídající zvýšení dodávky O_2 (Boron & Boulpaep, 2012). Mechanismy možného zvýšení dostupnosti O_2 pro buňky myokardu se liší v pravé a levé komoře. V pravé komoře je v klidu extrakce zhruba 50 % možného maxima, a proto je tato rezerva využita při zátěži (Hart *et al.*, 2001). V levé komoře je klidová extrakce přibližně 75 %, její extrakční rezerva je tedy poměrně limitovaná a z toho důvodu zvýšená poptávka po O_2 je zajištěna převážně zvýšeným průtokem v koronárních cévách (Ball *et al.*, 1975).

Funkční kapacita srdce

Důležitým ukazatelem funkční kapacity srdce je minutový srdeční výdej. Tato veličina závisí na tepové frekvenci a objemu krve uvolněné s každým stahem levé komory dle následujícího vztahu:

$$\text{minutový srdeční výdej} = \text{tepová frekvence} \times \text{tepový objem}.$$

Jeho hodnota činí průměrně $5 \text{ l} \cdot \text{min}^{-1}$ u mužů a $4 \text{ l} \cdot \text{min}^{-1}$ u žen za předpokladu 70 tepů za minutu u netrénovaných jedinců (McArdle *et al.*, 2009).

Srdeční výdej při fyzické zátěži

Množství O_2 transportovaného ke tkáním je výsledkem minutového srdečního výdeje a obsahu O_2 v arteriích. Spotřeba O_2 (V_{O_2}) odráží míru oxidativní fosforylace

v mitochondriích aktivních svalů a je limitována mírou extrakce. Hodnotu V_{O_2} je tedy možné určit z průtoku krve ke svalům a arteriovenózního rozdílu v koncentraci O_2 (O_2 a-v):

$$V_{O_2} = \text{minutový srdeční výdej} \times O_2 \text{ a-v.}$$

Fyzická zátěž spouští celou řadu změn kardiovaskulárního systému. Jejich cílem je zvýšit aktivitu srdce a přeměřovat velký podíl centrální cirkulace do aktivních svalů. Změny můžeme rozdělit na tři základní části. Metabolická autoregulace aktivních tkání, kompenzační reakce neaktivních tkání a centrální odpověď na aktivaci sympatického systému. První dva mechanismy souvisí mimo jiné s přeměřováním významného podílu krve z neaktivních tkání (trávicí soustava, ledviny) do tkání aktivních (kosterní svaly a srdeční sval). Třetí mechanismus zahrnuje aktivaci sympatiku a přímo ovlivňuje práci srdce pozitivně chronotropně a pozitivně ionotropně (Štejska *et al.*, 2007).

Při fyzické zátěži se zvyšuje systémový tok krve úměrně se zvyšující se intenzitou cvičení. Pokud intenzita fyzické zátěže neustále narůstá, nastává situace, kdy kapacita kardiovaskulárního systému pro transport O_2 není schopna splnit požadavky aktivních svalů na dodávku O_2 a dochází k tzv. stavu plató. Spotřeba O_2 je nadále již konstantní na rozdíl od dalšího nárůstu v intenzitě fyzické zátěže. Tento stav určuje maximální aerobní kapacitu ($V_{O_{2max}}$) a je důležitým ukazatelem, který popisuje kapacitu jedince pro aerobní syntézu ATP.

Nárůst hodnoty $V_{O_{2max}}$ je umožněn zvýšením dodávky cirkulujícího O_2 do tkání. Při fyzické zátěži stoupá spotřeba O_2 díky zvýšení hodnoty minutového srdečního výdeje a zvýšení arteriovenózního rozdílu v koncentraci O_2 (O_2 a-v). Nárůst hodnoty minutového srdečního výdeje je způsoben zejména díky zvýšení tepové frekvence, a proto existuje důležitý vztah mezi $V_{O_{2max}}$ a hodnotou tepové frekvence v určitém jejím rozmezí. Další příčinou změny $V_{O_{2max}}$ je i adaptace na fyzickou aktivitu, která vede ke zvýšení objemu krve a následné redukci odporu krve na periférii rozvojem kapilárního řečiště (pro přehled Naeije, 2010).

Další příčinou změny $V_{O_{2max}}$ je i adaptace na fyzickou aktivitu, která vede ke zvýšení objemu krve a následné redukci odporu krve na periférii rozvojem kapilárního řečiště.

Zvýšené diastolické plnění (preload) je způsobeno posílením žilního návratu krve konstrikcí kapacitního řečiště pod vlivem sympatického systému. V důsledku toho dochází ke zvýšení diastolického objemu, který má za následek větší rozepnutí sarkomer

v kardiomyocytech komor. Dle Frank-Starlingova zákona mají více pasivně rozepnutá vlákna zvýšenou sílu kontrakce, která je dána zapojením většího počtu myosinových hlav (tzv. heterometrická regulace) a současně aktivuje zvýšený výlev Ca^{2+} iontů (tzv. homeometrická regulace). Zvýšení diastolického objemu tedy vede ke zvýšené kontraktilitě srdce (Saks *et al.*, 2004). Existuje přímé spojení mezi $V_{\text{O}_2\text{max}}$ a maximálním minutovým srdečním výdejem. S tréninkem jakékoliv zvýšení v maximálním minutovém srdečním výdeji doprovází proporční zvýšení $V_{\text{O}_2\text{max}}$ (McArdle *et al.*, 2009)

Koronární cirkulace při fyzické zátěži

Fyzická zátěž ovlivňuje rovněž koronární cirkulaci myokardu. Zásobování srdce, zvláště levé komory probíhá v diastole. Avšak zvyšující se tepová frekvence zkracuje její trvání, proto příliš vysoká tepová frekvence je limitujícím faktorem dodávky O_2 . Maximální tepová frekvence (TF_{max}) při zátěži u člověka klesá s věkem a lze ji vypočítat z následujících vztahů. Pro dospělého, zdravého člověka platí, že: TF_{max} je rovno 220 minus věk (v letech). U dětí do 18 let je to zhruba 200 tepů za minutu a u obézních lidí s body mass indexem nad 30, je to zhruba 200 minus 0,5 krát věk (Bell, 2008, Peinado *et al.*, 2014). Díky adaptacím na trénink dochází ke strukturním a funkčním změnám v koronárních tepnách. Mezi strukturní adaptace patří zvýšený poloměr koronárních arterií, zvýšená numerická hustota a průměr arteriol a zachování proporčního počtu koronárních kapilár úměrně k srdeční hypertrofii. Mezi funkční adaptace řadíme posílení relaxace arterií vyvolané především působením oxidu dusnatého (NO) na endotel jejich stěn díky změnám v expresi a aktivaci NO syntáz. A také změny v α -adrenergním působení, mezi které patří oslabení citlivosti α -adrenergních receptorů u hlavních koronárních tepen (Laughlin *et al.*, 2012).

Bylo zjištěno, že fyzická aktivita nevyvolává zvýšení transportní kapacity krve pro O_2 , ale dochází k výraznější extrakci O_2 svalovými vlákny myokardu a to zejména u pravé komory (Hart *et al.*, 2001). Tato zvýšená extrakce však není způsobena nárůstem numerické hustoty kapilár, ale je výsledkem zvětšení jejich permeabilního povrchu (Laughlin *et al.*, 2012).

Energetický metabolismus srdce při fyzické zátěži

Metabolismus srdce je založen výhradně na aerobním zisku energie. Myokard má velmi vysokou oxidativní kapacitu a tedy i vyšší obsah mitochondrií než jiné typy tkání.

Energie pro myokard je získávána především z katabolismu mastných kyselin (MK), který představuje přibližně 60-80 % energetického požadavku srdce (Opie, 1968). Zbývající ATP je získáno z glukózy glykolýzou a z oxidace laktátu produkovaného glykolýzou probíhající v aktivních svalech. To, jaký zdroj energie z těchto dvou možností srdce využije, závisí na nabídce těchto substrátů, kterou určuje např. intenzita fyzické aktivity nebo zvýšená dodávka určitého substrátu při zkoumání efektu dané potravy. Po jídle slouží glukóza jako preferovaný zdroj energie, naproti tomu laktát je využíván zejména při fyzické zátěži. Avšak při dlouhodobém intenzivním cvičení spotřebovává 80 % energie z rozpadu mastných kyselin (McArdle *et al.*, 2009).

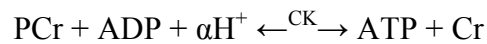
Okamžitý zdroj energie - kreatinfosfát/kreatinkinázový systém

ATP slouží jako primární zdroj energie, avšak jeho koncentrace v buňce je velice nízká (5-8 mM) a postačí pouze na několik sekund kontrakce. V excitabilních buňkách je ATP okamžitě doplňován ze zásoby kreatinfosfátu (PCr), jehož koncentrace je zhruba tři až čtyřikrát vyšší, ale též limitovaná. Kreatinfosfát/kreatinkinázový (PCr/CK) systém patří mezi fosfagenové systémy, kterých se v živočišné říši vyvinulo osm a liší se kinetickými vlastnostmi. PCr/CK systém spolu s argininfosfát/argininkinázou mají nejlepší kinetické vlastnosti a jsou nejvíce rozšířené (Eggleton & Eggleton, 1927, Bessman & Geiger, 1981). ATPázy přítomné ve svalových buňkách hydrolyzují ATP na ADP a anorganický fosfát (P_i) a za fyziologických podmínek dojde k uvolnění energie $\sim 11,5 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ (Boron & Boulpaep, 2012).

PCr/CK systém obecně zajišťuje přenos vysokoenergetického fosfátu z místa produkce ATP do míst jeho spotřeby. ATP je produkován v mitochondriích oxidativní fosforylací a v cytosolu anaerobní glykolýzou. Zatímco místa jeho spotřeby nacházíme na sarkolemě, kde Na/K ATPáza udržuje a obnovuje klidový membránový potenciál (Sharov *et al.*, 1977) a na sarkoplasmatickém retikulu, kde sarkoplasmaticko-endoplasmatická ATPáza SERCA vstřebává vápenaté ionty z cytoplasmy (Rossi *et al.*, 1990). A konečně v A-pruhu sarkomery, kde v oblasti myosinových hlav jsou lokalizované myosinové ATPázy (Sharov *et al.*, 1977). Kreatinkinázová reakce byla popsána Lohmanem v roce 1934 a její význam v jednotlivých tkáních je studován dodnes. CK se hojně vyskytuje v excitabilních buňkách s vysokými energetickými nároky a s proměnným obratem ATP jako jsou např. buňky kosterního svalu, srdečního svalu, neurony a další, kde úloha CK spočívá hlavně v překlenutí nízké difúzní

schopnosti ATP a ADP a časové prodlevy nezbytné k aktivaci glykolýzy a zvýšení respirace mitochondrií (Wallimann *et al.*, 2011).

Lohmanova reakce:



CK reakce probíhá blízko rovnováhy, to znamená, že v klidovém stavu jsou rychlosti reakcí v obou směrech stejné. Pozice této rovnováhy je závislá na pH a koncentraci substrátů i produktů (Kushmerick, 1998). CK reakce udržuje stálou hladinu ATP v buňce na úkor PCr a zajišťuje vysoký intracelulární poměr ATP/ADP. Díky tomu je volná energie ΔG hydrolyzy ATP udržována na co nejvyšší možné hladině za účelem zajištění co nejefektivnějšího využití energie z ATP pro všechny buněčné funkce (Kammermeier, 1987). Další důležitou úlohou PCr/CK systému je udržování nízké hladiny ADP zejména v době vysokých nároků na poptávku energie, které překračují její produkci (Matthews *et al.*, 1982). Díky tomu nedochází k inhibici ATPáz zvýšenou koncentrací ADP. Stejně tak jsou pufovány H^+ ionty, jejichž akumulace snižuje aktivitu enzymů, včetně ATPáz. Při regeneraci ATP pomocí CK systému dochází k využití produktů jeho hydrolyzy ADP a H^+ . Čistým produktem činnosti ATPázy, který se uvolňuje do cytosolu, je uvolněný P_i , který slouží jako důležitá signalizační a regulační molekula pro aktivaci glykogenolýzy a glykolýzy (Chasiotis *et al.*, 1982).

Isoformy CK

Existuje pět samostatně kódovaných isoform CK. Tyto isoformy jsou tkáňově a buněčně specifické s jasně definovanou subcelulární lokalizací, která je esenciální pro správnou funkci CK systému. Rozlišujeme cytosolické isoformy svalového (M-CK) a mozkového (B-CK) typu a mitochondriální isoformy ($_{\text{mt}}\text{CK}$ - všudepřítomnou a sarkomerickou). V srdci se vyskytují obě cytosolické isoformy, přičemž B-CK převažuje v době vývoje a M-CK převažuje u zralého srdce. Z mitochondriálních isoform je pro srdce typická sarkomerická isoforma (Wallimann *et al.*, 2011). Cytosolické isoformy vytvářejí homodimery (MM-CK ve svalovém vlákne a srdci, BB-CK v srdci a v mozku) nebo heterodimery (MB-CK v srdci) (Eppenberger *et al.*, 1967) a ve většině tkání jsou spoluvytvářeny současně s $_{\text{mt}}\text{CK}$ isoformou. $_{\text{mt}}\text{CK}$ se vyskytuje ve formě homodimerů a je funkční ve formě oktamerů (Schlegel *et al.*, 1988), které se nacházejí mezi vnitřní a vnější mitochondriální membránou a v oblasti krist (Wallimann *et al.*, 1992).

Kreatin

Substrátem pro tvorbu kreatinfosfátu je kreatin, který vzniká především v játrech a ledvinách a k buňkám je dopravován krví. Důležitý je i jeho exogenní zdroj pocházející z potravy. Pomocí specifického kreatinového transportéru (CRT) je aktivně transportován do cílových buněk (Coy *et al.*, 1968; Wallimann *et al.*, 1992), kde se z něho pomocí cytosolické CK nebo m_t CK stává vysokoenergetický PCr. PCr tímto transportérem neprochází, a proto se hromadí uvnitř buňky. V cytosolu kardiomyocytu je vysoký PCr „pool“ vytvořený CK z ATP pocházejícího z oxidativní fosforylace. Ve svalovém vláknech může koncentrace PCr dosahovat až 20-35 mM i více (Fitch, 1977; Wallimann *et al.*, 1992).

Přednostní metabolický tok - „Metabolic channelling“

PCr/CK systém slouží mimo jiné jako tzv. „prostorový energetický pufr“ ATP v buňkách, čímž zajišťuje adekvátní odpověď na zvýšenou spotřebu energie na začátku vysokého výkonu (Mommaerts, 1969) a usnadněnou difúzí transportuje nízkomolekulární PCr k místům jeho spotřeby (Meyer *et al.*, 1984). Systém vytváří subcelulární mikrokompartmenty, které jsou funkčně propojeny a dochází zde k přednostnímu metabolickému toku, tzv. „metabolic channelling“. Tento mechanismus byl pozorován ve svalových buňkách na dvou místech, v oblasti mitochondrií a v M-linii sarkomery. V intermembránovém prostoru mitochondrií se oktamer m_t CK váže pomocí kladně nabitých aminokyselin lysinu a argininu na kyselá fosfolipidy mitochondriální membrány. Převážně se váže na kardiolipin, nacházející se na vnitřní membráně spolu s adenin nukleotidovým translokátorem (ANT), který také interaguje s kardiolipinem (Schlattner *et al.*, 2004). Byla prokázána i přímá vazba m_t CK na napětově řízený aniontový kanál (VDAC), který je lokalizován na vnější membráně (Brdiczka *et al.*, 1994). ATP produkovaný v respiračním řetězci je transportován skrze ANT do intermembránového prostoru, kde je tento proces spřažen s transfosforylací ATP na PCr díky m_t CK (Dolder *et al.*, 2003) a následným transportem PCr prostřednictvím VDAC do cytosolu. Druhým produktem této CK reakce je ADP, který zpětně stimuluje respiraci a zvyšuje spřažení respiračního řetězce se syntézou ATP. Výsledkem metabolického „channellingu“ je velmi účinný tok substrátů a produktů, kdy nedochází k nadbytečným ztrátám substrátů prostřednictvím difúze a k jejich úniku do jiných metabolických procesů (Spivey & Ova, 1999). Druhé místo, kde byl popsán tento mechanismus je M-linie sarkomery. M-CK dimer je vázán v M-linii N-koncovou částí

molekuly (Hornemann *et al.*, 2000) a zhruba 60% ATP je preferenčně dodáváno k myosinové ATPáze (Gregor *et al.*, 2003). Tento proces má své maximum v mírně kyselém pH, kdy CK dimer má nejpevnější vazbu v M-linii (Gregor *et al.*, 2003; Zurmanova *et al.*, 2007).

Asociace CK s glykolýzou

Cytosolická isoforma M-CK spolupracuje s glykolytickými enzymovými komplexy. Asociace byla prokázána mezi M-CK a ATP produkující pyruvát kinázou, ale také s hlavním rychlost limitujícím enzymem glykolýzy fosfofruktokinázou (PFK), která je zpětnou negativní vazbou regulována pomocí ATP. Tato vazba mezi CK a PFK je zesílena při nižším pH (Kraft *et al.*, 2000). Díky těmto interakcím je zabráněno akumulaci ATP, která by vedla k inhibici glykolýzy skrze negativní zpětnovazebnou regulaci pomocí PFK a současně zde dochází k obnově PCr zásob. Tuto úzkou spolupráci obou systémů potvrzují i pokusy s transgenními CK knock-out myšmi, které vykazovali sníženou aktivitu glykolytických enzymů (PFK a aldolasa) ve svalových buňkách (de Groof *et al.*, 2001).

Antiapoptotický účinek CK

Význam stimulace $_{mt}CK$ kreatinem nespočívá pouze v usnadnění procesů energetického metabolismu, ale hrají důležitou roli i při regulaci apoptózy sloužící jako antiapoptotické sloučeniny. Přímá dodávka ADP k ATP-syntáze udržuje membránový potenciál na vnitřní membráně mitochondrií na přiměřeně nízké úrovni a tím snižuje nadměrnou tvorbu volných radikálů kyslíku (ROS), a tak snižuje pravděpodobnost aktivace apoptózy (Wyss *et al.*, 1992). Dále, pozice oktameru $_{mt}CK$, kdy strategicky propojuje vnitřní a vnější mitochondriální membránu a je součástí tzv. „mitochondrial permeability transition pore“ (MPTP) komplexu má též antiapoptotický účinek (O’Gorman *et al.*, 1997). K tvorbě MPTP dochází v počátcích apoptózy a vede k rozpadu mitochondrie a uvolnění proapoptických faktorů. Molekulární složení MPTP je však stále otázkou. Díky svému vhodnému umístění je $_{mt}CK$ také schopná vzájemné výměny fosfolipidů mezi mitochondriálními membránami a tím ovlivnit preapoptotický proces tvorby MPTP (Epanand *et al.*, 2007).

Adenylát kináza

Adenylát kináza je lokalizována jak v cytosolu, tak v mitochondriích, podobně jako CK. Společně tak slouží jako účinné buněčné transportéry vysokoenergetického fosfátu, nazývané jako tzv. „energy shuttles“. Za bazálních podmínek je preferován PCr/CK systém, avšak se vzrůstající svalovou kontraktilitou a nárůstem koncentrace ADP v buňce nebo při inhibici CK pozorujeme posun ve fosfotransferázovém systému směrem k aktivaci adenylát kinázy. AK výrazně obnovuje poměr ATP/ADP neboť spotřebuje dva moly ADP na tvorbu jednoho molu ATP. Toto představuje důležitý kompenzační mechanismus a ukazuje, že funkce obou těchto kináz je vzájemně propojena (Dzeja *et al.*, 1998).

Vysoká míra rozpadu ATP tedy vede ke zvýšení koncentrace ADP. Enzym adenylát kináza katalyzuje reakci $ATP + AMP \leftrightarrow 2 ADP$, která přenáší β - i γ - fosfátovou skupinu ATP a umožňuje přenos vysokoenergetického fosfátu do míst jeho utilizace, čímž celkově zvyšuje energetickou účinnost buněk (Dzeja *et al.*, 2002).

Adenylátkináza amplifikuje mnohé metabolické signály. ATP-senzitivní K^+ kanál (K_{ATP} kanál) je regulován právě tímto fosfotransferázovým systémem. Adenylát kináza asociuje s K_{ATP} kanálem, podporuje výměnu nukleotidů ($ATP \leftrightarrow ADP$) a usnadňuje přeměnu mitochondriálních signálů do elektrických dějů na membránách. Metabolický stres na buněčné úrovni vyvolaný pomocí dinitrofenolu způsobí rozpřažení oxidativní fosforylace, změnu funkce F_0F_1 -ATP-syntázy ze syntézy ATP na jeho hydrolyzu, tím dojde ke zvýšené produkci ADP a otevření K_{ATP} kanálu. Po přidání oligomycinu, inhibitoru F_0F_1 -ATP-syntázy, došlo ke zrušení účinku dinitrofenolu, K_{ATP} kanál zůstal uzavřen. Tento výsledek naznačuje na úzkou komunikaci mezi mitochondriemi a aktivitou tohoto kanálu (Carrasco *et al.*, 2001).

Adenylát kináza hraje i důležitou signalizační roli při vzniku buněčné odpovědi na stres skrze aktivaci AMP-dependentních procesů (Dzeja *et al.*, 2011).

AMP-aktivovaná protein kináza

Energetická nerovnováha jako důsledek působení stresových podmínek vede ke zvýšení intracelulárního poměru AMP/ATP, který aktivuje AMP-aktivovanou protein kinázu (AMPK). Takto aktivovaná AMPK hraje významnou roli v zachování buněčné energetické

rovnováhy tím, že aktivuje katabolické (Marsin *et al.*, 2000) a inhibuje anabolické procesy v buňce (Henin & Berghe, 1995).

AMPK je poměrně složitý enzym s velkou variabilitou isoformů přítomných podjednotek. Skládá se ze tří podjednotek $\alpha\beta\gamma$, které tvoří tyto izoformy $\alpha1$, $\alpha2$, $\beta1$, $\beta2$, $\gamma1$, $\gamma2$ a $\gamma3$, avšak komplex $\alpha1\beta1\gamma1$ převažuje u většiny buněk. Jednotlivé isoformy se liší mírou stimulace pomocí AMP a také svým umístěním v buňce (Salt *et al.*, 1998). Podjednotka α má katalytickou aktivitu, zatímco podjednotky β a γ mají funkci regulační (Hardie & Sakamoto, 2006).

Aktivace AMPK probíhá na dvou úrovních, zvýšením poměru AMP/ATP a fosforylací třemi nadřazenými kinázami. Navázání AMP zvyšuje aktivitu enzymu zhruba 5 krát, zatímco fosforylace zvyšuje aktivitu až o dva řády (Hardie & Sakamoto, 2006). U kvasinek mezi tyto kinázy patří Elm1, Pak1 a Tos3 (Hong *et al.*, 2003), kterým jsou u savců nejvíce příbuzné LKB1 kináza a β isoforma kalmodulin-dependentní protein kinázy.

Aktivovaná AMPK podporuje glykolýzu. Jedním z mechanismů aktivace glykolýzy je fosforylace fosfofrukto-2-kinázy (PFK-2) vedoucí k syntéze fruktozy-2,6-bisfosfát, stimulatoru fosfofruktokinázy, který slouží jako klíčový regulační enzym glykolýzy (Marsin *et al.*, 2000). Dále inhibuje acetyl-CoA karboxylázu, čímž snižuje obsah malonylu-CoA, inhibitoru carnitin palmitoyltransferázy (CPT1), a díky tomu přispívá k posílení β -oxidace mastných kyselin (Winder & Hardie, 1996).

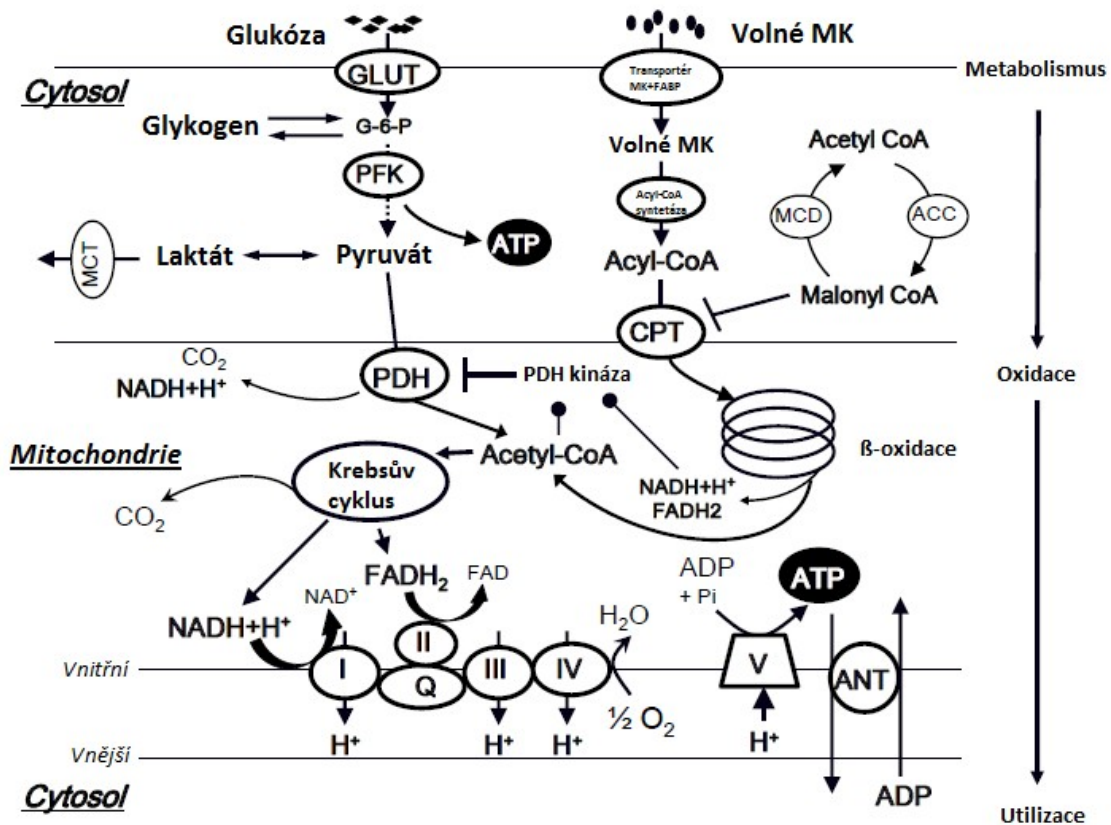
Metabolismus srdce

Srdeční sval je vysoce aerobní tkáň a MK slouží jako preferovaný a hlavní substrát pro tvorbu ATP. Myokard za klidových, fyziologických podmínek využívá 60-90 % acetyl-CoA, který je produktem β -oxidace MK a 10-40 % z oxidace pyruvátu odvozeného ve stejném poměru z glykolýzy a z oxidace laktátu (Nagoshi *et al.*, 2011).

Extrakce laktátu je proporciální k jeho cirkulující koncentraci a za fyziologických podmínek představuje ≤ 25 % využitých substrátů pro oxidaci ($\sim 0,5$ mM). Při vysoké fyzické zátěži jeho koncentrace v krvi narůstá a srdce jako vysoce oxidativní orgán je schopno 60-90 % potřebné energie získat právě z laktátu, čímž snižuje jeho celkovou koncentraci (Drake *et al.*, 1980).

Metabolismus mastných kyselin a jeho regulace

MK jsou po vstupu do buňky aktivovány esterifikací za pomoci acyl-CoA syntetázy na acyl-CoA. V dalším kroku dochází k transportu dlouhého řetězce MK na acylu-CoA na karnitin (Murthy & Pande, 1984) za účasti karnitin palmitoyltransferázy (CPT-I). Výsledný acylkarnitin je transportován přes vnější a vnitřní membránu do matrix mitochondrie. Zde je dlouhý řetězec z acylkarnitinu konvertován zpět na acyl-CoA pomocí CPT-II. V mitochondrii acyl-CoA podléhá β -oxidaci MK, produkující acetyl-CoA vstupující do cyklu trikarboxylových kyselin (Obrázek 1) (Fritz & Yue, 1963; McGarry & Brown, 1997). V obou případech vznikají redukční ekvivalenty NADH a FADH_2 , které jsou dále využity v elektrontransportním řetězci pro syntézu ATP (Lopaschuk *et al.*, 2010).



Obrázek 1 Schéma metabolismu srdce za klidových podmínek

ANT, adenin nukleotidový translokátor; *ACC*, acetyl-CoA karboxyláza; *CPT*, karnitin palmitoyltransferáza; *FABP*, vazebný protein MK (fatty acid binding protein); *GLUT*, glukózový transportér; *G-6-P*, glukóza-6-fosfát; *MCD*, malonyl-CoA dekarboxyláza; *MK*, mastné kyseliny; *PFK*, fosfofruktokináza; *PDH*, pyruvát dehydrogenáza (upraveno dle Nagoshi *et al.*, 2011).

CPT-I slouží jako klíčový regulátor, který kontroluje a moduluje příjem MK mitochondrií (McGarry, Mannaerts, & Foster, 1977). Jeho inhibítoem je malonyl-CoA, který

vzniká činností acetyl-CoA karboxylázy (Awan & Saggerson, 1993) a je degradován malonyl-CoA dekarboxylázou (Dyck *et al.*, 1998). Tento regulační cyklus je pod přímou kontrolou AMPK (Kudo *et al.*, 1995).

Oxidace MK je důležitá pro regulaci využívání glukosy v srdci (Randle *et al.*, 1963). Vysoká míra oxidace MK inhibuje pyruvát dehydrogenázu na vnitřní mitochondriální membráně, která katalyzuje dekarboxylaci pyruvátu a jeho přeměnu na acetyl-CoA, a to díky zvýšení poměru acetyl-CoA/Co-A a NADH/NAD⁺. Naopak potlačení oxidace MK zvyšuje glykolýzu skrze nižší obsah citrátu, který slouží jako inhibitor fosfofruktokinázy. Rovněž podmínky vedoucí k produkci acetyl-CoA z pyruvátu (glykolýzy) stimulují tvorbu malonylu-CoA a tedy inhibují CPT-I (Nagoshi *et al.*, 2011).

Mechanismy vedoucí k výběru určitého substrátu v srdci představují dynamický systém ovlivněný převážně jeho nabídkou, která odpovídá převažujícímu fyziologickému nebo patofyziologickému stavu organismu (Stanley *et al.*, 2005).

Silná chronická hypobarická hypoxie aktivuje regulační cesty, které vedou k dlouhodobé remodelaci srdečního energetického metabolismu. Na proteomické úrovni je aktivován fetální program, který posiluje metabolismus sacharidů a naopak snižuje metabolismus MK. Důvodem tohoto metabolického přepnutí je využití glukózy jako efektivnějšího substrátu z hlediska množství vyprodukovaného ATP na počet molů zkonsumovaného O₂ (Taegtmeyer *et al.*, 2010).

Metabolismus laktátu

Laktát je produkován rychlými svalovými vlákny a kontinuálně uvolňován do intersticia nebo do krve. Při mírné fyzické zátěži je veškerý vyprodukovaný laktát oxidován neaktivními svalovými vlákny či vysoce oxidativními orgány. Pokud při fyzické zátěži překročí V_{O₂max} hranici 50 % (hodnota pro zdravého, netrénovaného jedince) dochází ke zvýšení koncentrace laktátu v krvi a může být využit jako zdroj energie pro srdeční činnost (McArdle *et al.*, 2009).

Laktát vzniká z pyruvátu činností laktát dehydrogenázy reversibilní reakcí vedoucí v tomto směru k regeneraci NAD⁺ a vstupuje do buňky skrze speciální protein tzv. monokarboxylový transportér (MCT) (Wibrand & Juel, 1994). Bylo zjištěno současné vychytávání exogenního laktátu srdcem a uvolnění myokardiálního laktátu z kardiomyocytů při

odpovědi na hypoxické podmínky (Stanley *et al.*, 1990). Metabolismus exogenního laktátu je kompartmentalizován v mitochondriích v tzv. laktátovém „shuttlu“ (Brooks, 2002), kde dochází k jeho oxidaci, zatímco laktát pocházející z glykolýzy v srdci je převážně transportován ven z buňky (Chatham, Des Rosiers, & Forder, 2001). Čím jsou tyto dva oddělené toky laktátu regulovány, není dosud známo.

Adaptace srdce na chronickou hypoxii

Hypoxie vzniká v důsledku disproporce mezi transportovaným O₂ kardiiovaskulárním systémem a jeho množstvím požadovaným určitou tkání. Rozlišujeme:

1. Ischemická hypoxie – způsobena přerušением nebo redukcí koronárního toku krve.
2. Hypoxická (systémová) hypoxie – způsobena poklesem parciálního tlaku O₂ v arteriích, avšak perfúze je plně zachována.
3. Anemická hypoxie – způsobena sníženou transportní kapacitou krve pro O₂.

Systémová hypoxie způsobuje změny v kardiopulmonárním systému vyvolané poklesem tlaku okolního vzduchu ve vysokých nadmořských výškách (Ostadal & Kolar, 2007).

Adaptace na chronickou hypoxii zahrnuje funkční změny vedoucí k zachování energetické homeostáze s minimálním výdejem energie. Toto přizpůsobení může chránit srdce při podmínkách vyžadujících zvýšenou zátěž. Kardioprotektivní mechanismus těchto adaptací spočívá ve zvýšené toleranci vůči škodlivým účinkům akutního nedostatku O₂ a snížení rozsahu ischemicko-reperfúzního poškození (Neckár *et al.*, 2013). Chronická hypoxie však vyvolává i změny, které v případě silného hypoxického působení mohou vyvolat srdeční selhání. Mezi ně můžeme řadit plicní hypertenzi a hypertrofii pravé komory. O tom, zda daná adaptace bude mít pozitivní či negativní působení rozhoduje typ hypoxie (kontinuální *versus* intermitentní), její míra, doba trvání a frekvence hypoxických cyklů (episod) v laboratorních podmínkách (Ostadal & Kolar, 2007). Nedávno bylo zjištěno, že hodinová reoxygenace naruší kardioprotektivní účinek kontinuální normobarické hypoxie (Neckár *et al.*, 2013).

Kardioprotektivní účinky chronické IH jsou spojené s oxidativním stresem. Bylo prokázáno, že podávání antioxidantu N-acetyl cysteinu ruší tyto benefiční účinky adaptace (Balková *et al.*, 2011). Současně dochází ke zvýšení sympatické aktivity, která společně

s mitochondriemi zvyšuje tvorbu kyslíkových radikálů. Změna redoxního stavu buňky aktivuje některé transkripční faktory, včetně HIF-1 α (Ostadal & Kolar, 2007).

HIF-1 α

Hypoxií indukovaný faktor HIF-1 α je významný činitel v adaptaci celého organismu i jednotlivých buněk na nedostatek O₂. Na úrovni organismu zajišťuje zvýšenou dodávku O₂ do tkání, zvýšením kapacity krve pro přenos O₂ a rozvojem kapilárního řečiště. Tyto dvě funkce realizuje přes aktivaci transkripce erythropoetinu (Semenza *et al.*, 1991) a vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (VEGF) (Forsythe *et al.*, 1996). HIF-1 α je transkripční faktor senzitivní k redoxnímu stavu buňky, který reguluje expresi mnoha adaptivních proteinů, působících na buněčné úrovni. Mezi ně můžeme mimo jiné zařadit aktivaci inducibilní NO syntázy (iNOS), která se podílí na vazodilataci a tedy zvýšené dostupnosti O₂ do tkání (Jung *et al.*, 2000). HIF-1 α posiluje metabolismus glukózy aktivací exprese glukózového transportéru GLUT1 (Wood, 1998) a mnoha glykolytických enzymů (Prabhakar & Semenza, 2012).

Mitochondriální energetický metabolismus při intermitentní hypoxii

Intermitentní hypoxie (IH) zvyšuje výrazně mitochondriální biogenezi a zprostředkovává efektivnější utilizaci produkované energie. Modulace mitochondriálního energetického metabolismu tedy hraje důležitou roli v kardioprotektivních mechanismech vyvolaných adaptací na IH, které zvyšují odolnost proti ischemicko-reperfúznímu poškození (Wang *et al.*, 2012). V IH se zvyšuje exprese β podjednotky ATP syntázy a zlepšuje efektivita cytochromoxidázy záměnou podjednotky COX4.1 za COX4.2 (Fukuda *et al.*, 2007). Dále dochází ke zvýšené expresi aldehyddehydrogenázy, proteinů teplotního šoku HSP27 a klíčových glykolytických enzymů (aldolasa A, PFK-2, Hexokináza I a II). Naopak snižuje expresi proteinů, které se účastní oxidace lipidů (acetyl-CoA acyltransferasa 2 a karnitin palmitoyltransferasa II) při reperfúzi. Tyto výsledky svědčí o citlivé odpovědi energetického metabolismu mitochondrií na ischemicko-reperfúzní poškození a o klíčovém významu zvýšení odolnosti levé komory adaptací na IH (Minchenko *et al.*, 2004, Wang *et al.*, 2012, Waskova-Arnostova *et al.*, 2014).

„Mitochondrial permeability transition pore“ (MPTP) je nespecifický pór na vnitřní mitochondriální membráně, který se otevírá v důsledku přetížení Ca²⁺ ionty, které vyvolá

nadměrný vstup Ca^{2+} kationtů do mitochondrie (Ca^{2+} overload) a indukuje jejich bobtnání neboli „swelling“ (Kobayashi *et al.*, 2003). K otevření MPTP přispívá oxidativní stres, vyčerpání zásob adeninových nukleotidů a zvýšená hladina P_i . Otevření tohoto póru vede ke kolapsu membránového potenciálu, narušení respiračního řetězce a uvolnění nízkomolekulárních proteinů matrix (Halestrap & Pasdois, 2009).

Protektivní účinek IH spočívá rovněž v inhibici otevření MPTP. Bylo zjištěno, že ventrikulární myocyty odebrané ze srdce adaptovaného na IH vykazují delší časový úsek vedoucí k iniciaci otevření MPTP po vystavení oxidativnímu stresu než myocyty kontrolní. IH tedy prodlužuje dobu nutnou k otevření MPTP a zároveň také dobu, jejíž výsledkem je chorobné stažení svalu (kontraktura) (Zhu *et al.*, 2006). Důvodem k tomuto časovému prodloužení může být též aktivace signální dráhy proteinkinázy B/AKT, která zvyšuje asociaci HK II s mitochondriemi a tím dodává ADP k ATP-syntáze (Southworth *et al.*, 2007) podobným mechanismem jako CK. Vazba HK II na vnější mitochondriální membránu kompetuje o vazebné místo s proapoptotickým proteinem BAX, a tím blokuje výlev cytochromu c a inhibuje otevření MPTP (Pastorino *et al.*, 2002).

Kardioprotektivní účinek adaptace na hypoxii

Je známo, že adaptace srdce na hypoxii zvyšuje toleranci srdce k ischemicko-reperfúznímu poškození a má tedy důležitý kardioprotektivní účinek. Hlavní mechanismus spočívá v modulaci a vyšší efektivitě energetického metabolismu, ale i zvýšená produkce stresových proteinů a snížená citlivost β -adrenoreceptorů v srdci hraje důležitou roli v kardioprotekci (Zhou, 1999).

Epidemiologické studie v 50. letech minulého století prokázaly nižší výskyt infarktu myokardu u lidí žijících ve vysokých nadmořských výškách (Hurtado, 1960; Kolár & Ostádal, 2004). Na základě dalších experimentálních studií bylo potvrzeno, že adaptace na hypoxii zvyšuje odolnost vůči hlavním následkům akutního nedostatku O_2 jako je infarkt myokardu a arytmie (Kolár & Ostádal, 2004). Bylo prokázáno, že srdce izolované z potkana, který byl obden vystavován působení nadmořské výšky 7000 m. n. m po dobu trvání šesti týdnů, vykazovalo vyšší úroveň obnovy kontraktilní funkce než kontrolní vzorky (Kopecky & Daum, 1958).

V porovnání s ischemickým „preconditioningem“ (Murry *et al.*, 1986, Ostadal & Kolar, 2007) působí kardioprotektivní účinek proti ischemicko-reperfúznímu poškození jako výsledek adaptace na vysokou nadmořskou výšku po delší časový úsek a přetrvává po relativně dlouhou dobu i po vyjmutí experimentálních zvířat z hypoxické atmosféry. Z hlediska dlouhodobého efektu je tedy adaptace na hypoxii důležitá pro možné terapeutické využití. Adaptace na IH (7000 m. n. m., 8 h/den, 35 expozií) snížila velikost infarktu myokardu z $69,2 \pm 1,7$ % u normoxických kontrol na $48,0 \pm 2,2$ % u chronicky hypoxických skupin a na $61,6 \pm 2,3$ % u skupin po sedmi dnech zotavení za normoxických podmínek. Residuální protektivní účinek byl pozorován i po 35 dnech normoxie, po 90 dnech normoxie došlo k plnému návratu ke kontrolním hodnotám. Na rozdíl od této dlouhodobé protekce, antiarytmický účinek vymizel během prvního týdne normoxie. Navíc došlo ke zvýšení výskytu arytmií po 7 dnech zotavování v porovnání s kontrolními skupinami. Tento přechodný efekt zvýšené citlivosti k ischemické arytmií přináší určité riziko spojené s návratem z extrémních hypoxických podmínek a omezení této kardioprotekce (Neckár, Ostadal, & Kolár, 2004).

Adaptace na hypoxii inhibuje signální systém β -adrenergických receptorů a adenylylcyklázy, a tím snižuje adrenergní vnímavost srdce. Z tohoto důvodu pravděpodobně dochází k ochraně srdce proti nadměrné stimulaci katecholaminy spojenými s ischemicko-reperfúzním poškozením (Mallet *et al.*, 2006).

Zvýšená adrenergní stimulace, produkce reaktivních forem O_2 a NO působí na expresi mnoha signálních a efektorových molekul a zvyšuje jejich aktivitu. Můžeme mezi ně řadit např. zvýšenou činnost protein kinázy C (PKC), která je trvale aktivována chronickou hypoxií (Sahai *et al.*, 1997, Hlaváčková *et al.*, 2010), ale i jiných kináz jako např. fosfatidylinositol-3-kinázy (Ravingerova *et al.*, 2007). Tyto aktivované kinázy fosforylují další proteiny a modulují jejich funkci.

K_{ATP} kanál

Jedním z cílových proteinů aktivovaných kináz je ATP-senzitivní K^+ kanál (K_{ATP} kanál). Adaptací na IH dochází ke zvýšené transkripci jeho regulační podjednotky SUR2 vedoucí k vyššímu výskytu tohoto kanálu (Crawford *et al.*, 2003). Chronická hypoxie vede k aktivaci K_{ATP} kanálu skrze guanylylcyklázu způsobující akumulaci cGMP a aktivaci cGMP-dependentní protein kinázy (Baker *et al.*, 1997; Asemu *et al.*, 1999). Tento kanál je

lokalizován na sarkolemě a na vnitřní mitochondriální membráně. Ukazuje se, že větší význam pro kardioprotekci má právě mitochondriální K_{ATP} kanál. Jeho otevření hraje klíčovou roli v kardioprotektivním účinku IH proti přetížení buňky Ca^{2+} ionty (Ca^{2+} overload), které doprovází ischemicko-reperfúzní poškození. Mechanismus této protekce spočívá v uchování homeostáze Ca^{2+} iontů, jedné z nejdůležitějších funkcí srdečních mitochondrií (Xie *et al.*, 2004).

V izolovaných srdečních mitochondriích vedlo otevření tohoto kanálu podáním 100 μ M pinacidilu k depolarizaci membránového potenciálu, poklesu produkce ATP, zrychlení respirace a uvolnění naakumulovaných Ca^{2+} iontů. Mimo jiné došlo také ke zvětšení objemu matrix („matrix swelling“) asociující se ztrátou intermembránových proteinů jako je cytochrom *c* a adenylát kináza. Tyto výsledky naznačují důležitou roli právě tohoto K_{ATP} kanálu v regulaci základních mitochondriálních funkcí (Holmuhamedov *et al.*, 1998).

Pozitivní efekt aktivace K_{ATP} kanálu spočívá zejména ve snížení nadměrného plnění mitochondrie Ca^{2+} ionty (Ca^{2+} overload) (Holmuhamedov *et al.*, 1999). Při studiu účinků modulátorů K_{ATP} kanálu byl prokázán jeho antiarytmický účinek vyvolaný adaptací na IH. Při aplikaci glibenklamidu (blokátor K_{ATP} kanálu) došlo k výraznější proarytmickému účinku právě u skupin potkanů adaptovaných na IH než u kontrol a jeho působení kompletně zrušilo protektivní účinek IH. Aplikace diazoxidu (specifický „opener“ mitochondriálního K_{ATP} kanálu) měla antiarytmický efekt u normoxických skupin, ale už ne u IH adaptovaných. Tento výsledek potvrzuje, že přizpůsobení IH vede k otevření mitochondriálního K_{ATP} kanálu, který je v důsledku toho necitlivý k působení diazoxidu (Asemu *et al.*, 1999).

Kardioprotektivní účinek spočívá také ve zvýšené expresi antiapoptotického faktoru Bcl-2 a snížené expresi proapoptotického faktoru BAX, čímž dochází k redukci apoptóz u myocytů vyvolaných ischemicko-reperfúzním poškozením (Dong *et al.*, 2003).

Kardioprotektivní mechanismy fyzické zátěže

Koronární okluze a následné ischemicko-reperfúzní poškození je jednou z hlavních příčin úmrtí v industrializovaném světě (Murray & Lopez, 1997). V mnoha studiích bylo dokázáno, že jedinou praktickou a trvale udržitelnou kardioprotektivní metodou bez vedlejších účinků jsou pravidelné periody vytrvalostní fyzické zátěže (Hamilton *et al.*, 2004, Libonati *et al.*, 2005, Demirel *et al.*, 2014).

V současnosti nejsou plně jasné principy vedoucí ke kardioprotekci vyvolané fyzickou zátěží. Jedním z možných mediátorů této protekce je zvýšená exprese srdečních antioxidantů, které minimalizují rozsah ischemicko-reperfúzního poškození (Chen *et al.*, 1998). Bylo zjištěno, že vysoce intenzivní cvičení (≥ 30 min/den) nebo cvičení střední intenzity po delší časový úsek (≥ 60 min/den) vede ke zvýšení aktivity superoxid dismutázy (MnSOD) v srdci (S. K. Powers *et al.*, 1993). Při použití „anti-sense“ oligodeoxyribonukleotidu proti MnSOD došlo k prevenci zvýšení aktivity MnSOD vyvolané cvičením (Yamashita *et al.*, 1999). To ukazuje na její důležitou roli v kardioprotekci vyvolanou fyzickou zátěží.

Mezi další mechanismy modulované fyzickou zátěží je ATP-senzitivní draselný kanál umístěný na sarkoplazmatické membráně (sarcoK_{ATP}). Bylo dokázáno, že cvičení zvyšuje expresi tohoto kanálu v srdečních myocytech (Brown *et al.*, 2005). Protektivní účinek sarcoK_{ATP} spočívá ve zkrácení trvání srdečního akčního potenciálu při jeho otevření, které vede k inhibici vstupu Ca²⁺ do buňky skrz L-typ Ca²⁺ kanálů a celkově přispívá k inhibici přetížení buňky Ca²⁺ ionty (Ca²⁺ overload) (Gross & Peart, 2003; Powers, Quindry, & Kavazis, 2008).

Fyzická zátěž v hypoxii

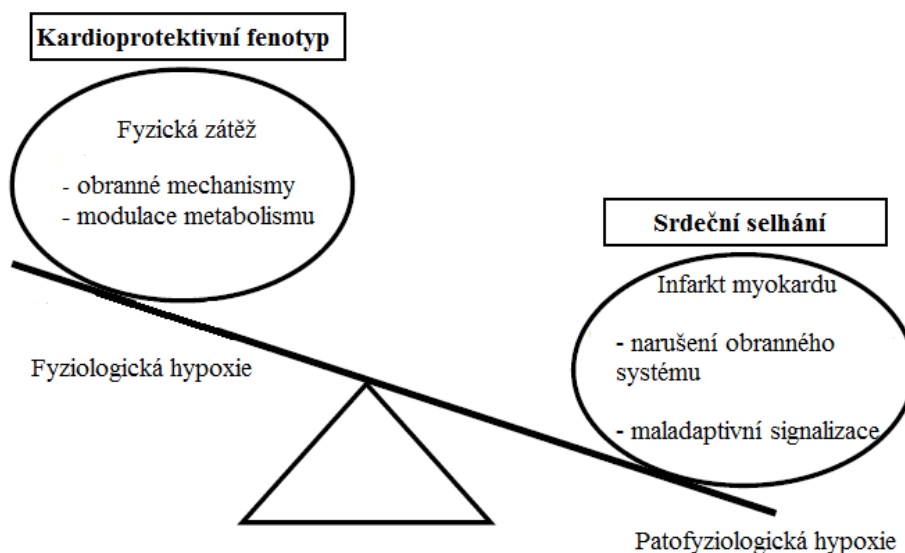
Kardioprotektivní fenotyp vytvořený na základě působení hypoxických podmínek a fenotyp vznikající v důsledku pravidelné fyzické zátěže sdílejí některé důležité buněčné signalizační dráhy. Z toho důvodu bychom si měli položit otázku, zda hypoxie kombinovaná s pravidelnou fyzickou zátěží může vést k výraznějšímu kardioprotektivnímu účinku než hypoxie samotná.

IH a fyzická zátěž pozitivně modulují funkci srdečních mitochondrií za bazálních podmínek a vybavují je více rezistentním fenotypem. Kombinace obou těchto strategií vede ke zlepšení srdeční funkce, výkonu a zvýšení srdečního výdeje. Aditivní účinek těchto stresových stimulů však prozatím nebyl dokázán. Bylo zjištěno, že IH samotná vede k nižší expresi podjednotek komplexu I a II respiračního řetězce v porovnání s normoxickými podmínkami a s fyzickou zátěží. Avšak při současném působení IH a fyzické zátěže došlo ke kompletní obnově původní hodnoty exprese těchto podjednotek. Výsledky ukazují, že IH a fyzická zátěž *per se* nemají vliv na množství ANT. Avšak kombinace obou těchto kardioprotektivních strategií výrazně indukuje zvýšení obsahu tohoto proteinu (Magalhães *et al.*, 2013).

ZÁVĚR

Fyziologická hypoxie (pobyt ve vysokých nadmořských výškách a fyzická zátěž) spouští řadu obranných adaptací organismu, jejichž hlavním cílem je zachování homeostáze O_2 s minimálním výdejem energie. Chronická IH tedy aktivuje signalizační kaskádu, která má za následek dlouhodobé změny v metabolismu srdce vedoucí k posílení metabolismu sacharidů a snížení metabolismu MK. Tyto funkční změny hrají důležitou roli při stresových podmínkách a vedou ke zvýšené toleranci srdce k akutnímu nedostatku O_2 . Klíčovou roli zde tedy hraje rovnováha mezi nabídkou a poptávkou po O_2 . Při patofyziologické hypoxii dochází k narušení těchto obranných mechanismů a následnému srdečnímu selhání (obrázek 2).

Mechanismy vedoucí ke kardioprotektivnímu fenotypu představují vzájemně provázaný systém na sebe navazujících dějů. Často je jejich přesný molekulární mechanismus nejasný a vyžaduje další výzkum, jako v případě regulace vzniku MPTP. Avšak jejich možné terapeutické využití může výrazně přispět k redukci počtu stále narůstajících srdečních chorob.



Obrázek 2 Rovnováha mezi množstvím transportovaného O_2 a jeho poptávkou v srdci
Fyziologická hypoxie spouští obranné mechanismy mezi které řadíme např. angiogenezi a erythropoézu. Důležitou roli v kardioprotekci hrají i změny v metabolismu srdce vedoucí k preferenci využití sacharidů jako zdroje energie oproti MK. Narušení této homeostáze vede k maladaptivní signalizační kaskádě a následnému srdečnímu selhání (upraveno dle Essop, 2007).

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Asemu, G., Papousek, F., Ostádal, B., & Kolár, F. (1999). Adaptation to high altitude hypoxia protects the rat heart against ischemia-induced arrhythmias. Involvement of mitochondrial K(ATP) channel. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, *31*(10), 1821–31. doi:10.1006/jmcc.1999.1013
- Awan, M. M., & Saggerson, E. D. (1993). Malonyl-CoA metabolism in cardiac myocytes and its relevance to the control of fatty acid oxidation. *The Biochemical Journal*, *295* (Pt 1, 61–6.
- Baker, J., E., Curry, B., D., Olinger, G., N., & Gross, G., J. (1997). Increased Tolerance of the Chronically Hypoxic Immature Heart to Ischemia.
- Balková, P., Hlaváčková, M., Milerová, M., Neckář, J., Kolář, F., Novák, F., & Nováková, O. (2011). N-acetylcysteine treatment prevents the up-regulation of MnSOD in chronically hypoxic rat hearts. *Physiol Res.*, *60*(3), 467–74.
- Ball, R. M., Bache, R. J., Cobb, F. R., & Greenfield, J. C. (1975). Regional myocardial blood flow during graded treadmill exercise in the dog. *The Journal of Clinical Investigation*, *55*(1), 43–9. doi:10.1172/JCI107916
- Bell, C. (2008). *Cardiovascular Physiology in Exercise and Sport* (p. 20). Elsevier/Churchill Livingstone.
- Bessman, S. P., & Geiger, P. J. (1981). Transport of energy in muscle: the phosphorylcreatine shuttle. *Science (New York, N.Y.)*, *211*(4481), 448–52.
- Boron, W. F., & Boulpaep, E. L. (2012). *Medical Physiology* (2nd ed., pp. 1249–1267). Saunders.
- Brdiczka, D., Kaldis, P., & Wallimann, T. (1994). In vitro complex formation between the octamer of mitochondrial creatine kinase and porin. *The Journal of Biological Chemistry*, *269*(44), 27640–4.
- Brooks, G. (2002). Lactate shuttles in Nature, *30*, 258–264.
- Brown, D. A., Chicco, A. J., Jew, K. N., Johnson, M. S., Lynch, J. M., Watson, P. A., & Moore, R. L. (2005). Cardioprotection afforded by chronic exercise is mediated by the sarcolemmal, and not the mitochondrial, isoform of the KATP channel in the rat. *The Journal of Physiology*, *569*(Pt 3), 913–24. doi:10.1113/jphysiol.2005.095729
- Carrasco, a J., Dzeja, P. P., Alekseev, a E., Pucar, D., Zingman, L. V, Abraham, M. R., ... Terzic, a. (2001). Adenylate kinase phosphotransfer communicates cellular energetic signals to ATP-sensitive potassium channels. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *98*(13), 7623–8. doi:10.1073/pnas.121038198

- Crawford, R. M., Jovanović, S., Budas, G. R., Davies, A. M., Lad, H., Wenger, R. H., ... Jovanović, A. (2003). Chronic mild hypoxia protects heart-derived H9c2 cells against acute hypoxia/reoxygenation by regulating expression of the SUR2A subunit of the ATP-sensitive K⁺ channel. *The Journal of Biological Chemistry*, 278(33), 31444–55. doi:10.1074/jbc.M303051200
- De Groof, a J., Oerlemans, F. T., Jost, C. R., & Wieringa, B. (2001). Changes in glycolytic network and mitochondrial design in creatine kinase-deficient muscles. *Muscle & Nerve*, 24(9), 1188–96.
- Demirel, H. A., Powers, S. K., Zergeroglu, M. A., Shanely, R. A., Hamilton, K., Coombes, J., (2014). Short-term exercise improves myocardial tolerance to in vivo ischemia-reperfusion in the rat, 2205–2212.
- Dolder, M., Walzel, B., Speer, O., Schlattner, U., & Wallimann, T. (2003). Inhibition of the mitochondrial permeability transition by creatine kinase substrates. Requirement for microcompartmentation. *The Journal of Biological Chemistry*, 278(20), 17760–6. doi:10.1074/jbc.M208705200
- Dong, J. W., Zhu, H. F., Zhu, W. Z., Ding, H. L., Ma, T. M., & Zhou, Z. N. (2003). Intermittent hypoxia attenuates ischemia/reperfusion induced apoptosis in cardiac myocytes via regulating Bcl-2/Bax expression. *Cell Research*, 13(5), 385–91. doi:10.1038/sj.cr.7290184
- Drake, A. J., Haines, J. R., & Noble, M. I. (1980). Preferential uptake of lactate by the normal myocardium in dogs. *Cardiovascular Research*, 14(2), 65–72.
- Dyck, J. R., Barr, a J., Barr, R. L., Kolattukudy, P. E., & Lopaschuk, G. D. (1998). Characterization of cardiac malonyl-CoA decarboxylase and its putative role in regulating fatty acid oxidation. *The American Journal of Physiology*, 275(6 Pt 2), H2122–9.
- Dzeja, P. P., Bortolon, R., Perez-Terzic, C., Holmuhamedov, E. L., & Terzic, A. (2002). Energetic communication between mitochondria and nucleus directed by catalyzed phosphotransfer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(15), 10156–61. doi:10.1073/pnas.152259999
- Dzeja, P. P., Chung, S., Faustino, R. S., Behfar, A., & Terzic, A. (2011). Developmental enhancement of adenylate kinase-AMPK metabolic signaling axis supports stem cell cardiac differentiation. *PloS One*, 6(4), e19300. doi:10.1371/journal.pone.0019300
- Dzeja, P., Zeleznikar, R., & Goldberg, N. (1998). Adenylate kinase: kinetic behavior in intact cells indicates it is integral to multiple cellular processes. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 184(1-2), 169–182.
- Epand, R. F., Schlattner, U., Wallimann, T., Lacombe, M.-L., & Epand, R. M. (2007). Novel lipid transfer property of two mitochondrial proteins that bridge the inner and outer membranes. *Biophysical Journal*, 92(1), 126–37. doi:10.1529/biophysj.106.092353

- Eppenberger, H. M., Dawson, D. M., & Kaplan, N. O. (1967). CHARACTERIZATION FROM CHICKEN AND RABBIT TISSUES of Creatine.
- Essop, M. F. (2007). Cardiac metabolic adaptations in response to chronic hypoxia. *The Journal of Physiology*, 584(Pt 3), 715–26. doi:10.1113/jphysiol.2007.143511
- Fitch, C. D. (1977). in Pathogenesis of Human Muscle Dystrophy (Rowland, P., ed.). *Excerpta Medica, Amsterdam*, pp. 328–336.
- Fitch, C. D., Shields, R. P., William, F. & Dacus, J. (1968). Creatine Metabolism in Skeletal Muscle : Specificity of the Creatine Entry Process. *J. Biol. Chem.* 243, 2024–2027.
- Forsythe, J. A., Jiang, B. H., Iyer, N. V, Agani, F., Leung, S. W., Koos, R. D., & Semenza, G. L. (1996). Activation of vascular endothelial growth factor gene transcription by hypoxia-inducible factor 1. *Molecular and Cellular Biology*, 16(9), 4604–13.
- Fritz, I. B., & Yue, K. T. (1963). LONG-CHAIN CARNITINE ACYLTRANSFERASE AND THE ROLE OF ACYLCARNITINE DERIVATIVES IN THE CATALYTIC INCREASE OF FATTY ACID OXIDATION INDUCED BY CARNITINE. *Journal of Lipid Research*, 4, 279–88.
- Fukuda, R., Zhang, H., Kim, J., Shimoda, L., Dang, C. V, & Semenza, G. L. (2007). HIF-1 regulates cytochrome oxidase subunits to optimize efficiency of respiration in hypoxic cells. *Cell*, 129(1), 111–22. doi:10.1016/j.cell.2007.01.047
- Gregor, M., Janovská, A., Stefl, B., Zurmanová, J., & Mejsnar, J. (2003). Substrate channelling in a creatine kinase system of rat skeletal muscle under various pH conditions. *Experimental Physiology*, 88(1), 1–6.
- Gross, G. J., & Peart, J. N. (2003). KATP channels and myocardial preconditioning: an update. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* H921–H930.
- Halestrap, A. P., & Pasdois, P. (2009). The role of the mitochondrial permeability transition pore in heart disease. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1787(11), 1402–15. doi:10.1016/j.bbabi.2008.12.017
- Hamilton, K. L., Quindry, J. C., French, J. P., Staib, J., Hughes, J., Mehta, J. L., & Powers, S. K. (2004). MnSOD antisense treatment and exercise-induced protection against arrhythmias. *Free Radical Biology & Medicine*, 37(9), 1360–8. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2004.07.025
- Hardie, D. G., & Sakamoto, K. (2006). AMPK: a key sensor of fuel and energy status in skeletal muscle. *Physiology (Bethesda, Md.)*, 21, 48–60. doi:10.1152/physiol.00044.2005
- Hart, B. J., Bian, X., Gwartz, P. a, Setty, S., & Downey, H. F. (2001). Right ventricular oxygen supply/demand balance in exercising dogs. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 281(2), H823–30.
- Henin, N., & Berghe, G. V. A. N. D. E. N. (1995). Inhibition of fatty acid and cholesterol of AMP-activated synthesis kinase by stimulation protein. *FASEB J.*, 541–546.

- Hlaváčková, M., Kožichová, K., Neckář, J., Kolář, F., Musters, R. J. P., Novák, F., & Nováková, O. (2010). Up-regulation and redistribution of protein kinase C- δ in chronically hypoxic heart. *Molecular and Cellular Biochemistry*, *345*(1-2), 271–82. doi:10.1007/s11010-010-0581-8
- Holmuhamedov, E. L., Jovanović, S., Dzeja, P. P., Jovanović, a, & Terzic, a. (1998). Mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channels modulate cardiac mitochondrial function. *The American Journal of Physiology*, *275*(5 Pt 2), H1567–76.
- Holmuhamedov, E. L., Wang, L., & Terzic, a. (1999). ATP-sensitive K⁺ channel openers prevent Ca²⁺ overload in rat cardiac mitochondria. *The Journal of Physiology*, *519* Pt 2, 347–60.
- Hong, S.-P., Leiper, F. C., Woods, A., Carling, D., & Carlson, M. (2003). Activation of yeast Snf1 and mammalian AMP-activated protein kinase by upstream kinases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *100*(15), 8839–43. doi:10.1073/pnas.1533136100
- Hornemann, T., Stolz, M., & Wallimann, T. (2000). Isoenzyme-specific interaction of muscle-type creatine kinase with the sarcomeric M-line is mediated by NH(2)-terminal lysine charge-clamps. *J. Cell Biol.*, *149*(6), 1225–34.
- Hurtado, A. (1960). Some clinical aspects of life at high altitudes. *Ann Intern Med*, *53*, 247–258.
- Chasiotis, D., Sahlin, K., & Hultman, E. (1982). Regulation of glycogenolysis in human muscle at rest and during exercise. *Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology*, *53*(3), 708–15.
- Chatham, J. C., Des Rosiers, C., & Forder, J. R. (2001). Evidence of separate pathways for lactate uptake and release by the perfused rat heart. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *281*(4), E794–802.
- Chen, Z., Siu, B., Ho, Y. S., Vincent, R., Chua, C. C., Hamdy, R. C., & Chua, B. H. (1998). Overexpression of MnSOD protects against myocardial ischemia/reperfusion injury in transgenic mice. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, *30*(11), 2281–9. doi:10.1006/jmcc.1998.0789
- Jung, F., Palmer, L. a., Zhou, N., & Johns, R. a. (2000). Hypoxic Regulation of Inducible Nitric Oxide Synthase via Hypoxia Inducible Factor-1 in Cardiac Myocytes. *Circulation Research*, *86*(3), 319–325. doi:10.1161/01.RES.86.3.319
- Kammermeier, H. (1987). Why do cells need phosphocreatine and a phosphocreatine shuttle. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, *19*(1), 115–118. doi:10.1016/S0022-2828(87)80550-3
- Kobayashi, T., Kuroda, S., Tada, M., Houkin, K., Iwasaki, Y., & Abe, H. (2003). Calcium-induced mitochondrial swelling and cytochrome c release in the brain: its biochemical characteristics and implication in ischemic neuronal injury. *Brain Research*, *960*(1-2), 62–70.

- Kolár, F., & Ostádal, B. (2004). Molecular mechanisms of cardiac protection by adaptation to chronic hypoxia. *Physiological Research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca*, 53 Suppl 1(1971), S3–13.
- Kopecky, M., & Daum, S. (1958). Tissue adaptation to anoxia in rat myocardium (in Czech). *Čs Fyziol* 7, 518–521.
- Kraft, T., Hornemann, T., Stolz, M., Nier, V., & Wallimann, T. (2000). Coupling of creatine kinase to glycolytic enzymes at the sarcomeric I-band of skeletal muscle: a biochemical study in situ. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, 21(7), 691–703.
- Kudo, N., Barr, A. J., Barr, R. L., Desai, S., & Lopaschuk, G. D. (1995). High rates of fatty acid oxidation during reperfusion of ischemic hearts are associated with a decrease in malonyl-CoA levels due to an increase in 5'-AMP-activated protein kinase inhibition of acetyl-CoA carboxylase. *The Journal of Biological Chemistry*, 270(29), 17513–20.
- Kushmerick, M. J. (1998). Energy balance in muscle activity: simulations of ATPase coupled to oxidative phosphorylation and to creatine kinase. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part B, Biochemistry & Molecular Biology*, 120(1), 109–23.
- Laughlin, M. H., Bowles, D. K., & Duncker, D. J. (2012). The coronary circulation in exercise training. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 302(1), H10–23. doi:10.1152/ajpheart.00574.2011
- Libonati, J. R., Kendrick, Z. V., & Houser, S. R. (2005). Sprint training improves postischemic, left ventricular diastolic performance. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 99(6), 2121–7. doi:10.1152/jappphysiol.01212.2004
- Lopaschuk, G. D., Ussher, J. R., Folmes, C. D. L., Jaswal, J. S., & Stanley, W. C. (2010). Myocardial Fatty Acid Metabolism in Health and Disease, 207–258. doi:10.1152/physrev.00015.2009.
- Magalhães, J., Falcão-Pires, I., Gonçalves, I. O., Lumini-Oliveira, J., Marques-Aleixo, I., Dos Passos, E., ... Ascensão, a. (2013). Synergistic impact of endurance training and intermittent hypobaric hypoxia on cardiac function and mitochondrial energetic and signaling. *International Journal of Cardiology*, 168(6), 5363–71. doi:10.1016/j.ijcard.2013.08.001
- Mallet, R. T., Ryou, M.-G., Williams, A. G., Howard, L., & Downey, H. F. (2006). Beta1-Adrenergic receptor antagonism abrogates cardioprotective effects of intermittent hypoxia. *Basic Research in Cardiology*, 101(5), 436–46. doi:10.1007/s00395-006-0599-y
- Marsin, a S., Bertrand, L., Rider, M. H., Deprez, J., Beauloye, C., Vincent, M. F., ... Hue, L. (2000). Phosphorylation and activation of heart PFK-2 by AMPK has a role in the stimulation of glycolysis during ischaemia. *Current Biology : CB*, 10(20), 1247–55.
- Matthews, P. M., Bland, J. L., Gadian, D. G., & Radda, G. K. (1982). A 31P-NMR saturation transfer study of the regulation of creatine kinase in the rat heart. *Biochimica et*

Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research, 721(3), 312–320. doi:10.1016/0167-4889(82)90084-2

- McArdle, W. D., Katch, F. I., & Katch, V. L. (2009). *Exercise Physiology* (7th ed.). Philadelphia: Lippincott-Williams-Wilkins.
- McGarry, J. D., & Brown, N. F. (1997). The mitochondrial carnitine palmitoyltransferase system. From concept to molecular analysis. *European Journal of Biochemistry / FEBS*, 244(1), 1–14.
- McGarry, J. D., Mannaerts, G. P., & Foster, D. W. (1977). A possible role for malonyl-CoA in the regulation of hepatic fatty acid oxidation and ketogenesis. *The Journal of Clinical Investigation*, 60(1), 265–70. doi:10.1172/JCI108764
- Meyer, R. A., Sweeney, H. L., & Kushmerick, M. J. (1984). A simple analysis of the “phosphocreatine shuttle”. *The American Journal of Physiology*, 246(5 Pt 1), C365–77.
- Minchenko, O., Opentanova, I., Minchenko, D., Ogura, T., & Esumi, H. (2004). Hypoxia induces transcription of 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-biphosphatase-4 gene via hypoxia-inducible factor-1alpha activation. *FEBS Letters*, 576(1-2), 14–20. doi:10.1016/j.febslet.2004.08.053
- Mommaerts, W. F. (1969). Energetics of muscular contraction. *Physiol Rev*, 49(3), 427–508. Retrieved from <http://physrev.physiology.org/content/49/3/427>
- Murray, C. J., & Lopez, a D. (1997). Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study. *Lancet*, 349(9064), 1498–504. doi:10.1016/S0140-6736(96)07492-2
- Murthy, M. S., & Pande, S. V. (1984). Mechanism of carnitine acylcarnitine translocase-catalyzed import of acylcarnitines into mitochondria. *The Journal of Biological Chemistry*, 259(14), 9082–9.
- Naeije, R. (2010). Physiological adaptation of the cardiovascular system to high altitude. *Progress in Cardiovascular Diseases*, 52(6), 456–66. doi:10.1016/j.pcad.2010.03.004
- Nagoshi, T., Yoshimura, M., Rosano, G. M. C., & Lopaschuk, G. D. (2011). Optimization of Cardiac Metabolism in Heart Failure, 3846–3853.
- Neckár, J., Borchert, G., Hlousková, P., Mícová, P., Nováková, O., Novák, F., ... Kolár, F. (2013). Brief daily episode of normoxia inhibits cardioprotection conferred by chronic continuous hypoxia. Role of oxidative stress and BKCa channels. *Curr Pharm Des.*, 19(39), 6880–9.
- Neckár, J., Ostádal, B., & Kolár, F. (2004). Myocardial infarct size-limiting effect of chronic hypoxia persists for five weeks of normoxic recovery. *Physiological Research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca*, 53(6), 621–8.

- O’Gorman, E., Beutner, G., Dolder, M., Koretsky, a P., Brdiczka, D., & Wallimann, T. (1997). The role of creatine kinase in inhibition of mitochondrial permeability transition. *FEBS Letters*, *414*(2), 253–7.
- Opie, L. H. (1968). Metabolism of the heart in health and disease. Part I. *American Heart Journal*, *76*(5), 685–698. doi:10.1016/0002-8703(68)90168-3
- Ostadal, B., & Kolar, F. (2007). Cardiac adaptation to chronic high-altitude hypoxia: beneficial and adverse effects. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, *158*(2-3), 224–36. doi:10.1016/j.resp.2007.03.005
- Pastorino, J. G., Shulga, N., & Hoek, J. B. (2002). Mitochondrial binding of hexokinase II inhibits Bax-induced cytochrome c release and apoptosis. *The Journal of Biological Chemistry*, *277*(9), 7610–8. doi:10.1074/jbc.M109950200
- Peinado, A. B., Rojo, J. J., Calderón, F. J., & Maffulli, N. (2014). Responses to increasing exercise upon reaching the anaerobic threshold, and their control by the central nervous system. *BMC Sports Science, Medicine and Rehabilitation*, *6*(1), 17. doi:10.1186/2052-1847-6-17
- Powers, S. K., Criswell, D., Lawler, J., Martin, D., Lieu, F. K., Ji, L. L., & Herb, R. A. (1993). Rigorous exercise training increases superoxide dismutase activity in ventricular myocardium. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, *265*(6), H2094–2098.
- Powers, S. K., Quindry, J. C., & Kavazis, A. N. (2008). Exercise-induced cardioprotection against myocardial ischemia-reperfusion injury. *Free Radical Biology & Medicine*, *44*(2), 193–201. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2007.02.006
- Prabhakar, N. R., & Semenza, G. L. (2012). Adaptive and maladaptive cardiorespiratory responses to continuous and intermittent hypoxia mediated by hypoxia-inducible factors 1 and 2. *Physiological Reviews*, *92*(3), 967–1003. doi:10.1152/physrev.00030.2011
- Randle, P. J., Garland, P. B., Hales, C. N., & Newsholme, E. A. (1963). The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet*, *1*(7285), 785–9.
- Ravingerová, T., Matejíková, J., Neckár, J., Andelová, E., & Kolár, F. (2007). Differential role of PI3K/Akt pathway in the infarct size limitation and antiarrhythmic protection in the rat heart. *Molecular and Cellular Biochemistry*, *297*(1-2), 111–20. doi:10.1007/s11010-006-9335-z
- Rossi, a M., Eppenberger, H. M., Volpe, P., Cotrufo, R., & Wallimann, T. (1990). Muscle-type MM creatine kinase is specifically bound to sarcoplasmic reticulum and can support Ca²⁺ uptake and regulate local ATP/ADP ratios. *The Journal of Biological Chemistry*, *265*(9), 5258–66.
- Sahai, A., Mei, C., Zavosh, A., & Tannen, R. L. (1997). Chronic hypoxia induces LLC-PK1 cell proliferation and dedifferentiation by the activation of protein kinase C. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, *272*.

- Saks, V. a, Kuznetsov, a V, Vendelin, M., Guerrero, K., Kay, L., & Seppet, E. K. (2004). Functional coupling as a basic mechanism of feedback regulation of cardiac energy metabolism. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 256-257(1-2), 185–99.
- Salt, I., Celler, J. W., Hawley, S. A., Prescott, A., Woods, A., Carling, D., & Hardie, D. G. (1998). AMP-activated protein kinase: greater AMP dependence, and preferential nuclear localization, of complexes containing the alpha2 isoform. *The Biochemical Journal*, 334 (Pt 1, 177–87.
- Semenza, G. L., Nejfelt, M. K., Chi, S. M., & Antonarakis, S. E. (1991). Hypoxia-inducible nuclear factors bind to an enhancer element located 3' to the human erythropoietin gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 88(13), 5680–4.
- Sharov, V. G., Saks, V. A., Smirnov, V. N., & Chazov, E. I. (1977). An electron microscopic histochemical investigation of the localization of creatine phosphokinase in heart cells. *Biochimica et Biophysica Acta*, 468(3), 495–501.
- Schlattner, U., Gehring, F., Vernoux, N., Tokarska-Schlattner, M., Neumann, D., Marcillat, O., ... Wallimann, T. (2004). C-terminal lysines determine phospholipid interaction of sarcomeric mitochondrial creatine kinase. *The Journal of Biological Chemistry*, 279(23), 24334–42. doi:10.1074/jbc.M314158200
- Schlegel, J., Zurbriggen, B., Wegmann, G., Wyss, M., Eppenberger, H. M., & Wallimanns, T. (1988). Native Mitochondrial Creatine Kinase Forms Octameric Structures, 263(32), 16942–16953.
- Southworth, R., Davey, K. A. B., Warley, A., & Garlick, P. B. (2007). A reevaluation of the roles of hexokinase I and II in the heart, 378–386. doi:10.1152/ajpheart.00664.2006.
- Spivey, H. O., & Ova, J. (1999). Substrate Channeling 1, 321, 306–321.
- Stanley, W. C., Recchia, F. A., & Lopaschuk, G. D. (2005). Myocardial Substrate Metabolism in the Normal and Failing Heart, 1093–1129. doi:10.1152/physrev.00006.2004.
- Stanley, W., Mazer, C. D., Neese, R. A., Wisneski, J. A., Cason, B. A., Demas, K. A., ... Gertz, E. W. (1990). Increased lactate appearance and reduced clearance during hypoxia in dogs. *Hormone and Metabolic Research = Hormon- Und Stoffwechselforschung = Hormones et Métabolisme*, 22(9), 478–84. doi:10.1055/s-2007-1004951
- Štejfá, M. (2007). *Kardiologie* (3rd ed.). Nakladatelství Grada.
- Taegtmeyer, H., Sen, S., & Vela, D. (2010). Return to the fetal gene program: a suggested metabolic link to gene expression in the heart. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1188, 191–8. doi:10.1111/j.1749-6632.2009.05100.x
- Wallimann, T., Tokarska-Schlattner, M., & Schlattner, U. (2011). The creatine kinase system and pleiotropic effects of creatine. *Amino Acids*, 40(5), 1271–96. doi:10.1007/s00726-011-0877-3

- Wallimann, T., Wyss, M., Brdiczka, D., Nicolayt, K., & Eppenberger, H. M. (1992). Intracellular compartmentation, structure and function of creatine kinase isoenzymes in tissues with high and fluctuating energy demands: the 'phosphocreatine circuit' for cellular energy homeostasis. *Biochem. J.*, *281*, 21–40.
- Wang, Z.-H., Cai, X.-L., Wu, L., Yu, Z., Liu, J.-L., Zhou, Z.-N., ... Yang, H.-T. (2012). Mitochondrial energy metabolism plays a critical role in the cardioprotection afforded by intermittent hypobaric hypoxia. *Experimental Physiology*, *97*(10), 1105–18. doi:10.1113/expphysiol.2012.065102
- Waskova-Arnostova, P., Kasparova, D., Elsnicova, B., Novotny, J., Neckar, J., Kolar, F., & Zurmanova, J. (2014). Chronic hypoxia enhances expression and activity of mitochondrial creatine kinase and hexokinase in the rat ventricular myocardium. *Cellular Physiology and Biochemistry: International Journal of Experimental Cellular Physiology, Biochemistry, and Pharmacology*, *33*(2), 310–20. doi:10.1159/000356671
- Wibrand, F., & Juel, C. (1994). Reconstitution of the lactate carrier from rat skeletal-muscle sarcolemma. *The Biochemical Journal*, *299 Pt 2*, 533–7.
- Winder, W. W., & Hardie, D. G. (1996). Inactivation of acetyl-CoA carboxylase and activation of AMP-activated protein kinase in muscle during exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *270*(2), E299–304.
- Wood, S. M. (1998). Selection and Analysis of a Mutant Cell Line Defective in the Hypoxia-inducible Factor-1 alpha -Subunit (HIF-1alpha). CHARACTERIZATION OF HIF-1alpha -DEPENDENT AND -INDEPENDENT HYPOXIA-INDUCIBLE GENE EXPRESSION. *Journal of Biological Chemistry*, *273*(14), 8360–8368. doi:10.1074/jbc.273.14.8360
- Wyss, M., Smeitink, J., Wevers, R. A., & Wallimann, T. (1992). Mitochondrial creatine kinase: a key enzyme of aerobic energy metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta*, *1102*(2), 119–66.
- Xie, Y., Zhu, W.-Z., Zhu, Y., Chen, L., Zhou, Z.-N., & Yang, H.-T. (2004). Intermittent high altitude hypoxia protects the heart against lethal Ca²⁺ overload injury. *Life Sciences*, *76*(5), 559–72. doi:10.1016/j.lfs.2004.09.017
- Yamashita, B. N., Hoshida, S., Otsu, K., Asahi, M., Kuzuya, T., & Hori, M. (1999). Exercise Provides Direct Biphasic Cardioprotection via, *189*(11).
- Zhou, J. Z. Z. (1999). Protective Effects of Intermittent Hypoxic Adaptation on Myocardium, *200031*, 316–322.
- Zhu, W.-Z., Xie, Y., Chen, L., Yang, H.-T., & Zhou, Z.-N. (2006). Intermittent high altitude hypoxia inhibits opening of mitochondrial permeability transition pores against reperfusion injury. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, *40*(1), 96–106. doi:10.1016/j.yjmcc.2005.09.016
- Zurmanova, J., Difato, F., Malacova, D., Mejsnar, J., Stefl, B., & Zahradnik, I. (2007). Creatine kinase binds more firmly to the M-band of rabbit skeletal muscle myofibrils in

the presence of its substrates. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 305(1-2), 55–61.
doi:10.1007/s11010-007-9527-1