

UN VISTAZO A LA MORFOLOGÍA Y DINÁMICA DE LA MITOCONDRIA Y A LOS SITIOS DE PRODUCCIÓN DE LAS ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO*

Genaro Matus Ortega^{1}, Juan Pablo Pardo¹, Guadalupe Guerra Sánchez², Karina Buendía Carrillo², Maura Matus Ortega³, James González⁴, Oscar Iván Luqueño Bocardo¹, Melissa Vázquez Carrada², & Lucero Romero Aguilar^{1**}**

¹Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. Avenida Universidad 3000, Copilco, Cd. Universitaria, Coyoacán, 04510, Ciudad de México, México.

²Departamento de Microbiología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. Prolongación de Carpio y, Calle Plan de Ayala s/n, Santo Tomás, Miguel Hidalgo, 11340 Ciudad de México, México.

³Laboratorio de Neurobiología Molecular y Neuroquímica de Adicciones. Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente, Tlalpan 14370, Ciudad de México, México.

⁴Departamento de Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. Avenida Universidad 3000, Cd. Universitaria, 04510 Coyoacán, Ciudad de México, México.

**Autor de correspondencia correo E: Ortega.genaromatus@bq.unam.mx, luceroaguilar@facmed.unam.mx

RESUMEN

Las mitocondrias son organelos celulares altamente compartimentalizados, capaces de adaptar su metabolismo a través de eventos de fisión y fusión y que les permite adoptar morfologías alargadas, interconectadas o fragmentadas. Tienen su propio genoma y se encargan de sintetizar energía en forma de ATP a través de la fosforilación oxidativa. Es probable que la mitocondria sea el mayor generador de especies reactivas de oxígeno (ROS) en la célula, por lo que es fundamental conocer la contribución de cada uno de los complejos respiratorios y de las enzimas mitocondriales (deshidrogenasas) en la producción de ROS. En esta revisión se abordan conceptos clásicos y se describen nuevas complejidades de la función, la morfología y el metabolismo mitocondrial, como la formación de las redes mitocondriales, la estructura de las crestas, la formación de los supercomplejos respiratorios, los procesos de fusión y fisión, la interacción con el retículo endoplásmico, y la producción de ROS en la cadena respiratoria y en otras enzimas de la matriz mitocondrial.

ABSTRACT

Mitochondria are cellular organelles, capable to adapt their metabolism through fission and fusion events, leading to elongated, interconnected, and fragmented morphologies. They have their own genome and are responsible for the synthesis of ATP, through oxidative phosphorylation. Mitochondria also generate reactive oxygen species (ROS) and this production occurs in the respiratory complexes and in some dehydrogenases located in the mitochondrial matrix. This review addresses the classic concepts and describes new insights into the function, morphology, and mitochondrial metabolism, such as the formation of mitochondrial networks, the cristae junction structure, the presence of respiratory supercomplexes, processes of fusion and fission and the sites of reactive oxygen production in mitochondria and by other enzymes.

PALABRAS

CLAVE:

ROS, mitocondria, MICOS, fusión, fisión, supercomplejos respiratorios, MAM

KEY WORDS:

ROS, mitochondria, MICOS, fission, fusion, respiratory supercomplexes

La descripción clásica de las mitocondrias

Las mitocondrias son organelos de origen endosimbionte, con genoma propio, que poseen dos membranas, una membrana mitocondrial externa (OMM) y una membrana mitocondrial interna (IMM) que delimita a la matriz mitocondrial. La IMM se pliega para dar lugar a las crestas y entre las dos membranas se encuentra el espacio intermembrana (1). Detallar el funcionamiento de las mitocondrias fue relevante en la segunda mitad del siglo XX, dado que es en estos organelos en donde se sintetiza más del 80% del ATP celular y es el sitio en donde se consume entre el 85 y el 92% del oxígeno molecular que le llega a las células (2). Las mitocondrias tienen flavoproteínas y citocromos que participan en los tres eventos que permiten la síntesis de ATP promovida por un gradiente de potencial electroquímico de protones ($\Delta\mu_{H^+}$), según la teoría quimiosmótica propuesta por Peter Mitchel en 1961, figura 1 (3).

Los tres eventos que dan lugar a la fosforilación oxidativa son: i.- El flujo de electrones en la cadena respiratoria de la IMM derivado de la oxidación de sustratos respiratorios como el NADH, el succinato y los ácidos grasos activados. Este proceso está acoplado al consumo de oxígeno y a un flujo de electrones que ocurre a favor de un potencial de reducción (de valores pequeños a grandes). ii.- El bombeo o translocación de protones hacia el espacio intermembrana, con lo que se genera un gradiente integrado por dos componentes: uno eléctrico, dado por la diferencia de cargas resultante del bombeo de protones a través de la IMM y un segundo componente correspondiente al gradiente químico, resultado de la acidificación del espacio intermembrana. Debido a que la IMM es impermeable a los protones, ocurre el tercer paso, que corresponde a iii.- La síntesis de ATP en el complejo V (ATP sintasa). En este paso, es el dominio membranaral (F_0) el que permite el flujo de protones de regreso hacia la matriz mitocondrial,

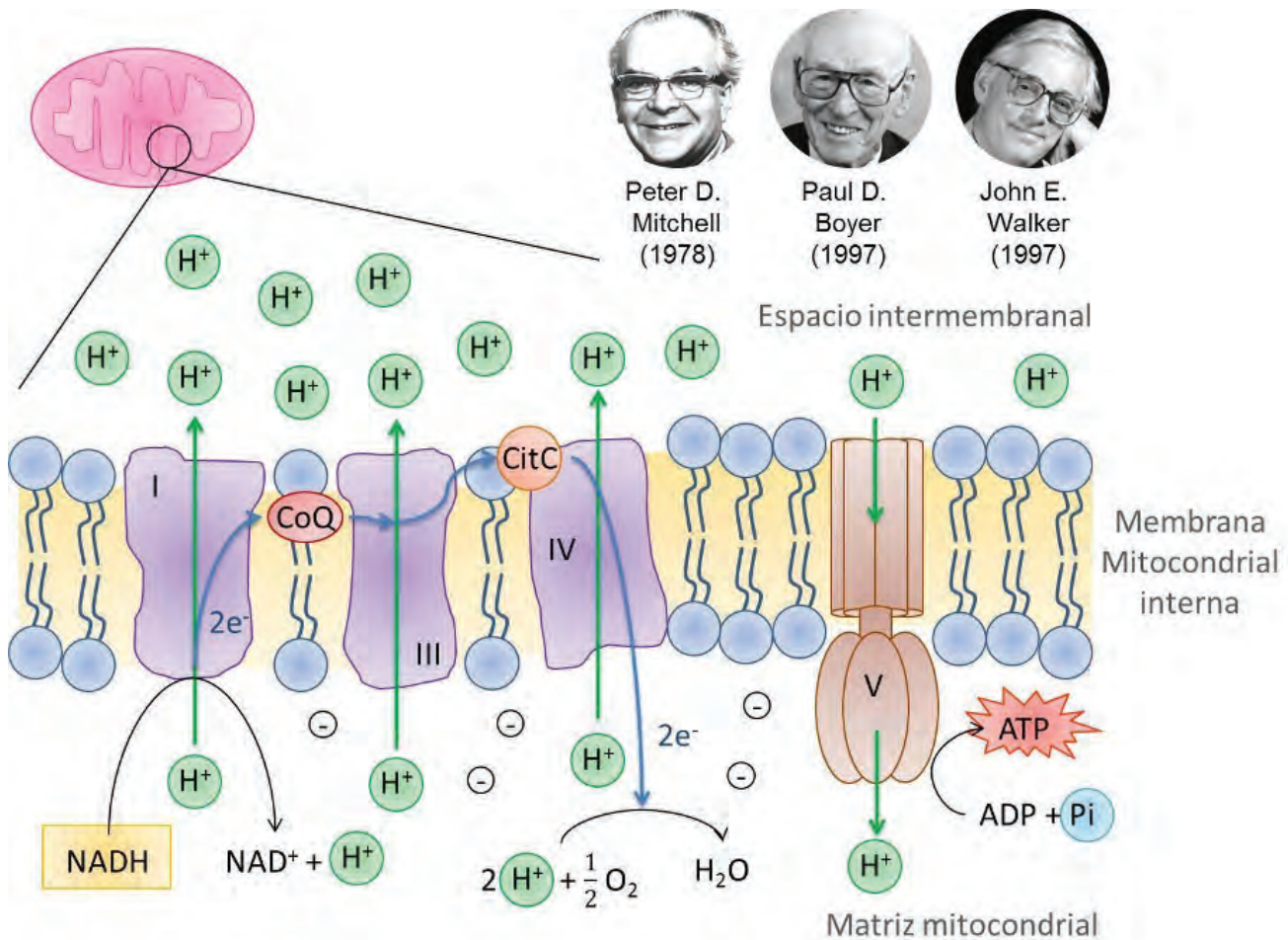


Figura 1. Cadena clásica de transporte de electrones. Se muestra la fotografía de tres científicos que contribuyeron de manera importante a dilucidar los mecanismos de la fosforilación oxidativa y la cadena clásica de transporte de los electrones, la cual está compuesta de cuatro complejos y la ATP sintasa. Modificada de la referencia (5).

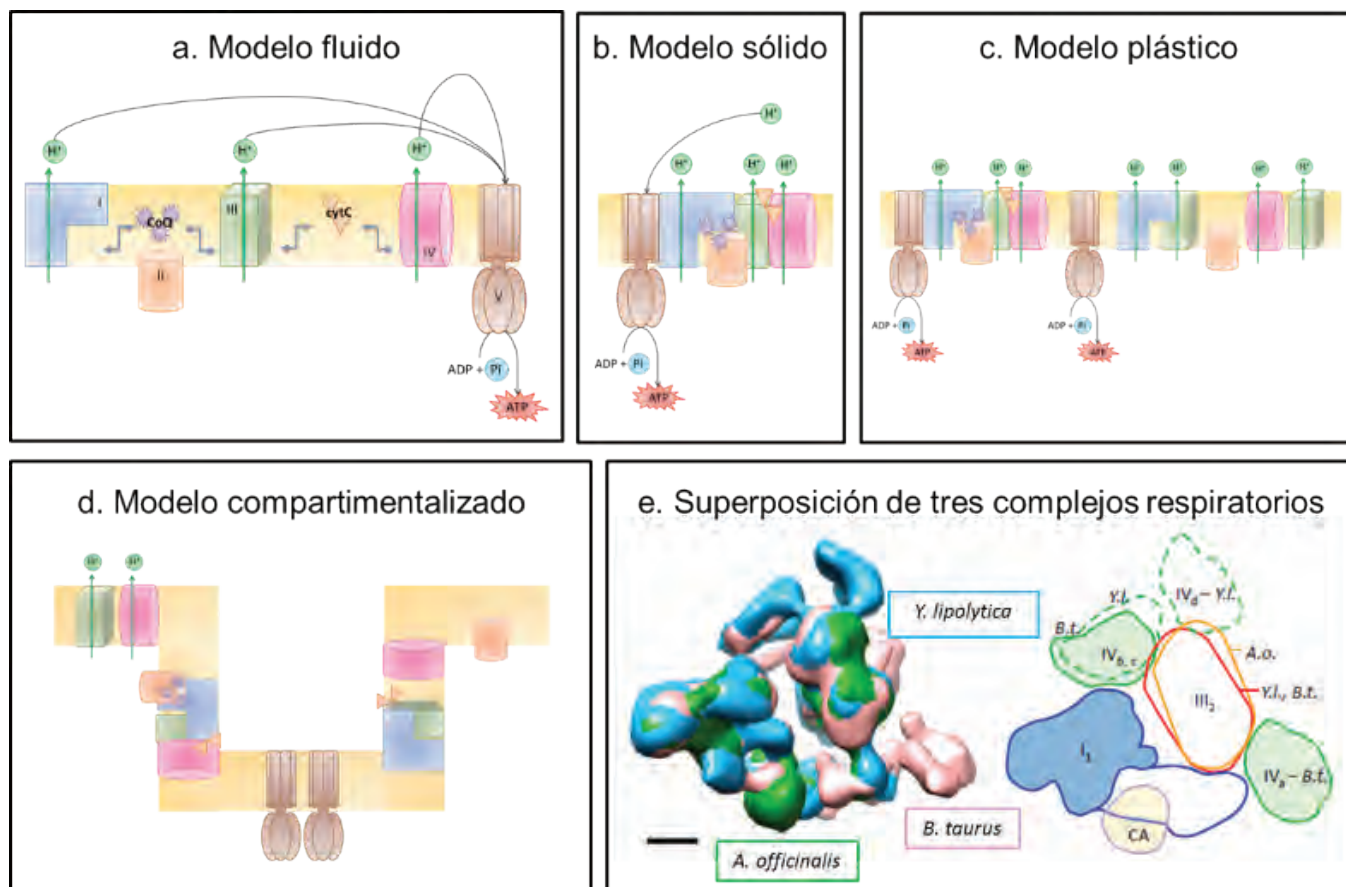


Figura 2. Modelos de los complejos respiratorios en la membrana mitocondrial interna. (a) Mosaico fluido, (b) sólido, (c) plástico y (d) compartimentalizado. (e) Superposición de las estructuras de 3 supercomplejos respiratorios provenientes de la levadura *Yarrowia lipolytica* (*Y. lipolytica*), el buey *Bos taurus* (*B. taurus*) y la planta fanerógama *Althaea officinalis* (*A. officinalis*). Panel a y b modificados de la referencia de (10). Panel c y d modificados de la referencia de (70). Panel e modificado de la referencia de (71).

proceso que se acopla con la formación de ATP en las subunidades $\alpha\beta$ del dominio soluble (F_1).

La fosforilación oxidativa incluye el transporte de electrones en la cadena de transporte de electrones (CTE) y la síntesis de ATP por la ATP sintasa. La demostración de la teoría del acoplamiento quimiosmótico derivó en la otorgación del premio Nobel a Peter Mitchel en 1978 (4). Los tres complejos respiratorios que participan como “bombas” en la generación del gradiente electroquímico de protones son los complejos I (NADH deshidrogenasa), III (quinol:citocromo c oxidorreductasa) y IV (citocromo c oxidasa), que bombean o translocan 4, 4 y 2 protones, respectivamente (5).

Los supercomplejos respiratorios

La membrana mitocondrial interna se describió originalmente como una membrana que semejaba un mosaico fluido, siguiendo el modelo de

Singer y Nicolson (6), con un contenido proteico de hasta un 75% peso/peso. En este modelo se conceptualizaba a las proteínas estructurales y transportadoras, además de los citocromos, las flavoproteínas y los translocadores implicados en la fosforilación oxidativa, como entidades móviles inmersas en una bicapa fosfolipídica enriquecida con cardiolipina, pero carente de colesterol, que permitía cierta libertad de translación y de rotación a las proteínas (Fig. 1).

Para finales de la década de 1990, y en la primera década del siglo XXI, las técnicas de geles nativos azules (7), de microscopía electrónica de transmisión (8) y aproximaciones cinéticas utilizando las herramientas de la teoría de control metabólico (9) trajo consigo tres modelos para los complejos respiratorios de la membrana mitocondrial interna (Fig. 2, panel B): i) El modelo del estado líquido, en donde los complejos respiratorios se encuentran funcionando como entidades

móviles independientes vinculados a través de la quinona y el citocromo c. ii) El modelo sólido, en el que los cuatro componentes de la fosforilación oxidativa se pueden asociar y formar supercomplejos. El modelo propone que los supercomplejos respiratorios son entidades fijas, no dinámicas, en las que cada estructura muestra una relación estequiométrica entre los diferentes complejos y con zonas de contacto bien definidas. iii) El modelo plástico, una combinación de los dos modelos anteriores, en donde existe un equilibrio dinámico entre los supercomplejos respiratorios con estequiometría determinada y los complejos respiratorios libres. iv) Adicionalmente a la formación de supercomplejos, el modelo compartimentalizado describe que los complejos/supercomplejos respiratorios y los oligómeros de la ATP sintasa se localizan en diferentes zonas de las crestas, siendo las regiones con una alta curvatura los sitios en donde se encuentran los dímeros del complejo V, mientras que en las regiones planas se encuentran los complejos/supercomplejos respiratorios (10). Los supercomplejos respiratorios son entidades dinámicas, cuya formación y abundancia depende de la cantidad de los complejos respiratorios y de las demandas energéticas de las células (11).

Los supercomplejos respiratorios se encuentran en todos los seres vivos, desde bacterias hasta eucariotas, los cuales, en términos morfológicos, son más complejos (12). Independientemente de su origen, los supercomplejos tienen una estequiometría altamente conservada, (Fig. 2 panel e). Incluso en microorganismos que carecen del complejo I, como *Saccharomyces cerevisiae* (12). En el ensamblaje de los supercomplejos participan proteínas como la coronatina insensible 1 (Coi1), factor 1 de supercomplejo respiratorio (Rcf1), factor 2 de supercomplejo respiratorio (Rcf2), y factor 1 de ensamblaje de supercomplejos (SCAF1) (13–15), y lípidos de la membrana mitocondrial interna, como la cardiolipina (16, 17).

El retículo mitocondrial

A finales de la década de 1990, por medio de técnicas de biología molecular, se fusionaron proteínas fluorescentes (como la GFP, Green Fluorescent Protein) con proteínas de ubicación mitocondrial, lo que definió a las mitocondrias como un retículo dinámico capaz de responder a diversas fuentes de carbono (Fig. 3 panel a y b), que está vinculado con el citoesqueleto celular y con las membranas del retículo endoplásmico liso (REL) (18). La presencia de los retículos mitocondriales pronto se confirmó en todas las células eucariotas, incluyendo diversas líneas de células humanas (Fig. 3 panel

C) (19). Así, la perspectiva de las mitocondrias cambió de organelos aislados y sellados de manera independiente, a entidades reticulares altamente dinámicas e interconectadas entre sí y con otros organelos celulares.

La descripción de los eventos de fisión y fusión en los retículos mitocondriales, la caracterización de los supercomplejos respiratorios, la identificación de la composición y de la complejidad de las crestas y la participación de los dímeros y oligómeros de orden superior de la F1F0 ATPasa en la formación de las crestas, así como la morfología dinámica del retículo mitocondrial según el estado energético celular, comenzó a dar una nueva perspectiva para la conceptualización de la morfología, función y estado dinámico de las mitocondrias.

La interacción de la mitocondria con el retículo endoplásmico

Un aspecto novedoso en la función de la mitocondria es su relación con el retículo endoplásmico. Aunque en primera instancia se podría suponer que la formación de zonas de contacto entre estos dos organelos se debe a su gran empaquetamiento en el interior de la célula, esta interacción se produce por proteínas específicas; a este complejo formado por la unión de las dos membranas se le llama MAMs (Fig. 4) (membranas asociadas a la mitocondria) (20). Algunas de las proteínas que forman parte de las MAMs participan en el proceso de fusión mitocondrial (mitofusina 1 y 2, Mfn1/2), otras en el transporte de solutos a través de la OMM (canal aniónico dependiente de voltaje, VDAC) o en la liberación del calcio del retículo endoplásmico, como es el receptor de inositol trisfosfato (IP₃R). Las interacciones que estabilizan la unión de las dos membranas tienen diferentes implicaciones funcionales: 1) La interacción Mfn2-Mfn1/2 es importante para mantener unidos a los dos organelos y que el transporte de calcio entre el retículo endoplásmico y la mitocondria sea eficiente (21); además, a través de la ubiquitinación de Mfn2 por el sistema PINK1/parkin (PINK1, por sus siglas en inglés, PTEN-Induced Kinase 1, es una proteína cinasa de serina/treonina que fosforila a parkin, una ubiquitina ligasa) y su posterior degradación, se regula la mitofagia (22); 2) la interacción BAP3-Fis1 participa en la iniciación de la apoptosis (23, 24); 3) la interacción IP₃R-Grp75-VDAC regula la transferencia de calcio del retículo endoplásmico a la mitocondria (25) y, por tanto, la activación de tres enzimas de la matriz mitocondrial: la piruvato deshidrogenasa, la isocitrato deshidrogenasa y la α -cetoglutarato deshidrogenasa; además, esta interacción regula la apoptosis (26); 4) VAPB-

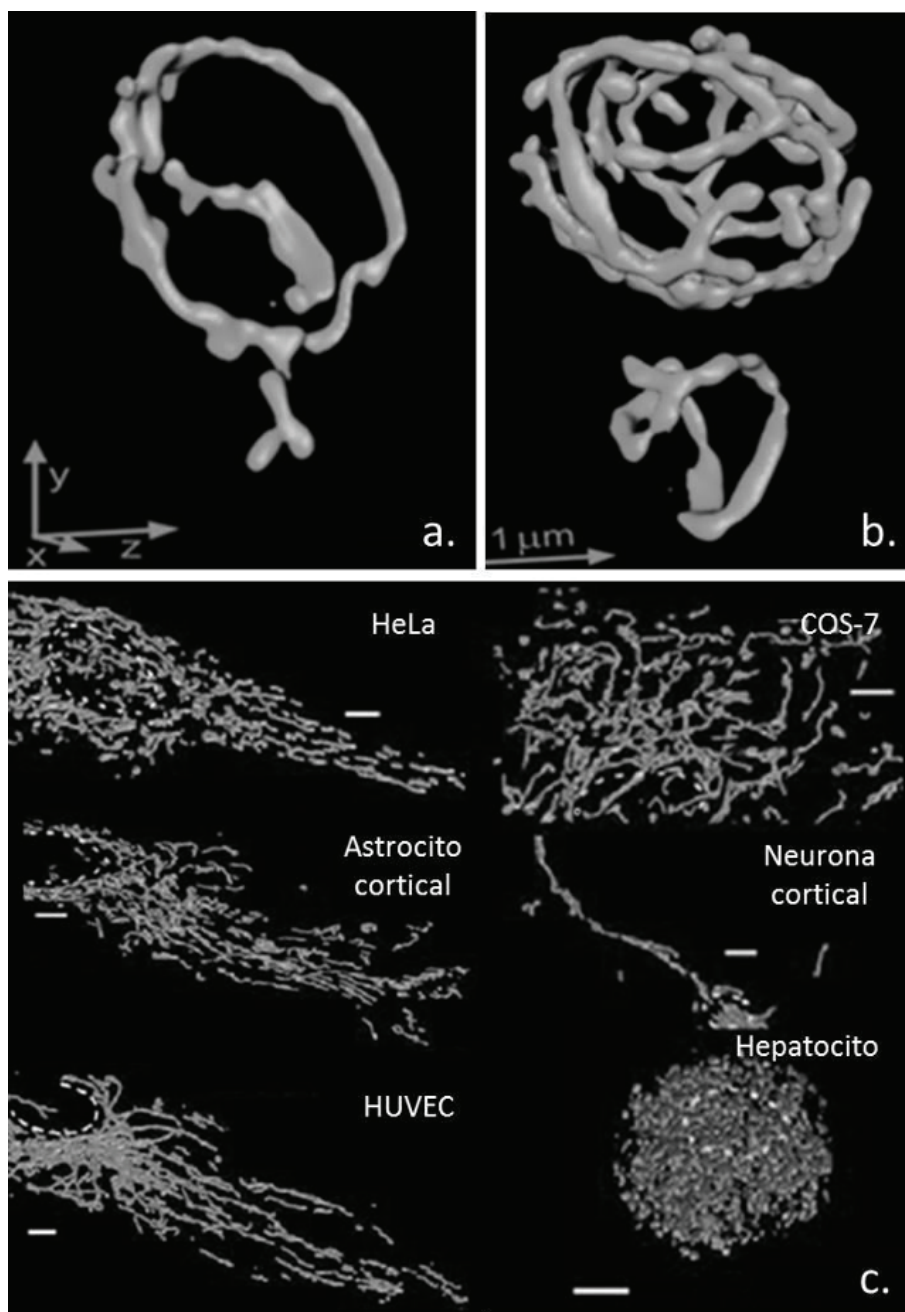


Figura 3. Retículo mitocondrial en células de *S. cerevisiae* y del ser humano. Panel a: el sustrato fermentativo glucosa produce un retículo mitocondrial escaso en *S. cerevisiae*. Panel b, un sustrato respiratorio (glicerol) aumenta en la levadura. Panel c: retículos mitocondriales en diferentes células de animales. HeLa, células de cáncer cérvico-uterino provenientes de tejido humano; COS, células de fibroblasto provenientes de riñón de simio; HUVEC: células epiteliales de la glándula pituitaria de bovino. Las barras corresponden a una longitud de un micrómetro. Figuras a y b, modificadas de la referencia (18). Figura c modificada de la referencia (19).

PTPIP51 participa en la regulación del calcio y en la apoptosis (27) y 5) la interacción ORP5/8-PTPIP51 está involucrada en la transferencia de la fosfatidilserina entre los dos organelos (Tabla 1) (28).

Fusión y fisión mitocondrial

La fusión y la fisión son dos procesos íntimamente asociados a la formación y estabilidad de la red mitocondrial (29–32). Ambos están relacionados con la síntesis de ATP, la generación de ROS, el control de calidad de las mitocondrias (32) y la biogénesis mitocondrial (33). En células de mamí-

TABLA 1
Proteínas que participan en el proceso de fusión mitocondrial.

Componentes proteicos	Función biológica
IP3R-Grp75-VDAC1	Regulación del Ca ²⁺
BAP31-Fis1	Inicio de la apoptosis
VAPB-PTPIP51	Regulación del Ca ²⁺ y apoptosis
ORP5/8-PTPIP51	Transferencia de lípidos
Mfn2-Mfn1/2	Vinculación física

Ver el pie de la figura 4 para el significado de las abreviaturas. Modificada de (72).

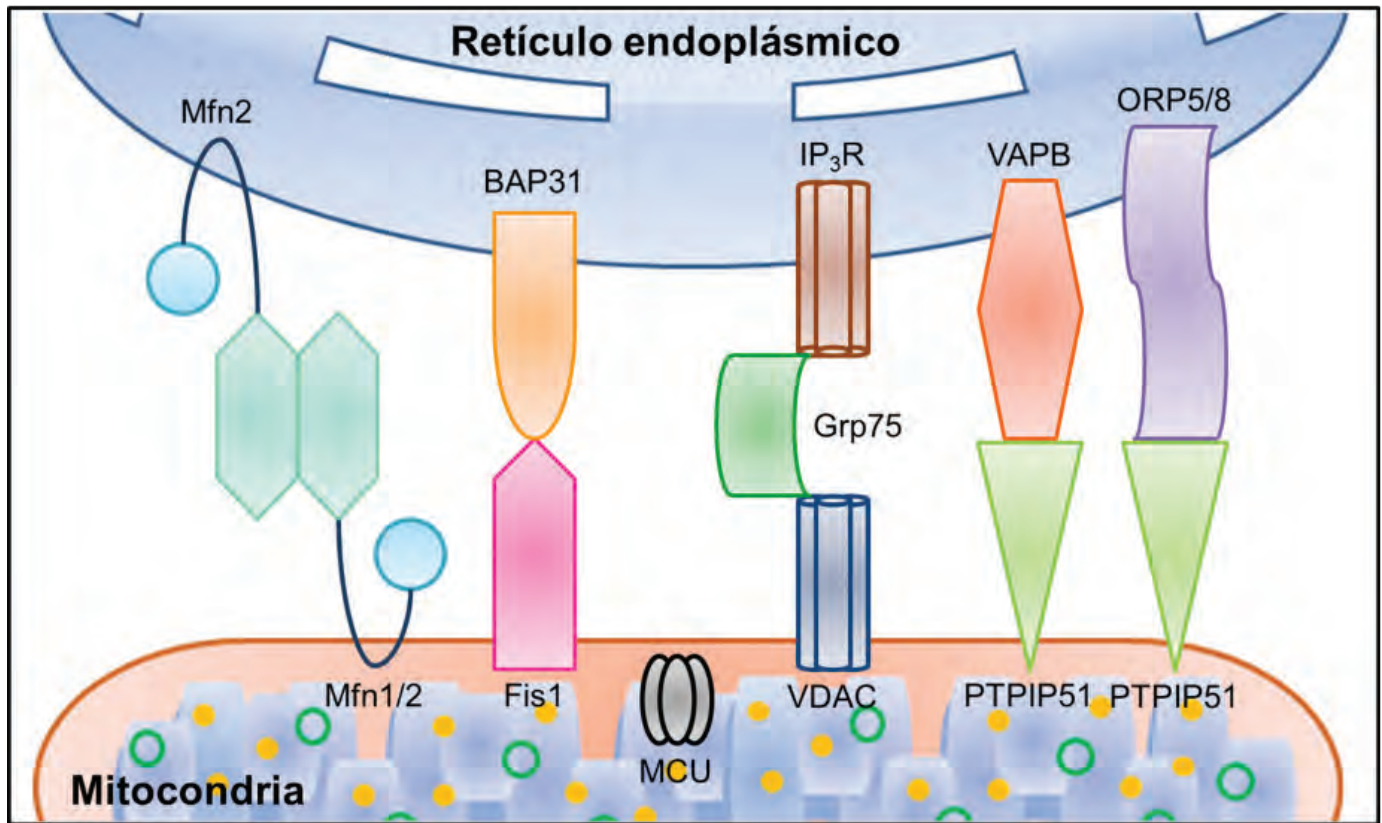


Figura 4. Composición de la interfase mitocondria-retículo endoplásmico. La mitocondria interactúa con el retículo endoplasmático a través de zonas de contacto conocidas como MAM. Fis1, proteína de fisión mitocondrial 1; Mfn2, mitofusina 1; Mfn1/2, mitofusina 1 o 2; IP₃R, receptor de inositol trisfosfato; Grp75, proteína de 75 kDa regulada por glucosa; VDAC, canal de aniones dependiente de voltaje; BAP31, proteína de 31 kDa asociada al receptor de células B; VAPB, proteína B de membrana asociada a vesícula; PTPIP51, proteína de 51 kDa que interactúa con la proteína fosfatasa de fosfotirosinas; ORP5/8, proteínas 5 y 8 relacionadas con la unión del oxisterol; MCU, uniportador de calcio mitocondrial. Modificado de (20).

fero, las principales proteínas que median la fusión de las mitocondrias son la mitofusina 1 (Mfn1), la mitofusina 2 (Mfn2), la fosfolipasa D mitocondrial (mitoPLD) y la proteína de atrofia óptica 1 (OPA1). Mfn1/2 y mitoPLD se localizan en la OMM y ayudan a unir dos mitocondrias y llevar a cabo la fusión de las OMM. El dominio de GTPasa de Mfn1/2 y la actividad hidrolítica de mitoPLD sobre la cardiolipina son esenciales para la fusión de la OMM (29, 30, 32). Defectos en Mfn1/2 o en OPA1 producen mitocondrias fragmentadas que son menos eficientes en la síntesis de ATP y producen una mayor cantidad de ROS (11, 34–36). OPA1 es una proteína que se encuentra en la IMM y cuya actividad de GTPasa es esencial para la fusión de la IMM (32) (Fig. 5). Para que esta fusión se lleve a cabo en forma correcta, se debe producir la forma pequeña de OPA1 (S-OPA1) a través de un corte proteolítico sobre OPA1, catalizado por la proteasa YME1L (37). Por otro lado, la fisión mitocondrial está mediada

por la proteína de fisión mitocondrial 1 (Fis1), que se localiza en la OMM y que recluta a la proteína relacionada con la dinamina (Drp1), una proteína citosólica que tiene actividad de GTPasa y que produce un anillo de constricción en la mitocondria (30, 32) (Fig. 5). Un dato interesante es que el reclutamiento de Drp1 y la fisión mitocondrial ocurren en sitios de contacto de la mitocondria con el retículo endoplásmico (32). Otras proteínas que funcionan en el reclutamiento de Drp1 son el factor de fisión mitocondrial (MFF) y las proteínas de dinámica mitocondrial 49 y 51 (MiD49 y MiD51), que actúan también como receptores de Drp1 (30) (Fig. 5). Al contrario de las mitocondrias fragmentadas, la red de mitocondrias fusionadas es óptima para la función de este organelo, por lo que esta red, generalmente, se encuentra en células con una respiración activa. Asimismo, zonas defectuosas del retículo mitocondrial se fisionan para ser procesadas por medio de la mitofagia (31,

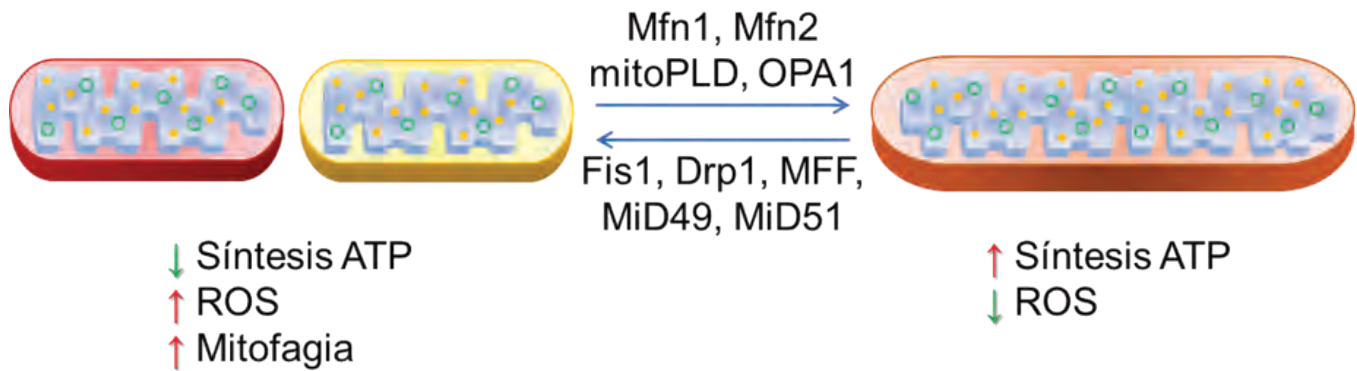


Figura 5. Fisión y fusión mitocondrial. Las proteínas que participan en la fisión mitocondrial son: Fis1, Drp1, MFF, MiD49 y 51. En la fisión la síntesis de ATP disminuye, la generación de ROS aumenta y en consecuencia la mitofagia incrementa. En la fusión participan las proteínas Mfn1/2, mitoPLD, OPA1. La fusión favorece la síntesis de ATP y disminuye la generación de ROS.

32). Sin embargo, la fisión mitocondrial también es esencial para generar mitocondrias nuevas y permitir que las células crezcan y se dividan. Los eventos de fisión y fusión son necesarios incluso en las células no proliferantes, como las neuronas, que no sobreviven sin la fisión mitocondrial (38).

Las crestas mitocondriales

El modelo actual de las crestas mitocondriales (Fig. 6) es más complicado que la propuesta original de

una simple invaginación de la IMM (39). Estructuralmente las crestas se pueden dividir en tres regiones: i) el punto en donde se origina la cresta o unión de cresta, (CJ), ii) una región de alta curvatura, y iii) una región con una superficie plana (Fig. 6). Esta última zona alberga a los componentes de la cadena respiratoria (CI-CIV), mientras que la región de alta curvatura es rica en los dímeros de la ATP sintasa (38, 39). El interior de la cresta es un sitio de almacenamiento del citocromo c, elemento redox que conecta al complejo III con el IV (38).

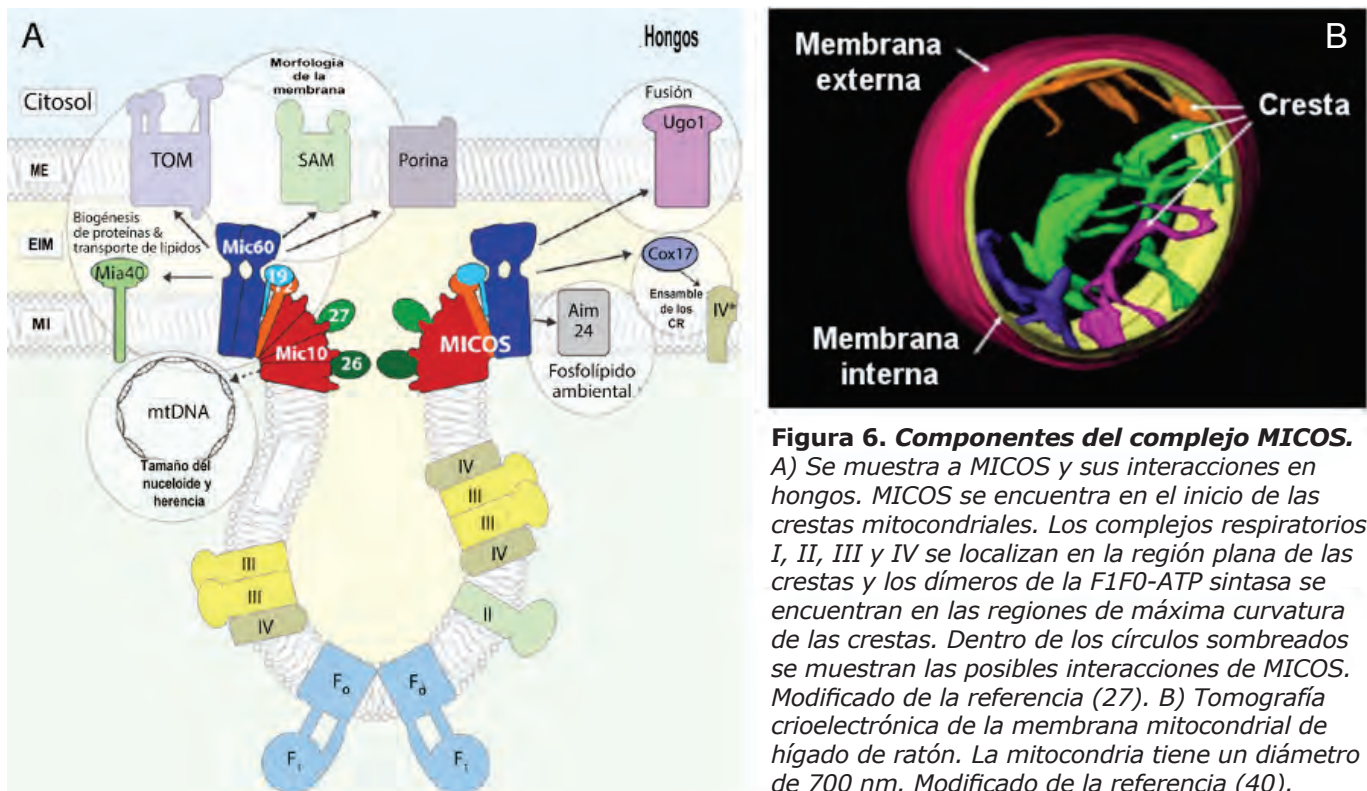


Figura 6. Componentes del complejo MICOS. A) Se muestra a MICOS y sus interacciones en hongos. MICOS se encuentra en el inicio de las crestas mitocondriales. Los complejos respiratorios I, II, III y IV se localizan en la región plana de las crestas y los dímeros de la F1F0-ATP sintasa se encuentran en las regiones de máxima curvatura de las crestas. Dentro de los círculos sombreados se muestran las posibles interacciones de MICOS. Modificado de la referencia (27). B) Tomografía crioelectrónica de la membrana mitocondrial de hígado de ratón. La mitocondria tiene un diámetro de 700 nm. Modificado de la referencia (40).

El resto de la IMM, que no forma invaginaciones, corresponde a la IBM (Inner Boundary Membrane). Las crestas están conectadas con la IBM a través de estructuras conocidas como uniones de cresta, conexiones tubulares de longitud variable (38). Las CJ tienen un diámetro de entre 12 a 40 nm.

Por otra parte, las crestas mitocondriales constantemente sufren modificaciones de tamaño, estructura y número en respuesta a su estado energético, un proceso descrito como la transición entre el estado ortodoxo y condensado (5). El ortodoxo refleja una baja concentración de ADP, se caracteriza por una matriz menos densa y el estado 4 respiratorio (bajo consumo de oxígeno). En el estado condensado la matriz mitocondrial se encuentra compactada, la concentración de ADP es alta y las mitocondrias se encuentran en el estado 3 respiratorio (alto consumo de oxígeno) (40).

En la morfología y la biogénesis de las crestas mitocondriales participan varias proteínas: OPA1, la mitofilina, y los sitios de contacto mitocondrial y el complejo organizador de las crestas mitocondriales (MICOS) (38). Además de su papel en la fusión mitocondrial, OPA1 participa en la arquitectura de la cresta y la formación de las CJ (39). La mitofilina, que actualmente se conoce como MIC60, es una proteína anclada a la IMM a través de un segmento transmembranal en la región aminoterminal (38). Se expresan dos isoformas de esta proteína, una de 88 kDa y otra de 90 kDa, es de origen citosólico y genera sitios de contacto entre la membrana externa e interna de la mitocondria. MIC60 forma parte de MICOS, un sistema hetero oligomérico que se requiere para la formación y el mantenimiento de las crestas (41).

Además de su participación en la formación de las CJ, MICOS es importante para la construcción de sitios de contacto entre la OMM y la IMM, los cuales permiten el importe de pre-proteínas hacia el espacio intermembrana y la IMM (38). Para la construcción de estos sitios de contacto, MICOS interactúa con proteínas de la OMM, como VDAC y la translocasa de membrana externa (TOM) (38).

El número de componentes del sistema MICOS identificado es de 8 y su composición entre las especies es variable. En la levadura *S. cerevisiae*, MICOS tiene 6 subunidades: Mic10, Mic12, Mic19, Mic26, Mic28 y Mic60. En las mitocondrias de humanos, MICOS está integrado por las subunidades: Mic25 (parálogo de Mic19), Mic10, Mic60, Mic28, Mic27 (parálogo de Mic26) y Mic12 (42). MICOS también interactúa con la maquinaria de clasificación y ensamblaje de proteínas con estructura de barril beta (SAM). La interacción entre MICOS

y SAM establece la conexión entre las membranas mitocondriales interna y externa y se conoce como complejo de puente intermembrana de mitocondria (MIB) (43). MICOS da lugar a dos subcomplejos:

i) MIC60: Mic60 y Mic19 forma sitios de contacto con la OMM a través de TOM y SAM (38). También participa en el mantenimiento de las CJ, para lo que es necesario un MICOS intacto. La actividad de Mic60 es independiente de los complejos de la fosforilación oxidativa y la cardiolipina. Sin embargo, en ausencia de MICOS, el CIII y el CIV no son funcionales y las crestas son aberrantes (44). Mic60 participa en la transferencia de lípidos entre la OMM y la IMM. En humanos, Mic60 promueve la acumulación de PINK1 y parkin, que trabajan juntas en el control de la calidad de las mitocondrias. La acumulación de PINK1 en la OMM de mitocondrias dañadas resulta en el reclutamiento de la proteína citosólica parkin, que se encarga de ubiquitinar a proteínas de la OMM para activar la mitofagia (45).

Mic19 se localiza en la IMM hacia el espacio intermembrana. Es una proteína de 26 kDa e interactúa con Mic60 a través de un motivo de espiral presente en el carboxilo terminal mientras que con el amino terminal interactúa con SAM. Mic19 es el puente entre Mic60 y SAM (46). La eliminación de Mic19 produce una disminución de subunidades del CIV acompañada de una respiración basal disminuida y desacoplada (44).

ii) El subcomplejo MIC10 está integrado por Mic10, Mic12, Mic26 y Mic27. Mic10 es una proteína pequeña de membrana, en forma de horquilla, que tiene dos segmentos transmembrana unidos por un bucle corto de carga positiva; ambos extremos están expuestos en el espacio intermembrana. Mic10 forma oligómeros que son la base de las CJ; también puede difundir fuera de las CJ e interactuar con los dímeros de la ATP sintasa, favoreciendo la expansión de la cresta (38,46). La mayoría de los componentes de MICOS son proteínas integrales de membrana, con excepción de Mic19 y Mic26, que son proteínas periféricas. MICOS también interactúa con Ugo1, una proteína de la OMM que participa en el proceso de fusión mitocondrial (38,42). La coordinación entre ambos subcomplejos organiza y mantiene a las crestas mitocondriales.

La regulación de la dinámica mitocondrial

El concepto de dinámica mitocondrial incluye los procesos de fisión y fusión, así como los cambios en la morfología de la cresta (31). Alteraciones

TABLA 2

Modificaciones post-traduccionales clave de las proteínas de la dinámica mitocondrial.

Proteína	Modificación	Efecto biológico
Drp1	Fosforilación (Ser585 y Ser 616) por CDK1-Ciclina B	Promueve la fisión mitocondrial en células mitóticas
	Fosforilación de Ser637 por PKA	Inhibe la fisión, disminuyendo la actividad de GTPasa de Drp1
	Fosforilación de Ser600 por CaMKI α	Activa la fisión
	Desfosforilación por calcineurina	Activa la fisión
	Sumoilación (Lys532, Lys535, Lys558, Lys568, Lys594, Lys606, Lys608) por MAPL	Regula positivamente la fisión mitocondrial
	S-Nitrosilación(Cys644)	Incrementa la dimerización de Drp1 y la fisión mitocondrial.
Fis1	Ubiquitinación por MARCH5	Fis1 para degradación proteosomal; disminuye la fisión mitocondrial
Mfn1	Ubiquitinación por parkin	Mfn1 para la degradación proteosomal; incrementa la fisión mitocondrial, activa la mitofagia.
Mfn2	Fosforilación por PINK1 (Thr111, Ser442, Tyr448)	Favorece la interacción de Mfn2 con parkin; promueve fisión y mitofagia.
	Fosforilación por PKA (Ser442)	Afecta la proliferación celular del músculo vascular.
	Ubiquitinación por parkin	Regula los niveles de Mfn2 y la fusión mitocondrial.
	Fosforilación por JNK (Ser27)	Promueve el reclutamiento de la ubiquitina ligasa HUWE1, llevando a la ubiquitinación y la degradación proteosomal de Mfn2; inhibe la fusión mitocondrial.
OPA1	Escindida por OMA1	Inhibe la fusión mitocondrial
	Escindida por YME1L	Requerida para la fusión mitocondrial
	Escindida por PARL	Requerida para generar una poza de OPA1 pequeña, soluble en el espacio intermembranal.
	Acetilación (Lys936, Lys961)	Disminuye la actividad de GTPasa de OPA1

FIS1, proteína de fisión mitocondrial 1; Mfn1, mitofusina 1; Mfn2, mitofusina 2; CDK1, cinasa 1 dependiente de ciclina; CaMKI α , proteína cinasa la dependiente de calmodulina/calcio; PKA, proteína cinasa dependiente de AMP cíclico; OPA1, proteína asociada a la atrofia óptica 1; MAPL, SUMO ligasa; Drp1, proteína 1 relacionada con la dinamina; MARCH5, ubiquitina ligasa, mitocondrial; YME1L, proteasa i-AAA mitocondrial; PARL, proteasa tipo romboide asociada a la presenilina; PINK1, proteína cinasa de serinas/treoninas; parkin, enzima 3 ubiquitina ligasa; JNK, c-Jun N-terminal cinasa. Modificada de (73).

en esta dinámica conducen a diferentes tipos de enfermedades. Por ejemplo, mutaciones en los genes *DRP1*, *MFN2* y *OPA1* se asocian con encefalopatía, enfermedad tipo 2A de Charcot-Marie-Tooth y atrofia óptica 1, respectivamente (31).

A diferencia de las mitofusinas y la OPA1, que son de localización mitocondrial, Drp1 se encuentra mayoritariamente en el citosol y se dirige a la mitocondria para producir la fisión (47). La activación o inhibición de la fisión depende del estado de fosforilación en diferentes residuos de serina de Drp1 (Tabla 2) (31, 47). Mientras que la fosforilación de la Ser585 y la Ser616 por el complejo ciclina B-CDK1 promueve la fisión mitocondrial en las células mitóticas, la

fosforilación de la Ser637 por la proteína cinasa dependiente de AMPc reduce la fisión debido a que inhibe la actividad de GTPasa de la Drp1. La desfosforilación de la Ser637 por la calcineurina (una fosfatasa que depende de calcio y calmodulina) activa la fisión. Además del proceso de fosforilación-desfosforilación, Drp1 se puede S-nitrosilar (Cis644) y sumoilar en varias lisinas, lo que aumenta la fisión (31).

OPA1 también tiene diferentes tipos de modificación postraduccionales, las cuales afectan la dinámica mitocondrial (Tabla 2) (31). La metaloendopeptidasa OMA1, la metaloproteasa dependiente de ATP (YME1L) y la proteasa de tipo romboide asociada a presenilinas (PARL) son

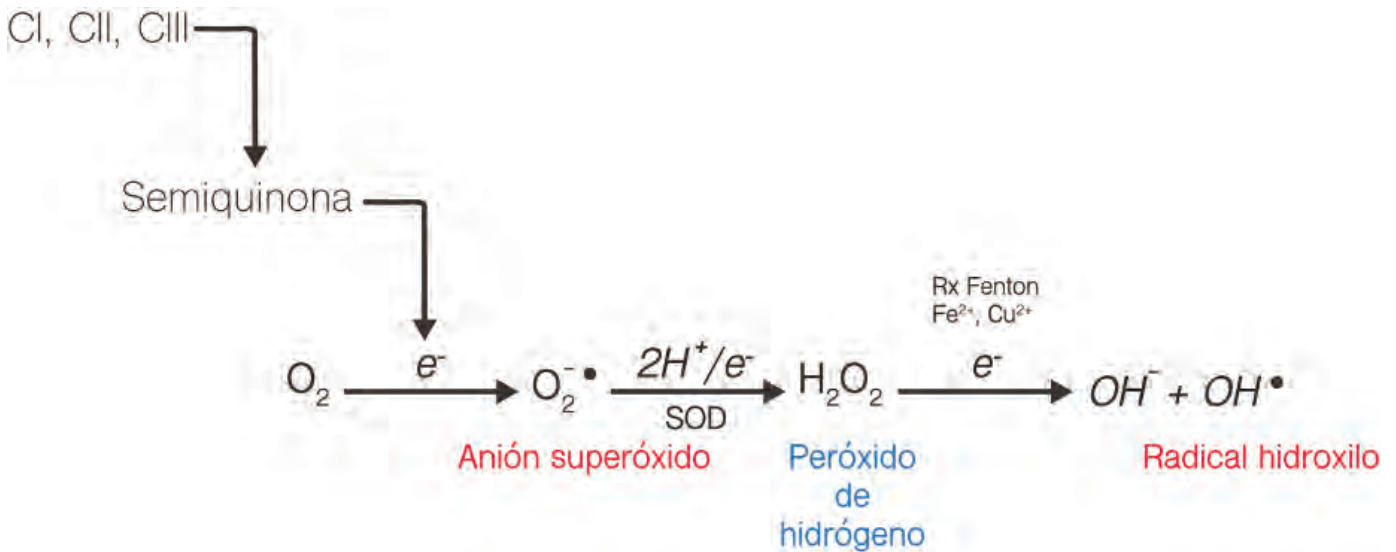


Figura 7. Formación de especies reactivas de oxígeno en la mitocondria. La semiquinona que se produce durante el ciclo catalítico de algunos de los complejos respiratorios cede su electrón al oxígeno para formar el anión superóxido. Cuando el $O_2^{\bullet -}$ se dismuta por la SOD2 se genera el H_2O_2 , que al romperse heterolíticamente al reaccionar con algún metal divalente forma al radical libre hidroxilo (OH^{\bullet}). Modificada de la referencia (5).

tres proteasas de la IMM que cortan a OPA1 en diferentes sitios y producen distintos efectos. La ruptura proteolítica por OMA1 inhibe la fusión mitocondrial (48), mientras que el corte que lleva a cabo la proteasa YME1L produce la forma pequeña de OPA1 (S-OPA1) que se requiere para la fusión mitocondrial (37). PARL produce una forma pequeña de OPA1 en el espacio intermembrana que favorece la oligomerización de OPA1 y la inhibición de la remodelación de la cresta que resulta en la liberación del citocromo c y apoptosis (49). Una modificación adicional de OPA1 es la acetilación de las lisinas 936 y 961, que produce una disminución de la actividad de GTPasa de esta proteína y, por tanto, de la fusión mitocondrial (31). Otras proteínas que se modifican postraduccionalmente son Fis1, Mfn1 y Mfn2 (Tabla 2).

Formación de especies reactivas de oxígeno en la mitocondria

La formación de ROS en las mitocondrias derivada de la fuga de electrones de la CTE hacia el oxígeno fue descrita como "un evento accidental". La fuga de electrones a partir del radical semiquinol hacia el oxígeno da como resultado la formación del radical libre anión superóxido (Fig. 7), que al ser dismutado por la superóxido dismutasa mitocondrial (SOD2), genera al peróxido de hidrógeno (H_2O_2). El H_2O_2 es relativamente inocuo para las biomoléculas como las proteínas, pero al reaccionar con metales divalentes como el Fe^{2+} forma el radical

hidroxilo (OH^{\bullet}), que es extremadamente reactivo (reacción de Fenton, Fig. 7 (2)).

Inicialmente se estimó, con mitocondrias aisladas, que la producción de anión superóxido correspondía aproximadamente al 2% del O_2 consumido (2). Sin embargo, el porcentaje de producción de ROS en la CTE en células es del 0.1 al 0.5% en condiciones de reposo (50) y de 0.01 a 0.03% en condiciones que mimetizan el ejercicio (consumo de oxígeno) (51).

Quinlan y colaboradores mostraron que la producción de ROS en las mitocondrias depende del estado de óxido-reducción de la CTE, así como del potencial redox entre el par de donadores y aceptores de electrones (51). Los principales sitios de producción de ROS en las mitocondrias se determinaron mediante el bloqueo del flujo de electrones con inhibidores de los complejos respiratorios: la rotenona para el Complejo I, la antimicina A para el complejo III y el cianuro para el complejo IV (52). El bloqueo del flujo de electrones incrementa la producción de ROS por arriba del sitio con el que interactúa el inhibidor y disminuye río abajo (52). Cuando las mitocondrias se alimentan con succinato, puede presentarse un transporte reverso de electrones hacia la NADH deshidrogenasa si el complejo III se encuentra inhibido con antimicina A (53).

Con base en el uso de inhibidores se describió el sitio de la flavina (IF) y de la ubiquinona (IQ) en el complejo I como los principales productores de ROS. El sitio IF corresponde al dominio de unión

del flavín mononucleótido (FMN), que contiene el canal de entrada de los electrones provenientes del NADH. El sitio IQ corresponde al dominio de reducción de la quinona. Otros sitios productores de ROS en la CTE son el sitio de oxidación del quinol en el complejo III (IIIQ) y el sitio de oxidación del succinato que contiene al FAD en el complejo II (IIF) (54). En estos sitios la producción de ROS sigue una cinética hiperbólica, en la que a mayor flujo de electrones en la CTE, mayor producción de ROS (53).

El estado fosforilante en las mitocondrias requiere de un voltaje de entre 100 a 140 mV, siendo 120 mV el valor en el que se alcanza la máxima síntesis de ATP (55). En ausencia de ADP y presencia de sustratos respiratorios, los valores de voltaje pueden ser mayores a los 160 mV, que resulta en un aumento en la permeabilidad de la membrana a los protones (4) y un incremento en la generación de ROS, sobre todo en los complejos respiratorios I y II (52)

Formación de especies reactivas de oxígeno fuera de la CTE

En la mitocondria existen otros sitios enzimáticos en donde las reacciones de óxido-reducción también pueden formar ROS (54). En realidad, todas las enzimas clasificadas como óxido-reductasas que catalizan reacciones con altos valores isopotenciales (reacciones que implican la transferencia de electrones entre donadores y aceptores con potenciales redox muy semejantes) pueden ser generadoras de ROS (54). Sin embargo, fuera del funcionamiento del complejo de la α -cetoglutarato deshidrogenasa (α KGDH) y del complejo de la piruvato deshidrogenasa (PDH), la contribución en la formación de ROS por otras enzimas, incluyendo al complejo de la deshidrogenasa de los alfa cetóácidos de cadena ramificada (α BCKDH), es muy poca (53). En la figura 8, se muestran todos los sitios enzimáticos isopotenciales que contribuyen en la formación de ROS.

Un punto importante es que tanto la α KGDH como la PDH se inhiben por H_2O_2 , por lo que se proponen como sitios de regulación en la producción H_2O_2 y en la señalización redox. Una inhibición de ambos complejos enzimáticos por un aumento en los niveles de H_2O_2 puede prevenir una sobreproducción de ROS (56). En términos de contribución a la formación de ROS, la jerarquía en los complejos enzimáticos que se acoplan al par redox $NAD^+/NADH$ es la siguiente: α KGDH > PDH > α BCKDH > Complejo I (sitio IF), en donde la α KGDH puede producir 8 veces más ROS que el sitio IF del complejo I (50).

¿Son las mitocondrias el principal sitio de formación de ROS?

La velocidad de producción de ROS que se observa en las mitocondrias en estado no fosforilante depende del sustrato respiratorio y ronda entre 40 a 180 picomolas·min⁻¹·mg proteína⁻¹ (57, 58), mientras que en presencia de inhibidores de la CTE, la producción de ROS tiene valores de hasta 4.5 nmol·min⁻¹·mg proteína⁻¹ en el sitio IIIQo (50, 51). La producción normal de anión superóxido/ H_2O_2 en las mitocondrias que se encuentran en estado fosforilante y en ausencia de inhibidores está en el orden de 20 a 40 picomolas·min⁻¹·mg proteína⁻¹, dependiendo del sustrato (51, 54).

Estos valores de ROS resultan bajos en comparación con las producidas por la NADPH oxidasa dependiente de calcio y las NADPH oxidasas con dos dominios de unión a calcio (DUOX) en ciertas células. Utilizando diferentes técnicas se ha determinado que en las vacuolas de los neutrófilos se produce entre 1 y 4 moles/L de anión superóxido, que rápidamente dismuta a H_2O_2 , por lo que la concentración de anión superóxido en el estado estacionario está en el orden μ M (59), y para el H_2O_2 se han calculado valores de 30 μ M (60).

Las enzimas productoras de ROS, NOX y DUOX, originalmente se describieron en los fagolisosomas de los macrófagos (61). Posteriormente se encontraron en la membrana plasmática de otras células, por lo que están ampliamente distribuidas en los tejidos de los animales, las plantas, las arqueas y los hongos (61, 62). En los mamíferos, ambas enzimas (DUOX y NOX) se activan por hormonas anabólicas como la hormona del crecimiento, el factor de crecimiento endotelial, la insulina, la angiotensina II y diversas citocinas (63–65). En consecuencia, las ROS dejaron de ser percibidas únicamente como moléculas dañinas asociadas a cáncer, envejecimiento celular, desórdenes neuronales y diversas patologías (66).

Además de las oxidoreductasas de la IMM y de la matriz mitocondrial y los sistemas NOX y DUOX, hay otros sitios formadores de ROS como las oxidoreductasas de alto isopotencial, en donde las ROS son un derivado o subproducto de su reacción. Algunas de estas enzimas están involucradas en la degradación de elementos purínicos, como la xantina oxidasa, en la derivatización de catecol e indolaminas, como las monoamino y diamino oxidasas (MAO y DAO), y en la oxidación del araquidonato para la producción de los prostanoïdes, como las ciclooxigenasas 1 y 2 (COX-1 y COX-2), así como los citocromos P₄₅₀ durante su funcionamiento (62). Puesto que son muchos los sitios en donde se producen ROS, y sabiendo que para los neutrófilos

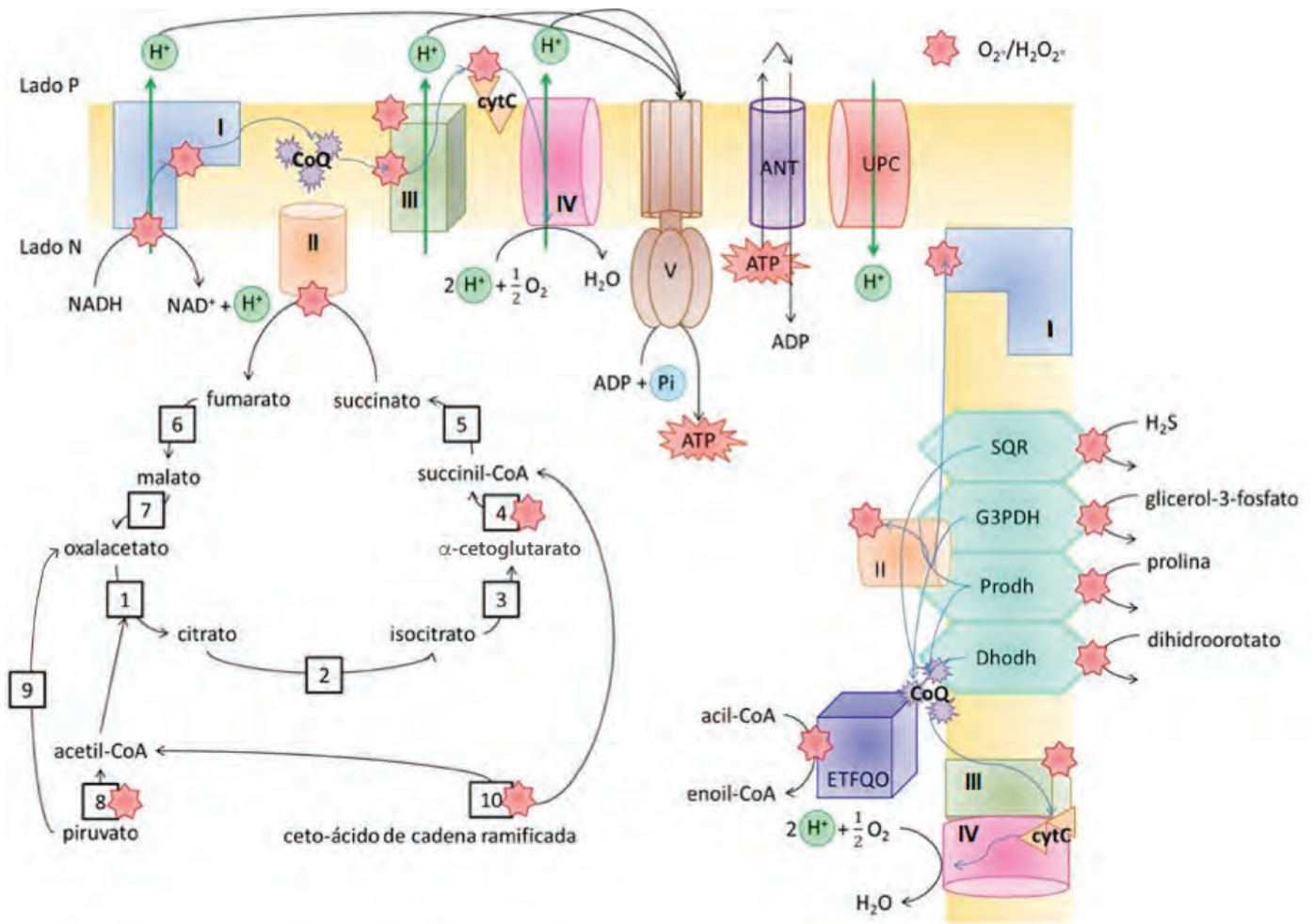


Figura 8. Sitios de formación de ROS en la mitocondria. Lado positivo (P) y negativo (N) de la membrana interna mitocondrial; I, complejo respiratorio I; II, complejo respiratorio II; III, complejo respiratorio III; IV, complejo respiratorio IV; V; 4, α cetoglutarato deshidrogenasa; 8, piruvato deshidrogenasa; 10, deshidrogenasa de los α cetoácidos de cadena ramificada; CoQ, coenzima Q; SQR, sulfuro quinona óxido-reductasa; G3PDH, glicerol-3-fosfato deshidrogenasa; Prodh, prolina deshidrogenasa; Dhodh, dihidroorotato deshidrogenasa; ETFQO, flavoproteína transferidora de electrones; cytC, citocromo C; ANT, translocador de adenín nucleótidos; UPC, proteína desacoplante. Las estrellas rojas representan los sitios en los que experimentalmente se ha mostrado la formación de ROS. Modificada de la referencia (53).

y los macrófagos las NOX sobrepasan a las mitocondrias en la generación de ROS, es importante cuantificar las contribuciones mitocondriales y citosólicas en células que no estén especializadas en la fagocitosis. Utilizando inhibidores de la NOX y moléculas que suprimen la fuga de electrones en los sitios IQ del complejo I y IIIQo del complejo III, se demostró que en los mioblastos de músculo esquelético de ratón aproximadamente el 40% del H_2O_2 que se liberaba al medio provenía de las NOX, un 30% del sitio IIIQo y un 15% del sitio IQ (50). Con otras palabras, la contribución mitocondrial, dada por los complejos I y III (45%), no es mucho mayor que la citosólica, de las NOX (40%).

El modelo de respuesta hormética para las especies reactivas de oxígeno

El mal entendimiento del papel de las ROS y los antioxidantes en la fisiología celular ha conducido a experimentos en los que se ha demostrado que la disminución en la concentración de las ROS en células que sobreexpresan proteínas antioxidantes o a través del uso de cantidades excesivas de compuestos antioxidantes, no producen una mayor longevidad, por el contrario, ésta tiende a acortarse. De lo anterior, se concluye que se requieren concentraciones mínimas de ROS para la supervivencia celular (67). También se

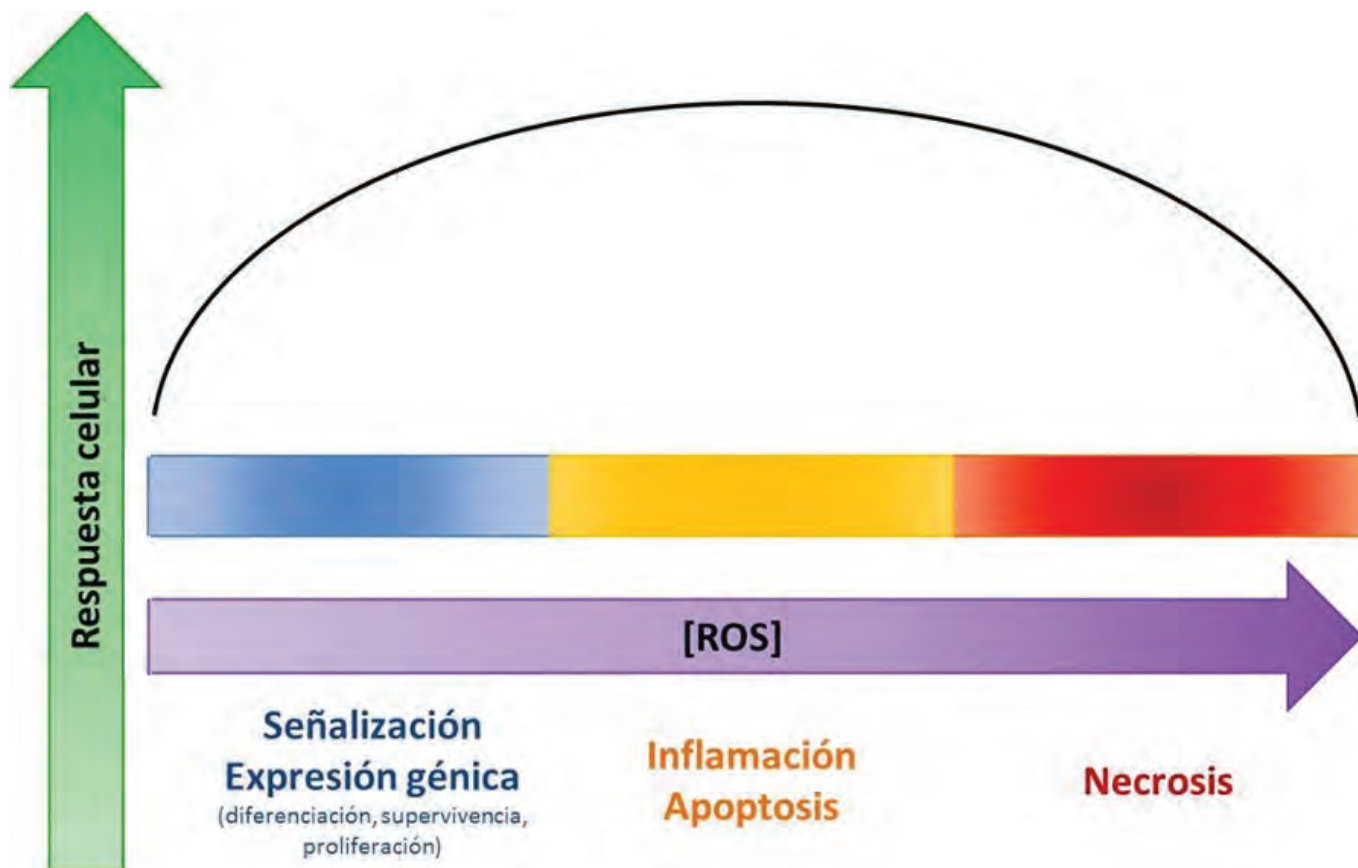


Figura 9. Respuesta hormética de las ROS en células de mamífero. Se muestra la influencia de las ROS sobre el metabolismo celular. Modificada de la referencia (69).

ha reportado que la administración excesiva de compuestos antioxidantes, lejos de ayudar en el manejo del cáncer, lo pueden empeorar (68). En general, cuando ocurren pequeños incrementos en la concentración de las ROS, también se incrementan los niveles de los sistemas antioxidantes, por lo que la mayoría de las veces, las células se encuentran en un equilibrio dinámico con respecto a las ROS. El sistema ROS/antioxidantes más bien se asemeja a un sistema hormético (Fig. 9) (69), en donde a bajas concentraciones, las ROS son necesarias para el funcionamiento celular normal, participando en actividades tan importantes como la diferenciación celular, la supervivencia y la proliferación celular (barra azul) (Fig. 9). Al incrementarse la producción de ROS se pasa a una etapa en la que los antioxidantes desempeñan un papel muy importante en procesos inflamatorios y de muerte celular programada, que ocurren de manera normal durante la diferenciación celular en organismos pluricelulares (barra amarilla), (Fig. 9). La consecuencia de un desequilibrio entre las ROS y los antioxidantes (incrementa la relación ROS/


antioxidante), es la muerte celular no apoptótica (barra roja) (Fig. 9).

Conclusión

El modelo de la estructura y función de las mitocondrias ha pasado de tener complejos respiratorios individuales, mitocondrias estáticas y estables, de 0.5 a 3 μm de longitud, crestas que se producían por la simple invaginación de la membrana mitocondrial interna, y cuya función más importante era la síntesis de ATP, a un modelo en donde las mitocondrias contienen supercomplejos respiratorios, redes mitocondriales dinámicas que se remodelan a través de procesos de fisión y fusión que requieren de la interacción con el retículo endoplásmico, con crestas mitocondriales que se originan a partir de una estructura compleja, cilíndrica (cristae junction), y con funciones como la producción de ROS que participan en procesos de señalización y apoptosis. Lo que implica que la mitocondria es un organelo altamente dinámico esencial para el correcto funcionamiento celular.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación Tecnológica [PAPIIT

IN222117]; Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACYT [254904-JPP] and [256520-GGS]. Instituto Politécnico Nacional- Secretaría de Investigación y Posgrado, [IPN-SIP 20190200]. 

REFERENCIAS

- Margulis L. Origin of eukaryotic cells: evidence and research implications for a theory of the origin and evolution of microbial, plant, and animal cells on the Precambrian Earth. New Haven: Yale University Press; 1970. 349 p.
- Boveris A, Oshino N, Chance B. The cellular production of hydrogen peroxide. *The Biochemical journal*. 1972 Jul;128(3):617–30.
- Mitchell P. Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemiosmotic type of mechanism. *Nature*. 1961 Jul 8;191:144–8.
- Kadenbach B, Ramzan R, Wen L, Vogt S. New extension of the Mitchell Theory for oxidative phosphorylation in mitochondria of living organisms. *Biochimica et biophysica acta*. 2010 Mar;1800(3):205–12.
- Nelson DL, Cox MM. *Lehninger principles of biochemistry*. Seventh edition. New York, NY : Houndmills, Basingstoke: W.H. Freeman and Company ; Macmillan Higher Education; 2017. 1172 p.
- Singer SJ, Nicolson GL. The structure and chemistry of mammalian cell membranes. *The American journal of pathology*. 1971 Nov;65(2):427–37.
- Schagger H, Pfeiffer K. Supercomplexes in the respiratory chains of yeast and mammalian mitochondria. *The EMBO journal*. 2000 Apr 17;19(8):1777–83.
- Schafer E, Dencher NA, Vonck J, Parcej DN. Three-dimensional structure of the respiratory chain supercomplex I1III2IV1 from bovine heart mitochondria. *Biochemistry*. 2007 Nov 6;46(44):12579–85.
- Bianchi C, Genova ML, Parenti Castelli G, Lenaz G. The mitochondrial respiratory chain is partially organized in a supercomplex assembly: kinetic evidence using flux control analysis. *The Journal of biological chemistry*. 2004 Aug 27;279(35):36562–9.
- Davies KM, Blum TB, Kühlbrandt W. Conserved in situ arrangement of complex I and III2 in mitochondrial respiratory chain supercomplexes of mammals, yeast, and plants. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2018 Mar 20;115(12): 3024–3029.
- Cogliati S, Frezza C, Soriano ME, Varanita T, Quintana-Cabrera R, Corrado M, Cipolat S, Costa V, Casarin A, Gomes LC, Perales-Clemente E, Salviati L, Fernandez-Silva P, Enriquez JA, Scorrano L. Mitochondrial cristae shape determines respiratory chain supercomplexes assembly and respiratory efficiency. *Cell*. 2013 Sep 26;155(1):160–71.
- Chaban Y, Boekema EJ, Dudkina NV. Structures of mitochondrial oxidative phosphorylation supercomplexes and mechanisms for their stabilisation. *Biochimica et biophysica acta*. 2014 Apr;1837(4):418–26.
- Strogolova V, Furness A, Robb-McGrath M, Garlich J, Stuart RA. Rcf1 and Rcf2, members of the hypoxia-induced gene 1 protein family, are critical components of the mitochondrial cytochrome bc1-cytochrome c oxidase supercomplex. *Molecular and cellular biology*. 2012 Apr;32(8):1363–73.
- Davoudi M, Kotarsky H, Hansson E, Kallijarvi J, Fellman V. COX7A2L/SCAFI and Pre-Complex III Modify Respiratory Chain Supercomplex Formation in Different Mouse Strains with a Bcs1l Mutation. *PloS one*. 2016;11(12):e0168774.
- Singhal RK, Kruse C, Heidler J, Strecker V, Zwicker K, Düsterwald L, Westermann B, Herrmann JM, Witting I, Rapaport D. Coi1 is a novel assembly factor of the yeast complex III-complex IV supercomplex. *Molecular biology of the cell*. 2017 Aug 9; 28 (20): 2609–22.
- Acehan D, Malhotra A, Xu Y, Ren M, Stokes DL, Schlame M. Cardiolipin affects the supramolecular organization of ATP synthase in mitochondria. *Biophys J*. 2011 May 4;100(9):2184–92.
- Baker CD, Basu Ball W, Pryce EN, Gohil VM. Specific requirements of nonbilayer phospholipids in mitochondrial respiratory chain function and formation. *Mol Biol Cell*. 2016 Jul 15;27(14):2161–71.

18. Griparic L, van der Blik AM. The many shapes of mitochondrial membranes. *Traffic*. 2001 Apr;2(4):235-44.
19. Collins TJ, Berridge MJ, Lipp P, Bootman MD. Mitochondria are morphologically and functionally heterogeneous within cells. *The EMBO journal*. 2002 Apr 2;21(7):1616-27.
20. Lee S, Min K-T. The Interface Between ER and Mitochondria: Molecular Compositions and Functions. *Mol Cells*. 2018 Dec 31;41(12):1000-7.
21. de Brito OM, Scorrano L. Mitofusin 2 tethers endoplasmic reticulum to mitochondria. *Nature*. 2008 Dec 4;456(7222):605-10.
22. McLelland G-L, Goiran T, Yi W, Dorval G, Chen CX, Lauinger ND, Kranhn AI, Valimerhr S, Rakovic A, Rouiller I, Durcan TM, Trempe JF, Fon EA. Mfn2 ubiquitination by PINK1/parkin gates the p97-dependent release of ER from mitochondria to drive mitophagy. *Elife*. 2018 20;7.
23. Iwasawa R, Mahul-Mellier A-L, Datler C, Pazarentzos E, Grimm S. Fis1 and Bap31 bridge the mitochondria-ER interface to establish a platform for apoptosis induction. *EMBO J*. 2011 Feb 2;30(3):556-68.
24. Yu T, Fox RJ, Burwell LS, Yoon Y. Regulation of mitochondrial fission and apoptosis by the mitochondrial outer membrane protein hFis1. *J Cell Sci*. 2005 Sep 15;118(Pt 18):4141-51.
25. Szabadkai G, Bianchi K, Várnai P, De Stefani D, Wieckowski MR, Cavagna D, Nagy AI, Balla T, Rizzuto R. Chaperone-mediated coupling of endoplasmic reticulum and mitochondrial Ca²⁺ channels. *J Cell Biol*. 2006 Dec 18;175(6):901-11.
26. Honrath B, Metz I, Bendridi N, Rieusset J, Culmsee C, Dolga AM. Glucose-regulated protein 75 determines ER-mitochondrial coupling and sensitivity to oxidative stress in neuronal cells. *Cell Death Discov*. 2017;3:17076.
27. Gomez-Suaga P, Paillusson S, Stoica R, Noble W, Hanger DP, Miller CCJ. The ER-Mitochondria Tethering Complex VAPB-PTPIP51 Regulates Autophagy. *Curr Biol*. 2017 Feb 6;27(3):371-85.
28. Galmes R, Houcine A, van Vliet AR, Agostinis P, Jackson CL, Giordano F. ORP5/ORP8 localize to endoplasmic reticulum-mitochondria contacts and are involved in mitochondrial function. *EMBO Rep*. 2016;17(6):800-10.
29. Scott I, Youle RJ. Mitochondrial fission and fusion. *Essays in biochemistry*. 2010;47:85-98.
30. Tilokani L, Nagashima S, Paupe V, Prudent J. Mitochondrial dynamics: overview of molecular mechanisms. *Essays in biochemistry*. 2018 Jul 20;62(3):341-60.
31. Giacomello M, Pyakurel A, Glytsou C, Scorrano L. The cell biology of mitochondrial membrane dynamics. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2020;21(4):204-24.
32. Sabouny R, Shutt TE. Reciprocal Regulation of Mitochondrial Fission and Fusion. *Trends in biochemical sciences*. 2020 Jul;45(7):564-77.
33. Fu W, Liu Y, Yin H. Mitochondrial Dynamics: Biogenesis, Fission, Fusion, and Mitophagy in the Regulation of Stem Cell Behaviors. *Stem Cells Int*. 2019;2019:9757201.
34. Chen H, Detmer SA, Ewald AJ, Griffin EE, Fraser SE, Chan DC. Mitofusins Mfn1 and Mfn2 coordinately regulate mitochondrial fusion and are essential for embryonic development. *J Cell Biol*. 2003 Jan 20;160(2):189-200.
35. Griparic L, van der Wel NN, Orozco IJ, Peters PJ, van der Blik AM. Loss of the intermembrane space protein Mgm1/OPA1 induces swelling and localized constrictions along the lengths of mitochondria. *J Biol Chem*. 2004 Apr 30;279(18):18792-8.
36. Hung CH-L, Cheng SS-Y, Cheung Y-T, Wuwongse S, Zhang NQ, Ho Y-S, Lee SM, Chang RC. A reciprocal relationship between reactive oxygen species and mitochondrial dynamics in neurodegeneration. *Redox Biol*. 2018;14:7-19.
37. Song Z, Chen H, Fiket M, Alexander C, Chan DC. OPA1 processing controls mitochondrial fusion and is regulated by mRNA splicing, membrane potential, and Yme1L. *J Cell Biol*. 2007 Aug 27;178(5):749-55.
38. Rampelt H, Zerbes RM, van der Laan M, Pfanner N. Role of the mitochondrial contact site and cristae organizing system in membrane architecture and dynamics. *Biochimica et biophysica acta Molecular cell research*. 2017 Apr;1864(4):737-46.
39. Zick M, Rabl R, Reichert AS. Cristae formation-linking ultrastructure and function of mitochondria. *Biochimica et biophysica acta*. 2009 Jan;1793(1):5-19.
40. Mannella CA. Structure and dynamics of the mitochondrial inner membrane cristae. *Biochimica et biophysica acta*. 2006 Jun;1763(5-6):542-8.
41. Gieffers C, Koriath F, Heimann P, Ungermann C, Frey J. Mitofilin is a transmembrane protein of the inner mitochondrial membrane expressed as two isoforms. *Experimental cell research*. 1997 May 1;232(2):395-9.

42. Muñoz-Gómez SA, Slamovits CH, Dacks JB, Baier KA, Spencer KD, Wideman JG. Ancient homology of the mitochondrial contact site and cristae organizing system points to an endosymbiotic origin of mitochondrial cristae. *Current biology : CB*. 2015 Jun 1;25(11):1489–95.
43. Kozjak-Pavlovic V. The MICOS complex of human mitochondria. *Cell and tissue research*. 2017 Jan;367(1):83–93.
44. Cogliati S, Enriquez JA, Scorrano L. Mitochondrial Cristae: Where Beauty Meets Functionality. *Trends in biochemical sciences*. 2016 Mar;41(3):261–73.
45. Pickrell AM, Youle RJ. The roles of PINK1, parkin, and mitochondrial fidelity in Parkinson's disease. *Neuron*. 2015 Jan 21;85(2):257–73.
46. Quintana-Cabrera R, Mehrotra A, Rigoni G, Soriano ME. Who and how in the regulation of mitochondrial cristae shape and function. *Biochemical and biophysical research communications*. 2018 May 27;500(1):94–101.
47. Kanamaru Y, Sekine S, Ichijo H, Takeda K. The phosphorylation-dependent regulation of mitochondrial proteins in stress responses. *J Signal Transduct*. 2012;2012:931215.
48. Head B, Griparic L, Amiri M, Gandre-Babbe S, van der Blik AM. Inducible proteolytic inactivation of OPA1 mediated by the OMA1 protease in mammalian cells. *J Cell Biol*. 2009 Dec 28;187(7):959–66.
49. Cipolat S, Rudka T, Hartmann D, Costa V, Serneels L, Craessaerts K, Metzger K, Frezza C, Annaert W, D'Adamio L, Derks C, Dejaegere T, Pellegrini L, D'Hoese R, Scorrano L, De Strooper B. Mitochondrial rhomboid PARL regulates cytochrome c release during apoptosis via OPA1-dependent cristae remodeling. *Cell*. 2006 Jul 14;126(1):163–75.
50. Goncalves RL, Quinlan CL, Perevoshchikova IV, Hey-Mogensen M, Brand MD. Sites of superoxide and hydrogen peroxide production by muscle mitochondria assessed ex vivo under conditions mimicking rest and exercise. *The Journal of biological chemistry*. 2015 Jan 2;290(1):209–27.
51. Quinlan CL, Orr AL, Perevoshchikova IV, Treberg JR, Ackrell BA, Brand MD. Mitochondrial complex II can generate reactive oxygen species at high rates in both the forward and reverse reactions. *The Journal of biological chemistry*. 2012 Aug 3;287(32):27255–64.
52. Quinlan CL, Perevoshchikova IV, Hey-Mogensen M, Orr AL, Brand MD. Sites of reactive oxygen species generation by mitochondria oxidizing different substrates. *Redox biology*. 2013;1:304–12.
53. Mailloux RJ. Teaching the fundamentals of electron transfer reactions in mitochondria and the production and detection of reactive oxygen species. *Redox biology*. 2015;4:381–98.
54. Brand MD. Mitochondrial generation of superoxide and hydrogen peroxide as the source of mitochondrial redox signaling. *Free radical biology & medicine*. 2016 Nov;100:14–31.
55. Ramzan R, Staniek K, Kadenbach B, Vogt S. Mitochondrial respiration and membrane potential are regulated by the allosteric ATP-inhibition of cytochrome c oxidase. *Biochimica et biophysica acta*. 2010 Sep;1797(9):1672–80.
56. Nulton-Persson AC, Starke DW, Mieyal JJ, Szweda LI. Reversible inactivation of alpha-ketoglutarate dehydrogenase in response to alterations in the mitochondrial glutathione status. *Biochemistry*. 2003 Apr 15;42(14):4235–42.
57. Adjeitey CN, Mailloux RJ, Dekemp RA, Harper ME. Mitochondrial uncoupling in skeletal muscle by UCP1 augments energy expenditure and glutathione content while mitigating ROS production. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2013 Aug 1;305(3):E405–15.
58. Quinlan CL, Goncalves RL, Hey-Mogensen M, Yadava N, Bunik VI, Brand MD. The 2-oxoacid dehydrogenase complexes in mitochondria can produce superoxide/hydrogen peroxide at much higher rates than complex I. *The Journal of biological chemistry*. 2014 Mar 21;289(12):8312–25.
59. Segal AW. How neutrophils kill microbes. *Annual review of immunology*. 2005;23:197–223.
60. Klebanoff SJ, Kettle AJ, Rosen H, Winterbourn CC, Nauseef WM. Myeloperoxidase: a front-line defender against phagocytosed microorganisms. *Journal of leukocyte biology*. 2013 Feb;93(2):185–98.
61. Dröge W. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiological Reviews*. 2002 Jan 1;82(1):47–95.
62. Lambeth JD, Neish AS. Nox enzymes and new thinking on reactive oxygen: a double-edged sword revisited. *Annual review of pathology*. 2014;9:119–45.
63. Griendling KK, Minieri CA, Ollerenshaw JD, Alexander RW. Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells. *Circulation research*. 1994 Jun;74(6):1141–8.

64. Sundaresan M, Yu ZX, Ferrans VJ, Irani K, Finkel T. Requirement for generation of H₂O₂ for platelet-derived growth factor signal transduction. *Science*. 1995 Oct 13;270(5234):296–9.
65. Bae YS, Kang SW, Seo MS, Baines IC, Tekle E, Chock PB, Rhee SG. Epidermal growth factor (EGF)-induced generation of hydrogen peroxide. Role in EGF receptor-mediated tyrosine phosphorylation. *J Biol Chem*. 1997 Jan 3;272(1):217–21.
66. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ J*. 2012 Jan;5(1):9–19.
67. Zorov DB, Juhaszova M, Sollott SJ. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release. *Physiological reviews*. 2014 Jul;94(3):909–50.
68. Le Gal K, Ibrahim MX, Wiel C, Sayin VI, Akula MK, Karlsson C, Dalin MG, Akyürek LM, Lindahl P, Nilsson J, Bergo MO. Antioxidants can increase melanoma metastasis in mice. *Science translational medicine*. 2015 Oct 7;7(308):308re8.
69. Diebold L, Chandel NS. Mitochondrial ROS regulation of proliferating cells. *Free radical biology & medicine*. 2016 Nov;100:86–93.