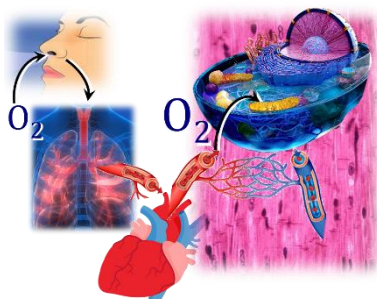


Serie didattica BEC:
Elementi di
fisiologia mitocondriale e
bioenergetica

Citare come:

Gnaiger E (2025) Funzione
respiratoria mitocondriale nelle
cellule vitali (Baglivo E, Leo E
traduttori). Bioenerg Commun
2025.5IT
<https://doi.org/10.26124/bec.2025-0005it>

Introduzione**Versione originale (EN)**

Gnaiger E (2025) Mitochondrial
respiratory function in living
cells. Bioenerg Commun 2025.5.
<https://doi.org/10.26124/bec.2025-0005>

Conflitto di interessi

EG è redattore della serie
didattica BEC *Elementi di
fisiologia mitocondriale e
bioenergetica* e non ha avuto
alcuna influenza sul processo di
revisione.

Pubblicato (EN) 2025-05-05

Pubblicato (IT) 2025-10-17

Editore Accademico

Christopher Axelrod

Revisori

Steven C Hand (EN)

Brian Irving (EN)

Funzione respiratoria mitocondriale nelle cellule vitali

 Erich Gnaiger (Eleonora Baglivo, Elettra Leo,
traduttori)

Oroboros Instruments, Innsbruck, Austria

Corrispondenza: erich.gnaiger@orooboros.at (EN)

eleonora.baglivo@orooboros.at (IT)

elettra.leo@orooboros.at (IT)

Sommario

Respirare è un atto automatico, ma ogni respiro dà inizio ad un viaggio vitale. L'ossigeno (O_2) entra attraverso naso e polmoni, viene trasportato dal flusso sanguigno e raggiunge cervello, muscoli e ogni cellula del corpo. Nel profondo di queste minuscole cellule, l'ossigeno alimenta il “fuoco della vita” nei mitocondri — strutture microscopiche paragonabili a batteri. Questo percorso dell'ossigeno collega la respirazione esterna (polmonare) con la respirazione interna (cellulare). Nei mitocondri, l'energia contenuta nei nutrienti viene trasformata in calore e in una forma di energia chimica utilizzabile per il lavoro. I mitocondri funzionano come vere e proprie macchine elettrochimiche che consumano ossigeno per produrre l'adenosina trifosfato (ATP), la principale valuta dell'energia biochimica della cellula. Misurare la respirazione cellulare aiuta a valutare la funzione bioenergetica mitocondriale, un approccio utile per comprendere e migliorare le prestazioni umane, individuare potenziali difetti e supportare i professionisti dell'ambito medico nella preservazione della capacità aerobica e della vitalità dei loro pazienti. I principali concetti della respirazione cellulare spiegati in questo articolo sono:

Parole chiave:

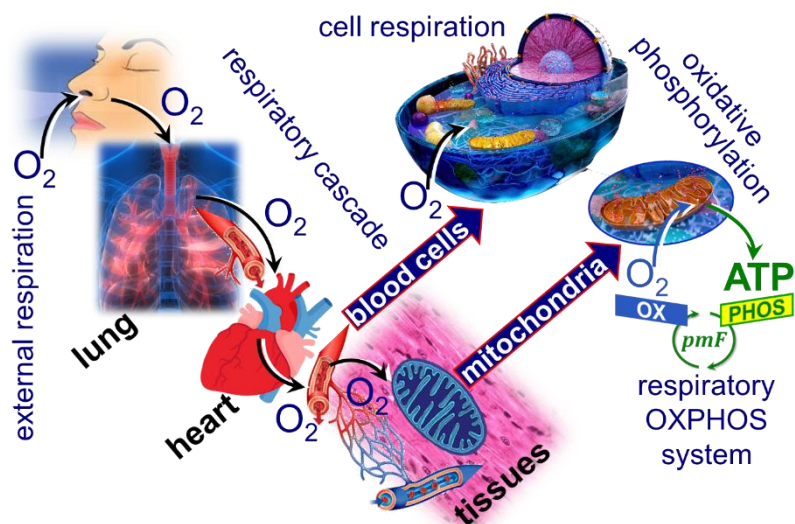
respirazione cellulare
respirazione da dissipazione
capacità ossidativa
fosforilazione ossidativa
respirazione mitocondriale
consumo residuo di ossigeno
respirazione di routine

- Respirazione cellulare di routine: controllata dalla fisiologia della cellula vitale.
- Capacità ossidativa: misurata come consumo massimo di ossigeno “disaccoppiato” e quindi non limitato dalla produzione di ATP, in contrasto con la capacità OXPHOS — la capacità di fosforilazione ossidativa.
- Respirazione da dissipazione: respirazione a riposo misurata dopo l'inibizione della produzione di ATP.
- Consumo residuo di ossigeno: piccola quota di consumo che persiste dopo la completa inibizione della capacità ossidativa mitocondriale.

La misurazione della respirazione cellulare in questi stati sperimentalmente controllati e l'analisi delle loro relazioni forniscono informazioni diagnostiche sulla “fitness” mitocondriale.

Introduzione: Sali una rampa di scale e nota come la tua frequenza respiratoria aumenta. Con ogni respiro, introduci aria nei polmoni, inspirando ossigeno (O_2) ed espiro anidride carbonica (CO_2). Ma perché la respirazione è indispensabile alla sopravvivenza? E cosa accade all' O_2 una volta entrato nel flusso sanguigno?

L'ossigeno costituisce circa il 20% dell'aria umida che respiriamo. Durante la respirazione esterna, l' O_2 gassoso entra nei polmoni, dove si dissolve nel sangue e si lega all'emoglobina nei globuli rossi. Il cuore pompa quindi il sangue ossigenato verso i tessuti, lungo la cascata respiratoria. La microcircolazione distribuisce le molecole di O_2 alle singole cellule, dove l'ossigeno diffonde se la sua concentrazione intracellulare è inferiore a quella del sangue.



Molte reazioni cellulari consumano ossigeno, ma le più importanti reazioni ossidative che convertono O_2 in acqua (H_2O) avvengono nei mitocondri. È questo processo ossidativo a mantenere bassa la concentrazione intracellulare di O_2 . La

respirazione cellulare dipende dalla respirazione esterna e dal continuo trasporto di O_2 lungo la cascata respiratoria. Se l'apporto di ossigeno si interrompe, i livelli intracellulari di O_2 si azzerano e i mitocondri cessano di funzionare. Viceversa, la sola respirazione esterna non è sufficiente a sostenere la vita se i mitocondri sono danneggiati o se il contenuto cellulare di mitocondri è ridotto.

Questo contributo alla serie didattica BEC presenta la respirazione cellulare: la sezione 1 descrive la respirazione cellulare studiata in condizioni sperimentali controllate per determinare i tassi respiratori in stati definiti. La sezione 2 illustra il concetto con un esempio pratico. L'analisi dei tassi di consumo dell'ossigeno costituisce quindi uno strumento fondamentale per comprendere le funzioni che i mitocondri svolgono nella cellula.

1. Respirazione cellulare

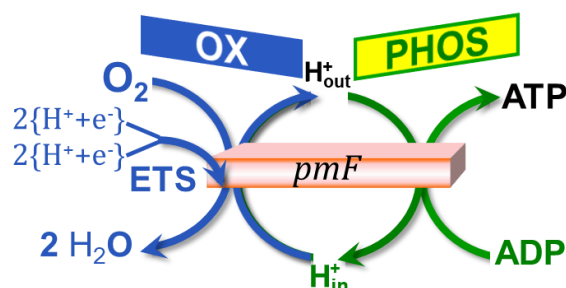
La respirazione cellulare alimenta la vita trasformando l'energia contenuta nei nutrienti, e rappresenta una colonna portante della bioenergetica. L'energia è necessaria alla cellula per produrre ATP, sia attraverso i processi aerobici (dipendenti dall'ossigeno) sia anaerobici (indipendenti dall'ossigeno). Nella respirazione cellulare aerobica, l'ossigeno è essenziale per mantenere il “fuoco della vita” durante la combustione dei substrati utilizzati come carburante. La respirazione cellulare può essere misurata come consumo di ossigeno. Al contrario, la fermentazione procede anaerobicamente senza il coinvolgimento dell'ossigeno. La fermentazione glicolitica viene studiata analizzando i prodotti finali del catabolismo, come l'etanolo nei lieviti o il lattato nella maggior parte delle cellule animali. Il catabolismo è il processo di degradazione dei nutrienti in metaboliti più piccoli che possono essere eliminati come prodotti di scarto o riutilizzati come mattoni per la biosintesi (anabolismo) e la crescita. I mitocondri costituiscono un nodo metabolico centrale che connette catabolismo e anabolismo.

L'ossigeno trasportato all'interno della cellula brucia (ossida) i carburanti (substrati energetici) derivati da carboidrati, grassi e proteine. Nel processo di ossidazione, i substrati ridotti (ovvero molecole di carbonio ricche di idrogeno, H, come il piruvato, $C_3H_4O_3$) trasferiscono ioni idrogeno (H^+) ed elettroni (e^-) all' O_2 attraverso una complessa serie di reazioni di trasferimento degli elettroni. Questo processo rimuove tutti gli atomi di idrogeno $\{H^+ + e^-\}$ dalle molecole di carbonio e culmina nella formazione di anidride carbonica (CO_2) e acqua (H_2O). Questo trasferimento di elettroni legato agli H^+ costituisce il sistema di trasferimento degli elettroni (ETS) situato nei mitocondri.

Un ruolo centrale nella respirazione mitocondriale è svolto dalla fosforilazione ossidativa (OXPHOS) — un processo biochimico guidato elettricamente che produce ATP, la principale valuta energetica della cellula. Il motore della produzione di ATP è la forza proton-motrice (pmF), un concetto ancora enigmatico persino per molti specialisti di bioenergetica [5]. In OXPHOS, il termine *fosforilazione* (PHOS) indica il

legame di un gruppo fosfato all'adenosina difosfato (ADP, con due gruppi fosfato), per produrre adenosina trifosfato (ATP, con tre gruppi fosfato). Prima di approfondire ulteriormente i processi di fosforilazione "PHOS", vengono qui illustrati alcuni dettagli sull'ossidazione (OX) e sui processi di *riduzione* ad essa associati.

I mitocondri comunicano con gli altri compartimenti cellulari attraverso due barriere costituite da membrane — la membrana mitocondriale interna e quella esterna. I substrati energetici vengono trasportati nei mitocondri per essere ossidati, agendo come donatori di $\{H^+ + e^-\}$ mentre l' O_2 funge da accettore di $\{H^+ + e^-\}$ e viene ridotto. La forza chimica dai donatori di $\{H^+ + e^-\}$ all' O_2 guida il consumo di ossigeno, il che genera la forza proton-motrice (pmF) pompando protoni (H^+) dallo spazio interno dei mitocondri (matrice) allo spazio intermembrana, attraverso la membrana mitocondriale interna. Questo processo può essere paragonato alla carica della batteria mitocondriale. Tuttavia, la pmF non è costituita solo dal potenziale elettrico ai due lati della membrana interna, ma include anche una componente diffusiva dovuta alla differenza di pH tra i due lati della membrana [5].



La pmF alimenta la sintesi di ATP spingendo i protoni nuovamente nella matrice mitocondriale attraverso l'ATP sintasi, un generatore elettrochimico molecolare situato nella membrana interna. Questo rotore molecolare può essere paragonato ad una girandola o a una turbina eolica. Così come queste macchine trasformano l'energia cinetica in energia elettrica, l'ATP sintasi converte l'energia proton-motrice della batteria mitocondriale in energia chimica sotto forma di ATP. L'ATP così prodotto sostiene le funzioni cellulari, mantiene la salute e consente crescita o morte cellulare programmata. Tuttavia, la trasformazione energetica accoppiata in OXPHOS può essere disaccoppiata tramite un cortocircuito della batteria mitocondriale: in questo caso, tutta l'energia viene dissipata e la cellula perde la possibilità di utilizzarla per compiere lavoro. I disaccoppianti farmacologici aumentano la combustione delle riserve energetiche, favorendo la perdita di massa corporea in eccesso in caso di sovralimentazione, ma possono avere anche ripercussioni negative sulla salute. La respirazione cellulare può essere studiata in diversi stati di accoppiamento, controllati sperimentalmente *in vitro*. Questi esperimenti non possono essere direttamente applicati agli organismi viventi per motivi etici.

Note sulla respirazione cellulare

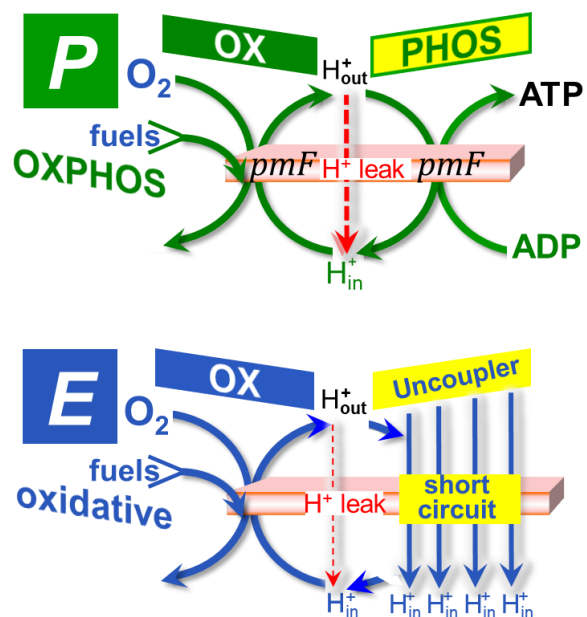
- La respirazione e la fermentazione rappresentano due modalità distinte di metabolismo energetico, rispettivamente aerobico e anaerobico.
- Nella respirazione cellulare aerobica, l'equilibrio ADP/ATP e quello redox sono mantenuti grazie all'ossigeno che agisce come accettore di H^+ ed e^- .

- I substrati energetici sono donatori di elettroni che forniscono elettroni e^- e ioni idrogeno H^+ . L'ossigeno, accettandoli, viene ridotto e si forma acqua: $2\{H^+ + e^-\} + 0,5 O_2 \rightarrow H_2O$.
- In OXPHOS, l'ossidazione (OX) genera la forza proton-motrice (pmF) pompando protoni (H^+) attraverso la membrana mitocondriale interna. La fosforilazione (PHOS) consiste invece nella produzione di ATP, guidata dal flusso secondo gradiente di protoni lungo la pmF .
- I protoni H^+ hanno un duplice ruolo nell'accoppiamento della fosforilazione ossidativa: (1) come equivalenti redox $\{H^+ + e^-\}$ nel *trasferimento* (transfer) degli elettroni durante le reazioni di ossidazione chimica [3]; (2) come mediatori di carica nel *trasporto* (transport) protonico compartimentale, contribuendo alla costruzione della forza proton-motrice [5].

1.1. Capacità ossidativa (capacità di trasferimento degli elettroni)

Ti sei mai spinto al massimo delle tue capacità aerobiche durante un allenamento? Puoi farlo su un tapis roulant o una cyclette, aumentando progressivamente il carico di lavoro — correndo più veloce o aggiungendo resistenza — fino a raggiungere il tuo limite. La potenza sviluppata viene misurata e controllata da un ergometro. Il termine *erg* deriva dalla parola greca per *lavoro*, e il lavoro per unità di tempo corrisponde alla potenza. Durante un test ergometrico di questo tipo, la respirazione esterna viene monitorata con una maschera che permette di misurare il consumo massimo di ossigeno ($V_{O_2 \max}$). Questa combinazione di esercizio fisico e misura respirometrica è chiamata spiroergometria.

Ora immagina di sottoporre le cellule vitali, a un test simile — spingendole fino ai limiti della loro massima potenza metabolica aerobica. Con l'aumentare del lavoro cellulare, l'ATP viene scisso in ADP e fosfato inorganico a un ritmo crescente. Per sostenere l'attività, l'ADP deve essere riconvertito cioè “spinto verso l'alto” verso l'ATP tramite la fosforilazione (PHOS), guidata dalla forza proton-motrice (pmF). La pmF , a sua volta, viene consumata mentre fornisce energia “verso il basso” e deve quindi essere continuamente rigenerata pompando protoni H^+ “verso l'alto”. Questo processo richiede un aumento del consumo di ossigeno e substrati energetici (OX), spingendo il sistema verso la sua capacità massima di OXPHOS (P). Purtroppo, non esiste un tale “ergometro cellulare”. Come possiamo allora spingere le cellule al limite?



La capacità ossidativa E — in contrasto con la capacità OXPHOS P — può essere valutata nelle cellule vitali eliminando il controllo della fosforilazione PHOS. Questo si può ottenere creando un cortocircuito della corrente protonica mediante disaccoppianti chimici che fanno collassare la forza proton-motrice, bypassando (disaccoppiando) la sintesi di ATP e forzando le cellule a respirare al loro massimo nelle condizioni sperimentali. La capacità ossidativa (E) si riferisce ai tassi massimi di consumo di ossigeno delle cellule quando i processi ossidativi sono disaccoppiati, quindi non sono più limitati dalla produzione di ATP. Benché passare dal termine *capacità ossidativa* a *capacità di trasferimento degli elettroni* aumenti il numero di sinonimi, esso potrebbe rendere più chiara la natura del trasferimento degli elettroni legato agli H^+ . Durante l'ossidazione, gli equivalenti riducenti $\{H^+ + e^-\}$ vengono trasferiti dai substrati energetici all'ossigeno.

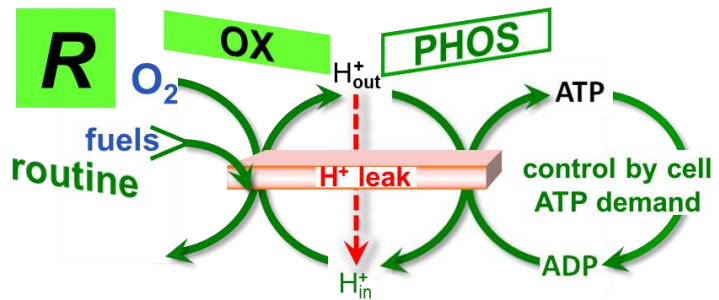
In diversi tipi di cellule, la capacità ossidativa (E) fornisce una stima attendibile della capacità di lavoro mitocondriale, ossia della capacità OXPHOS (P). Tuttavia, in molti altri casi, E tende a sovrastimare P . È importante sottolineare che difetti del sistema di fosforilazione responsabile della produzione di ATP compromettono la capacità di generare ATP. In tali condizioni P può risultare inferiore fino ad arrivare anche alla metà di E [1,2].

Note su E

- La capacità ossidativa (E) è determinata in condizioni non fisiologiche, quando la respirazione è disaccoppiata dalla produzione di ATP.
 - E viene raggiunta solo raramente, se non mai, in condizioni fisiologiche nella cellula.
 - E tende a sovrastimare la capacità OXPHOS (P) e la riserva respiratoria in diversi tipi di cellule.
 - Il termine “respirazione massima” è ambiguo. Senza ulteriori specificazioni sullo stato di accoppiamento, può riferirsi alla capacità OXPHOS, paragonabile a $V_{O_2 \max}$ misurata come massima capacità aerobica della respirazione esterna in spiroergometria, o a $V_{\max}$ nella cinetica enzimatica. La capacità ossidativa, misurata in condizioni sperimentali definite, può essere ulteriormente aumentata aggiungendo substrati esterni o rimuovendo effetti inibitori.
 - La terminologia relativa agli stati respiratori mitocondriali [7] può essere estesa anche alla fisiologia respiratoria delle cellule vitali [2].
 - Il sistema di trasferimento degli elettroni (ETS) è spesso chiamato catena di trasporto degli elettroni, ma questa denominazione oscura la distinzione fondamentale tra *trasferimento* chimico e *trasporto* compartimentale. È davvero appropriato parlare di *catena* per l'ETS? Che cosa si intende esattamente con il termine catena?
-

1.2. Respirazione di routine

La respirazione di routine (R) indica il tasso di consumo di ossigeno con cui le cellule vitali soddisfano le proprie esigenze energetiche aerobiche in condizioni fisiologiche. L'attività respiratoria di routine varia in base ai nutrienti disponibili per la conversione energetica, e allo stato di salute della cellula, ed è influenzata dalla funzionalità mitocondriale. Un aumento della richiesta di ATP stimola la respirazione di routine, a meno che non venga compensato da un incremento della produzione di ATP tramite glicolisi (anaerobica).

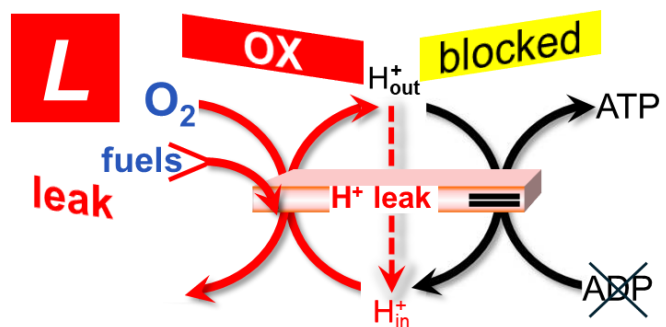


Note su R

- La respirazione di routine è un parametro bioenergetico delle cellule vitali e non può essere misurata in cellule con membrana plasmatica permeabilizzata o in mitocondri isolati.
- La respirazione di routine può variare in funzione del mezzo di respirazione utilizzato, dei substrati esterni disponibili e della composizione ionica del mezzo stesso.
- Il termine “respirazione basale” è ambiguo, poiché viene utilizzato anche per indicare la respirazione da dissipazione nei mitocondri isolati e non deve essere confuso con il tasso metabolico basale definito in fisiologia degli organismi.

1.3. Respirazione da dissipazione

La respirazione da dissipazione (L) è il consumo mitocondriale di ossigeno causato dalla “dissipazione” di protoni H^+ (H^+ leak) attraverso la membrana mitocondriale interna, quindi non utilizzabili per la sintesi di ATP. Nelle cellule vitali, la respirazione da dissipazione viene misurata dopo aver bloccato la produzione di ATP. Invece di compiere lavoro chimico, i mitocondri in questa condizione di “minimo” rilasciano energia sotto forma di calore, compromettendo così la loro efficienza [2]. Il rilascio di calore, tuttavia, è associato al consumo di ossigeno in qualsiasi stato respiratorio ed è principalmente regolato dai tassi respiratori. La respirazione da dissipazione può modulare la forza proton-motrice e ha rilevanza diagnostica in caso di disfunzione mitocondriale.

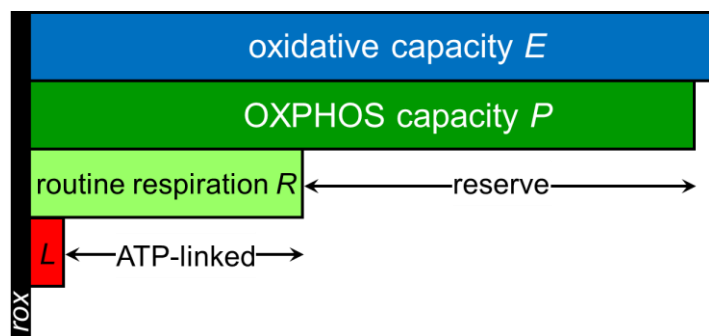


Note su *L*

- La dissipazione di protoni (“proton leak”) deve essere distinta dalla respirazione da dissipazione, poiché il consumo di O_2 relativo alla dissipazione compensa il flusso protonico ma non è equivalente allo stesso [7].
- Il termine “respirazione a riposo” è ambiguo, poiché negli organismi, la respirazione a riposo sostiene la domanda di ATP delle funzioni corporee e delle attività a bassa intensità, andando oltre la respirazione basale.
- Se la respirazione da dissipazione viene considerata “basale” nelle preparazioni mitocondriali, allora, per coerenza, la respirazione da dissipazione, e non quella di routine, sarebbe da definire “basale” anche nelle cellule vitali.
- Il termine Stato 4o o Stato 4Omy deriva dal classico Stato 4 dei mitocondri isolati. Stato 4 (uno stato di dissipazione) e Stato 2 sono spesso confusi [7]. Non preoccuparti di questi termini se non ti trovi a dovere consultare riviste scientifiche classiche.

1.4. Consumo residuo di ossigeno

Il consumo residuo di ossigeno (*rox*) è il consumo cellulare o mitocondriale di ossigeno che rimane dopo l’inibizione degli enzimi respiratori e di conseguenza l’eliminazione della capacità ossidativa mitocondriale. La respirazione



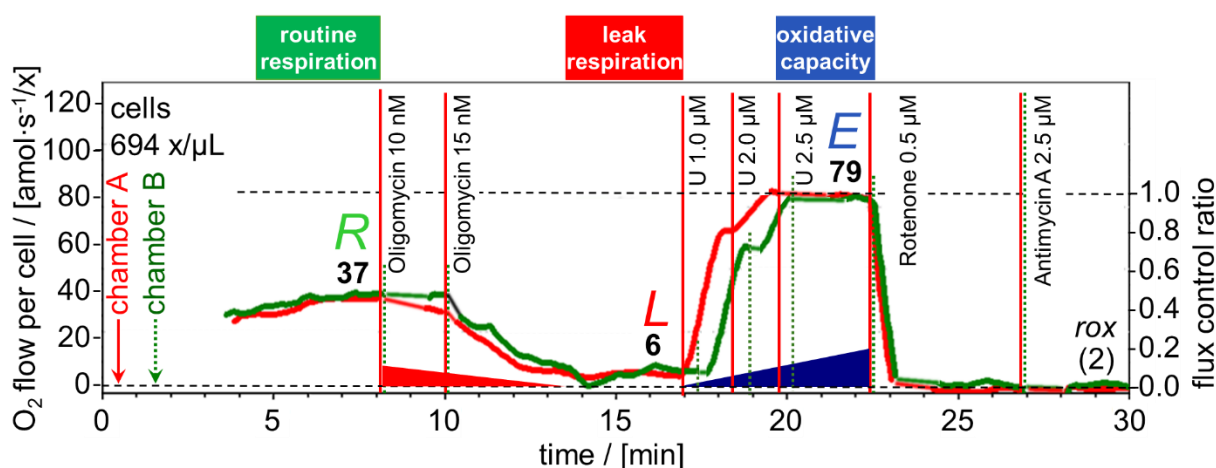
mitocondriale viene corretta sottraendo il *rox* dal consumo totale di ossigeno. In questo senso, la respirazione mitocondriale si distingue chiaramente dalla respirazione cellulare. La correzione per il *rox* ha un effetto relativo maggiore sulla respirazione da dissipazione e diventa meno rilevante per la respirazione di routine e per la capacità ossidativa. Sebbene il *rox* sia chiaramente distinto dalla produzione di specie reattive dell’ossigeno (ROS), esso può essere associato alla produzione di ROS, anche se fornire un’interpretazione funzionale del *rox* è difficile.

Note su *rox*

- La respirazione mitocondriale, nelle analisi bioenergetiche, viene corretta sottraendo il *rox*.
- Un’interpretazione semplice dell’entità del *rox* non è generalmente possibile.
- Il termine “respirazione non mitocondriale” per indicare il *rox* è impreciso, poiché anche il consumo di ossigeno dei mitocondri isolati può includere una componente residua di *rox*.

2. Misura della respirazione cellulare

La funzione mitocondriale dovrebbe essere studiata in mitocondri isolati, oppure è preferibile analizzarla in cellule vitali? Per isolare i mitocondri, i ricercatori rompono la membrana plasmatica delle cellule, separando i mitocondri intatti dagli altri componenti cellulari strutturali e solubili. Tuttavia, se questi mitocondri isolati riflettano accuratamente la loro funzione negli organismi viventi è oggetto di dibattito, suscitando un crescente interesse nello studio della fisiologia e della bioenergetica mitocondriale nelle cellule vitali [9;10]. D'altro canto, gli studi sui mitocondri isolati forniscono informazioni bioenergetiche che non sono facilmente ottenibili nelle cellule vitali. La respirazione cellulare viene misurata tipicamente in piccole camere sperimentali utilizzando migliaia di cellule del sangue ottenute da biopsie liquide o da colture cellulari, come i fibroblasti. Per garantire confronti accurati, i tassi respiratori vengono normalizzati in base al numero di cellule o ai marcatori mitocondriali.



La figura (modificata da Zdrzilova et al., 2022 [12]) mostra la respirazione di fibroblasti umani misurata simultaneamente in due camere da 0,5 mL dell'Oroboros O2k. La misurazione è stata completata in circa 30 minuti (asse temporale orizzontale). Dopo l'aggiunta della sospensione cellulare (694 x/μL ovvero 0,35 milioni di cellule per camera), occorrono alcuni minuti perché la respirazione si stabilizzi. Una respirazione di routine (*R*) costante si osserva a 7–8 minuti dall'inizio dell'esperimento. L'aggiunta in due step di oligomicina inibisce la produzione di ATP e riduce così il consumo di ossigeno al livello della respirazione da dissipazione (*L*). Titolazioni sequenziali di disaccoppiante (*U*) stimolano progressivamente la respirazione fino a raggiungere la capacità ossidativa (*E*). Titolazioni in rapida successione degli inibitori respiratori, rotenone e antimicina A, bloccano la capacità ossidativa; rimane il consumo residuo di ossigeno (*rox*). I valori sull'asse verticale sinistro sono espressi in attomoli (10^{-18} moli) di O_2 consumati al secondo per singola cellula. Il livello di *rox* (2 amol·s $^{-1}$ /x) è considerato zero. Le medie di *R*, *L* ed *E* (corrette per *rox*) di tutte le misurazioni sono riportate in valori numerici (dalla Tabella 4 in [12]). Un valore di *R* di 37 amol·s $^{-1}$ /x (37· 10^{-18} mol·s $^{-1}$ /x) può sembrare piccolo, ma indica che una cellula consuma circa 22 milioni di molecole di O_2 ogni secondo. La respirazione per cellula dipende dalle

dimensioni cellulari e dalla densità mitocondriale. Per rimuovere l'effetto de contenuto di mitocondri nella valutazione della respirazione mitocondriale, la respirazione cellulare viene espressa in relazione a E e indicata come rapporto di controllo del flusso (*flux control ratio*, asse verticale destro).

I globuli rossi umani — di colore rosso grazie all'emoglobina che lega l'ossigeno — non contengono mitocondri, ma ricavano l'ATP esclusivamente dalla glicolisi. Per studi di respirometria cellulare, invece, si utilizzano i globuli bianchi, che vengono isolati da campioni di sangue. Queste cellule mononucleate del sangue periferico (PBMCs) svolgono funzioni immunologiche fondamentali. Le PBMCs costituiscono una popolazione cellulare eterogenea composta principalmente da linfociti, tipicamente il 70–90% nelle PBMCs umane mentre sono presenti in quantità inferiore monociti e cellule dendritiche. Durante l'isolamento è importante evitare la contaminazione con piastrine della frazione corrispondente alle PBMCs. Le piastrine (o trombociti), pur essendo prive di nucleo, contengono mitocondri e possono essere anch'esse utilizzate per gli studi di respirometria cellulare. Mentre le cellule del sangue sono naturalmente sospese nel flusso sanguigno, molte altre tipologie cellulari vengono coltivate in monostrato adesivo e poi staccate per le misurazioni in sospensione. Un esempio rilevante è rappresentato dalle linee di fibroblasti, spesso impiegate negli studi sulle malattie mitocondriali [12]. Alcune linee cellulari, tuttavia, possono essere coltivate direttamente in sospensione.

Note

- Le tecniche manometriche utilizzate in passato per misurare la respirazione mitocondriale e cellulare sono state sostituite da metodi elettrochimici circa 70 anni fa [13].
- La respirometria ad alta risoluzione (HRR; Oroboros, Innsbruck, Austria) su mitocondri isolati e cellule vitali è stata introdotta circa 30 anni fa [6].
- Nel 2004, utilizzando la HRR, il protocollo di controllo dell'accoppiamento è stato applicato per la prima volta a fibroblasti umani, consentendo di distinguere quattro stati respiratori [8].
- Lo stesso protocollo di controllo dell'accoppiamento nelle piattaforme multi-pozzetto è noto come “mitochondrial stress test”, ed è limitato a soli quattro step di titolazione [11].
- La capacità OXPHOS può essere misurata solo in preparazioni mitocondriali [2].
- Differenze nei tassi respiratori, rapporti ed efficienze di controllo respiratorio forniscono basi solide per interpretazioni bioenergetiche [2;4;8;12]. Al contrario, un singolo “punteggio di salute mitocondriale” non è in grado di riflettere la complessità delle funzioni e disfunzioni mitocondriali e non può fornire informazioni diagnostiche sufficienti [4].

Termini e simboli

ADP	adenosine diphosphate (di = 2) - adenosina difosfato
ATP	adenosine triphosphate (tri = 3) - adenosina trifosfato
CO ₂	carbon dioxide - anidride carbonica
e ⁻	electron - elettrone , carica negativa
<i>E</i>	oxidative capacity - capacità ossidativa , capacità di trasferimento degli elettroni (Sezione 1.1)
ETS	electron transfer system - sistema di trasferimento degli elettroni
H ⁺	hydrogen ion - ione idrogeno , carica positiva
H ₂ O	water - acqua
<i>L</i>	leak rate of respiration - tasso di respirazione da dissipazione (Sezione 1.3)
O ₂	molecular oxygen - ossigeno molecolare , in forma gassosa nell'aria o disciolto in un liquido
OX	oxidation - ossidazione , trasferimento elettronico , trasferimento elettronico legato agli H⁺ (Sezione 1.1)
OXPHOS	oxidative phosphorylation - fosforilazione ossidativa
<i>P</i>	OXPHOS capacity - capacità OXPHOS (Sezione 1.1)
PHOS	phosphorylation of ADP to ATP - fosforilazione dell'ADP in ATP , aggiungendo un gruppo fosfato all'ADP (difosfato) per formare ATP (trifosfato)
<i>pmF</i>	protonmotive force - forza proton-motrice , accoppiamento tra ossidazione e fosforilazione in OXPHOS
<i>R</i>	routine respiration - respirazione di routine (Sezione 1.2)
<i>rox</i>	residual oxygen consumption - consumo residuo di ossigeno (Sezione 1.4)

Ringraziamenti

Si ringraziano per i suggerimenti volti a migliorare la comunicazione e limitare il linguaggio tecnico: Karin De-Punder, i revisori Brian A. Irving e Steven C. Hand, il team Oroboros (Alba Timon-Gomez, Jaime Willis, Luiza Cardoso, Verena Laner, Lisa Tindle-Solomon, Carolina Gnaiger, Juliane Dreger, Feiyuan Zhang) e i collaboratori del progetto VASCage (Alejandra Romero-Martinez, Denise Madonia Membrive e Rebecka Hardorp).

Lettere consigliate

1. Cardoso LHD, Gnaiger E (2024) OXPHOS coupling and uncoupling. <https://doi.org/10.26124/bec.2024-0005>
2. Gnaiger E (2020) Mitochondrial pathways and respiratory control. An introduction to OXPHOS analysis. 5th ed. <https://doi.org/10.26124/bec:2020-0002>
3. Gnaiger E (2024) Complex II ambiguities — FADH₂ in the electron transfer system. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2023.105470>
4. Gnaiger E (2025) Mitochondrial respiratory control efficiencies of living cells. BEC Educ Series (in prep).
5. Gnaiger E (2025) The protonmotive force – from motive protons to membrane potential. <https://doi.org/10.26124/becprep.2025-0003>
6. Gnaiger E, Steinlechner-Maran R, Méndez G, Eberl T, Margreiter R (1995) Control of mitochondrial and cellular respiration by oxygen. <https://doi.org/10.1007/BF02111656>

7. Gnaiger E et al — MitoEAGLE Task Group (2020) Mitochondrial physiology. <https://doi.org/10.26124/bec:2020-0001.v1>
8. Hütter E, Renner K, Pfister G, Stöckl P, Jansen-Dürr P, Gnaiger E (2004) Senescence-associated changes in respiration and oxidative phosphorylation in primary human fibroblasts. <https://doi.org/10.1042/BJ20040095>
9. Villani G, Attardi G (1997) In vivo control of respiration by cytochrome c oxidase in wild-type and mitochondrial DNA mutation-carrying human cells. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.4.1166>
10. Villani G, Greco M, Papa S, Attardi G (1998) Low reserve of cytochrome c oxidase capacity *in vivo* in the respiratory chain of a variety of human cell types. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.48.31829>
11. Yépez VA, Kremer LS, Iuso A, Gusic M, Kopajtich R, Koňářková E, Nadel A, Wachutka L, Prokisch H, Gagneur J (2018) OCR-Stats: Robust estimation and statistical testing of mitochondrial respiration activities using Seahorse XF Analyzer. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199938>
12. Zdravilova L, Hansikova H, Gnaiger E (2022) Comparable respiratory activity in attached and suspended human fibroblasts. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0264496>
13. Chance B, Williams GR (1955) Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. I. Kinetics of oxygen utilization. J Biol Chem 217:383-93.

Copyright © 2025 Gli autori. Questa comunicazione peer-reviewed Open Access è distribuita secondo i termini della licenza Creative Commons Attribution, che consente uso, distribuzione e riproduzione illimitati in qualsiasi mezzo, a condizione che vengano citati gli autori e la fonte originali. © rimane agli autori, che hanno concesso a BEC una licenza di pubblicazione Open Access in perpetuo.

