

The role of calcium/calmodulin-dependent protein kinase 2 in serious cardiovascular pathologies and its clinical potential

Úloha vápnik/kalmodulín-závislej proteínkinázy 2 v závažných kardiovaskulárnych patológiách a jej klinický potenciál

Rajtík T^{1,2}

¹Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Slovenská republika

Rajtík T. The role of calcium/calmodulin-dependent protein kinase 2 in serious cardiovascular pathologies and its clinical potential. Cardiology Lett. 2023;32(4):271–280

Abstract. Cardiac pathologies such as arrhythmias, myocardial infarction or chronic heart failure are among the significant epidemiological, therapeutic and financial challenges of our time but, despite this, new pharmacotherapeutic tools for their management are still insufficient. Calcium plays a critical role in the pathophysiology of heart, as it mediates the excitation-contraction and excitation-transcriptional coupling in myocytes. Its dysregulation leads to the occurrence of many serious phenotypes of cell damage, from contractile dysfunction to cell death or pathological remodeling, and subsequently dysfunction of the heart as an organ. Despite, or precisely because of this ubiquitous nature of calcium, there are only few practically used groups of drugs in the therapy, such as L-type calcium channel antagonists or calcium sensitizers. Calcium/calmodulin-dependent protein kinase 2 (CaMKII) plays a pivotal role in the regulation of calcium turnover, regulating its influx into the cytoplasm, its removal into the sarcoendoplasmic reticulum, as well as calcium-dependent transcription and metabolism. This is precisely why its pharmacological modulation or inhibition is an interesting research goal, especially in the context of the lack of new treatment procedures in the above-mentioned serious cardiac pathologies, and may represent an important new step in their treatment. The aim of this review article is to provide an insight into its action in the heart, the possibilities of its regulation at the level of post-translational modifications and experimental or clinical possibilities in the future therapy of serious cardiac pathologies. Fig. 3, Ref. 80, on-line full text (Free, PDF) www.cardiologyletters.sk

Key words: calcium – CaMKII – ischemia/reperfusion – arrhythmias – heart failure

Z ¹Katedry farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave a ²Ústavu pre výskum srdca, Centrum experimentálnej medicíny, Slovenská Akadémia Vied, Bratislava, Slovenská republika

Do redakcie došlo dňa 22. mája 2023; prijaté dňa 5. júna 2023

Adresa pre korešpondenciu: PharmDr. Tomáš Rajtík, PhD., Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského, Ulica odbojárův 10, 832 32 Bratislava 3, Slovenská republika, e-mail: rajtik@fpharm.uniba.sk

Rajtík T. Úloha vápnik/kalmodulín-závislej proteínkinázy 2 v závažných kardiovaskulárnych patológiách a jej klinický potenciál. Cardiology Lett. 2023;32(4):271–280

Abstrakt. Srdcové patológie akými sú arytmie, infarkt myokardu či chronické srdcové zlyhávanie patria medzi významné epidemiologické, terapeutické a finančné výzvy našej doby, no napriek tomu, nové farmakoterapeutické nástroje na ich manažment sú stále nedostatočné. Vápnik zohráva v patofyziológii srdca kritickú úlohu, keďže je sprostredkovateľom kontraktilného aj transkripčného prepojenia myocytov. Jeho dysregulácia vedie k výskytu mnohých závažných fenotypov bunkového poškodenia od kontraktilnej dysfunkcie až k bunkovej smrti či patologickej remodelácii a následne dysfunkcii srdca ako orgánu. Napriek alebo práve kvôli tomuto ubikvitnému charakteru vápnika existuje iba niekoľko prakticky využívaných skupín liečiv v terapii uvedených ochorení, akými sú antagonisti L-typu vápnikových kanálov či senzibilizátory vápnika. Hlavnú úlohu v regulácii obratu vápnika má vápnik/kalmodulín-závislá proteínkináza 2 (CaMKII), ktorá reguluje jeho vtok do cytoplazmy, jeho odstránenie do sarkoendoplazmatického retikula, ako aj od vápnika závislú transkripciu či metabolizmus. Práve preto je jej farmakologická modulácia či inhibícia zaujímavým cieľom výskumu, najmä v kontexte nedostatku nových liečebných postupov vo vyššie uvedených závažných kardiálnych patológiách a môže predstavovať dôležitý, nový krok v ich liečbe. Cieľom tohto prehľadového článku je poskytnúť pohľad na jej pôsobenie v srdci, možnosti jej regulácie na úrovni posttranslačných modifikácií a experimentálne či klinické možnosti v budúcej terapii závažných srdcových patológií. Obr. 3, Lit. 80, on-line full text (Free, PDF) www.cardiologyletters.sk
Kľúčové slová: vápnik – CaMKII – ischemia/reperfúzia – arytmie – srdcové zlyhávanie

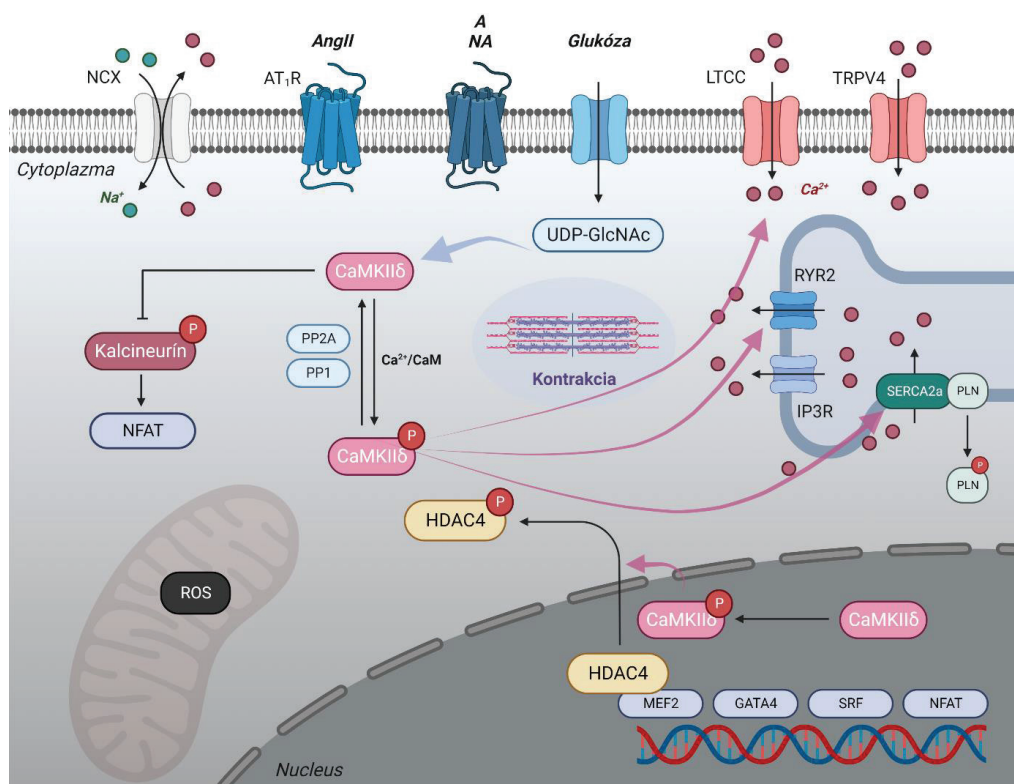
Ešte pred časom sa zdalo, že poznatky o úlohe vápnik/kalmodulín-závislej proteínkinázy 2 (CaMKII) v regulácii excitačno-kontrakčného (ECC) a excitačno-transkripčného prepojenia (ETC) v srdci dosiahli bod nasýtenia a štúdium tohto centrálného, vápnik regulujúceho mechanizmu neposkytuje ďalej veľa priestoru na posun či už k novým terapeutikám alebo klinickému využitiu. No prekvapivo sa v poslednom desaťročí zistenia o dynamike a aktivite tejto proteínkinázy zásadne rozrástli, čím odštartovali novú éru záujmu o túto kinázu, a to aj v kontexte jej terapeutického potenciálu, tentokrát už aj s prvými klinickými štúdiami pri použití malomolekulových inhibítorov (1). CaMKII sa považuje za jeden z hlavných proarytmogénnych činiteľov takmer v každom type srdcovej patológie, od akútneho ischemicko-reperfúzneho poškodenia (IRI) až po kongestívne zlyhanie srdca (SZ) (2, 3). Navyše nové asociácie medzi reguláciou kinázy pomocou novoidentifikovaných posttranslačných modifikácií (PTM) (4) a srdcovými fenotypmi, akými je strata mitochondriálnej antioxidačnej kapacity (5) či nekroptická bunková smrť (6), dodávajú dostatok nového substrátu pre ďalšie štúdium tejto „samovznietlivej“ srdcovej proteínkinázy aj s potenciálom klinickej aplikácie a príchodom nových terapeutík, ktoré sú v tejto oblasti nedostatkovým tovarom.

Úloha CaMKII vo fyziológii a patofyziológii vápnikového obratu a vplyv PTM na jej dynamiku

CaMKII má dôležitú úlohu v regulácii vápnikového obratu v mnohých tkanivách od funkcie neurónov (7) až k regulácii meiózy po oplodnení vajíčka (8), v kardiovaskulárnom systéme od pacemakerovej aktivity (9) až k endotelovej dysfunkcii (10).

Substrátmi CaMKII v srdci sú mnohé mechanizmy a proteíny, napríklad súčasti „SERCA regulátomu“, ako fosfolambán (PLN), ktorý tvorí „zátku“ SERCA2a pumpy, ryanodínové receptory 2 (RyR2), viaceré kontraktilné myofilamenty, mitochondriálne kanály či regulátory/represory transkripcie (proteínfosfatázy, transkripčné represory HDAC a iné), ktoré sa vzájomne ovplyvňujú. Regulujú rozmanité reakcie bunky od vzniku akčného potenciálu v pacemakerových bunkách až po reguláciu transkripcie, metabolizmu či bunkového cyklu (pre review pozri 11) (**obrázok 1**) (12).

Veľmi dôležitým aspektom je schopnosť CaMKII reagovať na široké spektrum podnetov, a to nie iba cez senzoring vápnikových tokov, ale aj schopnosťou integrovať rôzne posttranslačné modifikácie (PTM), ktoré sa špecificky vyskytujú pri rôznych patologických dejoch, ako napríklad glykácia pri diabete (13).



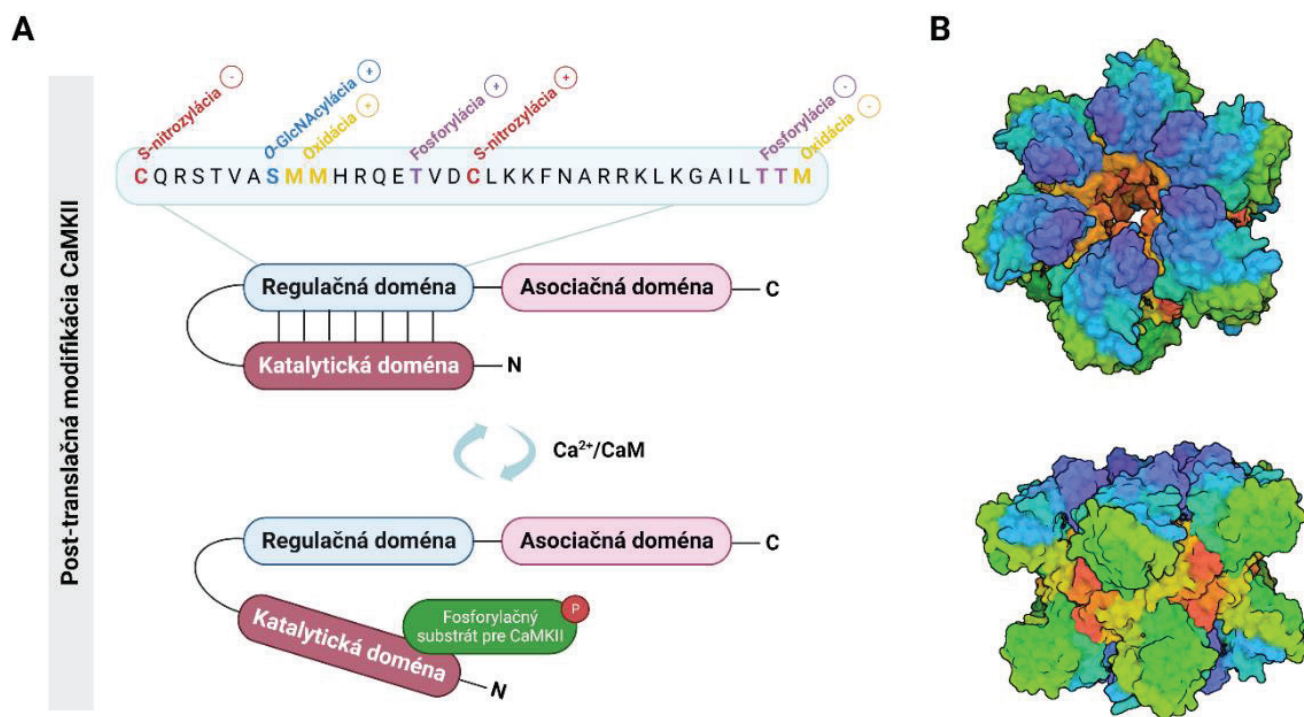
Obrázok 1 Úloha CaMKII v regulácii ECC a ETC (modifikované podľa 12)

V kontexte rôznych posttranslačných modifikácií CaMKII má fosforylácia kriticky dôležité miesto, pretože CaMKII má jedinečnú vlastnosť interdoménovej autofosforylácie medzi svojimi 8 – 14 podjednotkami usporiadanými do disku podobného tvaru, obtočenými okolo centrálného jadra (14). Celkovo boli identifikované štyri izoformy tejto kinázy (α , β , γ , δ), no izoformy γ (gama) a δ (delta) sa zatiaľ ukazujú ako hlavné kardiálne izoformy, ktoré podstupujú viaceré modifikácie od fosforylácie, O-glykozylácie N-acetylglukozamínom, oxidácie či nitrozylácie s rôznym vplyvom na dynamiku tohto enzýmu (napríklad aktivácia vs. inhibícia). Navyše, tieto izoformy a ich alternatívne „splice“ alebo štiepne varianty ovplyvňujú aj jej subcelulárnu lokalizáciu, teda jedna izoforma sa podľa špecifického „splicingu“ bude nachádzať v rôznych bunkových kompartmentoch, napríklad v cytoplazme, jadre, mitochondriách či membránovo-viazaná, čo je dôležitý experimentálny moment najmä kvôli potenciálnej možnosti jej špecifického zacielenia (15) (napríklad zachovanie kontraktility, ale zníženie patologickej transkripcie) (obrázok 2) (12).

Práve už spomínané „splice“ varianty s rôznymi preferenciami pre downstreamové substráty a bunkovú lokalizáciu sú vodidlom k schopnosti kinázy rozpoznávať či selektívne regulovať svoje substráty (16). Navyše to vyzerá, že jedna izoforma môže nahradiť inú v prípadoch kde jedna chýba, ako sa ukázalo pri dvojitej CaMKII-knockoutovej štúdii nepriaznivej remodelácie srdca u myší (17).

Fosforyláció CaMKII

Na účely tohto prehľadu sa od tohto bodu budeme zmieňovať o izoformách CaMKII, ktoré sa nachádzajú v tkanive myokardu alebo vo vhodných bunkových kultúrach. Po začiatočnej väzbe komplexu Ca^{2+} /kalmodulín (CaM) na jeho CaM-väzbové miesto stratila autoinhibičná doména svoj inhibičný účinok na regulačnú doménu a umožňuje tak jej aktiváciu a ďalšiu fosforyláciu (18). Kanonická dráha aktivácie CaMKII je sprostredkovaná fosforyláciou zvyškov Thr286 (u hlodavcov) alebo Thr287 (u človeka) na regulačnej doméne kinázy. Takáto fosforylácia umožňuje kináze, aby sa znovu a znovu fosforylovala



Obrázok 2 Štruktúra a posttranslačné modifikácie CaMKII (modifikované podľa 12)

a nadobudla pretrvávajúcu aktivitu, aj keď hladiny Ca²⁺ klesnú, v jave známom ako „zачytenie kalmodulínu“ (19). V priebehu času boli skutočne identifikované ďalšie fosforylačné miesta, ktoré môžu modulovať aktivitu kinázy. Ako priama inaktivačná signalizácia bola navrhnutá autofosforylácia zvyškov Thr305/306 (20), ale existujú protichodné pozorovania o úlohe Thr305/306 pri inaktivácii kinázy časovo nezávislým spôsobom (21). Napriek tomu boli navrhnuté inhibičné účinky takejto fosforylácie blokovaním väzby Ca²⁺/CaM a interferenciou s autofosforyláciou Thr286/287, čo vedie k zníženej aktivácii kinázy (22), hoci stále nie je známe, či k tejto modifikácii dochádza aj v srdcových alebo cievnych tkanivách, ako to bolo opísané pri neurónoch (23). Ďalšie fosforylačné miesto pre CaMKIIy na Ser26, ktoré sa spolu s autofosforyláciou Thr305/306 považuje za inhibičnú PTM zapojenú napríklad do zakončenia aortálnej kontrakcie, pretože izoforma γ sa vo všeobecnosti podieľa na regulácii kontraktility neproliferatívneho vaskulárneho hladkého svalstva (24). Poruchy homeostázy Ca²⁺ a srdcových fenotypov, ako sú arytmie, diastolická dysfunkcia a patologická srdcová remodelácia, sa v literatúre pripisujú najmä situácii, keď je CaMKII nadmerne aktivovaná

zvýšenou autofosforyláciou na Thr286/287 (25). Napriek tomu stále existujú nezrovnalosti o priamom vplyve stavu autofosforylácie na patologickú signalizáciu. Existuje niekoľko pozorovaní, ktoré nie sú v súlade s jednoduchou „teóriou nadmernej fosforylácie“, vrátane našich vlastných, v podobných patologických modeloch, akými sú srdcové zlyhanie či ischemicko-reperfúzne poškodenie, dokonca aj v klinickom prostredí (26 – 28).

Oxidácia CaMKII

Relatívne nedávno bola opísaná aj oxidačná aktivácia CaMKII v srdci, čo vzhľadom na to, že oxidačný stres je súčasťou ischemicko-reperfúzneho poškodenia, či iných patológií, poskytuje väčší priestor na ovplyvnenie jej dynamiky. Experimentálne sa zistilo, že po stimulácii H₂O₂ či oxidácii závislej od angiotenzínu II (AngII) došlo k aktivácii kinázy nezávislej od Ca²⁺ prostredníctvom oxidácie aminokyselín Met281/282 alebo Met308 (oxCaMKII) (29, 30). Navyše, na viacerých zvieracích modeloch s rôznymi fenotypmi srdcového poškodenia boli detegované uvedené modifikácie oxidovanej CaMKII, ktoré viedli napríklad k zvýšenej arytmogénne, remodelácii či bunkovej smrti (31, 32). Okrem toho Song et al. (33)

naznačili, že uľahčenie od oxidácie závislého otvárania LTCC môže byť sprostredkované práve oxidatívnou aktiváciou CaMKII v komorových myocytoch potkanov. Existuje tiež navrhnutá súvislosť medzi oxidačnou aktiváciou CaMKII a negatívnou odpoveďou myofilamentov po zvýšenej stimulácii Ca^{2+} v kardiomyocytoch potkanov (34). Jestvuje však aj rozpor medzi experimentálnymi a klinickými pozorovaniami, pretože napríklad v ľudskom SZ NYHAIII-IV s rôznou etiológiou nebola v našich experimentoch pozorovaná zvýšená oxidácia na Met281/282 CaMKII (28). To však môže vysvetľovať už uvedená oxidácia na Met308, keďže tá sa javí ako dôležitý redoxný senzor dynamicky ovplyvňujúci aktivitu kinázy cez metionínovú monooxygenázu MICAL1 (32). Navyše sa zdá, že oxidačný stav CaMKII je úzko prepojený s O-glykozylnáciou N-acetylglukóзамínom (O-GlcNAc) v podmienkach zvýšenej glykémie (35).

CaMKII a modifikácia O-glykozylnáciou N-acetylglukóзамínom

O-glykozylnáciou N-acetylglukóзамínom (O-GlcNAcylnácia) sa CaMKII prvýkrát pozorovala pri diabetickej hyperglykémii (13). Autori opisali nové potenciálne miesta pre O-GlcNAcylnáciu na Ser279/280, ktoré v podmienkach s vyššou glykémiou a zvýšeným Ca^{2+} aktivovali kinázu spôsobom kanonickej fosforylnácie na Thr286/287 a významne zvýšili autonómnú aktiváciu v potkaních kardiomyocytoch. Je zaujímavé, že autori zistili zvýšené hladiny O-GlcNAc-modifikovaného CaMKII aj v ľudských zlyhávajúcich srdciach s diabetom oproti nediabetickým zlyhávajúcim srdciam. Takéto zmeny naznačujú, že vystavenie hyperglykémii spojené s poruchami regulácie vápnika môže prispieť k patologickej aktivácii CaMKII, ktorá vedie až k remodelácii (36). Navyše, aj ďalšie práce potvrdili, že takáto modifikácia v podmienkach zvýšenej glykémie napríklad pri diabetickej hyperglykémii vedie k zvýšenej produkcii reaktívnych foriem kyslíka (ROS) a zvýšenému výskytu arytmií (32, 35, 37). Teda je zrejmé, že CaMKII pôsobí nielen ako senzor vápnika, ale prepája viaceré dráhy spojené s hyperglykémiou v podmienkach zvýšeného oxidačného stresu, čo má dôležitý význam pre mnohé ochorenia vrátane metabolických komorbidít.

Nitrozylácia CaMKII

Okrem oxidácie bola detegovaná aj od NO-závislá nitrozylácia CaMKII izoformy CaMKII α (38). Pretože táto

aktivácia sa javí byť závislá od modifikácie zvyškov Cys280 aj Cys289. Práca (39) ukázala, že po β -adrenergnej stimulácii došlo k zvýšeniu NO-dependentnej aktivácie CaMKII nezávislej od Ca^{2+} . Tieto výsledky ďalej rozvinul tím od prof. Bersa, ktorí však postuloval, že NO-závislá nitrozylácia pre aktiváciu komplexom Ca^{2+} /CaM naopak výrazne inhibuje aktivitu kinázy a teda nitrozylácia môže plniť duálnu úlohu a kinázu tak aktivovať, ako aj inhibovať v závislosti od jej kanonickej aktivácie komplexom vápnik/kalmodulín (40). Táto modifikácia CaMKII je zatiaľ najmenej prebádanou v kontexte patofyziologických konzekvencií a teda bude nevyhnutné jej úlohu ešte dôkladne objasniť.

CaMKII v kardiovaskulárnych patológiách

Ischemicko-reperfúzne poškodenie a infarkt myokardu

Jedným z dôležitých patomechanizmov a kardiálnych patológií, do ktorých je CaMKII zahrnutá, patrí aj ischemicko-reperfúzne poškodenie a rozsah poškodenia pri infarkte myokardu (IM) (41 – 43). Je známe, že poškodenie pri IRI je v kritickej miere ovplyvnené vápnikovým preťažením, ako kompenzačného mechanizmu odčerpávania nahromadeného intracelulárneho sodíka s implikáciami na mnohých bunkových úrovniach. Od aktivácie od vápnika závislých štiepiacich enzýmov a iniciácie kaskád bunkovej smrti (napríklad kalpaíny, kaspázy atď.) (44, 45), cez preťaženie mitochondrií s následnou nadprodukciou ROS (46), až po vápnikové oscilácie na úrovni kontraktilného aparátu vedúce k hyperkontrakture (47). Vo všetkých týchto procesoch bola účasť CaMKII potvrdená, od účasti na vzniku arytmií (48, 49), regulácii apoptózy či nekroptózy (6, 50), zápale (51), ako aj celkovom rozsahu infarktu myokardu (52). Farmakologická inhibícia CaMKII dokázala tieto fenotypy oslabovať a limitovať rozsah poškodenia v IRI a infarkte (41, 53, 54). Na druhej strane, práve celková neselektívna inhibícia CaMKII sa práve v dôsledku jej zapojenia do mnohých bunkových procesov neukazuje ako vhodný scenár vzhľadom na to, že sa ukázalo, že zachovanie aktivity špecifických splice variantov viedlo k zlepšeniu kardioprotekcie (55). Práve preto má zmysel zaoberať sa v budúcnosti selektívnym ovplyvnením tých „splice“ variantov, ktoré nie sú asociované s kardioprotekciou.

Arytmie a náhla srdcová zástava

Významnou súčasťou pôsobenia kinázy je jej funkcia ako dôležitého proarytmogénneho faktora, ktorý je zodpovedný za výskyt arytmií, napríklad atriálnych fibrilácií či sínusovej dysfunkcie, a to aj v rámci pridruženia k patológiám akými je chronické SZ (56, 57). No atriálne fibrilácie či sínusová dysfunkcia nie sú jedinými typmi arytmií, s ktorými je aktivita CaMKII asociovaná. Jej účasť bola navrhnutá aj v závažných typoch komorových arytmií, akými sú napríklad CPVT (58), syndróm dlhého QT intervalu (59) a aj v niektorých vrodených ochoreniach, ako napríklad Timothyho syndróm (60). Navyše jeden z kritických mechanizmov, ktorý sprostredkúva práve CaMKII, a to hyperfosforyláciu RyR2 receptorov, zdieľajú aj mnohé ďalšie závažné patológie, ako napríklad kardioglykozidová toxicita (61) či alkoholová kardiomyopatia (62). To napokon potvrdzujú aj viaceré experimentálne štúdie, ktoré ukazujú, že inhibícia CaMKII vedie k redukcii či ablácii týchto fenotypov a práve arytmie sú „ochorením voľby“ pre klinické skúšanie inhibítorov CaMKII.

Chronické srdcové zlyhávanie

Samostatnou kapitolou v kontexte funkcií CaMKII je jej zapojenie do chronického SZ. Ako už bolo uvedené CaMKII nepôsobí iba na procesy ECC, ale aj na transkripciu čo je práve dôležitým podkladom pre jej aso-

ciáciu s procesmi patologickej remodelácie a hypertrofie. Medzi mechanizmy, ktoré pôsobia na tieto kaskády, patrí napríklad aktivácia jadrovej izoformy CaMKII δ B a jej asociácia s proteínfosfatázami 2A či kalcineurínom (63, 64), alebo s represormi transkripcie, ako napríklad histónovou deacetylázou 4 (65), vďaka čomu dochádza k expresii génov (napríklad MEF2) podporujúcich hypertrofiu a remodeláciu či zápal cez moduláciu signalizácie spojennej s NF- κ B (3). Účasť kinázy v procesoch zapojených do rozvoja či klinickej situácie chronického SZ bola dokumentovaná vo viacerých štúdiách zahŕňajúcich rôzne modely spontánne hypertenzných potkanov, cez SZ na podklade IM až po genetické modely zahŕňajúce nadexpresiu cytoplazmatických i jadrových foriem CaMKII (64, 66).

Farmakologické možnosti ovplyvnenia CaMKII

Stručný prehľad potenciálnych farmakoterapeutických prístupov pre moduláciu aktivity CaMKII je na obrázku 3 (12).

Malomolekulové inhibítory CaMKII

Jeden z historicky najviac študovaných inhibítorov CaMKII je látka KN-93. V minulosti sa popisovala ako

Modulácia CaMKII			
Malé molekuly	Peptidy	Antisense oligonukleotid	Nepriame modulátory
Výhody	Výhody	Výhody	Výhody
- Rýchlosť nástupu účinku - Biodostupnosť	Špecifické pre CaMKII	- Špecifická pre izoformy CaMKII - Dlhý plazmatický polčas	Eliminácia off-target efektov
Nevýhody	Nevýhody	Nevýhody	Nevýhody
- Inhibícia extrakardiálnej CaMKII - Znížená kinázová špecifita	Zhoršená biologická dostupnosť	Pomalý nástup účinku	Pravdepodobne nekompletná blokáda CaMKII
KN-93 GS-680 SMP-114 NP202	CN21 CN19o AAV9		

Obrázok 3 Prehľad experimentálnych inhibítorov a modulátorov aktivity CaMKII (modifikované podľa 12)

inhibitor katalytickej domény CaMKII (67), no podľa najnovších výskumov môže byť v skutočnosti antagonistom kalmodulínu (teda nezabraňuje nadmernej autofosforylácii kinázy), čo v kombinácii s jej pomerne nízkou inhibičnou koncentráciou ($IC_{50} > 1 \mu M$) nezakladá na jej využitie v klinickej praxi (68). Navyše sa ukazuje, že KN-93 má aj pomerne veľa tzv. „off-target“ efektov, vrátane napätovo-závislých K^+ kanálov (69) či L-typu vápnikových kanálov v srdci (70). Napriek tomu KN-93 poslužil pri štúdiu CaMKII-závislej signalizácie v najrôznejších kardiálnych modeloch od IR poškodenia a arytmií (49, 71), srdcového zlyhávania (72) a v mnohých patologických dejoch vrátane bunkovej smrti (73), zápalu (74) či remodelácii (72) a patrí medzi dôležité nástroje štúdia vápnikového obratu. Treba aj zdôrazniť, že v ostatnom čase sa objavujú nové publikácie, ktoré navyše hovoria o významných nežiaducich účinkoch KN-93 (75) a teda je zrejme, že napriek svojej užitočnosti v kontexte základného výskumu, nebude vhodným kandidátom pre transláciu do klinického skúšania.

Odvtedy bolo vyvinutých viacero malomolekulových inhibitorov s IC_{50} v rádoch nanomolov a vyššou selektivitou voči δ izoforme, napríklad GS680 (76) či RA608 (77), ktoré vo viacerých experimentálnych modeloch srdcového poškodenia vykazovali benefičné účinky na srdcovú funkciu, avšak zatiaľ neboli zaradené do klinického skúšania. Napriek tomu však nie je vylúčené, že niektorá z nich, respektíve ich derivátov sa v budúcnosti do klinického skúšania dostanú.

Doposiaľ „najúspešnejším“ selektívnym inhibítorom CaMKII δ je látka prírodného pôvodu NP202, ktorá sa dostala do klinického skúšania na prevenciu post-infarktovej patologickej remodelácie s ľavokomorovou dysfunkciou (78), avšak ani táto molekula napokon nebola úspešná, pravdepodobne kvôli jej relatívne nízkej potencii ($IC_{50} > 250 \text{ nM}$).

No napriek iniciálnym klinickým neúspechom doposiaľ popísaných malomolekulových inhibitorov CaMKII je zrejme, že táto skupina látok poskytuje veľký terapeutický potenciál do budúcnosti či už ako nové antiarytmiká alebo liečivá v terapii závažných KVS ochorení, ktoré sú už tak veľmi potrebné a je pravdepodobné, že napokon sa niektoré z nich, alebo ich modifikácií, môžu objaviť na trhu a vytvoriť tak novú skupinu liečiv zasahujúcich priamo do vnútrobunkového vápnikového obratu cez CaMKII (12).

Peptidy a nukleotidy

Ďalšou, do budúcnosti zaujímavou skupinou látok inhibujúcich CaMKII predstavujú peptidové inhibitory, ktoré sú oproti malomolekulovým inhibítorom značne účinnejšie. Napriek tomu, že doposiaľ sa využívali najmä ako experimentálne nástroje, poskytujú niektoré výhody, ako napríklad možnosti selektívneho zacielenia srdcového tkaniva cez kardiálne virálne vektory a promótory a možnosti širšej inhibície, nielen autofosforylačného zvyšku, ale aj oxidovaného zvyšku na katalytickej doméne CaMKII ai. a teda širší terapeutický potenciál vo všeobecnosti. Medzi takéto substrátové inhibitory patria napríklad študované peptidy autocalmitide-2-related inhibitory peptide (AIP) (58), či AC3-I (41), ktoré môžu do budúcnosti predstavovať zaujímavú génovú alternatívu klasickej terapie, aj napriek aktuálnym ťažkostiam s týmto typom liečiv.

Poslednou zo skupín látok, potenciálne zaujímavých na ovplyvnenie aktivity CaMKII, patria antisense (protismerné) oligonukleotidy, ktoré interferujú s DNA alebo RNA (79) a v ostatnom období sa objavili aj reálne štúdie, ktoré využili takéto látky v modeli post-infarktových arytmií (80). Výhodou takýchto látok môže byť selektivita nielen proti hlavným izoformám CaMKII, ale aj proti jednotlivým splice variantom, čo predstavuje selektivitu na úrovni, ktorá doposiaľ nebola dosiahnuteľná.

Záver

Napriek stále sa rozširujúcim terapeutickým možnostiam v liečbe závažných kardiovaskulárných ochorení, zostáva práve farmakoterapeutická zložka liečby tým slabším článkom, preto je hľadanie nových cieľov a možností farmakoterapie kritickým elementom. Práve regulácia vápnikovej homeostázy a metabolizmu ponúka množstvo výskumných a klinických cieľov vrátane ovplyvnenia CaMKII. Tá je dôležitým regulátorom obratu vápnika v kardiomyocytoch a vlastností, ako vodivosti, kontraktilnej funkcie či transkripcie a remodelácie vo fyziológii a patofyziológii srdca. Vzhľadom na rozmanitý regulačný charakter tejto kinázy a aktuálne dostupné moderné metódy jej ovplyvnenia, prinášajú so sebou aj nádej, že v blízkej budúcnosti by sa mohli objaviť nové terapeutiká, ktoré by rozšírili dnešné farmakoterapeutické možnosti liečby závažných KVS ochorení, tak akútneho,

ako aj chronického charakteru, a zlepšili tak vyhliadky na predĺženie a zlepšenie kvality života pacientov trpiacich týmito ochoreniami.

PodĎakovanie

Autor by chcel poďakovať za finančnú podporu Vedeckej grantovej agentúry – VEGA 1/0775/21.

Grantová podpora: Vedecká grantová agentúra – VEGA 1/0775/21

Konflikt záujmov

Autor nemá žiadny konflikt záujmov.

Literatúra

- Pellicena P, Schulman H. CaMKII inhibitors: from research tools to therapeutic agents. *Front Pharmacol*. 2014;5:21.
- Zhang M, Zhang J, Zhang W, Hu Q, Jin L, Xie P, et al. CaMKII-delta9 Induces Cardiomyocyte Death to Promote Cardiomyopathy and Heart Failure. *Front Cardiovasc Med*. 2021;8:820416.
- Singh MV, Swaminathan PD, Luczak ED, Kutschke W, Weiss RM, Anderson ME. MyD88 mediated inflammatory signaling leads to CaMKII oxidation, cardiac hypertrophy and death after myocardial infarction. *J Mol Cell Cardiol*. 2012;52(5):1135-44.
- Erickson JR. Mechanisms of CaMKII Activation in the Heart. *Front Pharmacol*. 2014;5:59.
- Fazal L, Laudette M, Paula-Gomes S, Pons S, Conte C, Tortosa F, et al. Multifunctional Mitochondrial Epac1 Controls Myocardial Cell Death. *Circ Res*. 2017;120(4):645-57.
- Zhang T, Zhang Y, Cui M, Jin L, Wang Y, Lv F, et al. CaMKII is a RIP3 substrate mediating ischemia- and oxidative stress-induced myocardial necroptosis. *Nat Med*. 2016;22(2):175-82.
- Tao W, Lee J, Chen X, Diaz-Alonso J, Zhou J, Pleasure S, et al. Synaptic memory requires CaMKII. *Elife*. 2021;10.
- Hansen DV, Tung JJ, Jackson PK. CaMKII and polo-like kinase 1 sequentially phosphorylate the cytostatic factor Emi2/XErp1 to trigger its destruction and meiotic exit. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(3):608-13.
- Li Y, Sirenko S, Riordon DR, Yang D, Spurgeon H, Lakatta EG, et al. CaMKII-dependent phosphorylation regulates basal cardiac pacemaker function via modulation of local Ca²⁺ releases. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2016;311(3):H532-44.
- Borbiev T, Verin AD, Birukova A, Liu F, Crow MT, Garcia JG. Role of CaM kinase II and ERK activation in thrombin-induced endothelial cell barrier dysfunction. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2003;285(1):L43-54.
- Mattiazzi A, Bassani RA, Escobar AL, Palomeque J, Valverde CA, Vila Petroff M, et al. Chasing cardiac physiology and pathology down the CaMKII cascade. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2015;308(10):H1177-91.
- Reyes Gaido OE, Nkashama LJ, Schole KL, Wang Q, Umaphathi P, Mesubi OO, et al. CaMKII as a Therapeutic Target in Cardiovascular Disease. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2023;63:249-72.
- Erickson JR, Pereira L, Wang L, Han G, Ferguson A, Dao K, et al. Diabetic hyperglycaemia activates CaMKII and arrhythmias by O-linked glycosylation. *Nature*. 2013;502(7471):372-6.
- Sarkar P, Davis KA, Puhl HL, 3rd, Veetil JV, Nguyen TA, Vogel SS. Deciphering CaMKII Multimerization Using Fluorescence Correlation Spectroscopy and Homo-FRET Analysis. *Biophys J*. 2017;112(6):1270-81.
- Sloutsky R, Stratton MM. Functional implications of CaMKII alternative splicing. *Eur J Neurosci*. 2021;54(8):6780-94.
- Bell JR, Raaijmakers AJ, Curl CL, Reichelt ME, Harding TW, Bei A, et al. Cardiac CaMKIIdelta splice variants exhibit target signaling specificity and confer sex-selective arrhythmogenic actions in the ischemic-reperfused heart. *Int J Cardiol*. 2015;181:288-96.
- Kreusser MM, Lehmann LH, Keranov S, Hoting MO, Oehl U, Kohlhaas M, et al. Cardiac CaM Kinase II genes delta and gamma contribute to adverse remodeling but redundantly inhibit calcineurin-induced myocardial hypertrophy. *Circulation*. 2014;130(15):1262-73.
- Hudmon A, Schulman H. Structure-function of the multifunctional Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II. *Biochem J*. 2002;364(Pt 3):593-611.
- Meyer T, Hanson PI, Stryer L, Schulman H. Calmodulin trapping by calcium-calmodulin-dependent protein kinase. *Science*. 1992;256(5060):1199-202.
- Colbran RJ. Inactivation of Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II by basal autophosphorylation. *J Biol Chem*. 1993;268(10):7163-70.
- Jama AM, Fenton J, Robertson SD, Torok K. Time-dependent autoinactivation of phospho-Thr286-alphaCa²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II. *J Biol Chem*. 2009;284(41):28146-55.
- Munevar S, Gangopadhyay SS, Gallant C, Colombo B, Sellke FW, Morgan KG. CaMKII α 287 and T305 regulate history-dependent increases in alpha agonist-induced vascular tone. *J Cell Mol Med*. 2008;12(1):219-26.
- Yilmaz M, Gangopadhyay SS, Leavis P, Grabarek Z, Morgan KG. Phosphorylation at Ser(2)(6) in the ATP-binding site of Ca(2+)-calmodulin-dependent kinase II as a mechanism for switching off the kinase activity. *Biosci Rep*. 2013;33(2).
- Kim I, Je HD, Gallant C, Zhan Q, Riper DV, Badwey JA, et al. Ca²⁺-calmodulin-dependent protein kinase II-dependent activation of contractility in ferret aorta. *J Physiol*. 2000;526 Pt 2(Pt 2):367-74.
- Anderson ME, Brown JH, Bers DM. CaMKII in myocardial hypertrophy and heart failure. *J Mol Cell Cardiol*. 2011;51(4):468-73.
- Kirchhefer U, Schmitz W, Scholz H, Neumann J. Activity of cAMP-dependent protein kinase and Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase in failing and nonfailing human hearts. *Cardiovasc Res*. 1999;42(1):254-61.
- Fischer TH, Eiringhaus J, Dybkova N, Forster A, Herting J, Kleinwachter A, et al. Ca(2+)/calmodulin-dependent protein kinase II equally induces sarcoplasmic reticulum Ca(2+) leak in human ischaemic and dilated cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail*. 2014;16(12):1292-300.
- Rajtik T, Goncalvesova E, Varga ZV, Leszek P, Kusmierczyk M, Hulman M, et al. Posttranslational modifications of calcium/

- calmodulin-dependent protein kinase II δ and its downstream signaling in human failing hearts. *Am J Transl Res*. 2017;9(8):3573-85.
29. Erickson JR, Joiner ML, Guan X, Kutschke W, Yang J, Oddis CV, et al. A dynamic pathway for calcium-independent activation of CaMKII by methionine oxidation. *Cell*. 2008;133(3):462-74.
 30. Anderson ME. Pathways for CaMKII activation in disease. *Heart Rhythm*. 2011;8(9):1501-3.
 31. Palomeque J, Rueda OV, Sapia L, Valverde CA, Salas M, Petroff MV, et al. Angiotensin II-induced oxidative stress resets the Ca²⁺ dependence of Ca²⁺-calmodulin protein kinase II and promotes a death pathway conserved across different species. *Circ Res*. 2009;105(12):1204-12.
 32. Konstantinidis K, Bezzerides VJ, Lai L, Isbell HM, Wei AC, Wu Y, et al. MICAL1 constrains cardiac stress responses and protects against disease by oxidizing CaMKII. *J Clin Invest*. 2020;130(9):4663-78.
 33. Song YH, Cho H, Ryu SY, Yoon JY, Park SH, Noh CI, et al. L-type Ca(2+) channel facilitation mediated by H₂O₂-induced activation of CaMKII in rat ventricular myocytes. *J Mol Cell Cardiol*. 2010;48(4):773-80.
 34. Espejo MS, Aiello I, Sepulveda M, Vila Petroff MG, Aiello EA, De Giusti VC. The reduced myofilament responsiveness to calcium contributes to the negative force-frequency relationship in rat cardiomyocytes: role of reactive oxygen species and p-38 map kinase. *Pflugers Arch*. 2017;469(12):1663-73.
 35. Lu S, Liao Z, Lu X, Katschinski DM, Mercola M, Chen J, et al. Hyperglycemia Acutely Increases Cytosolic Reactive Oxygen Species via O-linked GlcNAcylation and CaMKII Activation in Mouse Ventricular Myocytes. *Circ Res*. 2020;126(10):e80-e96.
 36. Federico M, Portiansky EL, Sommese L, Alvarado FJ, Blanco PG, Zanuzzi CN, et al. Calcium-calmodulin-dependent protein kinase mediates the intracellular signalling pathways of cardiac apoptosis in mice with impaired glucose tolerance. *J Physiol*. 2017;595(12):4089-108.
 37. Hegyi B, Fasoli A, Ko CY, Van BW, Alim CC, Shen EY, et al. CaMKII Serine 280 O-GlcNAcylation Links Diabetic Hyperglycemia to Proarrhythmia. *Circ Res*. 2021;129(1):98-113.
 38. Coultrap SJ, Bayer KU. Nitric oxide induces Ca²⁺-independent activity of the Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II (CaMKII). *J Biol Chem*. 2014;289(28):19458-65.
 39. Gutierrez DA, Fernandez-Tenorio M, Ogrodnik J, Niggli E. NO-dependent CaMKII activation during beta-adrenergic stimulation of cardiac muscle. *Cardiovasc Res*. 2013;100(3):392-401.
 40. Erickson JR, Nichols CB, Uchinoumi H, Stein ML, Bossuyt J, Bers DM. S-Nitrosylation Induces Both Autonomous Activation and Inhibition of Calcium/Calmodulin-dependent Protein Kinase II δ . *J Biol Chem*. 2015;290(42):25646-56.
 41. Meng Y, Ding P, Wang H, Yang X, Wang Z, Nie D, et al. Ca(2+)/calmodulin-dependent protein kinase II inhibition reduces myocardial fatty acid uptake and oxidation after myocardial infarction. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*. 2022;1867(6):159120.
 42. Wang J, Cheng X, Zhao H, Yang Q, Xu Z. Downregulation of the zinc transporter SLC39A13 (ZIP13) is responsible for the activation of CaMKII at reperfusion and leads to myocardial ischemia/reperfusion injury in mouse hearts. *J Mol Cell Cardiol*. 2021;152:69-79.
 43. Yao Y, Li F, Zhang M, Jin L, Xie P, Liu D, et al. Targeting CaMKII- δ 9 Ameliorates Cardiac Ischemia/Reperfusion Injury by Inhibiting Myocardial Inflammation. *Circ Res*. 2022;130(6):887-903.
 44. Neuhof C, Neuhof H. Calpain system and its involvement in myocardial ischemia and reperfusion injury. *World J Cardiol*. 2014;6(7):638-52.
 45. Toldo S, Mauro AG, Cutter Z, Abbate A. Inflammasome, pyroptosis, and cytokines in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2018;315(6):H1553-H68.
 46. Bugger H, Pfeil K. Mitochondrial ROS in myocardial ischemia reperfusion and remodeling. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2020;1866(7):165768.
 47. Pittas K, Vrachatis DA, Angelidis C, Tsoucalas S, Giannopoulos G, Deftereos S. The Role of Calcium Handling Mechanisms in Reperfusion Injury. *Curr Pharm Des*. 2018;24(34):4077-89.
 48. Hegyi B, Polonen RP, Hellgren KT, Ko CY, Ginsburg KS, Bossuyt J, et al. Cardiomyocyte Na(+) and Ca(2+) mishandling drives vicious cycle involving CaMKII, ROS, and ryanodine receptors. *Basic Res Cardiol*. 2021;116(1):58.
 49. Adameova A, Carnicka S, Rajtik T, Szobi A, Nemcekova M, Svec P, et al. Upregulation of CaMKII δ during ischaemia-reperfusion is associated with reperfusion-induced arrhythmias and mechanical dysfunction of the rat heart: involvement of sarcolemmal Ca²⁺-cycling proteins. *Can J Physiol Pharmacol*. 2012;90(8):1127-34.
 50. Szobi A, Rajtik T, Carnicka S, Ravingerova T, Adameova A. Mitigation of postischemic cardiac contractile dysfunction by CaMKII inhibition: effects on programmed necrotic and apoptotic cell death. *Mol Cell Biochem*. 2014;388(1-2):269-76.
 51. Suetomi T, Willeford A, Brand CS, Cho Y, Ross RS, Miyamoto S, et al. Inflammation and NLRP3 Inflammasome Activation Initiated in Response to Pressure Overload by Ca(2+)/Calmodulin-Dependent Protein Kinase II δ Signaling in Cardiomyocytes Are Essential for Adverse Cardiac Remodeling. *Circulation*. 2018;138(22):2530-44.
 52. Hund TJ, Decker KF, Kanter E, Mohler PJ, Boyden PA, Schuessler RB, et al. Role of activated CaMKII in abnormal calcium homeostasis and I(Na) remodeling after myocardial infarction: insights from mathematical modeling. *J Mol Cell Cardiol*. 2008;45(3):420-8.
 53. Kompa AR, Khong FL, Zhang Y, Nguyen C, Edgley AJ, Woodman OL, et al. NP202 treatment improves left ventricular systolic function and attenuates pathological remodelling following chronic myocardial infarction. *Life Sci*. 2022;289:120220.
 54. Tao B, Liu Z, Wei F, Fan S, Cui S, Xia H, et al. Over-expression of Kv4.3 gene reverses cardiac remodeling and transient-outward K(+) current (I_{to}) reduction via CaMKII inhibition in myocardial infarction. *Biomed Pharmacother*. 2020;132:110896.
 55. Gray CB, Suetomi T, Xiang S, Mishra S, Blackwood EA, Glembotski CC, et al. CaMKII δ subtypes differentially regulate infarct formation following ex vivo myocardial ischemia/reperfusion through NF- κ B and TNF- α . *J Mol Cell Cardiol*. 2017;103:48-55.
 56. Grueter CE, Colbran RJ, Anderson ME. CaMKII, an emerging molecular driver for calcium homeostasis, arrhythmias, and cardiac dysfunction. *J Mol Med (Berl)*. 2007;85(1):5-14.
 57. Hund TJ, Mohler PJ. Role of CaMKII in cardiac arrhythmias. *Trends Cardiovasc Med*. 2015;25(5):392-7.

58. Bezzerides VJ, Caballero A, Wang S, Ai Y, Hyland RJ, Lu F, et al. Gene Therapy for Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia by Inhibition of Ca²⁺/Calmodulin-Dependent Kinase II. *Circulation*. 2019;140(5):405-19.
59. Belardinelli L, Giles WR, Rajamani S, Karagueuzian HS, Shryock JC. Cardiac late Na⁺ current: proarrhythmic effects, roles in long QT syndromes, and pathological relationship to CaMKII and oxidative stress. *Heart Rhythm*. 2015;12(2):440-8.
60. Thiel WH, Chen B, Hund TJ, Koval OM, Purohit A, Song LS, et al. Proarrhythmic defects in Timothy syndrome require calmodulin kinase II. *Circulation*. 2008;118(22):2225-34.
61. Ho HT, Liu B, Snyder JS, Lou Q, Brundage EA, Velez-Cortes F, et al. Ryanodine receptor phosphorylation by oxidized CaMKII contributes to the cardiotoxic effects of cardiac glycosides. *Cardiovasc Res*. 2014;101(1):165-74.
62. Hu Q, Chen H, Shen C, Zhang B, Weng X, Sun X, et al. Impact and potential mechanism of effects of chronic moderate alcohol consumption on cardiac function in aldehyde dehydrogenase 2 gene heterozygous mice. *Alcohol Clin Exp Res*. 2022;46(5):707-23.
63. Khoo MS, Li J, Singh MV, Yang Y, Kannankeril P, Wu Y, et al. Death, cardiac dysfunction, and arrhythmias are increased by calmodulin kinase II in calcineurin cardiomyopathy. *Circulation*. 2006;114(13):1352-9.
64. Zhang T, Johnson EN, Gu Y, Morissette MR, Sah VP, Gigena MS, et al. 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. *J Biol Chem*. 2002;277(2):1261-7.
65. Backs J, Song K, Bezprozvannaya S, Chang S, Olson EN. CaM kinase II selectively signals to histone deacetylase 4 during cardiomyocyte hypertrophy. *J Clin Invest*. 2006;116(7):1853-64.
66. Zhang T, Maier LS, Dalton ND, Miyamoto S, Ross J, Jr., Bers DM, et al. The deltaC isoform of CaMKII is activated in cardiac hypertrophy and induces dilated cardiomyopathy and heart failure. *Circ Res*. 2003;92(8):912-9.
67. Sumi M, Kiuchi K, Ishikawa T, Ishii A, Hagiwara M, Nagatsu T, et al. The newly synthesized selective Ca²⁺/calmodulin dependent protein kinase II inhibitor KN-93 reduces dopamine contents in PC12h cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 1991;181(3):968-75.
68. Wong MH, Samal AB, Lee M, Vlach J, Novikov N, Niedziela-Majka A, et al. The KN-93 Molecule Inhibits Calcium/Calmodulin-Dependent Protein Kinase II (CaMKII) Activity by Binding to Ca²⁺/CaM. *J Mol Biol*. 2019;431(7):1440-59.
69. Ledoux J, Chartier D, Leblanc N. Inhibitors of calmodulin-dependent protein kinase are nonspecific blockers of voltage-dependent K⁺ channels in vascular myocytes. *J Pharmacol Exp Ther*. 1999;290(3):1165-74.
70. Rezazadeh S, Claydon TW, Fedida D. KN-93 (2-[N-(2-hydroxyethyl)]-N-(4-methoxybenzenesulfonyl)] amino-N-(4-chlorocinnamyl)-N-methylbenzylamine), a calcium/calmodulin-dependent protein kinase II inhibitor, is a direct extracellular blocker of voltage-gated potassium channels. *J Pharmacol Exp Ther*. 2006;317(1):292-9.
71. Kong LH, Gu XM, Wu F, Jin ZX, Zhou JJ. CaMKII inhibition mitigates ischemia/reperfusion-elicited calpain activation and the damage to membrane skeleton proteins in isolated rat hearts. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017;491(3):687-92.
72. Liu Y, Shao Q, Cheng HJ, Li T, Zhang X, Callahan MF, et al. Chronic Ca²⁺/Calmodulin-Dependent Protein Kinase II Inhibition Rescues Advanced Heart Failure. *J Pharmacol Exp Ther*. 2021;377(3):316-25.
73. Vila-Petroff M, Salas MA, Said M, Valverde CA, Sapia L, Portiansky E, et al. CaMKII inhibition protects against necrosis and apoptosis in irreversible ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res*. 2007;73(4):689-98.
74. Li GZ, Hu YH, Lu YN, Yang QY, Fu D, Chen F, et al. CaMKII and Ca_v3.2 T-type calcium channel mediate Connexin-43-dependent inflammation by activating astrocytes in vincristine-induced neuropathic pain. *Cell Biol Toxicol*. 2021.
75. Ni Y, Deng J, Bai H, Liu C, Liu X, Wang X. CaMKII inhibitor KN-93 impaired angiogenesis and aggravated cardiac remodeling and heart failure via inhibiting NOX2/mtROS/p-VEGFR2 and STAT3 pathways. *J Cell Mol Med*. 2022;26(2):312-25.
76. Lebek S, Plossl A, Baier M, Mustroph J, Tarnowski D, Lucht CM, et al. The novel CaMKII inhibitor GS-680 reduces diastolic SR Ca leak and prevents CaMKII-dependent pro-arrhythmic activity. *J Mol Cell Cardiol*. 2018;118:159-68.
77. Mustroph J, Drzymalski M, Baier M, Pabel S, Biedermann A, Memmel B, et al. The oral Ca/calmodulin-dependent kinase II inhibitor RA608 improves contractile function and prevents arrhythmias in heart failure. *ESC Heart Fail*. 2020;7(5):2871-83.
78. Boyle AJ, Schultz C, Selvanayagam JB, Moir S, Kovacs R, Dib N, et al. Calcium/Calmodulin-Dependent Protein Kinase II Delta Inhibition and Ventricular Remodeling After Myocardial Infarction: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Cardiol*. 2021;6(7):762-8.
79. Nassal D, Gratz D, Hund TJ. Challenges and Opportunities for Therapeutic Targeting of Calmodulin Kinase II in Heart. *Front Pharmacol*. 2020;11:35.
80. Yeh T-yT, Yeap XY, Mullick AE. Abstract 438: Downregulation of Ca²⁺/calmodulin-dependent Protein Kinase Type II Delta in the Heart by Antisense Oligonucleotides Mitigates Development of Post-infarct Ventricular Arrhythmias. *Circulation Research*. 2020;127(Suppl_1):A438-A.