

## 7) BIOGENESI DEI MITOCONDRI

Abbiamo visto nel capitolo 6 che le attività enzimatiche mitocondriali sono incrementabili da alcune modalità di allenamento: questo aumento deve ora essere esaminato alla luce di una prima ed importante questione: la genesi dei mitocondri in cui questi enzimi sono presenti. Si tratta di un problema (Capitolo 7.1) estremamente complesso, ma che non può rimanere ignorato nella presente trattazione perché l'aumento degli enzimi totali descritto nel capitolo 6.3 è collegato o ad un incremento del contenuto proteico enzimatico dei mitocondri preesistenti, o ad un aumento nel numero dei mitocondri, od alla concomitanza dei due fenomeni.

Un secondo problema (Capitolo 7.2) è quello dell'origine filogenetica dei mitocondri, ossia del come queste formazioni sono comparse nelle cellule durante l'evoluzione biologica degli esseri viventi. E' infatti noto che primitivamente l'energia veniva liberata solo mediante processi anaerobici; i mitocondri, inserendosi nelle attività bioenergetiche, hanno conferito successivamente anche le proprietà aerobiche: ma che cosa erano originariamente questi elementi che oggi rileviamo come mitocondri?

Un terzo problema (Capitolo 7.3) riguarda le capacità di sintesi mitocondriale, ossia le capacità di « costruire » le sostanze organiche costituenti i supporti sia della struttura che della funzionalità; il che porta come corollario alla valutazione della durata della vita mitocondriale come conseguenza del continuo ricambio delle strutture costitutive i mitocondri stessi.

Un quarto problema (Capitolo 7.4) fa infine riferimento alle proprietà dei mitocondri di cambiare il volume e di contrarsi sotto stimoli vari.

### 7.1) Possibili meccanismi biogenetici mitocondriali

In linea di massima, si possono prospettare tre possibilità concrete per spiegare la biogenesi dei mitocondri:

- 1) la sintesi ex novo, a partire cioè da precursori posti nel citoplasma fondamentale;
- 2) la formazione da membrane cellulari;
- 3) la divisione e l'accrescimento di mitocondri preesistenti.

### 7.1.1) **Biogenesi ex novo dei mitocondri**

Questa prospettiva prevede, sulla base di osservazioni microscopiche, che i mitocondri possano formarsi a partire da materiale presente nel citoplasma, o meglio nello ialoplasma, che è la parte omogenea ed amorfa del citoplasma in cui sono immerse alcune particelle, fra le quali i mitocondri. Si formerebbero così, da proteine solubili e lipidi, degli aggregati granulari organizzati chiamati « microcorpi di Rouiller » (microbodies): ovviamente alla base di queste osservazioni vi è sempre il problema delle reali possibilità tecniche che hanno le osservazioni dirette, anche se di microscopia elettronica, di dare una dimostrazione incontrovertibile delle sequenze « visive » per cui da sostanze disorganizzate si passi ad aggregati organizzati, sino alle complesse strutture mitocondriali.

In verità, spostando il problema sul piano biochimico, queste osservazioni devono essere interpretate con molta cautela: infatti se i mitocondri derivano dallo ialoplasma, è logico pensare che in quest'ultimo siano presenti le attività enzimatiche descritte per i mitocondri. Ora bisogna osservare che: (1) i microcorpi di Rouiller hanno un contenuto enzimatico decisamente diverso da quello dei mitocondri; (2) molte attività che sono tipiche dei mitocondri non sono assolutamente presenti nel citoplasma fondamentale; ciò riguarda ad esempio, i citocromi a, b, c, la succinico-deidrogenasi, la NADH-citocromo reduttasi, ecc.; (3) alcuni enzimi che sono presenti nei mitocondri sono presenti anche nello ialoplasma: ad es. la malato deidrogenasi e la isocitrato deidrogenasi; questi enzimi però si trovano sotto forme molecolari differenti (isoenzimi) aventi funzioni differenti nei due differenti compartimenti citoplasmatici (ossia ialoplasma e mitocondri).

E' quindi difficile pensare su base biochimica ad una sintesi ex novo dei mitocondri; è concepibile che possano essere utilizzati, per la impalcatura dei nuovi mitocondri, dei fosfolipidi citoplasmatici; ma anche a questo proposito non bisogna dimenticare come i mitocondri stessi abbiano ampie capacità di sintesi lipidica.

### 7.1.2) **Biogenesi dei mitocondri da membrane extramitocondriali**

Secondo una prima prospettiva, i mitocondri si formerebbero dalla membrana che avvolge il citoplasma a mezzo di un duplice processo di avvolgimento e distacco. A livello della membrana citoplasmatica vi sarebbe cioè una singola « unità cellulare » di Robertson capace di protendersi e di invaginarsi nel citoplasma, per poi ripiegarsi su se stessa dando origine ad una formazione globulare. Questa formazione presenta una « coda » di connessione con la membrana citoplasmatica: il distacco della coda lascerebbe libera la formazione globulare che costituirebbe il mitocondrio. Una tale modalità di formazione è teoricamente possibile, dato che sussistono delle comuni caratteristiche fra la membrana citoplasmatica e le membrane mitocondriali: non sembra però possibile una generalizzazione di queste affinità, dato che la basilare funzione respiratoria dei mitocondri è comune solo con le membrane delle cellule batteriche e non con quelle di organismi superiori.

È stato altresì proposto, quale precursore dei mitocondri, il « reticolo endoplasmatico », che è un complesso sistema di membrane lipoproteiche poste nel citoplasma fondamentale. Ciascuna di queste membrane è costituita da due lamine dense separate da uno spazio interlamellare. Il reticolo endoplasmatico è largamente distribuito nel citoplasma fondamentale e circonda delle cavità reali in cui sono presenti materiali organici vari; le membrane possono presentare poi dei granuli, detti « ribosomi », che sono gli apparati cellulari, ricchi di acido ribonucleico, impiegati dalla cellula per le sintesi proteiche. In complesso il reticolo endoplasmatico contiene fino al 50-60% dell'acido ribonucleico (RNA) della cellula; sottoponendo la cellula a centrifugazione differenziale è possibile frammentare il reticolo endoplasmatico sotto forma di « microsomi », i quali sono appunto costituiti da frammenti di membrane e da vescicole, cui possono aderire i ribosomi. La prospettiva di attribuire ai microsomi, od al reticolo endoplasmatico, la matrice formativa dei mitocondri, non regge da un punto di vista biochimico giacché nei microsomi è presente un sistema respiratorio costitutivamente diverso da quello mitocondriale e privo delle capacità fosforilanti; inoltre anche la distribuzione morfologica dei lipidi nei microsomi è decisamente differente da quella dei mitocondri.

Le membrane nucleari sono state pure implicate nel processo di genesi mitocondriale, anche se i dati più convincenti sono di ordine microscopico; dal punto di vista biochimico, infatti, si ritrovano punti di contatto ma anche sostanziali differenze fra le due formazioni. Così le membrane nucleari, analogamente ai mitocondri, sono capaci di trasporto di ioni, ma posseggono di contro una attività respiratoria e fosforilante sensibile ad inibitori diversi da quelli capaci di agire sui processi mitocondriali.

### 7.1.3) Biogenesi dei mitocondri per accrescimento e divisione

La prospettiva più interessante riguarda questa evenienza che richiede un complesso processo di acquisizione di precursori biochimici dal citoplasma fondamentale, con la loro ristrutturazione spaziale sotto l'azione degli enzimi mitocondriali preesistenti, ed il loro assemblaggio a livello delle strutture costitutive mitocondriali.

Le osservazioni di microscopia elettronica hanno studiato il patrimonio mitocondriale di cellule in fase di divisione ed hanno evidenziato l'esistenza di elementi mitocondriali in momenti diversi ed intermedi di duplicazione: alla divisione cellulare farebbe riscontro una divisione mitocondriale per cui le cellule figlie hanno un numero di mitocondri uguale a quello della cellula madre.

Particolarmente interessanti sono gli studi effettuati con precursori radioattivi (ad es. colina) di costituenti le membrane mitocondriali: la radioattività consente in ogni momento di valutare dove ed in quale misura è incorporata la sostanza radioattiva, detta sostanza « marcata ». Con questi mezzi tecnici, durante le fasi di accrescimento e divisione cellulare, si sono effettuate esperienze in popolazioni di mitocondri che contenevano nelle loro membrane solamente il costituente marcato, ma che avevano a disposizione, nel mezzo circostante, solamente il precursore non marcato.

I risultati hanno evidenziato tra l'altro che: (a) esistono fasi iniziali in cui il numero dei mitocondri è invariato, la radioattività totale della popolazione dei mitocondri è invariata, la radioattività di ciascun mitocondrio è invariata, ma la concentrazione di radioattività per unità di superficie mitocondriale è diminuita: ciò indica che è avvenuto un aumento del volume mitocondriale che porta ad una « diluizione » intramitocondriale della sostanza radioattiva; (b) esistono fasi successive in cui la radioattività della popolazione mitocondriale è immutata, ma la radioattività dei singoli mitocondri è diminuita, ed il numero dei mitocondri è proporzionalmente aumentato: ciò indica che i costituenti iniziali marcati sono « passati » nella membrana di altri « nuovi » mitocondri, alla cui costituzione partecipa anche il precursore non marcato. E' quindi possibile che i mitocondri abbiano un processo di moltiplicazione analogo a quello cellulare, ossia con fasi di aumento di volume e successiva divisione in nuovi elementi.

## 7.2 Origine dei mitocondri

I mitocondri sono largamente diffusi in natura in « tutte » le cellule aerobiche degli animali e delle piante, così come in quelle dei protozoi, delle alghe, dei funghi, ecc.: le cellule in questione sono molto voluminose e quindi possono contenere un numero notevole di mitocondri. Al contrario altre cellule, come i batteri, sono in genere molto piccole e non possono contenere i mitocondri, dato che hanno circa le stesse dimensioni di questi ultimi. D'altra parte, in tali batteri gli enzimi della respirazione e della fosforilazione sono presenti nella membrana citoplasmatica, piuttosto che in granuli citoplasmatici anche se, in alcuni microorganismi, sono state descritte attività respiratorie in piccole vescicole membranose citoplasmatiche (o mesosomi) o addirittura in mitocondri « piccoli ».

In ogni caso, considerato che la primitiva attività energetica delle grosse cellule era quella anaerobica, si pone il problema di conoscere come sono diventate portatrici di mitocondri, acquisendo capacità aerobiche. Si pensa al proposito che i mitocondri siano l'evoluzione di microorganismi originariamente parassiti del citoplasma di tali grandi cellule; tali parassiti, da ospiti occasionali, sono poi diventati ospiti abituali ed infine simbiotici fino a regolare il loro ciclo di sviluppo con quello delle cellule ospitanti. Orbene, i batteri sono stati, con ogni probabilità, i primitivi ospiti parassiti; essi infatti hanno un volume dello stesso ordine di grandezza di quello dei mitocondri, contengono gli enzimi respiratori a livello delle membrane limitanti, posseggono alcune delle attività funzionali extrarespiratorie tipiche dei mitocondri, come il trasporto degli ioni ed il fenomeno della contrazione.

Questa simbiosi metabolica « batteri — grosse cellule degli organismi superiori » quale l'uomo, ha le sue basi nel fatto che tali cellule hanno un volume di varie migliaia di volte superiore a quello di un batterio; esse non potrebbero quindi garantire un rifornimento energetico adeguato in tutta la struttura cellulare, se la respirazione avvenisse solo a livello della membrana limitante esterna, così come è la norma nei batteri. La grande richiesta di energia in ogni zona citoplasmatica delle cellule degli organismi superiori può essere soddisfatta solo da un sistema ATP — generatore distribuito nel corpo cellulare e non localizzato solamente nella membrana limitante, giacché questa: (1) può facilmente trovarsi lontana dalla zona cellulare di richiesta energetica; e (2) non può contenere un sistema adeguato di trasduzione energetica, a meno di non assumere aspetto e dimensioni che in realtà non sono presenti. I batteri parassiti hanno quindi svolto primitivamente tale compito, dopo aver acquisito però una importante caratteristica funzionale, ossia la possibilità del trasferimento energetico. Infatti i batteri hanno la capacità di produrre ATP, ma non sono in grado di cederlo al mezzo in cui vivono; nel trasformarsi in mitocondri, i batteri hanno acquisito la possibilità di trasferire i legami energetici del pool degli adenilati interni, al pool degli adenilati esterni, attraverso la reazione catalizzata dalla adenilato-chinasi ( $AMP + ATP \rightleftharpoons 2ADP$ ) o degli scambi  $ATP \rightleftharpoons ADP \rightleftharpoons AMP$  operato dagli enzimi di membrana.

I problemi appaiono ovviamente complicati nelle cellule « facoltative » che, a differenza di quelle dell'organismo umano, possono vivere stabilmente ed indifferentemente in condizioni sia di aerobiosi che di anaerobiosi; nel primo caso tali cellule posseggono i mitocondri, come di norma, mentre nel secondo caso essi sono assenti pur rilevandosi nel citoplasma dei sistemi di membrane, costituite da tanti elementi unitari vicini e paralleli fra di loro, quasi a simulare il reticolo endoplasmatico (vedi 7.1.2), da cui però si differenziano perché ogni membrana è costituita da una sola lamella e non sono presenti formazioni granulari, tipo ribosomi. L'analisi biochimica di tali membrane ha mostrato che: (1) non hanno capacità ossidative aerobiche; (2) non contengono citocromo a, ma solo piccolissime quantità di citocromi b e c; (3) contengono succinico-deidrogenasi e NADH-citocromo c reduttasi. Nel complesso, queste cellule ambivalenti aerobiche ed anaerobiche, hanno, durante la vita in condizioni anaerobiche prolungate, alcuni ma non tutti i componenti della catena respiratoria; quando passano ad una vita in condizioni aerobiche, le membrane sopra descritte si organizzano e si fondono dando origine a formazioni mitocondriali rudimentali, con sintesi di citocromi b e c e comparsa di attività respiratoria.

### **7.3) Le sintesi organiche mitocondriali**

La sintesi di nuovi mitocondri richiede ovviamente sia la presenza di materiali plastici che di enzimi capaci di guidare e catalizzare l'assemblaggio dei precursori. Se l'attività funzionale primaria dei mitocondri è quella di trasdurre energia, è fuori dubbio che, nell'adeguamento di detta funzione alle richieste funzionali, assumono un ruolo notevole anche le capacità di sintesi dei protidi e dei lipidi per la strutturazione di nuovi mitocondri che vanno a sostituire quelli vecchi o che si devono aggiungere ai preesistenti per necessità energetiche.

#### **7.3.1) Biosintesi mitocondriale delle proteine**

Come si è accennato nel capitolo 7.1.2, uniti alle membrane del reticolo endocitoplasmatico esistono dei granuli, i ribosomi, i quali presiedono alle sintesi proteiche: dato che tali ribosomi sono quindi extra-mitocondriali, si è dubitato per lungo tempo delle effettive capacità di sintesi proteica dei mitocondri da soli. Tuttavia studi più recenti hanno portato ad ammettere che i mitocondri sono capaci di operare la sintesi proteica sia da precursori ialoplasmatici che mitocondriali; questa capacità di sintesi proteica è importantissima non solo ai fini strutturali, ma anche a quelli funzionali, dato che, ad es., i coenzimi ed i citocromi sono proprio sostanze proteiche.

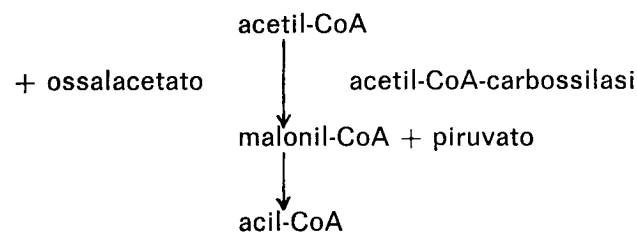
Tale capacità di sintesi è legata alla presenza di ribosomi mitocondriali, i quali sono simili a quelli batterici e sono quindi più piccoli di quelli del citoplasma fondamentale, pur conservando intatta la capacità di unire fra di loro le molecole degli aminoacidi in sequenze particolari sino a costituire le catene polipeptidiche. Anche i ribosomi mitocondriali sono costituiti da due subunità, una maggiore ed una minore, la cui coesione è controllata dal magnesio; i ribosomi appaiono come organuli molto porosi ed idratati, in cui acido ribonucleico (RNA) e proteine si intrecciano nelle due subunità: ogni ribosoma appare come un organulo stellato con quattro o più diramazioni lineari impiantate su un asse assai denso. L'acido

ribonucleico è posto alla superficie delle due subunità, mentre le proteine in parte costituiscono un nucleo centrale (proteine del nucleo centrale del ribosoma) ed in parte si trovano dissociate da questo (proteine split o SP): in totale si conoscono oltre 50 diverse proteine ribosomiali: l'acido ribonucleico è un tipico acido nucleico e come tale è la risultante del concatenamento di numerose unità dette « nucleotidi », ciascuna delle quali risulta dalla combinazione di: una base azotata purinica o pirimidinica (ad es. adenina, guanina, citosina, ecc.) + uno zucchero ciclico a 5 C (ribosio) + una molecola di ac. fosforico che collega a ponte gli zuccheri dei nucleotidi contigui gli uni agli altri. Non tutti i ricercatori sono d'accordo sulla presenza di specifici ribosomi mitocondriali, ma in ogni caso si ammette la fondamentale presenza dell'RNA, cui in ultima analisi sono collegati i problemi della sintesi proteica. Volendo localizzare questa funzione nella complessa struttura mitocondriale, è stato dimostrato che il mitoplasto ha una capacità di sintesi largamente maggiore di quella dell'intero mitocondrio. D'altra parte queste connessioni struttura-funzione sembrano avere per l'RNA anche degli agganci nei processi della fosforilazione ossidativa, dato che studi particolareggiati hanno permesso di rilevare che la inattivazione dell'RNA a livello della membrana interna disaccoppia la fosforilazione ossidativa (che non avviene) dal trasporto elettronico (che avviene): in questo caso l'energia derivante dalle ossidazioni biologiche non è utilizzata per la sintesi di ATP, ma è dissipata come calore.

Secondo recenti vedute, la sintesi proteica avverrebbe in coordinata associazione con la sintesi lipidica, ed i due processi sarebbero reciprocamente dipendenti per cui bloccando l'uno si bloccherebbe l'altro. Queste osservazioni sono particolarmente suggestive se si considera che le lamelle delle membrane mitocondriali sono costituite da strutture proteiche e lipidiche altamente organizzate, integrate reciprocamente in un reticolo tridimensionale. In questo caso, si avrebbe a livello delle membrane mitocondriali la capacità enzimatica di impostare nuove membrane in maniera che il preesistente reticolo lipoproteico serva da modello e supporto per l'assemblaggio dei precursori proteici e grassi. In tal modo, le nuove membrane conserverebbero le caratteristiche anatomiche e funzionali di quelle preesistenti.

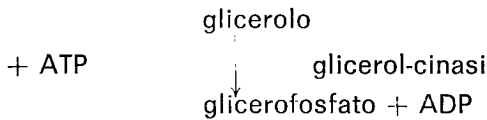
### 7.3.2) Biosintesi mitocondriale dei lipidi

La sintesi degli acidi grassi prende origine da un processo di carbosilazione per cui l'acetil-CoA si trasforma in malonil-CoA

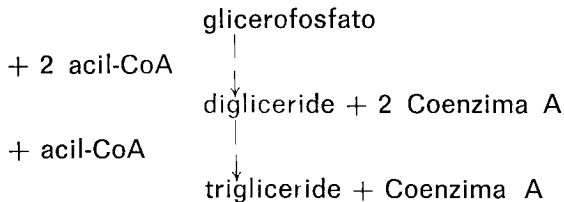


Questa sintesi è attivata dal citrato ed inibita dagli acil-CoA in una maniera tanto più efficace quanto più è lunga la loro catena.

Per la sintesi dei grassi neutri (acidi grassi + glicerolo) si ha una prima tappa di attivazione energetica del glicerolo:



Si ha quindi l'unione con due molecole di acil-CoA con formazione di un digliceride che, per unione con una terza molecola di acil-CoA, dà origine al trigliceride:



Ora i mitocondri sono capaci di operare la sintesi completa di « lipidi semplici », quali i grassi neutri, a partire dall'acetil-CoA, utilizzando nel senso inverso gli stessi enzimi catalizzanti la scissione ossidativa dei grassi neutri stessi (vedi Capitoli 3.1.4 e 3.3.2).

Ma l'intervento mitocondriale è stato descritto anche per sintesi più complicate portanti alla formazione di « lipidi complessi », quali i glicero-fosfo-lipidi, in cui il glicerolo è unito ad acidi grassi ed acido fosforico, il quale però è a sua volta combinato con basi azotate, come lecitine e cefaline. Alcuni enzimi partecipanti a queste sintesi complesse non sono però presenti nei mitocondri, ma solo in altre formazioni extra-mitocondriali, quali i microsomi, per cui si deve ammettere che le sintesi stesse avvengano anche con la partecipazione sincrona di altre formazioni cellulari che non siano i mitocondri stessi.

### 7.3.3) Il ricambio dei mitocondri

Sarebbe un grosso errore quello di pensare che il patrimonio mitocondriale di una cellula dell'organismo umano sia qualche cosa di stabile nel tempo a parità di richiesta energetica funzionale; infatti, indipendentemente da questa, i mitocondri hanno una vita media variabile (1) a seconda delle cellule in cui si trovano, (2) a seconda degli elementi strutturali mitocondriali esaminati.

Infatti i mitocondri cerebrali hanno un tempo di vita media molto elevato, nell'ambito degli anni, che può coincidere con il tempo di vita della cellula nervosa in cui sono inclusi; di contro, i mitocondri epatici hanno un tempo di vita molto breve, aggirantesi sui 10 giorni. Le varie

porzioni mitocondriali presentano poi significative variazioni di vita media, in quanto la membrana esterna ha un tempo di circa 5 giorni, quella interna di 12-13 giorni e le proteine solubili della matrice di circa 11-12 giorni.

E' chiaro quindi che esiste a livello mitocondriale la necessità di una liberazione di energia a livelli elevati per permettere il realizzarsi di quelle sintesi organiche che portano alla costituzione dei mitocondri che vanno man mano scomparendo; il livello energetico di base per le sintesi organiche dovrà poi essere mantenuto a livelli ancora maggiori qualora, a causa di adeguati stimoli prestativi, si debba operare la sintesi di mitocondri in extra-numero o si debba più semplicemente aumentare il patrimonio proteico enzimatico mitocondriale.

#### 7.4) Variazioni di volume e di forma dei mitocondri

Le principali cause di variazione del volume e della forma dei mitocondri sono essenzialmente chimiche, osmotiche e chimico-meccaniche; nelle cellule viventi in attività si possono poi osservare dei cicli di contrazione legati ai processi del trasporto elettronico. La contrazione è dovuta ad una proteina contrattile che ha proprietà simili a quelle dell'actomiosina. Il cianuro, il dinitrofenolo e altri inibitori delle ossidazioni provocano il rigonfiamento dei mitocondri, mentre un eccesso di ATP ne induce la contrazione; analogamente le variazioni della pressione osmotica provocano il rigonfiamento e la contrazione dei mitocondri; i fosfati inorganici, il glutatione ridotto, il  $Ca^{2+}$  e gli acidi grassi causano rigonfiamento, mentre l'ATP lo antagonizza. Notevoli variazioni del volume dei mitocondri possono essere provocate dagli ormoni; l'effetto dell'ormone tiroideo nell'ipertiroidismo (febbre, iperglicemia, ecc.) può essere dovuto ad un rigonfiamento dei mitocondri che determina il disaccoppiamento dei processi ossidativi da quelli di fosforilazione; anche altri ormoni, fra i quali l'ossitocina, la vasopressina, l'insulina ed alcuni corticosteroidi possono causare un rigonfiamento dei mitocondri.

I mitocondri possono presentare modificazioni della loro struttura interna oscillanti fra due condizioni estreme, di cui una viene indicata come « stato ortodosso » (osservato di norma nei tessuti intatti) e l'altra corrisponde allo « stato compatto », in cui è evidente una brusca contrazione del compartimento interno del mitocondrio, accompagnata da accumulo di liquido nel compartimento esterno (ossia fra le due membrane mitocondriali). Nella conformazione ortodossa la membrana interna è organizzata nelle creste caratteristiche; la matrice praticamente riempie tutto il volume del mitocondrio e ha un aspetto reticolare o granulare. Nella conformazione compatta la membrana interna è ripiegata variabilmente e la matrice, più omogenea, rappresenta solamente il 50% del volume del mitocondrio: in queste condizioni si possono osservare, in certi punti, zone di contatto fra la membrana interna e quella esterna del mitocondrio.

Il trasporto elettronico è necessario per attuare la contrazione dei mitocondri, ossia per il passaggio dallo stato ortodosso a quello compatto; l'inibizione della respirazione mitocondriale (con cianuro, con antimicina A,



oppure con amital) ostacola tale trasformazione. Lo stato ortodosso si attua allorché diminuisce il tasso di ADP extramitocondriale ed esso non è più utilizzabile per la fosforilazione: se in questo momento infatti si aggiunge dell'ADP, la respirazione viene rapidamente ripristinata ed ha luogo la contrazione. Si ritiene che nel passaggio dallo stato ortodosso allo stato compatto si verifichino delle modificazioni sia della membrana interna sia della matrice, anche se si ritiene che solo la membrana interna contenga gli elementi contrattili. Dato che i mitocondri hanno due membrane e da un punto di vista strutturale sono formati da due compartimenti, essi possono rigonfiarsi (vedi Fig. 7.1) in due diverse maniere:

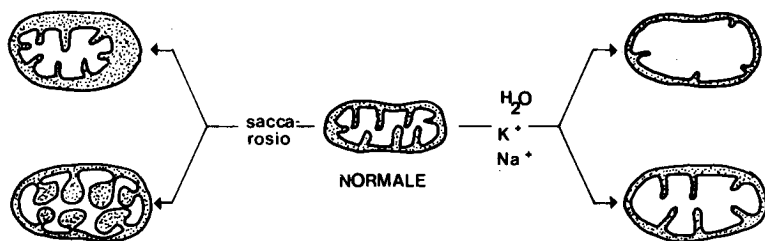


FIGURA 7.1

(1) acqua,  $K^+$  e  $Na^+$  penetrano assai rapidamente attraverso entrambe le membrane e producono modificazioni strutturali, diluendo la matrice; (2) il saccarosio penetra più facilmente attraverso la membrana esterna che attraverso quella interna e può produrre un rigonfiamento della camera esterna o dello spazio interno delle creste senza diluire la matrice. L'assunzione di acqua può dipendere dalla dissociazione del processo di fosforilazione da quello ossidativo, che è riportato al livello normale dopo l'espulsione dell'acqua. Il dosaggio dell'ATP impiegato per la contrazione indica che i mitocondri possono espellere attivamente molecole di acqua ed altre piccole molecole nella proporzione di parecchie centinaia per ciascuna molecola di ATP utilizzata: quindi i mitocondri, oltre ad essere i centri fondamentali della fosforilazione ossidativa, possono trasportare in modo attivo acqua e ioni.

Per quanto concerne l'accumulo di cationi, è noto che gli ioni  $Ca^{++}$  possono essere concentrati nei mitocondri isolati fino a superare di alcune centinaia di volte i valori normali; inoltre il fosfato penetra nei mitocondri con gli ioni  $Ca^{++}$ , secondo il rapporto  $Ca: P$  di 1,7 : 1. La quantità di  $Ca^{++}$  e di fosfato può essere così elevata da far aumentare il peso secco del 25%, e rendere visibili, nell'interno dei mitocondri, dei depositi cristallini.

Questo processo ha luogo comunemente nelle ossa e precisamente negli osteoblasti presenti nei tessuti in via di calcificazione: l'accumulo di  $Ca^{++}$  e di altri cationi bivalenti come  $S^{++}$  e  $Mn^{++}$ , vicaria la funzionalità del sistema di trasporto degli elettroni poiché, in presenza di eccesso di  $Ca^{++}$ , i mitocondri non trasformano più l'ADP in ATP, ma accumulano

$\text{Ca}^{++}$  e fosfato; l'accumulo di  $\text{Ca}^{++}$  e di altri cationi nell'interno del mitocondrio si accompagna con la perdita di  $\text{H}^+$ .

Alcuni antibiotici, come la valinomicina e la nigericina, facilitano la penetrazione dei cationi agendo come trasportatori mobili per cui essi sono indicati come « ionofori »: essi hanno la capacità di formare complessi cationici con carica elettrica (com'è il caso della valinomicina) oppure neutri (come la nigericina).

Il movimento di ioni nei mitocondri è intimamente correlato con la struttura molecolare della membrana interna: gli enzimi che intervengono nel sistema di trasporto di elettroni, ed in particolare la ATP-sintetasi, o sistema di accoppiamento F1, non sono distribuiti a caso, ma sono disposti trasversalmente rispetto alle membrane, ovvero sono polarizzati fra le due superfici. E' interessante notare che, nel mitocondrio in riposo, nella matrice è contenuta acqua in forma dissociata  $\text{H}^+ + \text{OH}^-$ ; durante l'attività fosforilante gli  $\text{H}^+$  tendono ad essere pompati sulla faccia esterna della membrana interna, per cui la matrice verrà ad arricchirsi di  $\text{OH}^-$ , e quindi diventerà più basica. Va infine ricordato che i mitocondri sono strutture labili che possono essere facilmente alterate dall'azione di vari agenti, rappresentando uno dei più sensibili indicatori di lesioni cellulari. Tutte queste modificazioni, entro certi limiti, sono reversibili ma, se l'alterazione raggiunge un punto critico, diviene irreversibile, ed è generalmente considerata una degenerazione. Vi sono essenzialmente tre tipi di modificazioni: (1) frammentazione in granuli, seguita da lisi e dispersione; (2) intenso rigonfiamento e trasformazione in ampi vacuoli; (3) accumulo di una gran quantità di materiale e trasformazione dei mitocondri in granuli ialini. Quest'ultima alterazione è caratteristica del cosiddetto « rigonfiamento torbido » e della degenerazione ialina che frequentemente ha come conseguenza la morte della cellula. In cellule per altro normali si osservano con una certa frequenza, nelle zone di autolisi, mitocondri degeneranti, i quali costituiscono un tipo di lisosoma, il « citolisosoma ». Un altro tipo di degenerazione consiste infine nella fusione di mitocondri a formare grossi corpi, detti « condriosfere ».