

## ОКНО В КАЛИЕВЫЙ МИР. ОТКРЫТИЕ КАЛИЕВОЙ ЭНЕРГЕТИКИ В МИТОХОНДРИЯХ И ИДЕНТИЧНОСТИ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО АТР-ЗАВИСИМОГО $K^+$ -КАНАЛА

### Мини-обзор

© 2022 Д.Б. Зоров

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

Поступила в редакцию 23.04.2022

После доработки 04.07.2022

Принята к публикации 04.07.2022

В трех статьях Юхасцовой и соавт. [Juhaszova et al. (2022) *Function*, 3, zqab065, zqac001 и zqac018] сделаны выводы, которые можно отнести к прорывным в биоэнергетике и митохондриальной медицине. Более полувека считалось, что митохондриальная энергетика исключительно протонная, и она основана на том, что при окислении дыхательных субстратов на внутренней мембране митохондрий создается электрохимический потенциал ионов водорода, который за счет обратного транспорта протонов через АТР-синтазный комплекс расходуется на образование АТР. Теперь представлены свидетельства того, что АТР-синтаза переносит не только протоны, но и ионы калия, при этом также образуется АТР. Этот процесс представляется логичным, если учитывать то, что в эукариотической клетке концентрация ионов калия в несколько миллионов раз выше, чем протонов. Показано, что транспорт  $K^+$  через АТР-синтазу можно усилить активаторами митохондриального АТР-зависимого  $K^+$ -канала ( $mK/ATP$ ), что позволяет сделать вывод, что АТР-синтаза является материальной основой  $mK/ATP$ . При транспорте  $K^+$  в матрикс митохондрий не только образуется АТР, но в силу осмотичности ионов калия происходит поступление воды в матрикс, сопровождающееся увеличением его объема и усилением дыхания митохондрий с соответственным дополнительным синтезом АТР, что говорит об энергетической выгоде такого транспорта. Движущей силой транспорта  $K^+$  внутрь митохондрии является мембранный потенциал, а удаляется избыток  $K^+$  из матрикса гипотетическими  $K^+/H^+$ -обменниками. Важную роль в активации  $mK/ATP$  играет белковый ингибитор (inhibitory factor 1,  $IF_1$ ), способный увеличивать хемомеханическую эффективность АТР-синтазы, что является положительным фактором в защитной антиишемической сигнализации.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** митохондрии, АТР-синтаза, митохондриальный АТР-зависимый калиевый канал, ионы калия, протоны, биоэнергетика, транспорт, вращение, мембранный потенциал, ишемия.

DOI: 10.31857/S0320972522080024, EDN: AWTKWW

### ВВЕДЕНИЕ

В биологическом, а в частности, биохимическом мире существует дилемма построения систем: одна из них основана на уникальности, приводящей к высокой избирательности компонентов (например, система гормон–рецептор), а другая зиждется на использовании подавляющего количественного преобладания (например, неизбирательного буферения

ионов и органических молекул альбуминами, причем отметим, что хотя общепризнано, что альбумин присутствует во внеклеточной среде, включая кровяное русло, однако вследствие того, что его секреция происходит на клеточных рибосомах, он обязан хотя бы некоторое время находиться внутри клетки в виде предшественников зрелого белка [1]). Сочетание избирательной и неизбирательной стратегии взаимодействия биологических молекул мало обсуждается, но если для примера разобрать энергетiku митохондрий, которая в результате присуждения двух Нобелевских премий (в 1978 и 1997 гг.) до сих пор была признана исключи-

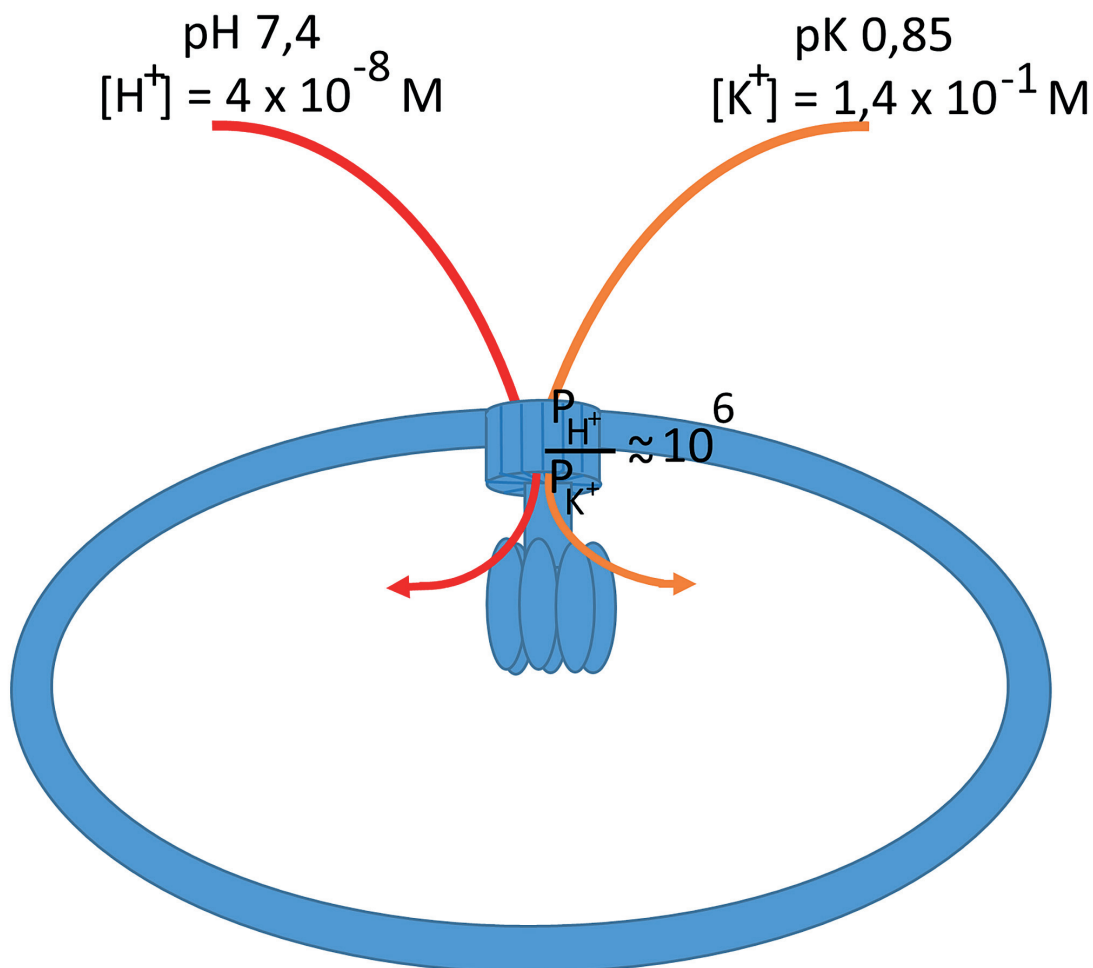
Принятые сокращения:  $mK/ATP$  – митохондриальный АТР-зависимый  $K^+$ -канал (mitochondrial ATP-dependent  $K^+$  channel);  $IF_1$  – белковый ингибитор (inhibitory factor 1).

тельно протонной, мы вправе поставить вопрос: как система, транспортирующая протоны, которых в цитозоле  $\approx 10^{-7}$  М (рН 7,2–7,4), может игнорировать присутствие другого одновалентного катиона, калия, которого в цитозоле в миллионы раз больше ( $K^+ = 1,4 \times 10^{-1}$  М). Для справедливости отметим, что у прокариот, живущих в условиях высокого содержания натрия, найдена как  $Na^+$ -транслоцирующая помпа электрон-транспортной цепи [2, 3], так и АТФ-синтаза, использующая градиент  $Na^+$  [4]. Так что прецеденты транспорта одновалентного катионного металла вместо протона в энергетическом биологическом мире уже имеются, что достаточно логично, ибо транспортные системы организованы таким образом, что высокую избирательность по протону в принципе должно перебить количественным преобладанием другого одновалентного катиона. Таким

образом, в митохондриях можно предполагать наличие не только протонной, но и калиевой энергетики.

### ОТКРЫТИЕ КАЛИЕВОЙ ЭНЕРГЕТИКИ

В работе Juhaszova et al. [5] базовые уровни проницаемости АТФ-синтазного канала для протона и ионов калия ( $P_{H^+}$  и  $P_{K^+}$ ) были соответственно оценены как  $5,2 \pm 0,9 \times 10^{-11}$  м<sup>3</sup>/с и  $8,7 \pm 2,9 \times 10^{-17}$  м<sup>3</sup>/с и увеличивались примерно в 3,5 раза после добавления диазооксида, активатора митохондриального АТФ-зависимого  $K^+$ -канала ( $_{m}K/ATP$ ) до  $2,2 \pm 1,3 \times 10^{-10}$  и  $3,0 \pm 1,4 \times 10^{-16}$  м<sup>3</sup>/с соответственно, таким образом поддерживая селективность  $F_0$ -канала  $\sim 10^6 : 1$  с сильным предпочтением транспорта протона над ионами калия (рисунок).



Схематическое изображение внутренней мембраны митохондрии с АТФ-синтазным комплексом. Через роторную часть комплекса, погруженную в мембрану, транспортируются протоны и ионы калия, которые существенно различаются по проницаемости, с сильным предпочтением проведения протонов над ионами калия ( $\sim 10^6 : 1$ ), при этом внутриклеточное содержание ионов калия превышает содержание протонов более чем в 10 млн раз, что позволяет транспортировать через АТФ-синтазу ионы калия сопряженно с синтезом АТФ. Далее, ввиду того что ионы калия по сравнению с протонами являются осмотически активными субстанциями, они транспортируются в матрикс митохондрий с молекулами воды (см. текст), что вызывает активацию дыхания и увеличенный синтез АТФ

В трех последовательных работах, опубликованных в *Function* [5–7], как раз и был поставлен такой вопрос и получен ответ на него — калиевая энергетика в митохондриях есть, и организована она на способности митохондриальной АТФ-синтазы транспортировать ионы калия сопряженно с синтезом АТФ. Более того, такой транспорт не только существует, но и преобладает над протонным — показано, что на каждый транспортируемый  $H^+$  митохондриальная АТФ-синтаза проводит  $3,7 K^+$ , и оба эти процесса сопряжены с синтезом АТФ. При реконструкции митохондриальной АТФ-синтазы в липосомы (при наличии градиента калия) обнаружен базовый уровень транспорта ионов калия, который усиливался после внесения в среду диазоксидов. Это усиление тока ионов калия блокировалось ингибитором протонного канала АТФ-синтазы вентурицидином и ингибитором АТФ-зависимого  $K^+$ -канала, 5-оксидекааноатом. Из этого следовало, что, во-первых, материальной основой  $mK/ATP$  является АТФ-синтазный комплекс и, во-вторых, этот комплекс может транспортировать ионы калия. Более того, диазоксид в равной мере усиливал транспорт  $K^+$  и  $H^+$  через синтазу, что явилось одним из серии доказательств, подтверждающих, что протон и ион калия идут по одному пути.

Природа  $mK/ATP$  до последнего времени была предметом широкой дискуссии, сопровождающейся находками и разочарованиями [8, 9]. Важность идентификации материальной основы  $mK/ATP$  была несомненна, ибо его активация обладала кардиопротекторными и нейропротекторными [9–12] свойствами, что относилось активаторы этого канала к потенциальным лекарственным, в частности антиишемическим средствам.

Одним из замечательных методических аспектов работы было не прямое доказательство вращательного механизма АТФ-синтазного комплекса. Еще в 1981 г. будущий нобелевский лауреат Поль Бойер писал о возможности наличия вращательного компонента в функционировании этого комплекса [13]. Гипотезу с вращательным механизмом АТФ-синтазы в 1984 г. независимо предложили австралийские ученые [14]. Тогда предполагалось, что вращается  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ - и  $\epsilon$ -субъединицы комплекса, т.е. вращается и часть  $F_0$ , и часть  $F_1$ . Также предполагалось, что вращение можно обратить вспять и запускать направление вращения в зависимости от того, синтазную или гидролазную активность проявляет АТФ-синтазный комплекс. Вероятно, необходимость включения  $\beta$ -субъединицы (входящей в состав  $F_1$ ) во вращательный комплекс авторами обуславливалась тем, что каталитиче-

ский центр находится на  $\beta$ -субъединице, а именно она, как предполагал Бойер, и подвергается сильной конформационной перестройке при переходе от состояния прочно связанных нуклеотидов в состояние, приводящее к освобождению АТФ из каталитического центра [15]. Позже, в 1986 г. та же австралийская группа модифицировала свою гипотезу вращательного комплекса АТФ-синтазы, представив модель, в соответствии с которой все предложенные элементы вращались в полной зависимости друг от друга [16]. При этом в 1985 г. нобелевский лауреат Питер Митчелл тоже публикует гипотезу, которую он назвал «вращающимся колодецем» [17]. Но все гипотезы были скорректированы, когда в группе Вокера удалось получить кристалл  $F_1$ -АТФазы [18], а потом на основании рентгеноструктурного анализа реконструировать весь АТФ-синтазный комплекс с определением структуры вращающегося ротора, механическая энергия которого расходуется на выброс АТФ из каталитического центра и статора [19]. В лаборатории Юнге в 1996 г. было показано физическое вращение  $\gamma$ -субъединицы комплекса [20], а завершает доказательство вращающейся природы АТФ-синтазного комплекса впечатляющая работа из лаборатории Йошиды, показывающая в реальном времени визуально различимое вращение роторной части комплекса после прикрепления к  $\gamma$ -субъединице флуоресцентно меченного биотинилированного актинового филамента [21].

В работах Юхасцовой и соавт. использовался простой постулат — доказав, что работа АТФ-синтазной машины сопряжена с транспортом катиона (протона или калия), логично было предположить, что если отмечается перенос катионов (трансмембранный ток), то он должен быть сопряжен с вращением роторной части (кольца из  $c$ -субъединиц и  $\gamma$ -субъединицы), причем направление вращения (по часовой или против часовой стрелки) зависит от направления трансмембранного тока (ионы текут или в сторону, обращенную в матрикс, или в направлении цитоплазмы) [5–7]. И наоборот, если мы регистрируем трансмембранный ток в системе с реконструированным АТФ-синтазным комплексом, то по направлению тока мы можем определить, в каком направлении происходит вращение роторной компоненты комплекса. Так и было сделано: накладывая градиент рН или ионов калия на бислойную фосфолипидную мембрану со встроенным комплексом, было обнаружено появление тока, имеющее четкие характеристики ионных каналов. Эта канальная активность активировалась диазоксидом и подавлялась ингибитором

АТФ-синтазы вентурицидином и высокими концентрациями АТФ, т.е. в полной мере проявляла как свойства  $mK/ATP$ , так и АТФ-синтазы. Причем наложение на мембрану потенциалов разного знака определяло характер тока и косвенно рапортовало о направлении вращения роторной компоненты комплекса. Варьируя величину прикладываемого трансмембранного потенциала и концентрацию АТФ можно было оценить величину крутящего момента, создаваемого обоими факторами в разных условиях.

Надо отметить, что количественная оценка синтеза АТФ, сопряженного с транспортом калия в модельных системах, используемых в работе (на липосомах или на одиночной молекуле АТФ-синтазы), крайне сложна, однако на изолированных митохондриях из сердца были получены разумные значения приблизительно в 70 нмоль фосфорилированного АДФ в минуту на мг белка в бескальциевой среде и около 250 нмоль АДФ в минуту на мг белка – в среде с ионами калия.

Для осуществления транспорта  $K^+$ , сопряженного с синтезом АТФ в митохондриях, не нужно иметь градиент  $K^+$  по обе стороны внутренней митохондриальной мембраны, ибо движущей силой транспорта является наличие электрического поля через мембрану. Предполагается, что судьба поступивших в матрикс митохондрии ионов калия сводит их с  $K^+/H^+$ -антипортером, который устанавливает статус-кво по ионам калия вне и внутри митохондрии. Однако отмечается некоторое преимущество транспорта ионов калия перед протонами, состоящее в том, что ионы калия в отличие от протонов осмотически активны, в результате чего накопление  $K^+$  в матриксе сопровождается поступлением в матрикс воды, т.е. набуханием митохондрий. Показано, что небольшое (регуляторное) набухание митохондрий, не сопровождаемое падением трансмембранного потенциала, приводит к активации дыхания митохондрий [12] и, соответственно, к увеличению сопряженного синтеза АТФ, что актуально при повышенных физиологических нагрузках. Таким образом, транспорт ионов калия внутрь митохондрии по каналу  $F_0$  АТФ-синтазы выгоден не только тем, что при этом синтезируется АТФ, но и тем, что можно за счет активации  $K^+$ -канала ответить на возросшие нагрузки активацией митохондриального дыхания и дополнительным синтезом АТФ, вызванными умеренным (до нескольких процентов) увеличением объема митохондрий. Как стало ясно, регулятором эффективности АТФ-синтазного комплекса является белковый ингибитор  $IF_1$  [22], который связывается с  $\beta$ - и  $\gamma$ -субъединицами

и, по сложившемуся представлению, тормозит гидролиз АТФ (такой процесс, в частности, отмечается в условиях гипоксии, когда останавливается процесс генерации мембранного потенциала от дыхательной цепи, и этот мембранный потенциал начинает поддерживаться за счет обращения АТФ-синтазной реакции, сопровождаемого гидролизом АТФ [23]). Отсутствие в митохондриях  $IF_1$  приводило к тому, что АТФ-синтаза митохондрий теряла способность усиливать ионный транспорт активаторами  $mK/ATP$  [5–7], что означало потерю отмеченных выше протекторных свойств.

Более того, после электрофизиологических экспериментов и биоинформатического анализа фактор  $IF_1$  был причислен к группе белков с  $VH3$ -доменом (к последним, например, относятся  $Vad$ ). Было сделано предположение, что эндогенными регуляторами  $IF_1$  являются белки, у которых высокая афинность к  $VH3$ -домену (например,  $Vcl-xL$  и  $Mcl$ ), в результате чего они могут связываться с  $IF_1$  и освобождать его из АТФ-синтазного комплекса, тем самым убирая его ингибирующее действие.

Постулирование того, что именно  $K^+/H^+$ -антипортер откачивает из митохондрий избыток ионов калия, не исключает наличия других путей. Данные, что дыхательный комплекс I в митохондриях млекопитающих может являться  $Na^+/H^+$ -антипортером [24],стораживают и не позволяют исключить возможность транспортирования в дыхательной цепи митохондрий одновалентных ионов, в частности  $K^+$ .

Надо отметить, что по ходу подтверждения возможного наличия калиевой энергетики было отмечено, что в принципе проницаемость АТФ-синтазного канала для ионов калия очень близка к таковой для ионов натрия [5], что предусматривает возможность синтеза АТФ, сопряженного с транспортом ионов натрия при наличии более чем миллионного преобладания ионов натрия над протонами. В норме концентрация ионов натрия в эукариотической клетке составляет несколько ммоль на литр, однако в определенных патологических условиях она резко повышается. Существуют ситуации, описанные для возбудимых тканей, таких как сердце и мозг, сопровождающиеся умеренным натриевым перегрузом за счет открытия натриевых каналов и слабой активности систем антипорта, откачивающих ионы  $Na^+$  из клетки. Например, в цитоплазме гранулярных нейронов было обнаружено повышение концентрации ионов  $Na^+$  до 60 мМ и даже выше после активации NMDA или каинатного рецепторов [25, 26]. В условиях сердечной недостаточности также происходит резкое увеличение внутриклеточно-

го содержания ионов натрия [27]. Есть и недавние указания на возможность существования митохондрий в кровяном русле, где содержание ионов натрия схожи с внутриклеточными концентрациями ионов калия, что позволяет во всех приведенных случаях допустить серьезный вклад не протонной, а именно натриевой митохондриальной энергетики, что очевидно может стать предметом будущих исследований.

Однако все-таки нельзя выделять изменения внутриклеточного содержания любого из указанных одновалентных ионов, как исключительные условия для однонаправленного переключения одного типа энергетики (протонную) на альтернативную (калиевую или натриевую), если принять во внимание то, что, во-первых, как мы уже указывали, проницаемости «протонного» канала для ионов калия и натрия очень близки, а, во-вторых, суммарная концентрация ионов калия и натрия в большей мере достаточно постоянная, т.е.  $[K]_i + [Na]_i \approx \text{const}$ . Таким образом, «непротонная», т.е. «калиевая» или «натриевая» митохондриальная энергетика будет некоторой константной величиной, вносящей константный вклад в валовую митохондриальную энергетiku независимо от соотношения одного иона к другому, которое может меняться, в частности, при изменении потенциала покоя на клеточной мембране. Надо отметить, что и протонная энергетика в теории без учета роли специфических регуляторов должна быть более или менее константна, учитывая достаточно стабильные значения внутриклеточного pH. Такая прямая логика не вызывает обязанности предоставления схемы того, какие последствия для клетки наступят при исключительном транспорте ионов калия через АТР-синтазный комплекс. Впрочем, такая логика требует проверки, учитывая то, что ионы натрия и калия по-разному влияют на АТРазную активность митохондрий [28], да и необходимо учитывать регуляторную функцию белкового ингибитора АТР-синтазы в процессе переключения на калиевую энергетiku [5, 6], что накладывает

требования дальнейших исследований для построения общей схемы участия ионов натрия и калия в энергопродукции и энерготрансдукции.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Важность работ Юхасцовой и соавт. определяется двумя моментами. Во-первых, сделан серьезный вклад в базовые основы биоэнергетики. Во-вторых, фармакология борьбы с ишемическими заболеваниями заставит переформатировать стратегию борьбы с этими заболеваниями ввиду открытия природы  $MK/ATP$ , который, как стало ясным, представлен митохондриальной АТР-синтазой. Так как модуляторы активности АТРазы хорошо разработаны, то на этом основании мы вправе ожидать появление новых антиишемических средств из ряда этих модуляторов, что открывает широкие возможности фармакологии в терапии инфарктов и инсультов.

При этом, хотя это открытие представляет собой значительный прорыв в фундаментальной биологии и медицине, остаются нерешенными целый ряд проблем в функционировании АТР-синтазы, и прежде всего остается невыясненным, какие клеточные компоненты на самом деле являются эндогенными регуляторами этого фермента, который давно заслужил замечательных эпитетов, как-то: властелин (с)-колlec [29], чудесная [30], великолепная [31], заводная игрушка [32].

**Финансирование.** Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 19-14-00173-п).

**Конфликт интересов.** Автор заявляет 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

- Judah, J. D., and Nicholls, M. R. (1971) The separation of intracellular serum albumin from rat liver, *Biochem. J.*, **123**, 643-648, doi: 10.1042/bj1230643.
- Verkhovskiy, M. I., and Bogachev, A. V. (2010) Sodium-translocating NADH:quinone oxidoreductase as a redox-driven ion pump, *Biochim. Biophys. Acta*, **1797**, 738-746, doi: 10.1016/j.bbabi.2009.12.020.
- Muntyan, M. S., Cherepanov, D. A., Malinen, A. M., Bloch, D. A., Sorokin, D. Y., et al. (2015) Cytochrome *cbb<sub>3</sub>* of *Thioalkalivibrio* is a  $Na^+$ -pumping cytochrome oxidase, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **112**, 7695-7700, doi: 10.1073/pnas.1417071112.
- Dimroth, P., von Ballmoos, C., Meier, T., and Kaim, G. (2003) Electrical power fuels rotary ATP synthase, *Structure*, **11**, 1469-1473, doi: 10.1016/j.str.2003.11.011
- Juhászová, M., Kobrinsky, E., Zorov, D. B., Yaniv, Y., Fishbein, K. W., et al. (2022) ATP synthase  $K^+$ - and  $H^+$ -flux drive ATP synthesis and enable mitochondrial

- K<sup>+</sup>-uniporter function. I. Characterization of ion fluxes, *Function*, **3**, zqab065, doi: 10.1093/function/zqab065.
6. Juhaszova, M., Kobrinsky, E., Zorov, D. B., Yaniv, Y., Fishbein, K. W., et al. (2022) ATP synthase K<sup>+</sup>- and H<sup>+</sup>-flux drive ATP synthesis and enable mitochondrial K<sup>+</sup>-uniporter function. II. Ion and ATP synthase flux regulation, *Function*, **3**, zqac001, doi: 10.1093/function/zqac001.
  7. Juhaszova, M., Kobrinsky, E., Zorov, D. B., Aon, M. A., Cortassa, S., et al. (2022) Setting the record straight: a new twist on the chemiosmotic mechanism of oxidative phosphorylation, *Function*, **3**, zqac018, doi: 10.1093/function/zqac018.
  8. Bajgar, R., Seetharaman, S., Kowaltowski, A. J., Garlid, K. D., and Paucek, P. (2001) Identification and properties of a novel intracellular (mitochondrial) ATP-sensitive potassium channel in brain, *J. Biol. Chem.*, **276**, 33369-33374, doi: 10.1074/jbc.M103320200.
  9. Foster, D. B., Ho, A. S., Rucker, J., Garlid, A. O., Chen, L., et al. (2012) Mitochondrial ROMK channel is a molecular component of mitoK(ATP), *Circ. Res.*, **111**, 446-454, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.112.266445.
  10. Wind, T., Prehn, J. H., Peruche, B., and Krieglstein, J. (1997) Activation of ATP-sensitive potassium channels decreases neuronal injury caused by chemical hypoxia, *Brain Res.*, **751**, 295-299, doi: 10.1016/s0006-8993(96)01419-9.
  11. Garlid, K. D., Paucek, P., Yarov-Yarovoy, V., Murray, H. N., Darbenzio, R. B., et al. (1997) Cardioprotective effect of diazoxide and its interaction with mitochondrial ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels. Possible mechanism of cardioprotection, *Circ. Res.*, **81**, 1072-1082, doi: 10.1161/01.res.81.6.1072.
  12. Juhaszova, M., Zorov, D. B., Kim, S. H., Pepe, S., Fu, Q., et al. (2004) Glycogen synthase kinase-3 $\beta$  mediates convergence of protection signaling to inhibit the mitochondrial permeability transition pore, *J. Clin. Invest.*, **113**, 1535-1549, doi: 10.1172/JCI19906.
  13. Boyer, P., and Kohlbrenner, W. E. (1981) The present status of the binding-change mechanism and its relation to ATP formation by chloroplasts, in *Energy coupling in Photosynthesis*, Selman, Selman-Reimer, pp. 231-240.
  14. Cox, G. B., Jans, D. A., Fimmel, A. L., Gibson, F., and Hatch, L. (1984) Hypothesis. The mechanism of ATP synthase. Conformational change by rotation of the beta-subunit, *Biochim. Biophys. Acta*, **768**, 201-208, doi: 10.1016/0304-4173(84)90016-8.
  15. Boyer, P. D., Cross, R. L., and Momsen, W. (1973) A new concept for energy coupling in oxidative phosphorylation based on a molecular explanation of the oxygen exchange reactions, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **70**, 2837-2839, doi: 10.1073/pnas.70.10.2837.
  16. Cox, G. B., Fimmel, A. L., Gibson, F., and Hatch, L. (1986) The mechanism of ATP synthase: a reassessment of the functions of the b and a subunits, *Biochim. Biophys. Acta*, **849**, 62-69, doi: 10.1016/0005-2728(86)90096-4.
  17. Mitchell, P. (1985) Molecular mechanics of protonmotive F<sub>0</sub>F<sub>1</sub> ATPases. Rolling well and turnstile hypothesis, *FEBS Lett.*, **182**, 1-7, doi: 10.1016/0014-5793(85)81142-x.
  18. Abrahams, J. P., Leslie, A. G., Lutter, R., and Walker, J. E. (1994) Structure at 2.8 Å resolution of F<sub>1</sub>-ATPase from bovine heart mitochondria, *Nature*, **370**, 621-628, doi: 10.1038/370621a0.
  19. Walker, J. E. (2013) The ATP synthase: the understood, the uncertain and the unknown, *Biochem. Soc. Trans.*, **41**, 1-16, doi: 10.1042/BST20110773.
  20. Sabbert, D., Engelbrecht, S., and Junge, W. (1996) Intersubunit rotation in active F-ATPase, *Nature*, **381**, 623-625, doi: 10.1038/381623a0.
  21. Noji, H., Yasuda, R., Yoshida, M., and Kinosita, K. Jr. (1997) Direct observation of the rotation of F<sub>1</sub>-ATPase, *Nature*, **386**, 299-302, doi: 10.1038/386299a0.
  22. Pullman, M. E., and Monroy, G. C. (1963) A naturally occurring inhibitor of mitochondrial adenosine triphosphatase, *J. Biol. Chem.*, **238**, 3762-3769.
  23. Di Lisa, F., Blank, P. S., Colonna, R., Gambassi, G., Silverman, H. S., et al. (1995) Mitochondrial membrane potential in single living adult rat cardiac myocytes exposed to anoxia or metabolic inhibition, *J. Physiol.*, **486**, 1-13, doi: 10.1113/jphysiol.1995.sp020786.
  24. Roberts, P. G., and Hirst, J. (2012) The deactive form of respiratory complex I from mammalian mitochondria is a Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter, *J. Biol. Chem.*, **287**, 34743-34751, doi: 10.1074/jbc.M112.384560.
  25. Kiedrowski L., Brooker, G., Costa, E., and Wroblewski, J. T. (1994) Glutamate impairs neuronal calcium extrusion while reducing sodium gradient, *Neuron*, **12**, 295-300, doi: 10.1016/0896-6273(94)90272-0.
  26. Kiedrowski, L., Wroblewski, J. T., and Costa, E. (1994) Intracellular sodium concentration in cultured cerebellar granule cells challenged with glutamate, *Mol. Pharmacol.*, **45**, 1050-1054.
  27. Liu, T., and O'Rourke, B. (2008) Enhancing mitochondrial Ca<sup>2+</sup> uptake in myocytes from failing hearts restores energy supply and demand matching, *Circ. Res.*, **103**, 279-288, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.108.175919.
  28. Beattie, D. S., and Basford, R. E. (1968) Sodium-stimulated adenosine triphosphatase activity of rat brain mitochondria, *J. Neurochem.*, **15**, 325-353, doi: 10.1111/j.1471-4159.1968.tb11617.x.
  29. Nesci, S., Trombetti, F., Ventrella, V., and Pagliarani, A. (2016) The c-ring of the F<sub>1</sub>F<sub>0</sub>-ATP synthase: facts and perspectives, *J. Membr. Biol.*, **249**, 11-21, doi: 10.1007/s00232-015-9860-3.
  30. Yoshia, M., Muneyuki, E., and Hisabori, T. (2001) ATP synthase – a marvellous rotary engine of the cell, *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, **2**, 669-677, doi: 10.1038/35089509.
  31. Boyer, P. D. (1997) The ATP synthase—a splendid molecular machine, *Annu. Rev. Biochem.*, **66**, 717-749, doi: 10.1146/annurev.biochem.66.1.717.
  32. Berry, R. M. (2005) ATP synthesis: the world's smallest wind-up toy, *Curr. Biol.*, **15**, R385-R387.

**THE WINDOW TO THE POTASSIUM WORLD.  
THE EVIDENCE OF THE POTASSIUM ENERGETICS  
IN MITOCHONDRIA AND THE ESSENCE  
OF THE MITOCHONDRIAL ATP-DEPENDENT K<sup>+</sup> CHANNEL**

**Mini-Review**

**D. B. Zorov**

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

The conclusion which has been made in the three papers published in *Function* by Juhaszova et al., can be considered as a breakthrough in bioenergetics and mitochondrial medicine. For more than half a century it has been thought that mitochondrial energetics is solely protonic and it is based on that the oxidation of respiratory substrates creates electrochemical potential of hydrogen ions across the inner mitochondrial membrane, which results in generation of ATP due to the reverse transport of protons through ATP synthase complex. Now, the evidence is presented that ATP synthase transfers not only protons, but also potassium ions, generating ATP as well. This process seems to be logical, given the fact that in eukaryotic cell the concentration of potassium ions is several million times higher than protons. It is shown that the transport of K<sup>+</sup> through the ATP synthase can be enhanced by activators of mitochondrial ATP-dependent K<sup>+</sup> channel ( $_mK/ATP$ ) that leads to the conclusion that ATP synthase is the material essence of  $_mK/ATR$ . The transport of K<sup>+</sup> into the mitochondrial matrix is not only directly associated with synthesis of ATP, but since potassium ions are osmotically active, it results in the inward water transport in the matrix, accompanied by an increase in its volume and increase of mitochondrial respiration with the corresponding additional synthesis of ATP, which yields high efficiency of such transport. The driving force for transport of K<sup>+</sup> inside the mitochondria is the membrane potential, while hypothetical K<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchangers extrude excessive K<sup>+</sup> out of the matrix. An inhibitory protein (IF1) plays an important role in the activation of  $_mK/ATP$  by increasing chemo-mechanical efficiency of the ATP synthase, which is a positive factor in protective anti-ischemic signaling.

*Keywords:* mitochondria, ATP synthase, mitochondrial ATP-dependent potassium channel, potassium ions, protons, bioenergetics, transport, rotation, membrane potential, ischemia