

Pohlavní rozdíly v citlivosti srdečního svalu k ischemicko-reperfuznímu poškození – úloha mitochondrií

(Sex differences in cardiac tolerance to ischemia-reperfusion injury – the role of mitochondria)

Bohuslav Ošťádal^a, Zdeněk Drahota^a, Petr Ošťádal^b, Jan Neckář^a

^a Fyziologický ústav AV ČR, Praha

^b Komplexní kardiiovaskulární centrum, Nemocnice Na Homolce, Praha

INFORMACE O ČLÁNKU

Historie článku:

Vložen do systému: 12. 1. 2021

Přijat: 7. 2. 2021

Dostupný online: 21. 6. 2021

Klíčová slova:

Estrogen

Ischemicko-reperfuzní poškození

Mitochondrie

Pohlavní rozdíly

Srdce

SOUHRN

Experimentální i klinická pozorování prokázala, že struktura a funkce mužského a ženského (resp. samčího a samičího) srdce se významným způsobem liší, a to jak za fyziologických, tak patologických podmínek. Významné pohlavní rozdíly v citlivosti srdečního svalu k ischemii jsou toho nejlepším dokladem: dospělé mužské srdce je ve srovnání s ženským (do menopauzy) podstatně citlivější. Závažnost těchto rozdílů potvrzuje fakt, že množství prací, které se touto problematikou zabývají, v posledních letech strmě stoupá. Detailní molekulární a buněčné mechanismy odpovědné za pohlavní rozdíly na své objasnění teprve čekají; je však zřejmé, že odlišnosti není možno vysvětlit pouze účinkem estrogenů. V posledních letech se objevila nová nadějná hypotéza, jež naznačuje, že na pohlavních rozdílech v odolnosti srdečního svalu k nedostatku kyslíku se mohou výrazným způsobem podílet mitochondrie. Jedno je však jisté: pohlavní rozdíly jsou tak závažné, že by na ně měl být již dnes brán zřetel v klinické praxi při volbě optimálních diagnostických a léčebných postupů.

© 2021, ČKS.

ABSTRACT

Experimental and clinical studies have clearly demonstrated significant sex differences in myocardial structure and function under normal and pathological conditions. The best examples are significant sex differences in cardiac tolerance to ischemia-reperfusion injury: adult male hearts are more susceptible as compared to pre-menopausal female heart. The importance of these findings is documented by the increasing number of publications on this topic during the last years. Detailed cellular and molecular mechanisms, responsible for sex differences are, unfortunately, still not known; it has been stressed that estrogens are not the only factor involved. Recently, a new hypothesis has been developed, suggesting an important role of cardiac mitochondria. One is clear already today: sex differences are so important that they should be taken into consideration in the clinical practice for the selection of the optimal diagnostic and therapeutic strategy.

Keywords:

Estrogen

Heart

Ischemia-reperfusion injury

Mitochondria

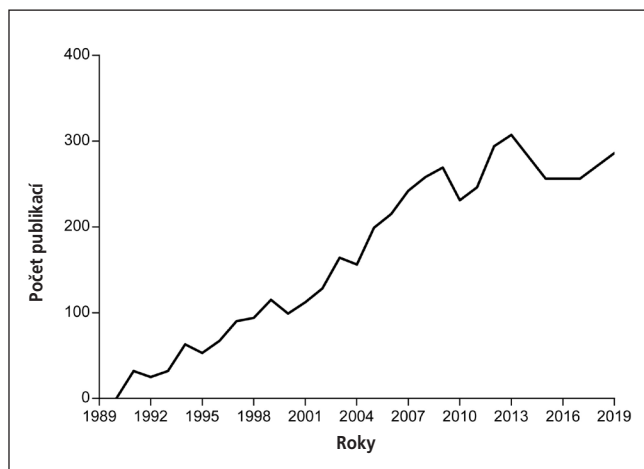
Sex differences

Úvod

Je známo, že pohlaví ovlivňuje řadu onemocnění; jak uvádí „Committee on understanding the biology of sex and gender differences“, ženy jsou ve srovnání s muži více ohroženy depresemi, osteoporózou, astmatem, kuřáckým karcinomem plic či autoimunitními chorobami.¹ Ne všechna onemocnění však vykazují sexuální dimorfismus; např. u infekčních chorob pohlavní rozdíly pozorovány nebyly. Choroby srdce a cév patří mezi onemocnění, kde se pohlavní rozdíly významně uplatňují. Nejedná

se přitom jen o ischemickou chorobu srdeční (ICHS), ale pohlavní rozdíly existují i u dalších poruch kardiiovaskulárního systému, jako jsou hypertenze, arytmie či srdeční selhání.^{2,3} Muži jsou obecně vystaveni většímu riziku; po menopauze však incidence kardiiovaskulárních chorob stoupá i u žen a rozdíly se vyrovnávají. Tento fakt svádí k jednoznačnému vysvětlení, že za všechno můžou estrogeny. Avšak výsledky rozsáhlých klinických studií, které ukázaly, že podávání estrogenů po menopauze kardiiovaskulární onemocnění u žen dokonce zhoršuje, tento názor značně zpochybnil.^{4,5}

Adresa pro korespondenci: Prof. MUDr. Bohuslav Ošťádal, DrSc., Fyziologický ústav AV ČR, Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4, e-mail: ostadal@biomed.cas.cz
DOI: 10.33678/cor.2021.023



Obr. 1 – Počet klinických a experimentálních prací na téma „sex and heart and female heart“ za léta 1989–2019. Zdroj: Web of Science.

K nejčastějším, a proto i nejvíce studovaným chorobám kardiovaskulárního systému patří bezpochyby ICHS. Je zajímavé, že výzkum pohlavních rozdílů v incidenci tohoto onemocnění začal teprve koncem 80. let minulého století. První experimentální pozorování ukazující, že srdce samic je odolnější k nedostatku kyslíku než srdce samců, jsme publikovali v roce 1984.⁶ V roce 1987 uveřejnili Tobin a spol. první klinickou studii upozorňující, že ženy se známkami ICHS vyžadovaly méně intenzivní léčbu než muži.⁷ Další sdělení stejného výzkumného týmu poukázalo na problémy spojené s indikací koronární chirurgické intervence u žen.⁸ Ve stejném roce byla publikována i první souborná kniha o ICHS u žen.⁹ Podle údajů Web of Science bylo ještě na počátku devadesátých let minulého století množství prací zabývajících se pohlavními rozdíly kardiovaskulárního systému zanedbatelné, v posledních letech však jejich počet dramaticky stoupá (obr. 1).¹⁰ Co může být příčinou rostoucího zájmu? Zdá se, že jsou to především dvě skutečnosti: (i) přibývá důkazů o odlišném chování mužského a ženského srdce za fyziologických a patologických podmínek a (ii) rozporuplné zprávy o prospěšnosti či škodlivosti hormonální substituční terapie u žen po menopauze.

Mechanismus vzniku pohlavních rozdílů v odolnosti srdečního svalu k nedostatečnému zásobení kyslíkem nebyl dosud uspokojivě vysvětlen; rozhodně se nejedná jen o účinky estrogenu. Stále čekáme na důvěryhodné objasnění buněčné a molekulární podstaty tohoto klinicky významného biologického fenoménu. V této souvislosti je nutno zdůraznit, že v posledních letech se objevily zprávy, že důležitou úlohu ve zvýšené odolnosti samičího myokardu k nedostatku kyslíku mohou hrát mitochondrie. Pokusme se nyní krátce shrnout dostupné informace o pohlavních rozdílech v citlivosti srdečního svalu k ischemii, se zvláštním zřetelem k experimentálnímu ischemicko-reperfuznímu (I/R) poškození a jeho mechanismům, včetně možné úlohy mitochondrií.

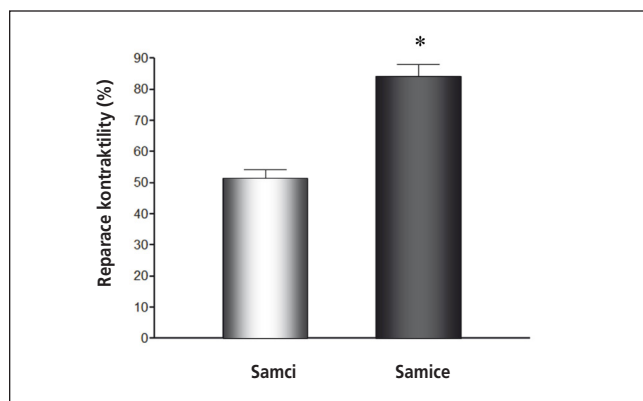
Pohlavní rozdíly v normálním myokardu

Podívejme se nejprve na pohlavní rozdíly, které se týkají zdravého srdce; ty mohou být předpokladem rozdílů,

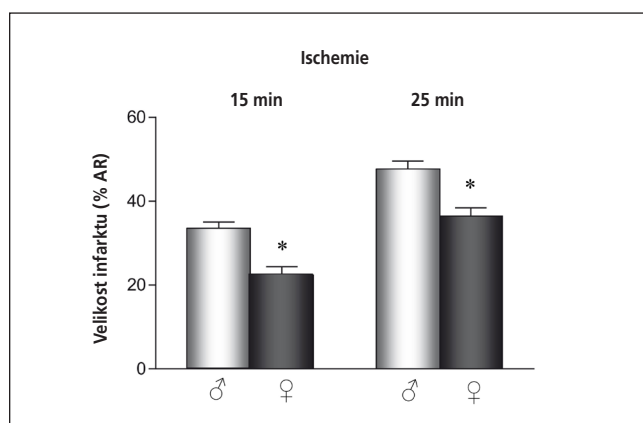
jež vznikají za patologických podmínek.¹¹ Jedním ze základních parametrů je jistě velikost srdce.¹² Před pubertou se hmotnost srdce u chlapců a dívek neliší; poté se srdce zvětšuje více u mužů a tento rozdíl dosahuje v dospělosti 15–30 %. Významný pohlavní rozdíl byl nalezen v počtu srdečních buněk. Zatímco ontogenetický vývoj mezi 20. a 95. rokem života neovlivní počet srdečních buněk v ženském myokardu, jejich počet v mužském srdečním svalu se v průběhu stejného období dramaticky mění: mužský myokard ztrácí každým rokem 45 milionů myocytů v levé komoře a 19 milionů buněk v komoře pravé.¹³ Ztráta buněk je v samčím myokardu doprovázena zvětšováním jejich průměru (o 51 % u opičích samců ve srovnání s 8 % u samic). Tato růstová odpověď může do jisté míry úbytek počtu srdečních buněk kompenzovat, avšak se zvětšováním buněk se prodlužuje i vzdálenost mezi kapilárami, a vytváří se tak potenciální zdroj nedostatečného zásobení buněk kyslíkem. Překvapivé je zjištění, že výskyt programované smrti – apoptózy – je v srdci a věnčitých cévách zdravých mužů třikrát vyšší než u žen; věk tento rozdíl neovlivnil.¹⁴

Liší se i funkce srdečního svalu: již v roce 1920 poukázal Bazett na skutečnost, že klidová frekvence ženského srdce je vyšší než u mužů.¹⁵ Tento rozdíl byl později potvrzen velkou populační studií a činí 3–5 tepů za minutu.¹⁶ Ženské srdce má ve srovnání s mužským delší trvání akčního potenciálu, delší interval QT a kratší sinus node recovery time.¹⁷ Průměrný systolický tlak je u mužů mladších 60 let o 6–7 mm Hg a diastolický o 3–5 mm Hg vyšší než u žen. U žen po menopauze však systolický krevní tlak stoupá, takže incidence hypertenze může být stejná, nebo dokonce vyšší než u mužů.¹⁸ Údaje o pohlavních rozdílech v kontraktilitě myokardu se liší a byly nedávno shrnuty Machukim a spol.¹⁹ Zatímco Schwartz a spol.^{20,21} a Machuki a spol.¹⁹ pozorovali, že samičí kardiomyocyty mají ve srovnání se samčími delší kontrakci a větší amplitudu vápníkového proudu, Farrel a spol.²² žádné rozdíly nepozorovali. Rozdílné výsledky mohou být alespoň částečně vysvětlitelné odlišným metodickým postupem (např. bazální vs. apikální myocyty).¹⁹

V poslední době přibývá prací, které prokazují buněčné a molekulární pohlavní rozdíly v normálním myokardu; jejich výčet přesahuje možnosti tohoto přehledu. K zásadním patří jistě pohlavní rozdíly v mechanismu spáření excitace a kontrakce,²² v odlišném buněčném metabolismu Ca^{2+} , v tvorbě kyslíkových radikálů²³ či v hustotě β -adrenergických receptorů.²⁴ Významnou úlohu v kontrakci myocytů hrají vápníkové kanály L-typu;²⁵ jejich denzita stejně jako intenzita vápníkového proudu byly větší u samic než u samců; estrogen reguluje expresi genů pro vápníkové kanály L-typu, a tak přispívá k pohlavnímu rozdílu v kontraktálních vlastnostech srdečního svalu.¹⁹ Bylo rovněž zjištěno, že vápníková homeostáza se mění v závislosti na estrálním cyklu;²⁶ citlivost myofilament k vápníku u ovariectomovaných samic laboratorního potkana významně stoupala. Je zajímavé, že vápníková homeostáza je regulována též hodnotou testosteronu, který zvyšuje uvolňování Ca^{2+} ze sarkoplazmatického retikula, a tím i koncentraci intracelulárního Ca^{2+} .²⁷ V samičím myokardu byla zjištěna zvýšená exprese sarkolemálních a mitochondriálních draslíkových kanálů (K_{ATP}); jejich inhibice při ischemii zvyšuje rozsah tkáňového poškození.²⁸



Obr. 2 – Obnovení kontrakce izolované pravé komory po 20 min anoxie u dospělých samců a samic laboratorního potkana (vyjádřené jako procento hodnot před anoxií); * $p < 0,01$. Data: Ošťádal a spol.⁶



Obr. 3 – Pohlavní rozdíly ve velikosti infarktu u laboratorního potkana. Izolované perfundované srdce; * $p < 0,01$. Data: Bae and Zhang.³⁹ AR – ohrožená oblast (area at risk).

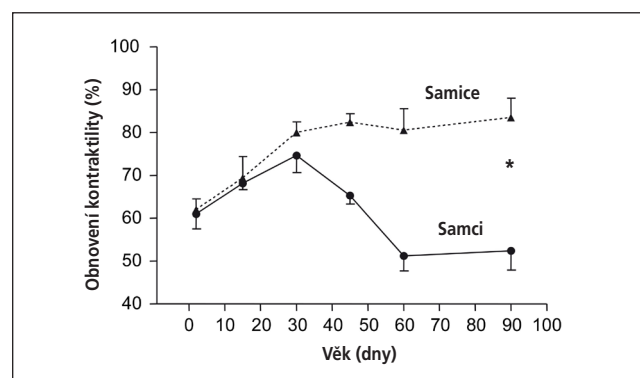
A konečně Dworatzek a spol. pozorovali pohlavní rozdíly v kolagenním složení myokardu: kolageny typu I, III a VI byly významně sníženy v srdcích samic.²⁹ Uvedené pohlavní rozdíly, charakteristické pro zdravý myokard, vytvářejí logický předpoklad možné odlišné citlivosti srdečního svalu na různé patologické podněty, včetně I/R poškození.

Pohlavní rozdíly v odolnosti srdce k ischemicko-reperfúznímu poškození

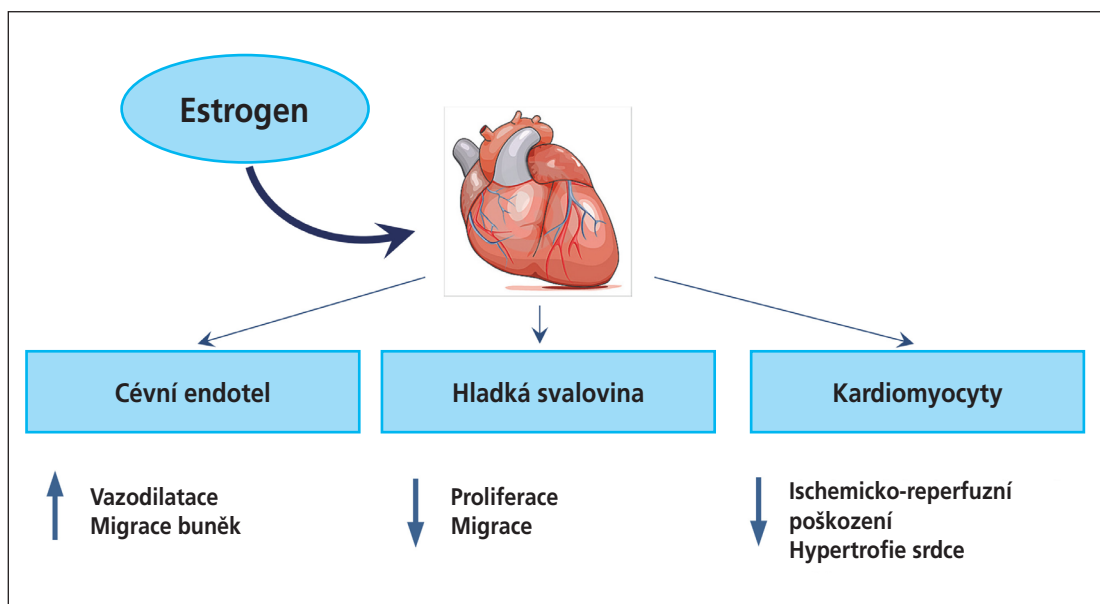
Epidemiologické studie jednoznačně prokázaly, že u žen před menopauzou začíná ICHS asi o deset let později než u mužů, výskyt infarktu myokardu je opožděn dokonce o 20 let. Po menopauze však výskyt tohoto onemocnění stoupá u žen více než desetkrát, zatímco u mužů stejného věku jen 4,5x.^{30,31} Příčinou jsou zřejmě pohlavní rozdíly v rozvoji aterosklerotických změn v průběhu vývoje, na které upozornil již Fejfar v roce 1975;³² činí přibližně oněch zmíněných deset let; tuto skutečnost potvrzují i nižší hodnoty LDL-cholesterolu (cholesterolu v lipoproteinech o nízké hustotě) a vyšší hodnoty HDL-cholesterolu (cholesterolu v lipoproteinech o vysoké hustotě) u žen do menopauzy.³³

Experimentální studie ve své velké většině klinická pozorování potvrzují.^{34–37} Sami jsme zjistili již před více než 35 lety, že izolovaná pravá komora samic laboratorních potkanů je významně odolnější k akutnímu nedostatku kyslíku než pravá komora samců (obr. 2).⁶ Intenzivní výzkum této otázky začal však o mnoho let později. Vyšší odolnost samičího srdečního svalu k I/R poškození byla opakovaně prokázána u různých druhů laboratorních zvířat^{28,38–42} s výjimkou psů.⁴³ Samice mají menší rozsah infarktu myokardu (obr. 3), u samic dochází k lepší obnově kontraktilní funkce a k nižšímu výskytu reperfučních arytmií. Lepší funkční zotavení bylo u samic doprovázeno menším rozsahem ischemického poškození, nižší koncentrací laktát dehydrogenázy v krvi a nižší produkcí zánětlivých cytokinů.⁴⁴ Rovněž transgenní samice se zvýšenou expresí $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ výměníku a β -adrenergických receptorů měly menší I/R poškození a zvýšenou kontraktilitu ve srovnání s transgenními samci.^{45,46} Sami jsme pozorovali, že pohlavní rozdíly v I/R poškození existují i u spontánně hypertenzních laboratorních potkanů: postischemická obnova kontraktility byla významně vyšší u hypertenzních samic, a to přesto, že hladina krevního tlaku byla u obou pohlaví srovnatelná.⁴⁷ Pohlavní rozdíly existují i u obězních zvířat: velikost infarktu byla významně větší u samců než u samic.⁴⁸ Experimentální i klinické studie popisují významné pohlavní rozdíly i v remodelaci po infarktu myokardu;^{49,50} u samců bylo hojení pomalejší s častějším výskytem srdečních ruptur, způsobených zřejmě předčasnou degradací extracelulární matrix v důsledku aktivace metaloproteináz.⁵¹

Vývoj odolnosti srdečního svalu k nedostatku kyslíku má charakteristický ontogenetický vývoj: po porodu se odolnost srdcí samců a samic laboratorního potkana neliší. Od začátku pohlavní zralosti se odolnost samičího srdce snižuje, zatímco u samic se nemění; v dospělosti tak vzniká významný pohlavní rozdíl (obr. 4).⁵² Je zajímavé, že odolnost dospělého srdečního svalu k ischemii mohou významně ovlivnit zásahy v časných fázích ontogenetického vývoje, a to v závislosti na pohlaví. Z naší studie vyplývá, že perinatální hypoxie zvyšuje odolnost dospělých samic k ischemii; naopak dospělí samci byli ischemií podstatně více poškozeni než samci chovaní v normoxických podmínkách.^{10,37} Tyto výsledky podporují hypotézu, že perinatální hypoxie představuje pro srdce primární programový stimulus, který může vést k pohlavně rozdílné citlivosti



Obr. 4 – Ontogenetický vývoj odolnosti srdečního svalu k nedostatku kyslíku u samců a samic laboratorního potkana; izolovaná pravá komora, obnovení kontrakce po 20 min anoxie (vyjádřeno jako procento hodnot před anoxií); * $p < 0,01$. Data: Ošťádal a spol.⁵²



Obr. 5 – Schematické znázornění vlivu estrogenu na srdeční sval. Upraveno dle Menazza a Murphy.⁶¹

dospělého srdce k ischemii. Tato skutečnost může být klinicky závažná u pacientů, kteří v časných fázích vývoje prošli delší hypoxickou periodou.

V této souvislosti zbývá ještě otázka, zda vysoká odolnost samičího srdce k hypoxii může být zvýšena některým ze známých kardioprotektivních fenoménů. Odpověď však není jednoduchá: experimentální práce, které se touto problematikou zabývaly, jsou ojedinělé, a navíc ve svých závěrech nejednotné, klinická pozorování jsme v literatuře nenalezli. Sami jsme prokázali, že adaptace na chronickou hypoxii zvyšuje odolnost srdečního svalu u obou pohlaví; pohlavní rozdíl pozorovaný u normoxických zvířat byl však zachován.⁶ Údaje o účinku ischemického preconditioningu jsou rozporné: např. Humphreys a spol.⁵³ pozorovali stejný stupeň protekce u potkaních samců a samic, naproti tomu Wangovi a spol. se zvýšit odolnost samičího myokardu králíků nepodařilo.⁵⁴ A konečně Song a spol. zjistili, že ochranný efekt preconditioningu je u samic nižší než u samců;⁵⁵ k podobným závěrům dospěli Crisostomo a spol. v případě ischemického postconditioningu.⁵⁶ Nedávno Lieder a spol. pozorovali, že pohlaví není pro kardioprotektivní efekt pre- a postconditioningu rozhodující.⁵⁷ Zdá se, že nejbližší vysvětlení je pozorování Turcata a spol.: protektivní vliv ischemického preconditioningu nezjistili u mladých samic, jejichž odolnost byla již primárně relativně vysoká; s poklesem tolerance k ischemii u starších jedinců se efekt ischemického preconditioningu objevil.⁵⁸ Zdá se, že se jedná o obecně biologický jev; míra odolnosti má zřejmě svůj práh. Podobný efekt jsme totiž pozorovali u srdcí novorozeneckých potkanů; jejich vysokou odolnost nebylo možno dále zvýšit ani adaptací na chronickou hypoxii, ani ischemickým preconditioningem; protektivní fenomén se objevil až s poklesem přirozené odolnosti v průběhu dalších fází ontogenetického vývoje.⁵⁹ V této souvislosti je nutno připomenout výsledky klinické studie CONDI-2/ERIC PPCI, která neprokázala kardioprotektivní efekt vzdáleného

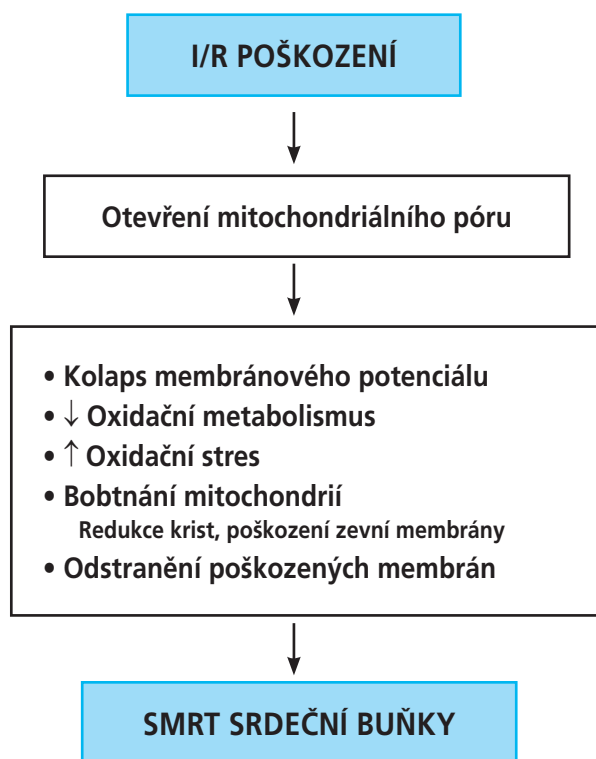
ischemického preconditioningu u pacientů s akutním infarktem myokardu, a to bez ohledu na pohlaví.⁶⁰

Z uvedeného je zřejmé, že pohlaví významně ovlivňuje odolnost srdečního svalu k I/R poškození. Na objasnění patogenetických mechanismů, které se na rozdílech podílejí, však dosud čekáme. Pokusme se v krátkosti shrnout existující hypotézy.

Úloha hormonů při vzniku pohlavních rozdílů v citlivosti srdečního svalu k ischemicko-reperfučnímu poškození

Nejčastěji zmiňovanou příčinou vzniku rozdílů jsou pohlavní hormony, především estrogen. I když jeho podíl zdaleka není tak jednoznačný, jak se předpokládalo, nelze říci, že by neměl na kardiovaskulární systém žádný vliv. Jeho koncentrace se mění v průběhu ovariálního cyklu, v těhotenství, při hormonální antikoncepci; ovlivňuje mj. funkci cév, zánětlivou odpověď, citlivost myocytů k inzulinu či stupeň rozvoje hypertrofie srdečního svalu (obr. 5).⁶¹ Je proto logické, že experimentální studie se soustředily na vysvětlení úlohy estrogenu v odolnosti srdečního svalu k nedostatku kyslíku. Je přitom nutno mít na zřeteli, že kardioprotektivní účinky estrogenu, jež byly pozorovány v experimentálních studiích, se liší od shora zmíněných negativních vlivů hormonální terapie u žen.

Bylo jasné prokázáno, že ovariektomie u samic laboratorního potkana zvětšuje velikost infarktu; naopak podání estrogenů má protektivní vliv na samčí srdeční sval.⁴⁴ Většina protektivních účinků estrogenů je připisována jejich vazbě na estrogenové receptory α a β , které byly prokázány v samičích i v samčích srdečních buňkách, fibroblastech i v hladkém svalu cév,^{61,62} nacházejí se však také v buněčných membránách a mitochondriích.⁶³ Jejich afinita k vazbě na 17β -estradiol je přitom u obou pohlaví stejná. Experimentální studie ukazují, že právě tyto receptory



Obr. 6 – Důsledky otevření mitochondriálního póru přechodné propustnosti (mitochondrial permeability transition pore, MPTP), vyvolané ischemicko-reperfučním (I/R) poškozením. Dle Halestrapa a Richardsona.⁸¹

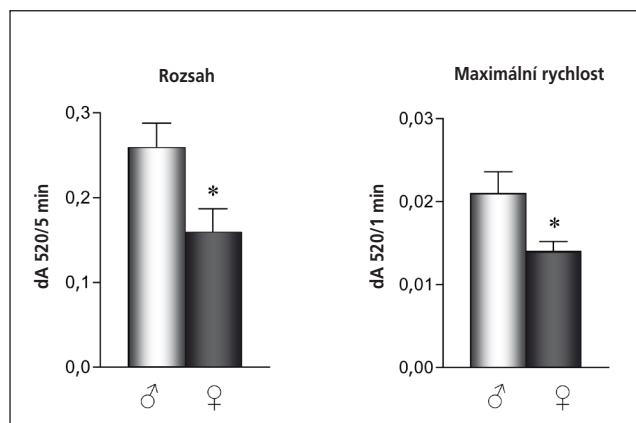
hrají významnou úlohu v protekci proti I/R poškození.⁶⁴ Bohužel dosud není jednotný názor na to, který z obou receptorů je za vyšší odolnost samičího srdce odpovědný. Existuje však ještě třetí membránový estrogenový receptor, označovaný jako estrogenový receptor spřažený s G-proteinem (GPER);⁶⁵ bylo zjištěno, že inhibuje otevření mitochondriálního póru na vnitřní mitochondriální membráně, který se podílí na rozvoji ischemického poškození.⁶⁶ Vazba estrogenů na receptory vede k ovlivnění genové exprese řady funkčních a strukturálních bílkovin (tzv. genomic effect). Kromě genomického efektu existují však také tzv. non-genomic efekty estrogenu; projevují se rychle a jsou nezávislé na syntéze bílkovin.⁶⁷ Jeden z mnoha faktorů, které mohou ovlivnit odpověď samičího myokardu, je oxid dusnatý; jeho koncentrace je vyšší v samičím než v samčím myokardu. Blokáda NO syntázy (eNOS) pomocí L-NAME pohlavní rozdíly v citlivosti k I/R poškození ruší. Je třeba dodat, že vyšší koncentrace eNOS je spojena též s S-nitrosylací vápníkových kanálů L-typu, což významně snižuje I/R poškození u samic poklesem vápníkového přetížení buňky.⁶⁸ To však zřejmě nejsou jediné mechanismy, které se v protekci samičího myokardu uplatňují. Svou roli zde, zdá se, hrají např. vyšší koncentrace sarkolemálních a mitochondriálních K_{ATP} kanálů,⁶⁹ vyšší aktivita serin/threonin protein kinázy (Akt) a protein kinázy $C\epsilon^{28,70}$ či inhibice prozánětlivého tumor nekrotizujícího faktoru α (TNF α) v ischemickém myokardu; dochází ke zlepšení obnovy kontraktilní funkce a k redukcí apoptózy a nekrózy. Při všech těchto úvahách musíme mít na

paměti významné pohlavní rozdíly v buněčném metabolismu vápníku, jak jsme o nich hovořili výše.

Převážná většina experimentálních prací si však z pohlavních hormonů vybrala pouze jeden – estrogen. Je přitom jasné, že kardiovaskulární systém ovlivňuje nejméně jeden další silný hráč, androgenní hormony. Jak estrogen, tak androgenní hormony jsou přítomny u obou pohlaví, i když v různých koncentracích a poměrech. Testosteron aktivuje androgenové receptory, které jsou exprimovány v myocytech; zvyšuje koncentraci homocysteinu a endotelinu-1 a stimulací tyroxin hydrolázy zvyšuje syntézu katecholaminů. Názory na vliv testosteronu na kardiovaskulární funkce se různí. Bylo zjištěno, že testosteron může zvýšit citlivost k ICHS u mužů,⁷¹ vyšší dávky androgenních steroidů zvyšovaly rozvoj aterosklerózy.⁷² Avšak neexistuje žádný experimentální důkaz, že by fyziologická koncentrace testosteronu zvyšovala riziko ischemického poškození myokardu. Naproti tomu jiné klinické práce ukazují, že testosteron může mít na srdeční sval pozitivní vliv.⁷³ Tento efekt je zřejmě způsoben nepřímo přeměnou na dihydrotestosteron nebo 17 β -estradiol. Bylo např. zjištěno, že podání testosteronu ovariectomizovaným samicím zmenšilo rozsah ischemického poškození.⁷⁴ Nedávno Ghimire a spol. ukázali, že nízké dávky testosteronu mají protektivní vliv proti I/R poškození.⁷⁵ Tyto sporné výsledky jsou zřejmě dány použitím různých experimentálních modelů, dávkováním a časovým nastavením. Je však nutno připomenout, že funkce steroidních hormonů je obecně ovlivňována řadou regulačních proteinů, které ovlivňují jejich transkripci; tuto skutečnost je třeba vzít v úvahu při interpretaci a zvažování významnosti uvedených dat.⁷⁶

Možná úloha mitochondrií

Jak vidět, množství různých hypotéz, jež se pokoušejí vysvětlit příčiny pohlavních rozdílů v odolnosti srdečního svalu k nedostatku kyslíku, přibývá. V posledních letech se však objevil nový nadějný názor, jenž naznačuje, že na pohlavních rozdílech v odolnosti srdečního svalu k nedostatku kyslíku se mohou výrazným způsobem podílet



Obr. 7 – Pohlavní rozdíly v bobtnání mitochondrií, vyvolaném vyššími koncentracemi vápníku. Rozsah bobtnání vypočítaný jako pokles absorbance při 520 nm po přidání 200 μ M $CaCl_2$; maximální rychlost bobtnání vypočítána derivací křivek rozsahu bobtnání. * $p < 0,01$. Data: Milerová a spol.⁸⁸

mitochondrie. Sexuální dimorfismus mitochondrií byl popsán v řadě orgánů, jako jsou játra, srdce, mozek a tuková tkáň. Kardiomyocyty samičího srdce mají nižší počet mitochondrií, ale jsou daleko efektivnější: lépe využívají tuky a mají větší oxidační kapacitu než mitochondrie samců.⁷⁷ Podle Murphyové a Steenbergena hrají mitochondrie klíčovou roli v kardioprotektivní signalizační kaskádě.⁷⁸ A skutečně, Lagranha a spol. pozorovali, že u samic je kardioprotekce doprovázena změnou mitochondriálních proteinů; mitochondrie izolované ze samičího srdce vykazují řadu posttranslačních modifikací enzymů, které se podílejí na regulaci tvorby kyslíkových radikálů; samice proto mají sníženou tvorbu kyslíkových radikálů při re-oxygenaci.⁴⁴ Pohlavní rozdíly byly pozorovány rovněž v hospodaření s mitochondriálním Ca^{2+} . Samičí mitochondrie mají nižší rychlost vychytávání Ca^{2+} a lépe obnovují mitochondriální membránový potenciál po depolarizaci, jež byla vyvolána vápníkem.⁷⁹ Daleko účinněji se vypořádávají s vysokou koncentrací externího Ca^{2+} : snižují rychlost jeho vstupu pomocí vápníkového nosiče.⁸⁰ Všechny tyto skutečnosti ukazují, že mitochondrie samičího srdce jsou odolnější k přetížení Ca^{2+} v průběhu I/R poškození; to může být jeden z možných mechanismů vzniku větší odolnosti samičího srdce.

Je známo více než 60 let, že vysoká koncentrace Ca^{2+} , jež provází oxidační stres, zvyšuje propustnost vnitřní mitochondriální membrány, označované jako „permeability transition“. Otevření mitochondriálního póru přechodné propustnosti (mitochondrial permeability transition pore, MPTP) vede k depolarizaci mitochondriální membrány, ke snížení oxidačního metabolismu, k zastavení syntézy adenosintrifosfátu (ATP), ke zvýšení oxidačního stresu, k uvolňování vápníku a k bobtnání mitochondriální matrix (obr. 6).⁸¹ Bylo opakovaně prokázáno, že porucha mitochondriální funkce a zvláště otevření póru hrají významnou roli při vzniku I/R poškození.⁸² Blokáda MPTP cyklosporinem měla ochranný efekt jak v experimentu,⁸³ tak u malé skupiny pacientů s ICHS;⁸⁴ velká multicentrická studie CIRCUS však kardioprotektivní vliv cyklosporinu A neprokázala.⁸⁵ Důvodem může být řada faktorů, jako např. závažnost infarktu, způsob podání, poměrně úzké okno protektivního působení, přítomnost komorbidit či extramitochondriální účinky cyklosporinu A. Zajímavé je v této souvislosti pozorování Morkuniene a spol.⁸⁶ a Pavón a spol.,⁸⁷ kteří prokázali, že otevření shora zmíněného MPTP při reperfúzi může být zablokováno fyziologickou koncentrací estrogenu, podobně jako klasickým inhibitory cyklosporinem.

V našich pracích jsme testovali hypotézu, zda je úloha MPTP v patogenezi I/R poškození srdečního svalu závislá na pohlaví.^{36,88,89} Zjistili jsme, že srdeční mitochondrie samic jsou významně odolnější k bobtnání, vyvolanému vyšší koncentrací Ca^{2+} , což svědčí pro jejich větší odolnost k otevření MPTP (obr.7). Vzhledem k tomu, že otevření póru na vnitřní mitochondriální membráně je úzce spojeno se vznikem I/R poškození, je vyšší odolnost této struktury k Ca^{2+} jedním z možných vysvětlení vyšší tolerance samičího srdce. V této souvislosti se nabízí otázka, zda je za tyto pohlavní rozdíly odpovědné bílkovinné složení MPTP. Naše pokusy ukázaly, že v oxidaci substrátů ani v tvorbě ATP pohlavní rozdíl není, což svědčí pro srovnatelný obsah enzymů respiračního řetězce. Toto pozo-

rování bylo potvrzeno kvantitativní imunodetekcí: samičí a samčí mitochondrie obsahují srovnatelné množství ATP syntázy, proteinového komplexu, odpovědného za funkci MPTP, stejně jako regulačního proteinu cyklofilinu D. Je zajímavé, že podobné výsledky jsme pozorovali v naší předchozí studii, ve které jsme srovnávali úlohu mitochondriálního póru u vysoce hypoxicky odolných neonatálních a dospělých srdcí laboratorního potkana.⁹⁰ Zdá se tedy, že za rozdíly v odolnosti srdečního svalu k nedostatku kyslíku není odpovědné bílkovinné složení MPTP, ale svou roli zde hrají spíše rozdíly v regulaci jeho funkce. Lze se domnívat, že jde především o interakce vápníku s cyklofilinem D a otevřením póru, zvláště pak s možnou regulací cyklofilinu D posttranslačními modifikacemi.⁸⁴ Cyklofilin D tak zůstává atraktivním cílem pro experimentální i klinické studie, které se zabývají hledáním možných blokátorů MPTP jako cesty ke zmenšení I/R poškození srdečního svalu.⁹¹ Lze tedy říci, že mitochondrie, organely odpovědné za hospodaření buňky kyslíkem a produkci energie v podobě ATP, jsou významně zapojeny do regulace odolnosti srdečního svalu k ischemii.

Závěr

Experimentální i klinická pozorování jednoznačně prokazují, že mužské a ženské (resp. samčí a samičí) srdce se v řadě parametrů významným způsobem liší, a to jak za fyziologických, tak patologických podmínek; významné pohlavní rozdíly v citlivosti srdečního svalu k ischemii jsou toho nejlepším dokladem. Závažnost těchto rozdílů potvrzuje fakt, že množství prací, které se touto problematikou zabývají, v posledních letech strmě stoupá. Detailní molekulární a buněčné mechanismy, za pohlavní rozdíly odpovědné, na své objasnění teprve čekají; je však zřejmé, že odlišnosti není možno vysvětlit pouze účinkem estrogenů. V posledních letech se objevila nová nadějná hypotéza, jež naznačuje, že na pohlavních rozdílech v odolnosti srdečního svalu k nedostatku kyslíku se mohou výrazným způsobem podílet mitochondrie, především funkce jejich póru na vnitřní mitochondriální membráně. Jedno je však jisté: pohlavní rozdíly jsou tak závažné, že by na ně měl již dnes být brán zřetel v klinické praxi při volbě optimálních diagnostických a léčebných postupů.

Prohlášení autorů o možném střetu zájmů

Žádný střet zájmů

Financování

Práce byla podpořena granty GACR 18-032075 a MH CZ – DDO (Nemocnice Na Homolce-NNH, 00023884) IG 150501.

Literatura

1. Leinwand LA. Sex is a potent modifier of the cardiovascular system. *J Clin Invest* 2003;112:302–307.
2. Regitz-Zagrosek V. Therapeutic implications of the gender-specific aspects of cardiovascular disease. *Nat Rev Drug Discov* 2006;5:425–439.
3. Kolář F, Ošťádal B. Ex Acta: Sex differences in cardiovascular function. *Acta Physiol* 2013;207:584–587.
4. Hulley S, Grady D, Bush T, et al. Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart

- disease in postmenopausal women. Heart and Estrogen/progestin Replacement Study (HERS) Research Group. *JAMA* 1998;280:605–613.
5. Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, et al. Risk and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA* 2002;288:321–333.
 6. Ošťádal B, Procházka J, Pelouch V, et al. Comparison of cardiopulmonary responses of male and female rats to intermittent high altitude hypoxia. *Physiol Bohemoslov* 1984;33:129–138.
 7. Tobin JN, Wassertheil-Smoller S, Wexler JP, et al. Sex bias in considering coronary-bypass surgery. *Ann Intern Med* 1987;107:19–25.
 8. Steingart RM, Packer M, Hamm P, et al. Sex differences in the management of coronary artery disease. *N Engl J Med* 1991;325:226–230.
 9. Legato MJ, Colman C. The female heart: the truth about women and coronary artery disease. New York: Prentice Hall, 1991.
 10. Ošťádal B, Netuka I, Malý J, et al. Gender differences in cardiac ischemic injury and protection-experimental aspects. *Exp Biol Med* 2009;234:1011–1019.
 11. Legato MJ, Leghe JK. Gender and the heart: sex-specific differences in the normal myocardial anatomy and physiology. In: Legato MJ, ed. Principles of gender specific medicine. New York: Elsevier, 2010:151–161.
 12. De Simone G, Devereux RB, Daniels SR, Meyer RA. Gender differences in left ventricular growth. *Hypertension* 1995;26:979–983.
 13. Olivetti G, Giordano G, Corradi D, et al. Gender differences and aging: effects on the human heart. *J Am Coll Cardiol* 1995;26:1068–1079.
 14. Mallat Z, Fornes P, Costagliola R, et al. Age and gender effect on cardiomyocyte apoptosis in the normal human heart. *J Gerontol* 2001;56A:M719–M723.
 15. Bazett H. An analysis of the time-relations of electrocardiograms. *Heart* 1920;7:370.
 16. Burke JH, Goldberger JJ, Ehler FA, et al. Gender differences in heart rate before and after autonomic blockade: evidence against an intrinsic gender effect. *Am J Med* 1996;100:537–543.
 17. Jochmann N, Stangl K, Garbe E, et al. Female-specific aspects in the pharmacotherapy of chronic cardiovascular diseases. *Eur Heart J* 2005;26:1585–1595.
 18. Dubey RK, Oparil S, Imthurn B, Jackson EK. Sex hormones and hypertension. *Cardiovasc Res* 2002;53:688–708.
 19. Machuki JO, Zhang HY, Geng J, et al. Estrogen regulation of cardiac cAMP-L-type Ca^{2+} channel pathway modulates sex differences in basal contraction and responses to β_2 AR-mediated stress in left ventricular apical myocytes. *Cell Commun Signal* 2019;17:1–17.
 20. Schwertz DW, Vizgirda V, Solaro RJ, et al. Sexual dimorphism in rat left atrial function and response to adrenergic stimulation. *Mol Cell Biochem* 1999;200:43–53.
 21. Schwertz DW, Beck JM, Kowalski JM, Ross JD. Sex differences in the response of rat ventricle to calcium. *Biol Res Nurs* 2004;5:286–298.
 22. Farrell SR, Ross JL, Howlett SE. Sex differences in mechanisms of cardiac excitation-contraction coupling in rat ventricular myocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010;299:H36–H45.
 23. Colom B, Oliver J, Roca P, Garcia-Palmer FJ. Caloric restriction and gender modulate cardiac muscle mitochondrial H_2O_2 production and oxidative damage. *Cardiovasc Res* 2007;74:456–465.
 24. Chu SH, Sutherland K, Beck J, et al. Sex differences in expression of calcium-handling proteins and beta-adrenergic receptors in rat heart ventricle. *Life Sci* 2005;76:2735–2749.
 25. Curl CL, Delbridge LM, Wendt JR. Sex differences in cardiac muscle responsiveness to Ca^{2+} and L-type Ca^{2+} channel modulation. *Eur J Pharmacol* 2008;586:288–292.
 26. MacDonald JK, Pyle WG, Reitz CJ, Howlett SE. Cardiac contraction, calcium transients, and myofilament calcium sensitivity fluctuate with the estrous cycle in young adult female mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2014;306:H938–H953.
 27. Vicencio JM, Ibarra C, Estrada M, et al. Testosterone induces an intracellular calcium increase by a non-genomic mechanism in cultured rat cardiac myocytes. *Endocrinology* 2006;147:1386–1395.
 28. Bae S, Zhang L. Gender differences in cardioprotection against ischemia/reperfusion injury in adult rat hearts: focus on Akt and protein kinase C signaling. *J Pharmacol Exp Ther* 2005;315:1125–1135.
 29. Dworatzek E, Baczko I, Kararigas G. Effects of aging on cardiac extracellular matrix in men and women. *Proteomics Clin Appl* 2016;10:84–91.
 30. Duvall WL. Cardiovascular disease in women. *Mt Sinai J Med* 2003;70:293–305.
 31. Bassuk SS, Manson JE. Gender specific-aspects of selected coronary heart disease risk factors: a summary of the epidemiologic evidence. In: Legato MJ, ed. Principles of Gender-Specific Medicine. Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo: Elsevier, 2010:162–174.
 32. Fejfar Z. Prevention against ischaemic heart disease: a critical review. In: Oliver MF, ed. Modern trends in cardiology. London: Butterworths, 1975:465–495.
 33. Mathur P, Ošťádal B, Romeo F, Mehta JL. Gender-related differences in atherosclerosis. *Cardiovasc Drugs Ther* 2015;29:319–327.
 34. Ošťádal P, Ošťádal B. Women and the management of acute coronary syndrome. *Can J Physiol Pharmacol* 2012;90:1151–1159.
 35. Ošťádal B, Ošťádal P. Sex-based differences in cardiac ischaemic injury and protection: therapeutic implications. *BJP* 2014;171:541–554.
 36. Ošťádal B, Drahota Z, Houštěk J, et al. Developmental and sex differences in cardiac tolerance to ischemia-reperfusion injury: the role of mitochondria. *Can J Physiol Pharmacol* 2019;97:808–814.
 37. Ošťádal B, Ošťádal P, Neckář J. Sex differences in cardiac ischemia/reperfusion injury. In: Ošťádal B, Dhalla NS, eds. Sex Differences in Heart Disease. Switzerland: Springer, 2020:25–37.
 38. Murphy E, Steenbergen C. Gender-based differences in mechanisms of protection in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2007;75:478–486.
 39. Booth EA, Lucchesi BR. Estrogen-mediated protection in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Toxicol* 2008;8:101–113.
 40. Ross JL, Howlett SE. Age and ovariectomy abolish beneficial effects of female sex on rat ventricular myocytes exposed to stimulated ischemia and reperfusion. *PLoS ONE* 2012;7:1–11.
 41. Bell JR, Porrello ER, Huggins CE, et al. The intrinsic resistance of female hearts to an ischemic insult is abrogated in primary cardiac hypertrophy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008;294:H1514–H1522.
 42. Lujan HL, DiCarlo SE. Sex differences to myocardial ischemia and beta-adrenergic receptor blockade in conscious rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008;294:H1523–H1529.
 43. Przyklenk K, Ovize M, Bauer B, Kloner RA. Gender does not influence acute myocardial infarction in adult dogs. *Am Heart J* 1995;129:1108–1113.
 44. Lagranha CJ, Deschamps A, Aponte A, et al. Sex differences in the phosphorylation of mitochondrial proteins result in reduced production of reactive oxygen species and cardioprotection in females. *Circ Res* 2010;106:1681–1691.
 45. Cross HR, Lu L, Steenbergen C, et al. Overexpression of the cardiac $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger increases susceptibility to ischemia/reperfusion injury in male, but not female, transgenic mice. *Circ Res* 1998;83:1215–1223.
 46. Cross HR, Murphy E, Steenbergen C. Ca^{2+} loading and adrenergic stimulation reveal male/female differences in susceptibility to ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;283:H481–H498.
 47. Bešík J, Szarszoi O, Kuneš J, et al. Tolerance to acute ischemia in adult male and female spontaneously hypertensive rats. *Physiol Res* 2007;56:267–274.

48. Clark C, Smith W, Lochner A, Du Toit EF. The effect of gender and obesity on myocardial tolerance to ischemia. *Physiol Res* 2011;60:291–301.
49. Piro M, Bona RD, Abbate A, et al. Sex-related differences in myocardial remodeling. *J Am Coll Cardiol* 2010;55:1057–1065.
50. Regitz-Zagrosek V, Oertelt-Prigione S, Seeland U, Hetzer R. Sex and gender differences in myocardial hypertrophy and heart failure. *Circ J* 2010;74:1265–1273.
51. Cavaşin MA, Tao Z, Menon S, Yang XP. Gender differences in cardiac function during early remodeling after acute myocardial infarction in mice. *Life Sci* 2004;75:2181–2192.
52. Ošťádal B, Ošťádalová I, Dhalla NS. Development of cardiac sensitivity to oxygen deficiency: comparative and ontogenetic aspects. *Phys Rev* 1999;79:635–659.
53. Humphreys RA, Kane KA, Parratt JR. The influence of maturation and gender on the anti-arrhythmic effect of ischaemic preconditioning in rats. *Basic Res Cardiol* 1999;94:1–8.
54. Wang M, Crisostomo P, Wairiuko GM, Meldrum DR. Estrogen receptor- α , mediates acute myocardial protection in females. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006;290:H2204.
55. Song X, Li G, Vaage J, Valen G. Effects of sex, gonadectomy, and estrogen substitution on ischaemic preconditioning and ischaemia-reperfusion injury in mice. *Acta Physiol Scand* 2003;177:459–466.
56. Crisostomo PR, Wang M, Wairiuko GM, et al. Postconditioning in females depends on injury severity. *J Surg Res* 2006;134:342–347.
57. Lieder HR, Irmert A, Kamler M, et al. Sex is no determinant of cardioprotection by ischemic preconditioning in rats, but ischemic/reperfusion tissue mass is for remote ischemic preconditioning. *Physiol Rep* 2019;7:e14146.
58. Turcato S, Turnbull L, Wang GY, et al. Ischemic preconditioning depends on age and gender. *Basic Res Cardiol* 2006;101:235–243.
59. Ošťádalová I, Ošťádal B, Kolář F, et al. Tolerance to ischaemia and ischaemic preconditioning in neonatal rat heart. *J Mol Cell Cardiol* 1998;30:857–865.
60. Hausenloy DJ, Kharbanda RK, Moller UK, et al. Effect of remote ischaemic conditioning on clinical outcomes in patients with acute myocardial infarction (CONDI-2/ERIC-PPCI): a single-blind randomized controlled trial. *Lancet* 2019;394:1415–1424.
61. Menazza S, Murphy E. The expanding complexity of estrogen receptor signaling in the cardiovascular system. *Circ Res* 2016;118:994–1007.
62. Hutson DD, Gurrall R, Ogola BO, et al. Estrogen receptor profiles across tissues from male and female *Rattus norvegicus*. *Biol Sex Differ* 2019;10:1–13.
63. Chen Q, Yager JD, Russo J. Regulation of mitochondrial respiratory chain structure and function by estrogens/estrogen receptors and potential physiological/pathophysiological implications. *Biochim Biophys Acta* 2005;1746:1–7.
64. Gabel SA, Walker VR, London RE, et al. Estrogen receptor beta mediates gender differences in ischemia/reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol* 2005;38:289–297.
65. Deschamps AM, Murphy E. Activation of a novel estrogen receptor, GPER, is cardioprotective in male and female rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009;297:H1806–H1813.
66. Bopassa JC, Eghbali M, Toro L, Stefani E. A novel estrogen receptor GPER inhibits mitochondria permeability transition pore opening and protects the heart against ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010;298:H13–H23.
67. Knowlton AA, Lee AR. Estrogen and the cardiovascular system. *Pharmacol Ther* 2012;135:54–70.
68. Sun J, Picht E, Ginsburg KS, et al. Hypercontractile female hearts exhibit increased S-nitrosylation of the L-type Ca^{2+} channel $\alpha 1$ subunit and reduced ischemia-reperfusion injury. *Circ Res* 2006;98:403–411.
69. Lee TM, Su SF, Tsai CC, et al. Cardioprotective effects of 17 beta-estradiol produced by activation of mitochondrial ATP-sensitive K^{+} channels in canine hearts. *J Mol Cell Cardiol* 2000;32:1147–1158.
70. Johnson MS, Moore RL, Brown DA. Sex differences in myocardial infarct size are abolished by sarcolemmal K_{ATP} channel blockade in rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006;290:H2644–H2647.
71. Van Der Wall EE. Testosterone bad for men, good for women? *Neth Heart J* 2011;19:1–2.
72. Parker MW, Thompson PD. Anabolic-androgen steroids: worse for the heart than we knew? *Circ Heart Fail* 2010;3:470–471.
73. Jones TH, Kelly DM. Randomized controlled trials-mechanistic studies of testosterone and the cardiovascular system. *Asian J Androl* 2018;20:120–130.
74. Maldonado O, Ramos A, Guapillo M, et al. Effects of chronic inhibition of testosterone metabolism on cardiac remodeling after ischemia/reperfusion-induced myocardial damage in gonadectomized rats. *Biol Open* 2019;8:1–7.
75. Ghimire A, Bisset ES, Howlett SE. Ischemia and reperfusion injury following cardioplegic arrest is attenuated by age and testosterone deficiency in male but not female mice. *Biol Sex Differ* 2019;10:42–55.
76. Mendelsohn ME. Molecular and cellular basis of cardiovascular gender differences. *Science* 2005;335:1583–1587.
77. Ventura-Clapier R, Moulin M, Piquereau J, et al. Mitochondria: a central target for sex differences in pathologies. *Clin Sci* 2017;131:803–822.
78. Murphy E, Steenbergen C. Gender-based differences in mechanisms of protection in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2007;75:478–486.
79. Arieli Y, Gursahani H, Eaton MM, et al. Gender modulation of Ca^{2+} uptake in cardiac mitochondria. *J Mol Cell Cardiol* 2004;37:507–513.
80. Williams GS, Boyman L, Lederer WJ. Mitochondrial calcium and the regulation of metabolism in the heart. *J Mol Cell Cardiol* 2015;78:35–45.
81. Halestrap AP, Richardson AP. The mitochondrial permeability transition: a current perspective on its identity and role in ischaemia/reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol* 2015;78:129–141.
82. Bernardi P. The mitochondrial permeability transition pore: a mystery solved? *Front Physiol* 2013;4:95.
83. Ong SB, Samangouei P, Kalkhoran SB, Hausenloy DJ. The mitochondrial permeability transition pore and its role in myocardial ischemia reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol* 2015;78:23–34.
84. Alam MR, Baetz D, Ovize M. Cyclophilin D and myocardial ischemia-reperfusion injury: a fresh perspective. *J Mol Cell Cardiol* 2015;78:80–89.
85. Cung TT, Morel O, Cayla G, et al. Cyclosporine before PCI in patients with acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2015;373:1021–1031.
86. Morkuniene R, Arandarcikaite O, Ivanoviene L, Borutaite V. Estradiol-induced protection against ischemia-induced heart mitochondrial damage and caspase activation is mediated by protein kinase C. *Biochim Biophys Acta* 2010;1797:1012–1017.
87. Pavon N, Martinez-Abundis E, Hernandez L, et al. Sexual hormones: effects on cardiac and mitochondrial activity after ischemia-reperfusion in adult rats. Gender difference. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2012;132:135–146.
88. Milerová M, Drahota Z, Chytilová A, et al. Sex difference in the sensitivity of cardiac mitochondrial permeability transition pore to calcium load. *Mol Cell Biochem* 2016;412:147–154.
89. Drahota Z, Hlaváčková M, Ošťádal B. Cardiac mitochondria and ischemia/reperfusion injury – sex differences. In: Ošťádal B, Dhalla NS, eds. *Sex Differences in Heart Disease*. Switzerland: Springer, 2020:257–265.
90. Milerová M, Charvátová Z, Škárka L, et al. Neonatal cardiac mitochondria and ischemia/reperfusion injury. *Mol Cell Biochem* 2010;335:147–153.
91. Bernardi P, DiLisa F. The mitochondrial permeability transition pore: molecular nature and role as a target in cardioprotection. *J Mol Cell Cardiol* 2015;78:100–106.