

Univerzita Karlova

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Eliška Macíčková

Úloha adrenergí signalizace a mitochondrií v kardioprotekci

The role of adrenergic signalling and mitochondria in cardioprotection

Bakalářská práce

Školitel: Doc. RNDr. Jitka Žurmanová, Ph.D.

Praha, 2019

Poděkování:

Mé srdečné poděkování patří doc. RNDr. Jitce Žurmanové, Ph. D. za odborné vedení, cenné rady, vstřícnost a čas, který mi věnovala v průběhu zpracování bakalářské práce. Dále chci poděkovat také mým rodičům, kteří mi umožnili studovat a v průběhu studia mě podporovali.

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, 10. 8. 2019

Podpis:

Abstrakt

Kardiovaskulární choroby, jako je infarkt myokardu či srdeční selhání, jsou v dnešním vyspělém světě jednou z hlavních příčin úmrtí. Tyto choroby jsou doprovázeny patofyziologickými změnami v buňce, které jsou velmi často spojeny se změnami signalizace adrenergických receptorů a s dysfunkcí mitochondrií. Proto jsou tyto celky hojně studovány ve snaze objevit účinnou léčbu. V současné době jsou známy endogenní protektivní mechanismy, které zvyšují odolnost srdce k těmto patofyziologickým stavům a část těchto mechanismů cílí přímo do mitochondrií. Zde dochází především ke snížení nadměrné produkce reaktivních forem kyslíku a snížení citlivosti přechodně propustného mitochondriálního póru k otevření. Mnoho těchto signálních drah souvisí s adrenergními receptory. Tato práce si klade za cíl propojit poznatky o úloze adrenergní signalizace v kardioprotektivních mechanismech směřujících do mitochondrií.

Klíčová slova: srdce, adrenergní signalizace, mitochondrie, kardioprotekce

Abstract

Cardiovascular diseases such as myocardial infarction or heart failure are one of the main causes of death in today's developed world. These diseases are accompanied by pathophysiological changes in the cell, which are very often associated with changes in adrenergic receptor signalling and mitochondrial function. Therefore, these functional units have been intensively studied in an attempt to discover the effective treatment. Currently, endogenous protective mechanisms are known to increase the resistance of heart to the pathophysiological states, and some of the mechanism targets directly into the mitochondria. In particular, the reduction in excessive production of reactive oxygen species and the decrease in sensitivity of mitochondrial permeability transition pore opening has been repeatedly described. Many of the contributing signalling pathways are related to adrenergic receptors. Thus, the aim of the present work is to link knowledge about the role of adrenergic signalling in cardioprotective mechanisms directed to mitochondria.

Key words: heart, adrenergic signalization, mitochondria, cardioprotection

Seznam použitých zkratek

Jsou-li k dispozici vhodné české překlady, jsou uvedeny v pravém sloupci.

| | | |
|----------------------|-------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| 4-HNE | 4 – hydroxynonenal | |
| AC | adenylyl cyclase | adenylátcykláza |
| ALDH2 | aldehyde dehydrogenase | aldehyddehydrogenáza |
| ANT | adenine nucleotide translocator | přenašeč adeninových nukleotidů |
| AR | adrenergic receptor | adrenergní receptor |
| ATP | adenosine triphosphate | adenosintrifosfát |
| Bad | Bcl-2 antagonist of cell death | antagonista buněčné smrti Bcl-2 |
| Bak | Bcl-2 antagonist/killer | antagonista Bcl-2 |
| Bax | Bcl-2 associated X protein | protein X asociovaný s Bcl-2 |
| Bcl-2 | B-cell lymphoma 2 | |
| Bcl-xL | B-cell lymphoma – extra large | |
| CAMKII | Ca ²⁺ /calmodulin-dependent protein kinase II | Ca ²⁺ /kalmodulin dependentní protein kináza II |
| cAMP | cyclic adenosine monophosphate | cyklický adenosinmonofosfát |
| cGMP | cyclic guanosine monophosphate | cyklický guanosinmonofosfát |
| DAG | diacylglycerol | diacylglycerol |
| eNOS | endothelial nitric oxid synthase | endoteliální syntáza oxidu dusnatého |
| ERK | extracellular signal-regulated kinase | kinázy regulované extracelulárním signálem |
| G_i | G inhibitor | inhibiční G protein |
| GPCR | G protein-coupled receptors | receptor spřažený s G proteinem |
| GRK | GPCR kinase | kináza receptoru spřaženým s G proteinem |
| G_s | G stimulator | stimulační G protein |

| | | |
|--------------------------------|-----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| GTP | guanosintriphosphate | guanosintrifosfát |
| HK | hexokinase | hexokináza |
| HSL | hormon-sensitive lipase | hormon-senzitivní lipáza |
| HSP | heat shock protein | protein tepelného šoku |
| IP₃ | inositol triphosphate | inositoltrifosfát |
| JAK | janus kinase | janus kináza |
| MAP | mitogen-activated protein | protein aktivovaný mitogenem |
| mitoK_{ATP} | mitochondrial ATP-sensitive potassium channel | mitochondriální ATP-senzitivní draslíkový kanál |
| mPTP | mitochondrial permeability transition pore | mitochondriální přechodně propustný pór |
| NAD⁺ | nicotinamide adenine dinucleotide | oxidovaný nikotinamidadenindinukleotid |
| NO | nitric oxid | oxid dusnatý |
| PI3K | phosphoinositide 3-kinases | fosfoinositid-3-kináza |
| PIP₂ | phosphatidylinositol 4,5-biphosphate | fosfatidylinositol-4,5-bifosfát |
| PKA | protein kinase A | proteinkináza A |
| PKB/Akt | protein kinase B | proteinkináza B |
| PKC | protein kinase C | proteinkináza C |
| PKG | protein kinase G | proteinkináza G |
| PLC | phospholipase C | fosfolipáza C |
| PPARα | peroxisome proliferator-activated receptor alpha | receptor aktivovaný peroxisomovým proliferátorem alfa |
| RACK | receptor for activated C kinase 1 | receptor pro aktivovanou C kinázu 1 |
| ROS | reactive oxygen species | reaktivní formy kyslíku |
| SIRT | sirtuin | sirtuin |
| SRC | proto-oncogene tyrosine-protein kinase | protoonkogenní protein tyrosin kináza |

| | | |
|--------------|-----------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| STAT3 | signal transducer and activator of transcription | signální transduktor a aktivátor transkripce |
| TF | transcription factor | transkripční faktor |
| TOM | translocator of the outer membrane | přenašeč vnější mitochondriální membrány |
| TIM | translocator of the outer membrane | přenašeč vnitřní mitochondriální membrány |
| TRP | transient receptor potential channel | TRP kanál |
| TSPO | translocator protein | přenašečový protein |
| UCP | uncoupling protein | odpřahující protein |
| VDAC | voltage-dependent anion channel | napětově závislý aniontový kanál |
| VEGF | vascular endothelial growth factor | vaskulární endoteliální růstový faktor |

Obsah

| | | |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1 | Úvod | 1 |
| 2 | Adrenergní receptory | 2 |
| 2.1 | α_1 -adrenergní receptory | 3 |
| 2.2 | β -adrenergní receptory | 4 |
| 3 | Protektivní dráhy spojené s mitochondriemi | 7 |
| 3.1 | Mitochondriální proteinkináza $C\epsilon$ | 7 |
| 3.1.1 | Translokace proteinkinázy $C\epsilon$ do mitochondrií | 8 |
| 3.1.2 | Proteinkináza $C\epsilon$ a mitochondriální K_{ATP} kanály | 9 |
| 3.1.3 | Proteinkináza $C\epsilon$ a mitochondriální pór | 10 |
| 3.1.4 | Proteinkináza $C\epsilon$ a pro-apoptotický protein Bad | 11 |
| 3.1.5 | Proteinkináza $C\epsilon$ a aldehyddehydrogenáza 2 | 11 |
| 3.2 | Hexokináza | 12 |
| 3.3 | Signální transduktor a aktivátor transkripce 3 | 13 |
| 3.4 | Odpřahující proteiny | 14 |
| 3.5 | Sirtuiny | 15 |
| 4 | Spojení adrenergní signalizace a mitochondrií | 17 |
| 4.1 | Adrenergní signalizace a proteinkináza $C\epsilon$ | 17 |
| 4.2 | Adrenergní signalizace a hexokináza II | 17 |
| 4.3 | Adrenergní signalizace a signální transduktor a aktivátor transkripce 3 | 18 |
| 4.4 | Adrenergní signalizace a odpřahující proteiny | 18 |
| 4.5 | Adrenergní signalizace a sirtuiny | 19 |
| 5 | Závěr | 20 |
| 6 | Použitá literatura | 21 |

1 Úvod

Adrenergní receptory (AR) jsou aktivovány katecholaminy vegetativního nervového systému. V těle se vyskytují napříč různými tkáněmi a regulují nepřeberné množství fyziologických procesů. Tyto receptory jsou spřaženy s trimerními G proteiny, které po aktivaci receptoru předávají signál prostřednictvím druhých posílů do buňky. V srdci jsou významné především izoformy α_1 a β_1 -AR. Při normální funkci srdce je izoforma β_1 -AR důležitá pro regulaci chronotropie, ionotropie a lusitropie a izoforma α_1 reguluje průtok krve vazokonstrikcí v tepnách. V současné době je známo, že adrenergní signalizace je zapojena také v progresi kardiovaskulárních onemocnění. Například, rozvoj srdečního selhání je charakterizováno zvýšenou cirkulací katecholaminů v srdci a stimulací adrenergních receptorů, a proto se stala předmětem intenzivního výzkumu pro hledání terapeutické léčby.

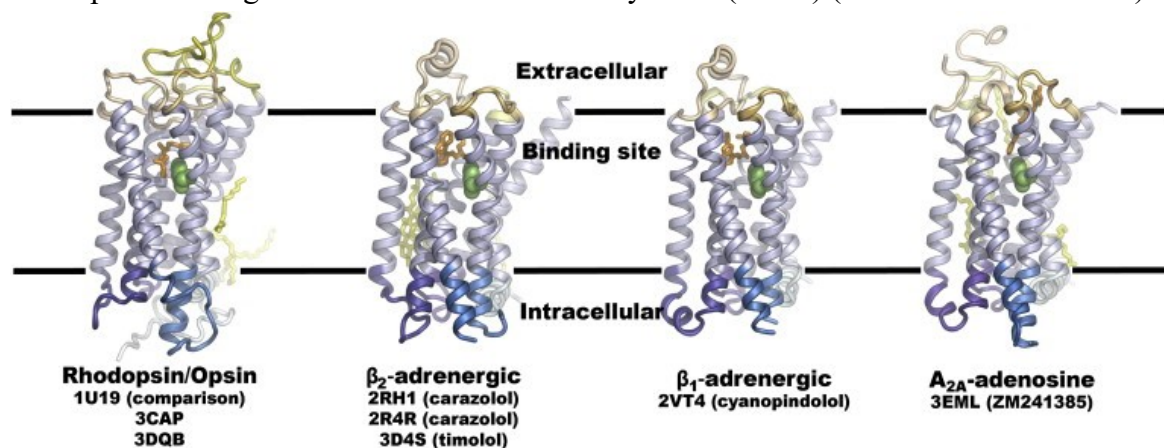
Kardiovaskulární choroby jsou také velmi často spojovány s nesprávným fungováním mitochondrií. V srdci je vysoký energetický obrat a ATP je produkováno přednostně oxidativní cestou, proto jsou v kardiomyocytech hojně zastoupeny mitochondrie. Produkce ATP je podmíněna dodávkou kyslíku do elektrontransportního řetězce. Je-li tato dodávka narušena, jako v případě infarktu myokardu, dojde k narušení homeostázy a začne vznikat nadměrné množství reaktivních forem kyslíku (ROS), které způsobují oxidativní poškození buňky, což může vést až k buněčné smrti. V mitochondriích byly nalezeny proteiny, které jsou spojeny s udržením mitochondriálního membránového potenciálu, energetické homeostázy a zlepšením funkce mitochondrií při patofyziologických stavech srdce. Mnoho z nich je aktivováno ischemickým „preconditioningem“ či „postconditioningem“, které slouží jako model studia kardioprotektivních mechanismů a některé mohou být uplatněny i v klinické praxi. Vedle toho i fyzická zátěž, adaptace na hypoxii nebo kalorická restrikce aktivuje kardioprotektivní signální dráhy, které směřují do mitochondrií a snižují následky ischemického poškození srdce.

Cílem této práce je shrnout dosavadní poznatky o kardioprotektivním mechanismech, které mají svůj cíl v mitochondriích a zjistit, které z těchto signálních drah jsou spojeny s adrenergní signalizací.

2 Adrenergní receptory

Adrenergní receptory (AR) jsou membránové receptory patřící do rozsáhlé rodiny receptorů spřažených s trimerními G-proteiny (GPCR). Tyto receptory mají významnou úlohu v regulaci funkce kardiovaskulárního systému a změny v jejich funkci doprovázejí řadu patofyziologických stavů (Communal et al. 1999). Receptory jsou aktivovány neurotransmitery sympatiku adrenalinem a noradrenalinem a významně se podílí na udržování homeostázy organismu. Jednotlivé izoformy se liší především funkcí a citlivostí k antagonistům.

GPCR tvoří rodinu integrálních membránových proteinů, pro kterou bylo v lidském genomu nalezeno více než 800 genů (Zhang et al. 2006). Všechny GPCR mají v základě společnou strukturu transmembránové domény, složenou ze svazku 7 alfa helixů, které jsou odděleny střídajícími se extracelulárními a intracelulárními smyčkami a variabilita těchto receptorů leží v místě pro vazbu ligandu a v extracelulárních smyčkách (obr. 1) (Rosenbaum et al. 2009).



Obr. 1 Znárodnění struktury adrenergních receptorů

Každá skupina GPCR je zde reprezentována jednou strukturou, na obrázku jsou zdůrazněny pozorované rozdíly ve struktuře a vazbě ligandu. Transmembránová oblast – světle modrá; intracelulární oblast – tmavě modrá; ligandy – oranžová; vázané lipidy – žlutá; konzervovaný tryptofanový zbytek – zelené kuličky (převzato z Hanson and Stevens 2009).

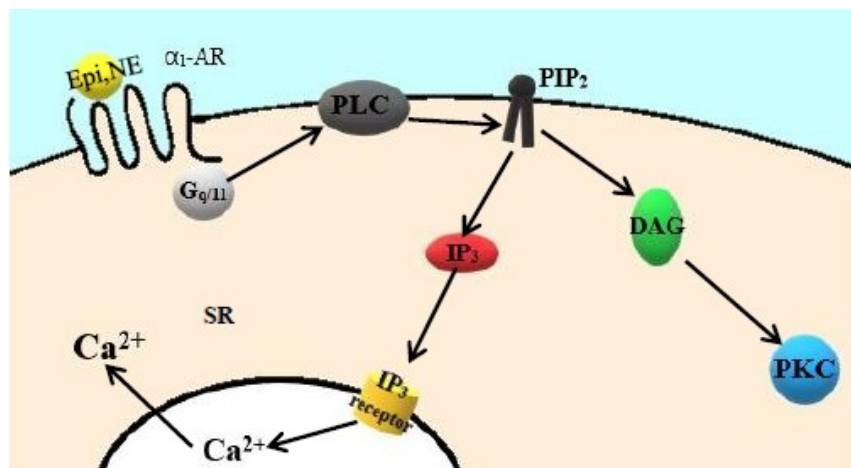
Přes nesrovnalosti, které v minulosti provázely klasifikaci adrenergních receptorů se dnes rozlišuje 9 podtypů, které jsou rozděleny do 3 skupin: α_1 , α_2 a β -AR. Každá z těchto skupin obsahuje právě 3 podtypy/izoformy receptoru: α_{1A} , α_{1B} , α_{1D} , α_{2A} , α_{2B} , α_{2C} , β_1 , β_2 a β_3 , které jsou kódovány samostatnými geny (pro přehled Bylund et al. 1994). Receptory jsou složeny z jediného polypeptidového řetězce o velikosti od 477 aminokyselin do 413 aminokyselin, který je sekvenčně podobný u všech podtypů (O'Dowd et al. 1989).

Rozložení jednotlivých podtypů AR není v srdci rovnoměrné a vyskytují se v různých koncentracích v závislosti na buněčném typu. Studie z roku 2017 ukazuje, že dominantními AR v srdci jsou β_1 a α_{1B} receptory, které jsou přítomny u všech kardiomyocytů, zatímco β_2 a β_3 receptory jsou přítomny pouze u 5% kardiomyocytů a α_{1A} -AR se vyskytují ve více než v polovině buněk ale pouze u 20% ve vysoké koncentraci (Myagmar et al. 2017).

V této práci se dále zabývám pouze α_1 -AR a β -AR, neboť právě tyto izoformy jsou významné v kardioprotekci.

2.1 α_1 -adrenergní receptory

Všechny podtypy α_1 adrenergních receptorů jsou aktivovány neurotransmitery sympatiku – adrenalinem a noradrenalinem a inhibovány α_1 antagonistou prazosinem (Mancia et al. 1980). Přestože se co do sekvence aminokyselin a distribuci v tkáních liší, všechny α_1 -AR jsou spřaženy s $G_{q/11}$ rodinou G proteinů, která na membráně aktivuje fosfolipázu C (PLC). PLC následně štěpí membránově vázaný fosfatidylinositolbifosfát (PIP_2), čímž generuje dva druhé posly, inositol trifosfát (IP_3) a diacylglycerol (DAG) (obr. 2). IP_3 reguluje výlev Ca^{2+} do intracelulárního prostoru, zatímco DAG aktivuje protein kinázu C (PKC) a TRP (z angl. transient receptor potentials) kanály, což také vede ke zvýšení intracelulárního Ca^{2+} a k vazokonstrikci (Venkatachalam et al. 2003).



Obr. 2 Základní schéma α_1 adrenergní signalizace v srdci

NE – Norepinefrin; Epi – Epinefrin; PLC – fosfolipáza C; DAG – diacylglycerol; IP_3 – inositol trifosfát; PKC – protein kináza C; PIP_2 – fosfatidylinositolbifosfát; SR – sarkoplazmatické retikulum (vlastní schéma).

Rozložení podtypů α_1 -AR se v rámci srdce liší. V lidských ventrikulárních kardiomyocytech převažuje exprese α_{1A} -AR a α_{1B} -AR nad expresí α_{1D} -AR, zatímco v koronárních tepnách naopak silně převládá exprese α_{1D} -AR, které zde regulují průtok krve vasokonstrikcí. Tato distribuce α_1 -AR v lidském srdci je téměř shodná s distribucí v myším srdci (Jensen et al. 2009).

Izoforma α_1 -AR má v lidském i myším srdci také důležitou protektivní roli. Prostřednictvím regulace apoptózy a hypertrofie ovlivňují progresi kardiovaskulárních chorob. U transgenních myší s 4-násobnou hladinou G_q byla detekována srdeční hypertrofie, nicméně při 8-násobném zvýšení hladiny G_q docházelo k rozvoji srdečních myopatií a apoptóze myocytů (Adams et al. 1998). Dahl et al. (2018) předpokládá, že α_1 -AR zprostředkovává adaptivní a fyziologickou hypertrofii. Tyto α_1 -AR leží ve vnitřní jaderné membráně a indukují IP_3 závislý export histon deacetylázy 5 a tím spouští expresi genů regulujících hypertrofickou odpověď (Dahl et al. 2018). Kardioprotektivní účinky α_1 -AR podporují také klinické studie. Bylo zjištěno, že při podávání blokátorů α_1 -AR dochází častěji k srdečnímu selhání (Furberg et al. 2013). Navíc je pro srdeční selhání charakteristické, že dochází ke snižování počtu β_1 -AR a počet α_1 -AR je stejný nebo lehce navýšen oproti zdravě fungujícímu srdci. To značí, že α_1 -AR mají při kardioprotekci kompenzační či adaptivní úlohu (Jensen et al. 2009).

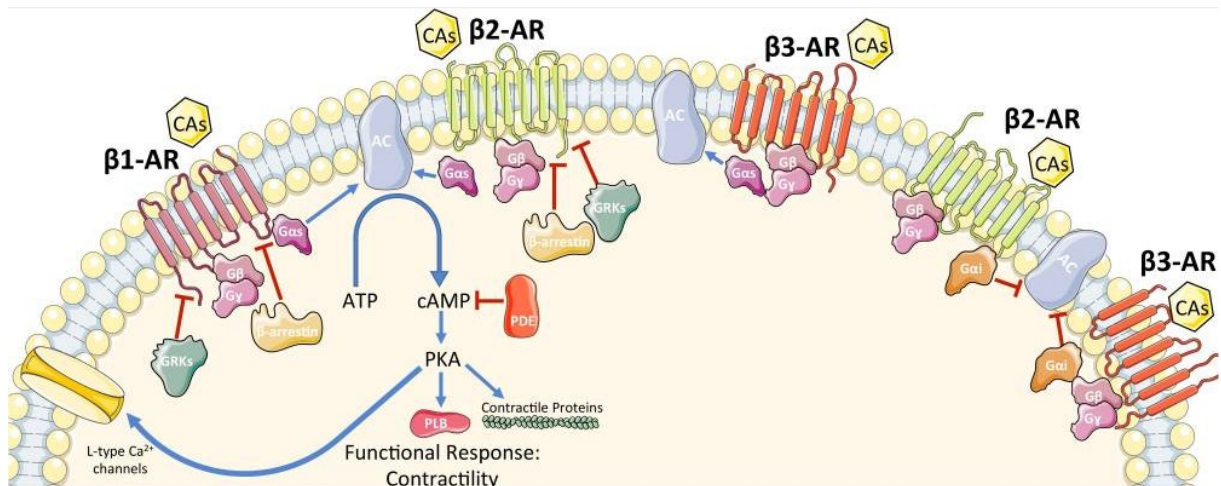
Nicméně, ze všech 3 podtypů adrenergických receptorů se ukázalo, že obzvláště ochranné a adaptivní účinky má α_{1A} -AR. U myší s vyřazenými geny pro α_{1A} -AR i α_{1B} -AR (α_1 ABKO transgenní myš) byly rekonstituovány obě signalizační dráhy, avšak pouze α_{1A} -AR se ukázala být protektivní a zachránila α_1 ABKO myocyty před buněčnou smrtí aktivací extracelulární signálem regulované kinázy (ERK) (Huang et al. 2007), která chrání myokard před ischemicko-reperfučním poškozením (Lips et al. 2004).

2.2 β -adrenergní receptory

Jak už je výše zmíněno, β -AR patří také do rodiny GPCR receptorů a jsou členěny do tří podtypů: β_1 , β_2 , β_3 . Jsou zapojeny v regulaci mnoha fyziologických funkcí, včetně kardiovaskulárních pochodů, kde řídí srdeční frekvenci, sílu kontrakce a průsvit koronárních cév. Dominantními receptory v srdci jsou β_1 -AR, kterých je 70-80% ze všech β -AR (Bristow et al. 1986).

Je známo, že všechny podtypy β -AR jsou spřaženy se stimulační podjednotkou G proteinu (G_{as}). G_{as} aktivuje adenylátcyklázu (AC), která po aktivaci katalyzuje přeměnu adenotrifosfátu

(ATP) na cyklický adenosinmonofosfát (cAMP) a zvýšená hladina cAMP následně aktivuje proteinkinázu A (PKA). PKA fosforyluje další substráty, jako fosfolamban (Simmerman et al. 1986), troponin (Westwood and Perry 1981) a Ca^{2+} kanál typu L (Gao et al. 1997), které způsobí zvýšení intracelulárního Ca^{2+} a regulují kontraktilitu srdečního svalu. Nicméně β_2 -AR a β_3 -AR jsou také spřaženy s inhibičním G proteinem, který působí opačně a inhibuje AC (obr. 3) (Kilts et al. 2000).



Obr. 3 Schéma β adrenergí signalizační dráhy v srdci

CAs – katecholaminy; β_1 -AR, β_2 -AR, β_3 -AR – adrenergí receptory; AC – adenylyl cykláza; ATP – adenosintrifosfát; cAMP – cyklický adenosinmonofosfát; PKA – protein kináza A; PDE – fosfodiesteráza; GRKs – GPCR kináza; G_{as} , G_{ai} , G_{β} , G_{γ} – G proteinové podjednotky; PLB – fosfolamban (převzato z de Lucia et al. 2018).

Kromě regulace chronotropie, ionotropie a lusitropie srdce hraje β adrenergí signalizace také významnou roli při srdečním selhání. Na buněčné úrovni srdeční selhání provází snižování počtu β_1 -AR na membráně, zatímco hladina β_2 -AR zůstává neměnná (Bristow et al. 1986). Dále dochází k desenzitizaci především β_2 -AR prostřednictvím GPCR kináz (GRK) a β -arrestinu, které zamezí další interakci G proteinu s AR a podpoří internalizaci receptorů do buňky (Rockman et al. 1996).

Transgenní myši se zvýšenou expresí β_1 -AR v srdci vykazovaly změny srdeční funkce a hypertrofii, což po několika měsících vedlo k rozvoji srdečních myopatií a srdečnímu selhání. Tyto progresivní změny funkce a morfologie jsou podobné selhávajícímu srdci u člověka (Engelhardt et al. 1999). Naproti tomu nadměrná exprese β_2 -AR měla odlišný vliv na srdeční funkce v závislosti na míře exprese. Ukázalo se, že při nižších úrovních, nadměrná exprese β_2 -AR (~15-ti násobné zvýšení) může pozitivně ovlivňovat srdeční funkce. V selhávajícímu srdci napomáhá regeneraci poškozené kontraktilní funkce (Gong et al. 2017), vede ke zvýšení

angiogeneze aktivací dráhy vaskulárního-endoteliálního růstového faktoru přes protein kinázu B a endoteliální NO syntázu (VEGF-PKB/Akt-eNOS), zlepšení průtoku krve, což mělo za následek remodelaci levé komory a zastavení progresu srdečních dysfunkcí (Rengo et al. 2012). Pokud byla exprese β_2 -AR až několikasetnásobně násobně vyšší než normální, vedla k poškození srdeční funkce a následnému srdečnímu selhání, které se zhoršovalo s přibývajícím věkem (Du et al. 2000).

Řada studií tak ukázala, že izoformy β_1 -AR a β_2 -AR mají odlišný účinek v selhávajícím srdci. Za pro-apoptotickým účinkem β_1 -AR stojí aktivace CAMKII (z angl. Ca^{2+} /Calmodulin-dependent protein kinase II). Při přetrvávajícím dráždění β_1 -AR dochází k přepnutí z β_1 AR- G_{as} -AC-cAMP-PKA kaskády na β_1 AR- G_{as} - Ca^{2+} -CaMKII. Tato dráha indukuje apoptózu nezávisle na PKA a souvisí s Ca^{2+} přetížením, neboť inhibice CaMKII- δC a Ca^{2+} kanálu L-typu potlačilo proapoptotický efekt (Zhu et al. 2003). Je zajímavé, že chronická stimulace této dráhy může aktivovat fetální program a vede u transgenních myší CaMKII- δR k hypertrofii doprovázenou snížením resorpce Ca^{2+} do sarkoplazmatického retikula (Wang et al. 2004). Dlouhodobé účinky vedou až k dilatační kardiomyopatii a srdečnímu selhání (Zhang et al. 2002).

Naproti tomu oddělené stimulace β_1 -AR a β_2 -AR ukázaly, že přetrvávající stimulace β_2 -AR zprostředkovává anti-apoptotický efekt skrz fosfoinositid-3-kinázu (PI3K) stimulací β_2 AR- $G_{i\alpha}$ - $G_{i\beta\gamma}$ -PI3K-PKB/Akt signální kaskády. A navíc, inhibice této dráhy měla pro-apoptotický efekt (Zhu et al. 2001).

Jako účinná terapie při infarktu myokardu se osvědčilo kombinované podávání β_1 -AR blokátorů a β_2 -AR agonistů. U léčených zvířat kombinovaná léčba zvýšila přežití o více než 30 % a zabránila expanzi infarktu. Kombinace β_1 -AR blokátorů a β_2 -AR agonistů se ukázala být účinnější v léčbě infarktu, než podávání jednotlivých β_1 -AR blokátorů nebo a β_2 -AR agonistů (Ahmet et al. 2008).

Poslední izoformou β -AR je β_3 -AR, která byla v minulosti známá především jako mediátor lipolýzy a termogeneze v adipocytech. Nicméně s postupem času a přibývajícím důkazy se ukázalo, že i β_3 -AR mají protektivní funkci v kardiovaskulárním systému. Jsou aktivovány při nadměrné stimulaci sympatiku a působí negativně ionotropně, což antagonizuje aktivitu β_1 -AR a β_2 -AR prostřednictvím oxidu dusnatého (NO) (Gauthier et al. 1998).

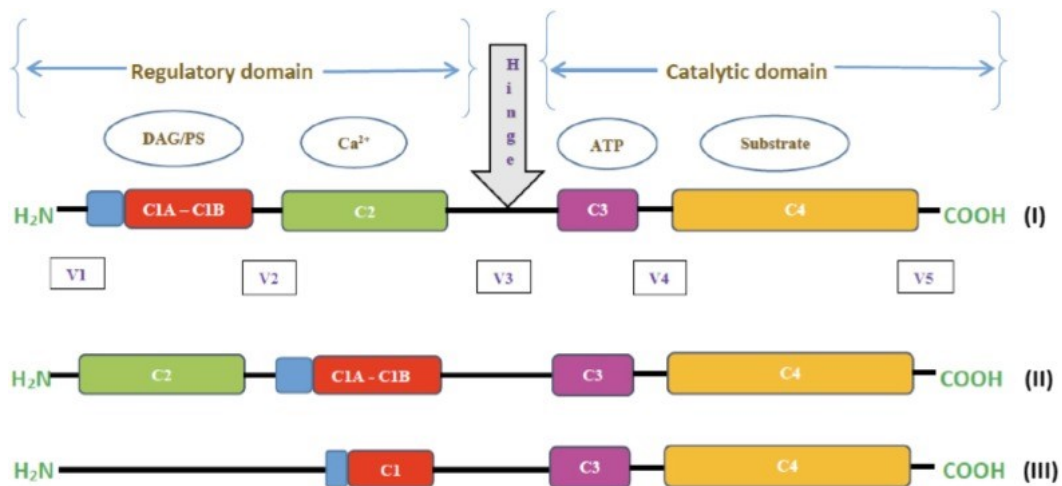
3 Protektivní dráhy spojené s mitochondriemi

Kardiovaskulární choroby jsou často spojeny s patologickými nálezy na mitochondriích (Cheng et al. 2017), a proto mitochondrie mohou být úspěšným cílem kardioprotektivních mechanismů. Mitochondrie odpovídají na patologické stavy srdce zvýšenou produkcí ROS, jenž způsobuje poškození a může spustit apoptózu buňky. Nicméně, existují endogenní obranné mechanismy, které mohou dopad těchto stavů zmírnit prostřednictvím cílových proteinů lokalizovaných na mitochondriální membráně. Jedná se převážně o signální dráhu protein kinázy C a PKB/Akt. Dále aktivita mitochondriální hexokinázy, odpřahujících proteinů, sirtuinů a signální transduktor a aktivátor transkripce 3 se podílí na kardioprotekci. Tyto proteiny především brání nadměrnému vzniku ROS a snižují pravděpodobnost otevírání mitochondriálního přechodně propustného póru (z angl. mitochondrial permeability transient pore = mPTP). Je důležité zmínit, že ne vždy, vede produkce ROS k buněčné smrti. Přiměřená hladina ROS je v buňce tolerována a účastní se stimulace kardioprotektivních signálních drah (Garlid et al. 2013).

3.1 Mitochondriální proteinkináza C ϵ

Protein kináza C ϵ (PKC ϵ) je enzym patřící do rodiny PKC, která představuje rodinu serin/treoninových kináz, regulujících nepřeberné množství různých biologických funkcí, jako apoptózu, diferenciaci, buněčný růst, a mnohé další. Rodina PKC je rozdělena do 3 skupin: klasické PKC (α , β_1 , β_2 , γ), nové (δ , η , θ , ϵ) a atypické (ζ , ι); všechny PKC mají společnou strukturu jediného polypeptidového řetězce, který zahrnuje 4 konzervované domény C1-C4, odděleny variabilními úseky. V lidském srdci je exprimováno 6 izoform s rozličnou distribucí mezi síněmi a komorami. Izofomy PKC α a β jsou exprimovány dominantně v myokardu komor, zatímco PKC δ a ζ v myokardu síní. Zbylé PKC ϵ a λ jsou distribuovány rovnoměrně a PKC θ , η , γ a ι nebyly detekovány vůbec (Simonis et al. 2007).

Nové PKC (nPKC) se liší polohou C2 domény, která je na rozdíl od klasických PKC, umístěna před C1 doménou, a navíc C2 doména nPKC neváže Ca²⁺ a moduluje spíše protein-proteinové interakce, váže fosfolipidové aktivátory, RACK (z angl. receptor for activated C-kinase) proteiny a HSP90 (z angl. heat shock protein). C1 doména váže aktivátory jako DAG, mastné kyseliny a forbol estery (Burns and Bell 1991). C3 doména katalyzuje hydrolýzu ATP a C4 doména obsahuje fosforylační místo (obr. 4) (Freisewinkel et al. 1991).



Obr. 4 Znázornění struktury a funkce PKCε

Schéma (I) představuje klasické PKC, schéma (II) představuje nové PKC a struktura (III) představuje atypické PKC (převzato z Singh et al. 2017).

PKCε má v srdečním svalu hlavní tři úlohy, a to regulaci kontrakce, hypertrofie srdečního svalu a modulaci metabolismus mitochondrií, která byla popsána jako kardioprotektivní (pro přehled Scruggs et al. 2016). Bylo zjištěno, že β-AR aktivuje PKCε a indukuje hypertrofii kardiomyocytů. Isoproterenolem indukovaná aktivace PKCε zvýšila expresi ERK1/2 (Li et al. 2015). Při přetrvávající aktivaci ERK v transgenních myších došlo k rozvoji srdeční hypertrofie a experimentální metodou PCR byla detekována zvýšená exprese hypertrofických genů a histologická analýza srdečních řezů ukázala zvětšení plochy kardiomyocytů (Mutlak et al. 2018). Kontraktilita srdečního svalu je regulována fosforylací serinu-43, serinu-45 a threoninu-144 troponinu I na aktinových filamentech (Burkart et al. 2003). V mitochondriích je PKCε zapojena v ischemickém „preconditioningu“ (Kawamura et al. 1998) a proteiny, jejichž aktivitu moduluje jsou rozebrány v kapitolách níže.

3.1.1 Translokace proteinkinázy Cε do mitochondrií

Kardioprotektivní účinek PKCε spočívá ve fosforylaci proteinů lokalizovaných v matrix mitochondrií, a tak musí docházet k její translokaci přes vnější a vnitřní mitochondriální membránu. Tento mechanismus translokace nebyl dlouho znám, jelikož primární sekvence PKCε neobsahuje mitochondriální lokalizační signál. Nicméně je pravděpodobné, že translokace je zprostředkována proteiny HSP90 a TOM komplexem (z angl. translocator of the outer membrane). HSP90 je cytoprotektivní protein, zprostředkující import mnoha proteinů do mitochondrií, stejně tak jako TOM komplex. Inhibice HSP90 snížila translokaci PKCε do mitochondrií při reperfúzi a během ischemie docházelo k častějším interakcím mezi PKCε a TOM20 (Budás et al. 2010). Translokace PKCε z mezimembránového prostoru do matrix

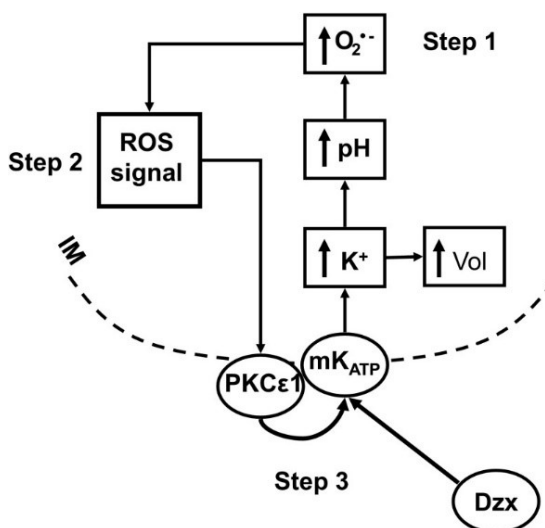
mitochondrií nebyla dosud studována, ale je pravděpodobné že se tak děje přes proteinový komplex TIM, jelikož při translokaci proteinů interaguje s TOM komplexem (Chacinska et al. 2005). Vedle toho, aktivace adenosinových receptorů podáváním adenosinu u H9c2 buněčných linií indukovala specifickou translokaci PKC ϵ z cytosolu do mitochondrií. Tento efekt byl blokován podáním cheleritru (Yang et al. 2012)

Samotné translokaci PKC ϵ předchází její aktivace, rozrušení intramolekulárních interakcí a přechod do otevřeného konformačního stavu za účasti RACK proteinů. PKC ϵ se nachází ve dvou konformačních stavech, a to v uzavřeném – inaktivním, kde tvoří intramolekulární interakce mezi vazebným místem pro RACK protein a místem nazývaným pseudo RACK (ψ RACK); a v otevřeném – aktivním stavu, s odkrytými vazebnými místy pro fosfolipidy a RACK protein, který stabilizuje PKC ϵ v otevřeném stavu. Pokud došlo k záměně kyseliny asparagové (Asp) za Asparagin (Asn) v ψ RACK, došlo k zesílení intramolekulárních interakcí a rychlost translokace se snížila oproti nemutované formě PKC ϵ . Naopak při záměně polární Asp na nepolární Alanin (Ala), intramolekulární interakce mezi ψ RACK a RACK vazebným místem byly rozrušeny, PKC ϵ tak přetrvávala v otevřeném stavu a rychlost translokace se zvýšila (Schechtman et al. 2004). Prvním krokem translokace je tedy aktivace PKC ϵ a změna konformačního stavu za účasti RACK proteinů a následuje její přemístění do mitochondrií pomocí HSP90 a TOM.

3.1.2 Proteinkináza C ϵ a mitochondriální K_{ATP} kanály

PKC ϵ je v srdci důležitá pro přežívání kardiomyocytů. Bylo zjištěno, že má důležitou úlohu i v ischemickém „preconditioningu“ (IPC). IPC je kardioprotektivní mechanismus, při kterém je srdce vystaveno krátkým periodám ischemie před ischemicko/reperfúzním poškození (Murry et al. 1986). Ghosh et al. (2000) předložil důkazy o tom, že „preconditioning“ je zprostředkován ATP-senzitivním draslíkovým kanálem (mitoK_{ATP}) ve vnitřní mitochondriální membráně. O dva roky později bylo zjištěno, že k otevření mitoK_{ATP} kanálů dochází až po translokaci PKC ϵ do mitochondriální matrix, a proto se předpokládalo, že otevření mitoK_{ATP} aktivuje PKC ϵ (Ohnuma et al. 2002). Nicméně výsledky z jiné studie ukázaly opačné souvislosti, tj. že otevření mitoK_{ATP} způsobuje aktivaci a translokaci PKC ϵ do mitochondrií. Na základě těchto výsledků, Li et al. (2014) předpokládal, že by v signální kaskádě mohla být přítomna smyčka s pozitivní zpětnou vazbou a kardioprotektivní signál by tak byl amplifikován. Mechanismy aktivace a translokace mezi PKC ϵ a mitoK_{ATP} byly tedy nejasné, navíc do kaskády vstoupil ještě další hráč, a to ROS, které aktivují PKC ϵ .

Po otevření mitoK_{ATP} dojde ke vtoku K⁺ iontů do matrix mitochondrií, což vede ke zvýšení pH a alkalizaci matrix (Costa et al. 2006). Alkalizace mitochondriální matrix inhibuje aktivitu komplexu I elektrontransportního řetězce, to vede ke zvýšené produkci ROS (Andruxhiv et al. 2006). ROS, především produkty oxidace vysoce reaktivního HO· s lipidy, aktivuje PKCε1 a prodlouží tak otevření mitoK_{ATP}. Je tedy pravděpodobné, že kardioprotektivní účinek „preconditioningu“ spočívá v této pozitivně-zpětnovazebné smyčce (obr.5) (Garlid et al. 2013).



Obr.5 Schéma ROS závislé aktivace mitoK_{ATP} kanálu

Krok 1 zahrnuje otevření mitoK_{ATP} (zde Diazoxidem) a do matrix mitochondrií proudí K⁺ ionty, což vede ke zvýšené koncentraci K⁺ iontů v matrix (↑K⁺). ↑K⁺ způsobí kromě zvětšení objemu (↑Vol) i alkalizaci prostředí a zvýšení pH (↑pH), které inhibují komplexu I elektrotransportního řetězce navozuje tvorbu superoxidu (↑O₂^{•-}). Krok 2 je sled transformací ROS, které vedou k aktivaci PKCε1. PKCε1 v posledním kroku fosforyluje protein nebo samotný mitoK_{ATP}, který zůstává v otevřeném stavu (převzato z Garlid et al. 2013).

K aktivaci PKCε1 v buňce dochází přes protein kinázu G (PKG), která tak přenáší signál z cytosolu do mitochondrií (Costa et al. 2005) a je stimulována přes β3- adrenergní receptory. Otevření mitoK_{ATP} PKG nebo diazoxidem je nezávislé na ROS (Costa and Garlid 2008).

3.1.3 Proteinkináza Cε a mitochondriální pór

Inhibice mPTP je důležitým krokem v kardioprotekci neboť dlouhotrvající otevření mPTP je signálem k apoptóze buňky, dochází ke snížení syntézy ATP, depolarizaci, úniku proteinů a Ca²⁺, k bobtnání mitochondrie, rozpražení oxidativní fosforylace a zvýšení propustnosti vnější mitochondriální membrány a k hromadění pro-apoptických proteinů, jako cytochromu c a endonukleáz, a hraje tak klíčovou úlohu v patofyziologii srdce (Doran and Halestrap 2000).

Přestože je mPTP poslední léta předmětem intenzivního výzkumu, jeho struktura není stále jasně definována. Díky studiím s transgenními zvířaty se podařilo prokázat, že komponenty mPTP, které byly dříve považovány za esenciální, tj. přenašečový protein (TSPO), adenosin nukleotidový přenašeč (ANT) a napětově řízený iontový kanál (VDAC), jsou postradatelné pro fungování póru (Baines et al. 2007; Kokoszka et al. 2004; Šileikytė et al. 2014).

Nicméně bylo prokázáno, že PKC ϵ 2 přímo fosforyluje VDAC kanál a tím zabraňuje otevření mPTP (Baines et al. 2003). Samotná aktivace PKC ϵ 2 je závislá na vyšší hladině ROS, produkovaném po otevření mitoK_{ATP} (3.1.2). K inhibici otevření mPTP tak dochází prostřednictvím ROS závislé aktivace PKC ϵ 2 (Costa et al. 2006). Existují tedy doklady o výskytu dvou různých izoform PKC ϵ ; PKC ϵ 1, která je aktivována pomocí PKG a otevírá mitoK_{ATP} a PKC ϵ 2, která přímo interaguje s mPTP pórem (Costa et al. 2006).

3.1.4 Proteinkináza C ϵ a pro-apoptický protein Bad

Bylo prokázáno, že v srdečních mitochondriích PKC ϵ interaguje s MAP kinázami (z angl. mitogen activated protein kinases), a tato interakce reguluje aktivitu pro-apoptického proteinu Bad. Při zvýšení exprese a aktivity mitochondriální PKC ϵ docházelo k častějším interakcím s mitochondriální ERK a dalšími MAP kinázami. Při zvýšené aktivitě obou kináz byla detekována fosforylace proteinu Bad. Fosforylaci proteinu dojde k jeho inaktivaci a nemůže dále interagovat s Bcl-X_L a zamezí tak buněčné smrti (Baines et al. 2002a).

Protein Bad je pro-apoptický protein z rodiny Bcl-2 proteinů, kterou tvoří jak pro-apoptické proteiny (Bax, Bak, Bad, atd.), tak i anti-apoptické proteiny (Bcl-2, Bcl-X_L, atd.). Defosforylované Bad proteiny tvoří heterodimery s proteiny Bcl-X_L a Bcl-2, a tím se zruší jejich ochranný efekt před buněčnou smrtí. Pokud jsou proteiny Bad fosforylovány, ztrácí schopnost vázat Bcl-X_L a Bcl-2 a dojde tak ke spuštění apoptózy.

3.1.5 Proteinkináza C ϵ a aldehyddehydrogenáza 2

Aldehyddehydrogenáza 2 je mitochondriální protein, který katalyzuje oxidaci aldehydů a přeměňuje aldehydy na karboxylové kyseliny a mimo jiné se podílí na oxidaci cytotoxického 4-hydroxy-nonenalu (4-HNE).

Při expozici potkanů 50mM dávkám ethanolu po dobu 10 minut a následné prodloužené ischemii, došlo ke zvýšené aktivitě ALDH2, která byla provázaná translokací PKC ϵ do

mitochondrií. Tímto bylo prokázáno, že ethanolem indukovaná aktivita ALDH2 je závislá na aktivaci PKCε. Během ischemie dochází v srdci vlivem oxidativního stresu k hromadění 4-HNE. V případě zvýšení aktivity ALDH2 dojde k oxidaci 4-HNE a k ochraně srdce před ischemicko/reperfúzním poškození (Chen et al. 2008).

3.2 Hexokináza

Hexokináza (HK) je enzym katalyzující reakci v prvním kroku glykolýzy. Jsou známy 4 izoformy tohoto proteinu (HKI-HKIV). Kromě úlohy v metabolismu sacharidů má také důležitou roli v ochraně buňky. Její aktivita byla prvně zkoumána v buňkách hepatomu. Ukázalo se, že schopnost nádorových buněk přežít přinejmenším částečně souvisí se zvýšenou hladinou HK (Bustamante and Pedersen 1977) a její interakcí s mitochondriemi, konkrétně s VDAC, který se podílí na formování mPTP (Nakashima et al. 1986). Otevření mPTP má také zásadní podíl na vzniku ischemického/reperfúzního poškození srdce a také zde se prokázala protektivní úloha HK, konkrétně HKII, jenž dokáže předcházet otevření mPTP (Pasdois et al. 2012). Nicméně na rozdíl od rakovinotvorných buněk, kde se snažíme inhibovat mechanismy zvyšující přežívání a tím zahubit nádorové buňky, u kardiomyocytů naopak usilujeme o posílení těchto mechanismů, a proto se i zde stala HK předmětem výzkumu jako terapeutického cíle pro kardioprotekci.

„Preconditioning“ jako kardioprotektivní mechanismus, jsme si představili už v kapitole o PKCε a mitoK_{ATP} (3.1.2). Zajímavým zjištěním bylo, že i HK je zapojena v tomto procesu ochrany srdce. Ukázalo se, že „preconditioning“ snižuje aktivitu cytosolické HK v buňce během ischemie, zvyšuje aktivitu mitochondriální HK před i po ischemii a má vliv na redistribuci HKII v buňce (Gürel et al. 2009). Tento mechanismus je aktivován i dalšími intervencemi jako je podávání morfinu (Zuurbier et al. 2005), adaptace na hypoxii (Wasková-Arnoštová et al. 2015) nebo krátkodobá ischemie (Kolář et al. 2017). Naproti tomu dlouhodobá ischemie zvyšuje odpojení HK z vnější mitochondriální membrány (Pasdois et al. 2011).

Kardioprotekce zprostředkovaná HK je spojena s její častější interakcí s mitochondriemi, a pokud je této interakci zabráněno dochází ke smrti buňky (Smeele et al. 2011). Jak už bylo výše zmíněno, HK se na vnější mitochondriální membráně váže na VDAC a zabraňuje výlevu cytochromu c a smrti buňky, kdežto pro-apoptotický protein Bax způsobuje opačný efekt po navázání na VDAC (Shimizu et al. 1999). Proto se předpokládalo, že tyto dva proteiny kompetují o vazebné místo na VDAC (Pastorino et al. 2002). Pozdější studie však prokázaly,

že přestože existuje určitý antagonismus mezi Bax a HK, v případě vynucené disociace HK z mitochondrií dochází k úniku cytochromu c i v nepřítomnosti Bax/Bak (Majewski et al. 2004). Na základě těchto poznatků Halestrap et al. (2015) navrhli hypotézu o vlivu vazby HKII na morfologii, která zahrnuje změny v interakci mezi vnitřní mitochondriální membránou a vnější mitochondriální membránou, modulují permeabilitu vnější mitochondriální membrány a otevření mPTP.

3.3 Signální transduktor a aktivátor transkripce 3

Signální transduktor a aktivátor transkripce 3 (STAT3) je důležitý protein pro přenos extracelulárních signálů z plazmatické membrány do jádra a mitochondrií. Je exprimován v různých buněčných populacích v srdci, kde má vliv na formování nových cévních spojení (Osugi et al. 2002), diferenciaci kardiomyocytů (Snyder et al. 2010), kontroluje intersticiální homeostázu a je neméně důležitý při ochraně srdce (Hilfiker-Kleiner et al. 2004). Už dříve několik studií předložilo důkazy o tom, že ischemie zvyšuje fosforylaci STAT Janus kinázami (JAK) (Negoro et al. 2000; Xuan et al. 2001). Výskyt aktivované STAT3, nebyl omezen na oblast poškozenou infarktem, ale aktivita byla nápadně zvýšena ve zdravých oblastech, kde docházelo k remodelaci myokardu (Xuan et al. 2001).

Jako účinný mechanismus k ochraně srdce před ischemicko/reperfúzním poškozením se mimo „preconditioningu“ ukázal také být „postconditioning“. Tento mechanismus představuje proces, při němž je srdce po ischemické příhodě, vystaveno krátkým periodám ischemie následované reperfúzí, tedy obnovení průtoku je přerušováno ischemickými intervaly. V obou zmíněných kardioprotektivních mechanismech se ukázal být zapojen i STAT3. U myší, s vyřazeným genem pro STAT3, byl „preconditioning“ neúčinný a nechránil srdce před ischemických poškozením (Smith et al. 2004). Ischemickým „postconditioningem“ došlo ke zmenšení rozsahu infarktu myokardu, jenž byl doprovázen zvýšenou aktivitou STAT3 (Heusch et al. 2011).

To, jakým způsobem zprostředkovává STAT3 kardioprotekci v mitochondriích je stále předmětem výzkumu. Nicméně existují doklady o tom, že úbytek STAT3 koreluje se snížením aktivity komplexů elektrontransportního řetězce (Wegrzyn et al. 2009). STAT3 patrně reguluje aktivitu komplexu I prostřednictvím přímé interakce, neboť se ukázalo, že interaguje s proteinem GRIM-19, jenž tvoří podjednotku komplexu I (Szczepek et al. 2011). Tato zjištění se shodovala s výzkumy na nádorových buňkách, kde Zhang et al. (2013) předpokládá,

že mitochondriální STAT3 vazbou na GRIM-19 podporuje optimální aktivitu komplexu I a snižuje produkci ROS. STAT3 také reguluje aktivitu samotného mPTP přes vazbu na cyclophilin D (Meier et al. 2017).

3.4 Odpráhující proteiny

Odpráhující proteiny (UCP z angl. uncoupling protein) leží ve vnitřní mitochondriální membráně, kde fungují jako přenašeče protonů po elektrochemickém gradientu z matrix do mezimembránového prostoru mitochondrií, čímž disipují protonový gradient a rozpráhují oxidativní fosforylaci. Rozprážením oxidativní fosforylace pomocí UCP je ochranný mechanismus, který předchází nadměrnému hromadění elektronů v elektrontransportním řetězci a s nimi spojenou nadměrnou produkcí ROS. Do UCP rodiny patří celkem 5 členů (UCP1, UCP2, UCP3, UCP4, UCP5), jednotlivé izoformy sdílejí podobnou sekvenci a liší se především distribucí v tkáních. UCP1 je nejstarším známým zástupcem této rodiny a nachází se především v hnědé tukové tkáni savců, kde energii z transportu protonů přeměňuje na teplo, které je nezbytné pro udržení stálé teploty (Parker et al. 2009). Isoformy UCP2 a UCP3 jsou exprimovány napříč různými tkáněmi, jako slezina, slinivka, v kosterním svalu, plíci (Alán et al. 2009), ale zkoumány jsou především pro jejich působení v srdci. UCP4 a UCP5 se nacházejí především v mozku (Mao et al. 1999; Sanchis et al. 1998).

Je známo, že během srdečního selhání dochází ke zvýšené produkci ROS a zdá se, že UCP2 a UCP3 mohou tuto produkci regulovat. Došlo-li k depleci mRNA těchto proteinů, buňka produkovala větší množství ROS. Zároveň ischemický „preconditioning“ zvýšil expresi těchto proteinů a snížil produkci ROS (McLeod et al. 2005). Mailloux et al. navrhli, že při normální hladině ROS v mitochondriích jsou UCP2 a UCP3 udržovány v neaktivním stavu pomocí glutathionylace. Zvýšená produkce ROS, ke které během ischemie dochází deglutathionyluje UCP a tím je aktivuje. Po aktivaci dojde k úniku protonů do mezimembránového prostoru a navrátí se rovnováha pH, čímž se sníží produkce ROS v této negativně-zpětnovazebné smyčce (Mailloux et al. 2011).

Dalším možným regulátorem UCP jsou mastné kyseliny, které se uvolňují do oběhu při β -adrenergní stimulaci (Hoeks et al. 2003). Během ischemického stresu je zvýšena koncentrace mastných kyselin v krvi a bylo prokázáno, že mastné kyseliny zvyšují expresi genu UCP2 (Li et al. 2002) a nedostatek mastných kyselin v plasmě blokuje expresi UCP3 (Hoeks et al. 2003). Současně během ischemie dochází k peroxidaci fosfolipidů v membráně kyslíkovými radikály

a vytváří se vysoce reaktivní látky, jako například 4-hydroxy-nonenal (4-HNE). Tyto látky indukují aktivaci UCP, dojde k rozpřažení protonového gradientu a tím i snížení ROS (Echtay et al. 2003).

3.5 Sirtuiny

Sirtuiny (SIRT) jsou vysoce konzervované proteiny, které jsou zapojeny v mnoha buněčných procesech, jako regulace transkripce, stárnutí a apoptóza. Vyskytují se téměř u všech živých organismů a fungují jako NAD⁺-závislé deacetylázy. U savců je kódováno celkem 7 izoform, z nichž 3 (SIRT 3-5) jsou lokalizovány v mitochondriích. Je známo, že jsou aktivovány během kalorické restrikce a zprostředkovávají prospěšné účinky pro organismus, včetně kardioprotekce (Shinmura et al. 2011). Během dlouhotrvající kalorické restrikce se snižuje acetylace komplexů I a III elektrontransportního řetězce, a tato acetylace je spojena se zvýšenou aktivitou SIRT proteinů. Současně se zmenšilo oxidativní poškození myokardu snížením produkce ROS (Shinmura et al. 2011).

Velké množství studií zkoumající účinky sirtuinů v kardioprotekci se zaměřuje především na izoformu SIRT3. Tato izoforma je exprimována v tkáních s vysokým energetickým obratem, jako játra, ledviny a srdce, kde se zdá, reguluje energetický metabolismus a udržuje homeostázu prostřednictvím komplexu I elektrontransportního řetězce v mitochondriích. Vyřazení genu z funkce pro SIRT3 v transgenní myši, vedlo k acylaci mitochondriálních proteinů a bylo doprovázeno sníženou produkcí ATP (Ahn et al. 2008). Současně tyto myši vykazovaly zhoršenou regeneraci srdeční funkce, zvýšenou citlivost mPTP k otevření vlivem vysoké hladiny Ca²⁺ iontů a zvýšenou produkci ROS v reakci na ischemicko/reperfúzního poškození (Parodi-Rullán et al. 2017). Naopak myši se zvýšenou expresí SIRT3 si zachovaly normální srdeční funkce i při agonistou indukované hypertrofii prostřednictvím inhibice transkripčních regulátorů, které tuto hypertrofii vyvolávají. Zvýšená exprese SIRT3 byla doprovázena zvýšenou expresí antioxidantů mangan superoxid dismutázy a katalázy, které katalyzují přeměnu superoxidového radikálu na vodu a kyslík. SIRT3 váží a deacetylací aktivují transkripční faktor Foxo3a, jenž řídí transkripci genů těchto antioxidantů v jádře (Sundaresan et al. 2009). Navíc se ukázalo, že SIRT3 regulují také mitochondriální transkripční faktory (TF) a tím i aktivitu elektrontransportní řetězce. Umlčením SIRT3 v buňce se zvýšila acetylace mitochondriálních TF a neschopnost vázat DNA (Bagul et al. 2018).

Důležitým aktivátorem SIRT proteinů je také resveratrol. Podávání nízkých dávek této látky, se dosahovalo stejných účinků jako při kalorické restrikci. Docházelo ke snížení acetylace komplexů I a III elektrontransportního řetězce, snížila se produkce ROS a zlepšila se životaschopnost buněk po hypoxii (Shinmura et al. 2011). Účinek resveratrolu, aktivovat SIRT proteiny, byl také prokázán v diabetickém srdci. Zde sníženou aktivitu SIRT3 proteinu doprovázela nízká aktivita mitochondriálních transkripčních faktorů, která byla v souladu se sníženou aktivitou elektrontransportního řetězce (Bagul et al. 2018). Proto se zdá být resveratrol vhodnou látkou pro léčbu kardiovaskulárních onemocnění.

4 Spojení adrenergní signalizace a mitochondrií

Adrenergní signalizace i mitochondrie jsou jako dva celky hojně studovány pro jejich kardioprotektivní působení v srdci, otázkou tedy bylo, jak se vzájemně ovlivňují. Adrenergní signalizace ovlivňuje působení proteinů v mitochondriích nejen jejich inhibicí či aktivací, ale může mít vliv také na genovou expresi, jako je tomu v případě odpráhuujících proteinů (Gong et al. 1997).

4.1 Adrenergní signalizace a proteinkináza C ϵ

Jak už je v kapitole o β -AR zmíněno, β_2 -AR jsou schopny vázat jak stimulační G protein, jenž reguluje kontraktilitu srdečního svalu, tak i inhibiční G protein, chránící kardiomyocyty před apoptózou. G_i předává anti-apoptotický signál po $G_{\beta\gamma}$ -PI3K-PKB/Akt signální dráze a jestliže je G_i inhibován, dochází častěji k apoptóze kardiomyocytů (Zhu et al. 2001). PKB/Akt dále aktivuje eNOS a spouští produkci NO (Fulton et al. 1999). NO aktivuje guanylyl cyklázu, která zahájí přeměnu guanosintrifosfátu (GTP) na cGMP. Zvýšená hladina cGMP aktivuje PKG. PKG následně otevírá $\text{mitoK}_{\text{ATP}}$ kanál prostřednictvím $\text{PKC}\epsilon_1$. Po vtoku draselných iontů a alkalizaci matrix se zvýší produkce ROS, jenž aktivuje $\text{PKC}\epsilon_2$ a inhibuje otevření mPTP. Nicméně i samotný NO je schopen aktivovat $\text{PKC}\epsilon_{1/2}$ nezávisle na PKG a tím otevřít $\text{mitoK}_{\text{ATP}}$ (Costa and Garlid 2008). Avšak nejen β_2 -AR, ale také β_3 -AR asociuje s inhibičním G proteinem, jenž je zapojen v NO-cGMP-PKG signální dráze (Angelone et al. 2008). Navíc, nebovivolem aktivované β_3 -AR zvýšily aktivitu nejen eNOS, ale také expresi neuronální NO syntázy (nNOS) a snížily ischemicko/reperfuční poškození myokardu. V myších s vyřazenými geny pro β_3 -AR, eNOS, nNOS, byla kardioprotekce zprostředkována nebovivolem neúčinná (Aragón et al. 2011).

4.2 Adrenergní signalizace a hexokináza II

Protektivní účinky hexokinázy a β_2 -AR jsou univerzální a bohužel fungují také v nádorových buňkách, kde byla provázanost těchto proteinů prokázána. Exprese HKII pozitivně koreluje s expresí β_2 -AR v tkáni hepatocelulárního karcinomu a předpokládá se, že spolupráce těchto proteinů zvyšuje invazivitu nádoru (Zhang et al. 2016). V kardiomyocytech bylo studováno působení PKB/Akt a HKII. HKII obsahuje ve své primární sekvenci PKB/Akt fosforylační místo a při fosforylaci této sekvence, docházelo častěji k vazbě HKII k mitochondriím. HK se na mitochondrie váže prostřednictvím N-konce. Současně po fosforylaci HKII a vazbě na mitochondrie byly kardiomyocyty lépe chráněny proti oxidativnímu stresu (Roberts et al.

2013). Z těchto výsledků můžeme předpokládat, že spojení β_2 -AR a HK se děje přes inhibiční G protein a PI3K-PKB/Akt signální dráhu.

4.3 Adrenergní signalizace a signální transduktor a aktivátor transkripce 3

Existuje také přímé propojení mezi β -AR a STAT3. Po stimulaci β -AR agonistou isoproterenolem, bylo v kardiomyocytech detekován fosforylovaný STAT3. Aktivaci STAT zprostředkovává nереceptorová tyrosin kináza z rodiny Src, jenž je aktivována G_{as} β -AR. Stimulací β -AR v transgenické myši s vyřazeným genem pro STAT3 se rozvinula mnohem závažnější hypertrofie srdce v porovnání s kontrolou. Současně aktivace STAT3 byla doprovázena translokací do jádra, kde STAT3 reguluje expresi genů *Adrb1* (β_1 -AR), *Prkaca* and *Prkacb* (katalytické podjednotky α a β PKA), *Cacna1c* (podjednotka Ca^{2+} kanálů L-typu) a *Serca2*, což jsou geny pro proteiny regulující ionotropní a lusitropní odpověď srdce (Zhang et al. 2016).

Nejen β -AR, ale také α_1 -AR se ukázala být zapojena v STAT3 zprostředkované kardioprotekci. Konkrétně α_{1A} -AR reguluje aktivitu STAT3 fosforylací serinu-727 přes PKC ϵ /ERK signální dráhu a fosforylací tyrosinu-705 přes PKC δ /SRC/JAK signální dráhu (Shi et al. 2012). Je známo, že dráha PKC ϵ /ERK působí kardioprotektivně také v mitochondriích (Baines et al. 2002a) a STAT3 je lokalizován především v mitochondriích. Je tedy otázkou, zda k fosforylaci STAT3 dochází v cytosolu a následně je translokován do mitochondrií, nebo k fosforylaci dochází až po translokaci do mitochondrií. Zároveň jsou PKC δ a PKC ϵ známé pro své protichůdné role při ochraně srdce. Inhibice PKC δ a aktivace PKC ϵ snižuje poškození při simulované ischemii (Chen et al. 2001).

4.4 Adrenergní signalizace a odpřahující proteiny

Funkce a metabolické dráhy spojené s odpřahujícími proteiny se převážně studují v adipocytech, kde také bylo zjištěno, že β -AR kontrolují expresi genů UCP. Exprese genu pro UCP1 v hnědé tukové tkáni je závislá na aktivaci β -AR. Po stimulaci β -AR dochází ke zvýšení hladiny cAMP, jenž aktivuje PKA. PKA prostřednictvím p38 MAPK spouští expresi genu pro UCP v jádře (Cao et al. 2004). Také v bílé tukové tkáni β -AR, konkrétně β_3 -AR, reguluje expresi UCP. Při stimulaci β_3 -AR se v adipocytech bílé tukové tkáně výrazně zvýšila hladina mRNA UCP3 a nepatrně také hladina mRNA UCP2 a UCP1 (Gong et al. 1997).

Je známo, že β -AR reguluje také metabolismus lipidů a hladinu mastných kyselin v plazmě prostřednictvím PKA. Aktivovaná PKA fosforyluje hormon-senzitivní lipázu (HSL). HSL se z cytosolu translokuje do tukové kapénky, kde spouští lipolýzu a dochází ke zvýšení hladiny mastných kyselin (Schott et al. 2017). V buněčné linii H9c2, odvozené od neonatálních kardiomyocytů potkana, bylo zjištěno, že mastné kyseliny kontrolují expresi UCP2. Po 48 hodinách kultivace buněk v přítomnosti mastných kyselin vzrostla hladina mRNA UCP2 pod vlivem PPAR α transkripčního faktoru (van der Lee et al. 2000). Také exprese UCP3 je regulována mastnými kyselinami. V myším modelu *in vivo* zvýšená hladina volných mastných kyselin zvýšila expresi UCP3 prostřednictvím PPAR α (Murray et al. 2005).

4.5 Adrenergní signalizace a sirtuiny

Do dnešního dne existuje jen několik málo studií, které by se zabývaly vzájemným působením adrenergní signalizace a SIRT. Stimulací β_2 -AR agonistou clenbuterolem došlo k fosforylaci SIRT1 a ke zvýšené oxidaci mastných kyselin. Současně aktivace PKA vedla k fosforylaci SIRT1 na serinu-434 (Gerhart-Hines et al. 2011).

Nadměrným drážděním β -AR dochází k rozvoji srdeční hypertrofie. Zároveň bylo zjištěno, že nadměrná exprese SIRT3 dokáže zabránit rozvoji srdeční hypertrofii *in vivo* a také *in vitro*. SIRT3 inhibuje aktivaci MAP-ERK a PI3K-PKB/Akt signálních drah (Sundaresan et al. 2009), jenž jsou obě zapojeny v rozvoji srdeční hypertrofie. Tímto mechanismem by mohly SIRT3 antagonizovat účinky β -AR a předcházet tak rozvoji srdeční hypertrofie.

5 Závěr

Adrenergní signalizace je zásadním regulátorem buněčných pochodů v organismu a stejně tak důležitá je i v srdci, kde se podílí na regulaci chronotropie, ionotropie a lusitropie, ale také na signalizaci a spuštění protektivních signálních drah. Některé tyto dráhy vedou také do mitochondrií. Mitochondrie jsou v srdci, jako vysoko energetickém orgánu, hojně zastoupeny a je zde syntetizováno ATP v elektrontransportním řetězci. Vedlejším produktem při tvorbě energie je také tvorba ROS. Určitá hladina ROS je v buňce tolerována a může být dokonce prospěšná a účastnit se buněčné signalizace, jako je tomu například při inhibici otevření mPTP prostřednictvím PKC ϵ 2 nebo při aktivaci odpřahujících proteinů. Adrenergní signalizace působí nejen na aktivaci či inhibici jednotlivých efektorů, ale může také regulovat expresi genů, a tím regulovat množství mitochondriálních proteinů a výslednou intenzitu signálu. Obzvláště významné jsou v kardioprotekci β -AR, jenž vážou stimulační i inhibiční G protein. β -AR prostřednictvím inhibičního G-proteinu reguluje aktivitu PKC C ϵ , HKII a oba tyto proteiny cílí v mitochondriích na mPTP, inhibují jeho otevření a zabrání buněčné smrti. Stimulační G protein řídí aktivitu STAT3, a tím produkci ROS v elektrontransportním řetězci a také mPTP. Aktivitu STAT3 reguluje také α_1 -AR prostřednictvím jiné signální kaskády, PKC ϵ /ERK. Dalším mediátorem kardioprotekce v mitochondriích jsou UCP, především UCP2 a UCP3. β -AR řídí expresi jejich genů dvěma způsoby, buď přímo prostřednictvím PKA, nebo prostřednictvím mastných kyselin, jenž vznikají lipolýzou v adipocytech. V neposlední řadě působí v mitochondriích také SIRT3, reguluje aktivitu mitochondriálních transkripčních faktorů a produkci ROS. Nicméně vzájemným působením AR a sirtuinů se do dnešního dne nezabývalo mnoho studií, a ty které jsou k dispozici naznačují antagonistické vztahy mezi nimi. Proto by bylo prospěšné, v této oblasti provést další výzkum a stejně tak se více zaměřit na souvislosti v kardioprotektivních mechanismech a nezaměřovat se jen na dílčí prvky.

6 Použitá literatura

- Adams, J. W., Y. Sakata, M. G. Davis, V. P. Sah, Y. Wang, S. B. Liggett, K. R. Chien, J. H. Brown, and G. W. Dorn. 1998. "Enhanced α_1 Signaling: A Common Pathway Mediates Cardiac Hypertrophy and Apoptotic Heart Failure." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95(17):10140–45.
- Ahmet, I., M. Krawczyk, W. Zhu, A. Y. H. Woo, C. Morrell, S. Poosala, R. -p. Xiao, E. G. Lakatta, and M. I. Talan. 2008. "Cardioprotective and Survival Benefits of Long-Term Combined Therapy with α_1 Adrenoreceptor (AR) Agonist and α_1 AR Blocker in Dilated Cardiomyopathy Postmyocardial Infarction." *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 325(2):491–99.
- Ahn, Bong-Hyun, Hyun-Seok Kim, Shiwei Song, In Hye Lee, Jie Liu, Athanassios Vassilopoulos, Chu-Xia Deng, and Toren Finkel. 2008. "A Role for the Mitochondrial Deacetylase Sirt3 in Regulating Energy Homeostasis." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105(38):14447–52.
- Alán, Lukáš, Katarína Smolková, Eva Kronusová, Jitka Šantorová, and Petr Ježek. 2009. "Absolute Levels of Transcripts for Mitochondrial Uncoupling Proteins UCP2, UCP3, UCP4, and UCP5 Show Different Patterns in Rat and Mice Tissues." *Journal of Bioenergetics and Biomembranes* 41(1):71–78.
- Andrukhiv, Anastasia, Alexandre D. Costa, Ian C. West, and Keith D. Garlid. 2006. "Opening Mitochondrial ATP Increases Superoxide Generation from Complex I of the Electron Transport Chain." *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 291(5):H2067–74.
- Angelone, T., E. Filice, A. M. Quintieri, S. Imbrogno, A. Recchia, E. Pulerà, C. Mannarino, D. Pellegrino, and M. C. Cerra. 2008. " β_3 -Adrenoceptors Modulate Left Ventricular Relaxation in the Rat Heart via the NO-CGMP-PKG Pathway." *Acta Physiologica* 193(3):229–39.
- Aragón, Juan P., Marah E. Condit, Shashi Bhushan, Benjamin L. Predmore, Sandeep S. Patel, D. Bennett Grinsfelder, Susheel Gundewar, Saurabh Jha, John W. Calvert, Lili A. Barouch, Madhav Lavu, Harold M. Wright, and David J. Lefer. 2011. "Beta3-Adrenoreceptor Stimulation Ameliorates Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury via Endothelial Nitric Oxide Synthase and Neuronal Nitric Oxide Synthase Activation." *Journal of the American College of Cardiology* 58(25):2683–91.
- Bagul, Pankaj K., Parmeshwar B. Katare, Paramesha Bugga, Amit K. Dinda, and Sanjay K. Banerjee. 2018. "SIRT-3 Modulation by Resveratrol Improves Mitochondrial Oxidative Phosphorylation in Diabetic Heart through Deacetylation of TFAM." *Cells* 7(12).
- Baines, Christopher P., Robert A. Kaiser, Tatiana Sheiko, William J. Craigen, and Jeffery D. Molkentin. 2007. "Voltage-Dependent Anion Channels Are Dispensable for Mitochondrial-Dependent Cell Death." *Nature Cell Biology* 9(5):550–55.
- Baines, Christopher P., Chang-Xu Song, Yu-Ting Zheng, Guang-Wu Wang, Jun Zhang, Ou-Li Wang, Yiru Guo, Roberto Bolli, Ernest M. Cardwell, and Peipei Ping. 2003. "Protein Kinase $\text{C}\epsilon$ Interacts With and Inhibits the Permeability Transition Pore in Cardiac

- Mitochondria." *Circulation Research* 92(8):873–80.
- Baines, Christopher P., Jun Zhang, Guang-Wu Wang, Yu-Ting Zheng, Joanne X. Xiu, Ernest M. Cardwell, Roberto Bolli, and Peipei Ping. 2002a. "Mitochondrial PKC ϵ and MAPK Form Signaling Modules in the Murine Heart." *Circulation Research* 90(4):390–97.
- Bristow, M. R., R. Ginsburg, V. Umans, M. Fowler, W. Minobe, R. Rasmussen, P. Zera, R. Menlove, P. Shah, and S. Jamieson. 1986. "Beta 1- and Beta 2-Adrenergic-Receptor Subpopulations in Nonfailing and Failing Human Ventricular Myocardium: Coupling of Both Receptor Subtypes to Muscle Contraction and Selective Beta 1-Receptor down-Regulation in Heart Failure." *Circulation Research* 59(3):297–309.
- Budas, Grant R., Eric N. Churchill, Marie-Hélène Disatnik, Lihan Sun, and Daria Mochly-Rosen. 2010. "Mitochondrial Import of PKCepsilon Is Mediated by HSP90: A Role in Cardioprotection from Ischaemia and Reperfusion Injury." *Cardiovascular Research* 88(1):83–92.
- Burkart, Eileen M., Marius P. Sumandea, Tomoyoshi Kobayashi, Mahta Nili, Anne F. Martin, Earl Homsher, and R. John Solaro. 2003. "Phosphorylation or Glutamic Acid Substitution at Protein Kinase C Sites on Cardiac Troponin I Differentially Depress Myofilament Tension and Shortening Velocity." *The Journal of Biological Chemistry* 278(13):11265–72.
- Burns, D. J. and R. M. Bell. 1991. "Protein Kinase C Contains Two Phorbol Ester Binding Domains." *The Journal of Biological Chemistry* 266(27):18330–38.
- Bustamante, E. and P. L. Pedersen. 1977. "High Aerobic Glycolysis of Rat Hepatoma Cells in Culture: Role of Mitochondrial Hexokinase." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 74(9):3735–39.
- *Bylund, David B., Douglas C. Eikenberg, Paul Hieble, Salomon Z. Langer, Robert J. Lefkowitz, Kenneth P. Minneman, Perry B. Molinoff, Robert R. Ruffolo, and Ulrich Trendelenburg. 1994. "Of Pharmacology of Adrenoceptors." *Pharmacological Reviews* 121.
- Cao, Wenhong, Kiefer W. Daniel, Jacques Robidoux, Pere Puigserver, Alexander V Medvedev, Xu Bai, Lisa M. Floering, Bruce M. Spiegelman, and Sheila Collins. 2004. "P38 Mitogen-Activated Protein Kinase Is the Central Regulator of Cyclic AMP-Dependent Transcription of the Brown Fat Uncoupling Protein 1 Gene." *Molecular and Cellular Biology* 24(7):3057–67.
- Chacinska, Agnieszka, Maria Lind, Ann E. Frazier, Jan Dudek, Chris Meisinger, Andreas Geissler, Albert Sickmann, Helmut E. Meyer, Kaye N. Truscott, Bernard Guiard, Nikolaus Pfanner, and Peter Rehling. 2005. "Mitochondrial Presequence Translocase: Switching between TOM Tethering and Motor Recruitment Involves Tim21 and Tim17." *Cell* 120(6):817–29.
- Chen, Che-Hong, Grant R. Budas, Eric N. Churchill, Marie-Hélène Disatnik, Thomas D. Hurley, and Daria Mochly-Rosen. 2008. "Activation of Aldehyde Dehydrogenase-2 Reduces Ischemic Damage to the Heart." *Science (New York, N.Y.)* 321(5895):1493–95.
- Chen, L., H. Hahn, G. Wu, C. H. Chen, T. Liron, D. Schechtman, G. Cavallaro, L. Banci, Y. Guo, R. Bolli, G. W. Dorn, D Mochly-Rosen, and Daria Mochly-Rosen. 2001. "Opposing

- Cardioprotective Actions and Parallel Hypertrophic Effects of Delta PKC and Epsilon PKC." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98(20):11114–19.
- Cheng, Jiali, Gayani Nanayakkara, Ying Shao, Ramon Cueto, Luqiao Wang, William Y. Yang, Ye Tian, Hong Wang, and Xiaofeng Yang. 2017. "Mitochondrial Proton Leak Plays a Critical Role in Pathogenesis of Cardiovascular Diseases." *Advances in Experimental Medicine and Biology* 982:359–70.
- Communal, Catherine, Krishna Singh, Douglas B. Sawyer, and Wilson S. Colucci. 1999. "Opposing Effects of β_1 - and β_2 -Adrenergic Receptors on Cardiac Myocyte Apoptosis." *Circulation* 100(22):2210–12.
- Costa, Alexandre D. T. and Keith D. Garlid. 2008. "Intramitochondrial Signaling: Interactions among MitoKATP, PKCepsilon, ROS, and MPT." *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology* 295(2):H874-82.
- Costa, Alexandre D. T., Keith D. Garlid, Ian C. West, Thomas M. Lincoln, James M. Downey, Michael V. Cohen, and Stuart D. Critz. 2005. "Protein Kinase G Transmits the Cardioprotective Signal From Cytosol to Mitochondria." *Circulation Research* 97(4):329–36.
- Costa, Alexandre D T, Regina Jakob, Cinthia L. Costa, Ksenia Andrukhiv, Ian C. West, and Keith D. Garlid. 2006. "The Mechanism by Which the Mitochondrial ATP-Sensitive K⁺ Channel Opening and H₂O₂ Inhibit the Mitochondrial Permeability Transition." *The Journal of Biological Chemistry* 281(30):20801–8.
- Costa, Alexandre D. T., Casey L. Quinlan, Anastasia Andrukhiv, Ian C. West, Martin Jabůrek, and Keith D. Garlid. 2006. "The Direct Physiological Effects of MitoK_{ATP} Opening on Heart Mitochondria." *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 290(1):H406–15.
- Dahl, Erika F., Steven C. Wu, Chastity L. Healy, Brian A. Harsch, Gregory C. Shearer, and Timothy D. O'Connell. 2018. "Subcellular Compartmentalization of Proximal Gαq-Receptor Signaling Produces Unique Hypertrophic Phenotypes in Adult Cardiac Myocytes." *The Journal of Biological Chemistry* 293(23):8734.
- Doran, Elena and Andrew P. Halestrap. 2000. "Cytochrome c Release from Isolated Rat Liver Mitochondria Can Occur Independently of Outer-Membrane Rupture: Possible Role of Contact Sites." *Biochemical Journal* 348(2):343–50.
- Du, X., Xiao-Ming Gao, Binghui Wang, Garry L. Jennings, Elizabeth A. Woodcock, and Anthony M. Dart. 2000. "Age-Dependent Cardiomyopathy and Heart Failure Phenotype in Mice Overexpressing B2-Adrenergic Receptors in the Heart." *Cardiovascular Research* 48(3):448–54.
- Echtay, Karim S., Telma C. Esteves, Julian L. Pakay, Mika B. Jekabsons, Adrian J. Lambert, Manuel Portero-Otín, Reinald Pamplona, Antonio J. Vidal-Puig, Steven Wang, Stephen J. Roebuck, and Martin D. Brand. 2003. "A Signalling Role for 4-Hydroxy-2-Nonenal in Regulation of Mitochondrial Uncoupling." *The EMBO Journal* 22(16):4103–10.
- Engelhardt, S., L. Hein, F. Wiesmann, and M. J. Lohse. 1999. "Progressive Hypertrophy and

- Heart Failure in Beta1-Adrenergic Receptor Transgenic Mice." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96(12):7059–64.
- Freisewinkel, Ina, Dieter Riethmacher, and Silvia Stabel. 1991. "Downregulation of Protein Kinase C- γ Is Independent of a Functional Kinase Domain." *FEBS Letters* 280(2):262–66.
- Fulton, D., J. P. Gratton, T. J. McCabe, J. Fontana, Y. Fujio, K. Walsh, T. F. Franke, A. Papapetropoulos, and W. C. Sessa. 1999. "Regulation of Endothelium-Derived Nitric Oxide Production by the Protein Kinase Akt." *Nature* 399(6736):597–601.
- Furberg, Curt, Jackson Wright, Barry Davis, Jeffrey Cutler, Michael Alderman, Henry Black, William Cushman, Richard Grimm, Julian Haywood, Franz Leenen, Suzanne Oparil, Mitchell Perry, Jeffrey Probstfield, Paul Whelton, Gerald Payne, Chuke Nwachuku, David Gordon, Michael Proschan, Peter Frommer, Paula Einhorn, Morton Hawkins, Charles Ford, Sara Pressel, Linda Piller, Christine Lusk, Judy Bettencourt, Barbara Kimmel, Therese Geraci, Sandra Walsh, Mahboob Rahman, Anne Juratovac, Robert Pospíšil, Kim Brennan, Lillian Carroll, Sheila Sullivan, Gail Barone, Rudell Christian, Sharon Feldman, Tracy Lucente, C. E. Lewis, Kim Jenkins, Peggy McDowell, Janice Johnson, Connie Kingry, Rebecca Letterer, Karen Margolis, Leslie Holland, Brenda Jaeger-Fox, Jeffrey Williamson, Gail Louis, Pamela Ragusa, Angela Williard, Sue Ferguson, Joanna Tanner, John Eckfeldt, Richard Crow, and John Pelosi. 2013. "Major Cardiovascular Events in Hypertensive Patients Randomized to Doxazosin vs Chlorthalidone." *Library*.
- Gao, Tianyan, Atsuko Yatani, Mark L. Dell'Acqua, Hidenori Sako, Stuart A. Green, Nathan Dascal, John D. Scott, and M. Marlen. Hosey. 1997. "CAMP-Dependent Regulation of Cardiac L-Type Ca²⁺ Channels Requires Membrane Targeting of PKA and Phosphorylation of Channel Subunits." *Neuron* 19(1):185–96.
- Garlid, Anders O., Martin Jaburek, Jeremy P. Jacobs, and Keith D. Garlid. 2013. "Mitochondrial Reactive Oxygen Species: Which ROS Signals Cardioprotection?" *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology* 305(7):H960-8.
- Gauthier, C., V. Leblais, L. Kobzik, J. N. Trochu, N. Khandoudi, A. Bril, J. L. Balligand, and H. Le Marc. 1998. "The Negative Inotropic Effect of Beta3-Adrenoceptor Stimulation Is Mediated by Activation of a Nitric Oxide Synthase Pathway in Human Ventricle." *The Journal of Clinical Investigation* 102(7):1377–84.
- Gerhart-Hines, Zachary, John E. Dominy, Jr., Sharon M. Blättler, Mark P. Jedrychowski, Alexander S. Banks, Ji-Hong Lim, Helen Chim, Steven P. Gygi, and Pere Puigserver. 2011. "The CAMP/PKA Pathway Rapidly Activates SIRT1 to Promote Fatty Acid Oxidation Independently of Changes in NAD⁺." *Molecular Cell* 44(6):851.
- Gong, D. W., Y. He, M. Karas, and M. Reitman. 1997. "Uncoupling Protein-3 Is a Mediator of Thermogenesis Regulated by Thyroid Hormone, Beta3-Adrenergic Agonists, and Leptin." *The Journal of Biological Chemistry* 272(39):24129–32.
- Gong, Haibin, Yu San, Lei Wang, Qian Lv, and Libin Chen. 2017. "The Effects and Possible Mechanism of B2AR Gene Expression in Cardiocytes of Canines with Heart Failure." *Experimental and Therapeutic Medicine* 14(1):539–46.
- Gürel, Ebru, Kirsten M. Smeele, Otto Eerbeek, Anneke Koeman, Cihan Demirci, Markus W. Hollmann, and Coert J. Zuurbier. 2009. "Ischemic Preconditioning Affects Hexokinase

- Activity and HKII in Different Subcellular Compartments throughout Cardiac Ischemia-Reperfusion." *Journal of Applied Physiology* 106(6):1909–16.
- Hanson, Michael A. and Raymond C. Stevens. 2009. "Discovery of New GPCR Biology: One Receptor Structure at a Time." *Structure* 17(1):8–14.
- Heusch, Gerd, Judith Musiolik, Nilguen Gedik, and Andreas Skyschally. 2011. "Mitochondrial STAT3 Activation and Cardioprotection by Ischemic Postconditioning in Pigs With Regional Myocardial Ischemia/Reperfusion." *Circulation Research* 109(11):1302–8.
- Hilfiker-Kleiner, Denise, Andres Hilfiker, Martin Fuchs, Karol Kaminski, Arnd Schaefer, Bernhard Schieffer, Anja Hillmer, Andreas Schmiedl, Zhaoping Ding, Edith Podewski, Eva Podewski, Valeria Poli, Michael D. Schneider, Rainer Schulz, Joon-Keun Park, Kai C. Wollert, and Helmut Drexler. 2004. "Signal Transducer and Activator of Transcription 3 Is Required for Myocardial Capillary Growth, Control of Interstitial Matrix Deposition, and Heart Protection From Ischemic Injury." *Circulation Research* 95(2):187–95.
- Hoeks, Joris, Marleen A. van Baak, Matthijs K. C. Hesselink, Gabby B. Hul, Hubert Vidal, Wim H. M. Saris, and Patrick Schrauwen. 2003. "Effect of β_1 - and β_2 -Adrenergic Stimulation on Energy Expenditure, Substrate Oxidation, and UCP3 Expression in Humans." *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 285(4):E775–82.
- Huang, Yuan, Casey D. Wright, Chastity L. Merkwon, Nichole L. Baye, Qiangrong Liang, Paul C. Simpson, and Timothy D. O'Connell. 2007. "An A1A-Adrenergic–Extracellular Signal-Regulated Kinase Survival Signaling Pathway in Cardiac Myocytes." *Circulation* 115(6):763–72.
- Jensen, Brian C., Philip M. Swigart, Marie-Eve Laden, Teresa DeMarco, Charles Hoopes, and Paul C. Simpson. 2009. "The Alpha-1D Is the Predominant Alpha-1-Adrenergic Receptor Subtype in Human Epicardial Coronary Arteries." *Journal of the American College of Cardiology* 54(13):1137–45.
- Jensen, Brian C., Philip M. Swigart, Teresa De Marco, Charles Hoopes, and Paul C. Simpson. 2009. "{alpha}1-Adrenergic Receptor Subtypes in Nonfailing and Failing Human Myocardium." *Circulation. Heart Failure* 2(6):654–63.
- Kawamura, Shuji, Ken-Ichi Yoshida, Toshiro Miura, Yoichi Mizukami, and Masunori Matsuzaki. 1998. "Ischemic Preconditioning Translocates PKC- δ and - ϵ , Which Mediate Functional Protection in Isolated Rat Heart." *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 275(6):H2266–71.
- Kilts, Jason D., Mark A. Gerhardt, Mark D. Richardson, Gautam Sreeram, G. Burkhard Mackensen, Hilary P. Grocott, William D. White, R. Duane Davis, Mark F. Newman, Joseph G. Reves, Debra A. Schwinn, and Madan M. Kwatra. 2000. " β_2 -Adrenergic and Several Other G Protein–Coupled Receptors in Human Atrial Membranes Activate Both G_s and G_i ." *Circulation Research* 87(8):705–9.
- Kokoszka, Jason E., Katrina G. Waymire, Shawn E. Levy, James E. Sligh, Jiyang Cai, Dean P. Jones, Grant R. MacGregor, and Douglas C. Wallace. 2004. "The ADP/ATP Translocator Is Not Essential for the Mitochondrial Permeability Transition Pore." *Nature* 427(6973):461.

- Kolar, David, Milada Gresikova, Petra Waskova-Arnostova, Barbara Elsnicova, Jana Kohutova, Daniela Hornikova, Pavel Vebr, Jan Neckar, Tereza Blahova, Dita Kasparova, Jiri Novotny, Frantisek Kolar, Olga Novakova, and Jitka M. Zurmanova. 2017. "Adaptation to Chronic Continuous Hypoxia Potentiates Akt/HK2 Anti-Apoptotic Pathway during Brief Myocardial Ischemia/Reperfusion Insult." *Molecular and Cellular Biochemistry* 432(1–2):99–108.
- van der Lee, Karin A. J. M., Peter H. M. Willemsen, Ger J. van der Vusse, and Marc van Bilsen. 2000. "Effects of Fatty Acids on Uncoupling Protein-2 Expression in the Rat Heart." *The FASEB Journal* 14(3):495–502.
- Li, H., T. Yang, Z. Long, and J. Cheng. 2014. "Effect of Mitochondrial ATP-Sensitive Potassium Channel Opening on the Translocation of Protein Kinase C Epsilon in Adult Rat Ventricular Myocytes." *Genetics and Molecular Research* 13(2):4516–22.
- Li, Li-Xin, Frank Skorpen, Kjartan Egeberg, Ingrid Hals Jørgensen, and Valdemar Grill. 2002. "Induction of Uncoupling Protein 2 mRNA in β -Cells Is Stimulated by Oxidation of Fatty Acids But Not by Nutrient Oversupply." *Endocrinology* 143(4):1371–77.
- LI, LIN, HONGYAN CAI, HUA LIU, and TAO GUO. 2015. " β -Adrenergic Stimulation Activates Protein Kinase C ϵ and Induces Extracellular Signal-Regulated Kinase Phosphorylation and Cardiomyocyte Hypertrophy." *Molecular Medicine Reports* 11(6):4373–80.
- Lips, Daniel J., Orlando F. Bueno, Benjamin J. Wilkins, Nicole H. Purcell, Robert A. Kaiser, John N. Lorenz, Laure Voisin, Marc K. Saba-El-Leil, Sylvain Meloche, Jacques Pouysségur, Gilles Pagès, Leon J. De Windt, Pieter A. Doevendans, and Jeffery D. Molkentin. 2004. "MEK1-ERK2 Signaling Pathway Protects Myocardium From Ischemic Injury In Vivo." *Circulation* 109(16):1938–41.
- de Lucia, Claudio, Akito Eguchi, and Walter J. Koch. 2018. "New Insights in Cardiac β -Adrenergic Signaling During Heart Failure and Aging." *Frontiers in Pharmacology* 9:904.
- Mailloux, Ryan J., Erin L. Seifert, Frédéric Bouillaud, Céline Aguer, Sheila Collins, and Mary-ellen Harper. 2011. "Glutathionylation Acts as a Control Switch for Uncoupling Proteins UCP2 and UCP3." *The Journal of Biological Chemistry* 286(24):21865–75.
- Majewski, Nathan, Veronique Nogueira, Prashanth Bhaskar, Platina E. Coy, Jennifer E. Skeen, Kathrin Gottlob, Navdeep S. Chandel, Craig B. Thompson, R. Brook. Robey, and Nissim Hay. 2004. "Hexokinase-Mitochondria Interaction Mediated by Akt Is Required to Inhibit Apoptosis in the Presence or Absence of Bax and Bak." *Molecular Cell* 16(5):819–30.
- Mancia, G., A. Ferrari, L. Gregorini, M. C. Ferrari, C. Bianchini, L. Terzoli, G. Leonetti, and A. Zanchettie. 1980. "Effects of Prazosin on Autonomic Control of Circulation in Essential Hypertension." *Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)* 2(5):700–707.
- Mao, Weiguang, Xing Xian Yu, Alan Zhong, Wenlu Li, Jennifer Brush, Steven W. Sherwood, Sean H. Adams, and Guohua Pan. 1999. "UCP4, a Novel Brain-Specific Mitochondrial Protein That Reduces Membrane Potential in Mammalian Cells." *FEBS Letters* 443(3):326–30.
- McLeod, Christopher J., Abdulhameed Aziz, Robert F. Hoyt, J. Philip McCoy, and Michael N.

- Sack. 2005. "Uncoupling Proteins 2 and 3 Function in Concert to Augment Tolerance to Cardiac Ischemia." *The Journal of Biological Chemistry* 280(39):33470–76.
- Meier, Jeremy A., Moonjung Hyun, Marc Cantwell, Ali Raza, Claudia Mertens, Vidisha Raje, Jennifer Sisler, Erin Tracy, Sylvia Torres-Odio, Suzana Gispert, Peter E. Shaw, Heinz Baumann, Dipankar Bandyopadhyay, Kazuaki Takabe, and Andrew C. Larner. 2017. "Stress-Induced Dynamic Regulation of Mitochondrial STAT3 and Its Association with Cyclophilin D Reduce Mitochondrial ROS Production." *Science Signaling* 10(472).
- Murray, Andrew J., Marcello Panagia, David Hauton, Geoffrey F. Gibbons, and Kieran Clarke. 2005. "Plasma Free Fatty Acids and Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Alpha in the Control of Myocardial Uncoupling Protein Levels." *Diabetes* 54(12):3496–3502.
- Murry, C. E., R. B. Jennings, and K. A. Reimer. 1986. "Preconditioning with Ischemia: A Delay of Lethal Cell Injury in Ischemic Myocardium." *Circulation* 74(5):1124–36.
- Mutlak, Michael, Michal Schlesinger-Laufer, Tali Haas, Rona Shofti, Nimer Ballan, Yair E. Lewis, Mor Zuler, Yaniv Zohar, Lilac H. Caspi, and Izhak Kehat. 2018. "Extracellular Signal-Regulated Kinase (ERK) Activation Preserves Cardiac Function in Pressure Overload Induced Hypertrophy." *International Journal of Cardiology* 270:204–13.
- Myagmar, Bat-Erdene, James M. Flynn, Patrick M. Cowley, Philip M. Swigart, Megan D. Montgomery, Kevin Thai, Divya Nair, Rumita Gupta, David X. Deng, Chihiro Hosoda, Simon Melov, Anthony J. Baker, and Paul C. Simpson. 2017. "Adrenergic Receptors in Individual Ventricular Myocytes: The Beta-1 and Alpha-1B Are in All Cells, the Alpha-1A Is in a Subpopulation, and the Beta-2 and Beta-3 Are Mostly Absent." *Circulation Research* 120(7):1103–15.
- Nakashima, Richard A., Patrick S. Mangan, Marco Colombini, and Peter L. Pedersen. 1986. "Hexokinase Receptor Complex in Hepatoma Mitochondria: Evidence from N,N'-Dicyclohexylcarbodiimide-Labeling Studies for the Involvement of the Pore-Forming Protein VDAC." *Biochemistry* 25(5):1015–21.
- Negoro, S., Keita Kunisada, Eiroh Tone, Masanobu Funamoto, Hidemasa Oh, Tadimitsu Kishimoto, and Keiko Yamauchi-Takahara. 2000. "Activation of JAK/STAT Pathway Transduces Cytoprotective Signal in Rat Acute Myocardial Infarction." *Cardiovascular Research* 47(4):797–805.
- Newton, Alexandra C., Corina E. Antal, and Susan F. Steinberg. 2016. "Protein Kinase C Mechanisms That Contribute to Cardiac Remodelling." *Clinical Science (London, England : 1979)* 130(17):1499–1510.
- O'Dowd, B. F., R. J. Lefkowitz, and M. G. Caron. 1989. "Structure of the Adrenergic and Related Receptors." *Annual Review of Neuroscience* 12(1):67–83.
- Ohnuma, Yoshito, Tetsuji Miura, Takayuki Miki, Masaya Tanno, Atsushi Kuno, Akihito Tsuchida, and Kazuaki Shimamoto. 2002. "Opening of Mitochondrial K_{ATP} Channel Occurs Downstream of PKC-ε Activation in the Mechanism of Preconditioning." *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 283(1):H440–47.
- Osugi, Tomoaki, Yuichi Oshima, Yasushi Fujio, Masanobu Funamoto, Atsuko Yamashita, Shinji Negoro, Keita Kunisada, Masahiro Izumi, Yoshikazu Nakaoka, Hisao Hirota, Masaru

- Okabe, Keiko Yamauchi-Takahara, Ichiro Kawase, and Tadamitsu Kishimoto. 2002. "Cardiac-Specific Activation of Signal Transducer and Activator of Transcription 3 Promotes Vascular Formation in the Heart." *The Journal of Biological Chemistry* 277(8):6676–81.
- Parker, Nadeene, Paul G. Crichton, Antonio J. Vidal-Puig, and Martin D. Brand. 2009. "Uncoupling Protein-1 (UCP1) Contributes to the Basal Proton Conductance of Brown Adipose Tissue Mitochondria." *Journal of Bioenergetics and Biomembranes* 41(4):335–42.
- Parodi-Rullán, Rebecca M., Xavier Chapa-Dubocq, Pedro J. Rullán, Sehwan Jang, and Sabzali Javadov. 2017. "High Sensitivity of SIRT3 Deficient Hearts to Ischemia-Reperfusion Is Associated with Mitochondrial Abnormalities." *Frontiers in Pharmacology* 8:275.
- Pasdois, Philippe, Joanne E. Parker, Elinor J. Griffiths, and Andrew P. Halestrap. 2011. "The Role of Oxidized Cytochrome c in Regulating Mitochondrial Reactive Oxygen Species Production and Its Perturbation in Ischaemia." *The Biochemical Journal* 436(2):493–505.
- Pasdois, Philippe, Joanne Elizabeth Parker, and Andrew Philip Halestrap. 2012. "Extent of Mitochondrial Hexokinase II Dissociation during Ischemia Correlates with Mitochondrial Cytochrome c Release, Reactive Oxygen Species Production, and Infarct Size on Reperfusion." *Journal of the American Heart Association* 2(1):e005645.
- Pastorino, John G., Nataly Shulga, and Jan B. Hoek. 2002. "Mitochondrial Binding of Hexokinase II Inhibits Bax-Induced Cytochrome c Release and Apoptosis." *The Journal of Biological Chemistry* 277(9):7610–18.
- Rengo, G., C. Zincarelli, GD Femminella, D. Liccardo, G. Pagano, C. de Lucia, GG Altobelli, V. Cimini, D. Ruggiero, P. Perrone-Filardi, E. Gao, N. Ferrara, A. Lymperopoulos, WJ Koch, and D. Leosco. 2012. "Myocardial B2-Adrenoceptor Gene Delivery Promotes Coordinated Cardiac Adaptive Remodelling and Angiogenesis in Heart Failure." *British Journal of Pharmacology* 166(8):2348–61.
- Roberts, David J., Valerie P. Tan-Sah, Jeffery M. Smith, and Shigeki Miyamoto. 2013. "Akt Phosphorylates HK-II at Thr-473 and Increases Mitochondrial HK-II Association to Protect Cardiomyocytes." *The Journal of Biological Chemistry* 288(33):23798–806.
- Rockman, H. A., D. J. Choi, N. U. Rahman, S. A. Akhter, R. J. Lefkowitz, and W. J. Koch. 1996. "Receptor-Specific in Vivo Desensitization by the G Protein-Coupled Receptor Kinase-5 in Transgenic Mice." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93(18):9954–59.
- Rosenbaum, Daniel M., Søren G. F. Rasmussen, and Brian K. Kobilka. 2009. "The Structure and Function of G-Protein-Coupled Receptors." *Nature* 459(7245):356–63.
- Sanchis, D., C. Fleury, N. Chomiki, M. Gubern, Q. Huang, M. Neverova, F. Grégoire, J. Easlick, S. Raimbault, C. Lévi-Meyrueis, B. Miroux, S. Collins, M. Seldin, D. Richard, C. Warden, F. Bouillaud, and D. Ricquier. 1998. "BMCP1, a Novel Mitochondrial Carrier with High Expression in the Central Nervous System of Humans and Rodents, and Respiration Uncoupling Activity in Recombinant Yeast." *The Journal of Biological Chemistry* 273(51):34611–15.

- Schechtman, Deborah, Madeleine L. Craske, Viktoria Kheifets, Tobias Meyer, Jack Schechtman, and Daria Mochly-Rosen. 2004. "A Critical Intramolecular Interaction for Protein Kinase C ϵ Translocation." *Journal of Biological Chemistry* 279(16):15831–40.
- Schott, Micah B., Karuna Rasineni, Shaun G. Weller, Ryan J. Schulze, Arthur C. Sletten, Carol A. Casey, and Mark A. McNiven. 2017. " β -Adrenergic Induction of Lipolysis in Hepatocytes Is Inhibited by Ethanol Exposure." *The Journal of Biological Chemistry* 292(28):11815–28.
- *Scruggs, Sarah B., Ding Wang, and Peipei Ping. 2016. "PRKCE Gene Encoding Protein Kinase C-Epsilon-Dual Roles at Sarcomeres and Mitochondria in Cardiomyocytes." *Gene* 590(1):90–96.
- Shi, Ting, Robert S. Papay, and Dianne M. Perez. 2012. " α (1A)-Adrenergic Receptor Differentially Regulates STAT3 Phosphorylation through PKC ϵ and PKC δ in Myocytes." *Journal of Receptor and Signal Transduction Research* 32(2):76–86.
- Shimizu, Shigeomi, Masashi Narita, Yoshihide Tsujimoto, and Yoshihide Tsujimoto. 1999. "Bcl-2 Family Proteins Regulate the Release of Apoptogenic Cytochrome c by the Mitochondrial Channel VDAC." *Nature* 399(6735):483–87.
- Shinmura, Ken, Kayoko Tamaki, Motoaki Sano, Naomi Nakashima-Kamimura, Alexander M. Wolf, Taku Amo, Shigeo Ohta, Yoshinori Katsumata, Keiichi Fukuda, Kyoko Ishiwata, Makoto Suematsu, and Takeshi Adachi. 2011. "Caloric Restriction Primes Mitochondria for Ischemic Stress by Deacetylating Specific Mitochondrial Proteins of the Electron Transport Chain." *Circulation Research* 109(4):396–406.
- Šileikytė, Justina, Elizabeth Blachly-Dyson, Randall Sewell, Andrea Carpi, Roberta Menabò, Fabio Di Lisa, Fernanda Ricchelli, Paolo Bernardi, and Michael Forte. 2014. "Regulation of the Mitochondrial Permeability Transition Pore by the Outer Membrane Does Not Involve the Peripheral Benzodiazepine Receptor (Translocator Protein of 18 kDa (TSPO))." *The Journal of Biological Chemistry* 289(20):13769–81.
- Simmerman, H. K., J. H. Collins, J. L. Theibert, A. D. Wegener, and L. R. Jones. 1986. "Sequence Analysis of Phospholamban. Identification of Phosphorylation Sites and Two Major Structural Domains." *The Journal of Biological Chemistry* 261(28):13333–41.
- Simonis, Gregor, Steffen K. Briem, Steffen P. Schoen, Manja Bock, Rainer Marquetant, and Ruth H. Strasser. 2007. "Protein Kinase C in the Human Heart: Differential Regulation of the Isoforms in Aortic Stenosis or Dilated Cardiomyopathy." *Molecular and Cellular Biochemistry* 305(1–2):103–11.
- Singh, Raphael M., Emanuel Cummings, Constantinos Pantos, and Jaipaul Singh. 2017. "Protein Kinase C and Cardiac Dysfunction: A Review." *Heart Failure Reviews* 22(6):843–59.
- Smeele, Kirsten M. A., Richard Southworth, Rongxue Wu, Chaoqin Xie, Rianne Nederlof, Alice Warley, Jessica K. Nelson, Pepijn van Horsen, Jeroen P. van den Wijngaard, Sami Heikkinen, Markku Laakso, Anneke Koeman, Maria Siebes, Otto Eerbeek, Fadi G. Akar, Hossein Ardehali, Markus W. Hollmann, and Coert J. Zuurbier. 2011. "Disruption of Hexokinase II–Mitochondrial Binding Blocks Ischemic Preconditioning and Causes Rapid Cardiac Necrosis." *Circulation Research* 108(10):1165–69.

- Smith, R., N. Suleman, L. Lacerda, L. Opie, S. Akira, K. Chien, and M. Sack. 2004. "Genetic Depletion of Cardiac Myocyte STAT-3 Abolishes Classical Preconditioning." *Cardiovascular Research* 63(4):611–16.
- Snyder, Marylynn, Xin-Yun Huang, and J. Jillian Zhang. 2010. "Stat3 Directly Controls the Expression of Tbx5, Nkx2.5, and GATA4 and Is Essential for Cardiomyocyte Differentiation of P19CL6 Cells." *The Journal of Biological Chemistry* 285(31):23639–46.
- Sundaresan, Nagalingam R., Madhu Gupta, Gene Kim, Senthilkumar B. Rajamohan, Ayman Isbatan, and Mahesh P. Gupta. 2009. "Sirt3 Blocks the Cardiac Hypertrophic Response by Augmenting Foxo3a-Dependent Antioxidant Defense Mechanisms in Mice." *The Journal of Clinical Investigation* 119(9):2758–71.
- Szczepanek, Karol, Qun Chen, Marta Derecka, Fadi N. Salloum, Qifang Zhang, Magdalena Szelag, Joanna Cichy, Rakesh C. Kukreja, Jozef Dulak, Edward J. Lesnefsky, and Andrew C. Lerner. 2011. "Mitochondrial-Targeted Signal Transducer and Activator of Transcription 3 (STAT3) Protects against Ischemia-Induced Changes in the Electron Transport Chain and the Generation of Reactive Oxygen Species." *The Journal of Biological Chemistry* 286(34):29610–20.
- Venkatachalam, Kartik, Fei Zheng, and Donald L. Gill. 2003. "Regulation of Canonical Transient Receptor Potential (TRPC) Channel Function by Diacylglycerol and Protein Kinase C." *The Journal of Biological Chemistry* 278(31):29031–40.
- Wang, Wang, Weizhong Zhu, Shiqiang Wang, Dongmei Yang, Michael T. Crow, Rui-Ping Xiao, and Heping Cheng. 2004. "Sustained β_1 -Adrenergic Stimulation Modulates Cardiac Contractility by Ca^{2+} /Calmodulin Kinase Signaling Pathway." *Circulation Research* 95(8):798–806.
- Waskova-Arnostova, Petra, Barbara Elsnicova, Dita Kasparova, Daniela Hornikova, Frantisek Kolar, Jiri Novotny, and Jitka Zurmanova. 2015. "Cardioprotective Adaptation of Rats to Intermittent Hypobaric Hypoxia Is Accompanied by the Increased Association of Hexokinase with Mitochondria." *Journal of Applied Physiology* 119(12):1487–93.
- Wegrzyn, Joanna, Ramesh Potla, Yong-Joon Chwae, Naresh B. V Sepuri, Qifang Zhang, Thomas Koeck, Marta Derecka, Karol Szczepanek, Magdalena Szelag, Agnieszka Gornicka, Akira Moh, Shadi Moghaddas, Qun Chen, Santha Bobbili, Joanna Cichy, Jozef Dulak, Darren P. Baker, Alan Wolfman, Dennis Stuehr, Medhat O. Hassan, Xin-Yuan Fu, Narayan Avadhani, Jennifer I. Drake, Paul Fawcett, Edward J. Lesnefsky, and Andrew C. Lerner. 2009. "Function of Mitochondrial Stat3 in Cellular Respiration." *Science (New York, N.Y.)* 323(5915):793–97.
- Westwood, S. A. and S. V Perry. 1981. "The Effect of Adrenaline on the Phosphorylation of the P Light Chain of Myosin and Troponin I in the Perfused Rabbit Heart." *The Biochemical Journal* 197(1):185–93.
- Xuan, Y. T., Y. Guo, H. Han, Y. Zhu, and R. Bolli. 2001. "An Essential Role of the JAK-STAT Pathway in Ischemic Preconditioning." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98(16):9050–55.
- Yang, Zhaogang, Wei Sun, and Keli Hu. 2012. "Molecular Mechanism Underlying Adenosine Receptor-Mediated Mitochondrial Targeting of Protein Kinase C." *Biochimica et*

Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research 1823(4):950–58.

- Zhang, Qifang, Vidisha Raje, Vasily A. Yakovlev, Adly Yacoub, Karol Szczepanek, Jeremy Meier, Marta Derecka, Qun Chen, Ying Hu, Jennifer Sisler, Hossein Hamed, Edward J. Lesnefsky, Kristoffer Valerie, Paul Dent, and Andrew C. Lerner. 2013. "Mitochondrial Localized Stat3 Promotes Breast Cancer Growth via Phosphorylation of Serine 727." *The Journal of Biological Chemistry* 288(43):31280.
- Zhang, Tong, Eric N. Johnson, Yusu Gu, Michael R. Morissette, Valerie P. Sah, Marisa S. Gigena, Darrell D. Belke, Wolfgang H. Dillmann, Terry B. Rogers, Howard Schulman, John Ross, and Joan Heller Brown. 2002. "The Cardiac-Specific Nuclear Delta(B) Isoform of Ca²⁺/Calmodulin-Dependent Protein Kinase II Induces Hypertrophy and Dilated Cardiomyopathy Associated with Increased Protein Phosphatase 2A Activity." *The Journal of Biological Chemistry* 277(2):1261–67.
- Zhang, Wenjun, Xiuxia Qu, Biyi Chen, Marylynn Snyder, Meijing Wang, Baiyan Li, Yue Tang, Hanying Chen, Wuqiang Zhu, Li Zhan, Ni Yin, Deqiang Li, Li Xie, Ying Liu, J. Jillian Zhang, Xin-Yuan Fu, Michael Rubart, Long-Sheng Song, Xin-Yun Huang, and Weinian Shou. 2016. "Critical Roles of STAT3 in β -Adrenergic Functions in the Heart." *Circulation* 133(1):48–61.
- Zhang, Yang, Mark E. Devries, and Jeffrey Skolnick. 2006. "Structure Modeling of All Identified G Protein-Coupled Receptors in the Human Genome." *PLoS Computational Biology* 2(2):e13.
- Zhang, Zhi-Feng, Xiao-Sha Feng, He Chen, Zhi-Jun Duan, Li-Xia Wang, Dong Yang, Pi-Xu Liu, Qiu-Ping Zhang, Yan-Ling Jin, Zhi-Gang Sun, and Han Liu. 2016. "Prognostic Significance of Synergistic Hexokinase-2 and Beta2-Adrenergic Receptor Expression in Human Hepatocellular Carcinoma after Curative Resection." *BMC Gastroenterology* 16(1):57.
- Zhu, Wei-Zhong, Shi-Qiang Wang, Khalid Chakir, Dongmei Yang, Tong Zhang, Joan Heller Brown, Eric Devic, Brian K. Kobilka, Heping Cheng, and Rui-Ping Xiao. 2003. "Linkage of Beta1-Adrenergic Stimulation to Apoptotic Heart Cell Death through Protein Kinase A-Independent Activation of Ca²⁺/Calmodulin Kinase II." *The Journal of Clinical Investigation* 111(5):617–25.
- Zhu, Wei-Zhong, Ming Zheng, Walter J. Koch, Robert J. Lefkowitz, Brian K. Kobilka, and Rui-Ping Xiao. 2001. "Dual Modulation of Cell Survival and Cell Death by B2-Adrenergic Signaling in Adult Mouse Cardiac Myocytes." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98(4):1607.
- Zuurbier, Coert J., Otto Eerbeek, and Alfred J. Meijer. 2005. "Ischemic Preconditioning, Insulin, and Morphine All Cause Hexokinase Redistribution." *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 289(1):H496–99.

(* sekundární citace)