

Mitochondriálna kardiológia

Gvozdzjaková A¹, Kucharská J¹, Cornélissen G², Singh RB³, Šimko F⁴

¹Univerzita Komenského v Bratislave, Lekárska fakulta a UNB, Farmakobiochemické laboratórium III. internej kliniky, Bratislava, Slovenská republika

Gvozdzjaková A, Kucharská J, Cornélissen G, Singh RB, Šimko F. **Mitochondriálna kardiológia**. Cardiology Lett. 2017;26(3):145–163 **Abstrakt.** Mitochondriálna kardiológia je súčasťou mitochondriálnej medicíny, ktorá poskytuje komplexný pohľad na mitochondriálne choroby vzhľadom na klinické, metabolické, patologické a genetické informácie, dôležité pre určenie ich diagnózy a terapie.

Mitochondriálna kardiológia poukazuje na nezastupiteľný význam mitochondrií srdcového svalu z hľadiska zabezpečenia tvorby požadovaného množstva energie vo forme ATP cestou oxidačnej fosforylácie a zníženia oxidačného stresu. Komplexy respiračného reťazca mitochondrií – I, III a IV tvoria stabilnejšie **superkomplexy**, ktoré prispievajú k objasneniu príčin mitochondriálnych chorôb. **Dynamika mitochondrií** je riadená procesmi, ktoré regulujú dynamiku mitochondrií: **biogénezu, štiepenie, fúziu a mitofágiu**. V mitochondriách sú lokalizované NAD⁺ – závislé deacylázy – **sirtuíny** (SIRT 3, 4 a 5), ktoré signalizujú stres alebo poškodenie buniek. Koenzým Q₁₀ a oxidačná fosforylácia mitochondrií srdcového svalu sú riadené **cirkadiálnymi a semicirkadiálnymi rytmi**.

Podporná terapia s **koenzýmom Q₁₀** u pacientov s kardiovaskulárnou patológiou má významné miesto v prevencii vzniku kardiovaskulárnych komplikácií, v zlepšení funkcie srdcového svalu u pacientov čakajúcich na transplantáciu srdca. Cílená terapia s **koenzýmom Q₁₀** má perspektívny význam aj v prevencii vzniku a vývoja rejekcie transplantovaného srdca, zní-

Mitochondrial cardiology

Gvozdzjakova A¹, Kucharska J¹, Cornelissen G², Singh RB³, Simko F⁴

¹Comenius University in Bratislava, Faculty of Medicine and University Hospital, Pharmacobiochemical Laboratory of Third Department of Internal Medicine, Bratislava, Slovak Republic

Gvozdzjakova A, Kucharska J, Cornelissen G, Singh RB, Simko F. **Mitochondrial cardiology**. Cardiology Lett. 2017;26(3):145–163 **Abstract.** Mitochondrial Cardiology is part of Mitochondrial Medicine, which provides a comprehensive view of mitochondrial disease in terms of clinical, metabolic, genetic and pathological information relevant to the diagnosis and treatment of mitochondrial diseases.

Mitochondrial cardiology highlights the irreplaceable importance of mitochondria in the heart muscle in terms of generating the required amount of energy in the form of ATP through oxidative phosphorylation and reducing oxidative stress. Mitochondrial respiratory chain complexes – I, III and IV form stable **supercomplexes** that contribute to the elucidation of the causes of mitochondrial diseases. The **dynamics of mitochondria** is controlled by processes that regulate mitochondrial dynamics: **biogenesis, fission, fusion and mitophagy**. In mitochondria, NAD⁺ – dependent deacylases – **sirtuins** (SIRT 3, 4 and 5) signalling stress or cell damage are located. Mitochondrial oxidative phosphorylation, and the heart muscle coenzyme Q₁₀ are controlled by **circadian and circasemidian rhythms**. Supported therapy with **coenzyme Q₁₀** in patients with cardiovascular diseases has a significant role in preventing the development of cardiovascular complications, in improving cardiac muscle function in patients waiting for cardiac transplantation. Targeting therapy with **coenzyme Q₁₀** is also of potential importance in preventing the onset and development

Z ¹Univerzity Komenského v Bratislave, Lekárska fakulta a UNB, Farmakobiochemické laboratórium III. internej kliniky, Bratislava, Slovenská republika, ²Halberg Chronobiology Center, University of Minnesota, Minneapolis, USA, ³Halberg Hospital and Research Institute, Moradabad, India a ⁴Univerzity Komenského v Bratislave, Lekárska fakulta a UNB, Ústav Patologickej fyziológie a III. interná klinika, Bratislava, Slovenská republika

Do redakcie došlo dňa 9. mája 2017; prijaté dňa 29. mája 2017

Adresa pre korešpondenciu: Prof. RNDr. Anna Gvozdzjaková, DrSc., Univerzita Komenského v Bratislave, Lekárska fakulta a UNB, Farmakobiochemické laboratórium III. internej kliniky, Sasinkova 4, 811 08 Bratislava, Slovenská republika, email: anna.gvozdzjakova@fmed.uniba.sk

From ¹Comenius University in Bratislava, Faculty of Medicine and University Hospital, Pharmacobiochemical Laboratory of Third Department of Internal Medicine, Bratislava, Slovak Republic, ²Halberg Chronobiology Center, University of Minnesota, Minneapolis, USA, ³Halberg Hospital and Research Institute, Moradabad, India and ⁴Comenius University in Bratislava, Faculty of Medicine and University Hospital Bratislava, Pharmacobiochemical Laboratory of Third Department of Internal Medicine and Third Department of Internal Medicine in Bratislava, Slovak Republic

Manuscript received May 9, 2017; accepted for publication May 26, 2017 **Address for correspondence:** Prof. RNDr. Anna Gvozdzjaková, DrSc., Comenius University in Bratislava, Faculty of Medicine and University Hospital Bratislava, Pharmacobiochemical Laboratory of Third Department of Internal Medicine, Sasinkova 4, 811 08 Bratislava, Slovak Republic, email: anna.gvozdzjakova@fmed.uniba.sk

žení finančných nákladov na hospitalizáciu a liečbu pacientov s kardiovaskulárnymi chorobami a ponúka perspektívny prístup kardiológov v prevencii a cielej terapii poškodených mitochondrií srdcového svalu. Obr. 8, Lit. 50, Online full text (Free, PDF) www.cardiology.sk

Kľúčové slová: mitochondriálna kardiológia – superkomplexy – dynamika mitochondrií – sirtuíny – chronobiológia – koenzým Q_{10}

of heart transplant rejection, reducing the cost of hospitalization and treating patients with cardiovascular diseases, and offering prospective cardiologists access to prevention and targeting therapy of heart muscle damaged mitochondrial function. Fig. 8, Ref. 50, Online full text (Free, PDF) www.cardiology.sk

Key words: mitochondrial cardiology – supercomplexes – mitochondrial dynamics – sirtuins – chronobiology – coenzyme Q_{10}

Mitochondriálna kardiológia je súčasťou mitochondriálnej medicíny, ktorá poskytuje komplexný pohľad na mitochondriálne choroby vzhľadom na klinické, metabolické, patologické a genetické informácie, dôležité pre určenie diagnózy a terapie mitochondriálnych chorôb. Abnormality funkcií myokardu sú často zahrnuté v mitochondriálnych chorobách.

1. Mitochondrie srdcového svalu

Mitochondria je „kráľovnou“ kardiomyocytu vzhľadom na získavanie energie a udržiavanie funkcie srdcového svalu. Srdce je aeróbný orgán, ktorého kontrakčno-relaxačná činnosť závisí od dostatočného prísunu kyslíka a substrátov, ktoré sú nevyhnutné pre tvorbu energie, predovšetkým beta-oxidáciou mastných kyselín, glykolýzou a oxidačnou fosforyláciou. Pri fyziologických podmienkach srdce získava 65 – 100 % energie z mastných kyselín a 10 – 20 % z glukózy. Bielkoviny participujú na štruktúre subcelulárnych organel. Okrem glukózy a mastných kyselín ako energetické substráty myokardu slúžia laktát, pyruvát, ketolátky a dokonca aminokyseliny, pričom ich vychytávanie je determinované koncentračným spádom medzi kapilárnou krvou a kardiomyocytmi (1). Na kontrakcii srdcového svalu sa podieľa zvýšená koncentrácia voľného Ca^{2+} v cytosóle (10^{-7} mol/l), ktorá aktivizuje aktomyozínový komplex. Relaxácia srdcového svalu nastane vychytávaním Ca^{2+} iónov sarkoplazmatickým retikulom a efluxom Ca^{2+} cez sarkolemu do extracelulárneho priestoru.

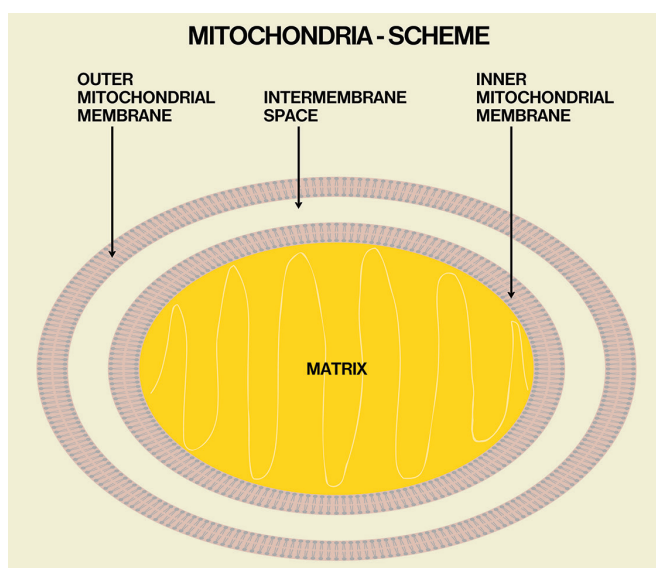
Mitochondrie srdcového svalu tvoria 36 % celkového objemu kardiomyocytu, myofibrily 48 %, sarkolema, t-systém a sarkoplazmatické retikulum 6 %, jadro a cytosol tvoria 10 % objemu kardiomyocytu. Jednou zo základných funkcií mitochondrií srdcového svalu je regulácia aeróbnej tvorby energie β -oxidáciou mastných kyselín, oxidáciou glukózy a ďalších substrátov. Výsledkom je tvorba vysokoenergetických fosfátov adenosíntrifosfátu (ATP) a tepla. Funkcia srdca závisí od rovnováhy medzi spotrebou a tvorbou ATP. Pri oxidačnej fosforylácii sa tvorí takmer 90 % požadovanej energie (ATP) na zachovanie kontinuálnej činnosti srdcového svalu.

Mitochondrial cardiology is part of Mitochondrial Medicine, which provides a comprehensive view of mitochondrial diseases in terms of clinical, metabolic, pathological and genetic information important for the diagnosis and treatment of mitochondrial diseases. Myocardial function abnormalities are often included in mitochondrial diseases.

1. Mitochondria of the heart muscle

Mitochondria is the “queen” of cardiomyocytes in terms of energy recovery and maintenance of cardiac muscle function. The heart is an aerobic organ whose contraction-relaxation activity depends on a sufficient supply of oxygen and substrates that are essential for energy production, especially beta-oxidation of fatty acids, glycolysis and oxidative phosphorylation. Under physiological conditions, the heart acquires 65-100% of energy from fatty acids and 10-20% from glucose. The proteins participate in the structure of subcellular organelles. In addition to glucose and fatty acids, energy sources of myocardium are lactate, pyruvate, ketones and even amino acids, the uptake of which is determined by the concentration gradient between capillary blood and cardiomyocytes (1). Contrary to the heart muscle, an increased concentration of free Ca^{2+} in the cytosol (10^{-7} mol/l) is involved, which activates the actomyosin complex. Heart muscle relaxation occurs by the uptake of Ca^{2+} ions by the sarcoplasmic reticulum and Ca^{2+} efflux through the sarcolemma into the extracellular space.

Mitochondria of the heart muscle account for 36% of the total cardiomyocyte volume, myofibrils 48%, sarcolemma, t-system and sarcoplasmic reticulum 6%, nucleus and cytosol account for 10% of the cardiomyocyte volume. One of the basic functions of cardiac muscle mitochondria is the regulation of aerobic energy production through β -oxidation of fatty acids, oxidation of glucose and other substrates. The result is the formation of high energy phosphate adenosine triphosphate (ATP) and heat. The function of the heart depends on the balance between consumption and generation of ATP. The pathway of oxidative phosphorylation accounts for nearly 90% of the desired energy (ATP) to maintain the continuous action of the heart muscle.



Obrázok 1 Schéma mitochondrie (2)

Figure 1 Mitochondria scheme (2)

Architektúra mitochondrií srdcového svalu

Mitochondrie tvorí vonkajšia (OMM), vnútorná membrána (IMM), medzimembránový priestor a matrix (**obrázok 1**) (2).

1. **OMM** – vonkajšia membrána je hladká, oddeluje mitochondrie od cytoplazmatického priestoru, je málo selektívna a permeabilná pre molekuly s molekulovou hmotnosťou < ako 10 000. OMM je miestom transportu proteínov z cytosólu do mitochondrií. Malé molekuly proteínov môžu difundovať do medzimembránového priestoru, veľké molekuly sú aktívne transportované do medzimembránového priestoru a matrixu. Transport proteínov z matrixu zabezpečujú dva komplexy: TOM-komplex pre transport cez OMM a TIM-komplex pre transport cez IMM. TOM/TIM komplex je lokalizovaný na kontaktných miestach, ktoré vznikajú spojením OMM a IMM. Kontaktné miesta pre viacproteínové komplexy sa nazývajú **mitochondrial permeability transition pore (MPTP)**. Aktivácia MPTP vedie k depolarizácii membrány a uvoľňuje cytochróm c do cytosólu. Cytochróm c spúšťa aktivitu kaspáz s následnou apoptózou buniek, ktorú reguluje MPTP. K ďalším funkciám OMM patrí prenos iónov a syntéza kardiolípinu (3).
2. **IMM** – vnútorná membrána oddeluje medzimembránový priestor od matrixu. V IMM je lokalizovaný **respiračný reťazec**, spojený s tvorbou ATP cestou oxidačnej fosforylácie (OXPHOS). Táto membrána je spojená s matrixom, v ktorom sú lokalizované enzýmy Krebsovej cyklu a β -oxidácie mastných kyselín. Sú to metabolické cesty, ktoré sú hlavným tvorcom redukovaných ekvivalentov, donorov elektrónov pre respiračný reťazec a tvorbu ATP

The architecture of the heart muscle mitochondria

Mitochondria form an outer membrane (OMM), an inner membrane (IMM), an intermembrane space and a matrix (**Figure 1**) (2).

1. **OMM** – the outer membrane is smooth, separates the mitochondria from the cytoplasmic space, is little selective and permeable for molecules with a molecular weight <10.000. OMM is the site of transport of proteins from cytosol to mitochondria. Small protein molecules can diffuse into the intermembrane space, large molecules are actively transported into the intermembrane space and matrix. The transport of proteins from the matrix ensures two complexes: TOM – complex for transport through OMM and TIM – complex for transport through IMM. The **TOM/TIM complex** is located at the contact points created by the OMM and IMM. Contact points for multi-protein complexes are called **mitochondrial permeability transition pores (MPTP)**. Activation of MPTP leads to depolarization of the membrane and releases cytochrome c into the cytosol. Cytochrome c triggers caspase activity, followed by cell apoptosis regulated by MPTP. Other functions of OMM include ions transfer and cardiolipin synthesis (3).
2. **IMM** – the inner membrane separates the intermembrane space from the matrix. In IMM **the respiratory chain** is localized associated with ATP formation via oxidative phosphorylation (**OXPHOS**). This membrane is associated with a matrix in which enzymes of the Krebs cycle and β -oxidation of fatty acids are located. These are the metabolic pathways that are the major generators of reduced equivalents, electron donors for the respiratory chain and

(4, 5). IMM tvoria záhyby matrixu – **kristy**. IMM obsahuje päť komplexov respiračného reťazca (komplexy I – V), adenín nukleotid translokázu (ANT), cyklus koenzýmu Q („Q₁₀-CYKLUS“), cytochróm c, c₁. Transport elektrónov cez respiračný reťazec tvorí elektrochemický gradient ($\Delta\mu H^+$), ktorý je nevyhnutný pre tvorbu ATP. $\Delta\mu H^+$ je známy ako protón-motívna sila, ktorá zahŕňa membránový potenciál ($\Delta\psi$) a protónový gradient (ΔpH). IMM je veľmi selektívna a nepriepustná, neprechádzajú ňou nielen substráty, ale ani ióny H⁺, OH⁻, K⁺. Prenos substrátov a iónov zabezpečujú špeciálne transportné systémy mitochondrií, predovšetkým adenín nukleotid translokátor, ktorý zabezpečuje prenos ATP z mitochondrií do medzimembránového priestoru. Špecifický inhibitor tohto transportu je atraktylozid a kyselina bongkreová. Transport zabezpečujú aj tzv. „shuttle systémy“, pomocou ktorých cytosólické NADH môže byť reoxidované v respiračnom reťazci, napríklad v malát-aspartátovom cykle, karnitínovom a fosfokreatínovom cykle. Iné špecifické transportéry sú pre pyruvát, malát, succinát (dikarboxylové kyseliny), glutamát, α -ketoglutarát, aspartát, citrát (trikarboxylové kyseliny).

3. **Medzimembránový priestor** obsahuje cytochróm c, ktorý prenáša elektróny pre respiračný reťazec.
4. **Matrix** je dôležitý pre transkripciu a transláciu 13 proteínov oxidačnej fosforylácie. V matrixe je lokalizovaných niekoľko metabolických ciest, ako je pyruvát-dehydrogenázový komplex (PDHC – oxidácia pyruvátu na acetyl-CoA), oxidácia ketónových látok, aminokyselín, iniciácia močovínového cyklu, β -oxidácia mastných kyselín, cyklus kyseliny citrónovej, import proteínov, syntéza hému, redukcia poškodenia voľnými radikálmi pôsobením mangán-superoxid dizmutázy (MnSOD) (4, 5).

Mitochondrie koordinujú rovnováhu medzi energetickými požiadavkami buniek a tvorbou ATP cestou OXPHOS. Tento proces medzi cytoplazmou a matrixom mitochondrií signalizuje koncentrácia vápnika (Ca²⁺) cez Ca²⁺ kanál vo vnútornej mitochondriálnej membráne.

2. Respiračný reťazec a oxidačná fosforylácia mitochondrií

Respiračný reťazec je lokalizovaný vo vnútornej membráne mitochondrií, tvorí ho päť komplexov: **Komplex I** – NADH-CoQ-reduktáza (1. miesto syntézy ATP); **Komplex II** – succinát-CoQ-reduktáza; **Komplex III** – CoQ-cytochróm c reduktáza (2. miesto syntézy ATP); **Komplex IV** – cytochróm c oxidáza (3. miesto syntézy ATP); **Komplex V** – ATP-syntáza (F₀F₁-ATP-áza, oligomycín senzitívna) (**obrázok 2**). Cytochrómový komplex bc₁ je súčasťou respiračného reťazca, participuje na vzniku mitochondriálnych chorôb.

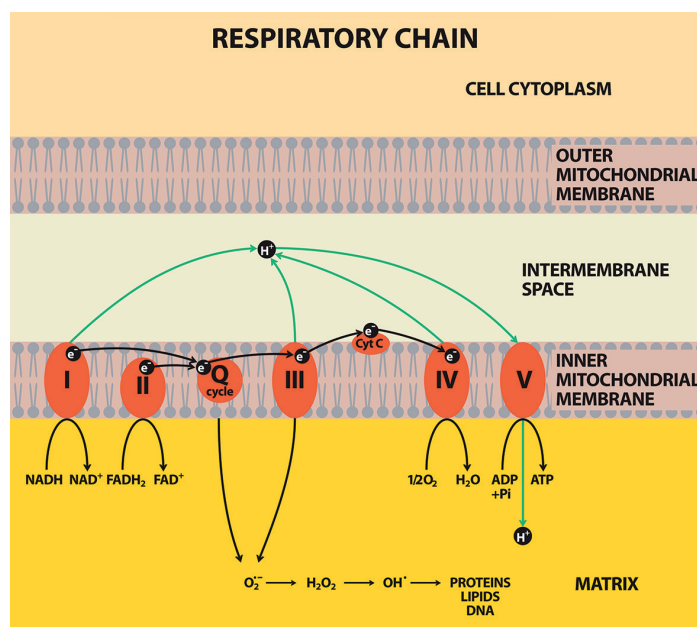
ATP production (4, 5). IMM forms matrix folds – **cristae**. IMM contains five respiratory chain complexes (complexes I-V), adenine nucleotide translocase (ANT), coenzyme Q (“Q₁₀-CYCLE”), cytochrome c, c₁. The transport of electrons through the respiratory chain forms an electrochemical gradient ($\Delta\mu H^+$) that is necessary for ATP production. $\Delta\mu H^+$ is known as a proton-motive force that includes membrane potential ($\Delta\psi$) and proton gradient (ΔpH). IMM is very selective and impermeable, not only substrates, but also H⁺, OH⁻, K⁺ do not pass through. The transfer of substrates and ions provide special transport systems of the mitochondria, in particular the adenine nucleotide translocator, which ensures the transfer of ATP from the mitochondria to the intermembrane space. A specific inhibitor of this transport is atracyloside and bongkreic acid. The transport also provides the so-called “shuttle systems” by which cytosolic NADH can be reoxidized in the respiratory chain, e.g. in the malate-aspartate cycle, in the carnitine and phosphocreatine cycles. Other specific carriers are for pyruvate, malate, succinate (dicarboxylic acids), glutamate, α -ketoglutarate, aspartate, citrate (tricarboxylic acids).

3. **Intermembrane space** contains cytochrome c, which carries electrons for the respiratory chain.
4. **Matrix** is important for the transcription and translation of 13 oxidative phosphorylation proteins. Several metabolic pathways are located in the matrix, such as pyruvate dehydrogenase complex (PDHC – oxidation of pyruvate to acetyl-CoA), oxidation of ketones, amino acids, urea cycle initiation, β -oxidation of fatty acids, citric acid cycle, import of proteins, hem synthesis, reduction of free radical damage by manganese-superoxidedismutase (MnSOD) (4, 5).

Mitochondria coordinate the balance between energy requirements of the cell and ATP formation via OXPHOS. This process between the cytoplasm and the mitochondrial matrix signals the concentration of calcium (Ca²⁺) through the Ca²⁺ channel in the inner mitochondrial membrane.

2. Respiratory chain and mitochondrial oxidative phosphorylation

The respiratory chain is located in the inner membrane of the mitochondria and consists of 5 complexes: **Complex I** – NADH-CoQ reductase (the first site of ATP synthesis); **Complex II** – succinate-CoQ-reductase; **Complex III** – CoQ-cytochrome c reductase (the second site of ATP synthesis); **Complex IV** – **cytochrome c oxidase** (the third site of ATP synthesis); **Complex V** – ATP synthase (F₀F₁-ATPase, oligomycin sensitive) (**Figure 2**). Cytochrome complex bc₁ is part of the respiratory chain, participates in the development of mitochondrial diseases.



Obrázok 2 Respiračný reťazec a voľné radikály mitochondrií

Figure 2 Respiratory chain and free radicals of mitochondria

V respiračnom reťazci sú dve mobilné zložky: **cytochróm c** a **koenzým Q₁₀**. Koenzým Q sa vyskytuje v troch formách v tzv. Q-CYKLE, v oxidovanej forme (ubichinón – Q), v redukovanej forme (ubichinol – QH₂) a radikálovej forme (ubisemichinón – Q). Komplexy I – IV získavajú elektróny z metabolismu cukrov, tukov a bielkovín a tvoria protónový gradient cez vnútornú mitochondriálnu membránu, ktorý je potrebný na tvorbu ATP z ADP a Pi v mieste V komplexu. Vytvorené ATP prenáša adeninnukleotid translokáza (ANT) z mitochondrií do cytoplazmy (6).

Cytochrómoxidáza – COX (IV. komplex) tvoria **cytochrómy aa₃**. Skladá sa z 13 subjednotiek, z ktorých I – III (s molekulovou hmotnosťou < 56 000) kóduje mitochondriálna DNA. Ostatné subjednotky cytochrómoxidázy (IV–VIII), s molekulovou hmotnosťou < 20 000, kóduje jadrová DNA. Syntéza týchto subjednotiek prebieha v cytoplazme. COX má štyri redox centrá – dva hémy a dva atómy medi (Cu). COX katalyzuje premenu O₂ na H₂O, kde sa spotrebujú 4H⁺ (protóny) z vnútra mitochondrie a štyri elektróny z cytochrómu c.

ATP-ázu – (V. komplex) tvoria tri časti: F₀ tvorí viac subjednotiek, viaže oligomycín, inhibítor oxidačnej fosforylácie. Počas katalytického cyklu enzýmu, F₀ funguje ako transmembránový tranlokátor protónov. Časť F₁ je miesto syntézy ATP z ADP a Pi. Reakcia je reverzibilná, ATP sa tvorí a dochádza k vypudeniu H⁺ pozdĺž respiračného reťazca, alebo ATP hydrolyzuje. Tretiu časť enzýmu tvorí **stopka**, ktorá spája F₀ a F₁.

There are 2 mobile components in the respiratory chain: **cytochrome c** and **coenzyme Q₁₀**. Coenzyme Q occurs in three forms in so-called “Q-CYCLE”, in oxidized form (ubiquinone – Q), in reduced form (ubiquinol – QH₂) and in radical form (ubisemiquinone – Q). Complexes I-IV acquire electrons from the metabolism of sugars, fats, and proteins and form a proton gradient through the inner mitochondrial membrane that is required to produce ATP from ADP and Pi at the site of complex V. The generated ATP transmits the adenine nucleotide translocase (ANT) from the mitochondria to the cytoplasm (6).

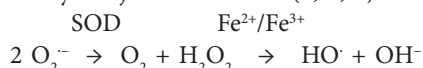
Cytochrome oxidase – COX (complex IV) form **cytochromes a and a₃**. It consists of 13 subunits, of which I-III (with a molecular weight <56.000) encodes mitochondrial DNA. Other subunits of cytochrome oxidase (IV-VIII), with a molecular weight <20.000, encodes nuclear DNA. Synthesis of these subunits takes place in the cytoplasm. COX has 4 redox centers – two hem and two copper atoms (Cu). COX catalyzes the conversion of O₂ to H₂O, where 4H⁺ (protons) inside the mitochondria and 4 electrons from cytochrome c are consumed.

The ATPase – (complex V) consists of 3 parts: F₀ forms more subunits, binds to oligomycin, an oxidative phosphorylation inhibitor. During the catalytic cycle of the enzyme, F₀ acts as a transmembrane proton translocator. Part F₁ is the site of ATP synthesis from ADP and Pi. The reaction is reversible, ATP is formed and H⁺ is released along the respiratory chain, or ATP is hydrolyzed. The third part of the enzyme is a **stem** that connects F₀ and F₁.

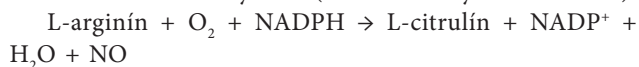
3. Volné radikály a antioxidanty mitochondrií

Mitochondrie sú jedným z hlavných zdrojov tvorby **voľných radikálov a ich reaktívnych metabolitov** (ROS, reactive oxygen species), a súčasne obsahujú **antioxidanty**, ktoré sú schopné udržiavať dynamickú rovnováhu medzi tvorbou ROS a antioxidačnou ochranou organizmu. V mieste IV. komplexu respiračného reťazca sa mení viac ako 95 % kyslíka na vodu, z 2 – 4 % kyslíka sa tvoria voľné radikály a ROS. Na zachovanie dôležitých fyziologických funkcií jednotlivých orgánov je nevyhnutná prítomnosť malého množstva radikálov a ROS, ktoré regulujú biologické funkcie buniek.

Počas aeróbného metabolizmu viac ako 90 % bunkových ROS sa tvorí v respiračnom reťazci mitochondrií (**obrázok 2**). Patrí sem **superoxidový aniónový radikál** ($O_2^{\cdot-}$), **peroxid vodíka** (H_2O_2) a veľmi reaktívny **hydroxylový radikál** ($OH^{\cdot}$). Ďalšie reaktívne formy kyslíka sú **singletový kyslík** (1O_2) a **peroxynitrit** ($ONOO^-$). V prípade porušenia dynamickej rovnováhy nekontrolovanou, nadmernou tvorbou voľných radikálov kyslíka môže dôjsť k poškodeniu bielkovín, lipidov, DNA a funkcií enzýmov respiračného reťazca. Primárne sa malá časť kyslíka redukuje na superoxid ($O_2^{\cdot-}$), ktorý sa môže ďalej meniť na H_2O_2 pôsobením enzýmu MnSOD (mangánová superoxiddismutáza – ktorá je lokalizovaná v matrixe mitochondrií) alebo CuZnSOD (superoxiddismutáza obsahujúca ión medi a zinku, je lokalizovaná v medzimembránovom priestore mitochondrií). Z H_2O_2 vzniká vysoko reaktívny **hydroxylový radikál** ($OH^{\cdot}$) a **hydroxylová skupina** (OH^-) pri katalytickej oxidácii železa (7, 8, 9).



Mitochondrie sú zdrojom aj **radikálov dusíka**: radikál oxidu dusnatého ($NO^{\cdot}$) a oxidu dusičitého ($NOO^{\cdot}$). **Oxid dusíka** (NO) reguluje niekoľko systémov v organizme, napríklad kardiovaskulárny systém, centrálny nervový systém, imunitný systém. Mitochondrie sú dôležitým miestom tvorby NO, ktorý prispieva k ich biologickým funkciám. NO vzniká oxidáciou L-arginínu na L-citrulín v reakcii, ktorú katalyzuje NADPH-závislá NO syntáza (nitric oxide synthase – NOS).

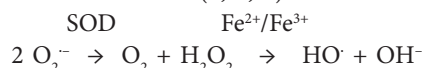


NOS tvoria hlavné izoformy: **neurónová NOS (nNOS)**, **endotelová NOS (eNOS)**, **indukovateľná NOS (iNOS)**. Každý izoenzým sa zúčastňuje na oxidácii L-arginínu, z ktorého vzniká malé množstvo NO a L-citrulín. Štvrtá izoforma NOS je **mitochondriálna Ca^{2+} – senzitívna NOS (mtNOS)** katalyzuje tvorbu NO v mitochondriách. NO reguluje spotrebu kyslíka v mitochondriách a transmembránový potenciál reverzibilnou reakciou s cytochróm c oxidázou. NO sa môže nadviazať na cytochrómoxidázu a tak blokovat hlavnú cestu tvorby kyslíka a energie (10, 11). NO znižuje spotrebu kyslíka

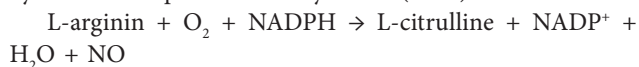
3. Free radicals and antioxidants in mitochondria

Mitochondria are one of the major sources of **free radicals and their reactive metabolites** (ROS, reactive oxygen species), and contain antioxidants that are capable of maintaining a dynamic balance between ROS formation and antioxidant protection of the body. At the site of complex IV of the respiratory chain, more than 95% of oxygen is changed to water, free radicals are formed from 2-4% of oxygen. To preserve the important physiological functions of each organ, the presence of a small amount of radicals and ROS that regulate the biological functions of cells is essential.

During aerobic metabolism, more than 90% of cellular ROS are formed in the respiratory chain of the mitochondria (**Figure 2**). These include **superoxide anion radical** ($O_2^{\cdot-}$), **hydrogen peroxide** (H_2O_2) and highly reactive **hydroxyl radical** ($OH^{\cdot}$). Other reactive oxygen species are **singlet oxygen** (1O_2) and **peroxynitrite** ($ONOO^-$). In case of the disturbance of the dynamic balance by uncontrolled, excessive formation of free oxygen radicals, proteins, lipids, DNA and respiratory chain enzyme functions may be damaged. Primarily, a small portion of oxygen is reduced to superoxide ($O_2^{\cdot-}$), which can be further changed to H_2O_2 by the enzyme MnSOD (manganese superoxide dismutase – located in the matrix of mitochondria) or CuZnSOD (superoxide dismutase containing copper and zinc ions, located in the intermembrane space of mitochondria). H_2O_2 produces a highly reactive **hydroxyl radical** ($OH^{\cdot}$) and **hydroxyl group** (OH^-) in the catalytic oxidation of iron (7, 8, 9).



Mitochondria are also sources of **nitrogen radicals**: nitric oxide ($NO^{\cdot}$) and nitrogen dioxide ($NOO^{\cdot}$) radicals. **Nitric oxide** (NO) regulates several systems in the body, e.g. cardiovascular system, central nervous system, immune system. Mitochondria are an important site of NO production that contributes to their biological functions. NO is produced by oxidation of L-arginine to L-citrulline in a reaction catalyzed by NADPH-dependent NO synthase (NOS).



NOS form the major isoforms: **neuronal NOS (nNOS)**, **endothelial NOS (eNOS)**, **inducible NOS (iNOS)**. Each isoenzyme is involved in the oxidation of L-arginine, which produces a small amount of NO and L-citrulline. The fourth isoform of NOS is the **mitochondrial Ca^{2+} – sensitive NOS (mtNOS)** catalyzing NO formation in mitochondria. NO regulates the oxygen consumption in mitochondria and the transmembrane potential by reversible reaction with cytochrome c oxidase. NO can bind to cytochrome oxidase and thus block the main pathway of oxygen and energy generation

mitochondriami, elektrochemický a protónový gradient, čím sa následne zníži tvorba ATP a zníži sa vychytávanie Ca^{2+} mitochondriami.

Porucha dynamickej rovnováhy **antioxidanty – oxidačný stres** sa podieľa na poškodení funkcie mitochondrií rôznych orgánov – mitochondriálne poruchy, prípadne mitochondriálne choroby.

Mitochondrie sú chránené pred nekontrolovanou tvorbou reaktívnych foriem kyslíka **antioxidačnými systémami** (12), ku ktorým patrí: superoxidodismutáza, závislá od mangánu (MnSOD), kataláza, glutatiónperoxidáza, cytochróm c a koenzým Q_{10} .

a) **Superoxiddismutáza** (SOD) je enzým, ktorý eliminuje superoxidový aniónový radikál. U cicavcov sú identifikované tri typy SOD: CuZnSOD (SOD1), MnSOD (SOD2) a ECSOD (SOD3 – extracelulárna SOD). Redoxné aktívne centrá týchto SODs sú ióny Cu pre CuZnSOD (ión Zn nevstupuje do redoxnej reakcie, má stabilizačnú úlohu) a ECSOD a Mn pre MnSOD. CuZnSOD je lokalizovaná v cytoplazme, ale aj v intermembránovom priestore mitochondrií.

Matrix mitochondrií obsahuje v aktívnom centre SOD ión Mn^{2+} , pomocou ktorého eliminuje superoxid tvorený v matrixe alebo vo vnútornej strane membrány dismutačnou reakciou na kyslík a peroxid vodíka. MnSOD v mitochondriách znižuje koncentráciu superoxidu a tým zabraňuje jeho reakcii s NO čím zabraňuje tvorbe peroxynitritu (ONOO^-). Podľa najnovšej teórie vznikajúci peroxynitrit je signál pre bunku, dochádza k apoptóze a oxidačnému stresu, ktorý súvisí s chorobami, degeneráciou neurónov a starnutím. Toto je základ teórie o funkcii superoxidu v mitochondriách. „**Mitochondriálna teória superoxidu**“ (13) SOD môže aj spontánne reagovať s NO za vzniku peroxidu dusíka. Katalytickým účinkom SODs vzniká zo superoxidu H_2O_2 . V biologickom systéme toxicitu peroxidu vodíka eliminujú enzýmy kataláza a glutatiónperoxidáza.

- b) **Glutatiónperoxidáza**, spojená s membránou mitochondrií, známa ako fosfolipid – hydroxyperoxid glutatión peroxidáza, špecificky redukuje peroxidy lipidov, ktoré sú spojené s membránou.
- c) **Kataláza**, hlavný enzým, ktorý detoxifikuje H_2O_2 , sa nachádza v peroxizómoch. Je prítomná tiež v mitochondriách srdca (14).
- d) **Cytochróm c** prenáša elektróny, má detoxifikačnú úlohu proti ROS.
- e) **CoQ (ubiquinol)** pôsobí antioxidačne, interferuje s propagáciou voľných radikálových reťazcových reakcií (14 – 17).

4. Superkomplexy respiračného reťazca

Komplexy I, III a IV tvoria stabilnejšie **superkomplexy**, ktoré prispievajú k objasneniu príčin mitochondriálnych

(10, 11). NO reduces oxygen consumption by mitochondria, electrochemical and proton gradient, thereby reducing ATP production and decreasing Ca^{2+} uptake by mitochondria.

Disturbance of the dynamic balance **antioxidants – oxidative stress** is involved in the impairment of the mitochondrial function of various organs – in mitochondrial disorders or mitochondrial diseases.

Mitochondria are protected against uncontrolled formation of ROS by **antioxidant systems** (12), including manganese-dependent superoxide dismutase (MnSOD), catalase, glutathione peroxidase, cytochrome c and coenzyme Q_{10} .

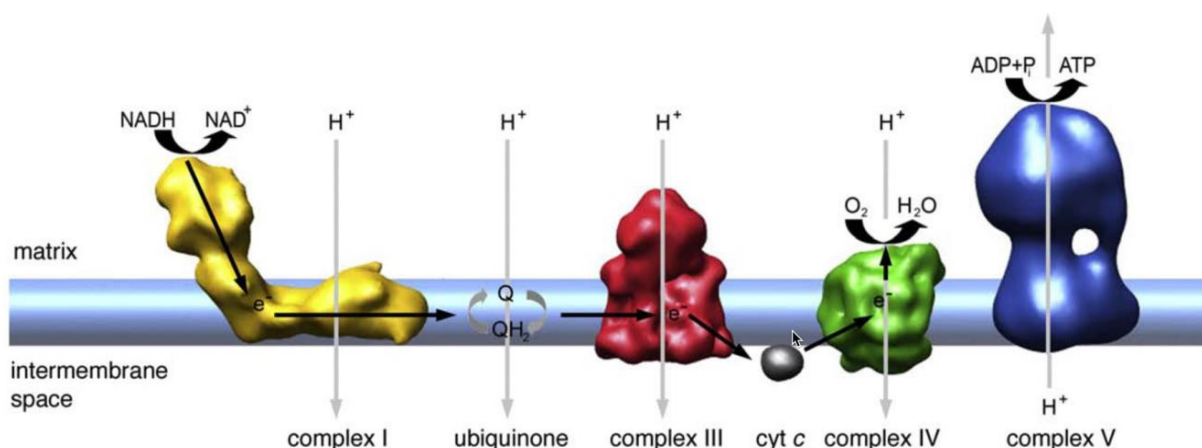
a) **Superoxide dismutase** (SOD) is an enzyme that eliminates the superoxide anionic radical. Three types of SODs are identified in mammals: CuZnSOD (SOD1), MnSOD (SOD2) and ECSOD (SOD3 – extracellular SOD). The redox active centers of these SODs are Cu ions for CuZnSOD (Zn ion does not enter the redox reaction and plays a stabilizing role) and ECSOD and Mn for MnSOD. CuZnSOD is located in the cytoplasm, but also in the intermembrane space of the mitochondria.

The mitochondrial matrix contains the Mn^{2+} ion in the SOD active center to eliminate the superoxide formed in the matrix or in the inner side of the membrane by a dismutation reaction, to oxygen and hydrogen peroxide. MnSOD in mitochondria reduces the concentration of superoxide and thus prevents its reaction with NO and the formation of peroxynitrite (ONOO^-). According to the latest theory, peroxynitrite is a signal for the cell, leading to apoptosis and oxidative stress associated with diseases, neuronal degeneration and aging. This is the basis of theory of superoxide function in mitochondria, “**Mitochondrial theory of superoxide**” (13). SOD can also react spontaneously with NO, to form nitrogen peroxide. By catalytic action of SODs, H_2O_2 is formed from superoxide. In the biological system, the toxicity of hydrogen peroxide eliminate enzymes catalase and glutathione peroxidase.

- b) **Glutathione peroxidase**, associated with the membrane of the mitochondria, known as the phospholipid-hydroxyperoxide glutathione peroxidase, specifically reduces the lipid peroxides associated with the membrane.
- c) **Catalase**, the major enzyme that detoxifies H_2O_2 , is found in peroxisomes. It is also present in the heart mitochondria (14).
- d) **Cytochrome c**, transferring electrons, has a detoxifying role against ROS.
- e) **CoQ (ubiquinol)** acts as antioxidant, interferes with the propagation of free radical chain reactions (14 – 17).

4. Supercomplexes of the respiratory chain

Complexes I, III and IV form more stable supercomplexes, which contribute to the elucidation of the causes of mitochon-

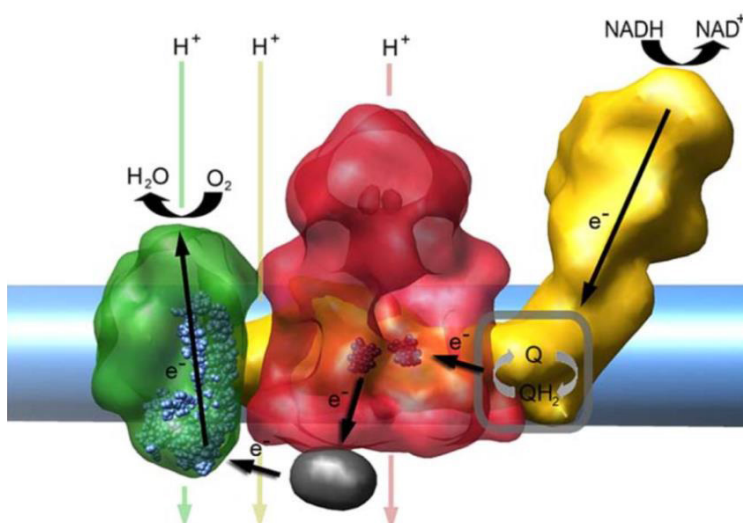


Obrázok 3 Priestorový model respiračného reťazca (19) (so súhlasom autorov)

Figure 3 Spatial model of the respiratory chain (19) (with the consent of the authors)

chorôb (obrázky 3 a 4) (19). Superkomplexy respiračného reťazca sa nazývajú aj **respirazómy**. Tieto komplexy sú aktívne a nevyhnutné pre tvorbu stabilných respiračných komplexov. Respirazómy sa nachádzajú v rôznych druhoch a tkanivách, ako je mozog, srdce, pečeň, obličky, kostrový sval, hriby, rastliny (18). Vo všetkých organizmoch, komplex I má tvar L, pozostáva z ramena membrány a ramena matrixu. Komplex III – ubiquinol:cytochróm c oxidoreduktáza alebo cytochróm bc_1 , je dimér, lokalizovaný najmä v matrixe. Každý monomér tvorí 11 subjednotiek. Komplex IV v baktériách tvoria štyri subjednotky, u cicavcov komplex IV tvorí 13 subjednotiek. Komplex V – mitochondriálna ATP syntáza – tvoria dve hlavné štruktúry: F_0 – prenáša protóny vo vnútornej mem-

dial diseases (Figure 3, Figure 4). Supercomplexes of the respiratory chain are also called **respirasomes**. These complexes are active and essential for the formation of stable respiratory complexes. Respirasomes are found in various species and tissues such as the brain, heart, liver, kidney, skeletal muscle, mushrooms, plants (18). In all organisms, complex I is L-shaped, consisting of a membrane arm and a matrix arm. Complex III – ubiquinol: cytochrome c oxidoreductase or cytochrome bc_1 is a dimer, located mainly in the matrix. Each monomer consists of 11 subunits. Complex IV in bacteria consists of 4 subunits, in mammals the complex IV form 13 subunits. Complex V – mitochondrial ATP synthase – consists of 2 major structures: F_0 – carries the protons in the inner membrane of the mito-



Obrázok 4 Superkomplexy respiračného reťazca (19) (so súhlasom autorov)

Figure 4 Supercomplexes of the respiratory chain (19) (with the consent of the authors)

bráne mitochondrií a katalytická F_1 v matrixe mitochondrií. Mitochondriálnu ATP syntázu tvorí ďalších 9 subjednotiek.

Superkomplexy tvoria: monomér komplexu I, (ktorý má tvar L, tvorí ho rameno membrány a matrixu), dimér komplexu III a komplex IV – v rôznych množstvách kópií monoméru. Komplex II nie je zahrnutý v superkomplexoch. Boli zistené spojenia jednotlivých komplexov do **priestorových, trojrozmerných 3D superkomplexov**: Komplexy III a IV sú spojené s ramenom membrány komplexu I a sú v kontakte jeden vedľa druhého. Komplex III je dimér, komplex IV je monomér. Ubichinón sa viaže na komplex I v ramene matrixu a je blízko spojený s ramenom matrix/membrána. V komplexe III ubichinón je v mieste Rieske Fe-S proteínu a cytochrómu b. Tieto subjednotky komplexu III sa dotýkajú. Komplex I – obklopuje a spája rameno matrix/membrána. Komplex IV interaguje s cytochrómom c cez hlavnú subjednotku II, ktorá je obklopená cytochrómom c väzbovým miestom v komplexe III.

Pomocou trojrozmerného zobrazenia sa zistilo, že mobilný nosič elektrónu (ubiquinone alebo cytochróm c) má väzobné miesto na každom komplexe a je obklopené zodpovedajúcim väzbovým miestom následného komplexu respiračného reťazca. V superkomplexoch nosiče elektrónov majú krátku difúziu vzdialenosť a tak prenos elektrónov je dostupnejší cez superkomplexy v porovnaní s tekutým modelom. Komplex III a IV sú esenciálne pre stabilitu komplexu I. Elektrónovou mikroskopiou sa potvrdilo, že ATP syntáza dimér a respiračný reťazec tvoria stabilnejšie superkomplexy (**obrázok 4**) (20, 21).

Význam respirázomov nie je úplne objasnený. Predpokladá sa, že superkomplexy redukovujú oxidačné poškodenie a zvyšujú bezpečnosť metabolizmu. Interakcia komplexov respiračného reťazca vnútri superkomplexov vedie k objasneniu príčin mitochondriálnych chorôb, spôsobených nedostatkom komplexov (ako sú arteriosklerotické cievne choroby – je znížená aktivita komplexu I a III, ale u Parkinsonovej choroby je poškodený komplex I a IV.) (19, 20, 22).

Znížená funkcia respiračného reťazca, ako aj zmeny koncentrácií koenzýmu Q_{10} , „ Q_{10} -CLOCK“ môžu byť dôležité v patogenéze zmenenej funkcie mozgu a myokardu. Tieto zmeny môžu prispieť k objasneniu mechanizmu, ktorý spúšťa akútny infarkt mozgu a srdca.

5. Mitochondriálne sirtuíny

Sirtuíny tvoria skupinu NAD^+ – závislých proteínov – deacetyláz. Vnútrobunková koncentrácia NAD^+ a pomer koncentrácií $NAD^+/NADH$ citlivo reagujú na energetický metabolizmus v bunkách. Sirtuíny sú senzory bunkovej energetickej rovnováhy, regulujú metabolickú odpoveď bunky na zmeny biologickej dostupnosti výživy mnohých tkanív, podieľajú sa na regulácii metabolizmu pri strese

chondria and the catalytic F_1 in the matrix of mitochondria. Mitochondrial ATP synthase forms another 9 subunits.

The **supercomplexes** are composed of a monomer of complex I (which is L-shaped, it forms a membrane and matrix arm), dimer of complex III and complex IV – in different amounts of copies of the monomer. Complex II is not included in supercomplexes. Connections of the individual complexes to **spatial, three-dimensional 3D supercomplexes** have been identified: Complexes III and IV are associated with the complex I membrane arm and are in contact side by side. Complex III is a dimer, complex IV is a monomer. Quinone binds to Complex I in the matrix arm and is closely associated with the matrix/membrane arm. In complex III ubiquinone is located in at the site of Rieske Fe-S protein and cytochrome b. These subunits of complex III are touched. Complex I – surrounds and joins the matrix/ membrane arm. Complex IV interacts with cytochrome c through the major subunit II which is surrounded by the cytochrome c with a binding site in complex III.

Using a three-dimensional image, it has been found that the mobile electron carrier (ubiquinone or cytochrome c) has a binding site on each complex and is surrounded by the corresponding binding site of the subsequent respiratory chain complex. In supercomplexes, the electron carriers have a short diffusion distance, so electron transfer is more accessible through supercomplexes compared to the liquid model. Complexes III and IV are essential for the stability of complex I. Electron microscopy has confirmed that ATP synthase dimer and respiratory chain form more stable supercomplexes (**Figure 4**) (20, 21).

The significance of respirasomes is not fully elucidated. Supercomplexes are thought to reduce oxidative damage and increase the safety of metabolism. Interaction of respiratory chain complexes within supercomplexes leads to the elucidation of the causes of mitochondrial diseases due to lack of complexes (such as arteriosclerotic vascular disease – activity of complexes I and III is reduced, but complexes I and IV are damaged in Parkinson's disease) (19, 20, 22).

Decreased respiratory chain function as well as changes in coenzyme Q_{10} concentrations, the “ Q_{10} -CLOCK”, may be important in the pathogenesis of altered brain and myocardial function. These changes can help clarify the mechanism that triggers an acute brain and heart attack.

5. Mitochondrial sirtuins

Sirtuins form a group of NAD^+ – dependent proteins – deacetylases. Intracellular NAD^+ concentration and $NAD^+/NADH$ concentration ratio are sensitive to energy metabolism in cells. Sirtuins are cell energy balance sensors, regulate the cell's metabolic response to changes in the bioavailability of nutrition of many tissues, participate in regulation of

a starnutí, na regulácii tvorby ATP, apoptóze a signalizácii buniek.

Mitochondriálne sirtuíny SIRT3, SIRT4 a SIRT5 sú esenciálne pre normálnu funkciu mitochondrií cez interakciu a modifikáciu množstva mitochondriálnych proteínov (23, 24). SIRT3 je zahrnutý v normálnej funkcii rôznych proteínov mitochondrií, zahŕňa oxidáciu mastných kyselín, ketogézu, oxidačnú fosforyláciu, antioxidačný účinok a metabolizmus aminokyselín. SIRT3 interaguje so subjednotkami komplexu I a II, viaže ATP syntázu, reguluje mitochondriálnu transláciu, proces, ktorý môže byť dôležitý pri transporte elektrónov. Menej známe sú funkcie SIRT4 a SIRT5 pri transporte elektrónov. SIRT4 viaže adenín nukleotid translokátor (ANT), ktorý transportuje ATP z mitochondrií do cytoplazmy a ADP do matrixu mitochondrií, kde slúži ako substrát pre ATP syntázu. SIRT5 interaguje s cytochrómom c. Biologická významnosť týchto interakcií nie je známa (25).

Priaznivé účinky sirtuínov boli dokázané pri **prevencii vzniku rôznych chorôb**, ako je zápal, obezita, diabetes, neurodegeneratívne, kardiovaskulárne a onkologické choroby, (rakovina prsníka, pľúc, pankreasu a prostaty) (26, 27). Mitochondriálne sirtuíny regulujú mnohé aspekty funkcií mitochondrií, ako je metabolizmus, tvorba ATP a energetickú rovnováhu. Znížená koncentrácia SIRT3 sa zistila pri rakovine prsníka, neprítomnosť SIRT3 môže vyvolať nádor prsníka. Sirtuíny sú veľmi aktívne v CNS, priamo regulujú odpoveď na stres. Pri Alzheimerovej chorobe mitochondriálny SIRT3 má neuroprotektívny účinok proti poškodeniu voľnými radikálmi kyslíka.

6. Dynamika mitochondrií

Mitochondrie sú veľmi dynamické štruktúry, ktoré kontinuálne podliehajú fúzii a štiepeniu. **Dynamika mitochondrií** je riadená procesmi, ktoré regulujú morfológiu mitochondrií:

1. **Biogenéza mitochondrií**: delením mitochondrií vznikajú nové mitochondrie, zvyšuje sa ich počet a/alebo objem.
2. Staré alebo poškodené mitochondrie sú odstránené štiepením mitochondrií (**fission**).
3. Odstránenie poškodených mitochondrií zabezpečuje autofágia, ktorá sa nazýva mitofágia (**mitophagy**), tvorí sa veľký počet malých a cirkulujúcich mitochondrií.
4. Fúziou (**fusion**) mitochondrií sa tvorí malý počet veľkých a predĺžených mitochondrií.

Fúziu regulujú dva proteíny vonkajšej membrány, **mitofuzín 1** (Mfn1) a **mitofuzín 2** (Mfn2) a jeden proteín **dynamamin-guanozín trifosfát 1** (OPA1), ktorý je lokalizovaný vo vnútornej membráne. Mitochondriálne fuzíny sú dôležité pre mitochondriálne fúzie, v prípade straty ich funkcie sa poškodia aj funkcie mitochondrií (5).

metabolism during stress and aging, in regulation of ATP production, apoptosis, and cell signaling.

Mitochondrial sirtuins SIRT3, SIRT4 and SIRT5 are essential for the normal function of mitochondria through the interaction and modification of the amount of mitochondrial proteins (23, 24). SIRT3 is included in the normal function of various mitochondrial proteins, including fatty acids oxidation, ketogenesis, oxidative phosphorylation, antioxidant effect and amino acid metabolism. SIRT3 interacts with subunits of complexes I and II, binds ATP synthase and regulates mitochondrial translation, a process that may be important in electron transport. Less known are SIRT4 and SIRT5 in electron transport. SIRT4 binds the adenine nucleotide translocator (ANT), which transports ATP from mitochondria to cytoplasm and ADP into the mitochondrial matrix, where it serves as a substrate for ATP synthase. SIRT5 interacts with cytochrome c. The biological significance of these interactions is unknown (25).

The beneficial effects of sirtuins have been demonstrated **in the prevention of various diseases** such as inflammation, obesity, diabetes, neurodegenerative, cardiovascular and oncological diseases (breast, lung, pancreatic and prostate cancer) (26, 27). Mitochondrial sirtuins regulate many aspects of mitochondrial functions such as metabolism, ATP formation and energy balance. A decreased SIRT3 concentration has been detected in breast cancer, the absence of SIRT3 can cause breast cancer. Sirtuins are very active in the CNS, directly regulating the response to stress. In Alzheimer's disease, the mitochondrial SIRT3 has a neuroprotective effect against free radical damage.

6. Dynamics of mitochondria

Mitochondria are very dynamic structures that are continuously subject to fusion and cleavage. **The dynamics of mitochondria** is controlled by processes that regulate the morphology of mitochondria:

1. **Biogenesis of mitochondria**: By dividing the mitochondria, new mitochondria are created, increasing their number and/or volume.
2. Old or damaged mitochondria are removed by **fission**.
3. Removal of damaged mitochondria is provided by autophagy, called **mitophagy**, when a large number of small and circulating mitochondria are formed.
4. A small number of large and prolonged mitochondria are formed by **fusion**. The fusion is regulated by two outer membrane proteins, **mitofusin 1** (Mfn1) and **mitofusin 2** (Mfn2) and one **dynamamin-guanosine triphosphate protein** (OPA1), which is located in the inner membrane. Mitochondrial fusins are important for mitochondrial fusions: in case of loss their function the function of mitochondria is also damaged (5).

7. Chronobiológia mitochondrií myokardu

Mitochondrie sú subcelulárne dynamické častice, ktoré podliehajú osciláciám, **cirkadiánnym** (rytmy s periódou blízko 24 hodín), prípadne **cirkasemiánnym** (rytmy približne s periódou 12 hodín) biologickým rytmom. Zmeny oxidačnej fosforylácie a koncentrácií CoQ_{10} v srdcovom svalu, ktoré sú závislé od denného rytmu, môžu byť spúšťačom patobiochemických zmien srdcového svalu. U pacientov sa vyskytujú bolesti hrudníka najmä v druhej štvrtine dňa, ktoré sa spájajú s akútnym infarktom myokardu. Na tomto ochorení sa môžu podieľať cirkadiánne variácie OXPHOS a koenzýmu Q_{10} mitochondrií myokardu (28, 29). Z etických dôvodov získať chronobiologické informácie o funkciách mitochondrií srdcového svalu možno iba v izolovaných mitochondriách srdcového svalu experimentálnych zvierat.

Funkcia komplexov respiračného reťazca mitochondrií srdcového svalu, tvorba ATP a koncentrácia CoQ_{10} sa mení počas denného 24-hodinového cyklu. V izolovaných mitochondriách srdcového svalu experimentálnych zvierat boli dokázané 12- a 24-hodinové biologické rytmy. Komplexy I a II vykazujú dve maximá (PEAKS 1, 2) a dve minimá (NADIR 1, 2) počas 24-hodín, „**cirkadiánne variácie oxidačnej fosforylácie mitochondrií**“ srdcového svalu.

Funkcia OXPHOS sa hodnotí pomocou jednotlivých parametrov pre komplex I a komplex II. Parameter S_3 (stav S_3) – vyjadruje s ADP stimulovanú tvorbu ATP; S_4 (stav S_4) – je bazálna respirácia mitochondrií; **OPR** – rýchlosť tvorby ATP; **ADP:O** – koeficient oxidačnej fosforylácie, ktorý vyjadruje spojenie oxidácie a fosforylácie; **RCI** – respiračný kontrolný index, ktorý vyjadruje integritu mitochondriálnej membrány. Maximálne hodnoty týchto parametrov pre komplex I a komplex II, ako aj CoQ_9 a CoQ_{10} závisia od denných, cirkadiánnych rytmov, pomocou ktorých možno zistiť časovú následnosť jednotlivých parametrov, tzv. **cirkadiánnu kaskádu oxidačnej fosforylácie** a biologické hodiny CoQ_{10} – „ **Q_{10} -CLOCK**“ (30, 31).

Pre dôkaz kaskády oxidačnej fosforylácie na úrovni komplexu I a komplexu II boli zistené dve maximá (PEAKS) a dve minimá (NADIRS) (**obrázok 5**).

Maximálne hodnoty parametrov OXPHOS komplexu I počas inaktivity potkanov trvajú 5 hodín 20', počas aktivity iba 2 hodiny 32'. Naopak, komplex II počas inaktivity potkanov trvá 2 hodiny 47', počas aktivity 6 hodín 23'. Z uvedeného môžeme predpokladať, že respiračný reťazec mitochondrií tvorí superkomplexy komplexov I a II, ktorých maximálna aktivita v OXPHOS sa vzájomne prelína.

Biologické hodiny koenzýmu Q_{10} v mitochondriách myokardu

Štatisticky významné cirkadiánne a cirkasemiánné hodnoty boli zistené iba pre CoQ_{10} , nie pre CoQ_9 v mitochondriách srdca kontrolných zvierat. Maximá (PEAKS) boli o 03:30 a 15:27

7. Chronobiology of myocardial mitochondria

Mitochondria are dynamic subcellular particles that are subject to oscillations, **circadian** (rhythms with periods close to 24 hours), or **circasemidian** (rhythms with a period approximately 12 hours) biological rhythms. Changes in oxidative phosphorylation and CoQ_{10} concentrations in cardiac muscle and which are dependent on daily rhythm, may trigger pathobiochemical changes in the cardiac muscle. Patients experience chest pain, especially in the second quarter of the day, which are associated with acute myocardial infarction. Circadian variations of OXPHOS and coenzyme Q_{10} of myocardial mitochondria may be involved in this disease (28, 29). For ethical reasons, obtaining chronobiological information about the functions of cardiac muscle mitochondria is only possible in isolated cardiac mitochondria of experimental animals.

The function of the respiratory chain complexes of cardiac mitochondria, ATP formation and CoQ_{10} concentration change over a 24-hours daily cycle. In isolated mitochondria of the heart muscle of experimental animals, 12-hours and 24-hours biological rhythms were demonstrated. Complexes I and II show 2 maxima (PEAKS 1, 2) and 2 minima (NADIR 1, 2) for 24 hours, a „**circadian variation of oxidative phosphorylation**“ of heart muscle mitochondria.

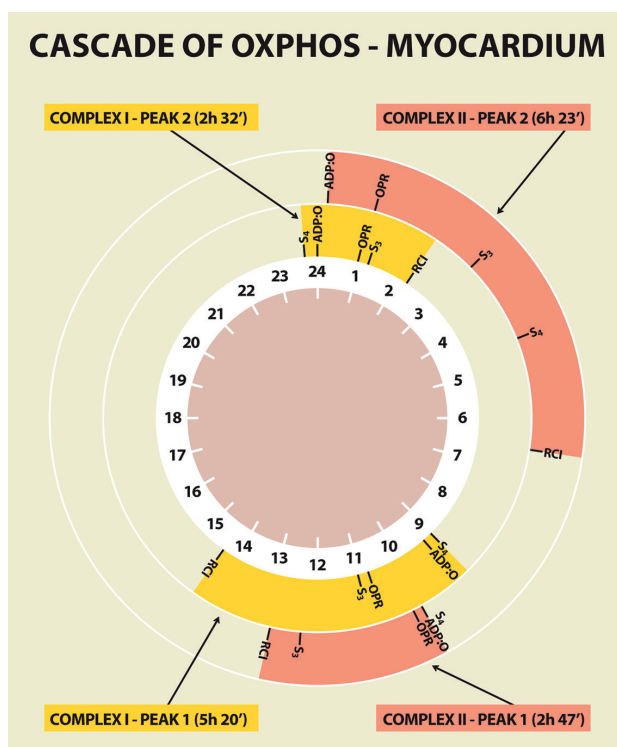
The OXPHOS function is evaluated using the individual parameters for Complex I and Complex II. Parameter S_3 (state S_3) – expresses ADP stimulated respiration; S_4 (S_4 state) – basal respiration of mitochondria; **OPR** – rate of ATP generation; **ADP:O** – coefficient of oxidative phosphorylation, which expresses the oxidation and phosphorylation coupling; **RCI** – a respiratory control index that expresses the integrity of the mitochondrial membrane. The maximum values of these parameters for complex I and complex II, as well as CoQ_9 and CoQ_{10} , depend on daily, circadian rhythms, which can be used to determine the time sequence of individual parameters, **circadian oxidative phosphorylation cascade** and CoQ_{10} biological clock – „ **Q_{10} -CLOCK**“ (30, 31).

For the evidence of the oxidative phosphorylation cascade at complex I and complex II levels, 2 maxima (PEAKS) and 2 minima (NADIRS) were found (**Figure 5**).

The maximum values of the complex I OXPHOS parameters during rat inactivity last 5 hours 20', during activity only 2 hours 32'. In contrast, in complex II during rat inactivity this is 2 hours 47', during activity 6 hours 23'. From the above, we can assume that the mitochondrial respiratory chain consists of supercomplexes of complexes I and II whose maximum activity in OXPHOS is mutually overlapping.

Coenzyme Q_{10} biological clock in myocardial mitochondria

Statistically significant circadian and circasemidian values were found in the heart mitochondria of control animals only for CoQ_{10} , not for CoQ_9 . Maximum (PEAKS) were at 03:30

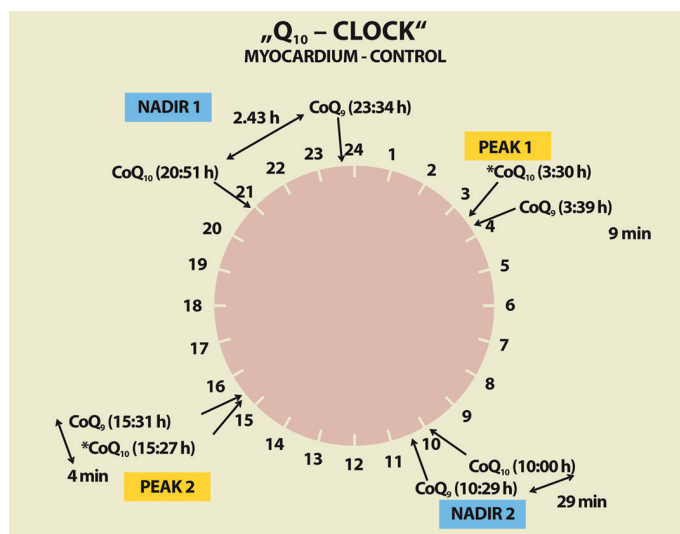


Obrázok 5 Cirkadiánna a cirkasemidiánna kaskáda OXPHOS mitochondrií myokardu kontrolných zvierat

Figure 5 Circadian and circasemidian cascade of OXPHOS in myocardial mitochondria of control animals

hodine, minimá (NADIRS) boli o 20:51 hodine a o 10:00 hodine. Dôležité je, že väčšina cirkadiánnych rytmov u človeka je v opačnej fáze ako u experimentálnych zvierat (potkanov), ktoré sú aktívne v noci a inaktívne počas dňa (obrázok 6).

and 15:27, minimum (NADIRS) were at 20:51 and 10:00. It is important to note that most circadian rhythms in humans are in the opposite phase to experimental animals (rats) that are active at night and inactive during the day (Figure 6).



Obrázok 6 „Q₁₀-CLOCK“ v mitochondriách myokardu

Figure 6 “Q₁₀-CLOCK” in myocardial mitochondria

Predpokladáme, že kaskáda oxidačnej fosforylácie mitochondrií srdcového svalu a biologické hodiny „Q₁₀-CLOCK“ majú významnú úlohu v patogenéze zmenenej funkcie srdca a pri mitochondriálnych kardiomyopatiách. Biologické hodiny „Q₁₀-CLOCK“ v mitochondriách môžu byť kľúčovým parametrom pre regeneráciu mitochondriálnej membrány a pre re-energizáciu srdcových mitochondrií. Zmapovanie mitochondriálneho CoQ₁₀ a tvorby ATP v srdcovom svalu počas 24 hodín môže prispieť k pochopeniu spúšťačov akútnych atakov srdcového svalu (3, 4).

8. Mitochondriálne choroby

Mitochondriálne choroby predstavujú klinicky heterogénnu skupinu porúch ako výsledok poškodenia mitochondrií, ktoré vznikajú primárne na genetickej úrovni alebo sekundárne vplyvom vonkajších faktorov. Sú spojené s nízkou tvorbou energie, zvýšenou tvorbou voľných radikálov a zvýšenou tvorbou kyseliny mliečnej.

Primárne príčiny mitochondriálnych chorôb sú geneticky podmienené a predstavujú podstatnú časť mitochondriálnych chorôb, iné sú získané – **sekundárne príčiny** mitochondriálnych porúch. Poškodenie funkcie a metabolizmu mitochondrií sa prejavuje zlyhaním orgánov a tkanív, ktoré majú vysoké energetické požiadavky na svoju funkciu. Patria sem centrálny nervový systém, srdce a kostrový sval, výsledkom sú encefalomyopatie, kardiomyopatie a myopatie. Geneticky podmienené mitochondriálne choroby sa prejavujú najmä alteráciou funkcie OXPHOS, komplexov respiračného reťazca I-IV, transportu elektrónov, protónov, koncentrácie koenzýmu Q₁₀, prísunu kyslíka, (pri anémii alebo ischémii), zvýšenou permeabilitou membrány, poškodením membránového potenciálu a tvorby ATP. Tieto poruchy funkcií mitochondrií sú asociované s takými patologickými stavmi srdca, ako je hypertrofická, dilatačná alebo alkoholová kardiomyopatia, ako aj s myokarditídami (32, 33).

Poruchy vo funkcii **proteínov** respiračného reťazca sa prejavujú nielen v srdci, ale aj v poškodení mozgu a kostrového svalu. Okrem zmeny bioenergetiky mitochondrií môže dôjsť k alteráciám signalizácie medzi mitochondriami a jadrom bunky, s následným poškodením degradačných procesov (34). Genetické poruchy β-oxidácie mastných kyselín sú spojené s mitochondriálnymi chorobami, ktoré sa prejavujú vznikom hypoglykémie, rôznymi myopatiami, kardiomyopatiami, steatózou pečene, prípadne až kómou. Vo vzťahu k β-oxidácii mastných kyselín sa vyskytuje nedostatok karnitínu. Mevalónová kyselina je dôležitá v transporte mastných kyselín cez membránu mitochondrií (35).

We assume that the cascade of oxidative phosphorylation and biological clock “Q₁₀-CLOCK” of heart muscle mitochondria have an important role in the pathogenesis of altered cardiac function and in mitochondrial cardiomyopathies. Biological “Q₁₀-CLOCK” in the mitochondria can be a key parameter for regenerating the mitochondrial membrane and re-energizing cardiac mitochondria. Mapping of mitochondrial CoQ₁₀ and ATP formation in the heart muscle for 24 hours can help to understand the trigger of acute heart attacks (3, 4).

8. Mitochondrial diseases

Mitochondrial diseases represent a clinically heterogeneous group of disorders as a result of mitochondrial damage that originates primarily at the genetic level or secondary due to external factors. They are associated with low energy production, increased free radicals formation and increased lactic acid production.

Primary causes of mitochondrial diseases are genetically induced and represent a major part of mitochondrial diseases, others are acquired – **secondary causes** of mitochondrial disorders. Damage of the function and metabolism of mitochondria is manifested by failure of tissues and organs that have high energy requirements for their function. These include central nervous system, heart and skeletal muscle, resulting in encephalomyopathy, cardiomyopathy and myopathy. Genetically induced mitochondrial diseases are mainly manifested by alteration of OXPHOS function, respiratory chain complexes I – IV, transport of electrons and protons, coenzyme Q₁₀ concentrations, oxygen supply (in anemia or ischemia), increased membrane permeability, damage of membrane potential, and ATP formation. These disorders of mitochondrial function are associated with pathological conditions of the heart such as hypertrophic, dilated or alcoholic cardiomyopathy, as well as with myocarditis (32, 33).

Disorders in the function of the respiratory chain **proteins** are manifested by damage not only in the heart, but also in the the brain and skeletal muscle. In addition to changes in the bioenergetics of mitochondria, signaling alterations may occur between the mitochondria and the cell nucleus, resulting in damage of the degradation processes (34). Genetic disorders of β-oxidation of fatty acids are associated with mitochondrial diseases, which are manifested by the occurrence of hypoglycemia, various myopathies, cardiomyopathies, liver steatosis, possibly up to the coma. In relation to β-oxidation of fatty acids there is a deficiency of carnitine. Mevalonic acid is important in the transport of fatty acids through the mitochondrial membrane (35).

9. Mitochondriálne kardiomyopatie

Názov „kardiomyopatia“ (KMP) do klinickej kardiológie zaviedol profesor Bridgen v roku 1957. Na základe WHO klasifikácie – KMP predstavujú skupinu rôznorodých ochorení srdca, pri ktorých ide o chronický, idiopatický patologický proces, postihujúci predovšetkým srdcový sval (nepatria sem ischemické ani zápalové poškodenia myokardu).

Kardiomyopatie sú primárne a sekundárne. **Primárne kardiomyopatie** majú nejasnú (pravdepodobne geneticky determinovanú) etiológiu. **Hypertrofická KMP** (s obštrukciou alebo bez obštrukcie) je charakterizovaná asymetrickou hypertrofiou steny ľavej komory, (ktorá nemá charakter adaptácie na hemodynamické preťaženie), dobrou systolickou, ale narušenou diastolickou funkciou, alterovanou štruktúrou priebehu svalových vlákien. **Dilatačná KMP** – je charakterizovaná dilatáciou ľavej komory a ostatných dutín srdca, nízkou systolickou funkciou s poruchou kinetiky stien ľavej komory, závažnými komorovými dysrhythmiami a tvorbou vnútrokomorových trombov. **Reštriktívna KMP** – je charakterizovaná variabilnými štruktúrnymi zmenami endo- a myokardu, zmenšením dutiny a sprievodnou reštrikciou plnenia ľavej prípadne aj pravej komory. **Arytmogénna dysplázia pravej komory** sa prejavuje sklonom k závažným dysrhythmiami na základe štruktúrnych zmien dominantne v pravej komore.

Na druhej strane **sekundárne KMP** zahŕňajú špecifické poškodenie myokardu s jasnou etiológiou, ako sú endokrinopatie, alkohol, fajčenie, ťažké kovy, poruchy výživy, amyloidóza, metabolické choroby alebo neurodegeneratívne ochorenia.

Mitochondrie majú vlastný genóm, ktorý kóduje 22 génov ribozomálnej (rRNA), dva gény transferovej ribonukleovej kyseliny (tRNA) a 13 subjednotiek respiračného reťazca, ktoré sú dôležité pre OXPHOS. Mutácie mtDNA alebo nDNA vyvolávajú poškodenie funkcie mitochondrií, ktoré sú zahrnuté do názvu **mitochondriálne choroby**. Viac ako 30 génov mtDNA je zodpovedných za väčšinu mitochondriálnych chorôb, ktoré sa zistili u dospelých jedincov.

Mitochondriálne kardiomyopatie (MITO-KMP) sú charakterizované poškodením štruktúry, funkcie a metabolismu srdcového svalu. **Primárna príčina** mitochondriálnych chorôb je v alterácii jadrovej DNA (nDNA), ktorá kóduje proteíny mitochondrií alebo v mtDNA. To sa následne prejaví poškodením subjednotiek respiračného reťazca, poruchami pohyblivosti mitochondrií alebo transkripcie a translácie. Výsledkom mutácii mtDNA je dysfunkcia mitochondriálneho respiračného reťazca, zníženie tvorby ATP a zmeny v β -oxidácii mastných kyselín. **Sekundárne príčiny** porúch mitochondrií spôsobujú rôzne faktory, ako je ischemicko-reperfúzne poškodenie srdca, diabetes mellitus, onkologické ochorenia, alkoholizmus, fajčenie, chronický stres a starnutie.

9. Mitochondrial cardiomyopathies

The term “cardiomyopathy” (CMP) was introduced to clinical cardiology by Professor Bridgen in 1957. Based on the WHO classification, CMP represent a group of heterogeneous heart diseases which are chronic, idiopathic pathological processes, primarily affecting the cardiac muscle (not including ischemic or inflammatory myocardial damage).

Cardiomyopathies are primary and secondary. **Primary cardiomyopathies** have an unclear (probably genetically determined) etiology. **Hypertrophic CMP** (obstructive or non-obstructive) is characterized by asymmetric left ventricular wall hypertrophy (not having the character of adaptation to hemodynamic overload), good systolic but disturbed diastolic function and altered structure of muscle fibers. **Dilated CMP** – is characterized by dilatation of the left ventricle and other heart cavities, low systolic function with left ventricular wall kinetics, severe ventricular dysrhythmias, and intraventricular thrombus formation. **Restrictive CMP** – is characterized by variable structural changes in the endomyocardium and myocardium, reduction of the heart cavity, and concomitant restriction of left and right ventricular filling. **Arrhythmogenic right ventricular dysplasia** is manifested by a tendency to severe dysrhythmias due to structural changes dominantly in the right ventricle.

On the other hand, **secondary CMPs** include specific myocardial damage of a known etiology such as endocrinopathy, alcohol, smoking, heavy metals, nutritional disorders, amyloidosis, metabolic diseases or neurodegenerative diseases.

Mitochondria have their own genome that codes for 22 ribosomal (rRNA) genes, 2 transfer ribonucleic acid (tRNA) genes, and 13 respiratory subunits important for OXPHOS. Mutations of mtDNA or nDNA induce impairment of mitochondrial functions, which are included in the term **mitochondrial diseases**. More than 30 genes of mtDNA are responsible for most of the mitochondrial diseases that have been detected in adult subjects.

Mitochondrial cardiomyopathy (MITO-CMP) is characterized by damage to the structure, function and metabolism of the heart muscle. The **primary cause** of mitochondrial diseases is the alteration of nuclear DNA (nDNA) that encodes mitochondrial proteins or mtDNA. This is subsequently manifested by damage to the respiratory chain subunits, mitochondrial mobility disorders or transcription and translation. The mtDNA mutations result in dysfunction of the mitochondrial respiratory chain, decrease in ATP production and changes in β -oxidation of fatty acids. **Secondary causes** of mitochondrial disorders are caused by various factors, such as myocardial ischemic-reperfusion injury, diabetes mellitus, oncological diseases, alcoholism, smoking, chronic stress and aging.

Mutácie mtDNA, s poškodením OXPHOS, boli identifikované vo viac ako 37 génoch. KMP bývajú sprevádzané poruchami mitochondriálneho respiračného reťazca a tvorby ATP, deficitom CoQ₁₀ a zvýšenou permeabilitou membrány. MITO-KMP zahŕňajú aj iné zmeny mitochondrií na úrovni OXPHOS (NADH-CoQ-reduktáza, CoQ-viazané proteíny, cytochróm c oxidázy, cytochrómy bc₁ a cytochrómy aa₃, poškodenie funkcie adeninnukleotid translokátora – ATPázy), poruchy v syntéze enzýmov dehydrogenáz (dlhé reťazce acyldehydrogenázy CoA, pyruvátdehydrogenázy, α-ketoglutarátdehydrogenázy), karnitínového cyklu a kreatínkinázového systému. MITO-KMP sú často spojené s chorobami viacerých systémov. Väčšina pacientov s neuromuskulárnymi príznakmi má normálne alebo mierne zvýšené hladiny kreatínkinázy a normálny elektrokardiogram. U 10 % pacientov sa vyskytujú abnormálne hladiny enzýmov pečene, môže byť poškodená funkcia obličiek a pankreasu, prítomné kožné ekzémy, vitiligo, nízky vzrast u 20 % pacientov, strata sluchu alebo zraku, gastrontestinálne príznaky (36).

Chagasova KMP sa prejavuje u pacientov oxidačným stresom a zníženou antioxidačnou kapacitou, glutation, glutation peroxidáza a Mn-SOD boli znížené. Tieto poruchy podporujú názor esenciálnej úlohy rovnováhy medzi antioxidačnými procesmi a oxidačným stresom vo vzťahu k dysfunkcii mitochondrií.

Kearns-Sayre syndróm je formou mitochondriálneho diabetu. Tento syndróm sa pozoroval u adolescentov. Je charakterizovaný oftalmoplégiou, pigmentovou retinopatiou, poruchami vedenia srdcového systému, svalovými alteráciami a endokrinopatiami s dominanciou DM. Molekulárnymi analýzami sa zistili heteroplazmické delécie mtDNA (37). Na vzniku získaných mitochondriálnych porúch sa podieľa aj **ischemicko-reperfúzne** poškodenie. Patologická alterácia mitochondrií zvyšuje permeabilitu membrány otvorením MPTP.

10. Funkcie mitochondrií v endomyokardiálnych biopsiách u pacientov

U pacientov s kardiopatiami s neznámou etiológiou, krvným tlakom < 160/90, BMI < 30, vo veku 18 – 60 rokov, v endomyokardiálnych biopsiách bola zistená znížená funkcia respiračného reťazca a tvorba ATP v mitochondriách (38).

V endomyokardiálnych biopsiách u pacientov po transplantácii srdca znížená tvorba ATP v mitochondriách a znížená koncentrácia koenzýmu Q₁₀ (**obrázok 7**) je v korelácii so zvyšujúcim sa stupňom rejekcií transplantovaného srdca.

So zvyšovaním intenzity rejekcie HTx dochádza k významnejšiemu poškodeniu respiračného reťazca a OXPHOS – na úrovni komplexu II, koenzýmu Q₁₀ a komplexu V, čo sa prejavuje zníženou tvorbou energie vo forme ATP (**obrázok 8**).

Mutations of mtDNA with OXPHOS damage were identified in more than 37 genes. CMPs are accompanied by disorders of the mitochondrial respiratory chain and ATP production, CoQ₁₀ deficiency and increased membrane permeability. MITO-CMPs also include other changes in OXPHOS (NADH-CoQ reductase, CoQ-binding proteins, cytochrome c oxidase, cytochrome bc₁ and cytochrome aa₃, adenine nucleotide translocator damage – ATPases), disorders in the synthesis of dehydrogenase enzymes (long chain acyl-CoA dehydrogenase, pyruvate dehydrogenase, α-ketoglutarate dehydrogenase), the carnitine cycle and the creatine kinase system. MITO-CMPs are often associated with multiple system diseases. Most patients with neuromuscular symptoms have normal or mildly elevated levels of creatine kinase and a normal electrocardiogram. 10% of patients have elevated levels of liver enzymes, impaired renal and pancreatic function, skin eczema, vitiligo and 20% of patients have short stature, loss of hearing or vision, gastrointestinal symptoms (36).

Chagas CMP is manifested by increased lipid peroxidation, increased oxidative stress and reduced antioxidant capacity. Glutathione, glutathione peroxidase and Mn-SOD are reduced. These disorders support the view of the essential role of the balance between antioxidant processes and oxidative stress in relation to dysfunction of mitochondria.

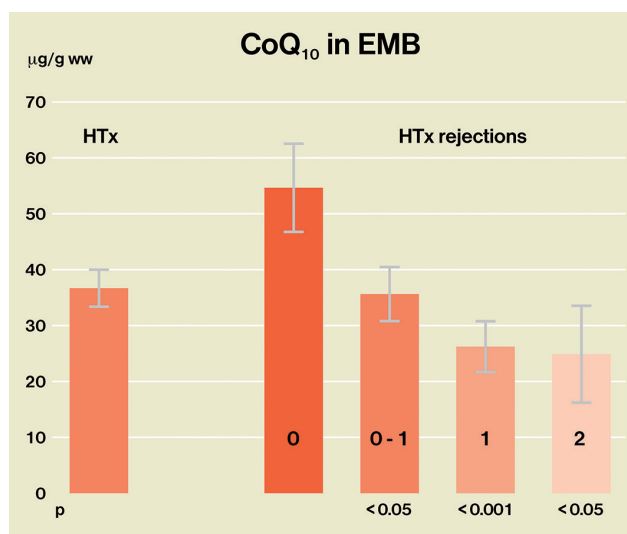
Kearns-Sayre syndrome is a form of mitochondrial diabetes. This syndrome was observed in adolescents. It is characterized by ophthalmoplegia, pigmentary retinopathy, cardiac conduction disorders, muscular alterations and endocrinopathies with dominance of DM. Molecular analyzes revealed heteroplasmic deletions of mtDNA (37). **Ischemic-reperfusion** injury is also associated with mitochondrial disorders. Pathological alteration of mitochondria increases membrane permeability by opening MPTP.

10. Function of mitochondria in endomyocardial biopsies in patients

In patients with cardiopathy of unknown etiology, blood pressure < 160/90, BMI < 30, aged 18-60 years, reduced respiratory chain function and ATP production in mitochondria of endomyocardial biopsies have been found (38).

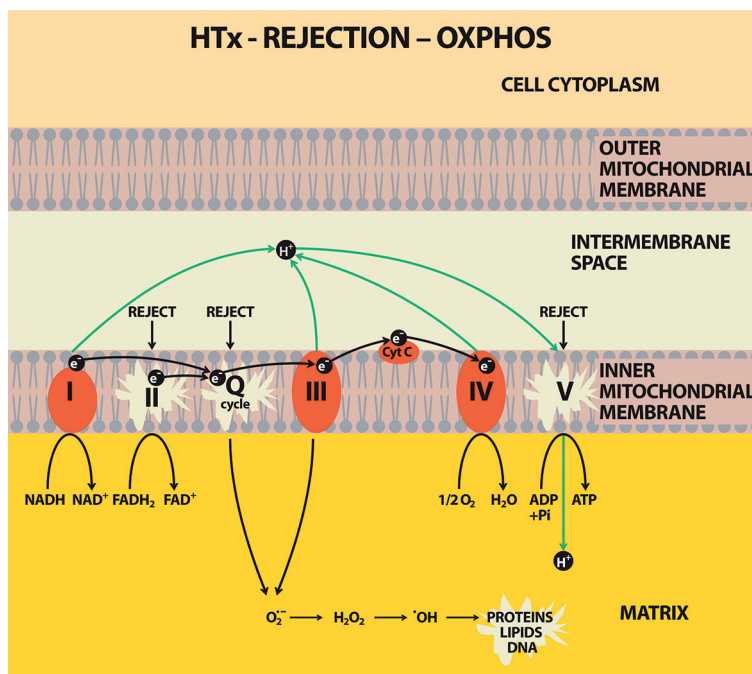
In endomyocardial biopsies of patients after heart transplantation, decreased ATP generation in mitochondria and decreased coenzyme Q₁₀ concentration (**Figure 7**) correlated with an increasing degree of the rejection.

Increased intensity of HTx rejection results in more significant damage of the respiratory chain and OXPHOS – at level of complex II, coenzyme Q₁₀ and complex V, which results in reduced energy generation in the form of ATP (**Figure 8**).



Obrázok 7 Vzťah medzi koncentráciou CoQ₁₀ v EMB a stupňom rejekcie transplantovaného srdca u pacientov

Figure 7 The relationship between CoQ₁₀ concentration in EMB and degree of rejection of the transplanted heart



Obrázok 8 Vplyv rejekcie HTx na oxidačnú fosforyláciu mitochondrií v EMB

Figure 8 Effect of HTx rejection on mitochondrial oxidative phosphorylation in EMB

11. Podporná a cieleňá terapia pacientov s poruchami funkcie srdcového svalu s koenzýmom Q₁₀

K prvým autorom, ktorí v roku 1981 použili CoQ₁₀ ako podpornú terapiu u pacientov s dilatačnou KMP, patria Karl Folkers, „otec koenzýmu Q₁₀“ a Per Langsjoen. Pacienti

11. Supportive and targeting therapy with coenzyme Q₁₀ in patients with heart muscle functions disorders

Among the first authors who used CoQ₁₀ as a supportive therapy in patients with dilated CMP in 1981 were Karl Folkers, “Father of Coenzyme Q₁₀” and Per Langsjoen. Patients

s NYHA III a IV boli stabilizovaní konvenčnou terapiou. Podporná terapia s dennou dávkou 100 mg CoQ₁₀ zlepšila po šiestich mesiacoch podávania ejekčnú frakciu z 41 % na 59 % (39). Množstvo multicentrických štúdií potvrdilo praznivý účinok CoQ₁₀ u pacientov s kardiovaskulárnymi chorobami (40) a srdcovým zlyhávaním (41). V multicentrickej štúdii sa sledoval dvojročný účinok podávania CoQ₁₀ v denných dávkach 3 x 100 mg CoQ₁₀ u 420 starších pacientov s dilatačnou KMP a ejekčnou frakciou > 30 % funkčnej triedy NYHA III. Kardiovaskulárna mortalita liečených pacientov sa zredukovala zo 16 na 9 %, pričom sa zlepšila funkčná trieda NYHA a znížil sa počet hospitalizácií takmer o polovicu. Na zlepšení príznakov pacientov so zlyhávaním srdca sa podieľa viacero mechanizmov, predovšetkým zlepšenie energetického metabolizmu a funkcie endotelu (42). Podporná terapia s CoQ₁₀ u pacientov so zlyhávajúcim srdcom je bezpečná, dobre tolerovaná, spojená s redukciou subjektívnych ťažkostí pacientov (43). U pacientov s hypertenziou bol dokázaný priaznivý účinok hydrosolubného CoQ₁₀, v denných dávkach 2 x 60 mg počas ôsmich týždňov v zmysle zníženia systolického aj diastolického krvného tlaku, koncentrácie glukózy, konjugovaných diénov, oxidačného stresu a triacylglycerolov. CoQ₁₀ stimuloval tvorbu HDL cholesterolu (44). CoQ₁₀ sa podieľa na regulácii hladiny plazmatického inzulínu, lipoproteínov, krvného tlaku, IL-6, TNF-alfa v sére pri akútnom infarkte myokardu (45). Benefit CoQ₁₀ sa prejavil aj u pacientov, ktorí užívali 14 dní 100 mg CoQ₁₀ denne pred chirurgickým zákrokom – zavedením by-passu a pri výmene chlopni. Po chirurgickom zákroku pacienti užívali ďalej 100 mg CoQ₁₀ denne počas 30 dní. Zlepšil sa nielen energizmus a funkcia ľavej komory, ale aj pooperačný čas sa skrátil z 15 – 30 dní na päť dní (46). U pacientov s diabetickou kardiomyopatiou sa preukázal benefit chronického podávania CoQ₁₀, alfa-lipoovej kyseliny a vitamínu E v podobe zníženia oxidačného stresu, zlepšenia funkcie myokardu a kvality života pacientov. Je pravdepodobné, že dlhodobá podporná terapia koenzýmom Q₁₀ (v denných dávkach 2 x 30 mg), alfa-lipoovou kyselinou (denne 2 x 50 mg), vitamínom E (2 x 100 mg denne) by mohla priniesť terapeutický benefit (47, 48, 49).

V ostatných rokoch je dostupná redukovaná forma CoQ₁₀ – ubiquinol (UbiquinolTM, Kaneka, Japonsko), u ktorého bola dokázaná trojnásobne vyššia biologická dostupnosť. U pacientov so srdcovým zlyhaním denné dávky CoQ₁₀ počas 9 – 20 mesiacov podávania boli vysoké a predstavovali 150 – 600 mg ubiquinolu (v priemere 332 mg ubiquinolu), čo viedlo k zlepšeniu systolickej aj diastolickej funkcie srdca, zlepšeniu NYHA klasifikácie z NYHA IV na NYHA II a ejekčnej frakcie z 20 % na 39 % (50).

V súčasnom období Európska komisia, Európsky Parlament a Európska Rada rozhodli o určení Ubichinolu ako lieku na ojedinelé choroby pri regulácii Európskej komisie No. 141/2000, v Bruseli 14.10.2016. Ojedinelé choroby sa týkajú primárneho deficitu koenzýmu Q₁₀ v závažných zried-

with NYHA III and IV were stabilized by conventional therapy. Supportive therapy with a daily dose of 100 mg CoQ₁₀ improved the ejection fraction from 41% to 59% after 6 months of treatment (39). A number of multicenter studies have confirmed the beneficial effect of CoQ₁₀ in patients with cardiovascular diseases (40) and heart failure (41). In a multicenter study, the 2-year effect of CoQ₁₀ administration was monitored in daily doses of 3x100 mg CoQ₁₀ in 420 elderly patients with dilated CMP and an ejection fraction > 30% of the NYHA III functional class. The cardiovascular mortality of treated patients has been reduced from 16 to 9%, while the NYHA class has improved and the number of hospitalizations has been reduced by almost half. Several mechanisms are involved in improving the symptoms of patients with heart failure, particularly the improvement of energy metabolism and endothelial function (42). Supportive therapy with CoQ₁₀ in heart failure patients is safe, well tolerated, coupled with reducing the subjective problems of patients (43). In hypertensive patients, the beneficial effect of the hydrosoluble CoQ₁₀ at daily doses of 2x60 mg for 8 weeks was demonstrated in the reduction of both systolic and diastolic blood pressure, glucose concentrations, conjugate dienes, oxidative stress and triacylglycerols. CoQ₁₀ stimulated HDL-cholesterol production (44). CoQ₁₀ is involved in the regulation of plasma insulin levels, lipoproteins, blood pressure, IL-6, TNF-alpha in acute myocardial infarction (45). The benefit of CoQ₁₀ has also been shown in patients who received 14 days of 100 mg CoQ₁₀ daily prior to surgery – bypass grafting and valve replacement. After a surgical procedure, patients used 100 mg of CoQ₁₀ daily for 30 days. Not only the energy and function of the left ventricle improved, but also the postoperative time was reduced from 15-30 days to 5 days (46). Patients with diabetic cardiomyopathy have been shown to benefit from chronic administration of CoQ₁₀, alpha-lipoic acid and vitamin E by a reduction of oxidative stress, improvement of heart function, and the quality of life of patients. Long-term supportive therapy with coenzyme Q₁₀ (2x30 mg daily), alpha-lipoic acid (2x50 mg daily), vitamin E (2x100 mg daily) could be therapeutically beneficial (47, 48, 49).

In recent years, a reduced form of CoQ₁₀ – ubiquinol (UbiquinolTM, Kaneka, Japan) is available, which has been shown to be three times more bioavailable. In patients with heart failure, daily dose of ubiquinol 150-600 mg (332 mg ubiquinol on average) for 9-20 months of treatment was used that improved both systolic and diastolic heart function, improved NYHA classification from NYHA IV to NYHA II and the ejection fraction from 20% to 39% (50).

At present, the European Commission, the European Parliament and the European Council have decided to identify Ubiquinol as a medicine for rare diseases under the European Commission's Regulation No. 141/2000, Brussels, 14.10.2016. The rare diseases concern primary deficiency of coenzyme

kavých chorobách, ktoré môžu pôsobiť na svalové, nervové a renálne systémy.

CoQ₁₀ je priamym zdrojom tvorby energie stimuláciou OXPHOS v mitochondriách srdcového svalu, pričom pri fyziologických podmienkach sa nachádza v 90 % ubiquinolu a v 10 % ubiquinónu (oxidovaná forma CoQ₁₀). Na základe doterajších štúdií viacerí autori odporúčajú podávanie CoQ pri kardiovaskulárnych chorobách ako podpornú terapiu, ktorá redukuje stupeň poškodenia srdca a zlepšuje kvalitu života pacientov s určitým typom kardiovaskulárnej patológie. Terapeutická intervencia s CoQ₁₀ pri mitochondriálnych kardiomyopatiách je odôvodnená iba v prípadoch deficitu CoQ₁₀. Denné dávky a doba používania CoQ₁₀ závisia od základnej terapie, závažnosti a typu ochorenia a pridružených komplikácií, pričom jeho podávanie sa neodporúča pri terapii warfarínom a v tehotenstve.

Záver

Mitochondriálna kardiológia poukazuje na nezastupiteľný význam mitochondrií v kardiomyocytoch vzhľadom na zabezpečenie tvorby požadovaného množstva energie vo forme ATP, zníženia oxidačného stresu a podpornej terapie s koenzýmom Q₁₀, ktorá má významné miesto v prevencii vzniku kardiovaskulárnych komplikácií.

Cieľená terapia s koenzýmom Q₁₀ má perspektívny význam aj v prevencii vzniku a vývoja rejekcie transplantovaného srdca, znížení finančných nákladov na hospitalizáciu a liečbu pacientov s kardiovaskulárnymi chorobami a ponúka perspektívny prístup kardiológov v prevencii a cieľenej terapii poškodených mitochondrií srdcového svalu.

Literatúra/References

- Brilla C, Janicki JS, Weber KT. Impaired diastolic function and coronary reserve in genetic hypertension. Role of interstitial fibrosis and medial thickening intramyocardial coronary arteries. *Circ Res* 1991;69:107-115.
- Gvozdzáková A. Mitochondrial Medicine. Netherlands: Springer; 2008:409.
- Endo T, Yamamoto H, Esaki M. Functional cooperation and separation of translocators in protein import into mitochondria, the double-membrane bounded organelles. *J Cell Sci* 2003;116:3259-3267.
- Fleury CH, Mignone B, Vayssiere JL. Mitochondrial reactive oxygen species and apoptosis. In: Ebadi M, Marwah J, Chopra R (eds). Mitochondrial ubiquinone (Coenzyme Q₁₀). Prominent Press 2001:361-398.
- Osborne B, Bentely NL, Montgomery MK, Turner N. The role of mitochondrial sirtuins in health and disease. *Free Rad Biol Med* 2016 <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.04.197>.

Q₁₀ in serious rare diseases that can affect muscular, nervous and renal systems.

CoQ₁₀ is a direct source of energy formation through OXPHOS stimulation in cardiac muscle mitochondria, under physiological conditions in 90% in form of ubiquinol and in 10% in form of ubiquinone (the oxidized form of CoQ₁₀). Based on previous studies, several authors recommend CoQ for cardiovascular diseases as a supportive therapy that reduces the degree of heart damage and improves the quality of life of patients with a certain type of cardiovascular pathology. Therapeutic intervention with CoQ₁₀ in mitochondrial cardiomyopathies is justified only in cases of CoQ₁₀ deficiency. Daily doses and duration of CoQ₁₀ treatment depend on basic therapy, severity and type of disease and associated complications, and its use is not recommended in warfarin therapy and pregnancy.

Conclusion

Mitochondrial cardiology points to the irreplaceable importance of cardiomyocyte mitochondria in terms of providing the required amount of energy in the form of ATP, reduction of oxidative stress, and supportive therapy with coenzyme Q₁₀ that has a significant role in preventing the development of cardiovascular complications.

Targeting therapy with coenzyme Q₁₀ is also of potential importance in preventing the onset and development of rejection of the transplanted heart, reducing the costs of hospitalization and treating patients with cardiovascular diseases, and offers a perspective approach to cardiologists in the prevention and targeting therapy of damaged heart muscle mitochondria.

- Montgomery R, Conway TW, Spector AA. Biochemistry. A case-oriented approach, 5th edn. St. Louis, Baltimore, Philadelphia, Toronto: CV Mosby Company; 1990:905.
- Đuračková Z. Some current insights into oxidative stress. *Physiological Research* 2010;59:459-469.
- Gvozdzáková A. Mitochondrial Medicine. Netherlands: Springer; 2008:409.
- Bruckdorfer R. The basics about nitric oxide. *Mol Aspects* 2005;26:3-31.
- Ghafourifar P, Richter C. Nitric oxide synthase activity in mitochondria. *FEBS Lett* 1997;18:291-296.
- Ghafourifar P, Cadenas E. Mitochondrial nitric oxide synthase. *Trends Pharmacol Sci* 2005;26/4:190-195.
- Đuračková Z. Oxidants, antioxidants and oxidative stress. In: Gvozdzáková A. Mitochondrial Medicine. Netherlands: Springer; 2008:19-49.
- Indo HP, Yen HC, Nakanishi I, Matsumoto K, Tamura M, Nagano Y, Matsui H, Gusev O, Cornette R, Okuda T, Minamiyama Y, Ichikawa H, Suenaga S, Oki M, Sato T, Ozawa T, Clair DK, Majima HJ. A mitochondrial superoxide theory

- for oxidative stress diseases and ageing. *J Clin Biochem Nutr* 2015;56:1-7.
14. Aruoma OI. Free Radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *J Am Oil Chem Soc* 1988;75/2:199-212.
 15. Beyer RE. The participation of coenzyme Q in free radical production and antioxidation. *Free Rad Biol Med* 1990;8:545-565.
 16. Genova ML, Pich MM, Biondi A, Bernacchia A, Falasca A, Bovina C, Formiggini G, Castelli G, Lenaz G. Mitochondrial production of oxygen radical species and the role of coenzyme Q as antioxidant. *Exp Biol Med* 2003;228/5:506-513.
 17. Fleury CH, Mignone B, Vayssiere JL. Mitochondrial reactive oxygen species and apoptosis. In: Ebadi M, Marwah J, Chopra R (eds). *Mitochondrial ubiquinone (Coenzyme Q₁₀)*. Prominent Press: 2001;361-398.
 18. Schäfer E, Dencher NA, Vonck J, Parcej DN. Three-dimensional structure of the respiratory chain supercomplexes I I III₂ IV₁ from bovine heart mitochondria. *Biochemistry* 2007;46/44:12579-12585.
 19. Vonck J, Schäfer E. Supramolecular organization of protein complexes in the mitochondrial inner membrane. *Biochim Biophys Acta* 2009;1793:117-124.
 20. Otera H, Ishihara N, Mihara K. New insight into the function and regulation of mitochondrial fission. *Biochim Biophys Acta* 2013;1833:1256-1268.
 21. Ni Hong-Min, Williams JA, Ding WX. Mitochondrial Dynamics and mitochondrial quality control. *Redox Biology* 2015;4:6-13.
 22. Acín-Pérez R, Fernánbdez-Silva P, Peletao ML, Pérez-Martos A, Enriquez JA. Respiratory active mitochondrial supercomplexes. *Molecular Cell* 2008;32:529-539.
 23. Peek CB, Affinati AH, Ramsey KM, Kuo HY, Yu W, Sena LA, Ilkayeva O, Marcheva B, Kobayashi Y, Omura C, Levine DC, Bacsik DJ, Gius D, Newgard CB, Goetzman E, Chandel NS, Denu JM, Bass J. Circadian clock NAD⁺ cycle drives mitochondrial oxidative metabolism in mice. *Science* 2013;342:591-1243417-1-8.
 24. Peek CB, Ramsey KM, Levine DC, Marcheva B, Perelis M, Bass J. Circadian regulation of cellular physiology. *Methods in Enzymology* 2015;552:165-184.
 25. Li X, Kazgan N. Mammalian sirtuins and energy metabolism. *Int J Biol Sci* 2011;7/5:575-587.
 26. Haigis MC, Sinclair DA. Mammalian sirtuins: biological insights and disease relevance. *Annu Rev Pathol* 2010;5:253-295.
 27. He W, Newman JC, Wang MZ, Ho L, Verdin E. Mitochondrial sirtuins: regulators of protein acylation and metabolism. *Trend in Endocrinology and Metabolism* 2012;23/9:467-476.
 28. Halberg F, Cornélissen G, Singh RB, Gvozdzáková A, Otsuka K, Beaty L, Katinas G, Hermida R, Ayala D, Czaplicki J. Chronobiology, chronomics and N-of-1 tests of timing coenzyme Q₁₀. In: Gvozdzáková A. *Mitochondrial Medicine*. Netherlands: Springer; 2008;55-92.
 29. Mikulecký M. Methods of chronometric analysis of mitochondrial function. In: Gvozdzáková A. *Mitochondrial Medicine*. Netherlands: Springer; 2008;93-102.
 30. Gvozdzáková A a kol: *Mitochondriálna medicína a koenzým Q₁₀*. Bratislava: HERBA; 2017:228.
 31. Gvozdzáková A, Mikulecký M, Crane FL, Kucharská J, Cornelissen G, Kumar A, Palacka P, Singh RB. Mitochondrial cardiomyopathy and coenzyme Q₁₀. *World Heart Journal* 2014;6/1:29-46.
 32. Di Mauro S, Schon EA. Mitochondrial DNA mutations in human diseases. *Am J Med Genet* 2001;106:18-26.
 33. Wallace D. Mitochondrial defects in cardiomyopathy and neuromuscular diseases. *Am Heart J* 2000;138:S70-S85.
 34. Marin-Garcia J, Goldenthal MJ. Understanding the impact of mitochondrial defects in cardiovascular disease: a review. *J Card Fail* 2002;8:347-361.
 35. Stanley CA. New genetic defects in mitochondrial fatty acid oxidation and carnitine deficiency. *Adv Pediatr* 1987;34:59-88.
 36. Meyers DE, Basha HI, Koenig MK. Mitochondrial cardiomyopathy. *Tex Heart Inst J* 2013;40/4:385-394.
 37. Laloi-Michelin M, Virally M, Jardel, et al. Kearns-Sayre syndrome: an unusual form of mitochondrial diabetes. *Diabetes Metab* 2006;32:182-186.
 38. Gvozdzáková A, Kucharská J, Mizera S, Šnircová M, Schreinerová Z, Schrameková E, Pechán I, Fabián J. Metabolické štúdie mitochondrií v biopsiách myokardu u pacientov s kardiomyopatiami nejasného pôvodu. *Bratisl Lek Listy* 1996;97:348-350.
 39. Langsjoen H, Langsjoen PH, Folkers K. Long-term efficacy and safety of coenzyme Q10 therapy for idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 1990;65:521-523.
 40. Langsjoen H, Langsjoen P, Willis R, Folkers K. Usefulness of coenzyme Q10 in clinical cardiology: a long-term study. *Mol Aspects Med* 1994;15(Suppl):165-175.
 41. Mortensen SA. Overview on coenzyme Q10 as adjunctive therapy in chronic heart failure. Rationale design and end-points of "Q-Symbio" a multinational trial. *Biofactors* 2013;18/1-4:79-89.
 42. Rosenfeldt F, Marasco S, Lyon W, et al. Coenzyme Q10 therapy before cardiac surgery improves mitochondrial function and in vitro contractility of myocardial tissue. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005;129:25-32.
 43. Mortensen SA, Rosenfeldt F, Kumar A, Dolliner P, Filipiak KJ, Pella D, Alehagen U, Stener G, Littarru P. The effect of coenzyme Q10 on morbidity and mortality in chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol HF* 2014;2:641-649.
 44. Singh RB, Rastohi SS, Moshiri M. CoQ10 and its role in heart disease. *J Clin Biochem Nutr* 1999;26:109-118.
 45. Gvozdzáková A, Takahashi T, Singh RB, De Meester F, Wilson DW, Crane FL. New role of coenzyme Q10 in cardiovascular diseases, discovered by a single group. *World Heart J* 2014;5/3:159-171.
 46. Judy WW, Stogsdil WW, Folkers K. Myocardial prevention by therapy with coenzyme Q10 during heart surgery. *Clin Investig* 1993;71/8(Suppl):S155-S161.
 47. Palacka P, Murín J, Gvozdzáková A. Mechanisms of heart damage in diabetic patients. *Cardiol* 2008;17:109-114.
 48. Palacka P, Kucharská J, Murín J, Dostálová K, Okkelová A, Čížová M, Waczulíková I, Moricová S, Gvozdzáková A. Complementary therapy in diabetic patients with chronic complications: a pilot study. *Bratisl Lek Listy* 2010;111/4: 205-211.
 49. Gvozdzáková A, Palacka P, Kucharská J, Murín J. Coenzyme Q₁₀ and α-lipoic acid effect in patients with diabetic cardiomyopathy. In: Gvozdzáková A. *Mitochondrial Medicine*. Netherlands: Springer; 2008;330-333.
 50. Langsjoen PH, Langsjoen AM. Supplemental ubiquinol in patients with advances congestive heart failure. *BioFactors* 2008;32/1-4:119-128.