

©Borgis

\*Monika Duda

# Kardiolipina w chorobach układu sercowo-naczyniowego

## Cardiolipin in cardiovascular disease

Zakład Fizjologii Klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa  
Kierownik Zakładu: dr hab. med. Michał Mączewski

### Słowa kluczowe

kardiolipina, niedokrwienie i reperfuzja, niewydolność serca, zespół Bartha, starość

### Key words

cardiolipin, ischemic and reperfusion, heart failure, Barth syndrome, aging

### Konflikt interesów Conflict of interest

Brak konfliktu interesów  
None

### Adres/address:

\*Monika Duda  
Zakład Fizjologii Klinicznej CMKP  
ul. Marymoncka 99/103, 01-813 Warszawa  
tel. +48 (22) 569-38-40  
monika.duda@cmkp.edu.pl

### WSTĘP

Kardiolipina (CL) należy do grupy fosfolipidów i swoją nazwę zawdzięcza miejscu, gdzie po raz pierwszy została opisana – mięsień sercowy wołu (1). CL posiada charakterystyczną budowę, jest dimerem złożonym z dwóch reszt fosfatydylowych połączonych glicerolowym mostkiem. Tak więc każda cząsteczka CL posiada cztery łańcuchy acylowe, co ją odróżnia od typowego fosfolipidu posiadającego dwa łańcuchy acylowe. W komórkach ssaków CL występuje niemal wyłącznie w wewnętrznej błonie mitochondrialnej, gdzie stabilizuje

### Streszczenie

Kardiolipina (CL) jest unikalnym fosfolipidem, zawierającym aż cztery grupy acylowe. W sercach ssaków cząsteczki te są bogate w kwas linolowy, a dominującą formą jest CL z czterema resztami kwasu linolowego – L<sub>4</sub>CL. CL związana jest niemal wyłącznie z wewnętrzną błoną mitochondrialną, gdzie odpowiada za optymalną aktywność enzymów łańcucha oddechowego i prawidłowy przebieg fosforylacji oksydacyjnej, a także efektywny transport wysokoenergetycznych fosforanów z mitochondriów do cytoplazmy. Dodatkowo reguluje zależne od mitochondriów etapy apoptozy. Spadek poziomu CL w błonach mitochondrialnych (całkowitej puli CL i/lub L<sub>4</sub>CL) i/lub zmiany w strukturze cząsteczki (wzrost ilości reszt kwasów palmitynowego, oleinowego i arachidonowego oraz peroksydacja reszt nienasyconych kwasów tłuszczowych) oraz związana z tym dysfunkcja mitochondriów towarzyszy wielu zaburzeniom w układzie sercowo-naczyniowym. Celem niniejszej pracy poglądowej było omówienie nieprawidłowości w ilości i strukturze cząsteczek CL, a także ich przyczyn oraz konsekwencji z tego wynikających, w takich stanach jak niedokrwienie i reperfuzja, niewydolność serca, zespół Bartha oraz proces starzenia się organizmu.

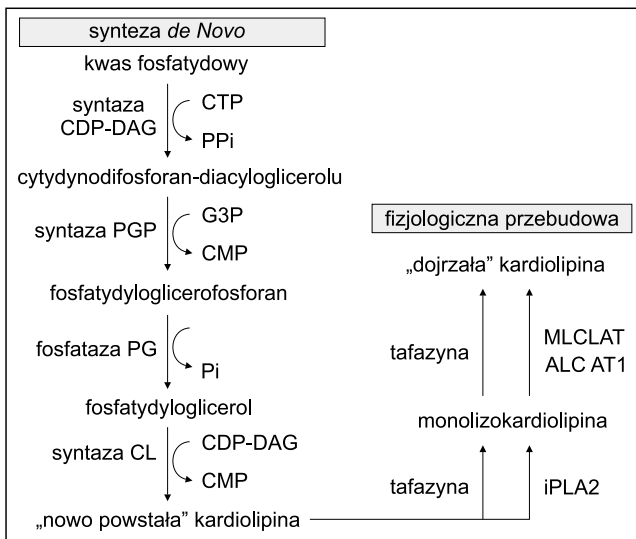
### Summary

Cardiolipin (CL) is a unique phospholipid composed of four acyl groups. In the mammalian heart these molecules are rich in linoleic acid, and the dominant form is CL containing four residues of linoleic acid – L<sub>4</sub>CL. CL is associated almost exclusively with the inner mitochondrial membrane where it is responsible for the optimal activity of the respiratory chain enzymes, ensures correct course of oxidative phosphorylation, and efficient transport of high-energy phosphate from the mitochondria to the cytoplasm. In addition, CL regulates mitochondrial-dependent apoptosis pathways. A decrease in the CL content of CL (the total pool of CL and/or L<sub>4</sub>CL) and alterations in molecular structure (an increase amount of palmitic, oleic and arachidonic acids, and peroxidation of unsaturated fatty acid) have been implicated in mitochondrial dysfunction associated with cardiovascular disease. The purpose of this review was to discuss the alterations in the amount and structure of CL, as well as their causes and consequences, in pathological condition such as ischemia and reperfusion, heart failure, Barth syndrome and aging.

je kompleksy enzymatyczne łańcucha oddechowego i warunkuje ich optymalną aktywność, zapewnia prawidłowy przebieg fosforylacji oksydacyjnej oraz efektywny transport wysokoenergetycznych fosforanów z mitochondriów do cytoplazmy (2-4). Reguluje również zależne od mitochondriów etapy apoptozy (5). Zmiany w ilości, a także w strukturze CL i związane z tym zaburzenia czynności mitochondriów towarzyszą wielu stanom patologicznym, m. in. niedokrwieniu i reperfuzji, niewydolności serca czy zespołowi Bartha, oraz są charakterystyczne dla starości (3, 4, 6).

## SYNTEZA I PRZEBUDOWA CL

Tak jak wszystkie fosfolipidy, CL syntetyzowana jest z kwasu fosfatydowego (PA). Jednak w odróżnieniu od innych fosfolipidów błonowych, które powstają w siateczce endoplazmatycznej i zewnętrznej błonie mitochondrialnej, synteza *de Novo* CL odbywa się wyłącznie po wewnętrznej stronie wewnętrznej błony mitochondrialnej. Synteza CL jest procesem bardzo konserwatywnym w organizmach eukariotycznych, została dobrze poznana i jest tematem wielu prac poglądowych (7). W skrócie ujmując, w pierwszym etapie z kwasu fosfatydowego (PA) i cytydino-5'-trifosforan (CTP) powstaje cytydynodifosforan-1,2-diacyloglicerolu (CDP-DAG), a reakcja jest katalizowana przez syntazę CDP-DAG (ryc. 1). Następnie, po przyłączeniu glicerolo-3-fosforanu (G3P) z CDP-DAG, syntetyzowany jest fosfatydyloglicerofosforan (PGP), od którego szybko odłączona zostaje reszta fosforanowa i powstaje fosfatydyloglicerol (PG). W reakcjach tych uczestniczą kolejno syntaza PGP i fosfataza PG. W ostatnim etapie syntaza kardiolipiny katalizuje kondensację fosfatydyloglicerolu z kolejną cząsteczką CDP-DAG i powstaje CL.



**Ryc. 1.** Synteza i fizjologiczna przebudowa kardiolipin. ALCAT1 – acylotransferaza-1 CoA:lizo-kardiolipina; CDP-DAG – cytydynodifosforan-1,2-diacyloglicerolu; CMP – cytydino-5'-monofosforan; CTP – cytydino-5'-trifosforan; G3P – glicerolo-3-fosforanu; iPLA<sub>2</sub> – niezależna od wapnia fosfolipaza A<sub>2</sub>; MLCLAT – acylotransferaza monolizokardiolipiny; PG – fosfatydyloglicerol; PGP – fosfatydyloglicerofosforan; Pi – nieorganiczny fosforan; PPi – nieorganiczny pirofosforan.

Kompozycja reszt acylowych CL jest cechą charakterystyczną danego gatunku, a nawet tkanki w obrębie tego samego gatunku. U ssaków cząsteczki CL bogate są w nienasycone 18-węglowe łańcuchy acylowe, wśród których większość stanowi kwas linolowy (18:2 $\omega$ -6, LA) (3). Szczególnie widać to w mięśniu sercowym, gdzie dominującą formą jest cząsteczka zawierająca cztery reszty kwasu linolowego – L<sub>4</sub>CL, która stanowi około 80-90% wszystkich CL (8, 9). Natomiast w mózgu cząsteczki CL są bardziej zróżnicowane,

obok kwasu linolowego zawierają więcej wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, takich jak kwasy arachidonowy (20:4 $\omega$ -6) i dokozaheksaenowy (22:6 $\omega$ -3) (9). Poza syntazą CL, która posiada niewielką selektywność substratową, pozostałe enzymy uczestniczące w syntezie nie wykazują specyficzności w stosunku do łańcuchów acylowych (10). Dlatego ostateczny skład reszt acylowych w cząsteczkach CL, nie jest generowany podczas syntezy, a jest wynikiem następującej po niej przebudowy.

W odróżnieniu od syntezy fizjologiczna przebudowa cząsteczek CL nie jest w pełni poznana. Proces rozpoczyna się od usunięcia jednej grupy acylowej i powstania monolizokardiolipiny (MLCL), w co zaangażowana jest mitochondrialna, niezależna od wapnia fosfolipaza A<sub>2</sub> (iPLA<sub>2</sub>) (ryc. 1). Wciąż niejasne pozostaje, czy hydroliza jest kluczowym etapem w przebudowie CL, ponieważ MLCL może powstawać również w wyniku przeniesienia grupy acylowej z CL na inny fosfolipid przez tafazynę. Za ponowną acetylację i przyłączenie odpowiedniego kwasu tłuszczowego odpowiadają dwa enzymy mitochondrialne – acylotransferaza MLCL (MLCLAT) i tafazyna – oraz związana z siateczką endoplazmą acylotransferaza-1 CoA:lizo-kardiolipina (ALCAT1) (7, 11). Bogate w reszty kwasu linolowego cząsteczki CL, w tym L<sub>4</sub>CL, powstają przede wszystkim dzięki aktywności tafazyny (11).

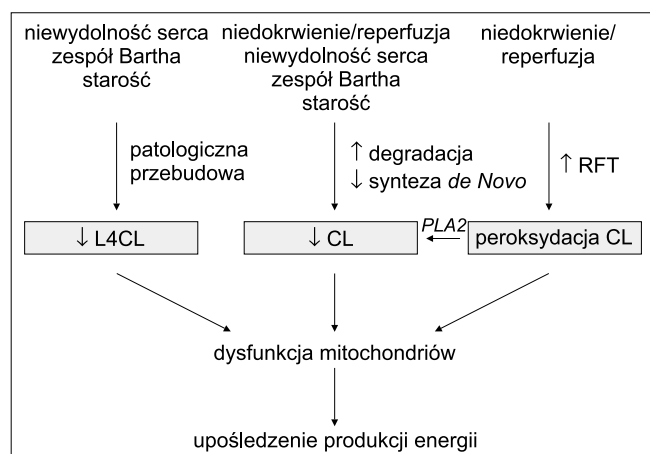
## ROLA CL

Wiele białek mitochondrialnych i związanych z nimi procesów do optymalnej działalności wymaga obecności CL, w odpowiedniej ilości i o określonej kompozycji reszt acylowych. Cząsteczki CL mają wyjątkową zdolność do oddziaływania z białkami błonowymi oraz utrzymania prawidłowej płynności wewnętrznej błony mitochondrialnej i stabilności osmotycznej. Dla przykładu: badania krystalograficzne pokazują ścisłe powiązanie kilku cząsteczek CL z kompleksem III (oksydoreduktaza ubichinon-cytochrom c) i IV (oksydaza cytochromowa) oraz translokazą ATP/ADP (12). Poza tym CL odgrywa istotną rolę w organizacji i stabilizacji wyższych struktur kompleksów łańcucha oddechowego. Powstające superkompleksy poprawiają wydajność fosforylacji oksydacyjnej poprzez eliminację dyfuzji substratów i produktów między poszczególnymi elementami w łańcuchu transportu elektronów (4, 13). Obecność CL zapewnia również prawidłowe działanie szeregu białek nośnikowych uczestniczących w regulacji mitochondrialnych szlaków metabolicznych, m.in. translokazy ATP/ADP (ANT) i translokazy karnityna/acylokarnityna oraz transporterów dla cytrynianu, fosforanu i pirogronianu (12-14). Cząsteczki CL kotwiczą także do błony mitochondrialnej izoformy kinazy keratynowej (MtCK) i kinazy nukleozydo-difosforanowej (NDPK), które tworzą kompleks z ANP zapewniający sprawny transport ATP z mitochondriów do cytoplazmy (15). Obok regulacji metabolizmu energetycznego mitochondriów, CL zaangażowana jest również w proces apoptozy. MtCK i NDPK w sposób

selektywny transportują lipidy, w tym CL, między wewnętrzną i zewnętrzną błoną mitochondrialną (15). Ta właściwość może mieć istotne znaczenie w inicjacji śmierci komórki. Pojawienie się CL w zewnętrznej błonie mitochondrialnej prowadzi do przyłączenia uczestniczących w apoptozie białek Bcl2 (15). Dodatkowo CL kotwiczy do wewnętrznej błony mitochondrialnej cytochrom c i reguluje jego uwalnianie (16). Pojawienie się cytochromu c w cytoplazmie komórek jest sygnałem do inicjacji procesu apoptozy.

## ZNACZENIE PATOLOGICZNEJ PRZEBUDOWY CL

Jak przedstawiono powyżej, CL odgrywa istotną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu mitochondriów, a tym samym jakiegokolwiek zaburzenia w profilu CL prowadzi do dysfunkcji mitochondriów i w konsekwencji całej komórki (3, 6, 17). Nieprawidłowości mogą dotyczyć zarówno ilości CL w wewnętrznej błonie mitochondrialnej, jak i ich struktury – tzw. patologiczna przebudowa CL. Zmiany w strukturze obejmują wolnorodnikową modyfikację cząsteczek oraz spadek ilości CL bogatych w reszty kwasu linolowego, szczególnie  $L_4CL$ . Poniżej zostały omówione nieprawidłowości w CL przy takich zaburzeniach, jak niedokrwienie i reperfuzja, niewydolność serca, zespół Bartha oraz występujące w starości, a także ich przyczyny i konsekwencje z nich wynikające (ryc. 2).



**Ryc. 2.** Zmiany w ilości i strukturze kardiolipiny w różnych stanach patologicznych i w starości, na podstawie Chicco i inni (3).  $L_4CL$  – kardiolipina z czterema resztami kwasu linolowego;  $PLA_2$  – zależnej od jonów wapnia lipazy  $A_2$ ; RFT – reaktywne formy tlenu.

## NIEDOKRWIENIE I REPERFUZJA

Fosforylacja oksydacyjna, obok syntezy ATP, jest również bogatym źródłem reaktywnych form tlenu (RFT) w komórce. Mitochondria zużywają ponad 90% dostarczonego do komórek tlenu, z czego około 0,2-2% przekształcane jest do RFT (18). W czasie niedokrwienia i reperfuzji dochodzi do upośledzenia przepływu elektronów przez łańcuch oddechowy, co prowadzi do drastycznego wzrostu produkcji RFT. RFT uwalniane są przede wszystkim przez mitochondrialne kompleksy III i IV oraz w czasie reperfuzji.

Obecność podwójnych wiązań w strukturze CL czyni ją wrażliwą na działanie RFT, co skutkuje peroksydacją reszt kwasów tłuszczowych i powstawaniem nadtlenu. Znajduje to odzwierciedlenie w wynikach doświadczeń, które pokazują wzrost peroksydowanych form CL w sercach zwierząt poddanych niedokrwieniu i reperfuzji (19-22). Peroksydowana CL jest wrażliwsza na działanie zależnej od jonów wapnia lipazy  $A_2$  ( $PLA_2$ ) (23), co prowadzi do szybkiego rozkładu cząsteczek i w konsekwencji spadku zawartości CL w błonach mitochondrialnych.  $PLA_2$  jest również aktywowana przez RFT w czasie niedokrwienia i reperfuzji, co dodatkowo nasila proces rozkładu CL (24). Jak pokazują badania, interwencje nastawione na redukcję mitochondrialnej produkcji RFT zapobiegają powstawaniu peroksydowanej CL i spadkowi całkowitej puli CL oraz upośledzeniu metabolizmu energetycznego w niedokrwionych i reperfundowanych sercach (22, 25, 26).

Produkowane przez mitochondrialny łańcuch transportu elektronów RFT uszkodzają CL. Z drugiej strony uszkodzone CL i/lub ich brak prowadzi do upośledzenia funkcjonowania enzymów łańcucha oddechowego i do wzmożonej produkcji RFT, które uszkodzają kolejne cząsteczki CL. Powstaje błędne koło, które odpowiada za postępujące destrukcyjne zmiany w komórkach miokardium podczas ostrej fazy niedokrwienia i reperfuzji, jak również w dalszej patologicznej przebudowie serca.

Kolejnych informacji na temat uszkodzenia CL w czasie niedokrwienia i reperfuzji oraz związanych z tym konsekwencji dostarczają badania grupy Lesnfsky i inni (19, 27). Pokazują oni, że w izolowanym sercu królika niedokrwienie prowadzi do spadku zawartości CL, któremu towarzyszy spadek aktywności kompleksu IV. Ubytek w CL był tym większy, im dłużej trwało niedokrwienie, natomiast nie dochodziło do dalszego spadku jej ilości w czasie reperfuzji. W przeciwieństwie do powyższych obserwacji, w izolowanym sercu szczura pokazano ~25% ubytek CL w czasie 30-minutowego niedokrwienia i dalszy spadek do ~50% po 15 minutach reperfuzji (20, 28). Spadek ten korelował z mniejszą aktywnością kompleksu I (oksydoreduktaza NADH-ubichinon) i III o 28% w czasie niedokrwienia i o 50% w czasie reperfuzji. Obserwowanemu spadkowi aktywności enzymów łańcucha oddechowego zapobiegała fuzja mitochondriów z lizosomami zawierającymi CL (20). Wyniki te sugerują, że co najmniej częściowo defekt CL wyprzedzał w czasie upośledzenie aktywności enzymów. Zmniejszenie poziomu CL i związany z tym spadek aktywności fosforylacji oksydacyjnej w mitochondriach w niedokrwionych i reperfundowanych sercach został potwierdzony w kolejnych badaniach (29, 30). W odróżnieniu do całkowitego poziomu CL, niedokrwieniu i reperfuzji nie towarzyszył spadek ilości kwasu linolowego i/lub  $L_4CL$  w mitochondriach (19, 27).

Co ciekawe, opisane zmiany w ilości CL i aktywności enzymów mitochondrialnych dotyczyły tylko subpopu-

lacji mitochondriów podbłonowych (SSM), natomiast efektów tych nie obserwowano w mitochondriach międzyfibrilarnych (IFM) (19), co jest przykładem selektywnej przebudowy CL tylko jednego rodzaju mitochondriów w kardiomiocytach. Wynik te potwierdzają wcześniejsze obserwacje, w których pokazano, że niedokrwienne uszkodzenie SSM wyprzedza w czasie zmiany w subpopulacji IFM (31). Analiza składu fosfolipidów błon mitochondrialnych pokazuje, że zmiany wywołane niedokrwieniem i reperfuzją obserwowane są tylko we frakcji CL, a frakcje fosfatydyloetanolaminy, fosfatydyloinozytolu i fosfatydylocholino pozostają bez zmian (19).

Wraz z obserwowanym spadkiem ilości CL w niedokrwieniu wewnętrzna błona mitochondrialna traci zdolność wiązania cytochromu c. Pokazano również, że peroksydowana CL, której poziom wzrasta w niedokrwieniu i reperfuzji, ma mniejsze powinowactwo do cytochromu c (32). Oba te zjawiska odpowiadają za wzrost uwolnienia cytochromu c z błony mitochondrialnej do cytoplazmy, gdzie poprzez aktywację kaskady kaspaz uruchamiany jest proces programowanej śmierci komórki (16). Apoptoza jest istotnym elementem pozawałowej przebudowy miokardium i rozwoju niewydolności serca.

Opisanym wyżej niekorzystnym zmianom w CL i ich następstwom mogłyby zapobiec nowo powstałe cząsteczki CL. Niestety, jak sugerują badania, dochodzi do upośledzenia syntezy *de Novo* CL, co najmniej w okresie niedokrwienia. W izolowanym sercu szczura poddanym hipoksji obserwowano spadek produkcji prekursora CL – CDP-DAG (33). Zjawisko to może być związane z niedoborem ATP i CDP.

## NIEWYDOLNOŚĆ SERCA

Istotną przyczyną postępujących zaburzeń kurczliwości w rozwijającej się niewydolności serca jest deficyt energetyczny. U pacjentów w zaawansowanym stadium niewydolności opisano ponad 60% spadek produkcji ATP w kardiomiocytach (34). Za obserwowane upośledzenie metabolizmu energetycznego w mitochondriach mogą odpowiadać towarzyszące niewydolności serca zmiany ilościowe i jakościowe cząsteczek CL.

Pierwsze badania eksperymentalne pokazały, że u szczurów z niewydolnością serca indukowaną przeciążeniem ciśnieniowym spada ilość kwasu linolowego we frakcji CL (35, 36). Obserwowano również słabszą zdolność wbudowywania kwasu linolowego znakowanego <sup>13</sup>C do cząsteczek CL i ich prekursora PG (37). Wyniki te znalazły potwierdzenie w kolejnych doświadczeniach (w tym naszych), w których pokazano spadek puli L<sub>4</sub>CL, jak również całkowitej ilości CL u chomików (38) i szczurów (39-41) z niewydolnością serca. Obserwowane zmiany nasilały się wraz z progresją choroby. Wielu informacji na temat zmian w CL, które towarzyszą niewydolności serca, dostarczają badania grupy Sparagna i Chicco (40, 41). Pokazali oni między innymi, że u szczurów z niewydolnością serca indukowaną samoistnym nadciśnieniem tętniczym dochodzi

do spadku ilości L<sub>4</sub>CL w mitochondriach kardiomiocytów, zarówno w subpopulacji IFM, jak SSM. Zmianom tym towarzyszył wzrost ilości cząsteczek CL zawierających reszty kwasów: palmitynowego (16:1), oleinowego (18:1) i arachidonowego. Obserwowany ubytek zawartości L<sub>4</sub>CL w błonach mitochondrialnych był ściśle związany ze spadkiem aktywności kompleksu IV (bez wpływu na ekspresję białka), a zmiany te występowały już w fazie nadciśnienia tętniczego i wyprzedzały w czasie rozwój niewydolności serca. Co ciekawe, w odróżnieniu od L<sub>4</sub>CL całkowita zawartość CL obniżała się tylko w subpopulacji IFM. Natomiast O'Shea i inni obserwowali spadek L<sub>4</sub>CL i wzrost ilości cząsteczek CL zawierającej kwas arachidonowy (AA<sub>1</sub>C<sub>3</sub>CL) bez wpływu na całkowitą pulę CL w obu subpopulacjach mitochondriów w sercach szczurów z pozawałową niewydolnością serca (39). Podobnie jak w badaniach eksperymentalnych, spadek ilości CL i L<sub>4</sub>CL towarzyszył idiopatycznej kardiomiopatii rozstrzeniowej u dzieci i dorosłych pacjentów (41-43).

Obserwowane zmiany w ilości i kompozycji cząsteczek CL towarzyszące niewydolności serca mogą być wynikiem zaburzeń w ich syntezie i/lub przebudowie. Spadek zawartości CL jest łączony ze spadkiem aktywności syntazy kardiolipiny obserwowanej u szczurów z niewydolnością serca (42, 43). Natomiast obniżenie ilości L<sub>4</sub>CL może być wynikiem braku tafazyny i niedolności do włączania kwasu linolowego do nowo powstających cząsteczek CL – u szczurów i pacjentów pokazano ponad 95% spadek ekspresji mRNA dla tafazyny (44). Co ciekawe, u zwierząt zaobserwowano kompensacyjny blisko 4-krotny wzrost aktywności MLCL-AT, który jednak pozostawał bez wpływu na kompozycję CL (44). Dodatkowo w niewydolnych sercach spada aktywność iPLA<sub>2</sub>, na co wskazuje niewielki wpływ inhibitora iPLA<sub>2</sub> na inkorporację <sup>13</sup>C do CL w porównaniu z grupą kontrolną (37). Innym proponowanym mechanizmem odpowiedzialnym za nieprawidłowości w CL towarzyszące niewydolności serca jest spadek liczby mitochondriów w komórkach, który przekłada się na obniżenie ilości CL.

## ZESPÓŁ BARTHA

Bezpośrednich dowodów na istnienie związku przyczynowo-skutkowego między zaburzeniami w ilości i strukturze cząsteczek CL, dysfunkcją mitochondriów i rozwijającymi się nieprawidłowościami w mięśni sercowym dostarczają badania nad zespołem Bartha. Zespół Bartha jest rzadką chorobą recesywną sprzężoną z chromosomem X, której przyczyną jest mutacja w genie *TAZ* kodującym tafazynę, enzym odpowiedzialny za fizjologiczną przebudowę cząsteczek CL (45). Pod względem biochemicznym zespół charakteryzuje się spadkiem ilości CL w błonie mitochondrialnej, wzrostem MLCL i zmienioną kompozycją reszt acylowych CL. Zespół Bartha diagnozowany jest najczęściej we wczesnym dzieciństwie i klinicznie charakteryzuje się miopatią serca i mięśni szkieletowych, nawracającą neutropenią oraz opóźnieniem wzrostu.

Kardiomiopatia może przybierać fenotyp rozstrzeni, przerostu lub tzw. niescalenia mięśnia lewej komory, a rozwijająca się niewydolność serca jest najczęstszą przyczyną zgonów. U chorych w młodym wieku występuje również duże ryzyko arytmii komorowych.

Wiedzę na temat zmian w CL i związanych z tym zaburzeń w funkcjonowaniu mitochondriów występujących w zespole Bartha czerpiemy głównie z doświadczeń na ludzkich fibroblastach i liniach komórkowych limfoblastów. W badaniach tych pokazano, że mutacje tafazyny prowadzą do upośledzenia włączania reszty kwasu linolowego do cząsteczek CL, spadku ilości  $L_4CL$ , wzrostu MLCL i ubożenia błon mitochondrialnych w CL (46-49). Dodatkowo obserwowano zaburzenia w strukturze i funkcji mitochondriów, w tym zmniejszenie potencjału błonowego. Pomimo tych zaburzeń komórki zachowywały na niezmiennym poziomie produkcję ATP, co może być łączone z obserwowanym kompensacyjnym wzrostem masy mitochondriów. Natomiast w indukowanych pluripotencjalnych komórkach macierzystych (iPSC) wywodzących się z fibroblastów pacjentów z zespołem Bartha, oprócz charakterystycznych zmian w CL, obserwowano zmiany w strukturze superkompleksu (kompleks I, III i IV) oraz drastyczny spadek konsumpcji tlenu i wzrost produkcji RFT (50). Powyższe obserwacje znalazły potwierdzenie u myszy z wyciszonym genem dla tafazyny (51). W sercowych mitochondriach tych zwierząt opisano spadek ilości cząsteczek CL zawierających kwas linolowy, w szczególności  $L_4CL$ . Zmianom w CL towarzyszył spadek aktywności kompleksu III i V łańcucha oddechowego. Dodatkowo pokazano, że terapie nastawione na wzrost aktywności syntazy kardiolipin lub zahamowanie aktywności iPLA<sub>2</sub>γ nie zapobiegały niekorzystnej przebudowie cząsteczek CL w eksperymentalnym mysim modelu zespołu Bartha.

## STAROŚĆ

Zaburzenia ilościowe i strukturalne w cząsteczkach CL mogą także odpowiadać za charakterystyczną dla wieku starczego dysfunkcję mitochondriów i spadek efektywności fosforylacji oksydacyjnej (52). Zjawisko to zostało dobrze scharakteryzowane u szczurów rasy Fisher w serii doświadczeń grupy Paradiesa (53-57). Wraz z wiekiem u zwierząt spadała aktywność kompleksu IV, jak również translokazy ATP/ADP i traslokazy karnityna/acetylokarnityna oraz nośników dla fosforanu i pirogronianu. Równoległe z postępującymi zmianami w białkach obserwowano spadek zawartości puli CL w mitochondriach, a tym niekorzystnym efektem zapobiegała acetylokarnityna. Korzystne efekty działania acetylokarnityny mogą być łączone ze wzrostem aktywności syntazy CL lub jej właściwościami antyoksydacyjnymi (58). Późniejsze badania pokazują, że u starych szczurów spada aktywność kompleksu I, co również było związane ze spadkiem ilości CL (59). W przeciwieństwie do powyższych badań Lesnefsky i inni (60) nie obserwowali zmian w zawartości CL w mitochondriach u starych zwierząt. W izolowanych sercach tych szczurów również niedokrwienie i reperfuzja nie wpływała na ilości CL, pomimo spadku aktywności kompleksu III łańcucha oddechowego. Co ciekawe, w mitochondriach dochodziło do zmiany struktury cząsteczek CL – pojawiła się nowa cząsteczka o masie wyższej o 48-kDa od  $L_4CL$ . Podobną cząsteczkę, zawierającą dodatkowe trzy atomy tlenu, uzyskano *in vitro* w wyniku peroksydacji kwasu linolowego (60). Podsumowując, zaburzenia w ilości lub strukturze CL i związane z tym zmiany w aktywności enzymów mitochondrialnych mogą być jedną z głównych przyczyn postępującego spadku metabolizmu energetycznego i zaburzeń hemodynamicznych w starych sercach.

## PIŚMIENNICTWO

- Pangborn M: Isolation and purification of a serologically active phospholipid from beef heart. *J Biol Chem* 1942; 143: 247-256.
- Paradies G, Paradies V, Ruggiero FM et al.: Cardiolipin and mitochondrial function in health and disease. *Antioxid Redox Signal* 2014; 20: 1925-1953.
- Chicco AJ, Sparagna GC: Role of cardiolipin alterations in mitochondrial dysfunction and disease. *Am J Physiol Cell Physiol* 2007; 292 :C33-44.
- Paradies G, Petrosillo G, Paradies V et al.: Role of cardiolipin peroxidation and Ca<sup>2+</sup> in mitochondrial dysfunction and disease. *Cell Calcium* 2009; 45 :643-650.
- McMillin JB, Dowhan W: Cardiolipin and apoptosis. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1585: 97-107.
- Sparagna GC, Lesnefsky EJ: Cardiolipin remodeling in the heart. *J Cardiovasc Pharmacol* 2009; 53: 290-301.
- Houtkooper RH, Vaz FM: Cardiolipin, the heart of mitochondrial metabolism. *Cell Mol Life Sci* 2008; 65: 2493-2506.
- Schlame M, Otten D: Analysis of cardiolipin molecular species by high-performance liquid chromatography of its derivative 1,3-bisphosphatidyl-2-benzoyl-sn-glycerol dimethyl ester. *Anal Biochem* 1991; 195: 290-295.
- Houtkooper RH, Turkenburg M, Poll-The BT et al.: The enigmatic role of tafazzin in cardiolipin metabolism. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1788: 2003-2014.
- Houtkooper RH et al.: Identification and characterization of human cardiolipin synthase. *FEBS Lett* 2006; 580: 3059-3064.
- Schlame M: Cardiolipin remodeling and the function of tafazzin. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1831: 582-588.
- Schlame M, Ren M: The role of cardiolipin in the structural organization of mitochondrial membranes. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1788: 2080-2083.
- Paradies G, Petrosillo G, Paradies V et al.: Mitochondrial dysfunction in brain aging: role of oxidative stress and cardiolipin. *Neurochem Int* 2011; 58: 447-457.
- Paradies G, Petrosillo G, Paradies V et al.: Oxidative stress, mitochondrial bioenergetics, and cardiolipin in aging. *Free Radic Biol Med* 2010; 48: 1286-1295.
- Schlattner U, Tokarska-Schlattner M, Ramirez S et al.: Mitochondrial kinases and their molecular interaction with cardiolipin. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1788: 2032-2047.
- Borutaite V, Jekabsone A, Morkuniene R et al.: Inhibition of mitochondrial permeability transition prevents mitochondrial dysfunction, cytochrome c release and apoptosis induced by heart ischemia. *J Mol Cell Cardiol* 2003; 35: 357-366.
- Ren M, Phoon CK, Schlame M: Metabolism and function of mitochondrial cardiolipin. *Prog Lipid Re.* 2014; 55: 1-16.
- Boveris A, Chance B: The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochem J* 1973; 134: 707-716.
- Lesnefsky EJ, Chen Q, Slabe TJ et al.: Ischemia, rather than reperfusion, inhibits respiration through cytochrome oxidase in the isolated, perfused rabbit heart: role of cardiolipin. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 287: H258-267.
- Paradies G, Petrosillo G, Pistolesse M et al.: Decrease in mitochondrial complex I activity in ischemic/reperfused rat heart: involvement of reactive oxygen species and cardiolipin. *Circ Res* 2004; 94: 53-59.

21. Petrosillo G, Di Venosa N, Moro N et al.: *In vivo* hyperoxic preconditioning protects against rat-heart ischemia/reperfusion injury by inhibiting mitochondrial permeability transition pore opening and cytochrome c release. *Free Radic Biol Med* 2011; 50: 477-483.
22. Petrosillo G, Di Venosa N, Pistolese M et al.: Protective effect of melatonin against mitochondrial dysfunction associated with cardiac ischemia-reperfusion: role of cardiolipin. *FASEB J* 2006; 20: 269-276.
23. McLean LR, Hagaman KA, Davidson WS: Role of lipid structure in the activation of phospholipase A2 by peroxidized phospholipids. *Lipids* 1993; 28: 505-509.
24. Adibhatla RM, Hatcher JF, Dempsey RJ: Phospholipase A2, hydroxyl radicals, and lipid peroxidation in transient cerebral ischemia. *Antioxid Redox Signal* 2003; 5: 647-654.
25. Petrosillo G, Di Venosa N, Ruggiero FM et al.: Mitochondrial dysfunction associated with cardiac ischemia/reperfusion can be attenuated by oxygen tension control. Role of oxygen-free radicals and cardiolipin. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1710: 78-86.
26. Lesnefsky EJ, Chen Q, Moghaddas S et al.: Blockade of electron transport during ischemia protects cardiac mitochondria. *J Biol Chem* 2004; 279: 47961-47967.
27. Lesnefsky EJ, Slabe TJ, Stoll MS et al.: Myocardial ischemia selectively depletes cardiolipin in rabbit heart subsarcolemmal mitochondria. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 280: H2770-2778.
28. Petrosillo G, Ruggiero FM, Di Venosa N et al.: Decreased complex III activity in mitochondria isolated from rat heart subjected to ischemia and reperfusion: role of reactive oxygen species and cardiolipin. *FASEB J* 2003; 17: 714-716.
29. Gadicherla AK, Stowe DF, Antholine W et al.: Damage to mitochondrial complex I during cardiac ischemia reperfusion injury is reduced indirectly by anti-anginal drug ranolazine. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1817: 419-429.
30. Aluri HS, Simpson DC, Allegood JC et al.: Electron flow into cytochrome c coupled with reactive oxygen species from the electron transport chain converts cytochrome c to a cardiolipin peroxidase: role during ischemia-reperfusion. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1840: 3199-3207.
31. Palmer JW, Tandler B, Hoppel CL: Biochemical properties of subsarcolemmal and interfibrillar mitochondria isolated from rat cardiac muscle. *J Biol Chem* 1977; 252: 8731-8739.
32. Nomura K, Imai H, Koumura T et al.: Mitochondrial phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase inhibits the release of cytochrome c from mitochondria by suppressing the peroxidation of cardiolipin in hypoglycaemia-induced apoptosis. *Biochem J* 2000; 351: 183-193.
33. Cheng P, Hatch GM: Inhibition of cardiolipin biosynthesis in the hypoxic rat heart. *Lipids* 1995; 30: 513-519.
34. Ingwall JS, Weiss RG: Is the failing heart energy starved? On using chemical energy to support cardiac function. *Circ Res* 2004; 95: 135-145.
35. O'Rourke B, Reibel DK: Effects of adrenoceptor blockade on cardiac hypertrophy and myocardial phospholipids. *Proc Soc Exp Biol Med* 1992; 200: 95-100.
36. Reibel DK, O'Rourke B, Foster KA et al.: Altered phospholipid metabolism in pressure-overload hypertrophied hearts. *Am J Physiol* 1986; 250: H1-6.
37. Zachman DK, Chicco AJ, McCune SA et al.: The role of calcium-independent phospholipase A2 in cardiolipin remodeling in the spontaneously hypertensive heart failure rat heart. *J Lipid Res* 2010; 51: 525-534.
38. Okumura K, Yamada Y, Kondo J et al.: Decreased 1,2-diacylglycerol levels in myopathic hamster hearts during the development of heart failure. *J Mol Cell Cardiol* 1991; 23: 409-416.
39. Shah KB, Duda MK, O'Shea KM et al.: The cardioprotective effects of fish oil during pressure overload are blocked by high fat intake: role of cardiac phospholipid remodeling. *Hypertension* 2009; 54: 605-611.
40. Sparagna GC, Johnson CA, McCune SA et al.: Quantitation of cardiolipin molecular species in spontaneously hypertensive heart failure rats using electrospray ionization mass spectrometry. *J Lipid Res* 2005 June; 46: 1196-1204.
41. Sparagna GC, Chicco AJ, Murphy RC et al.: Loss of cardiac tetralinoleoyl cardiolipin in human and experimental heart failure. *J Lipid Res* 2007; 48: 1559-1570.
42. Chatfield KC, Sparagna GC, Sucharov CC et al.: Dysregulation of cardiolipin biosynthesis in pediatric heart failure. *J Mol Cell Cardiol* 2014; 74: 251-259.
43. Saini-Chohan HK, Dakshinamurti S, Taylor WA et al.: Persistent pulmonary hypertension results in reduced tetralinoleoyl-cardiolipin and mitochondrial complex II + III during the development of right ventricular hypertrophy in the neonatal pig heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011; 301: H1415-1424.
44. Saini-Chohan HK, Holmes MG, Chicco AJ et al.: Cardiolipin biosynthesis and remodeling enzymes are altered during development of heart failure. *J Lipid Res* 2009; 50: 1600-1608.
45. Schlame M, Ren M: Barth syndrome, a human disorder of cardiolipin metabolism. *FEBS Lett* 2006; 580: 5450-5455.
46. Xu Y, Sutachan JJ, Plesken H et al.: Characterization of lymphoblast mitochondria from patients with Barth syndrome. *Lab Invest* 2005; 85: 823-830.
47. Acehan D, Xu Y, Stokes DL et al.: Comparison of lymphoblast mitochondria from normal subjects and patients with Barth syndrome using electron microscopic tomography. *Lab Invest* 2007; 87: 40-48.
48. He Q, Wang M, Harris N et al.: Tafazzin knockdown interrupts cell cycle progression in cultured neonatal ventricular fibroblasts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2013; 305: H1332-343.
49. Valianpour F, Wanders RJ, Overmars H et al.: Cardiolipin deficiency in X-linked cardioskeletal myopathy and neutropenia (Barth syndrome, MIM 302060): a study in cultured skin fibroblasts. *J Pediatr* 2002; 141: 729-733.
50. Dudek J, Cheng IF, Balleininger M et al.: Cardiolipin deficiency affects respiratory chain function and organization in an induced pluripotent stem cell model of Barth syndrome. *Stem Cell Res* 2013; 11: 806-819.
51. Kiebish MA, Yang K, Liu X et al.: Dysfunctional cardiac mitochondrial bioenergetic, lipidomic, and signaling in a murine model of Barth syndrome. *J Lipid Res* 2013; 54: 1312-1325.
52. Tocchi A, Quarles EK, Basisty N et al.: Mitochondrial dysfunction in cardiac aging. *Biochim Biophys Acta* 2015 Nov; 1847: 1424-1433.
53. Paradies G, Ruggiero FM, Gadaleta MN et al.: The effect of aging and acetyl-L-carnitine on the activity of the phosphate carrier and on the phospholipid composition in rat heart mitochondria. *Biochim Biophys Acta* 1992; 1103: 324-326.
54. Paradies G, Petrosillo G, Gadaleta MN et al.: The effect of aging and acetyl-L-carnitine on the pyruvate transport and oxidation in rat heart mitochondria. *FEBS Lett* 1999; 454: 207-209.
55. Paradies G, Ruggiero FM, Petrosillo G et al.: Age-dependent impairment of mitochondrial function in rat heart tissue. Effect of pharmacological agents. *Ann NY Acad Sci* 1996; 786: 252-263.
56. Paradies G, Ruggiero FM, Petrosillo G et al.: Carnitine-acylcarnitine translocase activity in cardiac mitochondria from aged rats: the effect of acetyl-L-carnitine. *Mech. Ageing Dev* 1995; 84: 103-112.
57. Paradies G, Ruggiero FM, Petrosillo G et al.: Effect of aging and acetyl-L-carnitine on the activity of cytochrome oxidase and adenine nucleotide translocase in rat heart mitochondria. *FEBS Lett* 1994; 350: 213-215.
58. Hagen TM, Ingersoll RT, Wehr CM et al.: Acetyl-L-carnitine fed to old rats partially restores mitochondrial function and ambulatory activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 9562-9566.
59. Petrosillo G, Matera M, Moro N et al.: Mitochondrial complex I dysfunction in rat heart with aging: critical role of reactive oxygen species and cardiolipin. *Free Radic Biol Med* 2009; 46: 88-94.
60. Lesnefsky EJ, Hoppel CL: Cardiolipin as an oxidative target in cardiac mitochondria in the aged rat. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1777: 1020-1027.

otrzymano/received: 10.11.2016  
zaakceptowano/accepted: 29.11.2016