

УДК 577.23

## ТРАНСПЛАНТАЦИЯ МИТОХОНДРИЙ: КРИТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

© 2020 Б.В. Черняк

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, 119234 Москва, Россия; электронная почта: bchernyak1@gmail.com

Поступила в редакцию 01.04.2020

После доработки 01.04.2020

Принята к публикации 03.04.2020

«Митохондриальной трансплантацией» называют процедуру введения изолированных митохондрий в поврежденную область сердца или иного органа. Накоплено значительное количество данных о терапевтическом действии «митохондриальной трансплантации» при ишемическом поражении сердца у животных. В 2017 г. проведены первые попытки применения этой процедуры в клинике. Авторы метода предполагают, что экзогенные митохондрии проникают в кардиомиоциты, сохраняя функциональную активность, и компенсируют нарушения энергетических функций эндогенных митохондрий. Эта гипотеза противоречит известному факту потери митохондриальных функций в присутствии высоких концентраций ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , которые характерны для внеклеточной среды. В обзоре критически рассмотрены возможные механизмы терапевтического действия «митохондриальной трансплантации».

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** изолированные митохондрии, перенос в кардиомиоциты, ишемия, реперфузия, критический обзор.

DOI: 10.31857/S0320972520050139

### ИСТОРИЧЕСКАЯ СПРАВКА

Эта история началась в далеком 2009 г., когда была опубликована первая работа о терапевтическом действии выделенных митохондрий при введении в ишемизированное сердце кролика [1]. Работа была проведена в весьма уважаемом американском госпитале (Beth Israel Deaconess Medical Center), аффилированном с Медицинской Школой Гарвардского университета (Harvard Medical School) под руководством доктора Джеймса Д. МакКалли (James D. McCully). Этот исследователь имел к тому времени уже более чем 25-летний опыт исследований в области молекулярной кардиологии (<http://www.childrenshospital.org/research/researchers/m/james-mccully>), а журнал, в котором была опубликована работа, относился к числу наиболее уважаемых изданий по физиологии. Несмотря на все вышесказанное и на сенсационное, по сути, содержание, эта работа не вызвала какого-либо резонанса. Она оказалась лишь первой в цепи публикаций, которая протянулась более чем на 10 лет, вплоть до сегодняшнего дня.

McCully et al. [1] выделяли митохондрии из сердца кролика и вводили их в поврежденную при локальной ишемии область изолированного и перфузированного по Лангендорфу сердца перед реперфузией. Такая процедура, названная позднее «митохондриальной трансплантацией», ослабляла снижение основных функциональ-

ных показателей сердца, уменьшала размер области инфаркта и уровень биохимических маркеров повреждения миокарда. Авторы показали, что митохондрии, подвергшиеся замораживанию и оттаиванию, уже не давали защитного эффекта. В этой работе, в отличие от всех последующих, было показано, что введенные митохондрии остаются в межклеточном пространстве и не проникают в кардиомиоциты. Отдельные компоненты митохондрий, включая АТФ и ДНК + РНК, не вызывали какого-либо эффекта, так что механизм защитного действия митохондриальной трансплантации остался не выясненным. Авторы обнаружили, что введение митохондрий снижает уровень окислительного повреждения (измеренный по накоплению продуктов перекисного окисления липидов) в области поражения. Был ли этот «антиоксидантный» эффект первичным или он возникал как результат иного защитного действия митохондрий, осталось не ясно.

В следующей работе, вышедшей лишь через 4 года, McCully et al. [2] показали эффективность митохондриальной трансплантации в модели ишемии/реперфузии сердца кролика *in vivo*. Митохондрии на этот раз выделяли из скелетной (большой грудной) мышцы того же кролика. Введение митохондрий в поврежденную область миокарда после 30 мин локальной ишемии вызывало уменьшение области инфаркта, наблюдавшееся через 2 ч реперфузии и через

4 недели восстановления животных. Серийная эхокардиография показала, что сердце у кролика, получившего инъекцию митохондрий, начало нормально сокращаться уже через 10 мин после начала реперфузии, тогда как в контроле (введение среды для суспендирования митохондрий) гипокинезия в ишемизированной области сохранялась в течение 4 недель.

В этой работе авторы представили доказательства того, что введенные митохондрии проникают в кардиомиоциты. В частности, с помощью флуоресцентной микроскопии фиксированных срезов миокарда они показали, что выделенные митохондрии, окрашенные Митотрекером красным (CMXRos), через 2 ч после введения обнаруживались внутри клеток (как кардиомиоцитов, так и немышечных клеток). Для подтверждения этих наблюдений в сердце кролика были введены митохондрии, выделенные из клеток человека (линия HeLa), что позволило выявить их локализацию с помощью специфических антител.

### ЭКСПЕРИМЕНТЫ *in vitro*

В дополнение к опытам на кроликах McCully et al. исследовали проникновение митохондрий, выделенных из клеток HeLa в изолированные неонатальные (2 дня) кардиомиоциты крысы [2]. Электронно-трансмиссионная микроскопия с использованием меченных золотом антител подтвердила наличие человеческих митохондрий в цитоплазме кардиомиоцитов. Никакой ко-локализации человеческих митохондрий с аутофагосомами и лизосомами в кардиомиоцитах не наблюдалось.

В этой же модели было показано, что совместная инкубация кардиомиоцитов и митохондрий из печени крысы в течение 4 ч вызывала двукратное повышение скорости дыхания клеток. Через 8 ч культивации скорость дыхания снижалась до исходной. Надо отметить, что этот важный опыт имел несколько особенностей. Измерения скорости дыхания проводились в аппарате Seahorse («Seahorse Bioscience», США), где клетки прикреплены к подложке, а концентрация кислорода измеряется в очень малом объеме среды над клетками. Авторы использовали в этих опытах среду, содержащую субстраты дыхания (глутамат, малат и сукцинат), АДФ и 0, 5мМ EGTA (хелатора  $Ca^{2+}$ ), так что дыхание митохондрий, сорбированных на подложке или на поверхности клеток, вполне могло обеспечить наблюдаемый эффект. Полученные результаты позволили авторам предположить, что «митохондриальная трансплантация» восста-

навливает энергетику клеток, поврежденных при ишемии/реперфузии. Это предположение повторялось в дальнейшем во всех многочисленных работах McCully et al., но более надежных данных, подтверждающих эту гипотезу, пока не представлено.

Интересно, что эксперименты с кардиомиоцитами *in vitro* остаются пока единственными из опытов группы McCully, которые были хотя бы частично воспроизведены в других лабораториях. В 2014 г. в работе Kitani et al. [3] наблюдалось проникновение митохондрий в трансформированные кардиомиоциты из эмбрионального сердца крысы (линия H9c2) и в те же клетки, лишенные митохондриальной ДНК (так называемые  $\rho^0$ -клетки). В экспериментах с  $\rho^0$ -клетками введение изолированных митохондрий приводило к повышению скорости дыхания клеток и их выживаемости. В работе, вышедшей в марте 2020 г. [4], клетки H9c2 культивировали с митохондриями, выделенными из тех же клеток или из клеток крысиной линии L6. В обеих работах, в отличие от экспериментов McCully et al. [2], митохондрии добавляли в стандартную среду культивации клеток (DMEM), которая содержала  $>1$  мМ  $Ca^{2+}$ . Та же среда с добавлением пирувата и глутамина была использована для измерения дыхания в аппарате Seahorse. В этих условиях, как мы подробнее обсудим ниже, дыхание внеклеточных митохондрий было невозможно. В обеих работах введение митохондрий вызывало повышение как базовой скорости дыхания клеток, так и максимальной скорости, измеренной в присутствии разбавителя FCCP.

### КЛИНИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ

Лаборатория McCully продолжала интенсивные исследования «митохондриальной трансплантации» в моделях ишемии сердца. В частности, было показано защитное действие митохондрий в модели ишемии на свиньях [5], а также при введении в кровоток через коронарные артерии [6]. Наконец, в 2017 г. детский кардиохирург Ситарам М. Емани (Sitaram M. Emani) совместно с McCully et al. использовали «митохондриальную трансплантацию» для лечения младенцев с ишемическими поражениями сердца [7]. Процедура была проведена на пациентах в возрасте от 2 дней до 2 лет, которые были подключены к аппарату экстракорпоральной мембранной оксигенации (ЭКМО). Аппарат ЭКМО не лечит пациента, но дает время необходимое для лечения. Процедура эта применяется только в самых тяжелых случаях и в педиатрической практике ее применение дольше, чем

на протяжении 72 ч, сопровождается летальностью более 60% [8]. Из пяти пациентов, получивших «митохондриальную трансплантацию», трое успешно перенесли 30–50 ч ЭКМО и оставались в живых на протяжении нескольких месяцев. Погибли младенцы, которые получили «митохондриальную трансплантацию» в возрасте 4 и 6 дней, причем у одного из них наблюдалось значительное улучшение сердечной функции. Коллеги прокомментировали эти достижения со сдержанным оптимизмом [9], а Нью Йорк Таймс опубликовала статью [10], полную душераздирающих деталей. Проведенные процедуры были зарегистрированы в официальном реестре клинических испытаний [11], но последние изменения в реестр были внесены в 2018 г, и графа «Результаты» пока осталась пустой.

### СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ

Лаборатория McCully продолжает исследования на животных. В частности, они показали, что «митохондриальная трансплантация» помогает, даже если проводится до возникновения ишемии [12], а также после периода реперфузии [13]. Кроме того, «митохондриальная трансплантация» оказалась эффективна при ишемическом повреждении скелетных мышц [14] и легких [15]. Последователи McCully успешно использовали «митохондриальную трансплантацию» в модели легочной гипертензии [16, 17], в различных моделях нейробиологических нарушений (см. обзор [18]), нейродегенеративных заболеваний [19], и даже в моделях депрессии [20] и шизофрении [21]. Несмотря на длинную историю и широкий охват этих исследований, вопрос о возможных механизмах терапевтического действия «митохондриальной трансплантации» остается открытым.

### ВОПРОСЫ

Вопросы относительно механизмов, обеспечивающих терапевтическое действие «митохондриальной трансплантации», несомненно, возникли немедленно после первых сообщений McCully et al., но были сформулированы и опубликованы лишь в 2018 г. [22] после появления публикаций о клинических испытаниях. Согласно гипотезе McCully et al., митохондрии сохраняют функциональную активность во внеклеточной среде и, проникая в клетки, восстанавливают в них нарушенную продукцию АТФ. В случае введения митохондрий в кровоток приходится предположить, что интактные

митохондрии, прежде чем попасть в кардиомиоцит, преодолевают еще и эндотелиальный барьер.

Всякому, кто работал с изолированными митохондриями хорошо известно, что в среде, содержащей ионы  $\text{Ca}^{2+}$ , митохондрии быстро и необратимо теряют способность к синтезу АТФ и дыханию на NAD-зависимых субстратах. Это связано с тем, что дышащие митохондрии имеют высокий мембранный потенциал (минус в матриксе) и переносчик ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , белок MCU. Достаточно микромолярных концентраций  $\text{Ca}^{2+}$  в среде, чтобы его накопление в митохондриях привело к многократному повышению проницаемости внутренней мембраны для молекул с молекулярной массой до ~1600 кДа. Это явление, получившее название «permeability transition», связано с открытием в мембране гигантских неселективных пор («permeability transition pore, РТР», см. обзор [23]). Для поддержания осмотического баланса в среды инкубации митохондрий добавляют соли или сахара (сахарозу, маннит), но после открытия пор их концентрации между средой и матриксом выравниваются, и митохондрии сильно набухают. При этом сначала разрушается внешняя мембрана (она имеет намного меньшую площадь, чем внутренняя, которая образует складки, так называемые кристы), а затем и внутренняя. При этом не только падает мембранный потенциал, но из матрикса вымывается NAD/NADH, что делает невозможным окисление таких субстратов, как пируват и малат. Даже если во внеклеточной среде, благодаря присутствию белков и полисахаридов, не произойдет полномасштабного набухания митохондрий, открытие пор приведет к необратимому нарушению митохондриальных функций. Существуют многочисленные механизмы, регулирующие открытие пор, но при концентрации ~1,8 мМ  $\text{Ca}^{2+}$  (характерной для крови) ни один из них не способен предотвратить это открытие [23].

Можно представить себе лишь две возможности для митохондрий выжить в присутствии  $\text{Ca}^{2+}$ : можно заблокировать переносчик  $\text{Ca}^{2+}$  или полностью ликвидировать разность потенциалов на мембране. Возможность реализации этих сценариев в крови или в межклеточной среде может быть проверено экспериментально. Первый шаг на этом пути в марте 2020 г. [24] сделали те же авторы, которые впервые сформулировали вопросы к методике McCully et al. [22]. Они показали, что в стандартной солевой среде (140 мМ  $\text{Na}^+$ , 5 мМ  $\text{K}^+$  и 1 мМ  $\text{Ca}^{2+}$ ), имитирующей состав крови, митохондрии из скелетных мышц быстро и необратимо теряли способность окислять пируват и малат, а также синтезировать АТФ. Эти свойства митохондрий сохраня-

лись, если переносчик  $\text{Ca}^{2+}$  был заблокирован. К сожалению, эксперимент с сывороткой крови авторы не поставили, так что призрачные возможности для спасения митохондрий еще остаются.

Второй сложный для гипотезы McCully вопрос состоит в том, как митохондрии, проникшие в клетки, сохраняют свою целостность. McCully et al. исследовали этот вопрос и пришли к выводу, что перенос митохондрий происходит благодаря эндоцитозу [25]. К этому же заключению пришли авторы, которые исследовали проникновение митохондрий в клетки глиомы [26]. Имеются так же указания в пользу макропиноцитоза [3], но в обоих случаях не ясно, как интактные митохондрии попадают в цитоплазму. Не следует путать «митохондриальную трансплантацию» с явлениями межклеточного переноса митохондрий. Предполагается, что такой перенос может происходить при кратковременном слиянии клеток экзосом, содержащих митохондрии, или с помощью мембранных нанотрубок. Как бы то ни было, сохранение целостности митохондрий при межклеточном переносе не представляется неразрешимой задачей.

Для доказательства интактности экзогенных митохондрий, проникших в клетки сердца *in vivo*, McCully et al. использовали митохондрии, нагруженные комплексами железа [5]. Эти комплексы удавалось обнаружить в сердце свиньи через 4 недели после введения митохондрий. Эти данные, однако, нельзя рассматривать как свидетельства интактности митохондрий. Так, известно, что макрофаги могут удерживать подобные комплексы железа в составе фагосом на протяжении недель после введения в сердце стволовых клеток, нагруженных этими комплексами [27]. Более убедительные данные о сохранении функций митохондрий после переноса в клетки были получены *in vitro* [2–4], но переносить их на систему *in vivo* можно лишь с большой осторожностью. Наконец, количество экзогенных митохондрий, которые удавалось обнаружить в кардиомиоцитах после «митохондриальной трансплантации» *in vivo* [2] было значительно меньше, чем в опытах *in vitro* [2–4]. Очень трудно представить, как единичные митохондрии могут компенсировать нарушения энергетики кардиомиоцитов, вызванные повреждением эндогенных митохондрий.

Интересная возможность объяснения терапевтического действия «митохондриальной трансплантации» связана с переносом митохондриальной ДНК. Митохондрии в этом случае могут играть лишь роль контейнеров. Возможность переноса ДНК экзогенных митохондрий

клетки была обнаружена задолго до работ McCully et al. и получила название «митохондриальная трансформация» [28]. Транскрипционная активность и возможность репликации экзогенной ДНК в этих работах не изучалась. Возможность транскрипции экзогенной митохондриальной ДНК была показана на клетках-цибридах, несущих в митохондриальной ДНК мутацию A3243G (которая соответствует митохондриальному заболеванию MELAS-синдром [29]), а также в клетках пациентов с двумя различными мутациями в генах субъединиц Комплекса I [30]. Нельзя исключить, что «митохондриальная трансформация» определяет терапевтическое действие экзогенных митохондрий в некоторых моделях из перечисленных выше. Однако в случае кардиопротекции, описанной McCully et al. [1, 2, 6], улучшение сердечных функций наблюдали уже через 10 мин после введения митохондрий, что позволяет исключить эффект переноса ДНК.

Наконец, еще одна версия состоит в том, что введение митохондрий (даже аутологическое) может приводить к локальному иммунному ответу в области поражения. Известно, что система врожденного иммунитета распознает митохондрии и их компоненты, так же как вторжение патогенов [31]. McCully et al. не обнаружили маркеров воспаления и заметного сдвига в уровне провоспалительных цитокинов в крови кроликов после «митохондриальной трансплантации» [3]. Более того, они не обнаружили иммунного ответа при интраперитонеальном введении митохондрий мышам [31]. Тем не менее нельзя исключить быстрого локального ответа в области введения митохондрий. Этот ответ должен включать привлечение в поврежденную область нейтрофилов и макрофагов, а также выброс широкого спектра цитокинов, которые могли бы стимулировать локальные регенеративные процессы. Эта гипотеза, как нам кажется, нуждается в экспериментальной проверке.

Многочисленные публикации, посвященные применению «митохондриальной трансплантации» в различных моделях, а также сообщения о применении этого подхода в клинике требуют, как нам кажется, всестороннего детального обсуждения. Все результаты, касающиеся кардиопротекторного действия «митохондриальной трансплантации» получены до сих пор в одной единственной лаборатории. Данные о клинических испытаниях крайне ограничены, и их условия принципиально отличаются от экспериментов на животных. В клинике введение митохондрий проводили через несколько (до 15) дней после ишемии в то время, как на

животных этот интервал составлял 2 ч [13]. Предположение о том, что терапевтическое действие «митохондриальной трансплантации» связано с проникновением интактных экзогенных митохондрий в клетки и с восстановлением продукции АТФ, сталкивается с крайне труднопреодолимыми возражениями. Прежде всего, очень трудно представить себе сохранение функциональности митохондрий в средах с высоким содержанием  $\text{Ca}^{2+}$ . Кроме того, невозможно объяснить, как очень малое количество митохондрий, проникших в клетку способно компенсировать нарушения в работе многочисленных эндогенных митохондрий. Альтернативные механизмы действия «митохондриальной трансплантации» исследованы совершенно недостаточно. Возникающие вопросы во многом напоминают проблемы, связанные с несравненно более масштабными исследованиями

действия стволовых клеток. Применительно к кардиопротекции возможные механизмы их действия остаются темой острых дискуссий [32, 33].

**Финансирование.** Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 17-00-00088).

**Благодарности.** Автор благодарен Р.А. Зиновкину (НИИФХБ им. А.Н. Белозерского, МГУ) за полезное обсуждение работы.

**Конфликт интересов.** Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

**Соблюдение этических норм.** Настоящая статья не содержит описания выполненных автором исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. McCully, J. D., Cowan, D. B., Pacak, C. A., Toumpoulis, I. K., Dayalan, H., and Levitsky, S. (2009) Injection of isolated mitochondria during early reperfusion for cardioprotection, *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.*, **296**, H94-H105.
2. Masuzawa, A., Black, K. M., Pacak, C. A., Ericsson, M., Barnett, R. J., Drumm, C., Seth, P., Bloch, D. B., Levitsky, S., Cowan, D. B., and McCully, J. D. (2013) Transplantation of autologously derived mitochondria protects the heart from ischemia-reperfusion injury, *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.*, **304**, H966-H982.
3. Kitani, T., Kami, D., Matoba, S., and Gojo, S. (2014) Internalization of isolated functional mitochondria: involvement of micropinocytosis, *J. Cell. Mol. Med.*, **18**, 1694-1703.
4. Ali Pour, P., Kenney, M. C., and Kheradvar, A. (2020) Bioenergetics consequences of mitochondrial transplantation in cardiomyocytes, *J. Am. Heart Assoc.*, **9**, e014501.
5. Kaza, A. K., Wamala, I., Friehs, I., Kuebler, J. D., Rathod, R. H., Berra, I., Ericsson, M., Yao, R., Thedsanamoorthy, J. K., Zurakowski, D., Levitsky, S., Del Nido, P. J., Cowan, D. B., and McCully, J. D. (2017) Myocardial rescue with autologous mitochondrial transplantation in a porcine model of ischemia/reperfusion, *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **153**, 934-943.
6. Cowan, D. B., Yao, R., Akurathi, V., Snay, E. R., Thedsanamoorthy, J. K., Zurakowski, D., Ericsson, M., Friehs, I., Wu, Y., Levitsky, S., Del Nido, P. J., Packard, A. B., and McCully, J. D. (2016) Intracoronary delivery of mitochondria to the ischemic heart for cardioprotection, *PLoS One*, **11**, e0160889.
7. Emani, S. M., Piekarski, B. L., Harrild, D., Del Nido, P. J., and McCully, J. D. (2017) Autologous mitochondrial transplantation for dysfunction after ischemia-reperfusion injury, *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **154**, 286-289.
8. Nasr, V. G., Faraoni, D., DiNardo, J. A., and Thiagarajan, R. R. (2016) Association of hospital structure and complications with mortality after pediatric extracorporeal membrane oxygenation, *Pediatr. Crit. Care Med.*, **17**, 684-691.
9. Hammel, J. M. (2017) Mitochondrial autotransplantation: a "shot" in the dark? *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **154**, 290.
10. Kolata, G. (2018) *Dying organs restored to life in novel experiments*, The New York Times, URL: <https://www.nytimes.com/2018/07/10/health/mitochondria-transplant-heart-attack.html>.
11. URL: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02851758>.
12. Guariento, A., Blitzer, D., Doulamis, I., Shin, B., Moskowitsova, K., Orfany, A., Ramirez-Barbieri, G., Staffa, S. J., Zurakowski, D., Del Nido, P. J., and McCully, J. D. (2019) Preischemic autologous mitochondrial transplantation by intracoronary injection for myocardial protection, *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, doi: 10.1016/j.jtcvs.2019.06.111, (in press).
13. Blitzer, D., Guariento, A., Doulamis, I. P., Shin, B., Moskowitsova, K., Barbieri, G. R., Orfany, A., Del Nido, P. J., and McCully, J. D. (2020) Delayed transplantation of autologous mitochondria for cardioprotection in a porcine model, *Ann. Thorac. Surg.*, **109**, 711-719.
14. Orfany, A., Arriola, C. G., Doulamis, I. P., Guariento, A., Ramirez-Barbieri, G., Moskowitsova, K., Shin, B., Blitzer, D., Rogers, C., Del Nido, P. J., and McCully, J. D. (2020) Mitochondrial transplantation ameliorates acute limb ischemia, *J. Vasc. Surg.*, **71**, 1014-1026.
15. Moskowitsova, K., Orfany, A., Liu, K., Ramirez-Barbieri, G., Thedsanamoorthy, J. K., Yao, R., Guariento, A., Doulamis, I. P., Blitzer, D., Shin, B., Snay, E. R., Inkster, J. A. H., Iken, K., Packard, A. B., Cowan, D. B., Visner, G. A., Del Nido, P. J., and McCully, J. D. (2020) Mitochondrial transplantation enhances murine lung viability and recovery after ischemia-reperfusion injury, *Am. J. Physiol. Lung. Cell Mol. Physiol.*, **318**, L78-L88, doi: 10.1152/ajplung.00221.2019.
16. Zhou, J., Zhang, J., Lu, Y., Huang, S., Xiao, R., Zeng, X., Zhang, X., Li, J., Wang, T., Li, T., Zhu, L., and Hu, Q. (2016) Mitochondrial transplantation attenuates hypoxic pulmonary vasoconstriction, *Oncotarget*, **7**, 31284-31298, doi: 10.18632/oncotarget.8893.
17. Zhu, L., Zhang, J., Zhou, J., Lu, Y., Huang, S., Xiao, R., Yu, X., Zeng, X., Liu, B., Liu, F., Sun, M., Dai, M., Hao, Q., Li, J., Wang, T., Li, T., and Hu, Q. (2016) Mitochondrial transplantation attenuates hypoxic pulmonary hypertension, *Oncotarget*, **7**, 48925-48940.
18. Nakamura, Y., Park, J. H., and Hayakawa, K. (2020) Therapeutic use of extracellular mitochondria in CNS injury and disease, *Exp. Neurol.*, **324**, 113114.

19. Chang, J. C., Wu, S. L., Liu, K. H., Chen, Y. H., Chuang, C. S., Cheng, F. C., Su, H. L., Wei, Y. H., Kuo, S. J., and Liu, C. S. (2016) Allogeneic/xenogeneic transplantation of peptide-labeled mitochondria in Parkinson's disease: restoration of mitochondria functions and attenuation of 6-hydroxydopamine-induced neurotoxicity, *Transl. Res.*, **170**, 40-56.
20. Wang, Y., Ni, J., Gao, C., Xie, L., Zhai, L., Cui, G., and Yin, X. (2019) Mitochondrial transplantation attenuates lipopolysaccharide-induced depression-like behaviors, *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.*, **93**, 240-249.
21. Robicsek, O., Ene, H. M., Karry, R., Ytzhaki, O., Asor, E., McPhie, D., Cohen, B. M., Ben-Yehuda, R., Weiner, I., and Ben-Shachar, D. (2018) Isolated mitochondria transfer improves neuronal differentiation of schizophrenia-derived induced pluripotent stem cells and rescues deficits in a rat model of the disorder, *Schizophr. Bull.*, **44**, 432-442.
22. Bertero, E., Maack, C., and O'Rourke, B. (2018) Mitochondrial transplantation in humans: "magical" cure or cause for concern? *J. Clin. Invest.*, **128**, 5191-5194.
23. Bernardi, P., Rasola, A., Forte, M., and Lippe, G. (2015) The mitochondrial permeability transition pore: channel formation by F-ATP synthase, integration in signal transduction, and role in pathophysiology, *Physiol. Rev.*, **95**, 1111-1155.
24. Bertero, E., O'Rourke, B., and Maack, C. (2020) Mitochondria do not survive calcium overload during transplantation, *Circ. Res.*, **126**, 784-786.
25. Pacak, C. A., Preble, J. M., Kondo, H., Seibel, P., Levitsky, S., Del Nido, P. J., Cowan, D. B., and McCully, J. D. (2015) Actin-dependent mitochondrial internalization in cardiomyocytes: evidence for rescue of mitochondrial function, *Biol. Open*, **4**, 622-666.
26. Sun, C., Liu, X., Wang, B., Wang, Z., Liu, Y., Di, C., Si, J., Li, H., Wu, Q., Xu, D., Li, J., Li, G., Wang, Y., Wang, F., and Zhang, H. (2019) Endocytosis-mediated mitochondrial transplantation: transferring normal human astrocytic mitochondria into glioma cells rescues aerobic respiration and enhances radiosensitivity, *Theranostics*, **9**, 3595-3607.
27. Terrovitis, J., Stuber, M., Youssef, A., Preece, S., Leppo, M., Kizana, E., Schär, M., Gerstenblith, G., Weiss, R. G., Marbán, E., and Abraham, M. R. (2008) Magnetic resonance imaging overestimates ferumoxide-labeled stem cell survival after transplantation in the heart, *Circulation*, **117**, 1555-1562.
28. Clark, M. A., and Shay, J. W. (1982) Mitochondrial transformation of mammalian cells, *Nature* **295**, 605-607.
29. Chang, J. C., Hoel, F., Liu, K. H., Wei, Y. H., Cheng, F. C., Kuo, S. J., Tronstad, K. J., and Liu, C. S. (2017) Peptide-mediated delivery of donor mitochondria improves mitochondrial function and cell viability in human cybrid cell with the MELAS A3243G mutation, *Sci. Rep.*, **7**, 10710.
30. Kesner, E. E., Saada-Reich, A., and Lorberboum-Galski, H. (2016) Characteristics of mitochondrial transformation into human cells, *Sci. Rep.*, **6**, 26057.
31. Ramirez-Barbieri, G., Moskowitsova, K., Shin, B., Blitzer, D., Orfany, A., Guariento, A., Iken, K., Friehs, I., Zurakowski, D., Del Nido, P. J., and McCully, J. D. (2019) Alloreactivity and allorecognition of syngeneic and allogeneic mitochondria, *Mitochondrion*, **46**, 103-115.
32. Golpanian, S., Wolf, A., Hatzistergos, K. E., and Hare, J. M. (2016) Rebuilding the damaged heart: mesenchymal stem cells, cell-based therapy, and engineered heart tissue, *Physiol. Rev.*, **96**, 1127-1168.
33. Liu, Z., Mikrani, R., Zubair, H. M., Taleb, A., Naveed, M., Baig, M. M. F. A., Zhang, Q., Li, C., Habib, M., Cui, X., Sembatya, K. R., Lei, H., and Zhou, X. (2020) Systemic and local delivery of mesenchymal stem cells for heart renovation: challenges and innovations, *Eur. J. Pharmacol.*, **876**, 173049.

## MITOCHONDRIAL TRANSPLANTATION: A CRITICAL ANALYSIS

B. V. Chernyak

Lomonosov Moscow State University, Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology,  
119234 Moscow, Russia; E-mail: bchernyak1@gmail.com

Received April 01, 2020

Revised April 01, 2020

Accepted April 03, 2020

"Mitochondrial transplantation" refers to a procedure for introducing isolated mitochondria into a damaged area of a heart or other organ. A considerable amount of data has been accumulated on the therapeutic effects of "mitochondrial transplantation" in animals with ischemic heart damage. In 2017, the first attempts were made to apply this procedure in a clinic. The authors of the method suggest that exogenous mitochondria penetrate into cardiomyocytes, retaining functional activity, and compensate for impaired energy output of endogenous mitochondria. This hypothesis contradicts the well-known fact of loss of mitochondrial functions in the presence of high concentrations of  $Ca^{2+}$ , which are characteristic of the extracellular medium. This review critically considers the possible mechanisms of the therapeutic effect of "mitochondrial transplantation".

**Keywords:** isolated mitochondria, transfer to cardiomyocytes, ischemia, reperfusion, critical review