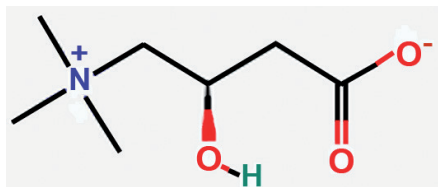


STRESZCZENIE

Karnityna [(3R)-3-hydroksy-4-(trimetyloazaniumylo)maślan] w organizmach ssaków jest dostarczana głównie z pożywieniem. Do komórek wchodzi dzięki aktywności transportera kationów organicznych i karnityny OCTN2 (SLC22A5), może też być transportowana przez CT2 (SLC22A16) i transporter aminokwasów obojętnych i zasadowych ATB⁰⁺ (SLC6A14). Grupa hydroksylowa karnityny ma zdolność tworzenia estrów z kwasami organicznymi (ksenobiotyki, kwasy tłuszczowe) dzięki aktywności acylotransferaz karnitynowych. Karnityna jest niezbędna w przenoszeniu kwasów tłuszczowych do mitochondriów: w funkcjonowaniu tzw. wahadła karnitynowego istotną rolę spełniają palmitoilotransferaza karnitynowa 1, nośnik karnitynowy (SLC25A20) w wewnętrznej błonie mitochondrialnej i palmitoilotransferaza karnitynowa 2. Utlenianie kwasów tłuszczowych zachodzi także w peroksydach. Powstające pochodne o średniej długości łańcucha węglowego usuwane są w formie acylokarnityn i najprawdopodobniej zaangażowany jest w tym procesie transporter OCTN3 (SLC22a21). W transporcie acylowych estrów karnityny przez zewnętrzną błonę mitochondrialną proponowany jest udział kanału anionowego regulowanego napięciem (VDAC) lub/i oligomerów palmitoilotransferazy karnitynowej 1. Mutacje w genach kodujących białka transportujące karnitynę przez błonę plazmatyczną objawiają się tzw. pierwotnym niedoborem karnityny o symptomach zaburzających normalne funkcjonowanie mięśni (w tym serca) i mózgu. W artykule omówiono także mechanizmy regulujące funkcjonowanie tych białek, z podkreśleniem ich roli jako potencjalnych celów terapeutycznych.

WPROWADZENIE

Jednym z procesów dostarczających energii komórkom jest utlenianie kwasów tłuszczowych, proces szczególnie aktywny w mięśniach, a zwłaszcza w mięśni sercowym. Związkiem niezbędnym w utlenianiu kwasów tłuszczowych w mitochondriach jest karnityna (3R)-3-hydroksy-4-(trimetyloazaniumylo)maślan (Ryc. 1). Karnityna została wyizolowana na początku 20 wieku z mięśni, stąd jej nazwa od łacińskiego słowa *carnis* (mięso) [1]. Strukturę karnityny ustalono dopiero w latach 20-tych ubiegłego stulecia [2]. W biologicznej funkcji tego związku istotną rolę odgrywa grupa hydroksylowa, która tworzy wiązania estrowe nie tylko z grupą karboksylową kwasów tłuszczowych, ale także z szeregiem kwasów organicznych, w tym z metabolitami wielu leków, co ma szczególne znaczenie w usuwaniu ksenobiotyków z komórki. U ssaków synteza karnityny zachodzi w wątrobie i w nerce. Pierwszym procesem jest metylacja reszty lizylowej w białkach, a następne etapy wykorzystują trimetylizynę po lizosomalnej degradacji białka. W procesie tym zaangażowany jest szereg enzymów [3].



Rycina 1. Wzór karnityny (wg <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/10917#section=Top>).

Jednak proces endogennej syntezy jest niewystarczający i ok. 75% karnityny dostarczane jest w diecie. Głównym źródłem tego związku jest pokarm pochodzenia zwierzęcego, zwłaszcza czerwone mięso [4]. Karnityna musi więc wejść do komórek dzięki funkcjonowaniu specyficznych układów transportowych, a następnie bierze udział w transporcie reszt acylowych do mitochondriów poprzez działanie tzw. wahadła karnitynowego.

BIAŁKA TRANSPORTUJĄCE KARNITYNĘ DO KOMÓREK

W fizjologicznym pH karnityna posiada zarówno ładunek ujemny (zjonizowana grupa karboksylowa), jak i dodatni (atom azotu z trzema grupami metylowymi), a także dodatkowo grupę hydroksylową, co sprawia, że jest doskonale rozpuszczalna w wodzie i, aby wejść do komórki, musi być przetransportowana przez błonę plazmatyczną. Związki rozpuszczalne w wodzie (ang. *solutes*)

Katarzyna A. Nałęcz✉

Maciej J. Nałęcz

Instytut Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego PAN, Warszawa

✉Zakład Neurobiologii Molekularnej i Komórkowej, Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN, ul. Pasteura 3, 02-093 Warszawa; e-mail: k.nalecz@nencki.gov.pl

Artykuł otrzymano 28 kwietnia 2016 r.
Artykuł zaakceptowano 19 maja 2016 r.

Słowa kluczowe: karnityna, mitochondria, OCTN, peroksydomy

Wykaz skrótów: ABC (ang. *ATP-binding cassette*) – białka zawierające fragment wiążący ATP; CAC (ang. *Carnitine Carrier*) – nośnik karnityny z wewnętrznej błony mitochondrialnej; CoA – koenzym A; FATP (ang. *fatty acid transport protein*) – białko transportujące kwasy tłuszczowe; OCTN (ang. *Organic Cation Transporter Novel family*) – transporter kationów organicznych z tzw. nowej rodziny; OMIM (ang. *On-line Mendelian Inheritance in Man*) – baza danych wszystkich opisanych uwarunkowanych genetycznie chorób człowieka; PPAR – receptor aktywatorów proliferacji peroksydomów; SLC (ang. *Solute Carriers*) – transportery związków rozpuszczalnych w wodzie; TEA – czteroetylenoamina

Podziękowanie: Praca powstała podczas realizacji grantu NCN Nr 2012/07/B/NZ3/00225.

*Autorzy dedykują niniejszy artykuł przeglądowy Panu Profesorowi Lechowi Wojtczakowi z okazji 90-lecia Jego urodzin.

Tabela 1. Transportery karnityny

Białko	Gen	K_m (μ M)	Lokalizacja w komórce	Piśmiennictwo
OCTN1	<i>SLC22A4</i>	b.d.	błona plazmatyczna	[5]
OCTN2	<i>SLC22A5</i>	4,3 (h) 22,0 (m)	błona plazmatyczna	[5] [10]
Ocn3*	<i>Slc22a21</i>	2,99 (m)	peroksysomy	[10]
CT2 (FLIPT2)	<i>SLC22A16</i>	20,3	błona plazmatyczna	[14]
CAC	<i>SLC25A20</i>	480# (z) 10200# (w)	wewnętrzna błona mitochondrialna	[27]
ATB ⁰⁺	<i>SLC6A14</i>	803	błona plazmatyczna	[15]

Wyjaśnienie znaków i symboli: b.d. – brak danych (niskie powinowactwo); m – białko mysie; h – białko ludzkie; *gen myszy; #pomiar po wbudowaniu do liposomów; z – substrat podany z zewnątrz, w – substrat podany do wnętrza liposomów.

przenoszone są przez błony dzięki aktywności białek transportowych kodowanych przez geny *SLC*. W 1998 roku trzy laboratoria sklonowały równolegle gen kodujący białko OCTN2 [5-7]. Białko to należy do nadrodziny *SLC22*. Geny *SLC22* kodują transportery kationów organicznych (OCT), anionów organicznych (OAT), mocznika (URAT) i jonów obojnaczych (zwitterjonów), do których należy karnityna (patrz: <http://slc.bioparadigms.org>). OCTN2 (*SLC22A5*) został tak nazwany, ze względu na wysokie (75,8%) podobieństwo do wcześniej opisanego OCTN1 (*SLC22A4*). W piśmiennictwie istnieją rozbieżności, co do możliwości transportowania karnityny przez OCTN1 i ostatecznie, po dokładnej analizie specyficzności substratowej, uznaje się obecnie, że OCTN1 jest transporterem ergotioneiny, zawierającego siarkę przeciwutleniacza naturalnie występującego w grzybach [8,9]. OCTN2 transportuje kationy organiczne w sposób niezależny od gradientu stężeń jonów sodu [5] i klasycznie używanym substratem w badaniu aktywności tego białka jest czteroetylenoamina (TEA). OCTN2 wykazuje wysokie powinowactwo w stosunku do karnityny (Tab. 1) i wykorzystuje mechanizm symportu z dwoma jonami sodu. [5]. OCTN2 występuje powszechnie w organizmie i szereg mutacji genu *SLC22A5* skorelowanych jest z tzw. pierwotnym niedoborem karnityny oznaczonym symbolem OMIM (ang. *On-line Mendelian Inheritance in Man*) no. 212140. Zespół pierwotnego niedoboru karnityny wiąże się z męczliwością, hipoketotyczną hipoglikemią, występującą miopatię mięśni szkieletowych i mięśnia sercowego, z niedoborem karnityny skorelowane są także syndrom Reye'a czy nagła śmierć noworodków, a także bezpłodność u mężczyzn i otłuszczenie wątroby.

Sekwencja genu kodującego Ocn3 (*Slc22a21*) jest znana u myszy [10], istnieją natomiast dane, iż ludzki gen *OCTN3* zlokalizowany jest między *OCTN2* i *OCTN1*, w odcinku 5q31 (*IBD5*), który jest przypuszczalnie skorelowany z chorobą Crohna [11]. Ocn3 wykazuje wysokie powinowactwo do karnityny (Tab. 1), przy małej zdolności transportu kationów organicznych [10]. W przeciwieństwie do aktywności OCTN2, transport karnityny katalizowany przez Ocn3 nie wymaga gradientu jonów sodu [10]. Ta właściwość transportera jest mniej zaskakująca wobec doniesień na temat jego wewnątrzkomórkowej lokalizacji, bowiem Ocn3 znajduje się w peroksysomach, co stwierdzono w materia-

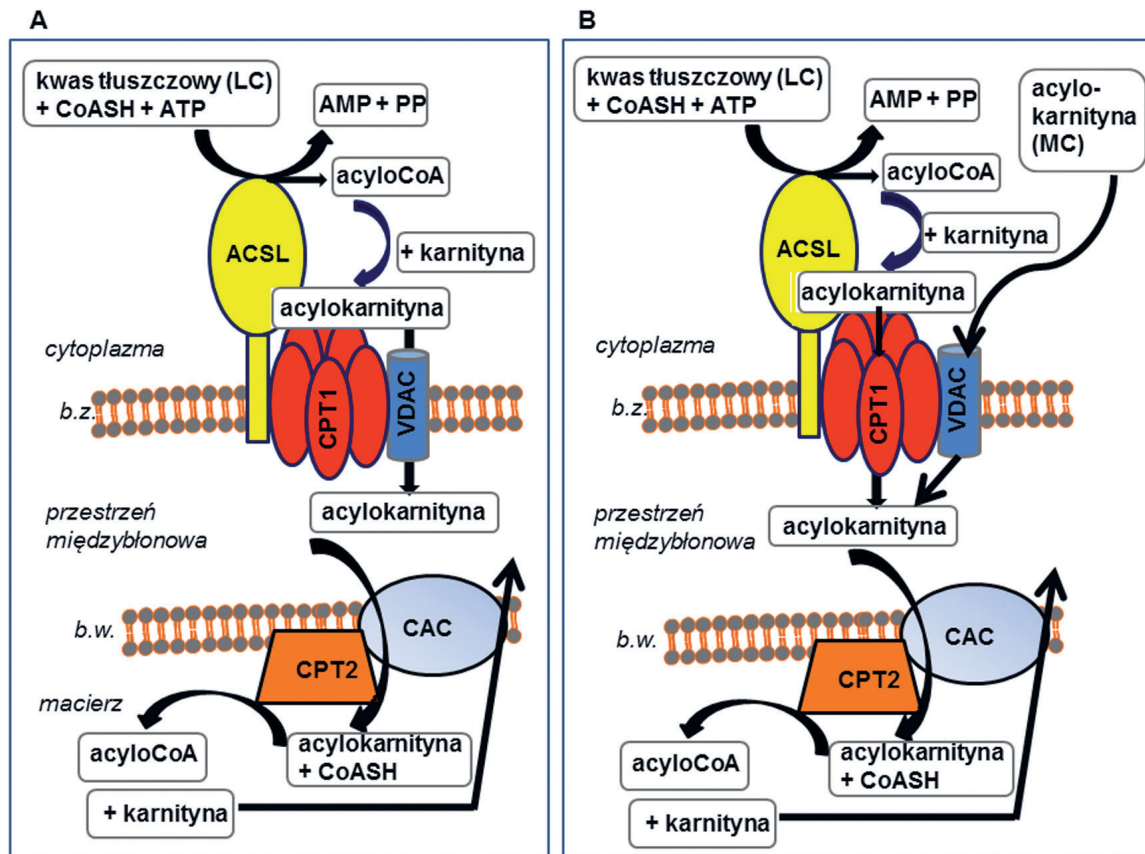
le ludzkim i zwierzęcym z wykorzystaniem metod immunocytochemicznych i mikroskopii elektronowej [12,13]. Zawartość Ocn3 jest szczególnie wysoka w jądrach.

Innym transporterem, który wydaje się specyficzny dla jąder jest CT2 (*SLC22A16*), którego nazwa (ang. *carnitine transporter 2*) została zaproponowana, po odkryciu, że OCTN2 jest transporterem karnityny [14]. CT2 charakteryzuje się wysokim powinowactwem do karnityny i jest prawdopodobnie odpowiedzialny za transport karnityny w jądrze, gdzie stężenie karnityny wynosi 2-100 mM, a więc jest ok. 2000 razy wyższe niż we krwi, gdzie poziom karnityny odpowiada stężeniu w zakresie 10-50 μ M [14]. Za możliwością zaangażowania CT2 w transport karnityny do kanalików nasiennych, a więc poza komórkę przemawia fakt braku zależności transportu od jonów sodu i zależność transportu od pH [14].

Kolejne białko zdolne do transportu karnityny do komórek [15] to transporter aminokwasów obojętnych i zasadowych ATB⁰⁺ [16], kodowany przez gen *SLC6A14*. Białko to należy do dużej nadrodziny transporterów *SLC6*, która obejmuje transportery szeregu neuroprzebieżników, aminokwasów i związków czynnych osmotycznie, wszystkie te transportery wymagają do swojej aktywności zarówno jonów sodu, jak i jonu chloru [17]. ATB⁰⁺ transportuje wszystkie aminokwasy, z wyjątkiem aminokwasów kwaśnych – asparagianu i glutaminianu, największe powinowactwo wykazuje jednak w stosunku do leucyny, natomiast jego powinowactwo do karnityny jest bardzo niskie [15]. Przy fizjologicznych stężeniach aminokwasów we krwi jego funkcja w transporcie karnityny jest znikoma i, biorąc pod uwagę wartość K_m wyższą o rząd wielkości od stężenia tego związku we krwi, może pewnie funkcjonować według mechanizmu ułatwionej dyfuzji. ATB⁰⁺ może odgrywać znaczenie przy zakłóconym funkcjonowaniu OCTN2. Wykazano, że myszy *jvs* (od ang. *juvenile visceral steatosis*) ze zmutowanym genem *ocn2* gromadzą karnitynę w wielu narządach w znacznie niższym stopniu niż szczerp dziki, wyjątkiem był mózg, w którym karnityna akumulowała się podobnie, jak w szczepie dzikim [18]. Zjawisko to może być wytłumaczone faktem, iż w błonie apikalnej komórek śródbłonka naczyń włosowatych mózgu, tworzących tzw. barierę krew-mózg jest obecny i funkcjonuje ATB⁰⁺ [19].

WAHADŁO KARNITYNOWE

Utlenianie kwasów tłuszczowych, niezależnie, czy jest to proces α -, β - czy ω -oksydacji, wymaga aktywacji i utworzenia acylowych pochodnych z CoA. Reakcja ta katalizowana jest przez syntetazy acylo-CoA – ligazy kwas : CoA (AMP) (EC.6.3.1.x), różniące się specyficznością w zależności od długości łańcucha węglowego kwasu tłuszczowego. Syntetazy acylo-CoA zlokalizowane są w różnych przedziałach komórkowych i wydaje się, że ich lokalizacja, dzięki specyficzności w stosunku do łańcucha o określonej długości kieruje acylowe pochodne CoA do odpowiednich przedziałów (ang. *channeling*), np. mitochondriów lub peroksysomów



Rycina 2. Proponowane modele działania wahadła karnitynowego w mitochondriach. Kwas tłuszczowy o długim łańcuchu węglowym (LC) jest aktywowany po stronie cytoplazmy przez syntetazę acyloCoA (ACSL), a następnie w obecności karnityny, dzięki aktywności palmitoilotransferazy karnitynowej 1 (CPT1) powstaje acylokarnityna, która jest transportowana przez zewnętrzną błonę mitochondrialną albo przez kanał anionowy zależny od napięcia VDAC (model A) lub przez oligomer CPT1 (model B). Następnie acylokarnityna ulega wymianie z karnityną dzięki aktywności nośnika karnitynowego wewnętrznej błony mitochondrialnej (CAC). W macierzy mitochondrialnej, dzięki reakcji katalizowanej przez palmitoilotransferazę karnitynową 2 (CPT2) powstaje acyloCoA, a wolna karnityna jest usuwana. Model B przedstawia możliwość przechodzenia przez VDAC acylokarnityn o średniej długości łańcucha (MC) powstających w peroksisomach. Błony mitochondrialne oznaczono: b.z. - błona zewnętrzna, b.w. - błona wewnętrzna. Modele zaproponowane na podstawie publikacji [21,22,26].

[20]. Utlenianie kwasów tłuszczowych w mitochondriach, sprzężone z oksydacyjną fosforylacją, to najważniejszy szlak metaboliczny produkujący energię w warunkach głodu organizmu. Proces utleniania zachodzi w macierzy mitochondrialnej gdzie znajdują się enzymy katalizujące β -oksydację. Reszty kwasów tłuszczowych muszą zatem zostać przetransportowane z cytoplazmy do wnętrza mitochondriów, a dzieje się to za pomocą wahadła karnitynowego (Ryc. 2). Kwas tłuszczowy o długim łańcuchu węglowym (LC, ang. *long chain*) jest aktywowany w cytoplazmie przez syntetazę acyloCoA (ACSL), która jest białkiem o 1 domenie transbłonowej zlokalizowanej w zewnętrznej błonie mitochondriów oraz dużej domenie cytoplazmatycznej z centrum aktywnym enzymu [21]. Następnie, w obecności karnityny, reszty kwasów tłuszczowych zostają przeniesione z acyloCoA na karnitynę tworząc acylokarnitynę w reakcji katalizowanej przez palmitoilotransferazę karnitynową 1, CPT1 (O-acylotransferaza acylo-CoA:karnityna, EC.2.3.1.21). CPT1 ma 2 domeny transbłonowe, z końcami aminowym i karboksylowym po stronie cytoplazmy i, mimo licznych rozbieżności w piśmiennictwie, uważa się obecnie po badaniach licznych mutantów, że zarówno miejsce aktywne, jak i dwa miejsca regulatorowe, wiążące malonylo-CoA znajdują się po zewnętrznej stronie mitochondriów [22]. U ssaków występują 3 izoformy CPT1 (A-C), przy czym izoforma C występuje w

mózgu [23] i uważa się, że jest odpowiedzialna za kontrolę apetytu [24]. Hamowanie CPT1 przez malonyloCoA, związek prowadzący do syntezy kwasów tłuszczowych, wskazuje na rolę CPT1 jako głównego przełącznika pomiędzy utlenianiem i syntezą kwasów tłuszczowych i należy dodać, że knockout genu kodującego Cpt1 jest u myszy śmiertelny [25].

Powstałe w wyniku reakcji katalizowanej przez CPT1 acylowe pochodne karnityny są transportowane przez zewnętrzną błonę mitochondrialną do przestrzeni międzybłonowej albo przez kanał anionowy zależny od napięcia (VDAC), zwany też poryną (Ryc. 2, model A), albo przez oligomer CPT1 (Ryc. 2, model B) [21,22,26]. Z mitochondrialnej przestrzeni międzybłonowej acylowe pochodne karnityny są transportowane do wnętrza mitochondriów przez mitochondrialny nośnik karnitynowy (CAC, ang. *carnitine-acylcarnitine carrier*), w reakcji wymiany na wolną karnitynę wychodzącą z macierzy mitochondrialnej. Nośnik karnitynowy CAC, kodowany przez gen *SLC22A20* (Tab. 1), jest centralnym elementem wahadła karnitynowego i stanowi integralne białko wewnętrznej błony mitochondrialnej [27]. W macierzy mitochondrialnej następuje ponowna aktywacja kwasów tłuszczowych do ich pochodnych z koenzymem A w reakcji katalizowanej przez palmitoilotransferazę kar-

nitynową 2 (CPT 2) zlokalizowaną po wewnętrznej stronie wewnętrznej błony mitochondrialnej. Proces ten uwalnia karnitynę, która stanowi substrat dla nośnika karnitynowego CAC i jest przezeń usuwana z macierzy mitochondrialnej na zewnątrz.

Na rycinie 2 przedstawiono obecny stan wiedzy na temat wahadła karnitynowego w mitochondriach, uwzględniając także dane strukturalne uzyskane w ostatnich latach. Wiadomo już na przykład, że CPT1 tworzy homooligomery i proponowano, że powstałe trimery mogą nawet dalej dimeryzować, tworząc heksamery [26], wykazano także oddziaływanie CPT1 z syntetazą kwasów tłuszczowych i kanałem anionowym zależnym od napięcia (VDAC) [21]. Powstały w ten sposób kompleks transportujący zewnętrzną błonę mitochondrialnej jest dodatkowo modyfikowany przez potranslacyjne modyfikacje, głównie fosforylację, białka VDAC [28]. Ma to prawdopodobnie znaczenie dla szybkości transportu acylowych pochodnych karnityny przez zewnętrzną błonę. Regulacja ta może dotyczyć szczególnie transportu średniołańcuchowych pochodnych (MC, ang. medium chain) karnityny, powstających w peroksy-somach, których transport do przestrzeni międzybłonowej mitochondriów jest katalizowany wyłącznie przez VDAC (Ryc. 2B). Postulowano też [29], że kompleks transportujący zewnętrzną błonę mitochondrialnej jest zlokalizowany w miejscach kontaktu obu błon, jednak analiza miejsc kontaktu nie wykazała wzoboczenia w CAC i CPT2, stąd nie uwzględniono tego na rycinie 2. Dla zapewnienia płynnego działania wahadła logiczne byłoby założenie że CAC powinien być również zlokalizowany w miejscach kontaktu, ale nie ma jeszcze takich danych. Niedawno stwierdzono natomiast, że nośnik karnityny CAC i CPT2 oddziałują ze sobą [30], a ponieważ CPT2 jest białkiem peryferyjnym, zakotwiczonym w wewnętrzny listek wewnętrznej błony mitochondrialnej [31], tego typu interakcja mogłaby bezpośrednio kierować acylokarnitynę do miejsca aktywnego enzymu.

Wiele natomiast wiadomo o strukturze i mechanizmie działania CAC. Białko nośnika jest złożone z 301 reszt aminokwasowych i wykazuje wysoką homologię do tzw. „rodziny nośników mitochondrialnych”, która u człowieka składa się z ponad 50 członków (<http://slc.bioparadigms.org>). Struktura pierwszorzędowa CAC, jak i wszystkich innych członków rodziny nośników mitochondrialnych zawiera trzy powtarzające się motywy około 100 aminokwasów, z których każdy motyw posiada charakterystyczną sekwencję identyfikującą całą rodzinę oraz dwa hydrofobowe odcinki zdolne do utworzenia transbłonowych struktur α -helisy, połączone pętlą zlokalizowaną po stronie przestrzeni międzybłonowej [32,33]. Czwartorzędowa struktura CAC, otrzymana na podstawie homologicznego modelowania opartego na krystalograficznej analizie mitochondrialnego nośnika ATP/ADP w kompleksie z karboksyatratylozydem [34], wykazała, że białko CAC zbudowane jest z 6 transbłonowych α -helis (H1-H6), zamykających wewnętrzną przestrzeń hydrofilową formującą kształt kielicha otwierającego się na stronę przestrzeni międzybłonowej (modelowano CAC w tzw. formie „c”, z miejscem wiążącym substrat dostępnym od strony przestrzeni międzybłonowej). W modelowanej formie „c” dostęp do kieszeni hydrofilowej

od strony macierzy mitochondrialnej jest zamknięty przez system mostków solnych powstających w wyniku oddziaływania między naładowanymi grupami funkcyjnymi sekwencji identyfikującej rodzinę nośników mitochondrialnych [35]. CAC może przyjmować dwie konformacje: „c” (od słowa cytoplazma) oraz „m” (macierzową), które różnią się otwarciem uwodnionej wewnętrznej kieszeni białka odpowiednio na stronę przestrzeni międzybłonowej lub wnętrza mitochondriów [36]. Zmiana konformacji CAC z „c” na „m” i odwrotnie jest regulowana przez dostępność wolnej karnityny, co wykazano przy badaniach nośnika wbudowanego do liposomów [37]. Funkcjonalnie CAC działa przede wszystkim jako antyport wymieniający karnitynę na acylokarnitynę, jednak mechanizm wymiany nie jest sekwencyjny, jak w przypadku pozostałych nośników mitochondrialnych, lecz jest tzw. mechanizmem „ping-pong” [38]. Co ciekawe, wykazano też, że CAC może katalizować reakcję uniportu (jednokierunkowego przeniesienia substratu, bez wymiany) w warunkach dużego gradientu stężenia związku będącego substratem nośnika [39]. Reakcja ta ma jednak znacznie wyższe K_m i niższą V_{max} w porównaniu do reakcji wymiany, nie jest zatem jasne czy odgrywa jakąś rolę fizjologiczną [36,39]. O znaczeniu CAC może świadczyć fakt, że defekty genu *SLC25A20* (OMIM:613698) prowadzą do niezwykle ciężkich przypadków klinicznych z takimi objawami, jak dysfunkcja wątroby, kardiomiopatie, osłabienie mięśni i mogą nawet prowadzić do śmierci pacjenta.

W przeciwieństwie do CPT1, CPT2 nie podlega regulacji przez malonyloCoA. CPT2 jest kodowana przez jeden gen i jest białkiem zasocjowanym z wewnętrzną błoną mitochondrialną z miejscem aktywnym zlokalizowanym po stronie macierzy [40]. Znana jest struktura krystaliczna CPT2 [41], podobna do innych acylotransferaz karnitynowych, jak acetylotransferaza karnitynowa i oktanoiltransferaza karnitynowa, zawierających miejsce aktywne w tunelu między dwiema domenami i przypuszcza się, że geny kodujące te enzymy powstały w wyniku duplikacji [31]. Opisano ponad 40 mutacji genu *CPT2*, które mogą prowadzić do łagodnego lub ostrego stanu patologicznego objawiającego się obniżonym utlenianiem kwasów tłuszczowych, co zwłaszcza w przypadku noworodków traktuje się w klinice podawaniem glukozy i insuliny [42].

KARNITYNA A PEROKSYSOMY

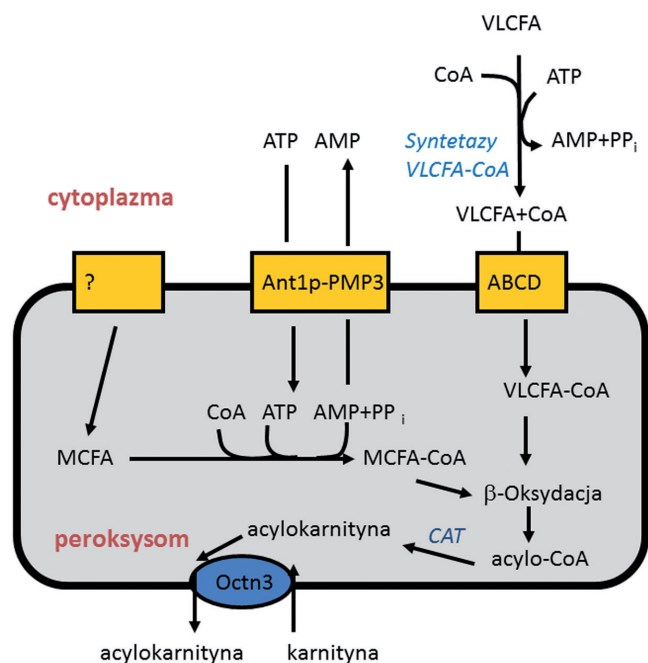
Proces utleniania kwasów tłuszczowych zachodzi także w peroksy-somach. O ile w mitochondriach utleniane są kwasy tłuszczowe o średnich (C6-C10) i długich (C16-C18) łańcuchach węglowych, to w peroksy-somach utleniane są kwasy tłuszczowe o bardzo długich łańcuchach węglowych (C \geq 22). Peroksy-somy są miejscem intensywnego metabolizmu lipidów, żeby wymienić poza β -oksydacją także α -oksydację kwasów z grupą metylową w pozycji 3, syntezę cholesterolu, izoprenoidów, lipidów eterowych czy polinienasyconych kwasów tłuszczowych [43-45]. Proces β -oksydacji w peroksy-somach katalizowany jest przez enzymy kodowane przez inne geny, niż te kodujące enzymy mitochondrialne. Nie jest to poza tym pełne utlenienie do acetyloCoA, a kwasy tłuszczowe ulegają skróceniu do hekzanoilo-CoA [43]. Uważa się, że aby wytworzyć acyloCoA, kwasy tłuszczowe o bardzo długim lub rozgałęzionym łań-

cuchu węglowym ulegają aktywacji w cytoplazmie lub po cytoplazmatycznej stronie błony peroksysomów. Enzymy katalizujące wytworzenie acylowych pochodnych kwasów tłuszczowych o bardzo długim łańcuchu węglowym to albo białko transportujące kwasy tłuszczowe (FATP) 2 albo białko hsBG. FATP2 jest białkiem znajdującym się zarówno w błonie plazmatycznej, jak i w peroksysomach i postuluje się, że jest to białko wielofunkcyjne, które odgrywa istotną rolę w pobieraniu kwasów tłuszczowych do hepatocytów i w aktywacji kwasów o bardzo długim łańcuchu węglowym w peroksysomach [46]. Z kolei białko hsBG to ludzki ortolog białka występującego w mutancie *bubblegum* (*BGM*) u *Drosophila melanogaster*, u którego wykazano podniesiony poziom kwasów tłuszczowych o bardzo długim łańcuchu węglowym i wykazano, że białko hsBG, obecne głównie w mózgu, wykazuje aktywność syntetazy acylo-CoA dla bardzo długich łańcuchów węglowych reszty acylowej [47]. Mimo wieloletnich kontrowersji, obecnie uznaje się, że za transport tych acylowych pochodnych CoA do peroksysomów odpowiedzialne są białka z podrodziny D białek ABC (ang. *ATP-binding cassette*), zwłaszcza białko ABCD1 (zwané też ALDP), w którego przypadku mutacje kodującego je genu powodują adrenoleukodystrofię związaną z chromosomem X [48], a także białko ABCD2 (ALDRP, ang. *adrenoleukodystrophy related protein*) [49]. Białkom ABCD3 (PMP70) i ABCD4 (PMP69) przypisuje się zdolność transportowania długołańcuchowych pochodnych CoA i 2-metyloacyloCoA. Przypuszcza się, że kwasy średniej długości są aktywowane wewnątrz peroksysomów i chociaż mechanizm ich wchodzenia nie jest znany, to powstające w wyniku tej aktywacji AMP może być wymienione na wchodzący do peroksysomów ATP, dzięki obecności i funkcjonowaniu białka Ant1p-

-PMP3, translokazy nukleotydu adeninowego [50]. Co ciekawe, białko to kodowane jest przez gen *SLC25A17* należący do rodziny genów kodujących transportery mitochondrialne, jednak w przeciwieństwie do translokazy nukleotydu adeninowego z wewnętrznej błony mitochondrialnej katalizuje wymianę ATP_{zew}/AMP_{wew} a nie ADP_{zew}/ATP_{wew} [50]. Ponieważ proces β -oksydacji zachodzący w peroksysomach nie jest kompletny, powstające krótsze acyloCoA muszą być wyeksportowane z tych organelli. W peroksysomach jest obecna acetylotransferaza karnitynowa [51], co sugerowało, że reszty acylowe wychodzą z peroksysomów w formie acylokarnityny, jednak nie był znany mechanizm tego procesu. Dopiero stwierdzenie obecności Octn3 w błonie peroksysomów [12, 13] wskazuje na możliwość funkcjonowania tego transportera w usuwaniu reszt acylowych z tych organelli (Ryc. 3).

REGULACJA FUNKCJI TRANSPORTERÓW KARNITYNY

Ostateczny poziom i funkcjonowanie transporterów karnityny o wysokim powinowactwie, tzn. OCTN2 i Octn3 zależą od regulacji na różnych poziomach. Geny kodujące oba białka ulegają zwiększonej ekspresji po aktywacji czynników transkrypcyjnych związanych z metabolizmem kwasów tłuszczowych, a mianowicie receptorów jądrowych – receptorów aktywatorów proliferacji peroksysomów (PPAR), izoformy α [52,53]. Zwiększenie transkrypcji obserwowano także pod wpływem podawania zwierzętom naturalnych aktywatorów PPAR α , a mianowicie fibratów [54,55]. Wyjątkiem jest mózg, gdzie utlenianie kwasów tłuszczowych zachodzi głównie w astrocytach [56], jednak stosując agonistę PPAR α w tych komórkach obserwowano zwiększoną ekspresję *octn3*, bez zmiany *octn2* [13]. Ostatnio, stwierdzono także regulację ekspresji *octn2* w nerce przez izoformę PPAR β/γ [57]. Interesujący jest fakt, że miejsce wiązania PPAR α (PPER, ang. *PPAR α responsive element*) zlokalizowane jest nie w promotorze genu, ale w pierwszym intronie [58,59]. Pierwszy intron zawiera także elementy wiążące receptor estrogenu i czynnik Nr4A2/Nurr1 [60], co powoduje wysoki poziom OCTN2 w nowotworach piersi. Ponadto zaobserwowano zwiększony poziom mRNA dla Octn2 w komórkach najądrza, a ponieważ promotor *octn2* zawiera przypuszczalne miejsca wiążące czynnik TonE (ang. *tonicity-responsive enhancer*), wydaje się, że Octn2 może regulować osmomolarność, w szczególności komórek najądrza, gdzie w świetle kanalików osmomolarność może dochodzić do 330-400 mmol/kg [61]. Z kolei ekspresja *octn3* w komórkach Sertoli'ego zależy od czynnika Sp1, wiążącego się w odcinku promotora tego genu [62]. Kolejne etapy regulacji znane są tylko w przypadku OCTN2. Nagai i wsp. wykazali, że mRNA kodujące OCTN2 jest stabilizowany przez białko kartregulinę [63]. Niewiele wiadomo o modyfikacjach potranslacyjnych białka OCTN2. Mimo hipotetycznych miejsc fosforylacji przez białkową kinazę C wykazano, że transporter nie ulega fosforylacji [64,65]. Do pełnej aktywności transportowej niezbędna jest natomiast glikozylacja na pierwszej dużej pętli pozakomórkowej [66]. OCTN2 jest regulowany przez oddziaływanie z innymi białkami. W końcu karboksylowym białka OCTN2 znajduje się odcinek wiążący tzw. domeny PDZ (nazwa pochodzi od białek, w których wykryto te domeny, tzn. *postsynaptic density 95/disc large/ZO-1*). Odcinek ten wiąże w nerce białka PDZK1



Rycina 3. Proponowana rola OCTN3 w peroksysomach. Opis w tekście. Skróty: ABCD – białko z rodziny D transporterów ABC; Ant1p-PMP3 – peroksysomalna translokaza nukleotydu adeninowego; CAT – transferaza acetylokarnitynowa; MCFA – kwasy tłuszczowe o średniej długości łańcucha węglowego; VLCFA – kwasy tłuszczowe o bardzo długich łańcuchach węglowych.

i PDZK2, a jego usunięcie wiąże się z zahamowaniem aktywności transportowej [67,68].

Niewiele wiadomo na temat regulacji CT2, poza doniesieniami o jego zwiększonym poziomie w niektórych typach komórek nowotworowych [69,70]. W komórkach nowotworów piersi z podniesionym poziomem receptora estrogenu α zaobserwowano z kolei wysoki poziom ATB⁰⁺ [71]. Stwierdzono także zwiększoną aktywność tego transportera po resekcji jelita i potraktowaniu hormonem wzrostu i naskórkowym czynnikiem wzrostu [72]. Nie ma danych na temat regulacji ekspresji *SLC6A14*, wiadomo natomiast, że białko ulega fosforylacji przez białkową kinazę C, co jest skorelowane z przemieszczeniem transportera do błony plazmatycznej i podwyższeniem aktywności [73,74].

ROLA TRANSPORTERÓW KARNITYNY W STANACH PATOLOGICZNYCH

Mutacje genu *OCTN2* w większości przypadków wiążą się z obniżeniem zdolności transportu karnityny (http://www.arup.utah.edu/database/OCTN2/OCTN2_display.php) i zakwalifikowane są jako pierwotny niedobór karnityny [75], podczas gdy mutacje palmitoilotransferaz karnitynowych dają w efekcie tzw. wtórny niedobór karnityny. Zakłócenie homeostazy karnityny obserwuje się także w cukrzycy typu II [76] oraz w szeregu chorób neurodegeneracyjnych, co najprawdopodobniej wiąże się nie tylko z zakłóceniem metabolizmu kwasów tłuszczowych i obniżeniem produkcji ATP, ale także wynika z faktu, że karnityna i acetylokarnityna, która jest także substratem *OCTN2*, stymulują syntezę szeregu neuroprzekaźników. Podanie tych związków neuronom kory mózgowej lub potraktowanie skrawków kory daje w efekcie podwyższoną syntezę stymulującego neuroprzekaźnika, acetylcholinę, a obserwowany efekt interpretowany jest jako zwiększenie w obecności karnityny eksportu reszt acetylowych z mitochondriów i zwiększenie w cytoplazmie stężenia substratu do syntezy tego neuroprzekaźnika [77,78]. Analiza z zastosowaniem metody magnetycznego rezonansu jądrowego wykazała, że obwodowe podanie acetylokarnityny powoduje wbudowanie reszty acetylowej do takich neuroprzekaźników, jak glutaminian czy kwas γ -aminomasłowy [79]. Istnieje ponadto szereg doniesień, że podanie karnityny spowalnia związane z chorobami neurodegeneracyjnymi obniżanie zdolności poznawczych [80-83]. Dzięki zdolności tworzenia estrów z grupą karboksylową, ważną funkcją karnityny jest również regulacja poziomu wolnego CoASH w komórce [51,84] i karnityna jest stosowana jako czynnik neuroprotektoryjny w przypadku ischemii [85]. Istnieją również doniesienia opisujące poprawę stanu pacjentów ze spektrum autyzmu po podawaniu karnityny [86].

Białko *OCTN2* transportuje estry szeregu związków farmakologicznie czynnych [87,88], włączając takie związki, jak lek przeciwpadaczkowy – walpronian [89], czy antybiotyki β -laktamowe [90]. Długotrwałe podawanie takich leków wymaga jednoczesnego podawania karnityny, aby nie doprowadzić do wtórnego niedoboru tego związku. *OCTN2* ma także zdolność transportowania pewnych cytostatyków stosowanych w chemioterapii, jak np. oksaliplatyna [91] czy

etopozyd [92], jest więc traktowany we współczesnej farmakologii jako potencjalny cel terapeutyczny.

Transporter ATB⁰⁺, którego gen ulega wysokiej ekspresji w komórkach pewnych nowotworów [71,93,94], może być zahamowany przez α -metylo-DL-tryptofan, co prowadzi do apoptozy komórek nowotworowych [71]. Ponadto, gen *SLC6A14*, kodujący ATB⁰⁺ jest zlokalizowany w rejonie chromosomu X (Xq24), związanym z otyłością i opisano polimorfizmy pojedynczych nukleotydów w obrębie tego genu skorelowane z wyższą zawartością tłuszczu i otyłością [95,96]. Stąd karnityna jest składnikiem wielu suplementów diety polecanych jako środki odchudzające. Polimorfizmy pojedynczych nukleotydów *SLC6A14* są także skorelowane z bezpłodnością u mężczyzn [97].

Podsumowując, karnityna jest niezbędna w procesach utleniania kwasów tłuszczowych, utrzymywaniu puli wolnego CoA i usuwaniu z komórki szeregu związków, w tym ksenobiotyków. Znajomość funkcjonowania i regulacji procesów, w które zaangażowana jest karnityna, w tym funkcjonowania białek transportujących karnitynę i jej pochodne przez błony może być istotna w farmakologii i terapii szeregów stanów patologicznych.

PIŚMIENNICTWO

1. Gulewitsh W, Krinberg R (1905) Zur Kenntnis der Extractivstoffe der Muskeln. II. Mitteilung. Über das Carnitin. Z Physiol Chem 45: 326-330
2. Tomita M, Sendju Y (1927) Über die Oxyaminverbindungen, welche die Biuretreaktionen zeigen. III. Spaltung der γ -Amino- β -oxybuttersäure in die optischaktiven Komponenten. Z Physiol Chem 169: 263-277
3. Vaz FM, Wanders RJ (2002) Carnitine biosynthesis in mammals. Biochem J 361:417-429
4. Steiber A, Kerner J, Hoppel CL (2004) Carnitine: a nutritional, biosynthetic, and functional perspective. Mol Aspects Med 25: 455-473
5. Tamai I, Ohashi R, Nezu J, Yabuuchi H, Oku A, Shimane M, Sai Y, Tsuji A (1998) Molecular and functional identification of sodium ion-dependent, high affinity human carnitine transporter OCTN2. J Biol Chem 273: 20378-20382
6. Sekine T, Kusuhara H, Utsunomiya-Tate N, Tsuda M, Sugiyama Y, Kanai Y, Endou H (1998) Molecular cloning and characterization of high-affinity carnitine transporter from rat intestine. Biochem Biophys Res Commun 251: 586-591
7. Wu X, Prasad PD, Leibach FH, Ganapathy V (1998) cDNA sequence, transport function, and genomic organization of human OCTN2, a new member of the organic cation transporter family. Biochem Biophys Res Commun 246: 589-595
8. Grundemann D, Harlfinger S, Golz S, Geerts A, Lazar A, Berkels R, Jung N, Rubbert A, Schomig E (2005) Discovery of the ergothioneine transporter. Proc Natl Acad Sci U S A 102: 5256-5261
9. Ey J, Schomig E, Taubert D (2007) Dietary sources and antioxidant effects of ergothioneine. J Agric Food Chem 55: 6466-6474
10. Tamai I, Ohashi R, Nezu JI, Sai Y, Kobayashi D, Oku A, Shimane M, Tsuji A (2000) Molecular and functional characterization of organic cation/carnitine transporter family in mice. J Biol Chem 275: 40064-40072
11. Lamhonwah AM, Skaug J, Scherer SW, Tein I (2003) A third human carnitine/organic cation transporter (OCTN3) as a candidate for the 5q31 Crohn's disease locus (IBD5). Biochem Biophys Res Commun 301: 98-101
12. Lamhonwah AM, Ackerley CA, Tilups A, Edwards VD, Wanders RJ, Tein I (2005) OCTN3 is a mammalian peroxisomal membrane carnitine transporter. Biochem Biophys Res Commun 338: 1966-1972

13. Januszewicz E, Pajak B, Gajkowska B, Samluk L, Djavadian RL, Hinton BT, Nalecz KA (2009) Organic cation/carnitine transporter OCTN3 is present in astrocytes and is up-regulated by peroxisome proliferators-activator receptor agonist. *Int J Biochem Cell Biol* 41: 2599-2609
14. Enomoto A, Wempe MF, Tsuchida H, Shin HJ, Cha SH, Anzai N, Goto A, Sakamoto A, Niwa T, Kanai Y, Anders MW, Endou H (2002) Molecular identification of a novel carnitine transporter specific to human testis. Insights into the mechanism of carnitine recognition. *J Biol Chem* 277: 36262-36271
15. Nakanishi T, Hatanaka T, Huang W, Prasad PD, Leibach FH, Ganapathy ME, Ganapathy V (2001) Na⁺- and Cl⁻-coupled active transport of carnitine by the amino acid transporter ATB(0,+)⁺ from mouse colon expressed in HRPE cells and *Xenopus* oocytes. *J Physiol* 532: 297-304
16. Sloan JL, Mager S (1999) Cloning and functional expression of a human Na⁺(+) and Cl⁻(-)-dependent neutral and cationic amino acid transporter B(0+). *J Biol Chem* 274: 23740-23745
17. Broer S, Gether U (2012) The solute carrier 6 family of transporters. *Br J Pharmacol* 167: 256-278
18. Kido Y, Tamai I, Ohnari A, Sai Y, Kagami T, Nezu J, Nikaido H, Hashimoto N, Asano M, Tsuji A (2001) Functional relevance of carnitine transporter OCTN2 to brain distribution of L-carnitine and acetyl-L-carnitine across the blood-brain barrier. *J Neurochem* 79: 959-969
19. Michalec K, Mysiorek C, Kuntz M, Berezowski V, Szczepankiewicz AA, Wilczynski GM, Cecchelli R, Nalecz KA (2014) Protein kinase C restricts transport of carnitine by amino acid transporter ATB⁰⁺ apically localized in the blood-brain barrier. *Arch Biochem Biophys* 554: 28-35
20. Digel M, Ehehalt R, Stremmel W, Fullekrug J (2009) Acyl-CoA synthetases: fatty acid uptake and metabolic channeling. *Mol Cell Biochem* 326: 23-28
21. Lee K, Kerner J, Hoppel CL (2011) Mitochondrial carnitine palmitoyltransferase 1a (CPT1a) is part of an outer membrane fatty acid transfer complex. *J Biol Chem* 286: 25655-25662
22. Lopez-Vinas E, Bentebibel A, Gurunathan C, Morillas M, de Arriaga D, Serra D, Asins G, Hegardt FG, Gomez-Puertas P (2007) Definition by functional and structural analysis of two malonyl-CoA sites in carnitine palmitoyltransferase 1A. *J Biol Chem* 282: 18212-18224
23. Price N, van der Leij F, Jackson V, Corstorphine C, Thomson R, Sorensen A, Zammit V (2002) A novel brain-expressed protein related to carnitine palmitoyltransferase I. *Genomics* 80: 433-442
24. Wolfgang MJ, Cha SH, Millington DS, Cline G, Shulman GI, Suwa A, Asaumi M, Kurama T, Shimokawa T, Lane MD (2008) Brain-specific carnitine palmitoyltransferase-1c: role in CNS fatty acid metabolism, food intake, and body weight. *J Neurochem* 105: 1550-1559
25. Nyman LR, Cox KB, Hoppel CL, Kerner J, Barnoski BL, Hamm DA, Tian L, Schoeb TR, Wood PA (2005) Homozygous carnitine palmitoyltransferase 1a (liver isoform) deficiency is lethal in the mouse. *Mol Genet Metab* 86: 179-187
26. Faye A, Esnous C, Price NT, Onfray MA, Girard J, Prip-Buus C (2007) Rat liver carnitine palmitoyltransferase 1 forms an oligomeric complex within the outer mitochondrial membrane. *J Biol Chem* 282: 26908-26916
27. Indiveri C, Giangregorio N, Iacobazzi V, Palmieri F (2002) Site-directed mutagenesis and chemical modification of the six native cysteine residues of the rat mitochondrial carnitine carrier: implications for the role of cysteine-136. *Biochemistry* 41: 8649-8656
28. Kerner J, Lee K, Tandler B, Hoppel CL (2012) VDAC proteomics: post-translation modifications. *Biochim Biophys Acta* 1818: 1520-1525
29. Hoppel C, Kerner J, Turkaly P, Tandler B (2001) Rat liver mitochondrial contact sites and carnitine palmitoyltransferase-I. *Arch Biochem Biophys* 392: 321-325
30. Console L, Giangregorio N, Indiveri C, Tonazzi A (2014) Carnitine/acylcarnitine translocase and carnitine palmitoyltransferase 2 form a complex in the inner mitochondrial membrane. *Mol Cell Biochem* 394: 307-314
31. Rufer AC, Thoma R, Hennig M (2009) Structural insight into function and regulation of carnitine palmitoyltransferase. *Cell Mol Life Sci* 66: 2489-2501
32. Indiveri C, Iacobazzi V, Giangregorio N, Palmieri F (1997) The mitochondrial carnitine carrier protein: cDNA cloning, primary structure and comparison with other mitochondrial transport proteins. *Biochem J* 321: 713-719
33. Huizing M, Iacobazzi V, Ijlst L, Savelkoul P, Ruitenbeek W, van den Heuvel L, Indiveri C, Smeitink J, Trijbels F, Wanders R, Palmieri F (1997) Cloning of the human carnitine-acylcarnitine carrier cDNA and identification of the molecular defect in a patient. *Am J Hum Genet* 61: 1239-1245
34. Pebay-Peyroula E, Dahout-Gonzalez C, Kahn R, Trezeguet V, Lauquin GJ, Brandolin G (2003) Structure of mitochondrial ADP/ATP carrier in complex with carboxyatractyloside. *Nature* 426: 39-44
35. Palmieri F, Pierri CL (2010) Structure and function of mitochondrial carriers - role of the transmembrane helix P and G residues in the gating and transport mechanism. *FEBS Lett* 584: 1931-1939
36. Indiveri C, Iacobazzi V, Tonazzi A, Giangregorio N, Infantino V, Convertini P, Console L, Palmieri F (2011) The mitochondrial carnitine/acylcarnitine carrier: function, structure and physiopathology. *Mol Aspects Med* 32: 223-233
37. Giangregorio N, Tonazzi A, Indiveri C, Palmieri F (2007) Conformation-dependent accessibility of Cys-136 and Cys-155 of the mitochondrial rat carnitine/acylcarnitine carrier to membrane-impermeable SH reagents. *Biochim Biophys Acta* 1767: 1331-1339
38. Indiveri C, Tonazzi A, Palmieri F (1994) The reconstituted carnitine carrier from rat liver mitochondria: evidence for a transport mechanism different from that of the other mitochondrial translocators. *Biochim Biophys Acta* 1189: 65-73
39. Palmieri F, Pierri CL (2010) Mitochondrial metabolite transport. *Essays Biochem* 47: 37-52
40. Rufer AC, Lomize A, Benz J, Chomienne O, Thoma R, Hennig M (2007) Carnitine palmitoyltransferase 2: analysis of membrane association and complex structure with a substrate analog. *FEBS Lett* 581: 3247-3252
41. Hsiao YS, Jogl G, Esser V, Tong L (2006) Crystal structure of rat carnitine palmitoyltransferase II (CPT-II). *Biochem Biophys Res Commun* 346: 974-980
42. Bonnefont JP, Djouadi F, Prip-Buus C, Gobin S, Munnich A, Bastin J (2004) Carnitine palmitoyltransferases 1 and 2: biochemical, molecular and medical aspects. *Mol Aspects Med* 25: 495-520
43. Wanders RJ, Tager JM (1998) Lipid metabolism in peroxisomes in relation to human disease. *Mol Aspects Med* 19: 69-154
44. Wanders RJ, Waterham HR (2006) Biochemistry of mammalian peroxisomes revisited. *Annu Rev Biochem* 75: 295-332
45. Stradowska TJ (2011) Peroksysomy - funkcje i zaburzenia metaboliczne. *Postepy Biochem* 57: 183-190
46. Falcon A, Doege H, Fluitt A, Tsang B, Watson N, Kay MA, Stahl A (2010) FATP2 is a hepatic fatty acid transporter and peroxisomal very long-chain acyl-CoA synthetase. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 299: E384-393
47. Steinberg SJ, Morgenthaler J, Heinzer AK, Smith KD, Watkins PA (2000) Very long-chain acyl-CoA synthetases. Human „bubblegum” represents a new family of proteins capable of activating very long-chain fatty acids. *J Biol Chem* 275: 35162-35169
48. Wanders RJ (2004) Peroxisomes, lipid metabolism, and peroxisomal disorders. *Mol Genet Metab* 83: 16-27
49. Theodoulou FL, Holdsworth M, Baker A (2006) Peroxisomal ABC transporters. *FEBS Lett* 580: 1139-1155
50. Palmieri L, Rottensteiner H, Girzalsky W, Scarcia P, Palmieri F, Erdmann R (2001) Identification and functional reconstitution of the yeast peroxisomal adenine nucleotide transporter. *EMBO J* 20: 5049-5059
51. Ramsay RR (1999) The role of the carnitine system in peroxisomal fatty acid oxidation. *Am J Med Sci* 318: 28-35
52. Koch A, Konig B, Stangl GI, Eder K (2008) PPAR alpha mediates transcriptional upregulation of novel organic cation transporters-2 and -3 and enzymes involved in hepatic carnitine synthesis. *Exp Biol Med* (Maywood) 233: 356-365

53. Luci S, Geissler S, König B, Koch A, Stangl GI, Hirche F, Eder K (2006) PPARalpha agonists up-regulate organic cation transporters in rat liver cells. *Biochem Biophys Res Commun* 350: 704-708
54. Ringseis R, Ludi S, Hirche F, Eder K (2008) Treatment with pharmacological peroxisome proliferator-activated receptor alpha agonist clofibrate increases intestinal carnitine absorption in rats. *Pharmacol Res* 58: 58-64
55. Ringseis R, Luci S, Spielmann J, Kluge H, Fischer M, Geissler S, Wen G, Hirche F, Eder K (2008) Clofibrate treatment up-regulates novel organic cation transporter (OCTN)-2 in tissues of pigs as a model of non-proliferating species. *Eur J Pharmacol* 583: 11-17
56. Ebert D, Haller RG, Walton ME (2003) Energy contribution of octanoate to intact rat brain metabolism measured by ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J Neurosci* 23: 5928-5935
57. Zhou X, Ringseis R, Wen G, Eder K (2014) Carnitine transporter OCTN2 and carnitine uptake in bovine kidney cells is regulated by peroxisome proliferator-activated receptor beta/delta. *Acta Vet Scand* 56: 21
58. Wen G, Ringseis R, Eder K (2010) Mouse OCTN2 is directly regulated by peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPARalpha) via a PPRE located in the first intron. *Biochem Pharmacol* 79: 768-776
59. Luo H, Zhang Y, Guo H, Zhang L, Li X, Ringseis R, Wen G, Hui D, Liang A, Eder K, He D (2014) Transcriptional regulation of the human, porcine and bovine OCTN2 gene by PPARalpha via a conserved PPRE located in intron 1. *BMC Genet* 15: 90
60. Wang C, Uray IP, Mazumdar A, Mayer JA, Brown PH (2012) SLC22A5/OCTN2 expression in breast cancer is induced by estrogen via a novel intronic estrogen-response element (ERE). *Breast Cancer Res Treat* 134: 101-115
61. Cotton LM, Rodriguez CM, Suzuki K, Orgebin-Crist M-C, Hinton BT (2010) Organic cation/carnitine transporter, OCTN2 transcriptional activity is regulated by osmotic stress in epididymal cells. *Mol Reprod Dev* 77: 114-125
62. Maeda T, Hirayama M, Kobayashi D, Tamai I (2005) Regulation of testis-specific carnitine transporter (octn3) gene by proximal cis-acting elements Sp1 in mice. *Biochem Pharmacol* 70: 858-868
63. Nagai K, Takikawa O, Kawakami N, Fukao M, Soma T, Oda A, Nishiya T, Hayashi M, Lu L, Nakano M, Kajita E, Fujita H, Miwa S (2006) Cloning and functional characterization of a novel up-regulator, cartregulin, of carnitine transporter, OCTN2. *Arch Biochem Biophys* 452: 29-37
64. Czeredys M, Samluk L, Michalec K, Tulodziecka K, Skowronek K, Nalecz KA (2013) Caveolin-1 - a novel interacting partner of organic cation/carnitine transporter (octn2): effect of protein kinase C on this interaction in rat astrocytes. *PLoS One* 8: e82105
65. Rytting E, Audus KL (2008) Contributions of phosphorylation to regulation of OCTN2 uptake of carnitine are minimal in BeWo cells. *Biochem Pharmacol* 75: 745-751
66. Filippo CA, Ardon O, Longo N (2011) Glycosylation of the OCTN2 carnitine transporter: study of natural mutations identified in patients with primary carnitine deficiency. *Biochim Biophys Acta* 1812: 312-320
67. Kato Y, Sai Y, Yoshida K, Watanabe C, Hirata T, Tsuji A (2005) PDZK1 directly regulates the function of organic cation/carnitine transporter OCTN2. *Mol Pharmacol* 67: 734-743
68. Watanabe C, Kato Y, Sugiura T, Kubo Y, Wakayama T, Iseki S, Tsuji A (2006) PDZ adaptor protein PDZK2 stimulates transport activity of organic cation/carnitine transporter OCTN2 by modulating cell surface expression. *Drug Metab Dispos* 34: 1927-1934
69. Ota K, Ito K, Akahira J, Sato N, Onogawa T, Moriya T, Unno M, Abe T, Niikura H, Takano T, Yaegashi N (2007) Expression of organic cation transporter SLC22A16 in human epithelial ovarian cancer: a possible role of the adriamycin importer. *Int J Gynecol Pathol* 26: 334-340
70. Wu Y, Hurren R, MacLean N, Gronda M, Jitkova Y, Sukhai MA, Minden MD, Schimmer AD (2015) Carnitine transporter CT2 (SLC22A16) is over-expressed in acute myeloid leukemia (AML) and target knock-down reduces growth and viability of AML cells. *Apoptosis* 20: 1099-1108
71. Karunakaran S, Ramachandran S, Coothankandaswamy V, Elango S, Babu E, Periyasamy-Thandavan S, Gurav A, Gnanaprakasam JP, Singh N, Schoenlein PV, Prasad P D, Thangaraju M, Ganapathy V (2011) SLC6A14 (ATB0,+) protein, a highly concentrative and broad specific amino acid transporter, is a novel and effective drug target for treatment of estrogen receptor-positive breast cancer. *J Biol Chem* 286: 31830-31838
72. Ray EC, Avissar NE, Vukcevic D, Toia L, Ryan CK, Berlanga-Acosta J, Sax HC (2003) Growth hormone and epidermal growth factor together enhance amino acid transport systems B0,+ and A in remnant small intestine after massive enterectomy. *J Surg Res* 115: 164-170
73. Samluk L, Czeredys M, Nalecz KA (2010) Regulation of amino acid/carnitine transporter B 0,+ (ATB 0,+) in astrocytes by protein kinase C: independent effects on raft and non-raft transporter subpopulations. *J Neurochem* 115: 1386-1397
74. Samluk L, Czeredys M, Skowronek K, Nalecz KA (2012) Protein kinase C regulates amino acid transporter ATB^{0,+}. *Biochem Biophys Res Commun* 422: 64-69
75. Nezu J, Tamai I, Oku A, Ohashi R, Yabuuchi H, Hashimoto N, Nikaido H, Sai Y, Koizumi A, Shoji Y, Takada G, Matsuishi T, Yoshino M, Kato H, Ohura T, Tsujimoto G, Hayakawa J, Shimane M, Tsuji, A (1999) Primary systemic carnitine deficiency is caused by mutations in a gene encoding sodium ion-dependent carnitine transporter. *Nat Genet* 21: 91-94
76. Peluso G, Petillo O, Margarucci S, Mingrone G, Greco AV, Indiveri C, Palmieri F, Melone MA, Reda E, Calvani M (2002) Decreased mitochondrial carnitine translocase in skeletal muscles impairs utilization of fatty acids in insulin-resistant patients. *Front Biosci* 7: a109-116
77. Wawrzenczyk A, Nalecz KA, Nalecz MJ (1995) Effect of externally added carnitine on the synthesis of acetylcholine in rat cerebral cortex cells. *Neurochem Int* 26: 635-641
78. Tucek S (1990) The synthesis of acetylcholine: twenty years of progress. *Prog Brain Res* 84: 467-477
79. Scafidi S, Fiskum G, Lindauer SL, Bamford P, Shi D, Hopkins I, McKenna MC (2010) Metabolism of acetyl-L-carnitine for energy and neurotransmitter synthesis in the immature rat brain. *J Neurochem* 114: 820-831
80. Jiang X, Tian Q, Wang Y, Zhou XW, Xie JZ, Wang JZ, Zhu LQ (2011) Acetyl-L-carnitine ameliorates spatial memory deficits induced by inhibition of phosphoinositol-3 kinase and protein kinase C. *J Neurochem* 118: 864-878
81. Juliet PA, Balasubramaniam D, Balasubramaniam N, Panneerselvam C (2003) Carnitine: a neuromodulator in aged rats. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 58: 970-974
82. Athanassakis I, Zarifi I, Evangelioi A, Vassiliadis S (2002) L-carnitine accelerates the *in vitro* regeneration of neural network from adult murine brain cells. *Brain Res* 932: 70-78
83. Barhwal K, Hota SK, Jain V, Prasad D, Singh SB, Ilavazhagan G (2009) Acetyl-L-carnitine (ALCAR) prevents hypobaric hypoxia-induced spatial memory impairment through extracellular related kinase-mediated nuclear factor erythroid 2-related factor 2 phosphorylation. *Neuroscience* 161: 501-514
84. Ramsay RR (2000) The carnitine acyltransferases: modulators of acyl-CoA-dependent reactions. *Biochem Soc Trans* 28: 182-186
85. Zhang R, Zhang H, Zhang Z, Wang T, Niu J, Cui D, Xu S (2012) Neuroprotective effects of pre-treatment with L-carnitine and acetyl-L-carnitine on ischemic injury *in vivo* and *in vitro*. *Int J Mol Sci* 13: 2078-2090
86. Ziats MN, Comeaux MS, Yang Y, Scaglia F, Elsea SH, Sun Q, Beaudet AL, Schaaf CP (2015) Improvement of regressive autism symptoms in a child with TMLHE deficiency following carnitine supplementation. *Am J Med Genet A* 167A: 2162-2167
87. Tamai I (2013) Pharmacological and pathophysiological roles of carnitine/organic cation transporters (OCTNs: SLC22A4, SLC22A5 and SLC22a21). *Biopharm Drug Dispos* 34: 29-44
88. Wagner CA, Lukewille U, Kaltenbach S, Moschen I, Broer A, Risler T, Broer S, Lang F (2000) Functional and pharmacological characterization of human Na⁺-carnitine cotransporter hOCTN2. *Am J Physiol Renal Physiol* 279: F584-591

89. Ohnishi S, Okamura N, Sakamoto S, Hasegawa H, Norikura R, Kanaoka E, Takahashi K, Horie K, Sakamoto K, Baba T (2008) Role of Na⁺/L-carnitine transporter (OCTN2) in renal handling of pivaloylcarnitine and valproylcarnitine formed during pivalic acid-containing prodrugs and valproic acid treatment. *Drug Metab Pharmacokinet* 23: 293-303
90. Ganapathy ME, Huang W, Rajan DP, Carter AL, Sugawara M, Iseki K, Leibach FH, Ganapathy V (2000) beta-lactam antibiotics as substrates for OCTN2, an organic cation/carnitine transporter. *J Biol Chem* 275: 1699-1707
91. Jong NN, Nakanishi T, Liu JJ, Tamai I, McKeage MJ (2011) Oxaliplatin transport mediated by organic cation/carnitine transporters OCTN1 and OCTN2 in overexpressing human embryonic kidney 293 cells and rat dorsal root ganglion neurons. *J Pharmacol Exp Ther* 338: 537-547
92. Hu C, Lancaster CS, Zuo Z, Hu S, Chen Z, Rubnitz JE, Baker SD, Sparreboom A (2012) Inhibition of OCTN2-mediated transport of carnitine by etoposide. *Mol Cancer Ther* 11: 921-929
93. Penheiter AR, Erdogan S, Murphy SJ, Hart SN, Felipe Lima J, Rakhshan Rohakhtar F, O'Brien DR, Bamlet WR, Wuertz RE, Smyrk TC, Couch FJ, Vasmataz G, Bender CE, Carlson SK (2015) Transcriptomic and Immunohistochemical Profiling of SLC6A14 in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Biomed Res Int* 2015:593572. doi: 10.1155/2015/593572
94. Gupta N, Miyauchi S, Martindale RG, Herdman AV, Podolsky R, Miyake K, Mager S, Prasad PD, Ganapathy ME, Ganapathy V (2005) Upregulation of the amino acid transporter ATB0,+ (SLC6A14) in colorectal cancer and metastasis in humans. *Biochim Biophys Acta* 1741: 215-223
95. Durand E, Boutin P, Meyre D, Charles M, Clement K, Dina C, Froguel P (2004) Polymorphisms in the amino acid transporter solute carrier family 6 (neurotransmitter transporter) member 14 gene contributes to polygenic obesity in French Caucasians. *Diabetes* 53: 2483-2486
96. Suviolahti E, Oksanen LJ, Ohman M, Cantor RM, Ridderstrale M, Tuomi T, Kaprio J, Rissanen A, Mustajoki P, Jousilahti P, Vartiainen E, Silander K, Kilpikari R, Salomaa V, Groop L, Kontula K, Peltonen L, Pajukanta P (2003) The SLC6A14 gene shows evidence of association with obesity. *J Clin Invest* 112: 1762-1772
97. Noveski P, Mircevska M, Plaseski T, Peterlin B, Plaseska-Karanfilska D (2014) Study of three single nucleotide polymorphisms in the SLC6A14 gene in association with male infertility. *Balkan J Med Genet* 17: 61-66

Carnitine - mitochondria and beyond

Katarzyna A. Nałęcz[✉], Maciej J. Nałęcz

Nencki Institute of Experimental Biology, 3 Pasteur St., 02-093 Warsaw, Poland

[✉]e-mail: k.nalecz@nencki.gov.pl

Key words: carnitine, mitochondria, OCTN, peroxisomes

ABSTRACT

Carnitine [(3R)-3-hydroxy-4-(trimethylazaniumyl)butanoate] in mammals is mainly delivered with diet. It enters the cell due to the activity of organic cation/carnitine transporter OCTN2 (SLC22A5), it can be as well transported by CT2 (SLC22A16) and a transporter of neutral and basic amino acids ATB^{0,+} (SLC6A14). The hydroxyl group of carnitine is able to form esters with organic acids (xenobiotics, fatty acids) due to the activity of acylcarnitine transferases. Carnitine is necessary for transfer of fatty acids to mitochondria: in functioning of the so-called carnitine shuttle an essential role is fulfilled by palmitoylcarnitine transferase 1, carnitine carrier (SLC25A20) in the inner mitochondrial membrane and palmitoylcarnitine transferase 2. Oxidation of fatty acids takes also place in peroxisomes. The produced medium-chain acyl derivatives are exported as acylcarnitines, most probably by OCTN3 (Slc22a21). It has been postulated that acylcarnitines can cross the outer mitochondrial membrane through the voltage-dependent anion channel (VDAC) and/or through the palmitoylcarnitine transferase 1 oligomer. Mutations of genes coding carnitine plasma membrane transporters result in the primary carnitine deficiency, with symptoms affecting normal functioning of muscles (including heart) and brain. Mechanisms regulating functioning of these transporters have been presented with emphasis on their role as potential therapeutic targets.