

МИТОЦЕНТРИЧНОСТЬ

Обзор

© 2024 Д.Б. Зоров^{1,2*}, П.А. Абрамичева¹, Н.В. Андрианова¹, В.А. Бабенко^{1,2},
Л.Д. Зорова^{1,2}, С.Д. Зоров^{1,3}, И.Б. Певзнер^{1,2}, В.А. Попков^{1,2}, Д.С. Семенович^{1,2},
Э.И. Якупова¹, Д.Н. Силачев^{1,2}, Е.Ю. Плотников^{1,2}, Г.Т. Сухих²

¹ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского,
119991 Москва, Россия; электронная почта: zorov@belozersky.msu.ru

² Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии
и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, 117997 Москва, Россия

³ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
факультет биоинженерии и биоинформатики, 119991 Москва, Россия

Поступила в редакцию 29.12.2023

После доработки 19.01.2024

Принята к публикации 21.01.2024

Интерес к митохондриям в мире постоянно растет, о чем свидетельствует научная статистика, причем изучение функционирования этих органелл становится преобладающим над изучением других клеточных структур. В этом аналитическом обзоре митохондрии условно поставлены в некоторый клеточный центр, который отвечает как за производство энергии, так и за другие неэнергетические функции, без которых невозможно существование не только самой эукариотической клетки, но и всего организма. Принимая во внимание высокую полифункциональность митохондрий, такая принципиально новая схема организации функционирования клетки, включающая управление митохондриями процессами, определяющими выживание и гибель клетки, может оказаться оправданной. Учитывая то, что этот выпуск посвящен памяти В.П. Скулачева, которого можно назвать митоцентриком вследствие истории его научной деятельности, почти целиком направленной на изучение митохондрий, в данной работе рассматриваются те аспекты функционирования митохондрий, которые прямо или опосредованно были в фокусе внимания этого выдающегося ученого. Мы перечисляем все возможные из известных митохондриальных функций, включающие в себя генерацию мембранного потенциала, синтез Fe-S-кластеров, стероидных гормонов, гема, жирных кислот и CO₂. Особое внимание обращено на участие митохондрий в образовании и транспорте воды как мощного биохимического клеточного и митохондриального регулятора. Подвержена значительному анализу история исследований активных форм кислорода, которые генерируют митохондрии. В разделе «Митохондрии в центре смерти» особый акцент сделан на анализе того, какую роль и каким образом митохондрии могут играть и определять программу гибели организма (феноптоз) и вкладе, который внес в эти исследования В.П. Скулачев.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: митохондрии, клетка, организм, феноптоз, гибель, мембранный потенциал, вода, набухание, разобщение, CO₂, стероиды, гем, жирные кислоты, активные формы кислорода.

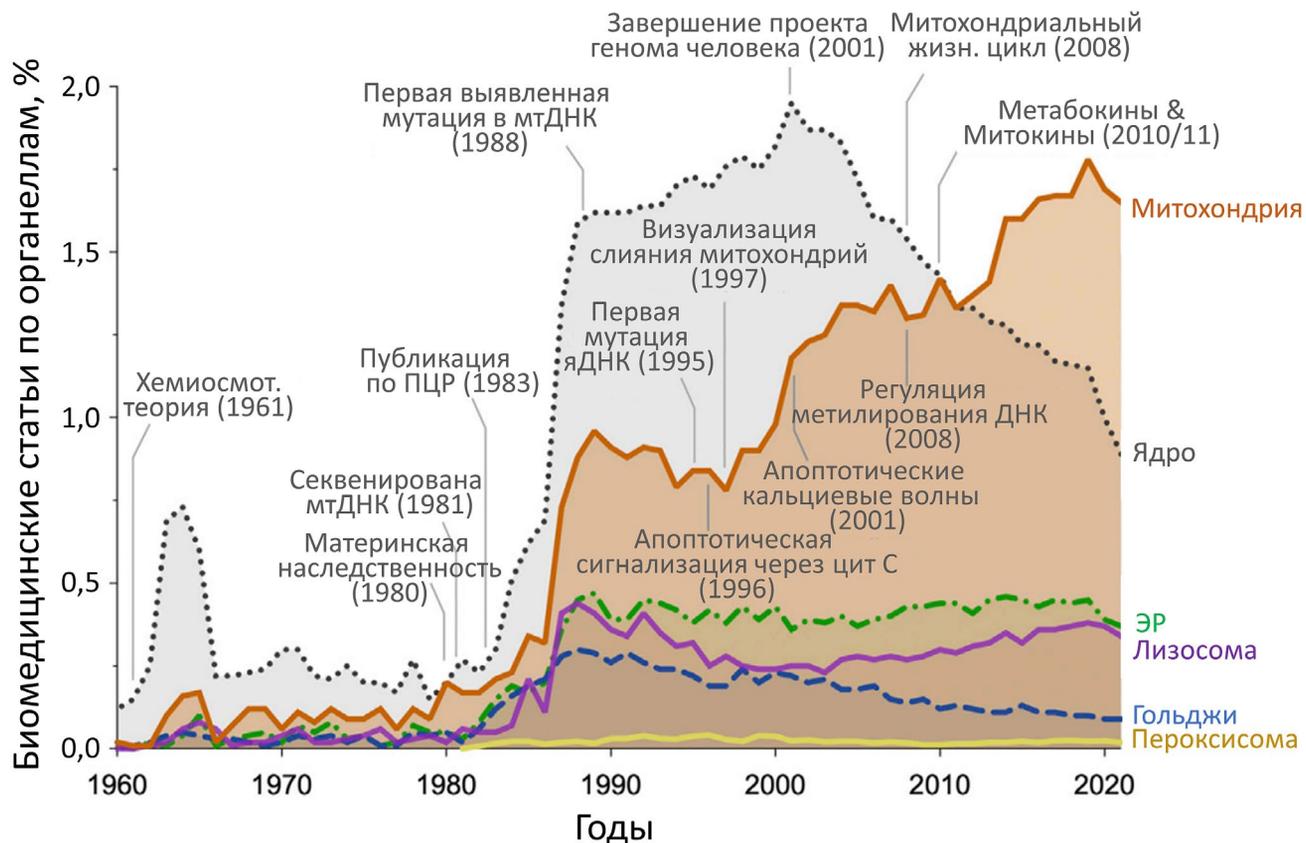
DOI: 10.31857/S0320972524020045 EDN: XNDAMJ

ВВЕДЕНИЕ

Этот выпуск посвящен памяти Владимира Петровича Скулачева, который даже после смерти был оценен как биохимик № 1 в России ([https://research.com/scientists-rankings/biology-and-](https://research.com/scientists-rankings/biology-and-biochemistry/ru)

[biochemistry/ru](https://research.com/scientists-rankings/biology-and-biochemistry/ru)). Он был биохимиком не только по образованию, но и по стилю и реализации мышления. Фундаментальное понимание хода биохимических процессов в живой клетке поставило Скулачева в ряд самых значимых научных персон в мире. Этот человек определил в центр своего научного существования изучение митохондрий. Именно поэтому наша работа получила название

* Адресат для корреспонденции.



Распределение статей медико-биологического профиля, посвященных структуре и функции различных органелл. Отметим два резких подъема публикаций, касающихся митохондрий, в 1988 и 1996 гг. после выхода в свет статей по первым идентифицированным мутациям в митохондриальной ДНК и участию в программируемой клеточной гибели соответственно. Отметим также спад числа публикаций, посвященных изучению клеточного ядра, после завершения проекта по геному человека (из обзора Picard и Shirihai [2] с разрешения)

«Митоцентричность», которое аргументированно оправдывает деяния великого ученого, посвятившего свою жизнь исследованию этой уникальной структуры.

Если начать разбирать в деталях все возможные метаболические пути, в которых митохондрии принимают участие, то размещение их в некоторый центр биологического действия выглядит оправданным [1]. Учитывая великое множество опубликованных работ, касающихся деятельности митохондрий, мы ограничиваем наше рассмотрение их ролью в двух полярных состояниях – жизни и смерти. Поэтому данную работу мы разделили на две части, одна из которых будет называться «Митохондрии в центре жизни», а другая – «Митохондрии в центре смерти», конечно же, имея в виду, что в последнем случае речь пойдет о роли митохондрий в подготовке и осуществлении терминации биологической системы, в то время как в первой части, наиболее широко раскрытой, рассматривается роль митохондрий в обеспечении жизнедеятельности этой системы. Такая схема соответствовала научным воззрениям В.П. Скулачева, и мы рассмотрим некоторые их аспекты.

Надо отметить, что постановка митохондрий в центр биологических действий носит и объективный характер, который, в частности, обусловлен тем, что из всех клеточных органелл научный интерес к ним не падает, а, скорее, возрастает, при этом интерес к изучению других органелл, во-первых, остается существенно более низким, а, во-вторых, либо почти не меняется с годами, либо показывает негативную тенденцию, как в случае исследований ядра (рисунок). На этом рисунке видно, что в 2022 г. почти в 2% всех публикаций биомедицинского плана исследовалась митохондриальная деятельность.

Можно лишь предполагать, что такой интерес вызван демонстрацией полифункциональности данной органеллы [3]. Надо отметить, что на протяжении почти всего XX века митохондрии рассматривались почти исключительно как производители энергии, и в имеющихся на то время учебниках приводилась только их биоэнергетическая функция. Перечисление и суммирование всех возможных (в частности, альтернативных биоэнергетическим) функций митохондрий было в значительной степени революционным.

В плане эволюции научного взгляда на роль митохондрий в клетке произошел переход от представления о монофункциональности этой органеллы к ее полифункциональности. Более того, все меньше в современной литературе рассматриваются энергетические аспекты митохондриальной деятельности, выводя на первый план структурно-функциональную организацию митохондрий. Надо отметить, что и в работах В.П. Скулачева, часть из которых мы обсудим позже, во времени произошел переход от рассмотрения чисто биоэнергетических аспектов митохондриальной деятельности к рассмотрению альтернативных митохондриальных функций, имеющих биомедицинское значение.

Становится понятным, что, скорее всего, митохондриальная полифункциональность объясняется происхождением митохондрий. По общему признанию, митохондрии берут начало от неких граммотрицательных бактерий, которые по определению должны быть полифункциональны, что определяет самодостаточность, необходимую для выживания во внешней среде, характеризующейся значительным химическим и физическим разнообразием и непостоянством.

Перенос бактерий в некий эукариотический прототип, внутренняя среда которого характеризуется относительно гарантированным однообразием состава и условий, сопровождался утратой ряда присущих бактериям функций. В частности, произошла потеря жгутика, необходимого для перемещения, и был приобретен ряд нехарактерных для бактерии свойств (например, обретение термогенной функции). Митохондрии в процессе эволюции приобрели транслокатор адениновых нуклеотидов (АНТ), существование которого в бактериях было бы не просто бессмысленным, а фатальным, ибо весь синтезируемый в клетке АТФ уходил бы в безразмерное пространство. Если справедлива точка зрения бактериального происхождения митохондрий, то становится понятным некоторый кажущийся антагонизм митохондрий и остальных элементов клетки, о чем пойдет речь в дальнейшем.

МИТОХОНДРИИ В ЦЕНТРЕ ЖИЗНИ

Рассмотрим основные, зачастую уникальные, присущие лишь митохондриям витальные функции, при этом мы не будем останавливаться на тех аспектах, которые широко обсуждаются на научном поле. Тут же отметим, что биоэнергетическая функция митохондрий не относится к уникальным внутриклеточным функциям, ибо существует анаэробное, немитохондриальное производство энергии.

Генерация трансмембранного потенциала ионов водорода. Работа некоторых трансмембранных ферментов может сопровождаться асимметрическим разделением заряда, что, например, происходит при работе находящейся в плазматической мембране Na,K-ATPазы , осуществляющей в норме обмен 3Na^+ на 2K^+ [4], или уже упомянутого АНТ, катализирующего обмен внутримитохондриального ATP^4- на немитохондриальный ADP^3- [5]. Тот же принцип генерации асимметрии зарядов применим и к протонным помпам митохондрий, создающим трансмембранный потенциал ионов водорода, составной частью которого является электрический потенциал на внутренней мембране митохондрий (минус внутри). Мы неоднократно указывали на крайнюю важность мембранного потенциала митохондрий, явно не ограниченную лишь обеспечением за счет него синтеза АТФ в АТФ-синтазном комплексе [6]. Не будет лишним еще раз отметить, что даже в критических условиях, когда генерация мембранного потенциала за счет работы протонных помп исключена (например, в условиях гипоксии), митохондрия использует для его создания либо обращенную АТФ-синтазную систему (митохондриальную АТФазу в составе комплекса V) [7], либо сопряженную активацию фумаратредуктазного пути [8, 9]. Обеспечение поддержки мембранного потенциала в неблагоприятных для окислительного фосфорилирования условиях, т.е. в условиях неоптимальной энергетики, внешне кажется неоправданным, непонятным и условно эгоистичным. Однако мы предполагаем, что определяющую роль играет необходимость сохранения высокого качества митохондрий, контроль за которым требует мембранного потенциала, при помощи которого происходит отбор малофункциональных митохондрий [10]. Критерием этого высокого качества является высокий мембранный потенциал митохондрий.

Обязательное требование мембранного потенциала для транспорта в митохондрии белков [11], а они в основной своей части синтезируются вне митохондрий, также может по крайней мере частично объяснить требование необходимости наличия мембранного потенциала для общего существования как самой митохондрии, так и клетки. Показательно, что гомеостаз митохондриального мембранного потенциала – пререквизит здорового существования митохондрии и клетки-хозяина, и те митохондрии, которые не отвечают этому требованию, подлежат утилизации в процессе митофагии [10].

Мембранный потенциал является движущей силой транспорта катионов, в частности ионов кальция, играющих крайне важную роль в регуляции метаболизма митохондрии и клетки [6]. Именно в основном за счет накопления

в митохондриях Ca^{2+} через электрогенный Ca^{2+} -унипортер митохондрии рассматриваются как внутриклеточный буфер ионов кальция, наравне с эндоплазматическим ретикулумом [12, 13].

Количественное определение мембранного потенциала в митохондриях требует проведения разного рода контролей, при этом наиболее широко применяемым подходом является использование проникающих катионов, которые давно получили название «Скулачев-ионы», отдавая должное изобретателю этого подхода [14, 15]. В подразделе, посвященном генерации активных форм кислорода (АФК) в митохондриях, мы будем говорить о роли гомеостаза мембранного потенциала в поддержании гомеостаза АФК, как одном из самых значимых открытий В.П. Скулачева.

Синтез железосерных кластеров. Железосерные соединения являются обязательным компонентом биологической системы [16]. Возможно, они являются самыми древними прямыми предшественниками жизни – по крайней мере так утверждает Wächtershäuser [17, 18], выдвинувший гипотезу о том, что ранняя жизнь сформировалась на поверхности минералов, содержащих сульфид железа.

Железосерные кластеры являются универсальными белковыми простетическими группами с разными стехиометрическими соотношениями атомов железа и серы и выполняют множество функций в биологических системах. Чаще всего они участвуют в многообразных редокс-реакциях, при этом известно их участие в электронном транспорте, биогенезе рибосом, репликации и репарации ДНК, транскрипции, трансляции и ряде других процессов [1]. Предполагается, что сборка Fe-S-кластера была существенной причиной возникновения митохондрии как эндосимбионта [19, 20], поскольку синтез кластеров Fe-S необходим для выживания эукариотических клеток [21–23].

Синтез стероидных гормонов. Митохондрии обеспечивают синтез одних из самых мощных клеточных регуляторов, а именно стероидных гормонов, за счет расщепления боковой цепи холестерина, происходящего с участием одной из изоформ цитохрома P450 (P450_{ssc}). Этот процесс имеет место в стероидогенных клетках надпочечников, гонад, плаценте и мозге [24]. Важную роль в этом процессе играет так называемый «периферический» бензодиазепиновый рецептор (в современной классификации – обогащенный триптофаном сенсорный белок (tryptophan-rich-sensory protein, TSPO)), находящийся во внешней митохондриальной мембране, который гомологичен белку CrtK, являющемуся кислородным сенсором в клетках бактерий *Rhodobacter* [25, 26].

Генерация CO_2 . Углекислый газ (CO_2) образуется в матриксе митохондрий в цикле Кребса

из изоцитрата и α -кетоглутарата, образуя в воде угольную кислоту, диссоциирующую с образованием протона и карбонатного аниона. Надо отдавать отчет, что чем выше активность цикла Кребса (и, соответственно, выше скорость дыхания), тем больше образуется CO_2 и тем больше вероятность закисления матрикса митохондрий (подробнее см. в работе Zorov et al. [27]). Кроме того, что карбонат играет очень важную роль в гомеостазе клеточного pH, он несет важные сигнальные функции [27–33].

Синтез гема. Одним из самых важных компонентов редокс-реакций является гем, входящий в состав гематопорфиринов, который синтезируется в матриксе митохондрий с обеспечением промежуточных реакций в цитозоле [34–36].

Стартовым субстратом каскада синтеза гема является сукцинил-КоА, а конечным продуктом – протопорфирин IX, в состав которого фермент феррохелатаза вводит ионы железа, завершая синтез железопроизводных гема, частными представителями которых являются цитохромы и гемо- и миоглобин. Учитывая высокое валовое содержание железопроизводных гема у высших животных, они являются важным резервуаром кислорода и железа в организме.

Синтез и утилизация жирных кислот. В своих работах В.П. Скулачев уделял значительное внимание взаимоотношению митохондрий и длинноцепочечных жирных кислот. Надо всегда иметь в виду при любом рассмотрении генеральных медицинских вопросов, например, связанных с проблемой ожирения, что как синтез, так и β -окисление жирных кислот протекают в митохондриях [37]. Необходимо также понимать, что синтез жирных кислот стартует с ацетил-КоА, при этом синтез конкурирует с неэнзиматическим процессом ацетилирования биологических компонентов, в результате чего синтез жирных кислот в какой-то мере препятствует накоплению ацетил-КоА и, соответственно, гиперацилированию. То же самое касается и процесса окисления жирных кислот, активность которого может серьезно влиять на уровень ацетил- и других жирных производных КоА и косвенно и прямо влиять на процесс ацилирования, способствуя энзиматической и неэнзиматической модификации биологических структур.

В своих многочисленных исследованиях В.П. Скулачев указывал, что уровень жирных кислот в клетке в значительной мере будет определять эффективность митохондриальной энергопродукции, учитывая тот факт, что жирные кислоты являются разобщителями окислительно-го фосфорилирования [38–41].

Образование и перераспределение воды. В этом подразделе мы хотим достаточно подробно коснуться вопроса, который в научной среде

ставится крайне редко, а именно вопроса образования воды в клетке как одной из важных регуляторных митохондриальных функций. Хотя обычно о митохондриальной деятельности в большинстве случаев судят по уровню потребления кислорода, мы хотим обратить внимание на то, что митохондрии потребляют основную часть поглощенного клетками кислорода, в основном сопряженного с образованием воды и двуокиси углерода, и это есть крайне важная митохондриальная функция.

Поверхностно кажется, что необходимость поддержания гомеостаза воды не является очень важной проблемой, однако это не так, ибо отеки органов (прежде всего, легких или мозга) в конечном плане – первопричина гибели организма, хотя и отеки не являются прямым следствием дисфункции митохондрий. Поэтому мы рассмотрим некоторые аспекты образования и перераспределения воды в клетке.

Вся потребляемая пища в результате ее утилизации организмом превращается в воду и углекислый газ (позже, при рассмотрении функционирования митохондрий в процессе детоксикации, мы обсудим судьбу азотистых соединений, что дополнит весь набор продуктов, образующихся в результате утилизации пищи). Итак, основным продуктом окисления восстановленных эквивалентов в результате функционирования дыхательной цепи является вода, которая образуется в активном центре цитохромоксидазы, обращенном в межмембранное пространство (т.е. в сторону цитозоля) [42]. Однако надо признать, что расчет образования воды исключительно за счет потребляемого кислорода не очень корректен, поскольку часть потребляемого кислорода, хотя бы временно, используется для образования окисленных липидов, белков и нуклеиновых кислот, что особенно важно в условиях окислительного стресса.

Генерация воды из 2H^+ , образующихся в результате работы протонных насосов, и атома кислорода, получившего два электрона от цитохромоксидазы, является реакцией первого порядка по кислороду. Поэтому, уровень последнего будет определять поток воды, образующейся в митохондриях. Это означает, что чем выше скорость дыхания (сопряженного или несопряженного с синтезом АТФ), тем выше продукция воды, а при разобщенном дыхании скорость образования воды будет значительно выше, чем в сопряженной системе. Это также означает, что разобщение окислительного фосфорилирования приведет к достаточно сильной генерации воды в митохондрии, вызывающей необходимость ее устранения из митохондрии, а потом и клетки, чтобы предотвратить отек митохондрии и клетки. С другой стороны, надо осознать, что в условиях гипоксии (физической или химической, вызванной ингиби-

торами компонентов дыхательной цепи, в первую очередь цитохромоксидазы, например, монооксидами углерода или азота) скорость образования воды в митохондриях за счет окисления будет ниже, чем при нормоксии.

В то же время отметим, что химическая реакция синтеза АТФ из АДФ и P_i также сопряжена с образованием воды, и оно будет тем выше, чем выше скорость синтеза АТФ, который происходит в активном центре АТФ-синтазы, обращенном в сторону матрикса митохондрий. Таким образом, нетрудно заметить, что в митохондриях в зависимости от внутренних потребностей и факторов внешней среды происходят процессы образования и использования воды, связанные с энергетикой, которые требуют поддержания некоторого оптимального водного гомеостаза для решения конкретных задач энергетики, в конечном счете выражающихся в проблеме поддержания соотношения доставки и расходов (supply-demand problem) [43–46]. Учитывая, что основные энергетические процессы происходят во внутренней мембране и матриксе митохондрий, становится ясно, что степень увлажнения матрикса имеет решающее значение и является одним из ключевых факторов регуляции энергетики митохондрий. Заметим, что энергозависимые структурные переходы в митохондриях, сопровождающиеся изменением их объема, были предметом исследований Скулачева в 70-х гг. прошлого века [47, 48].

При сопоставлении электронно-микроскопических данных с таковыми, полученными при анализе светорассеяния суспензии изолированных митохондрий, были предложены альтернативные возможности либо высыхания матрикса (так называемая конденсация, наблюдаемая как в состоянии 3 по Чансу, так и на первой стадии разобщения) [48, 49–53], либо его резкое обводнение. Последнее (ранее мы это состояние назвали митохондриальным отеком) именуется высокоамплитудным набуханием [54] и обычно является индикатором наступления точки невозврата в результате индукции неспецифической проницаемости с последующим высвобождением из митохондрий проапоптотических факторов, приближающих гибель клеток [55, 56]. Именно в диапазоне между этими полярными состояниями в клетке происходят структурные перестройки в митохондриях, сопряженные либо с мобилизацией, либо с угнетением энергетического обмена.

История изучения транспорта воды в митохондриях многолетняя, но ее нельзя признать успешной. Эта тематика была предметом изучения классиков биоэнергетики, в том числе Lehninger [57], Green et al. [58] и Hackenbrock [49, 59]. Неудача во многом была вызвана тем, что митохондрии были признаны несовершенными осмометрами [60, 61],

и описанные факты распределения воды в митохондриях не укладывались в законы распределения в соответствии с осмотическими и онкотическими силами.

По расчетам Srere [62], митохондриальная вода может существовать в квазикристаллической фазе и, учитывая очень высокую концентрацию ионов, малых и крупных белковых молекул и нуклеиновых кислот в цитозоле или матриксе митохондрий, в принципе каждую молекулу, в частности макромолекулу, можно рассматривать как краудер с последующим применением принципа молекулярного краудинга к состоянию воды вокруг этих белков и на расстоянии [63]. Расчеты показывают достаточно большой вклад недоступной воды в ее общую концентрацию, что значительно затрудняет определение доступной, т.е. метаболически активной воды, поскольку рассмотрение всей воды как объемной фазы не оправдано. Как отметил Garlid [61], продемонстрировавший распределение незаряженных веществ по двум фазам воды в митохондриальном матриксе, одна из этих фаз была осмотически неактивна и имела более или менее постоянный объем, определяемый гидратацией, а другая была осмотически активна, и ее можно назвать объемной водой. Осмотически неактивный отсек отличается от объемной воды своими растворяющими свойствами, так что некоторые растворенные вещества исключаются, а некоторые – предпочтительно растворяются.

Объемные перестройки, происходящие в митохондриях при изменении физиологической нагрузки, меняют характер молекулярного краудинга, в частности для хорошо разработанной модели изменения конформации нуклеиновой кислоты в зависимости от ряда факторов внешней среды, к которым относятся изменение характера водородных связей, стэкинг-взаимодействие оснований, изменение конформационной энтропии, изменение концентрации окружающих противоионов и степени гидратации [63]. В целом, все эти принципы могут быть применены к молекулярному краудингу белковых молекул [62–66]. Это необходимо учитывать не только для оценки доступной воды, определяющей структуру и функцию белков в природной среде с высокой концентрацией макромолекул, которая может сильно зависеть от разбавления, но и для интерпретации данных в условиях изучения поведения изолированных митохондрий *in vitro* при обычном использовании разбавленных растворов в качестве инкубационной среды. Сообщалось, что митохондриальный матрикс содержит 0,272 мкл/мг воды (из общего количества – 0,555 мкл/мг), которая не реагирует на осмотические силы, а это означает, что почти половина воды в матриксе связана и осмотически неактивна [67].

Данные релаксации ЯМР для 20%-ного раствора белка дали три различных значения: 10^{-12} , 10^{-9} и 10^{-3} , которые были объяснены существованием трех типов воды (тип I – вода в объемной фазе; тип II – связанная вода; тип III – неврацающаяся связанная вода) [68], и эти значения можно применить к оценкам состояния воды в биологических образцах. В то время как 20% белка содержат около 90% воды I типа, 10% воды II типа и около 0,1% воды III типа, 50%-ный раствор белка (что близко к содержанию белка в митохондриальном матриксе) содержит 15–30% связанной воды (тип II). Для двух типов связанной воды характерна упорядоченность (структуризация) в зависимости от расстояния до межфазы, в отличие от объемной воды, которая не упорядочена и в которой протекают преимущественно метаболические процессы [68, 69]. Все эти расчеты и предположения демонстрируют важность даже небольших изменений объема, тесно связанных с процентом метаболически активной воды, способной перемещаться в митохондриях и клетке, в отличие от «аномальной» (используя терминологию Garlid [61]), т.е. осмотически неактивной, связанной воды.

Вещества, вызывающие умеренное набухание митохондрий (Ное694, Diazoxide, DUDLE и др.) приводили к увеличению объема митохондрий кардиомиоцитов всего на несколько процентов (до 5%), а скорость дыхания этих клеток возрастала на 1/3 [70]. Если принять во внимание данные Srere [71], что объем воды в митохондриальном матриксе составляет менее половины общего объема матрикса (остальную часть занимают белки), в котором неизвестна доля метаболической воды, то даже если предположить, что весь пул представляет собой метаболическую воду, объем матрикса в этом случае увеличивается кратно этим экспериментально полученным несколькими процентами, что эквивалентно весьма значительному изменению объема матрикса. Если это так, то в результате такого малого изменения объема матрикса митохондрий активность цикла Кребса, одного из основных элементов биоэнергетики митохондрий, может резко измениться [72–74]. Это говорит о наличии нелинейных взаимоотношений между степенью генерации и поступления воды в митохондрию и изменениями энергопродукции.

Целый ряд физических и связанных с ними биохимических факторов специфически меняются при изменении объема матрикса и окружающих мембран. Мы можем назвать лишь некоторые из них.

1. Изменения в компартиментализации матриксных белков, приводящие к образованию и распаду суперкомплексов [67, 75–79].

2. Концентрация или разбавление метаболитов, кофакторов и ингибиторов эндогенных ферментов [80, 81].

3. Изменение кривизны липидов, расположенных в изгибах митохондриальных крист, которое приводит к изменению олигомеризации мембранных белков и их кинетических констант [67, 80–83].

4. Изменения активности протеинкиназ [84].

Однако следует отметить, что большинство расчетов параметров воды в митохондриях относятся к изолированным митохондриям, конфигурация которых (сильно расширенное межмембранное пространство и сжатый матрикс) отличается от конфигурации митохондрий *in situ* (расширенный матрикс и узкое внутрикристное и межмембранное пространство), из-за чего расчеты изменений объема митохондриального матрикса очень трудно осуществить.

Неспособность провести различие между резервуарами воды в клетке и митохондриях, в то время как эти резервуары по-разному участвуют в транспорте и катализе, и, с другой стороны, несоответствие конфигураций митохондрий в условиях *in vitro* и *in situ* стало предметом глубокого разочарования и привело к замедлению некоторых исследований в этой области. Учитывая описанную выше большую сложность интерпретации механизмов изменения объема митохондрий и связанного с этим метаболизма, возник ряд предположений об активном транспорте воды в митохондриальный матрикс, поддерживаемом определенными сократительными белками, находящимися внутри или прикрепленных снаружи митохондрий [85, 86]. Например, Lehninger [57], изучая механизмы набухания и сокращения митохондрий, выявил в митохондриях недиалируемый термолабильный фактор (фактор сокращения, С-фактор), который высвобождается из митохондрий, инкубированных в среде с восстановленным глутатионом (также он высвобождается при обработке митохондрий ультразвуком). Добавление этого фактора к суспензии набухших митохондрий в присутствии восстановленного глутатиона и АТФ вызывало их сокращение. Однако были веские аргументы в пользу исключения такой возможности, основанные на том, что энергии, необходимой для откачки воды из матрикса, потребуется гораздо больше, чем может быть получено в процессе метаболизма [87]. Были предложены альтернативные механизмы, в частности, сочетающие иммобилизацию растворенных веществ в матриксе и участие внутреннего гидростатического давления для компенсации влияния осмотического давления [87]. Другие потенциальные элементы, участвующие в нарушении осмотических законов перераспределения воды в матриксе, были названы структурными элементами матрикса, которые позволяют организовать достаточно жесткий внутримитохондриальный скелет, не допускающий резких изменений объема без их разрушения.

Это подтверждается многими примерами локального, а не глобального набухания матрикса (что опять же подкрепляет утверждение, что митохондрия не представляет собой идеальный осмометр) [88], а также ранними данными о наличии некоторых элементов интрамитохондриального скелета, полученными в электронно-микроскопических экспериментах [89]. Приведенное выше довольно пространное обсуждение движения воды между митохондриальным матриксом и цитозолем не дает ответа на вопрос: по какому маршруту вода поступает в митохондрию и выходит из нее, и если их много, то какие из маршрутов обеспечивают основное движение воды.

Недавно был описан новый тип митохондриальной биоэнергетики, в результате которого, благодаря преобладанию ионов калия в цитозоле над ионами водорода, синтез АТФ митохондриальной АТФ-синтазой может быть обеспечен путем переноса ионов калия в комплексе АТФ-синтазы из цитозоля в матрикс [90, 91]. Сопряженный с работой АТФ-синтазного комплекса, перенос осмотически активного иона калия теоретически также может быть сопряжен с переносом воды в матрикс митохондрий. Сделано предположение, что таким образом молекулы воды могут транспортироваться в матрикс, внося определенный вклад в общее содержание воды в митохондриальном матриксе. Есть по крайней мере два обстоятельства, подтверждающие этот постулат. Во-первых, рентгеноструктурный анализ АТФ-синтазного комплекса выявил молекулы воды в с-субъединице АТФ-синтазы, которые могут участвовать в транспорте как протонов, так и ионов калия [92, 93], и, во-вторых, были описаны общие механизмы совместного транспорта ионов и воды по малым каналам [94–98]. Оценка влияния каждого компонента, способного переносить воду в митохондрию и наружу, будет непосредственно связана с выявлением механизма адаптации к энергетическим нагрузкам биологической системы, чтобы обеспечить баланс между энергообеспечением и энергетическими потребностями.

Генерация активных форм кислорода. Можно согласиться, что одним из самых крупных достижений Скулачева было открытие совместно с Е.А. Либерманом так называемых «Скулачев-ионов» [14], однако сам он был ярким апологетом роли АФК в жизнедеятельности биологических систем и ставил эту часть науки для себя на первое место.

Первая работа на эту тему была опубликована Скулачевым в 1995 г. в российском журнале «Молекулярная биология» [99], и в ней предполагалось, что нефосфорилирующее окисление гарантирует малую вероятность образования АФК в митохондриях. Идея была внешне очень проста – при движении электрона по дыхательной цепи (или по

любой другой цепи, даже не сопряженной с конечным потреблением кислорода (цитохромоксидазой), чем быстрее бежит электрон, тем меньше вероятность того, что на полпути до конечного потребителя этот электрон получит молекулу свободного кислорода, в конечном счете образуя анион супероксида. Понятно, что в узких местах, где реально наличие достаточно высоких уровней стационарного восстановления промежуточных компонентов цепи переноса электронов, эта вероятность резко возрастает, из чего следует рекомендация минимизировать наличие «узких» мест, чтобы не допустить нежелательную утечку электронов на кислород. Эти узкие места в терминологии одного из отцов-основателей мировой биоэнергетики Chance [100] были названы «точками перекреста», и, если у соседних компонентов цепи переноса один восстановлен, а другой – окислен, это означает, что коммуникация между компонентами затруднена, и эта пара переносчиков отражает лимитирующую стадию в цепи переноса электронов. В итоге именно в этих точках перекреста были локализованы три локуса контроля фосфорилирования ADP, определяющие механизм дыхательного контроля. При его отсутствии (в случае разобщения окислительного фосфорилирования) со стороны синтеза АТФ узкие места в дыхательной цепи исчезают, и генерация АФК в этих узких местах становится минимальной.

Позже эта идея была генерализована и стала основным руководством для работ Скулачева, проповедующих необходимость борьбы с избыточной генерацией АФК [101]. Надо отметить, что в самом начале она была достаточно экстремальной и трактовала как патогенную любую генерацию АФК, кроме той, которая участвует в антипатогенной защите, образуемой NADPH-оксидазой и принимающей участие в фагоцитозе [102]. Митохондрии были объявлены «самым грязным местом в клетке», которое надо очистить от АФК, вызывающих окислительные изменения, включая возрастные повреждения [103]. Впоследствии наступательный тон был смягчен на основании понимания того, что АФК, кроме патогенной роли, играют и важную сигнальную роль [104].

Одними из самых первых фундаментальных работ, представивших смысл и опасность генерации АФК в живой системе, были статьи, опубликованные в 40–50-х гг. прошлого столетия [105, 106]. Уже тогда были сформулированы принципы работы антиоксидантов с предложением их практического использования для защиты от окислительного повреждения. В 1956 г. Harman [107] выдвигает гипотезу о главенствующей роли АФК в процессе старения, которая звучит как свободнорадикальная (иногда используется неправильное определение: митохондриальная) теория старения. Эта теория

стала составной частью более глобальной сетевой теории старения, в соответствии с которой косвенно старение контролируется сетью клеточных и молекулярных защитных механизмов, включая различные антистрессовые реакции [108] с более поздним развитием и выделением воспалительной теории старения [109–113]. Свободнорадикальная и воспалительная теории старения перекликаются на почве роли митохондрий в старении: в первой митохондрии считаются основным местом организации окислительного стресса, а согласно второй, митохондрии являются ключевым местом организации воспалительного начала [114, 115].

Саморегуляция производства АФК и энергетического обмена. Митохондрии были объявлены генераторами и внутренними регуляторами уровня АФК в клетке [116]. Что касается генерации АФК, то часто можно услышать, что митохондрии являются основным генератором АФК в клетке. Однако это не так, и, хотя митохондрии и являются мощным производителем АФК, они не являются главными их генераторами. Это заблуждение было развенчано группой Chance [117] с полным описанием вклада всех клеточных компонентов в генерацию АФК, среди которых пероксисомы занимают верхнюю строчку списка.

Надо отметить, что самой цитируемой работой В.П. Скулачева было установление нелинейной связи между величиной мембранного потенциала и генерацией АФК в митохондриях [118]. Это заставило Скулачева прийти к выводу о необходимости мягкого разобщения окислительного фосфорилирования для предотвращения гиперполяризации митохондрий, чреватой нежелательной гиперпродукцией АФК [15, 39, 40, 119–121].

Детоксикация. Обычно функцию детоксикации, реализуемую в митохондриях, ограничивают синтезом мочевины, как процесса устранения из биологической системы продуктов распада азотистых соединений. Две начальные стадии цикла мочевины (также называемого как орнитинный цикл) протекают в матриксе митохондрий, и завершается цикл реакциями, протекающими в цитоплазме. Основным источником азотистых оснований является продукт дезаминирования, аммиак, который в конечном виде преобразуется в выводящуюся из организма мочевину, в значительной мере служащую индикатором степени нормального почечного функционирования. Однако можно рассматривать процесс детоксикации более широко, включая в список удаления нежелательных агентов биологически активные вещества, которые должны выполнять свою функцию в определенном интервале малых концентраций, не допуская их превышений. Любое превышение концентрации активных веществ может быть чревато ситуациями, приводящими

к возникновению патологий. В качестве простого примера можно рассмотреть молекулы внеклеточного глутамата, играющего в мозге роль нейромедиатора, но лишь в допустимо низких концентрациях. Превышение этих концентраций *вне* клеток токсично (эксайтотоксично) для нейронов, приводя к их гибели с характерной ассоциацией с неспецифической проницаемостью митохондрий [122]. Отметим, что уровень глутамата в значительной степени регулируется митохондриями, а именно их кетоглутаратдегидрогеназой [123], т.е. продукция глутамата происходит *внутри* клеток.

Кстати, применить принцип детоксикации можно к упомянутой выше регуляции митохондриями уровня жирных кислот в клетке, которые, с одной стороны, могут быть разобщителями окислительного фосфорилирования, а с другой – субстратами окисления.

Есть точка зрения, что митохондрии возникли с появлением на земле кислорода, обладающего достаточно серьезной и плохо регулируемой окислительной способностью, в результате которой клеточные компоненты могли быть окислены, что является нежелательным. Логически рассуждая, для ограничения такого нежелательного процесса достаточно понижения внутриклеточной концентрации кислорода, а митохондрии как раз и могли выполнять эту функцию. Таким образом, митохондриальная окислительная деятельность может быть рассмотрена как частный случай процесса детоксикации, и по отношению к кислороду митохондрии могут быть рассмотрены как тонкие регуляторы его концентрации в соответствии со сродством к кислороду митохондриальной цитохромоксидазы. То же самое можно отнести и к АФК, уровень которых в клетке регулируется митохондриальной деятельностью, тонко осуществляя равновесие между необходимым производством АФК и их устранением, в частности, за счет каталазы [124], митохондриальной супероксиддисмутазы [125] или пероксидаз [126–128]. Кроме ферментативных систем, регулирующих уровни внутримитохондриальных и внутриклеточных АФК, в клетке существует целый набор низкомолекулярных соединений, гасящих высокую окислительную способность АФК, которые также можно отнести к системе детоксикации. Эта часть будет кратко обсуждена в следующем подразделе, касающемся редокс-буфера в клеточной системе.

Создание внутриклеточного редокс-буфера.

Гомеостаз редокс-потенциала в клетке является одной из основ ее здорового существования, и при его нарушении, приводящем к временному или хроническому окислительному или восстановительному стрессу, возникает целый ряд патологических ситуаций. Известно, что практически все сосудистые патологии сердца, мозга и почек,

сопряженные с ишемическим воздействием, являются результатом того, что клеточные ресурсы редокс-буфера не справляются с окислительным вызовом, что приводит к окислению витальных компонентов клетки, требующему либо внутренней репарации, либо внешнего вмешательства [15, 129–131].

Как мы обсуждали выше, в клетке и в митохондриях сосредоточены большие мощности по уничтожению избыточных уровней АФК. Они включают в себя, во-первых, ферменты (супероксиддисмутазы, каталаза, пероксидазы, ферредоксин и пр.), которые призваны бороться с АФК, правда, не допуская не менее опасную ситуацию недостаточности АФК, которые являются обязательным компонентом клеточного метаболизма. Во-вторых, это малые молекулы, объединенные термином антиоксиданты, химия которых обеспечивает гашение высокой окислительной способности АФК. В литературе была дана количественная оценка [132], но она касалась валовой антиоксидантной активности без конкретного выделения вклада частных компонентов.

По-видимому, самый большой вклад в антиоксидантную активность вносят сами белки, несущие группы, способные окисляться, например их сульфидрильные группы, способные при окислении образовывать S–S-переход. Конечно же очень нежелательным является этот процесс в жизненно необходимых белковых ферментах, учитывая то, что такие переходы неминуемо будут влиять на энзиматическую активность. Видимо, эволюционным решением было создание белков, не несущих очевидных каталитических функций, но за счет массовости принимающих на себя окислительную угрозу. Скорее всего, это и является основной функцией массовых белков, таких как альбумины или структурные белки. Аналогичную роль играют и производные белков, пептиды. По общему признанию, GSH является самым важным представителем таких пептидов, превращаясь при окислении в димер GSSG. Хотя синтез глутатиона происходит в цитоплазме, в клетке он в основном содержится в митохондриях, куда транспортируется, создавая основу митохондриального и клеточного редокс-буфера.

В митохондриях, кроме глутатиона, антиоксидантную роль может играть цитохром c, сосредоточенный в межмембранном пространстве [133] в связанном с цитохромоксидазой состоянии и в составе контактных сайтов [134, 135]. Кроме выявленной пероксидазной функции цитохрома c [136], вследствие высокой его концентрации в межмембранном пространстве массовый выход этого белка из митохондрий при пермеабиллизации внешней мембраны обеспечивает внутриклеточную концентрацию, достаточную,

чтобы считать значительным его вклад в прямую аннигиляцию АФК в клетке [137, 138]. Недавно нами была предложена гипотеза о том, что протяженные митохондриальные системы обеспечивают более или менее равномерное распределение редокс-потенциала в клетке [139]. Отметим, что на протяжении целого ряда лет в фокусе В.П. Скулачева было развитие собственной концепции о функционировании протяженных митохондриальных систем как внутриклеточных электрических кабелей [140–143].

Завершая этот раздел, в котором описаны основные жизненно необходимые функции митохондрий, хочется отметить многомерность той части функционирования митохондрий, которая обеспечивает здоровое существование клетки, из чего следует вывод о необходимости гомеостаза этих витальных функций. Мы не рассматривали участие митохондрий в процессах клеточной пролиферации, дифференцировки, термогенезе, равно как и уклонились от рассмотрения важной роли митохондриального генома, считая, что эти аспекты достаточно широко рассматривались другими исследователями, но не входили в круг исследований В.П. Скулачева и его ближайшего окружения.

МИТОХОНДРИИ В ЦЕНТРЕ СМЕРТИ

Гибель биологической системы подразумевает многоуровневость такой спецификации, затрагивающей уничтожение биологических макромолекул (микрофагия), клеточных структур (макрофагия), клеток (все типы клеточной гибели [144]) и организмов (феноптоз). Каждый механизм в этих разделах требует расширенного анализа, что не позволительно в рамках этого краткого обзора. Учитывая целевую направленность этой работы на круг интересов и работ В.П. Скулачева, мы ограничимся рассмотрением участия митохондрий в клеточной гибели и программируемой гибели организма.

Митохондриальная и клеточная гибель.

По своему названию (в переводе с греческого $\mu\acute{\iota}\tau\omicron\varsigma$ – нить и $\chi\omicron\nu\delta\rho\acute{\iota}\omicron\nu$ – зерно), митохондрии издавна рассматривались как очень лабильные структуры, существующие в виде протяженных нитей и мелких округлых структур, причем этот процесс естественно вызывал вопросы – а для чего происходит постоянная генерация мелких структур, отщепляющихся от материнского дерева? Наверное, сейчас этому уже можно найти объяснение. С большой вероятностью постоянно функционирующая цепь переноса электронов в митохондриях может сопровождаться утечкой электронов на различные нецелевые компоненты и приводить к нежелательному окислению этих компонентов. Эти окислитель-

ные повреждения могут быть репарированы или не подлежать репарации, и в последнем случае начинает развиваться сценарий удаления этих поврежденных компонентов. Кроме окисленных компонентов, нежелательными в митохондриях становятся неправильно свернутые и модифицированные другими неокислительными началами белки и другие биологические структуры, которые по невыясненному механизму начинают сегрегироваться в пределах одной митохондрии [145, 146]. Этот процесс внутримитохондриального отщепления на «правильные» и «неправильные» части завершается разделением их мембраной (септой) с последующим отделением поврежденного фрагмента и его утилизацией в машинерии митофагии. В обычных условиях количество отпочковавшихся малых фрагментов не слишком велико, но в условиях окислительного вызова *весь* митохондриом рассыпается на фрагменты [147, 148], среди которых может сохраняться лишь часть, не подлежащая уничтожению, которая в случае устранения окислительного начала начинает служить основой построения нового неиспорченного митохондриома за счет слияния с другими, мало поврежденными фрагментами. Описанная картина несколько спекулятивна, но у нее достаточно аргументов, подкрепленных разными данными. Во всей этой схеме обязательным для здоровой клетки является устранение (гибель) митохондрии, которое получило название «митоптоз». Очень важным требованием для инициации гибели митохондрий является окислительный стресс, который, как было обнаружено, может сопровождать процесс индукции в митохондриях неспецифической проницаемости. Это, в самом начале непонятное по своему принципу, явление характеризовалось индукцией во внутренней митохондриальной мембране мегаканала, который не только делает невозможным существование на ней мембранного потенциала и ионных градиентов, но и приводит к описанному выше высокоамплитудному набуханию митохондрий [149–158]. Последнее сопровождается пермеабиллизацией наружной митохондриальной мембраны или за счет вызванного набуханием ее разрыва [159], и/или за счет организации пор, образованных гетеромеризацией белка Вах [160]. Позже появилось предположение, что индукция неспецифической проницаемости митохондрий представляет собой стадию программируемой деструкции этой органеллы [161], а еще позже это явление приписали стадии достижения точки невозврата, предшествующей программируемой гибели клетки, в частности, развивающейся по механизму некроза [162]. Митохондрия является критическим элементом, определяющим собственную судьбу и судьбу клетки. Общепризнанное рассмотрение митохондрии как элемента, ответ-

ственного за принятие решения: быть или не быть клеточной системе, ставит митохондрию в центр смертельного каскада. Для запуска этого каскада митохондрия выпускает из себя ряд молекул (цитохром с, индуцирующий апоптоз фактор (AIF), про-каспаза IX и др.), которые сами по себе в отдельности, находясь внутри митохондрии, не являются смертельными, но после взаимодействия с компонентами цитоплазмы образуют комплекс [163], который является смертельным приговором для клетки. Это означает, что митохондрии по формальным признакам несут резервуары клеточных ядов, неминуемо вызывающих гибель клетки при поступлении в митохондрию соответствующих сигналов. Учитывая огромный массив великолепных обзоров на эту тему, мы ограничиваем наше обсуждение лишь вышесказанным.

Гибель организма (феноптоз). В специальных выпусках журнала «Биохимия», посвященных явлению феноптоза, и других изданиях мы неоднократно писали о ключевой роли митохондрий в этом вопросе [164–167]. Проблема феноптоза, как программируемого механизма гибели многоклеточного организма, на протяжении последней пары десятилетий была в центре внимания В.П. Скулачева, который в фокус внимания этой проблемы вводил митохондрии и генерируемые ими АФК. Примеров феноптической гибели великое множество, и с ними можно ознакомиться в работах Skulachev [168–171]. Предполагается, что феноптоз был выработан в ходе эволюции для отбраковки ненужных организмов – больных или состарившихся, т.е. всех тех, которые не могут выдержать конкуренцию со здоровыми и молодыми организмами. Выделяют два типа феноптоза. Один, вызванный стрессом, острый или быстрый феноптоз, подразумевает быстрое ухудшение состояния организма, подверженного острому стрессу. Другой тип, обусловленный возрастом, мягкий или медленный феноптоз, характеризуется медленным ухудшением состояния, заканчивающегося гибелью организма из-за наличия хронического стресса. Из этого вытекает, что старение и ассоциированные со старением болезни являются выражением феноптоза. Сам Скулачев считал, что одним из наиболее ярких доказательств участия митохондрий в программируемой гибели организма были эксперименты на модели острого феноптоза, в которых животные, получив практически смертельный приговор в результате ишемизации единственной почки животного, выживали после введения митохондриально-направленных катионных агентов [172]. Факт, что не все введенные вещества этой группы устраняли почечную недостаточность, от которой вроде бы следовало ожидать фатальный исход, но при этом все они спасали от гибели, говорил о сложной организации

инициации смертельного каскада, возможно, удаленного от таргетного органа. Это опять же свидетельствовало о том, что именно митохондрии определяют общее отравление организма и спасение последнего состоит в лечении митохондрий. Конечно же, были и другие экспериментальные доказательства правоты участия митохондрий в гибели организма [173].

Родоначальником теории программируемой смерти принято считать Weismann [173]. Однако есть точка зрения, что основные идеи программируемой смерти индивидуумов были высказаны раньше Альфредом Расселом Уоллесом в его работе «Contributions to the Theory of Natural Selection», опубликованной в 1870 г., т.е. задолго до открытия митохондрий. Мы можем смело идти назад и предположить, что идеи того, что смерть запрограммирована, были высказаны даже великим русским поэтом А.С. Пушкиным, который в 1828 г. писал:

Дар напрасный, дар случайный,
Жизнь, зачем ты мне дана?
Иль зачем судьбою тайной
Ты на казнь осуждена?

A random and a wasted gift
Is given life, I wonder why
By some and enigmatic shift
It always is condemned to die.

(перевод Д.Б. Зорова)

Гениальный поэт, которому на момент написания этих строк не было даже 30 лет, задался вопросом, почему жизнь осуждена на гибель, т.е. почему она неизбежна. Великому российскому ученому В.П. Скулачеву пришлось понимание высокой степени организации смертельного процесса. Оно позволило ему предположить основу этого загадочного процесса, который ученый хотел остановить, отменить и тем самым запретить программу гибели организма, используя знания роли митохондрий в организации жизненных и смертельных процессов.

Вклад авторов. П.А. Абрамичева, Н.В. Андрианова, В.А. Бабенко, Л.Д. Зорова, С.Д. Зоров, И.Б. Певзнер, В.А. Попков, Д.С. Семенович, Э.И. Якупова, Д.Н. Силачев, Е.Ю. Плотников, Г.Т. Сухих, Д.Б. Зоров – общее обсуждение концепции, идеологии и планов построения работы; Д.Б. Зоров – написание рукописи; Л.Д. Зорова, С.Д. Зоров – редактирование и техническое оформление рукописи.

Финансирование. Поддержано государственным заданием Министерства здравоохранения РФ (№ 124013000594-1).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zorov, D. B., Isaev, N. K., Plotnikov, E. Yu., Zorova, L. D., Stelmashook, E. V., Vasileva, A. K., Arkhangelskaya, A. A., and Khrjapenkova, T. G. (2007) The mitochondrion as Janus bifrons, *Biochemistry (Moscow)*, **72**, 1115-1126, <https://doi.org/10.1134/S0006297907100094>.
2. Picard, M., and Shirihai, O. S. (2022) Mitochondrial signal transduction, *Cell Metab.*, **34**, 1620-1653, <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2022.10.008>.
3. Zorov, D. B., Krasnikov, B. F., Kuzminova, A. E., Vysokikh, M. Yu., and Zorova, L. D. (1997) Mitochondria Revisited. Alternative functions of mitochondria, *Biosci. Rep.*, **17**, 507-520, <https://doi.org/10.1023/A:1027304122259>.
4. Skou, J. C. (1998) The identification of the sodium pump, *Biosci. Rep.*, **18**, 155-169, <https://doi.org/10.1023/A:1020196612909>.
5. Klingenberg, M. (2008) The ADP and ATP transport in mitochondria and its carrier, *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.*, **1778**, 1978-2021, <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2008.04.011>.
6. Zorova, L. D., Popkov, V. A., Plotnikov, E. Y., Silachev, D. N., Pevzner, I. B., Jankauskas, S. S., Babenko, V. A., Zorov, S. D., Balakireva, A. V., Juhaszova, M., Sollott, S. J., and Zorov, D. B. (2018) Mitochondrial membrane potential, *Anal. Biochem.*, **552**, 50-59, <https://doi.org/10.1016/j.ab.2017.07.009>.
7. Di Lisa, F., Blank, P. S., Colonna, R., Gambassi, G., Silverman, H. S., Stern, M. D., and Hansford, R. G. (1995) Mitochondrial membrane potential in single living adult rat cardiac myocytes exposed to anoxia or metabolic inhibition, *J. Physiol.*, **486 (Pt 1)**, 1-13, <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1995.sp020786>.
8. Weinberg, J. M., Venkatachalam, M. A., Roeser, N. F., and Nissim, I. (2000) Mitochondrial dysfunction during hypoxia/reoxygenation and its correction by anaerobic metabolism of citric acid cycle intermediates, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 2826-2831, <https://doi.org/10.1073/pnas.97.6.2826>.
9. Takahashi, E., and Sato, M. (2014) Anaerobic respiration sustains mitochondrial membrane potential in a prolyl hydroxylase pathway-activated cancer cell line in a hypoxic microenvironment, *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, **306**, C334-C342, <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00255.2013>.
10. Jin, S. M., Lazarou, M., Wang, C., Kane, L. A., Narendra, D. P., and Youle, R. J. (2010) Mitochondrial membrane potential regulates PINK1 import and proteolytic destabilization by PARL, *J. Cell Biol.*, **191**, 933-942, <https://doi.org/10.1083/jcb.201008084>.
11. Mokranjac, D., and Neupert, W. (2008) Energetics of protein translocation into mitochondria, *Biochim. Biophys. Acta Bioener.*, **1777**, 758-762, <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2008.04.009>.
12. Gunter, T. E., and Pfeiffer, D. R. (1990) Mechanisms by which mitochondria transport calcium, *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, **258**, C755-C786, <https://doi.org/10.1152/ajpcell.1990.258.5.C755>.
13. Cortassa, S., Juhaszova, M., Aon, M. A., Zorov, D. B., and Sollott, S. J. (2021) Mitochondrial Ca²⁺, redox environment and ROS emission in heart failure: two sides of the same coin? *J. Mol. Cell Cardiol.*, **151**, 113-125, <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2020.11.013>.
14. Liberman, E. A., Topaly, V. P., Tsofina, L. M., Jasaitis, A. A., and Skulachev, V. P. (1969) Mechanism of coupling of oxidative phosphorylation and the membrane potential of mitochondria, *Nature*, **222**, 1076-1078, <https://doi.org/10.1038/2221076a0>.
15. Plotnikov, E. Y., Silachev, D. N., Chupyrkina, A. A., Danshina, M. I., Jankauskas, S. S., Morosanova, M. A., Stelmashook, E. V., Vasileva, A. K., Goryacheva, E. S., Pirogov, Y. A., Isaev, N. K., and Zorov, D. B. (2010) New-generation Skulachev ions exhibiting nephroprotective and neuroprotective properties, *Biochemistry (Moscow)*, **75**, 145-150, <https://doi.org/10.1134/S0006297910020045>.
16. Johnson, D. C., Dean, D. R., Smith, A. D., and Johnson, M. K. (2005) Structure, function, and formation of biological iron-sulfur clusters, *Annu. Rev. Biochem.*, **74**, 247-281, <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.74.082803.133518>.
17. Wächtershäuser, G. (1988) Before enzymes and templates: theory of surface metabolism, *Microbiol. Rev.*, **52**, 452-484, <https://doi.org/10.1128/MMBR.52.4.452-484.1988>.
18. Wächtershäuser, G. (1990) Evolution of the first metabolic cycles, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**, 200-204, <https://doi.org/10.1073/pnas.87.1.200>.
19. Tsaousis, A. D. (2019) On the origin of iron/sulfur cluster biosynthesis in eukaryotes, *Front. Microbiol.*, **10**, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02478>.
20. Lill, R., Diekert, K., Kaut, A., Lange, H., Pelzer, W., Prohl, C., and Kispal, G. (1999) The essential role of mitochondria in the biogenesis of cellular iron-sulfur proteins, *Biol. Chem.*, **380**, <https://doi.org/10.1515/BC.1999.147>.

21. Braymer, J. J., and Lill, R. (2017) Iron-sulfur cluster biogenesis and trafficking in mitochondria, *J. Biol. Chem.*, **292**, 12754-12763, <https://doi.org/10.1074/jbc.R117.787101>.
22. Rouault, T. A., and Maio, N. (2017) Biogenesis and functions of mammalian iron-sulfur proteins in the regulation of iron homeostasis and pivotal metabolic pathways, *J. Biol. Chem.*, **292**, 12744-12753, <https://doi.org/10.1074/jbc.R117.789537>.
23. Peña-Díaz, P., and Lukeš, J. (2018) Fe-S cluster assembly in the supergroup Excavata, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **23**, 521-541, <https://doi.org/10.1007/s00775-018-1556-6>.
24. Miller, W. L. (2013) Steroid hormone synthesis in mitochondria, *Mol. Cell. Endocrinol.*, **379**, 62-73, <https://doi.org/10.1016/j.mce.2013.04.014>.
25. Yeliseev, A. A., and Kaplan, S. (1995) A sensory transducer homologous to the mammalian peripheral-type benzodiazepine receptor regulates photosynthetic membrane complex formation in *Rhodobacter sphaeroides* 2.4.1, *J. Biol. Chem.*, **270**, 21167-21175, <https://doi.org/10.1074/jbc.270.36.21167>.
26. Baker, M. E., and Fanestil, D. D. (1991) Mammalian peripheral-type benzodiazepine receptor is homologous to CrtK protein of *Rhodobacter capsulatus*, a photosynthetic bacterium, *Cell*, **65**, 721-722, [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(91\)90379-D](https://doi.org/10.1016/0092-8674(91)90379-D).
27. Zorov, D. B., Andrianova, N. V., Babenko, V. A., Bakeeva, L. E., Zorov, S. D., Zorova, L. D., Pevsner, I. B., Popkov, V. A., Plotnikov, E. Yu., and Silachev, D. N. (2020) Nonphosphorylating oxidation in mitochondria and related processes, *Biochemistry (Moscow)*, **85**, 1570-1577, <https://doi.org/10.1134/S0006297920120093>.
28. Acin-Perez, R., Salazar, E., Kamenetsky, M., Buck, J., Levin, L. R., and Manfredi, G. (2009) Cyclic AMP produced inside mitochondria regulates oxidative phosphorylation, *Cell Metab.*, **9**, 265-276, <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2009.01.012>.
29. Zeylemaker, W. P., Klaasse, A. D. M., Slater, E. C., and Veeger, C. (1970) Studies on succinate dehydrogenase. VI. Inhibition by monocarboxylic acids, *Biochim. Biophys. Acta Enzymol.*, **198**, 415-422, [https://doi.org/10.1016/0005-2744\(70\)90120-8](https://doi.org/10.1016/0005-2744(70)90120-8).
30. Kasho, V. N., and Boyer, P. D. (1984) Relationships of inosine triphosphate and bicarbonate effects on F1 ATPase to the binding change mechanism, *J. Bioenerg. Biomembr.*, **16**, 407-419, <https://doi.org/10.1007/BF00743235>.
31. Roveri, O. A., and Calcaterra, N. B. (1985) Steady-state kinetics of F₁-ATPase, *FEBS Lett.*, **192**, 123-127, [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(85\)80056-9](https://doi.org/10.1016/0014-5793(85)80056-9).
32. Lodeyro, A. F., Calcaterra, N. B., and Roveri, O. A. (2001) Inhibition of steady-state mitochondrial ATP synthesis by bicarbonate, an activating anion of ATP hydrolysis, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1506**, 236-243, [https://doi.org/10.1016/S0005-2728\(01\)00221-3](https://doi.org/10.1016/S0005-2728(01)00221-3).
33. Khailova, L. S., Vygodina, T. V., Lomakina, G. Y., Kotova, E. A., and Antonenko, Y. N. (2020) Bicarbonate suppresses mitochondrial membrane depolarization induced by conventional uncouplers, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **530**, 29-34, <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.06.131>.
34. Poňka, P., and Neuwirt, J. (1974) Haem synthesis and iron uptake by reticulocytes, *Br. J. Haematol.*, **28**, 1-5, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.1974.tb06634.x>.
35. Kikuchi, G., and Hayashi, N. (1981) Regulation by heme of synthesis and intracellular translocation of δ -aminolevulinic acid synthase in the liver, *Mol. Cell Biochem.*, **37**, 27-41, <https://doi.org/10.1007/BF02355885>.
36. Azzi, A. (1984) Mitochondria: the utilization of oxygen for cell life, *Experientia*, **40**, 901-906, <https://doi.org/10.1007/BF01946437>.
37. Mead, J. F. (1963) Lipid metabolism, *Annu. Rev. Biochem.*, **32**, 241-268, <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.32.070163.001325>.
38. Severin, F. F., Severina, I. I., Antonenko, Y. N., Rokitskaya, T. I., Cherepanov, D. A., Mokhova, E. N., Vyssokikh, M. Yu., Pustovidko, A. V., Markova, O. V., Yaguzhinsky, L. S., et al. (2010) Penetrating cation/fatty acid anion pair as a mitochondria-targeted protonophore, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 663-668, <https://doi.org/10.1073/pnas.0910216107>.
39. Andreyev, A. Yu., Bondareva, T. O., Dedukhova, V. I., Mokhova, E. N., Skulachev, V. P., Tsofina, L. M., Volkov, N. I., and Vygodina, T. V. (1989) The ATP/ADP-antiporter is involved in the uncoupling effect of fatty acids on mitochondria, *Eur. J. Biochem.*, **182**, 585-592, <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1989.tb14867.x>.
40. Skulachev, V.P. (1998) Uncoupling: new approaches to an old problem of bioenergetics, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1363**, 100-124, [https://doi.org/10.1016/S0005-2728\(97\)00091-1](https://doi.org/10.1016/S0005-2728(97)00091-1).
41. Zorov, D. B. (1996) Mitochondrial damage as a source of diseases and aging: a strategy of how to fight these, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1275**, 10-15, [https://doi.org/10.1016/0005-2728\(96\)00042-4](https://doi.org/10.1016/0005-2728(96)00042-4).
42. Schmidt, B., McCracken, J., and Ferguson-Miller, S. (2003) A discrete water exit pathway in the membrane protein cytochrome c oxidase, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 15539-15542, <https://doi.org/10.1073/pnas.2633243100>.
43. Buckberg, G. D., Fixler, D. E., Archie, J. P., and Hoffman, J. I. E. (1972) Experimental subendocardial ischemia in dogs with normal coronary arteries, *Circ. Res.*, **30**, 67-81, <https://doi.org/10.1161/01.RES.30.1.67>.

44. Hoffman, J. I. E., and Buckberg, G. D. (1978) The myocardial supply:demand ratio – a critical review, *Am. J. Cardiol.*, **41**, 327-332, [https://doi.org/10.1016/0002-9149\(78\)90174-1](https://doi.org/10.1016/0002-9149(78)90174-1).
45. Newsholme, E. A., and Leech, A. R. (1983) *Biochemistry for the Medical Sciences*, Wiley, p. 952.
46. Yaniv, Y., Juhaszova, M., Nuss, H. B., Wang, S., Zorov, D. B., Lakatta, E. G., and Sollott, S. J. (2010) Matching ATP supply and demand in mammalian heart, *Ann. N Y Acad. Sci.*, **1188**, 133-142, <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.05093.x>.
47. Bakeeva, L. E., Grinius, L. L., Jasaitis, A. A., Kuliene, V. V., Levitsky, D. O., Liberman, E. A., Severina, I. I., and Skulachev, V. P. (1970) Conversion of biomembrane-produced energy into electric form. II. Intact mitochondria, *Biochim. Biophys. Acta*, **216**, 13-21, [https://doi.org/10.1016/0005-2728\(70\)90154-4](https://doi.org/10.1016/0005-2728(70)90154-4).
48. Bakeeva, L. E., Chentsov, Y. S., Jasaitis, A. A., and Skulachev, V. P. (1972) The effect of oncotic pressure on heart muscle mitochondria, *Biochim. Biophys. Acta*, **275**, 319-332, [https://doi.org/10.1016/0005-2728\(72\)90213-7](https://doi.org/10.1016/0005-2728(72)90213-7).
49. Hackenbrock, C. R. (1966) Ultrastructural bases for metabolically-linked mechanical activity in mitochondria, *J. Cell. Biol.*, **30**, 269-297, <https://doi.org/10.1083/jcb.30.2.269>.
50. Harris, R. A., Penniston, J. T., Asai, J., and Green, D. E. (1986) The conformational basis of energy conservation in membrane systems. II. Correlation between conformational change and functional states, *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, **59**, 830-837, <https://doi.org/10.1073/pnas.59.3.830>.
51. Wrigglesworth, J. M., and Packer, L. (1968) Optical rotary dispersion and circular dichroism studies on mitochondria: correlation of ultrastructure and metabolic state with molecular conformational changes, *Arch. Biochem. Biophys.*, **128**, 790-801, [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90087-8](https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90087-8).
52. Beavis, A. D., Brannan, R. D., and Garlid, K. D. (1985) Swelling and contraction of the mitochondrial matrix. I. A structural interpretation of the relationship between light scattering and matrix volume, *J. Biol. Chem.*, **260**, 13424-13433.
53. Allmann, D. W., Munroe, J., Wakabayashi, T., and Green, D. E. (1970) Studies on the transition of the cristal membrane from the orthodox to the aggregated configuration. III. Loss of coupling ability of adrenal cortex mitochondria in the orthodox configuration, *J. Bioenerg.*, **1**, 331-353, <https://doi.org/10.1007/BF01654572>.
54. Packer, L. (1963) Size and shape transformations correlated with oxidative phosphorylation in mitochondria, *J. Cell. Biol.*, **18**, 487-494, <https://doi.org/10.1083/jcb.18.3.487>.
55. Petit, P. X., Zamzami, N., Vayssière, J. L., Mignotte, B., Kroemer, G., and Castedo, M. (1997) Implication of mitochondria in apoptosis, *Mol. Cell. Biochem.*, **174**, 185-188.
56. Petit, P. X., Goubern, M., Dirolez, P., Susin, S.A., Zamzami, N., and Kroemer, G. (1998) Disruption of the outer mitochondrial membrane as a result of large amplitude swelling: the impact of irreversible permeability transition, *FEBS Lett.*, **426**, 111-116, [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(98\)00318-4](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(98)00318-4).
57. Lehninger, A. L. (1962) Water uptake and extrusion by mitochondria in relation to oxidative phosphorylation, *Physiol. Rev.*, **42**, 467-517, <https://doi.org/10.1152/physrev.1962.42.3.467>.
58. Green, D. E., Asai, J., Harris, R. A., and Penniston, J. T. (1968) Conformational basis of energy transformations in membrane systems, *Arch. Biochem. Biophys.*, **125**, 684-705, [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90626-7](https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90626-7).
59. Hackenbrock, C. R. (1968) Chemical and physical fixation of isolated mitochondria in low-energy and high-energy states, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **61**, 598-605, <https://doi.org/10.1073/pnas.61.2.598>.
60. Garlid, K. D. (1976) Aqueous phase structure in cells and organelles, in *Proceedings of the Cell-Associated Water*, Boston, Massachusetts, pp. 293-362.
61. Garlid, K. D. (1999) The state of water in biological systems, *Int. Rev. Cytol.*, **192**, 281-302.
62. Srere, P. A. (1981) Protein crystals as a model for mitochondrial matrix proteins, *Trends Biochem. Sci.*, **6**, 4-7, [https://doi.org/10.1016/0968-0004\(81\)90003-7](https://doi.org/10.1016/0968-0004(81)90003-7).
63. Fulton, A. B. (1982) How crowded is the cytoplasm? *Cell*, **30**, 345-347, [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(82\)90231-8](https://doi.org/10.1016/0092-8674(82)90231-8).
64. Takahashi, S., and Sugimoto, N. (2020) Stability prediction of canonical and non-canonical structures of nucleic acids in various molecular environments and cells, *Chem. Soc. Rev.*, **49**, 8439-8468, <https://doi.org/10.1039/D0CS00594K>.
65. Minton, A. P. (1983) The effect of volume occupancy upon the thermodynamic activity of proteins: some biochemical consequences, *Mol. Cell. Biochem.*, **55**, 119-140, <https://doi.org/10.1007/BF00673707>.
66. Minton, A. P. (1990) Holobiochemistry: the effect of local environment upon the equilibria and rates of biochemical reactions, *Int. J. Biochem.*, **22**, 1063-1067, [https://doi.org/10.1016/0020-711X\(90\)90102-9](https://doi.org/10.1016/0020-711X(90)90102-9).
67. Bentzel, C. J., and Solomon, A. K. (1967) Osmotic properties of mitochondria, *J. Gen. Physiol.*, **50**, 1547-1563, <https://doi.org/10.1085/jgp.50.6.1547>.
68. Cooke, R., and Kuntz, I. D. (1974) The properties of water in biological systems, *Annu. Rev. Biophys. Bioeng.*, **3**, 95-126, <https://doi.org/10.1146/annurev.bb.03.060174.000523>.
69. Drost-Hansen, W. (1969) Structure of water near solid unterfaces, *Ind. Eng. Chem.*, **61**, 10-47, <https://doi.org/10.1021/ie50719a005>.

70. Juhaszova, M., Zorov, D. B., Kim, S. H., Pepe, S., Fu, Q., Fishbein, K. W., Ziman, B. D., Wang, S., Ytrehus, K., Antos, C. L., Olson, E. N., and Sollott, S. J. (2004) Glycogen synthase kinase-3 β mediates convergence of protection signaling to inhibit the mitochondrial permeability transition pore, *J. Clin. Invest.*, **113**, 1535-1549, <https://doi.org/10.1172/JCI19906>.
71. Srere, P. A. (1980) The infrastructure of the mitochondrial matrix, *Trends Biochem. Sci.*, **5**, 120-121, [https://doi.org/10.1016/0968-0004\(80\)90051-1](https://doi.org/10.1016/0968-0004(80)90051-1).
72. Matlib, M. A., and Srere, P. A. (1976) Oxidative properties of swollen rat liver mitochondria, *Arch. Biochem. Biophys.*, **174**, 705-712, [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(76\)90401-X](https://doi.org/10.1016/0003-9861(76)90401-X).
73. Srere, P. A. (1982) The structure of the mitochondrial inner membrane-matrix compartment, *Trends Biochem. Sci.*, **7**, 375-378, [https://doi.org/10.1016/0968-0004\(82\)90119-0](https://doi.org/10.1016/0968-0004(82)90119-0).
74. Srere, P. A., Mattiasson, B., and Mosbach, K. (1973) An immobilized three-enzyme system: a model for microenvironmental compartmentation in mitochondria, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **70**, 2534-2538, <https://doi.org/10.1073/pnas.70.9.2534>.
75. Letts, J. A., Fiedorczuk, K., and Sazanov, L. A. (2016) The architecture of respiratory supercomplexes, *Nature*, **537**, 644-648, <https://doi.org/10.1038/nature19774>.
76. Guo, R., Zong, S., Wu, M., Gu, J., and Yang, M. (2017) Architecture of human mitochondrial respiratory megacomplex I2III2IV2, *Cell*, **170**, 1247-1257.e12, <https://doi.org/10.1016/j.CELL.2017.07.050>.
77. Gu, J., Wu, M., Guo, R., Yan, K., Lei, J., Gao, N., and Yang, M. (2016) The architecture of the mammalian respirasome, *Nature*, **537**, 639-643, <https://doi.org/10.1038/nature19359>.
78. Ing, G., Hartley, A. M., Pinotsis, N., and Maréchal, A. (2022) Cryo-EM structure of a monomeric yeast *S. cerevisiae* complex IV isolated with maltosides: implications in supercomplex formation, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1863**, 148591, <https://doi.org/10.1016/j.BBABIO.2022.148591>.
79. Vercellino, I., and Sazanov, L. A. (2022) The assembly, regulation and function of the mitochondrial respiratory chain, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **23**, 141-161, <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00415-0>.
80. Bhatia, V. K., Hatzakis, N. S., and Stamou, D. (2010) A unifying mechanism accounts for sensing of membrane curvature by BAR domains, amphipathic helices and membrane-anchored proteins, *Semin. Cell Dev. Biol.*, **21**, 381-390, <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2009.12.004>.
81. Madsen, K. L., Bhatia, V. K., Gether, U., and Stamou, D. (2010) BAR domains, amphipathic helices and membrane-anchored proteins use the same mechanism to sense membrane curvature, *FEBS Lett.*, **584**, 1848-1855, <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2010.01.053>.
82. Drin, G., and Antonny, B. (2010) Amphipathic helices and membrane curvature, *FEBS Lett.*, **584**, 1840-1847, <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2009.10.022>.
83. Ikon, N., and Ryan, R. O. (2017) Cardiolipin and mitochondrial cristae organization, *Biochim. Biophys. Acta Biomembranes*, **1859**, 1156-1163, <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2017.03.013>.
84. Blum, T. B., Hahn, A., Meier, T., Davies, K. M., and Kühlbrandt, W. (2019) Dimers of mitochondrial ATP synthase induce membrane curvature and self-assemble into rows, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **116**, 4250-4255, <https://doi.org/10.1073/pnas.1816556116>.
85. Ohnishi, T. (1962) Extraction of actin- and myosin-like proteins from erythrocyte membrane, *J. Biochem.*, **52**, 307-308, <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a127620>.
86. Neifakh, S. A., and Kazakova, T. B. (1963) Actomyosin-like protein in mitochondria of the mouse liver, *Nature*, **197**, 1106-1107, <https://doi.org/10.1038/1971106a0>.
87. Bartley, W., Dean, B., and Ferdinand, W. (1969) Maintenance of mitochondrial volume and the effects of phosphate and ATP in producing swelling and shrinking, *J. Theor. Biol.*, **24**, 192-202, [https://doi.org/10.1016/S0022-5193\(69\)80045-7](https://doi.org/10.1016/S0022-5193(69)80045-7).
88. Zorov, D., Vorobjev, I., Popkov, V., Babenko, V., Zorova, L., Pevzner, I., Silachev, D., Zorov, S., Andrianova, N., and Plotnikov, E. (2019) Lessons from the discovery of mitochondrial fragmentation (fission): a review and update, *Cells*, **8**, 175, <https://doi.org/10.3390/cells8020175>.
89. Pihl, E., and Bahr, G. (1970) Matrix structure of critical-point dried mitochondria, *Exp. Cell. Res.*, **63**, 391-403, [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(70\)90228-4](https://doi.org/10.1016/0014-4827(70)90228-4).
90. Juhaszova, M., Kobrinsky, E., Zorov, D. B., Nuss, H. B., Yaniv, Y., Fishbein, K. W., de Cabo, R., Montoliu, L., Gabelli, S. B., Aon, M. A., Cortassa, S., and Sollott, S. J. (2022) ATP synthase K⁺- and H⁺-fluxes drive ATP synthesis and enable mitochondrial K⁺-“uniporter” function: I. Characterization of ion fluxes, *Function*, **3**, zqab065, <https://doi.org/10.1093/function/zqab065>.
91. Juhaszova, M., Kobrinsky, E., Zorov, D. B., Nuss, H. B., Yaniv, Y., Fishbein, K. W., de Cabo, R., Montoliu, L., Gabelli, S. B., Aon, M. A., Cortassa, S., and Sollott, S. J. (2022) ATP synthase K⁺- and H⁺-fluxes drive ATP synthesis and enable mitochondrial K⁺-“uniporter” function: II. Ion and ATP synthase flux regulation, *Function*, **3**, zqac001, <https://doi.org/10.1093/function/zqac001>.

92. Sobti, M., Walshe, J. L., Wu, D., Ishmukhametov, R., Zeng, Y. C., Robinson, C. V., Berry, R. M., and Stewart, A. G. (2020) Cryo-EM structures provide insight into how *E. coli* F₁F₀ ATP synthase accommodates symmetry mismatch, *Nat. Commun.*, **11**, 2615, <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16387-2>.
93. Lai, Y., Zhang, Y., Zhou, S., Xu, J., Du, Z., Feng, Z., Yu, L., Zhao, Z., Wang, W., Tang, Y., Yang, X., Guddat, L. W., Liu, F., Gao, Y., Rao, Z., and Gong, H. (2023) Structure of the human ATP synthase, *Mol. Cell*, **83**, 2137-2147.e4, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2023.04.029>.
94. Pfeffermann, J., and Pohl, P. (2023) Tutorial for stopped-flow water flux measurements: why a report about “ultra-fast water permeation through nanochannels with a densely fluorinated interior surface” is flawed, *Biomolecules*, **13**, 431, <https://doi.org/10.3390/biom13030431>.
95. Boytsov, D., Brescia, S., Chaves, G., Koefer, S., Hanneschlaeger, C., Siligan, C., Goessweiner-Mohr, N., Musset, B., and Pohl, P. (2023) Trapped pore waters in the open proton channel Hv1, *Small*, **19**, <https://doi.org/10.1002/smll.202205968>.
96. Pfeffermann, J., Goessweiner-Mohr, N., and Pohl, P. (2021) The energetic barrier to single-file water flow through narrow channels, *Biophys. Rev.*, **13**, 913-923, <https://doi.org/10.1007/s12551-021-00875-w>.
97. Zeuthen, T., and MacAulay, N. (2012) Transport of water against its concentration gradient: fact or fiction? *Wiley Interdiscip. Rev. Membr. Transp. Signal.*, **1**, 373-381, <https://doi.org/10.1002/wmms.54>.
98. Loo, D. D. F., Hirayama, B. A., Meinild, A., Chandy, G., Zeuthen, T., and Wright, E. M. (1999) Passive water and ion transport by cotransporters, *J. Physiol.*, **518**, 195-202, <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.1999.0195r.x>.
99. Скулачев В. П. (1995) Нефосфорилирующее дыхание как механизм, предотвращающий образование активных форм кислорода. *Мол. Биол.*, **29**, 1199-1209.
100. Chance, B. (1965) The respiratory chain as a model for metabolic control in multi-enzyme systems, in *Control of Energy Metabolism*, Academic Press, pp. 9-12.
101. Skulachev, V. P. (1996) Role of uncoupled and non-coupled oxidations in maintenance of safely low levels of oxygen and its one-electron reductants, *Q. Rev. Biophys.*, **29**, 169-202, <https://doi.org/10.1017/S0033583500005795.07>.
102. Edwards, S. W. (1996) The O₂⁻ generating NADPH oxidase of phagocytes: structure and methods of detection, *Meth-ods*, **9**, 563-577, <https://doi.org/10.1006/meth.1996.0064>.
103. Skulachev, V. P. (2005) How to clean the dirtiest place in the cell: cationic antioxidants as intramitochondrial ROS scavengers, *IUBMB Life*, **57**, 305-310, <https://doi.org/10.1080/15216540500092161>.
104. Dröge, W. (2002) Free radicals in the physiological control of cell function, *Physiol. Rev.*, **82**, 47-95, <https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2001>.
105. Michaelis, L. (1946) Fundamentals of oxidation and respiration, *Am. Sci.*, **34**, 573-596.
106. Gerschman, R., Gilbert, D. L., Nye, S. W., Dwyer, P., and Fenn, W. O. (1954) Oxygen poisoning and X-irradiation: a mechanism in common, *Science*, **119**, 623-626, <https://doi.org/10.1126/science.119.3097.623>.
107. Harman, D. (1995) Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry, *J. Gerontol.*, **11**, 298-300, <https://doi.org/10.1093/geronj/11.3.298>.
108. Franceschi, C. (1989) Cell proliferation, cell death and aging, *Aging Clin. Exp. Res.*, **1**, 3-15, <https://doi.org/10.1007/BF03233871>.
109. Franceschi, C., Bonafe, M., Valensisi, S., Oliveri, F., De Luca, M., Ottaviani, E., and De Benedictis, G. (2000) Inflamm-aging: an evolutionary perspective on immunosenescence, *Ann. N Y Acad. Sci.*, **908**, 244-254, <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb06651.x>.
110. Franceschi, C., Garagnani, P., Vitale, G., Capri, M., and Salvioli, S. (2017) Inflammaging and ‘Garb-Aging’, *Trends Endocrinol. Metab.*, **28**, 199-212, <https://doi.org/10.1016/j.tem.2016.09.005>.
111. Ferrucci, L., and Fabbri, E. (2018) Inflammageing: chronic inflammation in ageing, cardiovascular disease, and frailty, *Nat. Rev. Cardiol.*, **15**, 505-522, <https://doi.org/10.1038/s41569-018-0064-2>.
112. Zhang, Q., Raouf, M., Chen, Y., Sumi, Y., Sursal, T., Junger, W., Brohi, K., Itagaki, K., and Hauser, C. J. (2010) Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury, *Nature*, **464**, 104-107, <https://doi.org/10.1038/nature08780>.
113. Pinti, M., Cevenini, E., Nasi, M., De Biasi, S., Salvioli, S., Monti, D., Benatti, S., Gibellini, L., Cotichini, R., Stazi, M. A., Trenti, T., Franceschi, C., and Cossarizza, A. (2014) Circulating mitochondrial DNA increases with age and is a familiar trait: implications for “inflamm-aging”, *Eur. J Immunol.*, **44**, 1552-1562, <https://doi.org/10.1002/eji.201343921>.
114. Shimada, K., Crother, T.R., Karlin, J., Dagvadorj, J., Chiba, N., Chen, S., Ramanujan, V. K., Wolf, A. J., Vergnes, L., Ojcius, D. M., et al. (2012) Oxidized mitochondrial DNA activates the NLRP3 inflammasome during apoptosis, *Immunity*, **36**, 401-414, <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2012.01.009>.
115. Iyer, S. S., He, Q., Janczy, J. R., Elliott, E. I., Zhong, Z., Olivier, A. K., Sadler, J. J., Knepper-Adrian, V., Han, R., Qiao, L., Eisenbarth, S. C., Nauseef, W. M., Cassel, S. L., and Sutterwala, F. S. (2013) Mitochondrial cardiolipin is required for Nlrp3 inflammasome activation, *Immunity*, **39**, 311-323, <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.08.001>.

116. Zorov, D. B., Bannikova, S. Y., Belousov, V. V., Vyssokikh, M. Y., Zorova, L. D., Isaev, N. K., Krasnikov, B. F., and Plotnikov, E. Y. (2005) Reactive oxygen and nitrogen species: friends or foes? *Biochemistry (Moscow)*, **70**, 215-221, <https://doi.org/10.1007/s10541-005-0103-6>.
117. Boveris, A., Oshino, N., and Chance, B. (1972) The cellular production of hydrogen peroxide, *Biochem. J.*, **128**, 617-630, <https://doi.org/10.1042/bj1280617>.
118. Korshunov, S. S., Skulachev, V. P., and Starkov, A. A. (1997) High protonic potential actuates a mechanism of production of reactive oxygen species in mitochondria, *FEBS Lett.*, **416**, 15-18, [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(97\)01159-9](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(97)01159-9).
119. Vyssokikh, M. Y., Holtze, S., Averina, O. A., Lyamzaev, K. G., Panteleeva, A. A., Marey, M. V., Zinovkin, R. A., Severin, F. F., Skulachev, M. V., Fasel, N., Hildebrandt, T. B., and Skulachev, V. P. (2020) Mild depolarization of the inner mitochondrial membrane is a crucial component of an anti-aging program, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **117**, 6491-6501, <https://doi.org/10.1073/pnas.1916414117>.
120. Plotnikov, E. Y., Silachev, D. N., Jankauskas, S. S., Rokitskaya, T. I., Chupyrkina, A. A., Pevzner, I. B., Zorova, L. D., Isaev, N. K., Antonenko, Y. N., Skulachev, V. P., and Zorov, D. B. (2012) Mild uncoupling of respiration and phosphorylation as a mechanism providing nephro- and neuroprotective effects of penetrating cations of the SkQ family, *Biochemistry (Moscow)*, **77**, 1029-1037, <https://doi.org/10.1134/S0006297912090106>.
121. Skulachev, V. P. (1991) Fatty acid circuit as a physiological mechanism of uncoupling of oxidative phosphorylation, *FEBS Lett.*, **294**, 158-162, [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(91\)80658-P](https://doi.org/10.1016/0014-5793(91)80658-P).
122. Isaev, N. K., Zorov, D. B., Stelmashook, E. V., Uzbekov, R. E., Kozhemyakin, M. B., and Victorov, I. V. (1996) Neurotoxic Glutamate treatment of cultured cerebellar granule cells induces Ca²⁺-dependent collapse of mitochondrial membrane potential and ultrastructural alterations of mitochondria, *FEBS Lett.*, **392**, 143-147, [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(96\)00804-6](https://doi.org/10.1016/0014-5793(96)00804-6).
123. Weidinger, A., Milivojev, N., Hosmann, A., Duvigneau, J. C., Szabo, C., Törö, G., Rauter, L., Vaglio-Garro, A., Mkrtchyan, G. V., Trofimova, L., et al. (2023) Oxoglutarate dehydrogenase complex controls glutamate-mediated neuronal death, *Redox Biol.*, **62**, 102669, <https://doi.org/10.1016/j.redox.2023.102669>.
124. Li, X., and May, J. M. (2002) Catalase-dependent measurement of H₂O₂ in intact mitochondria, *Mitochondrion*, **1**, 447-453, [https://doi.org/10.1016/S1567-7249\(02\)00010-7](https://doi.org/10.1016/S1567-7249(02)00010-7).
125. Palma, F. R., He, C., Danes, J. M., Paviani, V., Coelho, D. R., Gantner, B. N., and Bonini, M. G. (2020) Mitochondrial superoxide dismutase: what the established, the intriguing, and the novel reveal about a key cellular redox switch, *Antioxid. Redox Signal.*, **32**, 701-714, <https://doi.org/10.1089/ars.2019.7962>.
126. Kang, S. W., Chae, H. Z., Seo, M. S., Kim, K., Baines, I. C., and Rhee, S. G. (1998) Mammalian peroxiredoxin isoforms can reduce hydrogen peroxide generated in response to growth factors and tumor necrosis factor- α , *J. Biol. Chem.*, **273**, 6297-6302, <https://doi.org/10.1074/JBC.273.11.6297>.
127. Arnér, E. S. J., and Holmgren, A. (2000) Physiological functions of thioredoxin and thioredoxin reductase, *Eur. J Biochem.*, **267**, 6102-6109, <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.2000.01701.x>.
128. Sohal, R. S., and Brunk, U. T. (1992) Mitochondrial production of pro-oxidants and cellular senescence, *Mutat. Res.*, **275**, 295-304, [https://doi.org/10.1016/0921-8734\(92\)90033-L](https://doi.org/10.1016/0921-8734(92)90033-L).
129. Zorov, D. B., Juhaszova, M., and Sollott, S. J. (2014) Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release, *Physiol. Rev.*, **94**, 909-950, <https://doi.org/10.1152/physrev.00026.2013>.
130. Silachev, D. N., Plotnikov, E. Y., Pevzner, I. B., Zorova, L. D., Babenko, V. A., Zorov, S. D., Popkov, V. A., Jankauskas, S. S., Zinchenko, V. P., Sukhikh, G. T., and Zorov, D. B. (2014) The mitochondrion as a key regulator of ischaemic tolerance and injury, *Heart Lung Circ.*, **23**, 897-904, <https://doi.org/10.1016/j.hlc.2014.05.022>.
131. Zorov, D.B., Isaev, N. K., Plotnikov, E. Y., Silachev, D. N., Zorova, L. D., Pevzner, I. B., Morosanova, M. A., Jankauskas, S. S., Zorov, S. D., and Babenko, V. A. (2013) Perspectives of mitochondrial medicine, *Biochemistry (Moscow)*, **78**, 979-990, <https://doi.org/10.1134/S0006297913090034>.
132. Miller, J. W., Selhub, J., and Joseph, J. A. (1996) Oxidative damage caused by free radicals produced during catecholamine autoxidation: protective effects of O-methylation and melatonin, *Free Radic. Biol. Med.*, **21**, 241-249, [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(96\)00033-0](https://doi.org/10.1016/0891-5849(96)00033-0).
133. Seiter, C. H. A., Margalit, R., and Perreault, R. A. (1979) The cytochrome c binding site on cytochrome c oxidase, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **86**, 473-477, [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(79\)91738-8](https://doi.org/10.1016/0006-291X(79)91738-8).
134. Vyssokikh, M., Zorova, L., Zorov, D., Heimlich, G., Jürgensmeier, J., Schreiner, D., and Brdiczka, D. (2004) The intra-mitochondrial cytochrome c distribution varies correlated to the formation of a complex between VDAC and the adenine nucleotide translocase: this affects Bax-dependent cytochrome c release, *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell. Res.*, **1644**, 27-36, <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2003.10.007>.
135. Vyssokikh, M. Y., Zorova, L., Zorov, D., Heimlich, G., Jürgensmeier, J. J., and Brdiczka, D. (2002) Bax releases cytochrome c preferentially from a complex between porin and adenine nucleotide translocator. Hexokinase activity suppresses this effect, *Mol. Biol. Rep.*, **29**, 93-96, <https://doi.org/10.1023/a:1020383108620>.

136. Kagan, V. E., Bayır, H. A., Belikova, N. A., Kapralov, O., Tyurina, Y. Y., Tyurin, V. A., Jiang, J., Stoyanovsky, D. A., Wipf, P., Kochanek, P. M., Greenberger, J. S., Pitt, B., Shvedova, A. A., and Borisenko, G. (2009) Cytochrome *c*/cardiolipin relations in mitochondria: a kiss of death, *Free Radic. Biol. Med.*, **46**, 1439-1453, <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.03.004>.
137. Pereverzev, M. O., Vygodina, T. V., Konstantinov, A. A., and Skulachev, V. P. (2003) Cytochrome *c*, an ideal antioxidant, *Biochem. Soc. Trans.*, **31**, 1312-1315, <https://doi.org/10.1042/bst0311312>.
138. Skulachev, V. P. (1998) Cytochrome *c* in the apoptotic and antioxidant cascades, *FEBS Lett.*, **423**, 275-280, [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(98\)00061-1](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(98)00061-1).
139. Abramicheva, P. A., Andrianova, N. V., Babenko, V. A., Zorova, L. D., Zorov, S. D., Pevzner, I. B., Popkov, V. A., Semenovich, D. S., Yakupova, E. I., Silachev, D. N., Plotnikov, E. Y., Sukhikh, G. T., and Zorov, D. B. (2023) Mitochondrial network: electric cable and more, *Biochemistry (Moscow)*, **88**, 1596-1607, <https://doi.org/10.1134/S0006297923100140>.
140. Skulachev, V. P. (1971) Energy transformations in the respiratory chain, *Curr. Top. Bioenergetics*, **4**, 127-190, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-152504-0.50010-1>.
141. Bakeeva, L. E., Chentsov, Y. S., and Skulachev, V. P. (1978) Mitochondrial framework (reticulum mitochondriale) in rat diaphragm muscle, *Biochim. Biophys. Acta*, **501**, 349-369, [https://doi.org/10.1016/0005-2728\(78\)90104-4](https://doi.org/10.1016/0005-2728(78)90104-4).
142. Драчев В. А., Зоров Д. Б. (1986) Митохондрия как электрический кабель. Экспериментальная проверка гипотезы, *Докл. Акад. Наук СССР*, **287**, 1237-1238.
143. Amchenkova, A. A., Bakeeva, L. E., Chentsov, Y. S., Skulachev, V. P., and Zorov, D. B. (1988) Coupling membranes as energy-transmitting cables. I. Filamentous mitochondria in fibroblasts and mitochondrial clusters in cardiomyocytes, *J. Cell. Biol.*, **107**, 481-495, <https://doi.org/10.1083/jcb.107.2.481.148>.
144. Vitale, I., Pietrocola, F., Guilbaud, E., Aaronson, S. A., Abrams, J. M., Adam, D., Agostini, M., Agostinis, P., Alnemri, E. S., Altucci, L., et al. (2023) Apoptotic cell death in disease – current understanding of the NCCD 2023, *Cell Death Differ.*, **30**, 1097-1154, <https://doi.org/10.1038/s41418-023-01153-w>.
145. Zorov, D. B., Popkov, V. A., Zorova, L. D., Vorobjev, I. A., Pevzner, I. B., Silachev, D. N., Zorov, S. D., Jankauskas, S. S., Babenko, V. A., and Plotnikov, E. Y. (2017) Mitochondrial aging: is there a mitochondrial clock? *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.*, **72**, 1171-1179, <https://doi.org/10.1093/gerona/glw184>.
146. Twig, G., Elorza, A., Molina, A. J. A., Mohamed, H., Wikstrom, J. D., Walzer, G., Stiles, L., Haigh, S. E., Katz, S., Las, G., et al. (2008) Fission and selective fusion govern mitochondrial segregation and elimination by autophagy, *EMBO J.*, **27**, 433-446, <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601963>.
147. Vorobjev, I. A., and Zorov, D. B. (1983) Diazepam inhibits cell respiration and induces fragmentation of mitochondrial reticulum, *FEBS Lett.*, **163**, 311-314, [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(83\)80842-4](https://doi.org/10.1016/0014-5793(83)80842-4).
148. Plotnikov, E. Y., Vasileva, A. K., Arkhangelskaya, A. A., Pevzner, I. B., Skulachev, V. P., and Zorov, D. B. (2008) Interrelations of mitochondrial fragmentation and cell death under ischemia/reoxygenation and UV-irradiation: protective effects of SkQ1, lithium ions and insulin, *FEBS Lett.*, **582**, 3117-3124, <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2008.08.002>.
149. Hunter, D. R., Haworth, R. A. (1979) The Ca²⁺-induced membrane transition in mitochondria, *Arch. Biochem. Biophys.*, **195**, 453-459, [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(79\)90371-0](https://doi.org/10.1016/0003-9861(79)90371-0).
150. Haworth, R. A., and Hunter, D. R. (1979) The Ca²⁺-induced membrane transition in mitochondria, *Arch. Biochem. Biophys.*, **195**, 460-467, [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(79\)90372-2](https://doi.org/10.1016/0003-9861(79)90372-2).
151. Hunter, D. R., and Haworth, R. A. (1979) The Ca²⁺-induced membrane transition in mitochondria, *Arch. Biochem. Biophys.*, **195**, 468-477, [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(79\)90373-4](https://doi.org/10.1016/0003-9861(79)90373-4).
152. Novgorodov, S. A., Gudz, T. I., Kushnareva, Y. E., Zorov, D. B., and Kudrjashov, Y. B. (1990) Effect of cyclosporine A and oligomycin on non-specific permeability of the inner mitochondrial membrane, *FEBS Lett.*, **270**, 108-110, [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(90\)81245-j](https://doi.org/10.1016/0014-5793(90)81245-j).
153. Novgorodov, S. A., Gudz, T. I., Kushnareva, Y. E., Zorov, D. B., and Kudrjashov, Y. B. (1990) Effect of ADP/ATP antiporter conformational state on the suppression of the nonspecific permeability of the inner mitochondrial membrane by cyclosporine A, *FEBS Lett.*, **277**, 123-126, [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(90\)80824-3](https://doi.org/10.1016/0014-5793(90)80824-3).
154. Kinnally, K. W., Zorov, D., Antonenko, Y., and Perini, S. (1991) Calcium modulation of mitochondrial inner membrane channel activity, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **176**, 1183-1188, [https://doi.org/10.1016/0006-291x\(91\)90410-9](https://doi.org/10.1016/0006-291x(91)90410-9).
155. Szabó, I., and Zoratti, M. (1992) The mitochondrial megachannel is the permeability transition pore, *J. Bioenerg. Biomembr.*, **24**, 111-117, <https://doi.org/10.1007/BF00769537>.
156. Zoratti, M., and Szabó, I. (1995) The mitochondrial permeability transition, *Biochim. Biophys. Acta*, **1241**, 139-176, [https://doi.org/10.1016/0304-4157\(95\)00003-4](https://doi.org/10.1016/0304-4157(95)00003-4).
157. Krasnikov, B. F., Zorov, D. B., Antonenko, Y. N., Zaspá, A. A., Kulikov, I. V., Kristal, B. S., Cooper, A. J., and Brown, A. M. (2005) Comparative kinetic analysis reveals that inducer-specific ion release precedes the mitochondrial permeability transition, *Biochim. Biophys. Acta*, **1708**, 375-392, <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2005.05.009>.

158. Zorov, D. B., Juhaszova, M., Yaniv, Y., Nuss, H. B., Wang, S., and Sollott, S. J. (2009) Regulation and pharmacology of the mitochondrial permeability transition pore, *Cardiovasc. Res.*, **83**, 213-225, <https://doi.org/10.1093/cvr/cvp151>.
159. Skulachev, V. P. (1996) Why are mitochondria involved in apoptosis? Permeability transition pores and apoptosis as selective mechanisms to eliminate superoxide-producing mitochondria and cell, *FEBS Lett.*, **397**, 7-10, [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(96\)00989-1](https://doi.org/10.1016/0014-5793(96)00989-1).
160. Kluck, R. M., Esposti, M. D., Perkins, G., Renken, C., Kuwana, T., Bossy-Wetzel, E., Goldberg, M., Allen, T., Barber, M. J., Green, D. R., and Newmeyer, D. D. (1999) The pro-apoptotic proteins, Bid and Bax, cause a limited permeabilization of the mitochondrial outer membrane that is enhanced by cytosol, *J. Cell Biol.*, **147**, 809-822, <https://doi.org/10.1083/jcb.147.4.809>.
161. Zorov, D. B., Kinnally, K. W., and Tedeschi, H. (1992) Voltage activation of heart inner mitochondrial membrane channels, *J. Bioenerg. Biomembr.*, **24**, 119-124, <https://doi.org/10.1007/BF00769538>.
162. Lemasters, J. J. (1999) Necrapoptosis and the mitochondrial permeability transition: shared pathways to necrosis and apoptosis, *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, **276**, G1-G6, <https://doi.org/10.1152/ajpgi.1999.276.1.G1>.
163. Riedl, S. J., and Salvesen, G. S. (2007) The apoptosome: signalling platform of cell death, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **8**, 405-413, <https://doi.org/10.1038/nrm2153>.
164. Zorov, D. B., Plotnikov, E. Y., Jankauskas, S. S., Isaev, N. K., Silachev, D. N., Zorova, L. D., Pevzner, I. B., Pulkova, N. V., Zorov, S. D., and Morosanova, M. A. (2012) The phenoptosis problem: what is causing the death of an organism? Lessons from acute kidney injury, *Biochemistry (Moscow)*, **77**, 742-753, <https://doi.org/10.1134/S0006297912070073>.
165. Plotnikov, E. Y., Morosanova, M. A., Pevzner, I. B., Zorova, L. D., Manskikh, V. N., Pulkova, N. V., Galkina, S. I., Skulachev, V. P., and Zorov, D. B. (2013) Protective effect of mitochondria-targeted antioxidants in an acute bacterial infection, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, <https://doi.org/10.1073/pnas.1307096110>.
166. Zorov, D. B., Plotnikov, E. Y., Silachev, D. N., Zorova, L. D., Pevzner, I. B., Zorov, S. D., Babenko, V. A., Jankauskas, S. S., Popkov, V. A., and Savina, P. S. (2014) Microbiota and mitobiota. Putting an equal sign between mitochondria and bacteria, *Biochemistry (Moscow)*, **79**, 1017-1031, <https://doi.org/10.1134/S0006297914100046>.
167. Popkov, V. A., Plotnikov, E. Y., Silachev, D. N., Zorova, L. D., Pevzner, I. B., Jankauskas, S. S., Zorov, S. D., Andrianova, N. V., Babenko, V. A., and Zorov, D. B. (2017) Bacterial therapy and mitochondrial therapy, *Biochemistry (Moscow)*, **82**, 1549-1556, <https://doi.org/10.1134/S0006297917120148>.
168. Skulachev, V. P. (2012) What is "phenoptosis" and how to fight it? *Biochemistry (Moscow)*, **77**, 689-706, <https://doi.org/10.1134/S0006297912070012>.
169. Skulachev, V. P. (2002) Programmed death phenomena: from organelle to organism, *Ann. N Y Acad. Sci.*, **959**, 214-237, <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2002.tb02095.x>.
170. Skulachev, V. P. (1999) Phenoptosis: programmed death of an organism, *Biochemistry (Moscow)*, **64**, 1418-1426.
171. Skulachev, V. P., Vyssokikh, M. Yu., Chernyak, B. V., Averina, O. A., Andreev-Andrievskiy, A. A., Zinovkin, R. A., Lyamzaev, K. G., Marey, M. V., Egorov, M. V., Frolova, O. J., Zorov, D. B., Skulachev, M. V., and Sadovnichii, V. A. (2023) Mitochondrion-targeted antioxidant SkQ1 prevents rapid animal death caused by highly diverse shocks, *Sci. Rep.*, **13**, 4326, <https://doi.org/10.1038/s41598-023-31281-9>.
172. Bakeeva, L. E., Barskov, I. V., Egorov, M. V., Isaev, N. K., Kapelko, V. I., Kazachenko, A. V., Kirpatovsky, V. I., Kozlovsky, S. V., Lakomkin, V. L., Levina, S. B., et al. (2008) Mitochondria-targeted plastoquinone derivatives as tools to interrupt execution of the aging program. 2. Treatment of some ROS- and age-related diseases (heart arrhythmia, heart infarctions, kidney ischemia, and stroke), *Biochemistry (Moscow)*, **73**, 1288-1299, <https://doi.org/10.1134/S000629790812002X>.
173. Skulachev, M. V., N. Antonenko, Y. N., Anisimov, V. V., Chernyak, B. A., Cherepanov, D. A., Chistyakov, V. V., Egorov, M. G., Kolosova, N. A., Korshunova, G. G., Lyamzaev, K., et al. (2011) Mitochondrial-targeted plastoquinone derivatives. Effect on senescence and acute age-related pathologies, *Curr. Drug. Targets*, **12**, 800-826, <https://doi.org/10.2174/138945011795528859>.
174. Weismann, A. (1882) *About the Duration of Life* [in German], Fischer, Jena.

MITOCENTRICITY

Review

D. B. Zorov^{1,2*}, P. A. Abramicheva¹, N. V. Andrianova¹, V. A. Babenko^{1,2}, L. D. Zorova^{1,2}, S. D. Zorov^{1,3}, I. B. Pevzner^{1,2}, V. A. Popkov^{1,2}, D. S. Semenovich^{1,2}, E. I. Yakupova¹, D. N. Silachev^{1,2}, E. Y. Plotnikov^{1,2}, and G. T. Sukhikh²

¹ *Belozersky Research Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, 119991 Moscow, Russia; e-mail: zorov@belozersky.msu.ru*

² *Kulakov National Medical Research Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology, 117997 Moscow, Russia*

³ *Faculty of Bioengineering and Bioinformatics, Lomonosov Moscow State University, 119991 Moscow, Russia*

Worldwide, interest in mitochondria is constantly growing, as evidenced by scientific statistics, and studies of the functioning of these organelles are becoming more prevalent than studies of other cellular structures. In this analytical review, mitochondria are conditionally placed in a certain cellular center, which is responsible for both energy production and other non-energetic functions, without which the existence of not only the eukaryotic cell itself, but also the entire organism is impossible. Taking into account the high multifunctionality of mitochondria, such a fundamentally new scheme of cell functioning organization, including mitochondrial management of processes that determine cell survival and death, may be justified. Considering that this issue is dedicated to the memory of V. P. Skulachev, who can be called mitocentric, due to the history of his scientific activity almost entirely aimed at studying mitochondria, this work examines those aspects of mitochondrial functioning that were directly or indirectly the focus of attention of this outstanding scientist. We list all possible known mitochondrial functions, including membrane potential generation, synthesis of Fe-S clusters, steroid hormones, heme, fatty acids, and CO₂. Special attention is paid to the participation of mitochondria in the formation and transport of water, as a powerful biochemical cellular and mitochondrial regulator. The history of research on reactive oxygen species that generate mitochondria is subject to significant analysis. In the section "Mitochondria in the Center of Death", special emphasis is placed on the analysis of what role and how mitochondria can play and determine the program of death of an organism (phenoptosis) and the contribution made to these studies by V. P. Skulachev.

Keywords: mitochondria, cell, organism, phenoptosis, death, membrane potential, water, swelling, uncoupling, CO₂, steroids, heme, fatty acids, reactive oxygen species