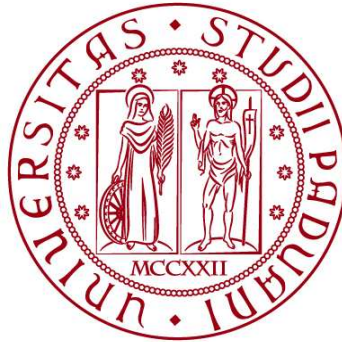


UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA

Corso di Laurea in Biologia



ELABORATO DI LAUREA

**METABOLISMO CEREBRALE E NUTRIZIONE: I CORPI CHETONICI
COME POTENZIALI MODULATORI DEL CONTROLLO-QUALITÀ
MITOCONDRIALE**

**Tutor: Elena Ziviani
Dipartimento di Biologia**

Laureanda: Aurora Vian

ANNO ACCADEMICO 2025/2026

INDICE

Introduzione.....	1
1. Mitocondrio e vulnerabilità neuronale nelle malattie neurodegenerative	2
1.1 Il metabolismo energetico del neurone	2
1.2 Stress ossidativo e omeostasi cellulare	5
1.3 La necessità di meccanismi di controllo-qualità: autofagia e mitofagia.....	7
2. Modulabilità del controllo-qualità mitocondriale: nodi regolatori e vie compensatorie	8
2.1 La via canonica PINK1/Parkin	8
2.2 USP14 come regolatore del turnover mitocondriale.....	10
2.3 Potenziamento della mitofagia in modelli umani (iNeurons) e il ruolo di MARCH5.....	13
2.4 Meccanismi di controllo-qualità mitocondriale autofagia-indipendenti.....	15
3. I corpi chetonici: modulazione metabolica e potenzialità neuroprotettive.....	16
3.1 Biochimica e trasporto neuronale dei corpi chetonici	16
3.2 Modulazione del metabolismo redox e dell'omeostasi mitocondriale	18
3.3 Evidenze sperimentali: il caso del glaucoma	20
Conclusioni.....	25
Bibliografia.....	27

Introduzione

Dal momento della sua scoperta, avvenuta nel XIX secolo nelle cellule muscolari, il mitocondrio è diventato un importante oggetto di studio in ambito biomedico, vista la sua fondamentale rilevanza dal punto di vista energetico all'interno della cellula. Gran parte dell'energia metabolica, infatti, viene prodotta a livello della membrana mitocondriale interna attraverso il processo di fosforilazione ossidativa.

In particolar modo, la ricerca scientifica si è focalizzata, negli ultimi decenni, sullo studio dei meccanismi molecolari che sottendono il mantenimento dell'omeostasi mitocondriale o che, al contrario, sono alla base della sua disregolazione in condizioni patologiche.

Nello specifico, l'accumulo di danno mitocondriale esercita un ruolo diretto, sia in termini di insorgenza sia di progressione, nell'ambito delle malattie neurodegenerative, condizioni croniche caratterizzate dalla perdita progressiva delle cellule nervose.

In questo contesto, comprendere come si realizza il mantenimento dell'omeostasi mitocondriale attraverso specifici meccanismi di controllo-qualità risulta funzionale allo sviluppo di strategie terapeutiche finalizzate a migliorare la qualità di vita dei pazienti e a rallentare la progressione della malattia.

Il presente elaborato si propone, quindi, di esaminare i principali meccanismi di controllo-qualità messi in atto dalla cellula, con particolare riferimento alla mitofagia e ai suoi nodi regolatori, sottolineando come, in alcune condizioni, tali processi siano profondamente alterati.

Verrà inoltre esplorato il ruolo dei corpi chetonici come potenziali modulatori del controllo-qualità mitocondriale, attraverso l'analisi critica di evidenze sperimentali ottenute in modelli animali di glaucoma.

Oltre ai potenziali effetti protettivi, verranno infine discussi i limiti e le possibili controversie legate all'utilizzo della dieta chetogenica nel contesto della neurodegenerazione.

1. Mitocondrio e vulnerabilità neuronale nelle malattie neurodegenerative

1.1 Il metabolismo energetico del neurone

Il neurone è una cellula altamente specializzata, caratterizzata da un'elevata richiesta energetica – legata in gran parte ai meccanismi di trasporto transmembrana, al traffico vescicolare, alla trasmissione sinaptica e alla conduzione del segnale elettrico lungo l'assone (Jensen et al., 2020).

Circa il 50% dell'energia metabolica neuronale è impiegato nel ripristino dei gradienti ionici attraverso la membrana plasmatica, un processo mediato principalmente dalla pompa Na^+/K^+ -ATPasi (Attwell & Laughlin, 2001), la cui attività è indispensabile per generare e mantenere i gradienti elettrochimici alla base del potenziale di membrana e della propagazione dei potenziali d'azione (Dienel et al., 2019).

I neuroni non possono immagazzinare elevate quantità di glicogeno e dipendono principalmente dal glucosio proveniente dalla circolazione sanguigna come substrato energetico in condizioni fisiologiche (Dienel et al., 2019).

Il glucosio, in quanto molecola polare, non attraversa spontaneamente le membrane biologiche: il suo trasporto, che avviene per diffusione facilitata, è mediato dai trasportatori GLUT1 e GLUT3, espressi rispettivamente nelle cellule endoteliali della barriera ematoencefalica e nei neuroni (Mergenthaler et al., 2013).

In condizioni di intensa attività sinaptica, inoltre, la richiesta energetica aumenta e il lattato può costituire una fonte energetica alternativa e rapidamente disponibile. È stato proposto che gli astrociti – quando stimolati dal rilascio sinaptico di glutammato (Pellerin & Magistretti, 1994) o dall'estrusione di ioni K^+ (Fernández-Moncada et al., 2018) durante l'attività elettrica neuronale – esibiscano, in questo senso, un ruolo di supporto energetico ai neuroni. Metabolizzano il glucosio a lattato, il quale viene poi trasferito ai neuroni secondo il modello astrocyte-neurons lactate shuttle (ANLS) (Pellerin & Magistretti, 1994), per poi essere convertito a piruvato e ossidato nei mitocondri.

Tuttavia, questo modello è ancora oggetto di dibattito: secondo altre evidenze, i neuroni stimolati, da soli sarebbero in grado di aumentare autonomamente la propria glicolisi per far fronte all'immediato fabbisogno energetico; producono lattato, che viene quindi metabolizzato dagli stessi o dai neuroni non stimolati vicini (Dienel et al., 2019).

A differenza di altri tipi cellulari, come le cellule muscolari o gli epatociti del fegato, nei neuroni la glicolisi contribuisce solo in parte alla produzione di energia metabolica nel citosol, generando due molecole di ATP per ogni molecola di glucosio ossidata a piruvato.

L'aumentata richiesta energetica legata ai processi di trasmissione sinaptica e al mantenimento dell'omeostasi ionica rende la glicolisi insufficiente a sostenere

l'intero metabolismo neuronale. Nel cervello, infatti, viene consumato circa il 20% dell'energia metabolica totale, sebbene esso rappresenti solo il 2% della massa corporea (Rolfe & Brown, 1997).

Nei neuroni maturi, la produzione della maggior parte dell'energia metabolica dipende strettamente dal processo di fosforilazione ossidativa (OXPHOS) (Dienel et al., 2019), che avviene a livello della membrana mitocondriale interna. I mitocondri, caratterizzati da una doppia membrana con organizzazione strutturale e funzionale distinta, ospitano infatti i complessi della catena di trasporto degli elettroni e l'ATP sintasi, costituendo il principale sito di sintesi dell'ATP cellulare (Nelson & Cox, 2021).

La loro distribuzione all'interno del neurone non è uniforme, ma dinamicamente regolata dall'attività elettrica e sinaptica: essi si concentrano nei compartimenti a maggiore richiesta energetica, quali i terminali presinaptici, i dendriti attivi e i segmenti iniziali dell'assone (Sheng et al., 2012).

Il trasporto dei mitocondri è finemente regolato per garantire il loro corretto posizionamento.

Dal soma, dove vengono sintetizzati, vengono trasportati all'assone distale per mezzo delle proteine motrici ATP-dipendenti dineina (trasporto retrogrado) e kinesina (trasporto anterogrado), lungo i microtubuli del citoscheletro.

L'alterazione di questo trasporto o la perdita dell'integrità mitocondriale compromette largamente l'attività del neurone a livello delle sinapsi: se non viene prodotta sufficiente energia, i meccanismi di propagazione del segnale elettrico e di sintesi, rilascio e riciclo dei neurotrasmettitori risultano profondamente limitati (Sheng et al., 2012).

Ne consegue un deficit nella comunicazione inter-neuronale elettrica e chimica. La produzione di ATP, in questo senso, gioca un ruolo cruciale nella ri-captazione dei neurotrasmettitori a livello dell'elemento presinaptico: la loro permanenza nello spazio intersinaptico, infatti, può provocare "*excitotoxicity*" e la morte del neurone postsinaptico – fenomeni che contribuiscono all'insorgenza di alcune malattie neurodegenerative (Dong et al., 2009).

Una volta trasportato nella matrice mitocondriale, il piruvato – come prodotto della glicolisi – viene convertito ad acetil-CoA dall'enzima piruvato deidrogenasi. L'acetil-CoA entra dunque nel ciclo di Krebs.

I cofattori riducenti (NADH, FADH₂), prodotti dal ciclo di Krebs, entrano nella catena di trasporto degli elettroni, localizzata nella membrana mitocondriale interna e costituita da quattro complessi multiproteici (I-IV). Il complesso V è deputato alla sintesi di ATP ed è costituito da due componenti: F₀ e F₁.

NADH e FADH₂ alimentano il flusso elettronico, ripristinando le forme ossidate (rispettivamente NAD⁺ e FAD). La rigenerazione delle forme ossidate è essenziale per garantire lo svolgersi delle reazioni a monte, inclusa la glicolisi (Nelson & Cox, 2021).

L'accettore finale degli elettroni, nella catena di trasporto mitocondriale, è l' O_2 – che si riduce a H_2O . In parallelo, avviene il rilascio di H^+ nello spazio intermembrana, che genera un gradiente protonico (forza proton-motrice) sfruttato dal complesso V (ATP sintasi) per la sintesi di quantità considerevoli di ATP, attraverso il processo di catalisi rotazionale (Nelson & Cox, 2021).

Durante il processo di fosforilazione ossidativa, sebbene esso sia altamente efficiente, una quota di elettroni può sfuggire al trasferimento ordinato lungo la catena respiratoria e reagire con l'ossigeno molecolare, generando anione superossido (O_2^-), perossido di idrogeno (H_2O_2) e altre specie reattive dell'ossigeno (ROS) (Murphy M.P., 2009).

In condizioni fisiologiche, i ROS prodotti lungo la catena di trasporto degli elettroni mitocondriale – in particolare a livello dei complessi I e III – vengono efficacemente neutralizzati da sistemi antiossidanti cellulari, contribuendo al mantenimento dell'omeostasi redox (Xu et al., 2025).

In questo contesto, il superossido viene convertito in perossido di idrogeno (H_2O_2) dalla superossido dismutasi (SOD), mentre l' H_2O_2 viene successivamente ridotto ad acqua dalla glutazione perossidasi. Parallelamente, il glutathione ridotto (GSH) viene ossidato a glutathione disolfuro (GSSG) e rigenerato grazie all'attività della glutathione reduttasi, che utilizza NADPH come cofattore.

Anche l'enzima catalasi contribuisce alla detossificazione del perossido di idrogeno, limitando l'accumulo di specie reattive e proteggendo la cellula dal danno ossidativo.

Vista l'elevata dipendenza del neurone dalla fosforilazione ossidativa come principale processo di produzione energetica e l'insostituibilità della funzione mitocondriale, la produzione di ROS lungo la catena di trasporto rappresenta una conseguenza intrinseca, inevitabile, del metabolismo ossidativo – fisiologicamente controilanciata dai sistemi antiossidanti cellulari (Xu et al., 2025).

In condizioni patologiche, l'eccessiva attività ossidativa mitocondriale porta all'accumulo di ROS che non vengono correttamente smaltiti. Elevati livelli di stress ossidativo e concentrazioni di ROS comportano gravi danni alle componenti cellulari (DNA, RNA, proteine e lipidi di membrana), che concorrono alla neurodegenerazione.

Evidenze crescenti suggeriscono, infatti, che alterazioni della funzione mitocondriale, del metabolismo energetico e della stabilità del DNA mitocondriale accompagnino il processo di invecchiamento, mentre stress ossidativo e infiammazione – strettamente connessi alla disfunzione mitocondriale – costituiscano fattori predisponenti allo sviluppo di patologie neurodegenerative (Xu et al., 2025).

1.2 Stress ossidativo e omeostasi cellulare

In condizioni fisiologiche, la produzione di ROS lungo la catena respiratoria mitocondriale viene correttamente riequilibrata dai sistemi di compensazione antiossidanti messi in atto dalla cellula per garantire il mantenimento dell'omeostasi redox.

Tuttavia, questo equilibrio viene meno in condizioni patologiche, in cui un'alterata regolazione mitocondriale e un'eccessiva richiesta metabolica sono alla base dell'accumulo di ROS, non adeguatamente neutralizzati, favorendo l'instaurarsi di una condizione di stress ossidativo (Xu et al., 2025).

Si è osservato, infatti, che, in condizioni di ipossia, infiammazione, iperlipidemia o iperglicemia aumenta significativamente la produzione di ROS nei mitocondri. In parallelo, le capacità antiossidanti diminuiscono o non sono sufficienti alla loro eliminazione, contribuendo alla progressione di numerose patologie neurodegenerative (Xu et al., 2025).

Uno dei target principalmente colpiti dallo stress ossidativo è il DNA mitocondriale (mtDNA), contenuto nella matrice mitocondriale.

Esso, infatti, essendo localizzato in prossimità della catena respiratoria e privo della protezione istonica tipica del DNA nucleare, risulta particolarmente suscettibile all'azione ossidante delle specie radicaliche e all'accumulo di mutazioni (Xu et al., 2025).

Nello specifico, la base maggiormente interessata dall'ossidazione è la guanina: si verificano spesso mutazioni a livello della 8-ossoguanina (8-oxoG), dal momento che possiede il più basso potenziale redox tra le quattro basi azotate.

L'interazione con le specie radicaliche conduce spesso a mutazioni $G \rightarrow T$ durante la replicazione del DNA; specifiche DNA glicosilasi sono in grado di riconoscere l'8-oxoG e riparare il danno ma, in condizioni patologiche, non sono sufficienti per contrastare l'accumulo di mutazioni che si verifica man mano che la malattia progredisce (Xu et al., 2025).

Ulteriori evidenze suggeriscono che l'accumulo di ROS interferisca con i meccanismi di replicazione e riparazione dell'mtDNA.

In particolare, la DNA-polimerasi γ (POLG) rappresenta un enzima chiave nel processo di duplicazione dell'mtDNA negli eucarioti e possiede attività esonucleasica: la sua attività di *proof-reading* è essenziale per garantire il mantenimento dell'integrità del genoma mitocondriale, intervenendo qualora vengano generate mutazioni durante la replicazione (Copeland & Longley, 2003).

L'azione ossidante dei ROS riduce l'attività catalitica dell'enzima, fino a circa il 50% in presenza di H_2O_2 (Graziewicz et al., 2002): l'enzima si lega con meno efficienza al DNA, aumentando la probabilità di accumulo di mutazioni e di riduzione del numero di copie di mtDNA (Xu et al., 2025).

Preservare l'integrità del genoma mitocondriale è fondamentale affinché vengano sintetizzate correttamente alcune delle subunità proteiche che costituiscono i complessi della catena respiratoria mitocondriale.

Qualora si verifichi un danno all'mtDNA – legato a un'aumentata condizione di stress ossidativo – l'espressione delle componenti proteiche mitocondriali risulta significativamente alterata: mutazioni non correttamente riparate a carico delle regioni codificanti dell'mtDNA possono comportare variazioni nelle sequenze amminoacidiche di queste proteine, compromettendo la funzionalità del mitocondrio e alimentando ulteriormente la produzione di ROS (Xu et al., 2025).

Ne consegue l'instaurarsi di un circolo auto-rigenerativo tra stress ossidativo, produzione di ROS e accumulo di mitocondri danneggiati, che amplifica la disfunzione regolativa mitocondriale e promuove il proseguirsi della patologia.

La distribuzione del genoma mitocondriale e la qualità dei mitocondri dipendono dalle dinamiche di fissione e di fusione.

Al processo di fissione, partecipa specificamente la proteina dynamin-related protein 1 (Drp1), una proteina citosolica che trasloca ai mitocondri, dove interagisce con altri fattori – a loro volta coinvolti nel reclutamento e nell'accumulo di Drp1. Drp1 promuove la divisione del mitocondrio formando una sorta di “cappio” che separa l'organello in due separati (Ingelman et al., 2005).

Il processo di fusione è, invece, legato all'attività delle proteine optic atrophy 1 (OPA1), associata alla membrana mitocondriale interna (Gao & Hu, 2021) e mitofusin 1 (Mfn1) e mitofusin 2 (Mfn2), che promuovono la fusione delle membrane mitocondriali esterne (Daumke & Roux, 2017).

È essenziale che i due eventi siano finemente regolati per garantire l'omeostasi mitocondriale (Xu et al., 2025).

L'equilibrio tra le dinamiche di fissione e fusione, negativamente influenzato dallo stress ossidativo, viene spostato a favore del processo di fissione.

L'incremento di ROS inibisce la sintesi delle proteine di fusione Mfn1 e Mfn2, promuovendo l'attività di Drp1 e la frammentazione mitocondriale.

L'accumulo di mitocondri piccoli e frammentati è associato ad un'aumentata disfunzione mitocondriale, contribuendo ad aumentare la produzione di ROS e lo stress ossidativo e alimentando il circuito auto-amplificante che si riscontra nelle malattie neurodegenerative e nei tumori (Xu et al., 2025).

D'altra parte, anche un'aumentata fusione mitocondriale, associata a un incremento dell'espressione di OPA1 e Mfn1, può indurre la proliferazione delle cellule tumorali nei tessuti (Xu et al., 2025).

Sia l'alterazione nell'equilibrio di fusione e fissione sia la dissipazione del potenziale di membrana, associata al danno ossidativo delle componenti proteiche lun-

go la catena di trasporto mitocondriale, inducono l'attivazione di meccanismi selettivi di controllo-qualità mitocondriale che partecipano all'eliminazione dei mitocondri danneggiati e contribuiscono all'omeostasi cellulare (Xu et al., 2025).

1.3 La necessità di meccanismi di controllo-qualità: autofagia e mitofagia

L'integrità mitocondriale viene preservata attraverso un "sistema integrato di controllo-qualità che coinvolge biogenesi, proteostasi e dinamiche di fusione e fissione mitocondriali" (Wang et al., 2026).

Tuttavia, quando il danno mitocondriale non viene adeguatamente riparato, entrano in gioco meccanismi di degradazione che limitano l'accumulo di componenti danneggiate (proteine e organelli) (Valencia et al., 2021).

In questo contesto, l'autofagia esercita un ruolo fondamentale nel garantire la sopravvivenza cellulare. Sebbene l'autofagia sia un processo attivo in tutte le cellule dell'organismo, nei neuroni assume un ruolo ancora più importante – vista la centralità occupata dai mitocondri nella produzione di energia metabolica attraverso la fosforilazione ossidativa, da cui dipende il funzionamento dei neuroni stessi e l'incapacità dei neuroni di diluire il danno tramite divisione cellulare, essendo cellule post-mitotiche (Valencia et al., 2021).

Con il termine "autofagia", ci si riferisce, in generale, all'"insieme di processi atti a degradare e riciclare tutte le componenti cellulari disfunzionali: è coinvolta, principalmente, nell'eliminazione di aggregati proteici insolubili, patogeni, organelli superflui o non funzionali" (Wang et al., 2026).

La macroautofagia, nello specifico, consiste nella formazione di vescicole a doppia membrana – gli autofagosomi – che inglobano le componenti citoplasmatiche da neutralizzare e si fondono con i lisosomi, responsabili della loro degradazione (Wang et al., 2026).

Nell'ambito della macroautofagia, la mitofagia è una forma selettiva ed evolutivamente conservata che si occupa specificatamente dell'eliminazione, mediata dalla degradazione lisosomiale, dei mitocondri disfunzionali (Wang et al., 2026) – caratterizzati dall'alterazione strutturale e/o funzionale delle componenti proteiche della catena respiratoria, dalla dissipazione del potenziale di membrana e dalla massiccia produzione di ROS (Xu et al., 2025).

Il riconoscimento dei mitocondri da rimuovere è associato a meccanismi molecolari Ubiquitina-dipendenti o mediati da recettori.

Una delle principali vie mitofagiche Ubiquitina-dipendenti è mediata dalle proteine PTEN-induced kinase 1 (PINK1), una proteina chinasi, e Parkin (PRKN), una E3 ubiquitina ligasi. PINK1 regola il reclutamento di Parkin ai mitocondri danneggiati e Parkin ubiquitina le proteine mitocondriali. Questa pathway è sti-

molata principalmente dalla perdita del potenziale di membrana mitocondriale (Xu et al., 2025).

In questo senso, l'ubiquitinazione delle proteine mitocondriali, indotta da Parkin, costituisce un segnale per il reclutamento del macchinario autofagico (Wang et al., 2026).

Nelle vie alternative e indipendenti da Parkin, sono coinvolti recettori espressi sulla membrana mitocondriale (collettivamente definiti “recettori mitofagici”) che interagiscono direttamente con gli autofagosomi attraverso i domini LC3-interacting regions (LIR), dando avvio al processo mitofagico (Wang et al., 2026): i meccanismi di controllo-qualità mitocondriali sono ridondanti e finemente regolati per rispondere selettivamente alle diverse condizioni di stress.

Un'efficiente mitofagia consente di eliminare specificamente i mitocondri danneggiati, contribuendo al controllo della produzione di ROS e al mantenimento dell'omeostasi cellulare. Al contrario, un'alterazione di questo processo favorisce l'accumulo di mitocondri disfunzionali, l'aumento dei livelli di ROS e l'instaurarsi di un danno cellulare progressivo che può culminare nella morte della cellula per apoptosi (Xu et al., 2025).

2. Modulabilità del controllo-qualità mitocondriale: nodi regolatori e vie compensatorie

2.1 La via canonica PINK1/Parkin

Come accennato in precedenza, una delle vie molecolari cardine attivate in risposta alla perdita del potenziale di membrana mitocondriale è quella mediata dalle proteine PINK1 e Parkin – in stretta associazione con il sistema Ubiquitina-proteasoma (UPS).

PINK1 è una serina-treonina chinasi mitocondriale – codificata da geni nucleari e sintetizzata nel citosol – che viene importata nei mitocondri grazie ai complessi proteici translocase of the outer mitochondrial membrane (TOM) e translocase of the inner mitochondrial membrane (TIM), espressi rispettivamente nella membrana mitocondriale esterna e nella membrana mitocondriale interna. Si tratta di due traslocasi che, attraverso il riconoscimento della sequenza N-terminale di PINK1 (MTS), ne mediano il reclutamento (Wang et al., 2026).

Una volta localizzata nel mitocondrio, in condizioni fisiologiche, la sequenza MTS di PINK1 subisce il taglio da parte di una specifica proteasi mitocondriale, mitochondrial processing peptidase (MPP), che genera un intermedio – seguito da un'ulteriore scissione da parte di una seconda proteasi, presenilin-associated rhomboid-like protein (PARL). Si ottiene un frammento proteico che viene rilasciato nel citosol e degradato dal proteasoma: in questo modo, PINK1 è soggetta a un rapido e continuo sistema di turnover (Wang et al., 2026).

In condizioni di stress, la depolarizzazione del potenziale di membrana e i sistemi di import mitocondriale, che dipendono dal potenziale di membrana, non funzionano e l'import di PINK1 viene inibito, esercitando un ruolo fondamentale nella segnalazione della disfunzione mitocondriale.

PINK1 si lega a TOM, va incontro a dimerizzazione e trans-autofosforilazione e si attiva.

Quando attivata, la chinasi fosforila i residui di Ser delle catene di ubiquitina libere o legate alla membrana mitocondriale esterna (Wang et al., 2026).

Segue il reclutamento di Parkin, una E3 ubiquitina ligasi attivata dalla fosforilazione mediata da PINK1 (Bernardo et al., 2024).

La proteina agisce ubiquitinando diverse componenti della membrana mitocondriale esterna – tra cui Mfn1/2, Drp1, mitochondrial Rho GTP-ase 1/2 (Miro1/2) e voltage-dependent anion channel 1/2 (Vdac1/2). Questa ubiquitinazione funge da etichetta che identifica i mitocondri danneggiati (Wang et al., 2026).

La successiva fosforilazione delle proteine ubiquitinate da parte di PINK1 amplifica il segnale ubiquitinico, favorendo il reclutamento di ulteriori E3 ligasi.

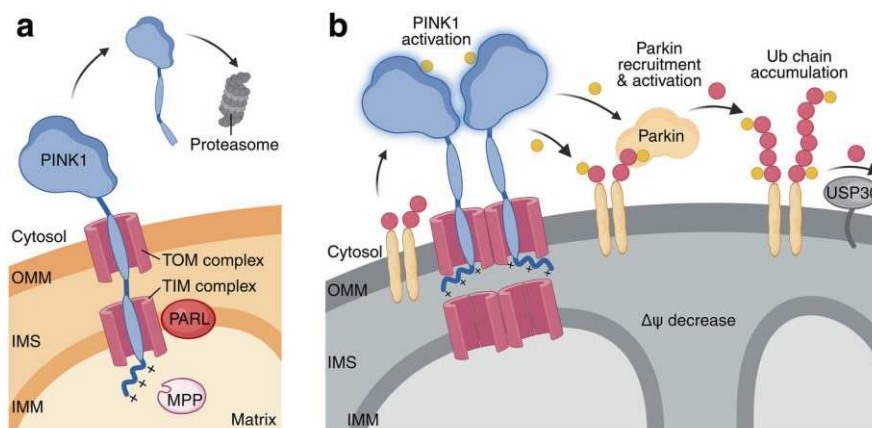


Figura 1: Schema della via mitofagica PINK1-Parkin dipendente.

(a) In condizioni fisiologiche, PINK1 viene importata nel mitocondrio e degradata da MPP e PARL.

(b) In condizioni di danno mitocondriale, la depolarizzazione della membrana mitocondriale induce l'accumulo di PINK1 sulla OMM, che recluta e attiva l'E3 ubiquitina-ligasi Parkin e l'ubiquitinazione (Fonte: adattata da Wang et al., 2026).

Prende avvio la cascata di effetti che termina con l'assemblaggio del macchinario autofagico, che prende contatto con le proteine della membrana mitocondriale attraverso una serie di specifiche proteine adattatrici, che prendono il nome di “recettori autofagici”.

Questi recettori riconoscono le catene di ubiquitina fosforilate e associate alle proteine della membrana mitocondriale.

Tra i recettori più rilevanti, emergono p62 (SQSTM1), optineurin (OPTN) e nuclear dot protein 52 (NDP52). Essi contengono un dominio che si lega specificamente alle catene di ubiquitina (UBD) e il dominio LIR, che interagisce con le proteine della famiglia ATG8, quali microtubule-associated protein 1 light chain 3 (LC3) e GABA type A receptor-associated protein (GABARAP), essenziale per il reclutamento delle vescicole autofagiche a livello del target, la fusione con il lisosoma e l'avvio del processo mitofagico (Wang et al., 2026).

All'interno dell'autofagolisosoma avviene la degradazione degli organelli disfunzionali.

Nel contesto delle malattie neurodegenerative come il morbo di Parkinson, i processi mitofagici risultano compromessi. L'accumulo di mitocondri danneggiati genera fenotipi caratterizzati dalla perdita di neuroni dopaminergici, particolarmente sensibili al danno mitocondriale e, a livello sistemico, disfunzioni motorie. La degenerazione dei neuroni dopaminergici, infatti, determina una diminuzione nella sintesi di dopamina, un neurotrasmettitore strettamente correlato al corretto funzionamento dei movimenti volontari (Liu et al., 2019).

Quest'alterazione, nei modelli di *Drosophila melanogaster*, è essenzialmente legata alla perdita di funzione delle proteine PINK1 e Parkin (Chakraborty, J. 2018).

Altri studi condotti sui modelli murini KO per PINK1 e Parkin, ad esempio, non mostrano, tuttavia, un forte fenotipo *Parkinson-like*: ciò rafforza l'ipotesi secondo cui il processo mitofagico PINK1/Parkin-dipendente non sia l'unico e possa venire facilmente compensato da vie mitofagiche alternative (Bernardo et al., 2024). L'esistenza di altri meccanismi, infatti, può mitigare gli effetti riconducibili alla perdita di PINK1 e Parkin dal punto di vista fisiologico, la cui modulazione può rappresentare un potenziale approccio terapeutico.

2.2 USP14 come regolatore del turnover mitocondriale

Qualora la via di segnalazione mediata da PINK1 e Parkin risulti deficitaria, la perdita dell'omeostasi potrebbe essere strettamente correlata all'incapacità di marcare correttamente, attraverso l'ubiquitinazione, i mitocondri disfunzionali per la degradazione (Chakraborty et al., 2018).

Tuttavia, diversi modelli sperimentali suggeriscono che, affinché il processo mitofagico possa procedere in maniera efficace, la sola ubiquitinazione non è sufficiente: il reclutamento del macchinario autofagico e la degradazione lisosomiale delle componenti mitocondriali danneggiate richiedono che intervenga – in prima linea – il sistema Ubiquitina-proteasoma (UPS) a livello della membrana mitocondriale esterna.

Il sistema Ubiquitina-proteasoma e, in particolare, il proteasoma 26S nelle cellule di mammifero, assume un ruolo essenziale nella degradazione dei substrati proteici danneggiati (Collins & Goldberg, 2017).

In una particolare pathway mitofagica, ad esempio, è stato osservato che, una volta reclutato a livello della membrana mitocondriale, ne promuove il rimodellamento, rimuovendo selettivamente le proteine della OMM. Questo processo facilita la frammentazione mitocondriale e induce la formazione di rotture (“*ruptures*”) sulla OMM. Di conseguenza, il macchinario autofagico può entrare in contatto con i recettori pro-mitofagici espressi sulla membrana mitocondriale interna, come prohibitin 2 (PHB2), che funge da recettore per LC3 (Wei et al., 2017).

È in questo scenario che entra in gioco ubiquitin-specific protease 14 (USP14) – una deubiquitinasi (DUB) associata al proteasoma 26S in maniera reversibile (Borodovsky et al., 2001) – che è stata individuata, da alcuni studi, come target per sviluppare un potenziale approccio terapeutico nel contesto delle malattie neurodegenerative (Chakraborty et al., 2018), caratterizzate da una mancata degradazione degli organelli disfunzionali e/o dall’accumulo di aggregati proteici proprio in virtù di una disregolazione dell’attività di UPS (Bernardo et al., 2024).

Nello specifico, USP14 è un modulatore negativo dell’attività proteasomale, la cui funzione è quella di eliminare le catene di poli-ubiquitina (in particolare, la K48) associate ai substrati proteici marcati per degradazione attuata dal proteasoma stesso (Borodovsky et al., 2001).

Si è osservato, inoltre, che USP14 interviene nella rimozione delle catene di ubiquitina K63 dalla proteina Beclin1, dimostratasi un elemento fondamentale nella regolazione del complesso di Beclin1/VPS34 – necessario per il reclutamento dell’autofagosoma (Xu et al., 2016).

Pertanto, USP14 si configura come un regolatore capace sia di modulare l’attività del proteasoma sia di interferire con il meccanismo autofagico a valle (Xu et al., 2016): in particolare, influenza la stabilità del segnale ubiquitinico sui suoi target, i quali, in condizione di inibizione di USP14, vengono riconosciuti e degradati (Lee et al., 2010).

Come dimostrato da alcuni studi condotti *in vivo* da Chakraborty et al. (2018) su modelli *Parkinson-like* di *Drosophila melanogaster*, mutanti (o KO) per PINK1 e Parkin, agendo farmacologicamente o, mediante *knockdown* genetico, su USP14, è possibile ristabilire il controllo-qualità mitocondriale, attivando specificatamente l’autofagia dei mitocondri.

Alterazioni dei meccanismi di controllo-qualità mitocondriale e accumulo di mitocondri disfunzionali sono stati osservati sia nelle forme familiari sia in quelle sporadiche di malattia di Parkinson, suggerendo un ruolo centrale della mitofagia nella patogenesi (Chakraborty et al., 2018).

I moscerini (*D. melanogaster*) PINK1 o Parkin KO, sottoposti a un test di arrampicata e trattati con l'inibitore farmacologico IU1, normalmente caratterizzati da gravi deficit motori, hanno mostrato un marcato recupero del corretto fenotipo locomotorio, in particolare delle capacità legate all'arrampicata (*climbing behaviour*) e della funzionalità mitocondriale (Chakraborty et al., 2018).

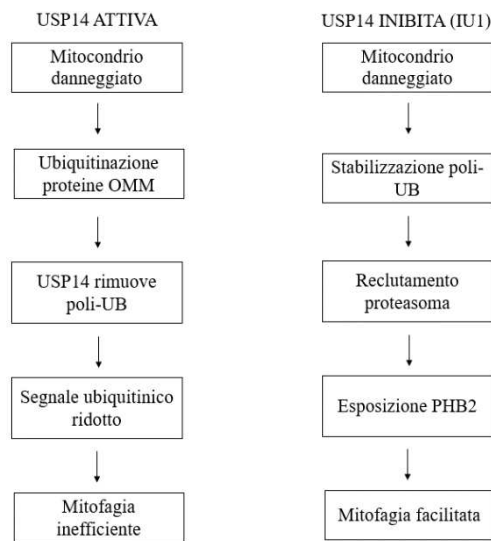
I risultati di questi studi, quindi, confermano l'idea secondo cui il ripristino della mitofagia possa contribuire significativamente al miglioramento dei sintomi legati a questa malattia neurodegenerativa (Chakraborty et al., 2018).

Come accennato in precedenza, IU1 è una piccola molecola che agisce come inibitore della deubiquitinasi USP14 (Lee et al., 2010).

È stata sintetizzata in laboratorio nel 2010, dallo stesso gruppo di ricercatori che ha poi sviluppato una serie di altri inibitori – tra cui IU1-47, derivato da IU1 (Lee et al., 2010) – i quali agiscono potenziando l'attività proteasomale sulla membrana mitocondriale esterna (Chakraborty et al., 2018). Sono state recentemente identificate anche altre molecole inibitrici di USP14, caratterizzate da proprietà farmacocinetiche più favorevoli e potenzialmente in grado di attraversare la barriera ematoencefalica (dati non pubblicati).

In definitiva, in condizioni patologiche, l'inibizione genetica o farmacologica di USP14 promuove la stabilizzazione delle catene di ubiquitina a livello dei substrati mitocondriali, il loro riconoscimento da parte del proteasoma e la formazione di “*ruptures*” della membrana mitocondriale esterna e la frammentazione dell'organello (Chakraborty et al., 2018).

In questo modo, vengono facilitati l'esposizione dei recettori autofagici localizzati nella membrana mitocondriale interna (come PHB2) e l'avvio di meccanismi mitofagici compensatori, PINK1-Parkin indipendenti (Chakraborty et al., 2018).



Confronto schematico USP14 attiva e inibita nella regolazione del turnover mitocondriale.

(A sinistra) USP14 attiva funge da deubiquitinasi e rimuove le catene di poliubiquitina dalle proteine della OMM, regolando negativamente l'attività del proteasoma e la mitofagia.

(A destra) USP14 inibita (ad esempio, tramite IU1) stabilizza il segnale ubiquitinico, promuovendo il reclutamento del proteasoma e l'esposizione di segnali interni al mitocondrio, come PHB2, attivando vie mitofagiche compensatorie alternative (PINK1/Parkin-indipendenti).

Affinché tali approcci possano tradursi in potenziali strategie terapeutiche per le malattie neurodegenerative, è stato tuttavia indispensabile validarne l'efficacia in modelli biologici più vicini alla fisiopatologia umana.

2.3 Potenzimento della mitofagia in modelli umani (iNeurons) e il ruolo di MARCH5

Per testare il ruolo degli inibitori di USP14 nella modulazione del controllo qualità mitocondriale, i ricercatori si sono quindi avvalsi dell'utilizzo di neuroni umani (iNeurons) ottenuti in laboratorio dal differenziamento di una linea di cellule staminali pluripotenti indotte.

Sono stati condotti esperimenti su cellule derivate da una linea embrionale umana (H9) che è stata geneticamente modificata in modo tale da rimuovere l'effetto mitofagico operato da PINK1 e Parkin (linee H9 PINK1 KO e Parkin KO). Queste linee, che sono state differenziate in neuroni maturi, sono state utilizzate per dimostrare che l'inibizione di USP14 può potenziare la mitofagia indipendentemente dalla via canonica PINK1/Parkin, a prova del suo valore come potenziale target terapeutico (Bernardo et al., 2024).

Dopo aver verificato l'assenza di tossicità dell'inibitore IU1-47 nelle cellule umane, i ricercatori hanno osservato che l'effetto di IU1-47 nell'attivazione della autofagia è selettivo per la down-regolazione del proteoma mitocondriale – escludendo un possibile impatto sugli altri organelli cellulari (Bernardo et al., 2024).

Analizzando, quindi, i livelli di attività autofagico-lisosomiale e mitofagica, si è visto come – in presenza di IU1-47 – questi siano incrementati anche nei modelli PINK1 e Parkin KO, con un significativo aumento del numero di mitolisosomi (Bernardo et al., 2024). Questo dimostra che l'effetto mitofagico dell'inibizione di USP14 con IU1-47 è PINK1/Parkin indipendente.

Inoltre, nella valutazione dell'attività mitocondriale, alterata nelle cellule iNeurons Parkin KO, il trattamento con l'inibitore ha mostrato un recupero funzionale del fenotipo mitocondriale.

Sono state prodotte cellule KO per diverse E3 ubiquitina-ligasi e recettori autofagici come BCL2 interacting protein 3 like (BNIP3L/NIX), mitochondrial ubiquitin ligase activator of NF- κ B 1 (MUL1) e l'ubiquitina-ligasi membrane-associated RING-CH-type finger protein 5 (MARCH5) – per testare quali siano le condizioni essenziali affinché la mitofagia indotta dall'inibizione di USP14 possa verificarsi. Mentre l'assenza di BNIP3L/NIX e MUL1 non comprometteva il processo, nei neuroni MARCH5 KO, i livelli di mitofagia risultavano significativamente ridotti, suggerendo il ruolo di MARCH5 come nodo regolatorio chiave nell'attivazione di meccanismi compensatori indotti dall'inibizione di USP14, soprattutto in condizioni di stress cellulare (Bernardo et al., 2024).

Quest'ultima è un'E3 ubiquitina-ligasi espressa nella membrana mitocondriale esterna che regola, attraverso processi di ubiquitinazione, la stabilità e il turnover di diverse proteine mitocondriali, contribuendo al mantenimento dell'omeostasi dell'organello (Bernardo et al., 2024).

In questo contesto, MARCH5 interviene nella modulazione della dinamica mitocondriale di fissione/fusione e nella segnalazione ubiquitina-dipendente dei mitocondri danneggiati, facilitandone il riconoscimento da parte del macchinario autofagico.

Nell'ambito della mitofagia indotta dall'inibizione di USP14, MARCH5 costituisce una molecola essenziale per l'instaurarsi di assi mitofagici alternativi – indipendenti da PINK1 e Parkin – e può contribuire, secondo un meccanismo non ancora definito, all'esposizione di recettori mitofagici della membrana interna (PHB2) e al reclutamento delle componenti autofagiche (Bernardo et al., 2024).

2.4 Meccanismi di controllo-qualità mitocondriale autofagia-indipendenti

Oltre alla mitofagia, il controllo-qualità mitocondriale viene garantito anche da processi indipendenti dalla formazione dell'autofagolisosoma a livello della membrana mitocondriale esterna.

Tra questi, spicca l'asse endosoma-lisosoma – un sistema che coinvolge organelli e componenti di membrana e che ricicla le componenti mitocondriali danneggiate attraverso la formazione di vescicole a partire dai mitocondri stessi (*mitochondrial-derived vesicles*, MDVs) (Ferrucci et al., 2024).

Si tratta di un meccanismo di regolazione fine che entra in scena in condizioni di stress ossidativo mitocondriale moderato o localizzato e che non richiede necessariamente la perdita del potenziale di membrana (Ferrucci et al., 2024).

Agisce localmente, a partire dalla gemmazione della membrana mitocondriale, determinando la formazione di vescicole che sequestrano e trasportano selettivamente solo la porzione disfunzionale dell'organello.

Differentemente, la via mitofagica viene innescata in seguito alla depolarizzazione del potenziale di membrana e termina con l'eliminazione dell'intero mitocondrio danneggiato (Ferrucci et al., 2024).

Il sistema endosoma-lisosoma si configura come un meccanismo di controllo-qualità complementare alla mitofagia e può contribuire in maniera rilevante al mantenimento dell'omeostasi mitocondriale, soprattutto in presenza di patologie o durante l'invecchiamento (Ferrucci et al., 2024).

In condizioni basali, si tratta di meccanismi costitutivi e PINK1/Parkin-indipendenti, che coinvolgono proteine della dinamica mitocondriale come Miro1/2 e Drp1, deputate alla selezione e alla gemmazione del cargo danneggiato. Al contrario, in condizioni di stress acuto, le MDVs dipendono dall'attivazione della via canonica e vengono integrate nei processi mitofagici per intensificare la risposta (Ferrucci et al., 2024).

La destinazione finale (lisosomi, perossisomi) delle vescicole varia a seconda del contesto e dei mediatori coinvolti; in alcuni casi, le vescicole mitocondriali possono essere rilasciate nello spazio extracellulare, suggerendo un possibile ruolo nella comunicazione intercellulare (Ferrucci et al., 2024).

L'esistenza di numerosi meccanismi di regolazione compensatori, a sostegno o complementari alla via canonica, avvalorava l'idea secondo cui il controllo-qualità mitocondriale sia un processo modulabile su più fronti. In questo senso, risulta rilevante interrogarsi sulla possibilità che, a livello sistemico, altri fattori metabolici – quali i corpi chetonici – possano concorrere a preservare l'omeostasi mitocondriale in condizioni di stress neuronale.

3. I corpi chetonici: modulazione metabolica e potenzialità neuroprotettive

3.1 Biochimica e trasporto neuronale dei corpi chetonici

I corpi chetonici – β -idrossibutirrato (β HB), acetoacetato (AcAc) e acetone – rappresentano, assieme al lattato, i principali substrati alternativi nella produzione di energia metabolica in condizioni di limitata disponibilità di glucosio (Jensen et al., 2020).

In condizioni fisiologiche, i corpi chetonici vengono sintetizzati a livelli basali senza accumularsi. In condizioni di affamamento e bassa glicemia, i corpi chetonici aumentano significativamente provocando uno stato di chetosi e, nei casi più marcati, l'eliminazione renale dei metaboliti in eccesso.

Nel cervello, costituiscono un'utile risorsa di sostentamento grazie alla loro capacità di attraversare la barriera ematoencefalica (BBB) e, sebbene la concentrazione di corpi chetonici nel sangue sia relativamente bassa dopo poche ore di digiuno, essi possono contribuire fino al 60% del fabbisogno energetico cerebrale in un contesto di chetosi indotta da sforzo fisico o digiuno prolungato, stress metabolico e restrizione glucidica (Owen et al., 1967).

Adottando un regime alimentare di tipo chetogenico, infatti, basato sul consumo di cibi caratterizzati da un bassissimo contenuto di carboidrati e da un elevato apporto di lipidi e proteine, la concentrazione di corpi chetonici nel sangue può aumentare anche in condizioni non strettamente di digiuno (Kuter et al., 2021).

Anche l'assunzione di acidi grassi a catena media (MCFA) – che vengono assorbiti rapidamente attraverso la vena portale – può concorrere alla produzione di corpi chetonici, costituendo una fonte lipidica facilmente ossidabile (Jensen et al., 2020).

La produzione di corpi chetonici – indotta da bassi livelli di insulina nel sangue – avviene nei mitocondri epatici, a partire dagli acidi grassi liberi mobilitati dal tessuto adiposo bianco, che vanno incontro al processo di β -ossidazione (Jensen et al., 2020).

Gli MCFA – diversamente dagli acidi grassi a catena lunga – non richiedono il sistema di trasporto della carnitina per attraversare la membrana mitocondriale interna, rappresentando, quindi, una fonte di energia rapidamente disponibile (Fukao et al., 2004).

La sintesi epatica dei corpi chetonici prende avvio dall'acetil-CoA, che si accumula, non potendo condensare con l'ossalacetato nella formazione di citrato. La mancanza di ossalacetato dipende dal fatto che questo viene sottratto al ciclo di Krebs e utilizzato nella gluconeogenesi, per produrre glucosio.

Due molecole di acetil-CoA vengono condensate dall'enzima tiolasi e formano l'acetoacetil-CoA.

Dall'unione enzimatica dell'acetoacetil-CoA con un'altra molecola di acetil-CoA si forma il β -idrossi-metilglutaril-CoA (HMG-CoA). La reazione è catalizzata dall'HMG-CoA sintasi.

Il β -idrossi-metilglutaril-CoA viene scisso dall'HMG-CoA liasi, da cui si forma acetoacetato e acetil-CoA: l'acetoacetato è precursore dell'acetone, che si forma per decarbossilazione.

Il β -idrossibutirrato si forma dalla riduzione dell'acetoacetato, che determina – in concomitanza – l'ossidazione del NADH a NAD⁺, catalizzata dalla β HB deidrogenasi (Jiang Z. et al., 2021).

L'AcAc e il β HB non vengono utilizzati nel fegato come substrati energetici, poiché manca l'enzima succinil-CoA:acetoacetato transferasi (SCOT); vengono quindi trasportati al di fuori del mitocondrio e nella circolazione sanguigna, per raggiungere i tessuti extraepatici (principalmente cervello e muscolo cardiaco) (Jensen et al., 2020).

Il passaggio della barriera ematoencefalica è mediato dai trasportatori specifici, i trasportatori dei monocarbossilati (MCT) – la cui attività è indotta dall'aumento della concentrazione di corpi chetonici nel sangue.

L'isoforma MCT1 è espressa nelle cellule dell'endotelio e della glia e possiede una bassa affinità per il β HB; diversamente, il trasportatore MCT2 – espresso nei neuroni, in particolare a livello delle regioni densamente ricche in mitocondri a livello postsinaptico – esibisce un'elevata affinità per i corpi chetonici, suggerendo l'importanza del ruolo di questo trasportatore nella trasmissione sinaptica. Negli astrociti, è presente anche l'isoforma MCT4 (Cunnane et al., 2016).

Una volta entrati nella matrice mitocondriale neuronale, il β HB e l'AcAc vengono ri-convertiti ad acetil-CoA.

Nello specifico, il β HB viene ri-ossidato ad AcAc per azione di una deidrogenasi – e, in parallelo, il NAD⁺ viene convertito a NADH, contribuendo ad alimentare la catena di trasporto degli elettroni – e l'acetoacetato viene metabolizzato ad acetoacetil-CoA dall'enzima SCOT.

Per azione dell'enzima tiolasi, l'acetoacetil-CoA viene, infine, scisso in due molecole di acetil-CoA, permettendo l'ingresso nel ciclo di Krebs e la produzione di ATP attraverso la fosforilazione ossidativa a supporto del metabolismo mitocondriale (Jiang Z. et al., 2021) (Figura 2).

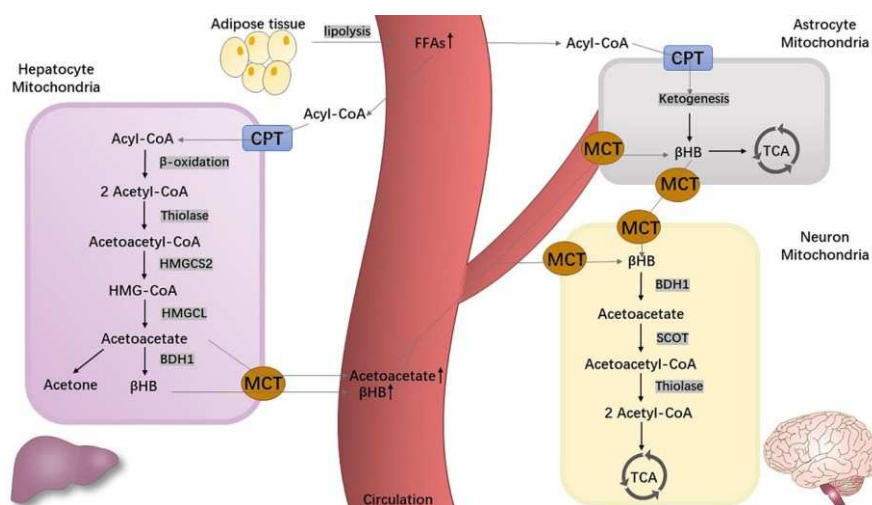


Figura 2: Il metabolismo dei corpi chetonici.

Produzione dei corpi chetonici (AcAc, β HB) negli epatociti del fegato a partire da acidi grassi mobilitati dal tessuto adiposo, con conseguente entrata nel circolo sanguigno e raggiungimento dei tessuti extraepatici.

Attraversamento della BBB e conversione in acetil-CoA. Produzione di ATP attraverso la fosforilazione ossidativa (Fonte: Jiang Z. et al., 2021).

3.2 Modulazione del metabolismo redox e dell'omeostasi mitocondriale

Oltre a ricoprire una funzione fondamentale come substrati energetici alternativi in condizioni di affamamento, numerosi studi hanno analizzato e dimostrato il ruolo pleiotropico dei corpi chetonici nella protezione della cellula dallo stress ossidativo e nel mantenimento dell'omeostasi mitocondriale – specie a livello neuronale – aprendo la strada a possibili implicazioni nel trattamento delle malattie neurodegenerative (Jensen et al., 2020). D'altro canto, le evidenze attuali sono disomogenee e, talvolta, discordanti: in alcuni contesti fisiopatologici, l'attività del β HB non sembra essere sufficiente a determinare un miglioramento netto e duraturo in alcuni soggetti affetti da Parkinson, per esempio – suggerendo come il ruolo dei corpi chetonici sia contestuale e fortemente dipendente dalle condizioni del trattamento (Kuter et al., 2021).

In prima linea, alcuni studi condotti sull'ippocampo di modelli murini (Haces et al., 2008) hanno dimostrato l'effetto di neutralizzazione dei corpi chetonici e, nello specifico, del β HB e dell'AcAc nei confronti delle specie radicaliche dell' O_2 prodotte lungo la catena di trasporto mitocondriale durante il processo di fosforilazione ossidativa.

I meccanismi attraverso cui esibiscono questa funzione antiossidante sono stati esplorati anche successivamente.

Da questi esperimenti, emerge che l'aumento dei livelli di questi corpi chetonici promuova – a monte – una significativa riduzione della concentrazione di ROS, attraverso il miglioramento dell'efficienza della catena di trasporto, la modulazione dello stato redox cellulare (NAD^+/NADH) e l'attivazione di numerosi fattori di trascrizione coinvolti nella sintesi di enzimi ad attività antiossidante (Jensen et al., 2020).

In particolar modo, il catabolismo del βHB in AcAc nel mitocondrio è accompagnato dalla riduzione del NAD^+ a NADH : nonostante la singola reazione comporti un'aumentata produzione di NADH a livello mitocondriale, l'utilizzo dei corpi chetonici come combustibile primario in condizioni chetogeniche limita la dipendenza neuronale dalla via glicolitica per la produzione di ATP (correlata a un aumento di NADH citosolico) e favorisce, in specifiche condizioni metaboliche, lo spostamento dell'equilibrio redox verso uno stato più ossidato – incrementando la biodisponibilità di NAD^+ libero (Kuter et al., 2021).

I corpi chetonici, quindi, assumono un ruolo metabolico fondamentale – nei neuroni e nelle cellule della glia, fortemente dipendenti dal metabolismo mitocondriale, contribuiscono alla produzione di ATP in maniera più efficiente attraverso la fosforilazione ossidativa (Kuter et al., 2021).

Gli studi in questione, tuttavia, riportano solo gli effetti a breve termine dell'apporto esogeno di corpi chetonici attraverso l'assunzione di MCFA. Questi effetti, peraltro, non sono ancora stati pienamente confermati in modelli umani. Pertanto, non c'è evidenza che l'attività antiossidante dei corpi chetonici osservata nei roditori possa ritenersi valida anche nel contesto della fisiopatologia umana (Jensen et al., 2020).

Parallelamente, in altri studi è stato osservato che l'aumento della disponibilità di NAD^+ a livello mitocondriale (e, contemporaneamente, citosolico e nucleare) determina l'attivazione delle sirtuine – in particolare, SIRT1 e SIRT3 – che esercitano un ruolo chiave nel contrastare i processi neurodegenerativi.

Le sirtuine sono enzimi NAD^+ -dipendenti appartenenti alla classe III delle deacetilasi istoniche (HDACs): nel mitocondrio, l'isoforma SIRT3 deacetila l'enzima superossido dismutasi (SOD2), promuovendone l'attività antiossidante e riducendo significativamente i livelli di stress ossidativo.

In condizioni di stress, inoltre, SIRT1 , nel nucleo, interviene deacetilando e inattivando la proteina p53 (la cui attivazione è responsabile della trascrizione di geni pro-apoptotici, come *Bax*). Ciò determina una riduzione del rapporto pro-apoptotico BAX/Bcl-2 , stabilizzando l'espressione della proteina anti-apoptotica Bcl-2 – fondamentale per preservare l'integrità neuronale nel contesto delle malattie neurodegenerative (Jiang Z. et al., 2021).

Inoltre, alcune evidenze su modelli animali affetti da Parkinson – dove si osserva una ridotta attività del complesso respiratorio I – dimostrano che l'ingresso del β HB nei mitocondri neuronali dopaminergici favorisca l'apporto di succinato come substrato del complesso II.

In questo modo, è possibile aggirare funzionalmente il complesso I qualora sia compromesso dallo stress patologico.

Viene, quindi, ripristinato il flusso elettronico verso il coenzima Q necessario come forza proton-motrice per la produzione di ATP, mantenendo il potenziale di membrana mitocondriale e diminuendo, contestualmente, i livelli di ROS – la cui produzione sembra essere correlata maggiormente al disfunzionamento dei complessi I e III (Jiang Z. et al., 2021).

L'aumentato apporto di corpi chetonici si è rivelato anche funzionale nel contrastare i processi neuroinfiammatori, sia centrali sia periferici, che contribuiscono ad alimentare il circolo vizioso nella patogenesi neurodegenerativa.

Nello specifico, il β HB viene riconosciuto come inibitore endogeno della classe I delle deacetilasi istoniche (HDACs) – promuovendo l'espressione del brain-derived neurotrophic factor BDNF, una neurotrofina essenziale per la sopravvivenza neuronale e la resistenza allo stress.

In condizioni patologiche, l'iperattività delle deacetilasi istoniche induce la condensazione della cromatina, determinando un calo nella trascrizione del gene che codifica per BDNF e privando i neuroni di questo importante supporto trofico.

Inoltre, il β HB si inserisce in questo scenario configurandosi come un inibitore dell'attività del nucleotide-binding domain-like receptor 3 (NLRP3): si tratta di un complesso multiproteico, citoplasmatico, che funge da “sensore” dell'immunità innata, la cui inattivazione – dovuta anche all'interazione del β HB con l'hydroxycarboxylic acid receptor 2 (HCA2) – determina una drastica riduzione del rilascio di citochine e altre molecole pro-infiammatorie e una significativa mitigazione della neuroinfiammazione (Jiang Z. et al., 2021).

Ulteriori evidenze suggeriscono il coinvolgimento dei corpi chetonici – e nello specifico del β HB – quali potenziali modulatori dei meccanismi di controllo qualità mitocondriale, attraverso un incremento dell'attività autofagica osservata prevalentemente a livello dell'ippocampo e della corteccia cerebrale (Jiang Z. et al., 2021). Le vie molecolari interessate sono state oggetto di approfondite analisi nel contesto sperimentale del glaucoma, dove i ricercatori si sono focalizzati nel determinare se un regime alimentare chetogenico potesse effettivamente indurre un potenziamento della mitofagia (Morgan et al., 2024).

3.3 Evidenze sperimentali: il caso del glaucoma

Il glaucoma è una patologia neurodegenerativa che si caratterizza per la perdita progressiva delle cellule ganglionari della retina (RGCs) e dei loro assoni, che co-

stituiscono il nervo ottico, uno dei tessuti più sensibili alle disfunzioni metaboliche (Morgan et al., 2024).

Numerose evidenze su modelli murini DBA/2J suggeriscono che – sebbene l’insorgenza della patologia sia strettamente correlata all’invecchiamento – alla base della neurodegenerazione glaucomatosa vi sia una vulnerabilità neuronale pre-esistente (genetica, metabolica, mitocondriale) (Morgan et al., 2024).

In condizioni di stress e con l’avanzare dell’età, l’aumento della pressione intraoculare associato a una condizione di ipertensione oculare (OHT) esacerba la disfunzione mitocondriale. Si verifica una compressione meccanica a livello delle cellule ganglionari della retina, che riduce localmente la perfusione e altera il flusso ematico retinico determinando, di conseguenza, una riduzione dell’apporto di O₂ e di substrati energetici.

Si instaura, quindi, una condizione di ipossia localizzata – confermata dall’upregolazione del fattore di trascrizione hypoxia-inducible factor 1- α (HIF-1 α) – che compromette il funzionamento della catena di trasporto mitocondriale e l’efficienza del processo di fosforilazione ossidativa.

Vengono favoriti la perdita di elettroni lungo la catena respiratoria, la riduzione dei livelli di ATP e l’aumento della produzione di ROS, che contribuiscono allo stress ossidativo responsabile del danno a membrane, proteine e DNA mitocondriale.

È in queste circostanze che la mitofagia – quale principale meccanismo di controllo-qualità mitocondriale – gioca un ruolo chiave nel preservare l’omeostasi mitocondriale, attraverso la rimozione selettiva dei mitocondri disfunzionali (Morgan et al., 2024).

Nei modelli murinici di glaucoma – a causa dell’aumento della pressione intraoculare e della perdita d’integrità delle creste mitocondriali – si verifica un’alterazione nelle dinamiche di controllo-qualità mitocondriale, con un netto sbilanciamento verso i processi di fissione.

Inizialmente, coerentemente con quanto osservato in studi precedenti, le cellule retiniche sembrano rispondere adattandosi al danno, attivando in maniera massiccia la mitofagia per rimuovere i mitocondri danneggiati; nel tempo, tuttavia, il persistere delle condizioni di stress aumenta il carico metabolico sui pochi mitocondri funzionali rimanenti.

Viene accelerata la produzione di ROS e il danneggiamento degli stessi organelli, alimentando un circolo vizioso auto-propagante in cui la mitofagia si rivela fallimentare nell’eliminazione del danno: l’accumulo deleterio di mitocondri disfunzionali innesca la via intrinseca dell’apoptosi, che culmina nella perdita delle cellule ganglionari della retina e, progressivamente, anche della vista (Morgan et al., 2024).

Attualmente, la principale strategia terapeutica impiegata nel trattamento del glaucoma si basa sull'utilizzo di farmaci volti a ridurre la pressione intraoculare, trattandosi dell'unico fattore di rischio su cui si può agire per rallentare la progressione della patologia (Morgan et al., 2024).

Tuttavia, nel 30% dei casi questo approccio si è rivelato inefficace, rafforzando l'ipotesi secondo cui siano implicati ulteriori meccanismi patogenetici – indipendenti dalla pressione intraoculare – nello sviluppo della condizione neurodegenerativa (Doucette et al., 2015).

Subentra, quindi, la necessità di adottare approcci diversi, focalizzati sulla modulazione metabolica delle dinamiche di controllo-qualità mitocondriale e, nello specifico, del processo mitofagico come potenziale strumento neuroprotettivo (Morgan et al., 2024).

Di seguito si riportano i risultati degli studi condotti *in vivo* da Morgan et al. (2024), il cui scopo è quello di verificare se – oltre ad incrementare i processi di biogenesi – i corpi chetonici possano inserirsi in questo scenario stimolando la mitofagia. Il mantenimento dell'omeostasi mitocondriale richiede un equilibrio tra degradazione e biogenesi dell'organello.

Per valutarne sperimentalmente il ruolo, sono stati utilizzati dei modelli murini caratterizzati da ipertensione oculare (OHT) indotta, al fine di riprodurre una condizione glaucomatosa.

È stato utilizzato il sistema reporter MitoQC sviluppato da McWilliams et al. (2016), basato sull'impiego di una proteina fluorescente tandem mCherry-GFP per marcare la membrana esterna dei mitocondri delle cellule ganglionari retiniche, sensibile al pH.

Gli animali sono stati sottoposti a una dieta di tipo chetogenico (KD) – basata su un bassissimo consumo di carboidrati (0,1%) – per cinque settimane. I controlli hanno seguito un regime alimentare standard.

Dai risultati emerge un aumento del numero di mitolisosomi – vescicole formatesi dalla fusione dei mitocondri danneggiati e dei lisosomi, deputati alla loro degradazione – sia nelle cellule ganglionari della retina sia nelle cellule gliali di Müller degli individui KD (e KD + OHT), come indicatore di un'incrementata mitofagia.

Il tracciamento del processo mitofagico è stato possibile – nel sistema MitoQC (McWilliams et al., 2016) – grazie al fenomeno di quenching della fluorescenza della GFP, sensibile al pH acido, una volta avvenuta la fusione con i lisosomi; al contrario, il sensore mCherry rimane stabile al pH e consente di rilevare i mitolisosomi che assumono una colorazione rossa (Morgan et al., 2024).

Tuttavia, si è osservato anche un diverso comportamento tra i due tipi cellulari, riconducibile a una differenza in termini di sensibilità metabolica. Nelle cellule

ganglionari della retina, caratterizzate da un'elevata richiesta energetica e da una maggiore dipendenza dalla fosforilazione ossidativa, l'aumento del numero di mitolisosomi sembra essere principalmente correlato all'effetto della dieta, suggerendo un ruolo centrale dei corpi chetonici nella modulazione del processo.

Viceversa, nelle cellule gliali – che dipendono prevalentemente dalla via glicolitica per la produzione di ATP – non si è osservata una sostanziale variazione tra i gruppi KD e i controlli (sottoposti a sola ipertensione oculare): in condizioni di stress, infatti, la pressione intraoculare si configura come il principale iniziatore dei processi mitofagici.

Inoltre, le cellule di Müller possiedono riserve di glicogeno che, in condizioni di restrizione glucidica, vengono mobilizzate per la produzione di energia, evidenziando la loro minore sensibilità ai deficit di tipo metabolico (Figura 3) (Morgan et al., 2024).

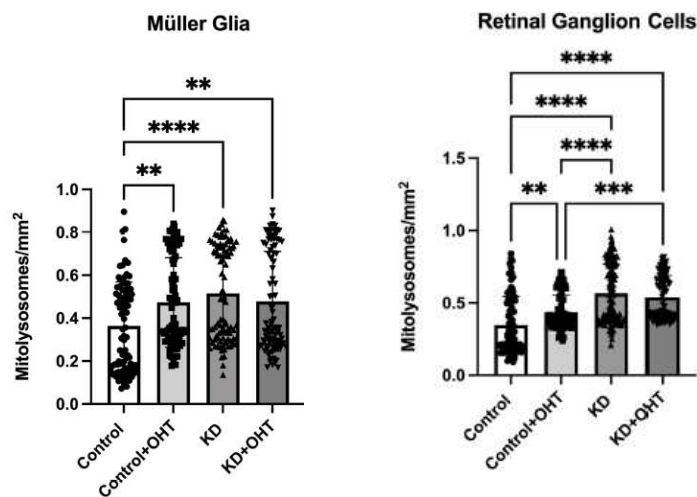


Figura 3: effetto della dieta chetogenica sulla mitofagia nelle cellule gliali di Müller (a sinistra) e nelle cellule ganglionari della retina (a destra).

A sinistra: aumento del numero di mitolisosomi in maniera analoga nei controlli sottoposti a sola ipertensione oculare (OHT) e negli animali KD.

A destra: significativo incremento del numero dei mitolisosomi nei modelli KD rispetto ai controlli sottoposti a sola ipertensione oculare (OHT) (Fonte: adattata da Morgan et al., 2024).

I principali meccanismi coinvolti nell'up-regolazione della mitofagia sembrerebbero associati a un aumento dei livelli di NAD^+ che – come emerso in precedenza – è correlato a un'aumentata biodisponibilità di corpi chetonici, soprattutto di βHB .

Il cofattore NAD^+ è substrato di SIRT1 che, nel nucleo, deacetila il peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1- α (PGC-1 α) e promuove la biogenesi mitocondriale.

SIRT1 potrebbe lavorare sinergicamente con l'AMP-activated protein kinase (AMPK) – un enzima sensibile allo stato redox, la cui concentrazione aumenta in risposta ai cali del rapporto ATP/AMP (in condizioni di deficit energetico) – inducendone l'attivazione. AMPK, in queste circostanze, potrebbe stimolare direttamente la mitofagia attraverso la fosforilazione di unc-51 like autophagy activating kinase 1 (ULK1) e la biogenesi, attraverso l'attivazione di PGC-1 α (Morgan et al., 2024).

Contestualmente, è coinvolta anche TANK-binding kinase 1 (TBK1), una chinasi deputata alla fosforilazione dei recettori mitocondriali, necessaria per il reclutamento del macchinario autofagico: l'eliminazione dei mitocondri danneggiati avviene in maniera PINK1/Parkin-indipendente (Morgan et al., 2024).

Inoltre, dagli esperimenti emerge che – anche in condizioni di pseudoipossia (non strettamente ipossiche) – la dieta chetogenica sia in grado di promuovere la stabilizzazione di HIF-1 α , un fattore di trascrizione che induce l'espressione di BNIP3 e BNIP3L (NIX), quali recettori mitocondriali coinvolti nell'interazione con LC3 e nell'attivazione di vie mitofagiche alternative in condizioni di stress.

Ciononostante, i livelli di espressione di BNIP3 e NIX non variano, nelle cellule ganglionari della retina, significativamente tra i diversi gruppi analizzati (fatta eccezione per i controlli sottoposti a sola OHT, dove NIX non risulta co-localizzato): è plausibile ipotizzare, quindi, che questi marcatori non siano essere direttamente implicati nel meccanismo mitofagico osservato in questo modello sperimentale.

I ricercatori suggeriscono anche l'eventuale coinvolgimento di altri sistemi di controllo-qualità – mitofagia-indipendenti – come quello delle MDVs, che potrebbero contribuire al segnale riscontrato a livello dei mitolisosomi (Morgan et al., 2024), rafforzando l'idea secondo cui il controllo-qualità sia un sistema dinamico e multilivello.

In definitiva, le evidenze raccolte suggeriscono che i corpi chetonici possano, in qualche modo, influenzare – a monte – i processi di modulazione del controllo-qualità mitocondriale, che variano a seconda del contesto e delle condizioni metaboliche cellulari, aprendo nuove prospettive nel campo della neuroprotezione.

Conclusioni

Alla luce dei risultati discussi, emerge chiaramente la centralità occupata dal mitocondrio come determinante del danno cellulare e, nello specifico, neuronale nel contesto delle malattie neurodegenerative.

L'elevata dipendenza neuronale dalla fosforilazione ossidativa per la generazione di energia metabolica concorre ad aumentare la sensibilità del neurone alla disfunzionalità mitocondriale e all'instaurarsi di una condizione di stress ossidativo, legata alla produzione di ROS non adeguatamente neutralizzati dai meccanismi cellulari di riparazione antiossidante. Il mantenimento dell'omeostasi mitocondriale – determinato dal raggiungimento di una condizione di equilibrio tra i processi di fusione e di fissione – appare, quindi, un elemento cruciale per preservare la funzionalità del neurone e prevenire l'attivazione della via intrinseca dell'apoptosi. Qualora i livelli di stress cellulare siano intensificati o vengano meno i meccanismi di controllo-qualità, vengono a crearsi i presupposti per l'instaurarsi della condizione neurodegenerativa.

Nel presente elaborato si evidenzia la necessità di considerare, oltre ai meccanismi classici di controllo-qualità mitocondriale di tipo mitofagico dipendenti dalla via PINK1/Parkin – che in alcuni modelli neurodegenerativi si rivela profondamente alterata – l'esistenza e l'efficacia di altri sistemi, mitofagici e non, al fine di realizzare strategie potenzialmente terapeutiche volte a limitare la progressione della malattia. I dati suggeriscono che – nell'ambito della mitofagia – l'inibizione della deubiquitinasi USP14 rappresenti un nodo regolatorio importante per prevenire l'accumulo di mitocondri danneggiati e associata all'attivazione di alcune vie MARCH5-dipendenti, mostrando un miglioramento del fenotipo in specifici modelli patologici.

La mitofagia – intesa come rimozione selettiva dei mitocondri disfunzionali – non è, tuttavia, l'unica modalità coinvolta nel controllo-qualità mitocondriale, confermando l'idea secondo cui quest'ultimo sia un processo non rigidamente controllato ma, al contrario, plasmabile a più livelli.

Evidenze sperimentali suggeriscono, infatti – grazie al modello del glaucoma – il ruolo dei corpi chetonici non solo come substrati energetici alternativi alle fonti glucidiche, bensì anche come modulatori metabolici dell'omeostasi mitocondriale. La dieta chetogenica – testata su modelli murini affetti dalla condizione glaucomatosa – ha riscontrato effetti favorevoli, implicando un possibile coinvolgimento nella regolazione dei meccanismi di controllo-qualità, sebbene attraverso modalità non ancora totalmente definite e fortemente legate al contesto cellulare.

Nonostante i risultati promettenti registrati nel modello del glaucoma, si tratta, tuttavia, di un tema ancora ampiamente dibattuto e controverso tra i ricercatori, dal momento che – nonostante le potenziali implicazioni a livello terapeutico – gli studi condotti sono attualmente limitati ai soli animali, senza evidenza specifica

nell'uomo. Peraltro, non in tutte le patologie si è riscontrata la stessa validità del metodo sperimentale utilizzato nel contesto del glaucoma. In alcuni modelli animali di Parkinson, infatti, l'aumento dei livelli di β HB non si è rivelato, da solo, sufficiente come supporto neuroprotettivo.

In futuro, al fine di valutare la reale applicabilità della dieta chetogenica nella neurodegenerazione, sarà quindi necessario estendere le indagini alla fisiopatologia umana e verificare se tale approccio possa essere coordinato ad altre vie compensatorie (come quelle legate a USP14 e MARCH5), al fine di coprire una più ampia gamma di casi clinici.

Bibliografia

- Attwell, D., & Laughlin, S. B. (2001). An energy budget for signaling in the grey matter of the brain. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 21(10), 1133–1145. <https://doi.org/10.1097/00004647-200110000-00001>
- Bernardo, G., Prado, M. A., Dashtnian, A. R., Favaro, M., Mauri, S., Borsetto, A., Marchesan, E., Paulo, J. A., Gygi, S. P., Finley, D. J., & Ziviani, E. (2024). USP14 inhibition enhances Parkin-independent mitophagy in iNeurons. *Pharmacological Research*, 210, 107484. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2024.107484>
- Borodovsky, A., Kessler, B. M., Casagrande, R., Overkleeft, H. S., Wilkinson, K. D., & Ploegh, H. L. (2001). A novel active site-directed probe specific for deubiquitylating enzymes reveals proteasome association of USP14. *The EMBO Journal*, 20(18), 5187–5196. <https://doi.org/10.1093/emboj/20.18.5187>
- Chakraborty, J., von Stockum, S., Marchesan, E., Caicci, F., Ferrari, V., Rakovic, A., Klein, C., Antonini, A., Bubacco, L., & Ziviani, E. (2018). USP14 inhibition corrects an in vivo model of impaired mitophagy. *EMBO Molecular Medicine*, 10(11), e9014. <https://doi.org/10.15252/emmm.201809014>
- Collins, G. A., & Goldberg, A. L. (2017). The logic of the 26S proteasome. *Cell*, 169(5), 792–806. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.04.023>
- Copeland, W. C., & Longley, M. J. (2003). DNA polymerase gamma in mitochondrial DNA replication and repair. *The Scientific World Journal*, 3, 34–44. <https://doi.org/10.1100/tsw.2003.09>
- Cunnane, S. C., Courchesne-Loyer, A., St-Pierre, V., Vandenberghe, C., Pierotti, T., Fortier, M., Croteau, E., & Castellano, C.-A. (2016). Can ketones compensate for deteriorating brain glucose uptake during aging? Implications for the risk and treatment of Alzheimer's disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1367(1), 12–20. <https://doi.org/10.1111/nyas.12999>
- Daumke, O., & Roux, A. (2017). Mitochondrial homeostasis: How do dimers of mitofusins mediate mitochondrial fusion? *Current Biology*, 27(9), R353–R356. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.03.024>
- Díaz-García, C. M., & Yellen, G. (2019). Neurons rely on glucose rather than astrocytic lactate during stimulation. *Journal of Neuroscience Research*, 97(8), 883–889. <https://doi.org/10.1002/jnr.24374>

- Dienel, G. A. (2019). Brain glucose metabolism: integration of energetics with function. *Physiological Reviews*, 99(1), 949–1045. <https://doi.org/10.1152/physrev.00062.2017>
- Dong, X., Wang, Y., & Qin, Z. (2009). Molecular mechanisms of excitotoxicity and their relevance to pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Acta Pharmacologica Sinica*, 30(4), 379–387. <https://doi.org/10.1038/aps.2009.24>
- Doucette, L. P., Rasnitsyn, A., Seifi, M., & Walter, M. A. (2015). The interactions of genes, age, and environment in glaucoma pathogenesis. *Survey of Ophthalmology*, 60(4), 310–326. <https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2015.01.004>
- Fernández-Moncada, I., Lavanco, G., Fundazuri, U. B., Bollmohr, N., Mountadem, S., Dalla Tor, T., Hachaguer, P., Julio-Kalajzic, F., Gisquet, D., Serrat, R., Bellocchio, L., Cannich, A., Fortunato-Marsol, B., Nasu, Y., Campbell, R. E., Drago, F., Cannizzaro, C., Ferreira, G., Bouzier-Sore, A.-K., ... Marsicano, G. (2024). A lactate-dependent shift of glycolysis mediates synaptic and cognitive processes in male mice. *Nature Communications*, 15(1), 6842. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-51008-2>
- Ferrucci, L., Guerra, F., Bucci, C., Marzetti, E., & Picca, A. (2024). Mitochondria break free: Mitochondria-derived vesicles in aging and associated conditions. *Ageing Research Reviews*, 102, 102549. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2024.102549>
- Fukao, T., Lopaschuk, G. D., & Mitchell, G. A. (2004). Pathways and control of ketone body metabolism: On the fringe of lipid biochemistry. *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids*, 70(3), 243–251. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2003.11.001>
- Gao, S., & Hu, J. (2021). Mitochondrial fusion: the machineries in and out. *Trends in Cell Biology*, 31(1), 62–74. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2020.09.008>
- Graziewicz, M. A., Day, B. J., & Copeland, W. C. (2002). The mitochondrial DNA polymerase as a target of oxidative damage. *Nucleic Acids Research*, 30(13), 2817–2824. <https://doi.org/10.1093/nar/gkf392>
- Haces, M. L., Hernández-Fonseca, K., Medina-Campos, O. N., Montiel, T., Pedraza-Chaverri, J., & Massieu, L. (2008). Antioxidant capacity contributes to protection of ketone bodies against oxidative damage induced during hypoglycemic conditions. *Experimental Neurology*, 211(1), 85–96. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2007.12.029>

- Ingerman, E., Perkins, E. M., Marino, M., Mears, J. A., McCaffery, J. M., Hinshaw, J. E., & Nunnari, J. (2005). Dnm1 forms spirals that are structurally tailored to fit mitochondria. *The Journal of Cell Biology*, 170(7), 1021–1027. <https://doi.org/10.1083/jcb.200506078>
- Jensen, N. J., Wodschow, H. Z., Nilsson, M., & Rungby, J. (2020). Effects of ketone bodies on brain metabolism and function in neurodegenerative diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22), 8767. <https://doi.org/10.3390/ijms21228767>
- Jiang, Z., Yin, X., Wang, M., Chen, T., Wang, Y., Gao, Z., & Wang, Z. (2022). Effects of ketogenic diet on neuroinflammation in neurodegenerative diseases. *Aging and Disease*, 13(4), 1146–1165. <https://doi.org/10.14336/AD.2021.1217>
- Kuter, K. Z., Olech, Ł., Głowacka, U., & Paleczna, M. (2021). Increased beta-hydroxybutyrate level is not sufficient for the neuroprotective effect of long-term ketogenic diet in an animal model of early Parkinson's disease. *Exploration of Brain and Liver Energy Metabolism Markers. International Journal of Molecular Sciences*, 22(14), 7556. <https://doi.org/10.3390/ijms22147556>
- Lee, B.-H., Lee, M. J., Park, S., Oh, D.-C., Elsasser, S., Chen, P.-C., Gartner, C., Dimova, N., Hanna, J., Gygi, S. P., Wilson, S. M., King, R. W., & Finley, D. (2010). Enhancement of proteasome activity by a small-molecule inhibitor of USP14. *Nature*, 467(7312), 179–184. <https://doi.org/10.1038/nature09299>
- Liu, J., Liu, W., Li, R., & Yang, H. (2019). Mitophagy in Parkinson's disease: from pathogenesis to treatment. *Cells*, 8(7), 712. <https://doi.org/10.3390/cells8070712>
- McWilliams, T. G., Prescott, A. R., Allen, G. F. G., Tamjar, J., Munson, M. J., Thomson, C., Muqit, M. M. K., & Ganley, I. G. (2016). Mito-QC illuminates mitophagy and mitochondrial architecture in vivo. *The Journal of Cell Biology*, 214(3), 333–345. <https://doi.org/10.1083/jcb.201603039>
- Mergenthaler, P., Lindauer, U., Dienel, G. A., & Meisel, A. (2013). Sugar for the brain: the role of glucose in physiological and pathological brain function. *Trends in Neurosciences*, 36(10), 587–597. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2013.07.001>
- Morgan, A. B., Fan, Y., & Inman, D. M. (2024). The ketogenic diet and hypoxia promote mitophagy in the context of glaucoma. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 18, 1409717. <https://doi.org/10.3389/fncel.2024.1409717>
- Murphy, M. P. (2009). How mitochondria produce reactive oxygen species. *The Biochemical Journal*, 417(1), 1–13. <https://doi.org/10.1042/BJ20081386>

- Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2021). *Lehninger Principles of Biochemistry* (8a ed.). W. H. Freeman.
- Owen, O. E., Morgan, A. P., Kemp, H. G., Sullivan, J. M., Herrera, M. G., & Cahill, G. F. (1967). Brain metabolism during fasting. *The Journal of Clinical Investigation*, 46(10), 1589–1595. <https://doi.org/10.1172/JCI105650>
- Pellerin, L., & Magistretti, P. J. (1994). Glutamate uptake into astrocytes stimulates aerobic glycolysis: A mechanism coupling neuronal activity to glucose utilization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(22), 10625–10629. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.22.10625>
- Rolfe, D. F., & Brown, G. C. (1997). Cellular energy utilization and molecular origin of standard metabolic rate in mammals. *Physiological Reviews*, 77(3), 731–758. <https://doi.org/10.1152/physrev.1997.77.3.731>
- Sheng, Z.-H., & Cai, Q. (2012). Mitochondrial transport in neurons: Impact on synaptic homeostasis and neurodegeneration. *Nature Reviews Neuroscience*, 13(2), 77–93. <https://doi.org/10.1038/nrn3156>
- Valencia, M., Kim, S. R., Jang, Y., & Lee, S. H. (2021). Neuronal autophagy: Characteristic features and roles in neuronal pathophysiology. *Biomolecules & Therapeutics*, 29(6), 605–614. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2021.012>
- Wang, Q., Sun, Y., Li, T. Y., & Auwerx, J. (2026). Mitophagy in the pathogenesis and management of disease. *Cell Research*, 36(1), 11–37. <https://doi.org/10.1038/s41422-025-01203-7>
- Wei, Y., Chiang, W.-C., Sumpter, R., Mishra, P., & Levine, B. (2017). Prohibitin 2 is an inner mitochondrial membrane mitophagy receptor. *Cell*, 168(1–2), 224–238.e10. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.11.042>
- Xu, D., Shan, B., Sun, H., Xiao, J., Zhu, K., Xie, X., Li, X., Liang, W., Lu, X., Qian, L., & Yuan, J. (2016). USP14 regulates autophagy by suppressing K63 ubiquitination of Beclin 1. *Genes & Development*, 30(15), 1718–1730. <https://doi.org/10.1101/gad.285122.116>
- Xu, X., Pang, Y., & Fan, X. (2025). Mitochondria in oxidative stress, inflammation and aging: From mechanisms to therapeutic advances. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 10(1), 190. <https://doi.org/10.1038/s41392-025-02253-4>
- Ziviani E. (2026). Comunicazione personale.