

I substrati energetici del muscolo scheletrico e cardiaco: aspetti biochimici e nutrizionali

Noris Siliprandi

N. Siliprandi

*Istituto di Chimica Biologica
dell'Università di Padova
Centro per lo studio della Fisiologia
del Mitocondrio del CNR*

Premessa

La ragione del grande interesse degli atleti per la loro nutrizione deriva dal legittimo convincimento che questo essenziale fattore della preparazione atletica sia importante, se non critico, per il rendimento nella competizione sportiva.

La produttività di tanto interesse è in larga misura dipendente dalla razionalità delle conoscenze della macchina metabolica e della sua ottimale « alimentazione ».

Fra lo scetticismo di chi ancora ritiene che la prestazione sportiva non sia in alcun modo influenzabile dal tipo e dalla quantità della dieta e l'ottimismo eccessivo di chi si illude di trarre dal solo trattamento dietetico risultati straordinari, vi è ampio spazio per una applicazione razionale dell'informazione scientifica, che impone di evitare dogmi ed assiomi, come pure illazioni ed extrapolazioni. Per restare entro questi limiti mi atterrò ad alcune informazioni tratte dalla materia di cui mi occupo suggerendone, se del caso, o lasciandone intravedere, l'importanza applicativa.

Ciascuna delle fasi della prestazione muscolare nella competizione sportiva è caratterizzata da un particolare tipo di spesa energetica. La fase anaerobica lattacida caratteristica degli esercizi del 1° gruppo, brevi e violenti, è soste-

nuta fondamentalmente dalle riserve di ATP e fosfocreatina.

La fase anaerobica lattacida, nella quale l'acido lattico derivante dai glucidi consente al muscolo di contrarre un « debito di ossigeno » (come nelle prestazioni del 2° gruppo, ad esempio la corsa dei 400 metri), è sostenuta fondamentalmente dalle riserve di glicogeno del muscolo e del fegato.

La fase aerobica condizionata dal limite imposto dalla capacità di consumo di ossigeno, come negli esercizi del 3° gruppo (esempio marcia di resistenza), è sostenuta fondamentalmente dalla ossidazione degli acidi grassi e dei corpi chetonici che, per essere completa, richiede tuttavia disponibilità di metaboliti glucidici.

Il potenziale di fosfato del muscolo

Il substrato immediato della contrazione muscolare è l'ATP. Più precisamente è l'energia conservata nel suo legame anidridico γ che viene convertita in energia contrattile. Pertanto, il lavoro muscolare è primariamente condizionato dalla disponibilità di ATP. I sistemi produttori di ATP sono quello mi-

tocondriale della fosforilazione ossidativa, dipendente da ossigeno, e quello citoplasmatico della glicolisi, capace di svolgersi anche in condizioni anaerobiche. L'ATP così formato non può tuttavia accumularsi nel muscolo al di sopra di un limite assai modesto, corrispondente a circa 7 μ mol per mg. di proteina. Questa quantità non è in grado di assicurare la contrazione per più di uno o due secondi. Ne consegue che la scorta di ATP deve essere rinnovata in continuazione.

E' la fosfocreatina, presente nel muscolo in quantità 10 volte circa più elevate, che assicura un rifornimento di ATP abbastanza consistente nella reazione catalizzata dalla creatina chinasi (ATP: creatina fosfotransferasi). Quando il ritmo di produzione metabolica di ATP supera quello della sua utilizzazione, nella stessa reazione, decorrente in senso opposto, si forma fosfocreatina. La fosfocreatina costituisce quindi un deposito di energia immediatamente utilizzabile, atto a « tamponare » le esigenze energetiche sollecitate da una richiesta improvvisa ed a consentire un lavoro anaerobico alattacido.

L'energia libera di idrolisi del gruppo

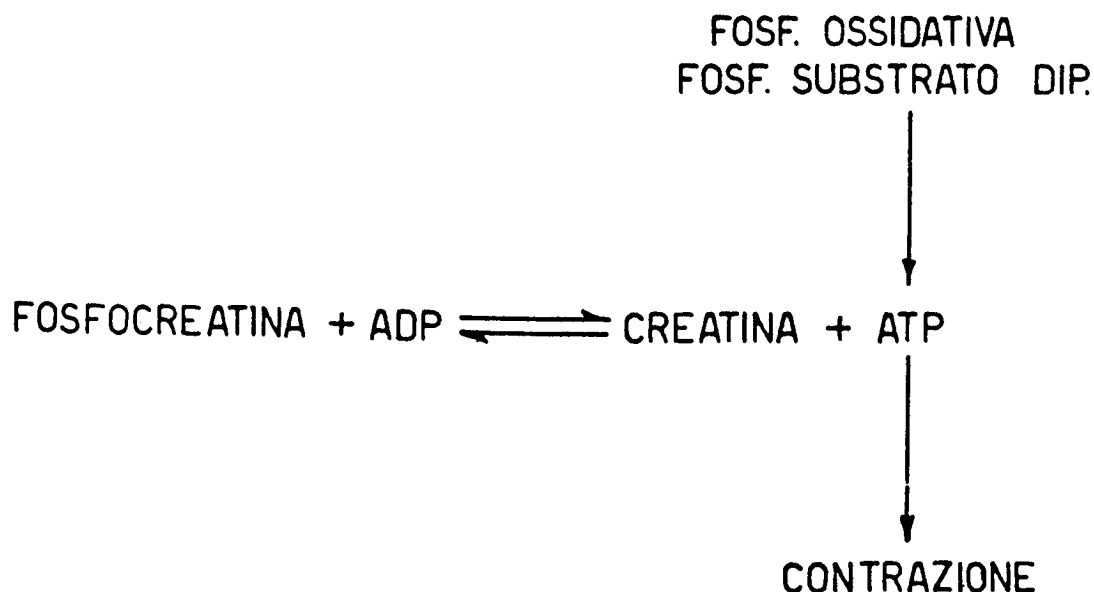


Fig. 1 - Formazione, utilizzazione e deposito dei radicali fosforici ricchi di energia dell'ATP.

fosforico della fosfocreatina, di circa 3000 cal/mole superiore a quella contenuta nel legame pirofosforico dell'ATP, conferisce maggiore facilità di trasferimento del gruppo fosforico dalla fosfocreatina all'ADP, che non dall'ATP alla creatina. Ciò implica che la fosfocreatina è indotta a restituire con immediata facilità il radicale fosforico ceduto pro tempore dall'ATP. E' inoltre molto significativo il fatto che la fosforilazione della creatina è favorita a pH elevati (intorno a 8,5), mentre il trasferimento del gruppo fosforico dalla fosfocreatina all'ATP è favorito a pH bassi (intorno al 6,5). Questa circostanza agevola ulteriormente la formazione di ATP, allorché l'accumulo di acido lattico induce una diminuzione del pH.

Nei mammiferi sono presenti tre forme isoenzimatiche di creatina chinasi. Quella predominante nei muscoli lisci, in quanto presente anche nel cervello, è nota come isoenzima di tipo cerebrale. Nel miocardio e nei muscoli striati

prevale l'isoenzima di tipo muscolare. Questi due tipi sono omodimerici, in quanto costituiti da due subunità identiche. Il terzo isoenzima è eterodimerico, in quanto costituito da una subunità di tipo cerebrale ed una di tipo muscolare. La possibilità di svelare l'uno o l'altro di questi isoenzimi nel sangue ha offerto alla diagnostica di laboratorio un efficace mezzo per accertare la localizzazione di eventuali lesioni di tipo necrotico. Anche uno sforzo prolungato ed intenso può provocare un rilascio di creatina chinasi dal muscolo. Tale rilascio si verifica quando il contenuto muscolare di ATP si è fortemente ridotto. Sembrerebbe quindi che un livello critico di ATP sia necessario per la ritenzione intracellulare di certe proteine.

Recenti ricerche di topografia enzimatica nel muscolo scheletrico e cardiaco hanno evidenziato la diversa localizzazione di almeno due isoenzimi della creatina chinasi. Come mostra la Fig. 2, uno è localizzato sulla superficie ester-

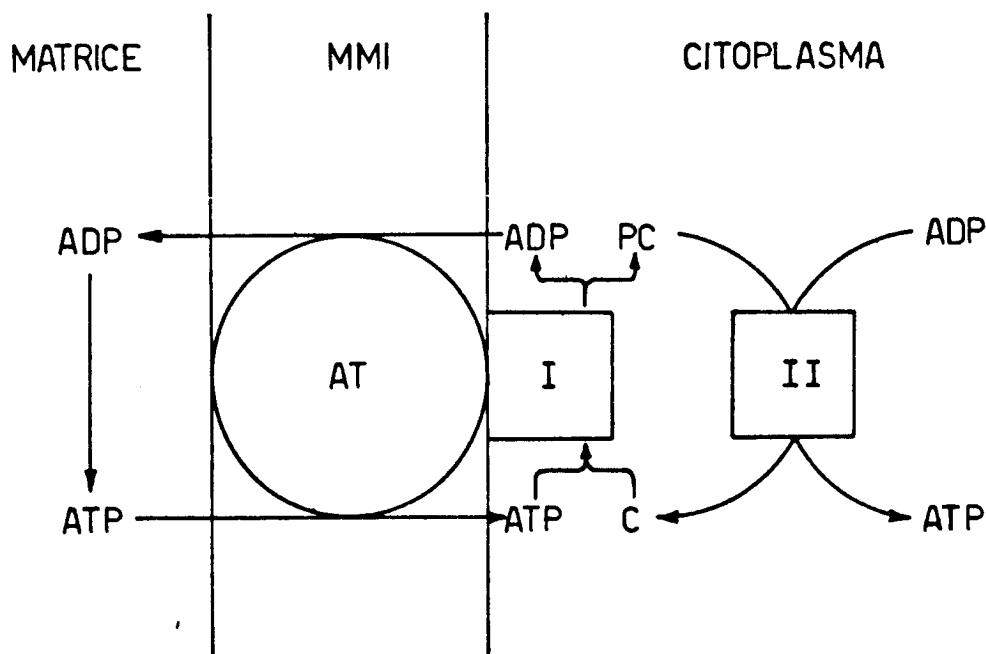


Fig. 2 - Connessione funzionale fra traslocasi degli adenin nucleotidi, creatina chinasi mitocondriale ed extramitocondriale.

MMI = Membrana mitocondriale interna

AT = Adenilato traslocasi

I = Creatina chinasi (isoenzima mitocondriale)

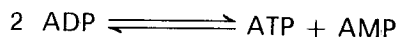
II = Creatina chinasi (isoenzima extramitocondriale).

na della membrana interna dei mitocondri e condiziona, di concerto con la adenilato traslocasi, lo scambio ADP-ATP fra citoplasma e mitocondrio. Poiché nel momento stesso in cui viene rilasciato dalla adenilato traslocasi, l'ATP diventa substrato della creatina chinasi, è in sostanza la concentrazione di creatina fra le due membrane mitocondriali che controlla la sintesi mitocondriale di ATP. E' compito dell'altro isoenzima, esterno al mitocondrio, riconvertire la fosfocreatina in ATP, assecondando le esigenze della contrazione. Conseguentemente la creatina non va solo considerata come un semplice deposito di energia, ma anche come un fattore di regolazione della produzione di ATP.

Va infine ricordato che i veri substrati della creatina chinasi sono i complessi Mg^{2+} -ADP e Mg^{2+} -ATP; infatti in assenza di Mg^{2+} la reazione decorre molto lentamente. La funzione regolatrice degli Mg^{2+} sulla respirazione mitocondriale viene interpretata come conseguenza della stimolazione dell'attività della creatina chinasi da parte di questi ioni.

La dipendenza da Mg^{2+} di questa, come di altre reazioni legate alla produzione ed all'utilizzazione dell'ATP e la funzione primaria di questo catione per il mantenimento della integrità strutturale delle membrane cellulari ed infracellulari, suggerisce l'opportunità di un controllo del contenuto in Mg^{2+} nel sangue e nelle urine nell'esercizio muscolare, anche in vista di un adeguato apporto dietetico di questo catione.

Nella fibra muscolare è molto attiva la adenilato chinasi che catalizza la seguente reazione:



Questa reazione ha lo scopo di produrre ATP anche quando le usuali fonti di produzione venissero ad inaridirsi. Inoltre la formazione di AMP ha lo scopo di stimolare la glicolisi ed il ciclo di Krebs e quindi la produzione metabolica di ATP. L'AMP è infatti il più attivo effettore positivo della fosfofruttochinasi, l'enzima che regola il processo glicolitico, e della isocitrico deidrogenasi, uno degli enzimi regolatori del ciclo di Krebs.

Notevole interesse riveste anche la trasformazione dell'AMP in IMP e NH_3 ad opera della adenilato deaminasi. L'ammoniaca che si forma in questa reazione ha lo scopo di neutralizzare l'acido lattico che si accumula nel muscolo. Si noti che le circostanze che portano ad accumulo di AMP, e quindi di IMP e NH_3 , sono le stesse che inducono formazione di acido lattico. Nel muscolo a riposo l'IMP viene di nuovo riconvertito in AMP a spese di acido aspartico che si converte in fumarico (Fig. 3).

A conclusione di queste considerazioni va sottolineata la funzione primaria dell'ATP nella trasformazione e conservazione dell'energia. Nessun altro difosfonucleotide può sostituire l'ADP nei processi primari (fosforilazione ossidativa e fosforilazione legata al substrato) che generano P, così come nessun altro trifosfonucleotide può sostituire l'ATP nei processi energetici. Questo elevato grado di specificità non è solo espressione delle proprietà uniche della molecola dell'ATP, ma anche del fatto che la macchina biologica e muscolare in particolare è stata disegnata su misura per l'ATP e viceversa.

Oltre al potenziale di fosfato la cellula muscolare dispone del sistema energetico rappresentato dai gradienti elettrochimici degli ioni Ca^{2+} , K^+ , Na^+ e H^+ che si instaurano a spese dell'energia redox commutata nella catena respiratoria o dello stesso ATP. Questi gradienti costituiscono una condizione indispensabile non solo per la contrazione del muscolo, ma per la stessa generazione di ATP.

I glucidi come substrato di elezione nell'esercizio muscolare intenso

La rigenerazione di ATP da ADP e P_i è dipendente dall'utilizzazione metabolica di vari substrati: glucosio, glicogeno, acidi grassi, corpi chetonici ed aminoacidi. Tale utilizzazione implica due problemi:

1) la natura dei meccanismi che controllano la disponibilità ed il ritmo di ossidazione di questi substrati, in armonia con la domanda energetica del muscolo;

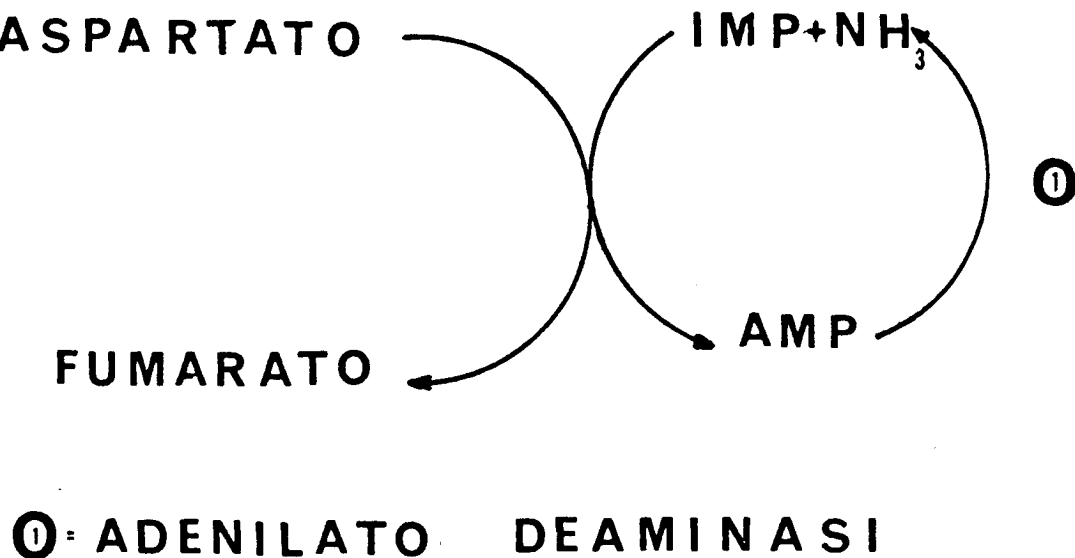


Fig. 3 - Deaminazione ed aminazione dell'AMP

2) la preferenza per i vari substrati dei muscoli di vario tipo e le relazioni esistenti fra natura del substrato e fisiologia del muscolo. La risoluzione di questo secondo problema deriva da ricerche di biochimica e fisiologia comparate, il cui interesse è marginale rispetto all'aspetto applicativo che si propone il presente scritto. Merita invece qualche considerazione il primo problema.

Nell'uomo a riposo il 30 per cento del consumo di ossigeno spetta ai muscoli scheletrici. La maggior parte di questo ossigeno alimenta l'ossidazione degli acidi grassi, solo il 10-15 per cento quella dei glucidi. Durante l'esercizio i muscoli possono consumare fino al 90 per cento dell'ossigeno disponibile e la quota spettante al metabolismo glucidico aumenta proporzionalmente. Nell'esercizio muscolare intenso, non assistito da adeguato rifornimento di ossigeno, la quota di utilizzazione dei glucidi diventa massima e produce quantità pressoché stechiometriche di acido lattico, prodotto terminale della glicolisi anaerobica.

Il muscolo è quindi in grado di utilizzare a scopo energetico sia i glucidi che i lipidi, la quota di utilizzazione relativa essendo dipendente dal tipo e dal-

la durata dell'esercizio ed anche dal tipo di alimentazione previamente adottata.

Gran parte del glucosio consumato dai muscoli proviene dal fegato. L'esercizio muscolare induce infatti una deplezione proporzionale delle riserve di glicogeno del fegato. La capacità del muscolo di estrarre glucosio dal sangue è proporzionale alla sua attività, nonostante che il livello insulinemico non si modifichi, oppure diminuisca. Ciò indica che una deficienza intracellulare di glucosio è capace per sé di stimolare assunzione di glucosio.

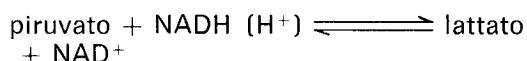
A riposo l'efflusso di glucosio dal fegato supera il ritmo di captazione da parte del muscolo; è il cervello che in questa condizione utilizza la maggior quota del glucosio disponibile nel sangue. L'esercizio muscolare sottrae al cervello quantità proporzionali di glucosio. Tuttavia, quando il consumo di glucosio da parte del muscolo diventa prevalente, il cervello si adatta a consumare corpi chetonici, che il fegato produce in maggior quantità.

La formazione di acido lattico nell'esercizio intenso è imposta dalla necessità di rigenerare continuamente il NAD⁺ citoplasmatico necessario per lo

svolgimento della glicolisi. La concentrazione di NAD è molto limitata in tutte le cellule e nell'acqua muscolare la sua concentrazione non è superiore a 1 mM.

Considerando che un uomo di 70 kg possiede 25 kg di muscolo, il cui contenuto in acqua (70 per cento del peso fresco) è di circa 17,5 kg, la quantità totale di NAD nei muscoli non supera le 17,5 μ mol. La capacità di queste per l'idrogeno è equivalente a quella rilasciata da 9 μ mol di glucosio nella fase glicolitica. Poiché la trasformazione di 1 μ mole di glucosio in acido piruvico produce 50 calorie, la quantità di glucosio richiesta per ridurre tutto il NAD⁺ disponibile nei muscoli può produrre un massimo di 450 calorie, sufficienti per sostenere un esercizio moderato di durata alquanto limitata. La necessità di una continua rigenerazione di NAD⁺ è quindi condizione necessaria per l'utilizzazione del glucosio nel processo glicolitico.

La riossidazione del NADH (H⁺) può avvenire nel processo della respirazione mitocondriale con formazione di acqua, oppure, in assenza di ossigeno, con formazione di acido lattico ad opera della lattico deidrogenasi citoplasmatica:



Poiché l'equilibrio della reazione favorisce la formazione del lattato ($\Delta G^{\circ} = -6 \text{ Kcal/mole}$), la lattico deidrogenasi del muscolo assolve egregiamente il compito della rigenerazione continua del NAD⁺ necessario per il flusso del glucosio nella glicolisi.

L'acido lattico che si forma viene riversato nel sangue e portato al fegato ed al cuore che lo utilizzano, il primo per risintetizzare glucosio, il secondo per ossidarlo a CO₂ con ricavo netto di energia. La complementarietà fra muscolo e fegato in ordine a questo processo è illustrata nella Fig. 4. Il fegato cede al muscolo glucosio e ne riceve acido lattico che riconverte in glucosio: « ciclo di Cori ». La conversione dell'acido lattico in glucosio nel processo della gluconeogenesi costa al fegato 6 μ mol di ATP per ogni molecola di glucosio neoformata. La stessa figura mostra come il muscolo rilasci al fegato anche alanina, il cui gruppo aminico viene dal fegato incorporato nell'urea ed in tale forma eliminato con le urine. Ciò indica che parte del piruvato che si forma nel muscolo, anziché ridursi ad acido lattico viene convertita in alanina, accettando per transaminazione il gruppo aminico di altri aminoacidi glucogenici che il muscolo utilizza oltre al glucosio per fini energetici.

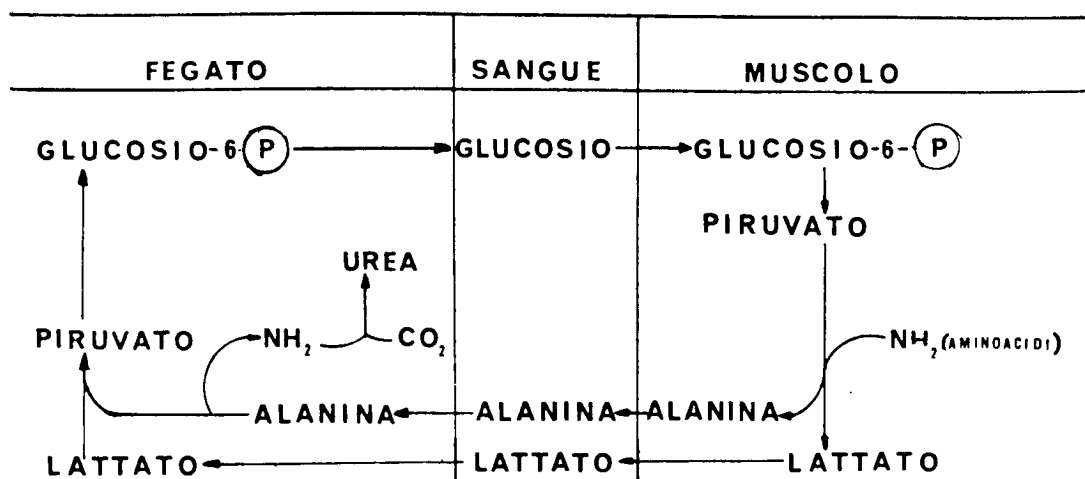


Fig. 4 - Circolo « muscolo-fegato » o « Ciclo di Cori ».

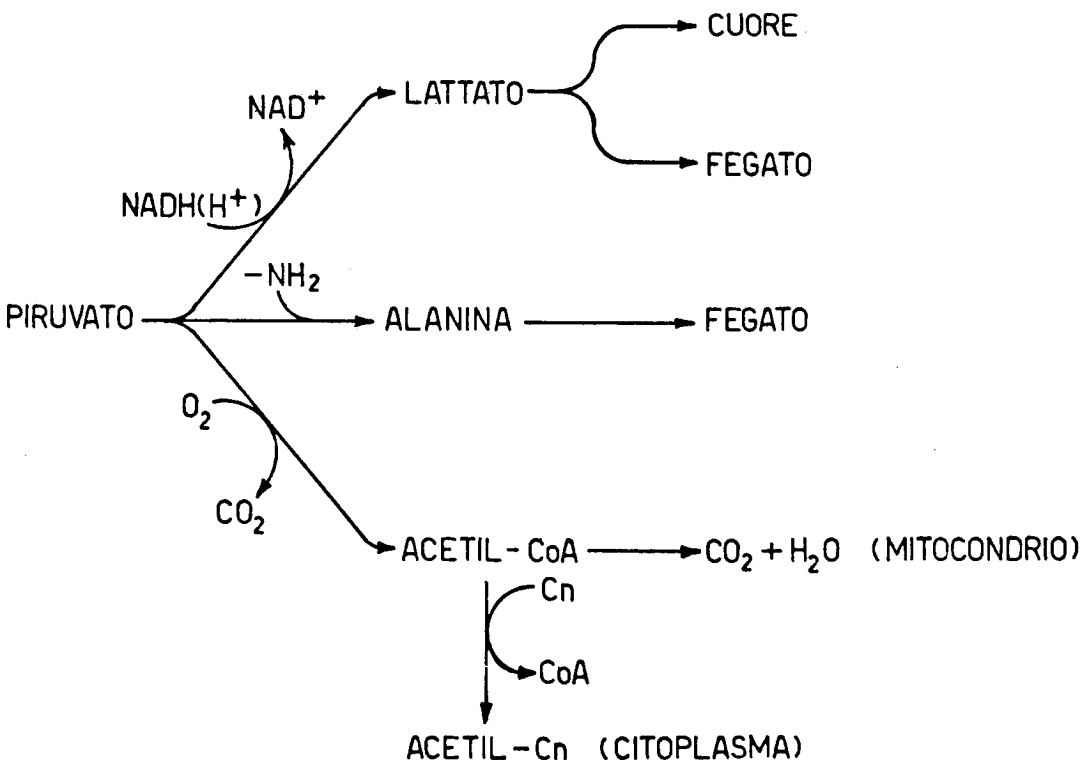


Fig. 5 - Destino metabolico del piruvato.

La formazione di alanina nel muscolo ed il suo trasporto al fegato costituiscono un modo di trasporto dei gruppi- NH_2 non tossico, alternativo a quello tossico rappresentato dal trasporto ematico dell'ammoniaca.

La Fig. 5 riassume il destino metabolico del piruvato e la distribuzione intracellulare ed intertissutale dei relativi prodotti.

La produzione di acido lattico nel muscolo e la sua utilizzazione da parte del cuore e del fegato solleva il problema del perché lo stesso enzima, la lattico deidrogenasi, sia propenso a catalizzare la stessa reazione nel senso della formazione dell'acido lattico nel muscolo ed in direzione opposta nel fegato e nel cuore. La risposta è implicita nella natura isoenzimatica di questo enzima, che si ritrova nei vari tessuti dei vertebrati in 5 forme dello stesso peso molecolare (134.000), ma costituite da subunità diverse. Le 5 forme isoenzimati-

che della lattico deidrogenasi derivano infatti dalle 5 combinazioni possibili di due catene polipeptidiche codificate da due geni, indicate con le lettere M (muscolo) ed H (cuore) rispettivamente.

L'isoenzima predominante nel muscolo è costituito da 4 subunità M, (M_4), quello predominante nel cuore da 4 subunità H, (H_4). Gli altri tre isoenzimi hanno rispettivamente la composizione M_3H_1 , M_2H_2 , e M_1H_3 . Questi isoenzimi esistono in proporzioni diverse nei vari tessuti. Questa circostanza ha consentito importanti applicazioni diagnostiche per le malattie cardiache ed epatiche. Lo studio cinetico degli isoenzimi della lattico deidrogenasi ha messo in evidenza che, sebbene essi catalizzino la stessa reazione, si differenziano per i valori delle K_m e delle V_{max} relative al piruvato. Così l'enzima predominante nel muscolo scheletrico e tipico delle fibre bianche di questo ha una bassa K_m ed una elevata V_{max} , per cui è propenso a ridurre il piruvato in lattato.

Dunque, le proprietà molecolari razionalizzano le peculiarità funzionali delle varie forme della lattico deidrogenasi ed offrono una esauriente risposta al quesito.

I lipidi e i corpi chetonici come substrati preferenziali nel lavoro muscolare aerobico

I mitocondri del muscolo cardiaco e scheletrico, in particolare delle fibre rosse di quest'ultimo, ossidano acidi grassi e corpi chetonici ad un ritmo molto elevato ed in genere superiore a quello degli altri tessuti. Il vantaggio di utilizzare i lipidi, in aggiunta o al posto dei glucidi, deriva dalla efficienza di deposito dei lipidi. Tenendo conto della resa calorica dei lipidi rispetto a quella dei glucidi e della loro capacità di depositarsi in forma completamente anidra, il rapporto « energia depositata/peso del deposito » è per i lipidi 8 volte circa più elevato che per i glucidi.

Gli ampi depositi di trigliceridi dell'organismo possono essere considerati un « pool » di acidi grassi in attesa di utilizzazione da parte dei muscoli.

Non per nulla ogni segnale che induca attività muscolare stimola anche una concomitante lipolisi nel tessuto adiposo ed un efflusso di acidi grassi liberi nel sangue.

Esperimenti di perfusione con C¹⁴-palmitato su soggetti umani hanno dimostrato che gli acidi grassi costituiscono il 50-60 per cento dei substrati utilizzati durante un esercizio moderato. Anche i trigliceridi del tessuto muscolare vengono utilizzati nell'esercizio muscolare.

I corpi chetonici, originariamente considerati prodotti di un metabolismo patologico, costituiscono per il muscolo scheletrico e cardiaco, ed anche per il cervello, una consistente fonte di energia. Negli individui fisicamente efficienti, l'esercizio muscolare determina una cospicua diminuzione dei corpi chetonici ematici. Poiché i corpi chetonici, prodotti di ossidazione parziale degli acidi grassi, si formano nel fegato, la loro utilizzazione da parte del muscolo costituisce un ulteriore aspetto della

complementarietà fisiologica di questi due tessuti.

In un recente studio su ratti allenati al nuoto Askew e coll. hanno dimostrato che l'allenamento induce un significativo aumento della citocromo ossidasi, tipico « marker » dei mitocondri, e della capacità di ossidazione degli acidi grassi e soprattutto dei corpi chetonici.

L'aumento di quest'ultima trova riscontro in una duplicazione o triplicazione degli enzimi adibiti al metabolismo dei corpi chetonici: la tioforasi (3-chetoacil: CoA trasferasi) e la tiochinasi (acetoacetil: CoA sintetasi) muscolari. Nelle stesse condizioni la produzione epatica dei corpi chetonici non presenta variazione alcuna. Queste osservazioni rivestono importanza applicativa, in quanto spiegano perché e come gli individui fisicamente allenati tollerino meglio dei sedentari una dieta iperlipidica.

Ma vi è un'altra implicazione che investe direttamente il tipo di alimentazione nell'allenamento. La somministrazione ad un atleta di una dieta iperglucidica forza i suoi muscoli ad utilizzare esclusivamente, o prevalentemente, i glucidi, in tal modo abolendo la induzione degli enzimi adibiti all'ossidazione dei corpi chetonici e degli acidi grassi e restringendo conseguentemente altre importanti possibilità di approvvigionamento energetico del muscolo.

Ancora più spiccata la preferenza del miocardio per i corpi chetonici. Già nel 1961 Krebs e coll. dimostravano che acetoacetato aggiunto ad omogenati di muscolo cardiaco veniva prontamente e quantitativamente ossidato a CO₂, mentre in condizioni anaerobiche veniva ridotto ad acido β -ossibutirrico.

Risultati analoghi venivano ottenuti su cuore perfuso, che utilizza l'acetoacetato in modo assolutamente preferenziale rispetto ad altri substrati, tanto che il consumo di glucosio, contemporaneamente aggiunto al liquido di perfusione, ne veniva completamente soppresso. Esperimenti in vivo hanno dimostrato che l'utilizzazione dell'acetoacetato è proporzionale al suo livello nel sangue e che, man mano che la sua uti-

lizzazione si accentua, decresce in parallelo quella del glucosio e degli acidi grassi.

Il trasporto degli acidi grassi mediato dal sistema « carnitina dipendente »

Ricerche condotte intorno agli anni '60 dimostrarono che l'accesso degli acidi grassi a lunga catena al sito intramitochondriale della β -ossidazione è condizionato dalla carnitina e da un sistema enzimatico « carnitina dipendente ». La pressoché contemporanea dimostrazione che la carnitina, in quanto atta ad accettare anche l'acetile dell'acetil CoA, rende disponibile questo coenzima per le sue molteplici funzioni catalitiche ed in particolare per il flusso dell'acetile nel ciclo di Krebs, convalidava la funzione primaria della carnitina nel metabolismo energetico, specie del muscolo scheletrico e cardiaco.

La carnitina (acido β -idrossi- γ -trimetilamino butirrico) era nota fin dal 1905 quando venne isolata da estratti di carne. Nel 1952 Carter e coll. la identificarono con la vitamina B₇, un fattore di accrescimento del *Tenebrio Molitor*, il verme della farina che, in assenza di carnitina muore compresso dal grasso che progressivamente accumula, in quanto incapace di utilizzarlo. Situazione analoga è stata recentemente evidenziata nel cuore di giovani ratti, sottoposti ad una dieta ricca di acido erucico. Questo acido grasso è restio a varcare la membrana interna dei mitocondri e quindi ad essere ossidato: si accumula quindi

nel citoplasma esterificato nei trigliceridi provocando una steatosi cardiaca molto vistosa. Tuttavia, ove il sistema traslocatore degli acili venga stimolato per somministrazione di carnitina, l'infiltrazione grassa del miocardio viene considerevolmente ridotta.

Come mostra la Fig. 6, la carnitina, per opera della carnitina: CoA acil trasferasi può accettare acili dagli acil CoA e restituirli al CoA nella reazione decorrente nel senso opposto. Si tratta di una reazione che ricorda quella catalizzata dalla creatina chinasi. Come la creatina serve a depositare radicali fosforici, così la carnitina assolve al compito di immagazzinare acili, disimpegnando il CoA. In più la carnitina assolve la funzione di trasporto degli acili attraverso le membrane mitocondriale interna, trasferendoli dai siti extramitocondriali, in cui gli acidi grassi vengono attivati ad acil CoA, al sito intramitocondriale in cui gli acili vengono ossidati.

Questa primaria funzione della carnitina è illustrata nella Fig. 7. Questa funzione di trasporto mediata dalla carnitina è essenziale, in quanto il CoA è incapace di passare attraverso la membrana mitocondriale interna, rimanendo compartimentato nei due « pools » extra ed intramitocondriali. Gli enzimi che cooperano in questo processo di trasferimento sono la carnitina: CoA acil trasferasi esterna (I), la carnitina: CoA acil trasferasi interna (II) e la carnitina traslocasi. Quando gli acili devono essere trasportati entro il mitocondrio, la trasferasi I, localizzata sulla superficie

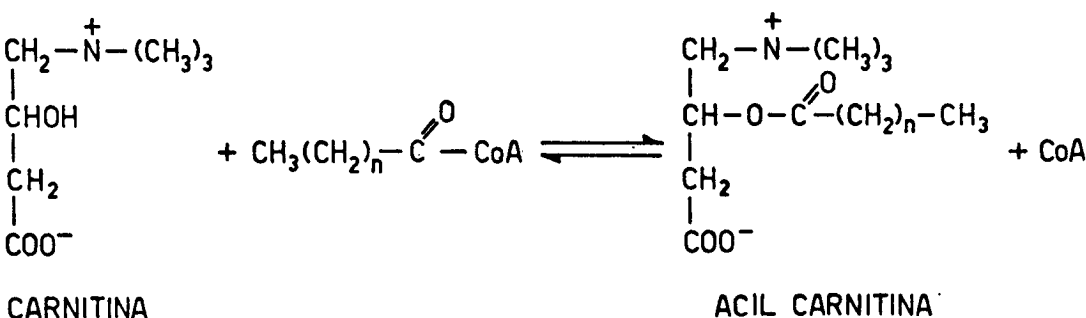


Fig. 6 - Reazione di transacilazione fra CoA e carnitina, catalizzata dalla CoA: carnitina acil trasferasi.

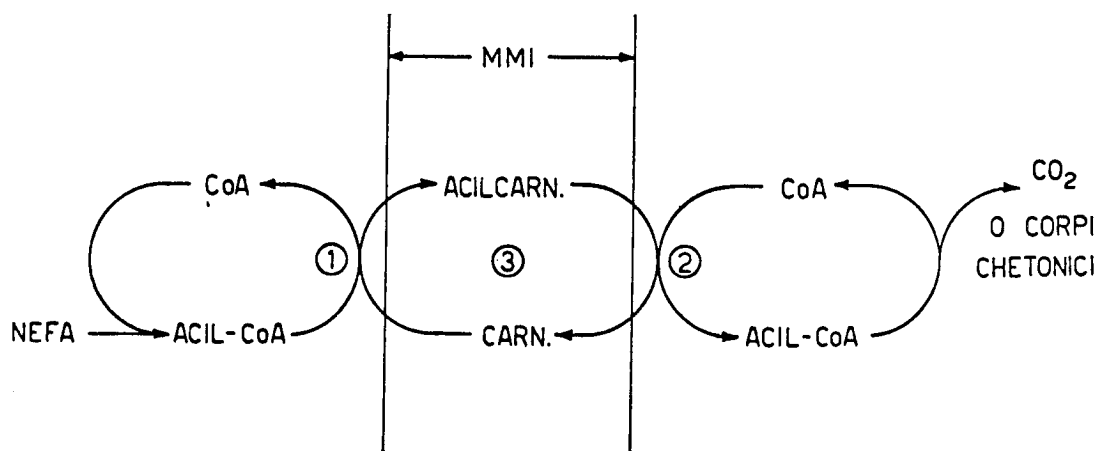


Fig. 7 - Sistema di trasporto transmembrana degli acili «carnitina dipendente».

1 = Carnitina acil trasferasi esterna (I)

2 = Carnitina acil trasferasi interna (II)

3 = Carnitina traslocasi

MMI = Membrana mitocondriale interna.

esterna della membrana interna, catalizza il trasferimento degli acili dal CoA extramitocondriale sulla carnitina, mentre la trasferasi II, localizzata sulla superficie interna della membrana interna, trasferisce gli acili dalla carnitina al CoA intramitocondriale. La carnitina traslocasi trasporta acilcarnitina e carnitina attraverso la membrana interna dei mitocondri in un processo di scambio che obbedisce alla rigorosa stechiometria di 1 : 1. Infatti, per ogni molecola di carnitina, o di acetilcarnitina, che trasporta entro il mitocondrio, la traslocasi esporta una molecola di carnitina, o di acetilcarnitina, all'esterno. E' un meccanismo analogo a quello della traslocazione degli adenin nucleotidi, che rende conto della costanza del pool intramitocondriale di carnitina. In questo sistema di trasporto la carnitina rappresenta il fattore estrinseco, modificabile.

Tutti gli animali, uomo compreso, sono capaci di sintetizzare la carnitina, ma è dubbio che riescano a sintetizzarla nella quantità ottimale. Pertanto il problema se la carnitina « endogena » sia in ogni circostanza sufficiente a soddisfare il fabbisogno dell'organismo è ancora aperto. Nella biosintesi della carnitina lo scheletro carbonioso è fornito dalla lisina, i gruppi metilici della metionina.

Come mostra la Fig. 8, tutti i tessuti sono in grado di sintetizzare la γ -butirobetaina, ma solo il fegato è capace di trasformare questo precursore in carnitina. E' quindi il fegato la sorgente della carnitina « endogena », quella « esogena » proviene al sangue dall'assorbimento intestinale di quella introdotta con la dieta. I tessuti che utilizzano la carnitina, e in particolare i muscoli, la catturano dal sangue, anche contro gradiente. Va sottolineato come anche per la carnitina muscoli scheletrici e miocardio siano tributari del fegato.

Anche l'acetile può essere reversibilmente trasferito dal CoA alla carnitina e poiché l'acetil CoA, oltre che nella B-ossidazione degli acidi grassi, si forma anche nella decarbossilazione ossidativa del piruvato, la carnitina è anche fattore di regolazione del metabolismo glucidico.

In esperimenti su mitocondri di cuore, in corso di svolgimento, abbiamo osservato che in presenza di carnitina e piruvato, qualora il ciclo di Krebs venga bloccato da malonato, si accumulano nel mezzo di incubazione quantità di acetilcarnitina proporzionali alle quantità disponibili di carnitina (Fig. 9).

Questo risultato dimostra che l'acetile può effluire dai mitocondri di cuore, e presumibilmente anche da quelli di

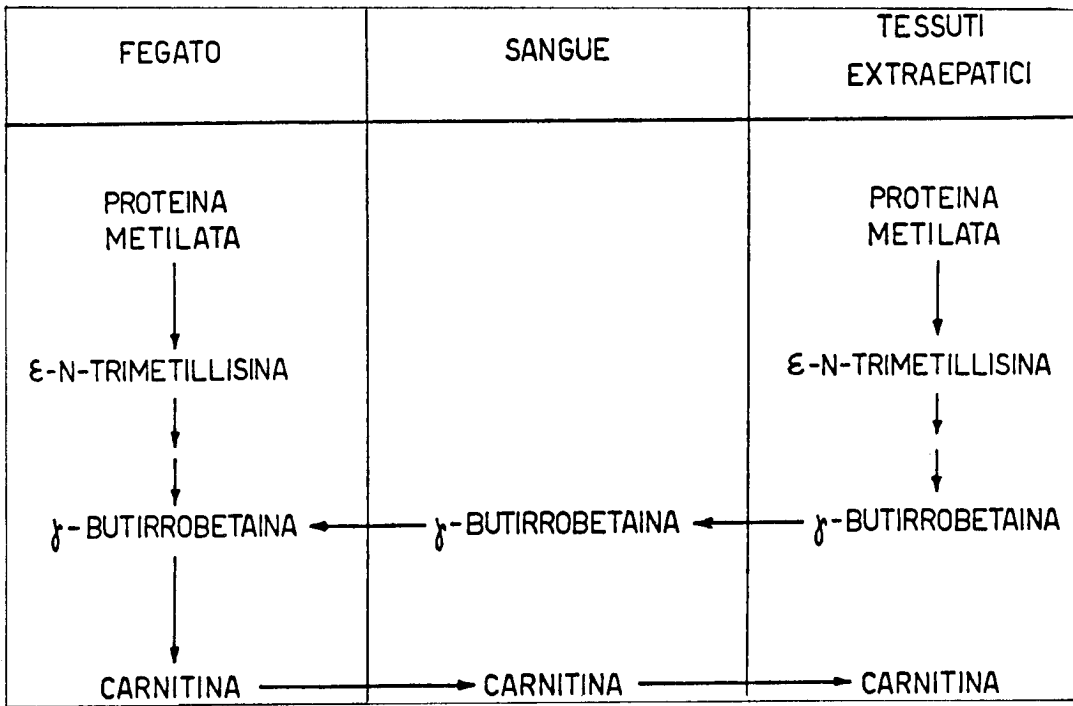


Fig. 8 - Biosintesi della carnitina e compartimentazione delle sue fasi nei vari tessuti.

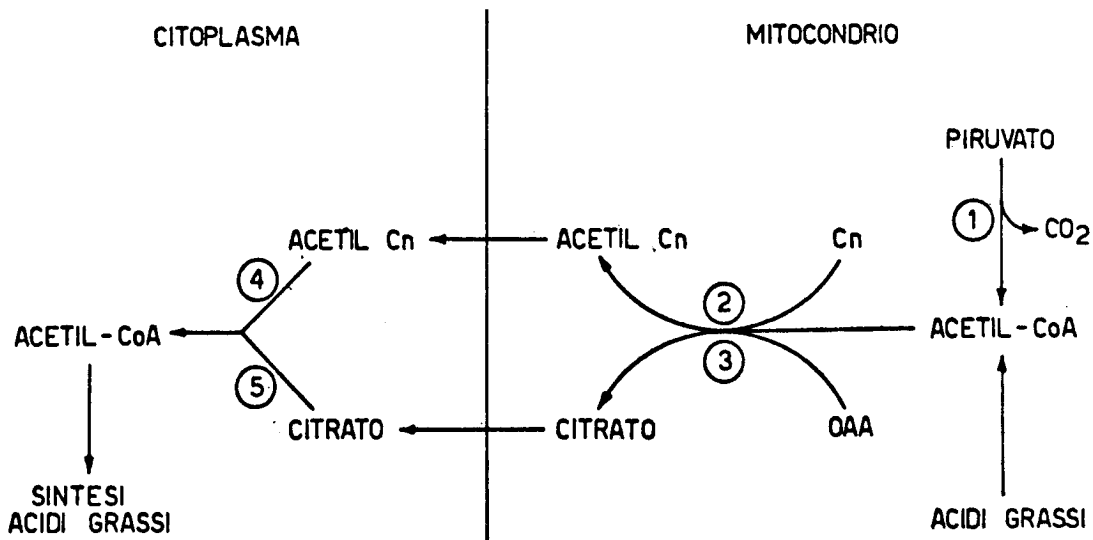


Fig. 9 - Trasporto bimodale degli acetili attraverso la membrana mitocondriale interna.

- 1 = Piruvato deidrogenasi
- 2 = Acetil CoA: carnitina acetil trasferasi interna (II)
- 3 = Citrato sintetasi
- 4 = Acetil CoA: carnitina acetil trasferasi esterna (I)
- 5 = Citrato liasi.

muscolo scheletrico, non solo incorporato nel citrato, ma anche e soprattutto in forma di acilcarnitina.

Quale è il significato di questo trasferimento di acetili dai mitocondri al citoplasma? L'interpretazione più razionale, che stiamo cercando di verificare con esperimenti su cuore perfuso, investe il meccanismo di recupero del muscolo da una prestazione intensa, che abbia portato all'esaurimento delle scorte di ATP e di fosfocreatina. Il loro ripristino è ovviamente dipendente dal metabolismo dei glucidi o dei lipidi.

Sappiamo tuttavia che sia il glucosio, come gli acidi grassi, per essere comun- que metabolizzati, devono venir attivati:

il glucosio in glucosio-6-P, gli acidi grassi in acil CoA. Questa attivazione richiede una spesa di ATP: ma ove questo sia stato esaurito, il muscolo si verrebbe a trovare nella impossibilità di riattivare il suo metabolismo e di ripristinare le sue scorte energetiche, ove non disponesse di substrati già attivati, suscettibili di essere metabolizzati senza impegno preliminare di energia. I due metaboliti che rispondono a questo requisito sono l'acetyl CoA e l'acilcarnitina.

Nelle condizioni prospettate il piruvato, eventualmente presente, sarebbe stato ridotto a lattato dall'eccesso di equivalenti riducenti accumulati. Mentre

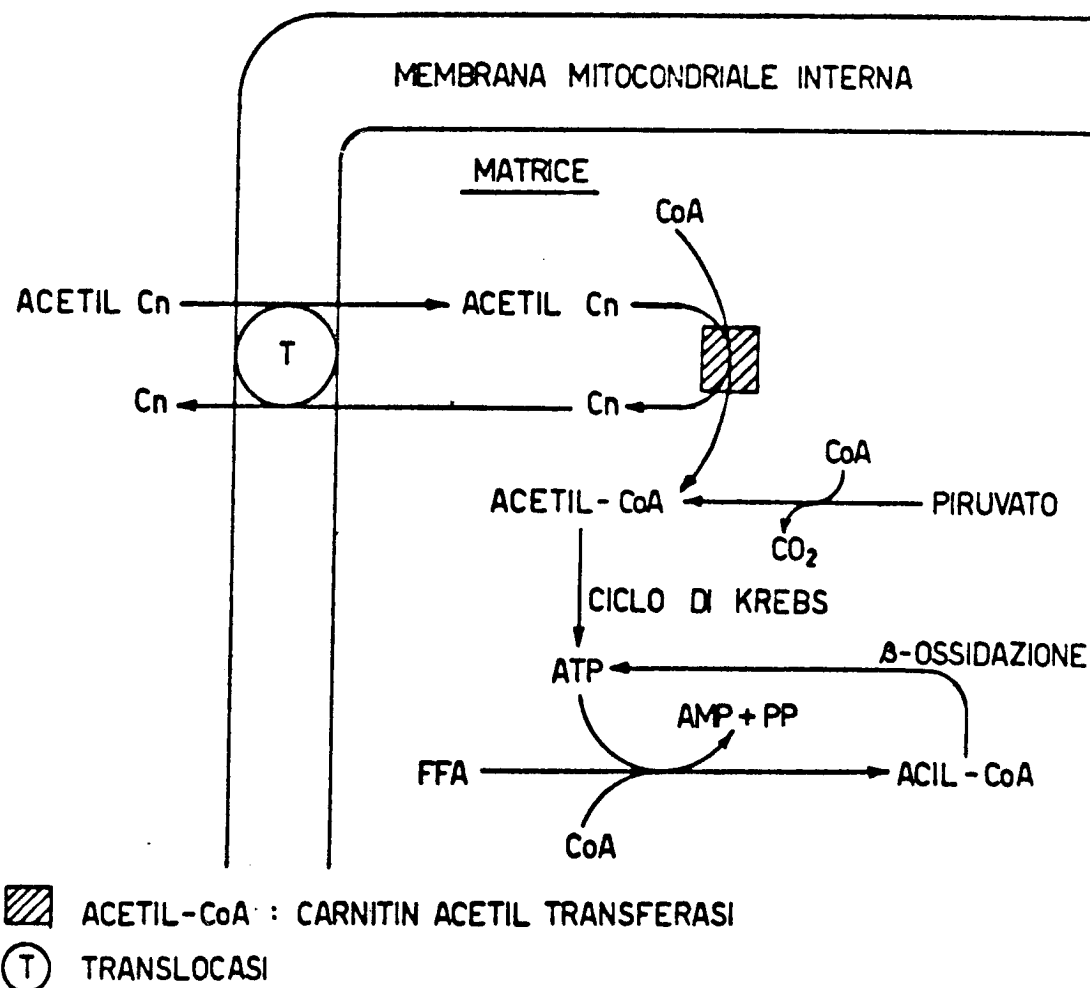


Fig. 10 - Azione « sparker » della acetyl carnitina sulla attivazione ed utilizzazione ossidativa degli acidi grassi.

l'acetil CoA è disponibile in quantità molto limitate, l'acetilcarnitina può accumularsi in quantità limitate solo dalla quantità di carnitina presente nel muscolo. Come mostra la Fig. 10, l'acetilcarnitina accumulata nel citoplasma può rientrare nei mitocondri, dove, non appena l'ossigeno diventa disponibile, innesca il ciclo di Krebs, rigenerando l'ATP necessario per l'attivazione degli acidi grassi e del glucosio. Il momento di emergenza viene così superato ed il flusso metabolico ripristinato. A parziale convalida di questa interpretazione sono i risultati di un nostro recente lavoro che mostrano come il rapporto acetilcarnitina/carnitina aumenta in modo molto significativo nel muscolo tibiale del ratto sottoposto a nuoto od a stimolazione elettrica. A nostro parere, questa formazione di acetilcarnitina è intesa a mantenere quanto più possibile CoA allo stato libero ed a predisporre, nel contempo, una riserva di acetili di pronta utilizzazione. Si noti che il muscolo è dotato di una quantità di carnitina (720 $\mu\text{mol/g}$ muscolo scheletrico fresco) notevolmente più elevata rispetto agli altri tessuti. L'aumento della carnitina totale (libera + acetilcarnitina + acilcarnitina) nel muscolo scheletrico e cardiaco da noi riscontrato nel ratto allenato al nuoto (ricerche non ancora pubblicate), pone il problema se ed in quale misura i depositi di carnitina nel muscolo

dell'atleta si adattino al « training » e ne influenzino l'efficienza. Poiché, come si è detto, la capacità di sintesi della carnitina appare limitante, la somministrazione di carnitina con la dieta potrebbe risultare di grande beneficio. Ricerche sistematiche sul contenuto di carnitina nel sangue, nelle urine e possibilmente nel muscolo nelle varie fasi dell'esercizio saranno di grande utilità ed è augurabile che il mondo sportivo possa collaborare in questo nuovo settore.

Un ultimo interessante aspetto relativo alla funzione della carnitina nel muscolo è stato svelato dalle recenti osservazioni che gli acil CoA a lunga catena agiscono come potenti inibitori del trasporto dell'ADP e dell'ATP attraverso la membrana mitocondriale.

L'inibizione, di tipo competitivo, si instaura quando un deficit di ossigeno impedisce la utilizzazione degli acil CoA nel processo della β -ossidazione e nel ciclo di Krebs (Fig. 11).

Viene così a mancare il rifornimento di ATP di origine mitocondriale e la contrazione muscolare diventa completamente dipendente dalla glicolisi. Le acilcarnitine non condividono questa azione inibitrice e poiché, come si è detto, in presenza di carnitina gli acili intra ed extramitocondriali possono essere trasferiti dal CoA sulla carnitina, questa può rimuovere il blocco del traspor-

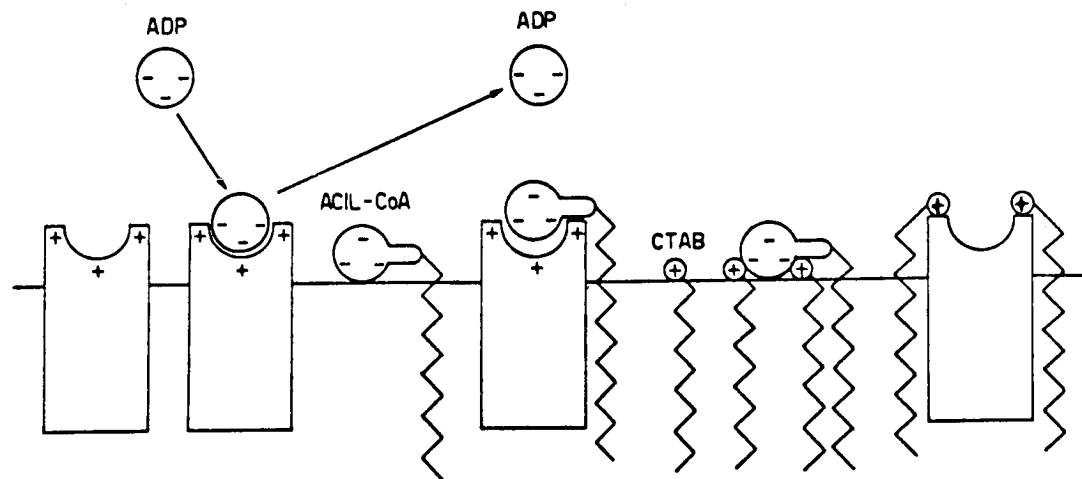


Fig. 11 - Meccanismo di inibizione degli acil CoA sulla traslocasi degli adenin nucleotidi.
CTAB = bromuro di cetiltrimetilammonio.

to degli adenin nucleotidi indotto dagli acil CoA. La carnitina consente quindi un prolungamento della fosforilazione ossidativa e comunque un più completo scambio fra ADP citoplasmatico ed ATP mitocondriale e quindi una maggior disponibilità di ATP per la contrazione.

I risultati finora emersi dalle ricerche

sulla carnitina hanno contribuito non secondariamente alla conoscenza della patogenesi della ischemia miocardica ed hanno offerto concrete possibilità di intervento in cardiologia. E' da augurarsi che anche nel settore dello sport possano trovare adeguata possibilità di approfondimento e di applicazione.

Indirizzo dell'Autore:

*Prof. Noris Siliprandi
Istituto di Chimica Biologica
Facoltà di Medicina e Chirurgia
Università degli Studi di Padova
35100 Padova*

BIBLIOGRAFIA

- Askew E.W., Dohm G.L., Huston R.L.: *J. Nutr.*, 105, 1422, 1975.
- Bassenge E., Wendt V.E., Schollmeyer P., Blumchen G., Gudbyarson S., Bing R.J.: *Am. J. Physiol.*, 208, 162, 1965.
- Branca D., Scutari G., Siliprandi N.: *Intern. J. Vitam. Nutr. Res.*, 62, 313, 1976.
- Cahill G.F.: *Diabetes*, 20, 785, 1971.
- Carter H.E., Bhattacharya P.K., Weidam K.H., Fraenkel G.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 38, 405, 1952.
- Cederlad G., Lidstedt H.E.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 175, 173, 1976.
- Ciman N., Caldesi Valeri V., Siliprandi N.: *Inter. Vit. Nutr. Research*, 48, 177, 1978.
- Fritz I.B.: « An hypothesis concerning the role of carnitine in the control of interrelation between fatty acid and carbohydrate metabolism », *Perspectives Biol. Med.*, 10, 643, 1967.
- Fritz I.B.: « Carnitine and its role in fatty acid metabolism », *Adv. Lipid Research*, 1, 285, 1963.
- Fröberg S.O., Ostman L., Sjöstrand N.O.: *Acta Physiol. Scand.*, 86, 166, 1972.
- Griffiths P.D.: *Clin. Chim. Acta*, 13, 413, 1966.
- Gulewitsch V.S., Krimberg R.: *Z. Physiol. Chem.*, 45, 326, 1905.
- Havel R.J., Pernow B., Jones N.L.: *J. Appl. Physiol.*, 23, 90, 1967.
- Hülsmann W.C., Siliprandi D., Ciman M., Siliprandi N.: *Biochim. Biophys. Acta*, 93, 166, 1964.
- Kulka R.G., Krebs H.A., Eggleston L.V.: *Biochem. J.*, 78, 95, 1961.
- Maebaschi M., Kawamura N., Sato M., Yoshinaga K., Susuki M.: *J. Lab. Clin. Med.*, 87, 760, 1976.
- Shrago E., Shug A., Elson C., Lerner E.: « Regulation of the traslocation of adenine nucleotides across the inner mitochondrial membrane by long chain CoA esters » in « The role of membrane in metabolic regulation », Mehلمان M.A., Hanson R.W. Eds., Acad. Press, New York, pag. 165, 1972.
- Shug A.L., Thompson J.H., Folts J.D., Bittar N., Klein M.I., Koke J.R., Huth P.I.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 197, 25, 1978.
- Siliprandi N.: « I depositi di energia del miocardio », in « Metabolismo del miocardio », P. Avogaro ed., Venezia 1975, CEPI, Roma, pag. 59.
- Siliprandi N., Siliprandi D., Toninello A., Rugolo M., Zoccarato F.: in « The Proton and Calcium Pumps », G.F. Azzone et al. Eds., Elsevier/North. Holland Biochem. Press, pag. 263, 1978.
- Sugano T., Nagai O.: *J. Biochem.*, 70, 417, 1971.
- Thomson W.H.S., Sweetin J.C., Hamilton I.: *J.D., Clin. Chim. Acta*, 59, 241, 1975.
- Wahren J., Felig G., Ahlberg G., Jorfeld L.: *J. Clin. Invest.*, 50, 2715, 1971.
- Williamson J.R., Krebs H.A.: *Biochem. J.*, 80, 540, 1961.
- Wood J.M.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 185, 352, 1978.