

Suplementació de L-carnitina en humans. Efectes en la millora física.

Suplementación de L-carnitina en humanos. Efectos en la mejora física.

Josefa Paz Cortés Sánchez

Departament de Bioquímica i Biologia Molecular I. Facultat de Ciències Químiques.
Universitat Complutense, Madrid.

Introducció

La carnitina fou descoberta per Gulewitch i Krimberg¹ i per Kutcher.² La seva estructura química fou determinada dues dècades després per Tomita i Sendju.³ Molt més tard, Carter et al.⁴ van descobrir que la carnitina era un nutrient essencial del cuc de la farina *Tenebrio molitor*, mentre que Friedman i Fraenkel⁵ observaven que la carnitina pot ser reversiblement acetilada per acetil-coenzim A (acetil-CoA) i Fritz⁶ demostrava que la carnitina estimula l'oxidació d'àcids grassos en homogeneïtzats de fetge.

Ruta biosintètica de la carnitina i transport als teixits

La carnitina és una amina quaternària (3-hidroxi-4-trimetil-aminobutirat). És sintetitzada en l'organisme a partir de dos aminoàcids essencials, lisina i metionina, i per a la seva biosíntesi és necessària la presència d'ascorbat, niacina i vitamina B₆.⁷ La trimetil-lisina procedent de la digestió intestinal de proteïnes i/o procedent de l'etapa de metilació de lisina lliure, és transformada en 4-butirobetaïna en el fetge, el ronyó, el cor i el múscul esquelètic humà, però només el fetge, el ronyó i el cervell poden convertir 4-butirobetaïna en carnitina.^{8,9} En els humans, el fetge i el ronyó són els llocs principals de producció de carnitina. Teixits com el múscul esquelètic i el miocardi, que depenen de l'oxi-

Introducción

La carnitina fue descubierta por Gulewitch y Krimberg¹ y por Kutcher.² Su estructura química fue determinada dos décadas después por Tomita y Sendju.³ Mucho más tarde, Carter et al.⁴ descubrieron que la carnitina era un nutriente esencial del gusano de la harina *Tenebrio molitor*, mientras que Friedman y Fraenkel⁵ observaban que la carnitina puede ser reversiblemente acetilada por acetil-coenzima A (acetil CoA) y Fritz⁶ demostraba que la carnitina estimula la oxidación de ácidos grasos en homogeneizados de hígado.

Ruta biosintética de la carnitina y transporte a los tejidos

La carnitina es una amina cuaternaria (3-hidroxi-4-trimetil-aminobutirato). Es sintetizada en el organismo a partir de dos aminoácidos esenciales, lisina y metionina, y para su biosíntesis es necesaria la presencia de ascorbato, niacina y vitamina B₆.⁷ La trimetil-lisina procedente de la digestión intestinal de proteínas y/o procedente de la etapa de metilación de lisina libre, es transformada en 4-butirobetaïna en hígado, riñón, corazón y músculo esquelético humano, pero sólo hígado, riñón y cerebro pueden convertir 4-butirobetaïna en carnitina.^{8,9} En humanos, el hígado y el riñón son los principales sitios de producción de carnitina. Tejidos tales como músculo esquelético y miocardio,

dació d'àcids grassos i per tant requereixen carnitina, són altament dependents del transport de carnitina des del seu lloc de síntesi.

La concentració de carnitina en diferents espècies i distints teixits varia en un rang molt ampli.⁷ En el múscul sembla que varia 1mM en el múscul esquelètic de rata¹⁰ i 3-4 mM en humans,^{11, 14} assolint fins i tot nivells de 7-8 mM en el cavall¹⁵ i 15 mM en l'ovella.¹⁶

Atès que el plasma i l'orina són fluids fàcilment disponibles per a finalitats experimentals, sovint són utilitzats per fer una mesura indirecta de la disponibilitat de carnitina i del seu grau d'excreció. La concentració de carnitina total en el plasma dels humans en repòs varia entre 41.3 i 64.3 µM. La carnitina lliure representa entre el 70-85% del total.^{11, 14, 17, 18} De la carnitina esterificada, en repòs, prop del 40-50% està en forma acetilada. L'emmagatzemament de carnitina total d'un individu masculí adult de talla mitjana (30 Kg de massa muscular), en base als valors de concentració abans esmentats, s'estima que és de 20-25 µmols o 15-50 mg.¹⁹

La concentració de carnitina en un teixit és el resultat de diversos processos metabòlics com la ingestió, la biosíntesi, el transport dins i fora del teixit i l'excreció de carnitina. Ja que la majoria dels teixits posseeixen una concentració de carnitina almenys d'un ordre de magnitud superior a la concentració de carnitina en el plasma, ha de tenir lloc una captura de carnitina activa en el teixit. Això passa a diversos nivells en els diferents teixits. D'acord amb Brooks i McIntosh,¹⁰ el temps de recanvi de la carnitina és menor per al ronyó i el fetge (0,4 i 1,3 h respectivament) que per al múscul esquelètic (105h) i el cervell (220h). La presa màxima de L-carnitina pel múscul esquelètic és tres ordres de magnitud inferior a la del fetge. Les rutes metabòliques del múscul són més específiques per a L-carnitina, i aquesta especificitat està demostrada *in vivo*. La L-carnitina accedeix al teixit muscular per transport actiu mediat per un transportador. L'afinitat de la L-carnitina per aquest transportador sembla que és més gran en les fibres roges que en les fibres blanques, possiblement en relació amb la major densitat mitocondrial de les primeres. Aquesta observació pot explicar la diferència de concentració de carnitina entre els distints tipus de múscul esquelètic.²⁰

A part de poder ser biosintetitzada, la carnitina pot procedir de la dieta i ser absorbida pel budell prim. Hamilton et al.²¹ han evidenciat en humans que el procés té lloc per transport actiu en el duodè i l'ili, mentre que en el còlon el procés de captura té lloc per difusió passiva.

A part de possibles limitacions d'absorció, una deficiència en carnitina en humans i animals pot ser conseqüència de distintes limitacions funcionals com: biosíntesi alterada de carnitina, transport alterat, altes necessitats metabòliques,²² estats nu-

que dependem de la oxidació de àcids grassos y por tanto requieren carnitina, son altamente dependientes del transporte de carnitina desde su lugar de síntesis.

La concentració de carnitina en distintes espècies y distints teixidos varia en un rango muy amplio.⁷ En músculo parece variar entre 1 mM en músculo esquelético de rata¹⁰ y 3-4 mM en humanos,^{11, 14} alcanzando incluso niveles de 7-8 mM en caballo¹⁵ y 15 mM en oveja.¹⁶

Puesto que el plasma y la orina son fluidos fácilmente disponibles para fines experimentales, a menudo son utilizados para hacer una medida indirecta de la disponibilidad de carnitina y del grado de excreción de la misma. La concentración de carnitina total en plasma de humanos en reposo varia entre 41.3 y 64.3 µM. La carnitina libre representa entre el 70-85% del total.^{11, 14, 17, 18} De la carnitina esterificada, en reposo, cerca del 40-50% está en forma acetilada. El almacenamiento de carnitina total de un individuo masculino de talla media (30 Kg de masa muscular), en base a los valores de concentración antes mencionados, se estima que es de 20-25 g. La excreción urinaria diaria de carnitina es de 100-300 µmols o 15-50 mg.¹⁹

La concentració de carnitina en un teixido es el resultado de varios procesos metabólicos como ingestión, biosíntesis, transporte dentro y fuera del tejido y excreción de carnitina. Ya que la mayoría de los tejidos posee una concentración de carnitina al menos un orden de magnitud superior a la concentración de carnitina en plasma, ha de tener lugar una captura activa de carnitina en el tejido. Esto ocurre a varios niveles en los distintos tejidos. De acuerdo con Brooks y McIntosh,¹⁰ el tiempo de recambio de la carnitina es menor para riñón e hígado (0,4, 1,3 h respectivamente) que para el músculo esquelético (105 h) y cerebro (220 h). La toma máxima de L-carnitina por el músculo esquelético es tres órdenes de magnitud inferior a la del hígado. Las rutas metabólicas del músculo son más específicas para L-carnitina, y esta especificidad está demostrada *in vivo*. La L-carnitina accede al tejido muscular por transporte activo mediado por un transportador. La afinidad de la L-carnitina por este transportador parece ser mayor en las fibras rojas que en las fibras blancas, posiblemente en relación con la mayor densidad mitocondrial de las primeras. Esta observación puede explicar la diferencia de concentración de carnitina entre los distintos tipos de músculo esquelético.²⁰

Aparte de ser biosintetizada, la carnitina puede proceder de la dieta y ser absorbida por el intestino delgado. Hamilton et al.²¹ han evidenciado en humanos que el proceso tiene lugar por transporte activo en duodeno e íleon, mientras que en el còlon el proceso de captura tiene lugar por difusión pasiva.

Aparte de posibles limitaciones de absorción, una deficiencia en carnitina en humanos y anima-

tricionals pobres, dietes deficientes en lisina, castració, hipertiroïdisme, etc.

Presca en la dieta i excreció de carnitina en humans

Generalment, hi ha un baix contingut de carnitina en vegetals i un alt contingut en animals. La carnitina apareix en els aliments predominantment en forma lliure o esterificada amb àcids grassos de cadena curta (acetilcarnitina). En individus normals, la pèrdua de carnitina té lloc quasi exclusivament per excreció renal. En individus adults sedentaris aquesta pèrdua és de 15-50 mg/dia. El problema de si la carnitina endògena pot cobrir el requeriment diari de carnitina no està resolt; és més, una aportació diària de carnitina podria ser útil per prevenir una possible deficiència de carnitina a nivell muscular. Tal com ja s'ha indicat, hi ha una gran variabilitat en les cinètiques de captura de carnitina en distints teixits i/o òrgans aïllats. Aquestes diferències són també esteroespecífiques. Una llarga dosi terapèutica de L-carnitina administrada a un subjecte control voluntari induïx un pic màxim en la concentració de carnitina plasmàtica en 30 minuts.²³ Després de tres hores, la concentració de carnitina en plasma comença a disminuir fins assolir l'estat normal. La D-carnitina, a part de ser captada menys eficientment, és eliminada de l'organisme més ràpidament que la L-carnitina. A més, la família d'enzims responsable de la síntesi de complexos acilcarnitina mostra una alta especificitat per l'osòmetre L d'aquest com post.²⁴

La carnitina lliure és excretada en humans per l'orina. La quantitat excretada diàriament pot ser extremament variable²⁰ en relació amb la presa en la dieta. Mitchell²⁵ observà en un subjecte una reducció en l'excreció de carnitina de 32.5 a 2.4 mg/dia quan aquest canvià una dieta normal per una dieta isocalòrica però vegetariana (menys quantitat de proteïna i lisina). També s'ha observat²⁶ que la composició d'una dieta, amb el mateix contingut en carnitina, influeix el metabolisme de la carnitina. Així, la concentració de carnitina lliure en el plasma és superior després d'una dieta pobra en carbohidrats i rica en greixos que no després d'una dieta rica en carbohidrats i pobra en greixos. L'excreció urinària de carnitina s'incrementa solament en la primera de les dietes.

Sembla que existeix una dependència de l'excreció de carnitina amb el sexe i l'edat. Maebashi et al.^{27, 28} trobaren mesures de 59 mg/dia en homes i de 44 mg/dia en dones. En infants de 4-12 anys la mesura d'excreció de carnitina diària és de 16 mg/dia. Alguns autors afirmen que l'excreció de carnitina és més gran durant el dia que no durant la nit. Suzuki et al.²⁹ mostraren que en estudiants entrenats severament l'excreció urinària de carnitina

les puede ser consecuencia de distintas limitaciones funcionales como: biosíntesis alterada de carnitina, transporte alterado, altas necesidades metabólicas,²² estados nutricionales pobres, dietas deficientes en lisina, castración, hipertiroïdismo, etc.

Toma en la dieta y excreción de carnitina en humanos

En general, existe un bajo contenido de carnitina en vegetales y un alto contenido en animales. La carnitina aparece en los alimentos predominantemente en forma libre o esterificada con ácidos grasos de cadena corta (acetilcarnitina). En individuos normales, la pérdida de carnitina tiene lugar casi exclusivamente por excreción renal. En individuos adultos sedentarios esta pérdida es de 15-50 mg/día. El problema de si la carnitina endógena puede cubrir el requerimiento diario de carnitina no está resuelto; es más, un aporte diario de carnitina podría ser útil para prevenir una posible deficiencia de carnitina a nivel muscular. Como ya se indicó, existe una gran variabilidad en las cinéticas de captura de carnitina en distintos tejidos y/u órganos aislados. Estas diferencias son también esteroespecíficas. Una larga dosis terapéutica de L-carnitina administrada a un sujeto control voluntario induce un pico máximo en la concentración de carnitina plasmática en 30 minutos.²³ Después de 3 horas, la concentración de carnitina en plasma empieza a disminuir hasta alcanzar el estado normal. La D-carnitina, aparte de ser captada menos eficientemente, es eliminada del organismo más rápidamente que la L-carnitina. Además, la familia de enzimas responsable de la síntesis de complejos acilcarnitina muestra una alta especificidad por el isómero L de este compuesto.²⁴

La carnitina libre es excretada en humanos por la orina. La cantidad excretada diariamente puede ser extremadamente variable²⁰ en relación con la toma en la dieta. Mitchell,²⁵ observó en un sujeto una reducción en la excreción de carnitina de 32,5 a 2,4 mg/día cuando éste cambió una dieta normal por una dieta isocalórica pero vegetariana (menor cantidad de proteína y lisina). También se ha observado²⁶ que la composición de una dieta, con el mismo contenido en carnitina, influencia el metabolismo de la carnitina. Así, la concentración de carnitina libre en plasma es superior tras una dieta pobre en carbohidratos y rica en grasas que tras una dieta rica en carbohidratos y pobre en grasas. La excreción urinaria de carnitina se incrementa sólo en la primera de las dietas.

Parece existir una dependencia de la excreción de carnitina con el sexo y la edad. Maebashi et al.^{26, 28} encontraron medias de 59 mg/día en hombres y de 44 mg/día en mujeres. En niños de 4-12 años la media de excreción de carnitina diaria es de 16 mg/día. Algunos autores afirman que la excreción

augmentava des de valors control de 55 mg/dia fins a valors de 94 mg/dia.

Paper metabòlic de la carnitina

Seguint els descobriments clàssics segons els quals 1) la carnitina pot ser acetilada per acetyl-CoA,⁵ i 2) la carnitina estimula l'oxidació d'àcids grassos en el fetge,⁶ s'establí que els complexos acilcarnitina i, particularment, l'acetyl carnitina, són substrats excel·lents per a la respiració de mitocondris aïllats^{30,31} i que els àcids grassos de cadena llarga requereixen carnitina per assolir la matriu mitocondrial, on té lloc la ruta de la β -oxidació.

Siliprandi et al.³² van descobrir que una petita quantitat d'acetyl carnitina és capaç de disparar i mantenir l'oxidació d'àcids grassos endògens en mitocondris de ronyó. De fet, la resta d'acetyl de l'acetyl carnitina és un substrat fàcilment oxidable que no requereix activació i que proveeix quantitats suficients d'ATP per a l'activació d'àcids grassos endògens. La carnitina, en acceptar grups acil procedents d'acil-CoA, deixa més CoA lliure disponible per a la formació de succinil-CoA a partir de α -cetoglutarat en el cicle de Krebs i, per tant, augmenta el flux metabòlic en aquests cicle.³³

El paper més conegut de la carnitina és el transport d'àcids grassos de cadena llarga activats a través de la membrana interna mitocondrial fins a la matriu mitocondrial, on és actiu el sistema de la β -oxidació.³⁴ Els acil-CoA de cadena llarga no poden travessar la membrana interna mitocondrial, però el seu producte metabòlic, acilcarnitina, format per l'acció de la carnitina palmitoiltransferasa I (CPT-I), un enzim localitzat a la superfície interna de la membrana mitocondrial externa, sí que pot. Un altre enzim, la carnitina-acilcarnitina translocasa, intercanvia carnitina cap a l'exterior amb acilcarnitina cap a l'interior en una relació estequiomètrica 1:1; l'acilcarnitina internada reacciona amb CoA en una reacció catalitzada per l'enzim carnitina palmitoiltransferasa II (CPT-II), que es troba ancorat en la cara externa de la membrana interna mitocondrial. Així, l'acil-CoA es regenera en la matriu mitocondrial i la carnitina lliure està disponible per a l'intercanvi per la translocasa.

Un altre enzim, la carnitina acetyltransferasa, està localitzada a la cara interna de la membrana interna mitocondrial. Aquest enzim pot estar involucrat en: 1) un tamponament del "pool" mitocondrial de grups acetyl³⁵ per l'alliberació de CoA des dels seus tioesters, restaurant el flux metabòlic en el cicle de Krebs;³³ 2) l'estimulació de l'activitat de la piruvat-deshidrogenasa, també controlada en part per la relació acetyl-CoA/CoA.

La carnitina, així, té les següents funcions:^{7,36}

- a) Facilitació de la β -oxidació en transportar àcids grassos de cadena llarga activats fins a la matriu mitocondrial.

de carnitina es mayor durante el día que durante la noche. Suzuki et al.²⁹ mostraron que en estudiantes entrenados severamente la excreción urinaria de carnitina aumentaba desde valores control de 55 mg/día hasta valores de 94 mg/día.

Papel metabólico de la carnitina

Seguendo los descubrimientos clásicos según los cuales 1) la carnitina puede ser acetilada por acetyl-CoA,⁵ y 2) la carnitina estimula la oxidación de ácidos grasos en hígado,⁶ se estableció que los complejos acilcarnitina, y en particular la acetyl carnitina, son excelentes sustratos para la respiración de mitocondrias aisladas^{30,31} y que los ácidos grasos de cadena larga requieren carnitina para alcanzar la matriz mitocondrial, donde tiene lugar la ruta de la β -oxidación.

Siliprandi et al.³² descubrieron que una pequeña cantidad de acetyl carnitina es capaz de disparar y mantener la oxidación de ácidos grasos endógenos en mitocondrias de riñón. De hecho, el resto acetyl de la acetyl carnitina es un sustrato fácilmente oxidable que no requiere activación y que provee cantidades suficientes de ATP para la activación de ácidos grasos endógenos. La carnitina, al aceptar grupos acilo procedentes de acil-CoA, deja más CoA libre disponible para la formación de succinil-CoA a partir de α -cetoglutarato en el ciclo de Krebs, y por tanto, aumenta el flujo metabólico en este ciclo.³³

El papel más conocido de la carnitina es el transporte de ácidos grasos de cadena larga activados a través de la membrana interna mitocondrial hasta la matriz mitocondrial donde es activo el sistema de la β -oxidación.³⁴ Los acil-CoA de cadena larga no pueden atravesar la membrana interna mitocondrial, pero su producto metabólico, acilcarnitina, formado por la acción de la carnitina palmitoiltransferasa I (CPT-I), una enzima localizada en la superficie interna de la membrana mitocondrial externa, sí puede. Otra enzima, la carnitina: acilcarnitina translocasa, intercambia carnitina hacia el exterior con acilcarnitina hacia el interior en una relación estequiométrica 1:1, la acilcarnitina internada reacciona con CoA en una reacción catalizada por la enzima carnitina palmitoiltransferasa II (CPT-II), que se encuentra anclada en la cara externa de la membrana interna mitocondrial. Así, el acil-CoA se regenera en la matriz mitocondrial y la carnitina libre está disponible para el intercambio por la translocasa.

Otra enzima, la carnitina acetyltransferasa, está localizada en la cara interna de la membrana interna mitocondrial. Esta enzima puede estar involucrada en: 1) un tamponamiento del "pool" mitocondrial de grupos acetyl³⁵ por la liberación de CoA desde sus tioésteres, restaurando el flujo metabólico en el ciclo de Krebs;³³ 2) la estimulación de

- b) Estimulació de la piruvatdeshidrogenasa en disminuir la relació acetil-CoA/CoA, augmentant així la utilització oxidativa de la glucosa i el flux metabòlic a través del cicle de Krebs.
- c) Indirectament, prevé la inhibició de la translocasa d'adenilat per acil-CoA de cadena llarga i això activa el transport de nucleòtids d'adenina a través de la membrana interna mitocondrial.
- d) Eliminació selectiva de restes d'acil (detoxificació).
- e) Reservoiri de restes d'acetil (especialment en el cor).

Abans de descriure el possible paper de la carnitina en el metabolisme del múscul en exercici s'esquematitzaran les rutes principals del metabolisme aeròbic i anaeròbic involucrades en l'exercici.

En el metabolisme aeròbic, el llindar energètic del sistema muscular està determinat pel flux metabòlic màxim a través del cicle de Krebs. Aquest depèn de tres factors bàsics: 1) concentració de substrats, 2) concentració dels enzims de les etapes limitants i 3) disponibilitat d'oxigen, la qual depèn del volum cardíac màxim o del flux local de sang màxim. El flux de substrats (greixos, polisacàrids, proteïnes i, particularment, els seus productes de degradació: àcids grassos, glicerol, glucosa i alguns aminoàcids, la majoria d'ells convertits en acetil-CoA) és, en la majoria dels casos, excessiu comparat amb el potencial del cicle de Krebs. Considerant solament el subministrament d'acetil-CoA, essencialment originat a partir de greixos i hidrats de carboni, aquest varia amb canvis en el metabolisme muscular. La producció d'acetil-CoA en el múscul és quasi exclusivament lípid dependent en estat de repòs i en treballs moderats, mentre que és dependent en el 85% d'hidrats de carboni en treball aeròbic màxim. Quan se sobrepassa l'anomenat "llindar anaeròbic" (màxim treball que el múscul pot portar a terme aeròbicament) el múscul comença a utilitzar energia obtinguda anaeròbicament. En aquest cas, la reoxidació de NADH per transferència d'H⁺ a equivalents reduïts de la cadena respiratòria és inhibida i el piruvat és reduït a lactat pel NADH. L'oxidació del NADH via formació de lactat permet que la glicòlisi tingui lloc en absència d'oxigen, per regeneració suficient de NAD⁺ per a un altre cicle de la reacció catalitzada per la gliceraldehid-3-fosfat-deshidrogenasa. Així, el múscul tendeix a produir lactat, el grau d'acumulació del qual és un índex del grau de generació d'ATP via glicòlisi anaeròbica. A la pràctica, a més del màxim flux d'ATP generat via cicle de Krebs, uns altres dos mols d'ATP són generats per mol de glucosa transformada en lactat.

En el curs del metabolisme màxim i supramàxim, no solament la glicòlisi és estimulada per generar piruvat (i després acetil-CoA i/o lactat), sinó que també la lipòlisi pot ser força activa, tal com s'evidencia en els nivells augmentats de glicerol i glice-

la activitat de la piruvato deshidrogenasa, també controlada en parte por la relación acetil-CoA/CoA.

La carnitina, así, tiene las siguientes funciones:^{7, 36}

- a) Facilitación de la β-oxidación al transportar ácidos grasos de cadena larga activados hasta la matriz mitocondrial.
- b) Estimulación del piruvato deshidrogenasa al disminuir la relación acetil-CoA/CoA, aumentando así la utilización oxidativa de la glucosa y el flujo metabólico a través del ciclo de Krebs.
- c) Indirectamente, previene la inhibición de la translocasa de adenilato por acil-CoA de cadena larga, activando esto el transporte de nucleótidos de adenina a través de la membrana interna mitocondrial.
- d) Eliminación selectiva de restos acilo (detoxificación).
- e) Reservoirio de restos de acetilo (especialmente en corazón).

Antes de describir el posible papel de la carnitina en el metabolismo del músculo en ejercicio se esquematizarán las rutas principales del metabolismo aeróbico y anaeróbico involucradas en el ejercicio.

En el metabolismo aeróbico, el umbral energético del sistema muscular está determinado por el flujo metabólico máximo a través del ciclo de Krebs. Este depende de tres factores básicos: 1) concentración de sustratos, 2) concentración de las enzimas de las etapas limitantes y 3) disponibilidad de oxígeno, la cual depende del volumen cardíaco máximo o del flujo local de sangre máximo. El flujo de sustratos (grasas, polisacáridos, proteínas, y particularmente sus productos de degradación: ácidos grasos, glicerol, glucosa y algunos aminoácidos, la mayoría de ellos convertidos en acetil-CoA) es, en la mayoría de los casos, excesivo comparado con el potencial del ciclo de Krebs. Considerando solamente el suministro de acetil-CoA, esencialmente originado a partir de grasas e hidratos de carbono, éste varía con cambios en el metabolismo muscular. La producción de acetil-CoA en el músculo es casi exclusivamente lípido-dependiente en estado de reposo y en trabajos moderados, mientras que es dependiente en un 85% de hidratos de carbono en trabajo aeróbico máximo. Cuando se sobrepassa el llamado "umbral anaeróbico" (máximo de trabajo que el músculo puede llevar a cabo aeróbicamente) el músculo empieza a utilizar energía obtenida anaeróbicamente. En este caso, la reoxidación de NADH por transferencia de H⁺ a equivalentes reducidos de la cadena respiratoria es inhibida y el piruvato es reducido a lactato por el NADH. La oxidación del NADH via formación de lactato permite que la glicólisis tenga lugar en ausencia de oxígeno, por regeneración suficiente de NAD⁺ para otro ciclo de la reacción catalizada por la gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa. Así, el músculo tiende a producir

rol-3-fosfat trobats en el múscul esquelètic humà.¹³ Els acil-CoA i, particularment, els acetil-CoA originats de la lipòlisi tendeixen a acumular-se en el citosol i dins el mitocondri augmentant la relació acil-CoA/CoA i, així, inhibint la utilització oxidativa de la glucosa, la qual no pot operar al nivell requerit per la demanda metabòlica.

La carnitina, en funcionar com acceptor de grups acetil,^{37, 38, 39} ofereix un nombre potencial d'avantatges per al funcionament de les cèl·lules que es troben per damunt del "llindar anaeròbic":¹³

1. Pot ajudar a mantenir viable un "pool" de CoA fins i tot quan el nivell de formació d'acetil-CoA excedeix la condensació d'aquest amb oxalacetat. Això és essencial per assegurar l'oxidació del α -cetoglutarat a succinat dins el cicle de Krebs. La disminució de CoA causada per l'excessiva acumulació d'acetil-CoA conduiria a una ràpida disminució d'oxalacetat i, per tant, s'acumularia acetil-CoA entrant així en un cercle viciós.
2. Permet el transport d'àcids grassos de cadena llarga a l'interior de la matriu mitocondrial, però el més important és que prevé la inundació de la matriu mitocondrial d'esters d'acetil-CoA i la disminució del "pool" de CoA lliure.
- 3 Pot constituir un reservori de piruvat. L'acetilcarnitina, com a producte d'acumulació del metabolisme anaeròbic alternatiu al lactat, representa una ruta per al creixement deute d'oxigen en el múscul.

A la pràctica, part de l'excés de piruvat, en lloc de ser transformat en lactat podria ser descarboxilat i emmagatzemat com acetilcarnitina, la qual cosa proporciona una reserva d'acetat actiu i, com a tal, fàcilment disponible per a la transacetilació, donant acetil-CoA que entrarà en el cicle de Krebs.

4. Pot millorar el transport de nucleòtids d'adenina a través de la membrana interna mitocondrial.

Basant-nos en els mecanismes d'acció esmentats, el paper de la carnitina en el metabolisme de l'exercici és, teòricament, força important, especialment perquè proporciona una major eficiència en la regulació del flux energètic a través de distintes rutes oxidatives. En algunes circumstàncies, basant-nos en el primer mecanisme d'acció esmentat, s'espera que augmenti el poder aeròbic màxim del subjecte (VO_2 màx.). A més, pot promoure una utilització controlada del glucogen en augmentar la β -oxidació d'àcids grassos. En exercici submàxim pot prevenir la reducció del flux del cicle de Krebs reduint el deute d'oxigen lactàcid contret pel subjecte, permetent així al subjecte exhaust un deute d'oxigen més llarg, la qual cosa donaria a l'individu una major capacitat potencial de treball durant petites sèries d'exercici submàxim. Un altre possible paper positiu de la carnitina podria ser l'optimització de la ruta oxidativa durant l'exercici muscular portat a terme en hipòxia aguda i crònica.

lactato, cuyo grado de acumulación es un índice del grado de generación de ATP via glicólisis anaeròbia. En la pràctica, además el máximo flujo de ATP generado via ciclo de Krebs, otros dos moles de ATP son generados por mol de glucosa transformada en lactato.

En el curso del metabolismo máximo y supramáximo, no sólo la glicólisis es estimulada para generar piruvato (y después acetil-CoA y/o lactato), sino también la lipòlisi puede ser bastante activa como se evidencia en los niveles aumentados de glicerol y glicerol 3-fosfato encontrados en músculo esquelético humano.¹³ Los acil-CoA y, particularmente, los acetil-CoA originados de la lipòlisi tienden a acumularse en el citosol y dentro de la mitocondria aumentando la relación acetil-CoA/CoA, y así inhibiendo la utilización oxidativa de la glucosa, que no puede operar al nivel requerido por la demanda metabòlica.

La carnitina, al funcionar como aceptor de grupos acetilo,^{37, 38, 39} ofrece un número potencial de ventajas para el funcionamiento de las células que se encuentran por encima del "umbral anaeròbico":¹³

1. Puede ayudar a mantener viable un "pool" de CoA incluso cuando el nivel de formación de acetil-CoA excede a la condensación de éste con oxalacetato. Esto es esencial para asegurar la oxidación del α -cetoglutarato a succinato dentro del ciclo de Krebs. La disminución de CoA debida a la excesiva acumulación de acetil-CoA conduciría a una rápida disminución de oxalacetato y, por tanto, se acumularía acetil-CoA entrando así en un círculo vicioso.
2. Permite el transporte de ácidos grasos de cadena larga al interior de la matriz mitocondrial, pero lo más importante es que previene la inundación de la matriz mitocondrial de ésteres de acetil-CoA y la disminución del "pool" de CoA libre.
3. Puede constituir un reservorio de piruvato. La acetilcarnitina, como producto de acumulación del metabolismo anaeròbico alternativo al lactato, representa un ruta para la creciente deuda de oxígeno en el músculo.

En la pràctica, parte del exceso de piruvato en vez de ser transformado en lactato podria ser descarboxilado y almacenado como acetilcarnitina, lo cual proporciona una reserva de acetato activo y, como tal, fácilmente disponible para la transacetilación, dando acetil-CoA que entrarà en el ciclo de Krebs.

4. Puede mejorar el transporte de nucleòtidos de adenina a través de la membrana interna mitocondrial.

Basándonos en los mecanismos de acción mencionados, el papel de la carnitina en el metabolismo del ejercicio es, teóricamente, bastante importante, especialmente por proporcionar una mayor eficiencia en la regulación del flujo energético a través de distintas rutas oxidativas. En algunas cir-

Valors de concentració de carnitina en plasma i en múscul d'humans sota condicions control i després d'una dieta suplementada en L-carnitina.

1. Valors en plasma

– Valors en repòs: els valors de carnitina total en plasma varien entre 40-65 μM . La fracció de carnitina esterificada amb àcids grassos de cadena llarga és pràcticament menyspreable. Per les dades disponibles, sembla que els valors de carnitina en plasma no estan influïts per l'entrenament. La mesura de concentració de carnitina en plasma en atletes de competició varia entre 63 i 44 μM ¹⁸ (individus mascles de 17-65 anys). Mesures portades a terme en tres subjectes amb un mes d'entrenament (2.000 Km bicicleta) no mostren cap canvi en la carnitina total.¹⁷ Al contrari, la participació en una cursa competitiva com el "Giro" d'Itàlia (4.500 Km en 20 dies) fou seguida d'una disminució de la concentració de carnitina plasmàtica des de 56,8 a 45 μM , exclusivament a càrrec de la carnitina lliure.

– Valors en exercici: els valors de carnitina total en plasma no varien després d'un exercici prolongat (30-120 min.), submàxim (50-60% VO_2 màx.).

^{11, 14, 17, 18, 40} Segons la majoria dels autors, la fracció plasmàtica de carnitina lliure disminueix significativament al final del exercici, mentre que augmenta la carnitina esterificada, particularment l'acetilcarnitina (incrementa de 2,4 a 9,3 μM).⁴¹ Lennon et al.¹⁴ relacionaren l'augment de carnitina esterificada en plasma durant l'exercici amb una pèrdua de carnitina del múscul. Contràriament, Carlin et al.,¹¹ basant-se en resultats que demostren que no existia cap canvi en la carnitina total del múscul fins i tot quan tenien lloc pèrdues urinàries després de l'exercici, pensaren que els canvis en la fracció de carnitina esterificada del plasma poden resultar d'un intercanvi de carnitina lliure del plasma amb el "pool" hepàtic de carnitina. No s'ha trobat cap evidència d'una alliberació de carnitina esterificada des del múscul que pugui justificar l'augment d'aquest metabòlic en plasma, tot i que sí que s'ha vist que durant l'exercici hi ha una alliberació de carnitina lliure des del múscul; així, hom creu que durant l'exercici s'allibera carnitina lliure des del múscul que després s'acilarà en un lloc diferent al de la contracció muscular.

2. Valors en múscul

Solament uns pocs estudis de mesures de carnitina s'han portat a terme en el múscul humà. Els nivells de concentració de carnitina total en el múscul en repòs sembla que són aproximadament 20 $\mu\text{mol/g}$ de teixit sec (un ordre de magnitud superior al del plasma). Del total, aproximadament el 80-90% es troba com a carnitina lliure, mentre que la resta es troba en la forma esterificada. Solament

en condicions, basándonos en el primer mecanismo de acción mencionado, se espera que aumente el poder aeróbico máximo del sujeto (VO_2 máx.). Además puede promover una utilización controlada del glucógeno al aumentar la β -oxidación de ácidos grasos. En ejercicio submáximo puede prevenir la reducción del flujo del ciclo de Krebs reduciendo la deuda de oxígeno láctica contraída por el sujeto, permitiendo así una más larga deuda de oxígeno al sujeto exhausto, lo cual daría al individuo una mayor capacidad potencial de trabajo durante pequeñas series de ejercicio submáximo. Otro posible papel positivo de la carnitina podría ser la optimización de la ruta oxidativa durante el ejercicio muscular llevado a cabo en hipoxia aguda y crónica.

Valores de concentración de carnitina en plasma y músculo de humanos bajo condiciones control y después de una dieta suplementada en L-carnitina.

1. Valores en plasma

– Valores en reposo: los valores de carnitina total en plasma varían entre 40-65 μM . La fracción de V esterificada con ácidos grasos de cadena larga es prácticamente despreciable. Parece ser, por los datos disponibles, que los valores de carnitina en plasma no están influenciados por el entrenamiento. La media de concentración de carnitina en plasma en atletas de competición varía entre 63 y 44 μM ¹⁸ (individuos varones de 17-65 años). Medidas llevadas a cabo en tres sujetos con un mes de entrenamiento (2000 km bicicleta) no muestran ningún cambio en la carnitina total.¹⁷ Por el contrario, la participación en una carrera competitiva como el "Giro" de Italia (4500 km en 20 días) fue seguida de una disminución de la concentración de carnitina plasmática desde 56,8 a 45,7 μM exclusivamente a expensas de la carnitina libre.

– Valores en ejercicio: los valores de carnitina total en plasma no varían después de un ejercicio prolongado (30-120 min), submáximo (50-60% VO_2 máx.).^{11, 14, 17, 18, 40} Según la mayoría de los autores, la fracción plasmática de carnitina libre disminuye significativamente al final del ejercicio, mientras que aumenta la carnitina esterificada, particularmente la acetilcarnitina (incrementa de 2,4 a 9,3 μM).⁴¹ Lennon et al.¹⁴ relacionaron el aumento de carnitina esterificada en plasma durante el ejercicio con una pérdida de carnitina del músculo. Por el contrario, Carlin et al.,¹¹ basándose en resultados que demostraban que no existía ningún cambio en la carnitina total del músculo incluso cuando tenían lugar pérdidas urinarias tras el ejercicio, pensaron que los cambios en la fracción de carnitina esterificada del plasma pueden resultar de un intercambio de carnitina libre del plasma con el "pool" hepático de carnitina. No se ha encontrado ninguna evidencia de una liberación de carnitina esterifica-

Lennon et al.¹⁴ han estimat que la fracció de carnitina esterificada amb àcids grassos de cadena llarga sembla que és un component menor. Dels diferents autors que han determinat la concentració de carnitina en múscul humà, alguns d'ells proposen que la concentració de carnitina no està afectada en l'exercici supramàxim (anaeròbic) i/o en l'exercici aeròbic. Lennon et al.¹⁴ proposen que la concentració de carnitina disminueix un 20% en 28 subjectes que pedalejaren durant 40 minuts portant a terme un treball corresponent al 55% de la VO₂ màx. individual. Tots els autors estan d'acord que durant l'exercici la carnitina lliure del múscul disminueix, mentre que augmenta la forma esterificada, la major part de la qual està en forma d'acetilcarnitina.¹³

Efecte de la suplementació de L-carnitina en la dieta

Basant-nos en la hipòtesis que 1) un estat nutricional inadequat i/o un increment del metabolisme tal com el que es produeix durant l'exercici prolongat poden reduir la concentració fisiològica de carnitina en el múscul i/o que 2) un augment de la concentració fisiològica de carnitina pot augmentar la respiració del teixit fins i tot en el múscul en repòs i, particularment, la utilització d'àcids grassos durant l'exercici, i que 3) la carnitina pot constituir un reservori de piruvat, diversos autors han intentat estudiar els efectes de l'administració de carnitina en quantitats farmacològiques (des de 0.5 a 6 g/dia durant períodes superiors a quatre setmanes). Això ha estat possible gràcies a la possibilitat de disposar d'un procés per a la síntesi industrial de l'isòmer L de la molècula. A la pràctica, la L-carnitina és suplementada en la dieta per administració oral.

Basant-nos en els resultats presentats en la literatura i e observacions de diferents autors,^{17, 18, 40, 42, 43} sembla que hi ha un clar increment del nivell de carnitina en el plasma després d'un suplement en la dieta. L'únic excepció apareix en ciclistes professionals el nivell de carnitina dels quals en el plasma roman pràcticament invariable respecte als nivells control. Per a atletes, la mesura de carnitina plasmàtica total és de 65.9 µM mentre que per a subjectes control la mesura és de 48.3 µM. Després de la suplementació de L-carnitina la relació entre les fraccions lliure i esterificada roman invariable respecte als controls.

L'exercici indueix un increment moderat de la concentració de carnitina total en plasma, particularment d'acilcarnitina. Aquesta darrera fracció, després d'un exercici aeròbic intens prolongat, pot arribar a nivells de fins 40 µM mentre que la carnitina lliure disminueix o roman invariable.

Les conseqüències de la suplementació de L-carnitina en la concentració de carnitina en el mús-

da desde el músculo que pueda justificar el aumento de este metabolito en plasma, aunque sí se ha visto que durante el ejercicio se libera carnitina libre desde el músculo que luego se acilará en un sitio distinto al de la contracción muscular.

2. Valores en músculo

Sólo unos pocos estudios de medidas de carnitina se han llevado a cabo en el músculo humano. Los niveles de concentración de carnitina total en el músculo en reposo parecen ser de aproximadamente 20 µmol/g de tejido seco (un orden de magnitud superior al del plasma). Del total aproximadamente el 80-90% se encuentra como carnitina libre, mientras que el resto se encuentra en la forma esterificada. Sólo Lennon et al.¹⁴ han estimado que la fracción de carnitina esterificada con ácidos grasos de cadena larga parece ser un componente menor. De los distintos autores que han determinado la concentración de carnitina en músculo humano, algunos de ellos proponen que la concentración de carnitina no está afectada en el ejercicio supramáximo (anaeróbico) y/o en el ejercicio aeróbico. Lennon et al.¹⁴ proponen que la concentración de carnitina disminuye un 20% en 28 sujetos que pedalearon durante 40 minutos llevando a cabo un trabajo correspondiente al 55% de la VO₂ máx. individual. todos los autores están de acuerdo en que durante el ejercicio la carnitina libre del músculo disminuye, mientras que aumenta la forma esterificada, la mayor parte de la cual está formada de acetilcarnitina.¹³

Efecto de la suplementación de L-carnitina en la dieta

Basándonos en la hipótesis de que 1) un estado nutricional inadecuado y/o un incremento del metabolismo tal como el que se produce durante el ejercicio prolongado pueden reducir la concentración fisiológica de carnitina en el músculo y/o que 2) un aumento de la concentración fisiológica de carnitina puede aumentar la respiración del tejido incluso en el músculo en reposo, y particularmente, la utilización de ácidos grasos durante el ejercicio, y que 3) la carnitina puede constituir un reservorio de piruvato, varios autores han intentado estudiar los efectos de la administración de carnitina en cantidades farmacológicas (desde 0,5 a 6 g/día durante períodos superiores a cuatro semanas). Esto ha sido posible gracias a la posibilidad de disponer de un proceso para la síntesis industrial del isómero L de la molécula. En la práctica, la L-carnitina es suplementada en la dieta por administración oral.

Basándonos en los resultados presentados en la literatura y en observaciones de distintos autores^{17, 18, 40, 42, 43} parece que existe un claro incremento del nivel de carnitina en plasma tras un suplemento en

cul no han estat investigades en humans. Pel que fa als animals, en rates a les quals s'ha injectat intraperitonealment 1 ml d'una solució de 750 mg de L-carnitina per Kg de pes corporal cinc cops la setmana, la concentració de carnitina lliure en múscul esquelètic augmenta des de 0.41 fins a 0.52 $\mu\text{mol/g}$, mentre que l'increment en plasma fou de 0.06 a 0.08 $\mu\text{mol/ml}$.⁴⁴ Dades recents obtingudes en cavalls de cursa¹⁵ mostren un augment des de 31.2 a 37.1 $\mu\text{mol/g}$ de múscul sec després de l'administració de L-carnitina, així com un augment de la concentració de carnitina plasmàtica, en repòs, des de 31.8 a 43.5 μM . Sembla doncs que la suplementació de L-carnitina pot anar seguida d'un increment moderat de la concentració de carnitina en el múscul.

Efectes fisiològics de la suplementació de L-carnitina en humans

Durant els darrers anys s'ha portat a terme un nombre limitat de mesures amb la finalitat de trobar possibles efectes metabòlics de la carnitina, tant en repòs com en exercici. El primer objectiu d'aquests estudis ha estat analitzar si la suplementació de L-carnitina pot tenir influència en els següents paràmetres:

1. Metabolisme en repòs i/o el cost energètic d'exercicis submàxims tant aeròbics com anaeròbics.
2. Poder aeròbic màxim (VO_2 màx.).
3. Variables fisiològiques com ara la ventilació pulmonar i la freqüència cardíaca en repòs i durant l'exercici.
4. El quocient respiratori, com un indicador d'un possible efecte de control de la L-carnitina sobre els reservoris de glucogen.
5. El nivell d'alguns constituents plasmàtics, principalment els relacionats amb el metabolisme lipídic.

Una administració oral diària de 2-6 g de L-carnitina en 2-3 dosis és un mode de suplementació dietètica que dona lloc a un augment significatiu del nivell de carnitina en plasma i en múscul en relació amb el nivell control en repòs. Cap dels autors que han administrat L-carnitina a humans en les quantitats esmentades no han trobat efectes o símptomes adversos.⁴⁵

La quantitat mínima de L-carnitina que ha de ser subministrada a humans perquè tingui lloc un augment significatiu de la substància en plasma i en múscul no és coneguda; el que se sap és que aquesta quantitat ha de ser petita i molt menor que en altres animals a causa de l'alta eficiència del transport actiu per a L-carnitina caracteritzada en la mucosa intestinal humana.²¹ L'administració d'1 g/dia durant dos dies sembla que augmenta apreciablement el nivell de carnitina total del plasma tant en adults normals com en pacients cardío-

la dieta. La única excepció apareix en ciclistes professionals cuyo nivel de carnitina en plasma permanece prácticamente invariable respecto a los niveles control. Para atletas, la media de carnitina plasmática total es de 65,9 μM mientras que para sujetos controles la media es de 48,3 μM . Tras la suplementación de L-carnitina la relación entre las fracciones libre y esterificada permanece invariable respecto a los controles.

El ejercicio induce un incremento moderado de la concentración de carnitina total en plasma, particularmente de acilcarnitina. Esta última fracción, tras un ejercicio aeróbico intenso prolongado, puede alcanzar niveles de hasta 40 μM mientras que la carnitina libre disminuye o permanece invariable.

Las consecuencias de la suplementación de L-carnitina en la concentración de carnitina en músculo no han sido investigadas en humanos. Respecto a animales, en ratas a las que se les ha inyectado intraperitonealmente 1 ml de una solución de 750 mg de L-carnitina por kg de peso corporal cinco veces a la semana, la concentración de carnitina libre en músculo esquelético aumenta desde 0,41 hasta 0,52 $\mu\text{mol/g}$, mientras que el incremento en plasma fue de 0,06 a 0,08 $\mu\text{mol/ml}$.⁴⁴ Datos recientes obtenidos en caballos de carreras¹⁵ muestran un aumento desde 31,2 a 37,1 $\mu\text{mol/g}$ de músculo seco tras la administración de L-carnitina, así como un aumento de la concentración de carnitina plasmática, en reposo, desde 31,8 a 43,5 μM . Parece pues que la suplementación de L-carnitina puede ir seguida de un incremento moderado de la concentración de carnitina en músculo.

Efectos fisiológicos de la suplementación de L-carnitina en humanos

Durante los últimos años se ha llevado a cabo un número limitado de medidas con el fin de encontrar posibles efectos metabólicos de la carnitina, tanto en reposo como en ejercicio. El primer objetivo de estos estudios ha sido analizar si la suplementación de L-carnitina puede tener influencia en los siguientes parámetros:

- 1) Metabolismo en reposo y/o el coste energético de ejercicios submáximos tanto aeróbicos como anaeróbicos.
- 2) Poder aeróbico máximo (VO_2 máx.).
- 3) Variables fisiológicas tales como la ventilación pulmonar y la frecuencia cardíaca en reposo y durante el ejercicio.
- 4) El cociente respiratorio, como un indicador de un posible efecto de control de la L-carnitina sobre los reservorios de glucógeno.
- 5) El nivel de algunos constituyentes plasmáticos, principalmente los relacionados con el metabolismo lipídico.

vasculars.⁴² Sembla que dosis de 0.3 a 0.5 g/dia serien suficients per incloure un canvi detectable en el nivell de carnitina plasmàtica en subjectes normals. En pacients càrdio-vasculars, així com en individus vegetarians, dosis fins i tot menors poden tenir el mateix efecte.

Efectes de l'administració de L-carnitina sobre el metabolisme aeròbic

El consum d'oxigen en repòs (VO_2) no sembla afectat per un suplement de L-carnitina de 6 g/dia durant 10 dies.⁴⁶ El mateix sembla que passa per a exercicis submàxims.⁴⁶ Contràriament, dos estudis realitzats^{18, 47} indiquen que en individus entrenats la VO_2 màx. pot augmentar gràcies a una preliminar administració de L-carnitina (3 g/dia durant tres setmanes). L'increment és moderat (6%-11%), però estadísticament significatiu. Aquesta observació necessita una experimentació més gran, ja que posseeix implicacions pràctiques extremament importants per als atletes (exercicis de resistència) i per als pacients. Hi ha evidències bioquímiques que permeten proposar la hipòtesi que aquest augment del metabolisme oxidatiu durant l'exercici màxim pot ser més evident en condicions d'hipòxia aguda i crònica. Un increment d'un 5% de la VO_2 màx. individual pot transformar un atleta mediocre en un atleta d'alta competició i, d'altra banda, la possibilitat d'augmentar la VO_2 màx. pot tenir alguns efectes positius per al muntanyisme en altitud. Hi ha altres autors que no han confirmat els resultats esmentats;⁴³ en qualsevol cas, el diferent historial esportiu dels subjectes i les petites quantitats de L-carnitina administrades poden ser, en part, responsables dels seus resultats negatius.

Alguns autors han observat un petit descens de la freqüència cardíaca després de l'administració de L-carnitina durant la realització de determinats treballs submàxims i/o màxims. Aquests resultats poden indirectament confirmar el petit augment observat en la VO_2 màx. En relació amb la ventilació pulmonar, paràmetre que hom sap que no és el primer factor limitant per al desenvolupament del màxim poder aeròbic, s'ha vist que no sembla que estigui alterat després del tractament amb L-carnitina tant en exercicis submàxims com màxims.

No s'han trobat canvis significatius del quocient respiratori entre el postractament i el pre-tractament amb L-carnitina durant l'exercici. Això sembla indicar, llevat d'excepcions, que la proporció de lípids utilitzats per generar energia a través de la ruta aeròbica no varia com a conseqüència de la suplementació amb L-carnitina.

Efectes de l'administració de L-carnitina sobre el metabolisme anaeròbic

El possible increment del flux de nucleòtids d'adenina a través de la membrana interna mitocon-

Una administració oral diària de 2-6 g de L-carnitina en 2-3 dosis de un mode de suplementació dietètica que da lloc a un augment significatiu del nivell de carnitina en plasma i músculo en relació amb el nivell control en repòs. Ninguno de los autores que han administrado L-carnitina a humanos en las cantidades mencionadas han encontrado efectos o síntomas adversos.⁴⁵

La cantidad mínima de L-carnitina que ha de ser suministrada a humanos para que tenga lugar un aumento significativo de la sustancia en plasma y músculo no es conocida; lo que se sabe es que esta cantidad debe ser pequeña y mucho menor que en otros animales debido a la alta eficiencia del transporte activo para L-carnitina caracterizada en la mucosa intestinal humana.²¹ La administración de 1 g/día durante dos días parece aumentar apreciablemente el nivel de carnitina total del plasma tanto en adultos normales como en pacientes cardiovasculares.⁴² Parece ser que dosis de 0,3 a 0,5 g/día serían suficientes para inducir un cambio detectable en el nivel de carnitina plasmática en sujetos normales. En pacientes cardiovasculares, así como en individuos vegetarianos, dosis incluso menores pueden tener el mismo efecto.

Efectos de la administración de L-carnitina sobre el metabolismo aeróbico

El consumo de oxígeno en repòs (VO_2) no parece estar afectado por un suplemento de L-carnitina de 6g/dia durante 10 días.⁴⁶ Lo mismo parece suceder para ejercicios submàxims.⁴⁶ Por el contrario, dos estudios realizados^{18, 47} indican que en individuos entrenados la VO_2 màx. puede aumentar gracias a una preliminar administración de L-carnitina (3 g/dia durante 3 semanas). El incremento es moderado (6%-11%), pero estadísticamente significativo. Esta observación necesita de mayor experimentación, ya que posee implicaciones prácticas extremadamente importantes para los atletas (ejercicios de resistencia) y para pacientes. Existen evidencias bioquímicas que permiten proponer la hipótesis de que tal aumento del metabolismo oxidativo durante el ejercicio máximo puede ser más evidente en condiciones de hipoxia aguda y crónica. Un incremento de un 5% de la VO_2 màx. individual puede transformar a un atleta mediocre en un atleta de alta competición, y, por otro lado, la posibilidad de aumentar la VO_2 màx. puede tener algunos efectos positivos para el montañismo en altitud. Hay otros autores que no han confirmado los resultados mencionados;⁴³ en cualquier caso, el distinto historial deportivo de los sujetos y las pequeñas cantidades de L-carnitina administradas pueden ser en parte responsables de sus resultados negativos.

Algunos autores han observado un pequeño descenso de la frecuencia cardíaca tras administración de L-carnitina durante la realización de

drial com a conseqüència d'una reducció de la inhibició del translocador d'adenilat portada a terme per la suplementació de L-carnitina podria tenir com a resultat un increment de la concentració d'ATP en el múscul en repòs.

El nivell de lactat en la sang en repòs, així com la quantitat de lactat acumulada en la sang després d'exercicis submàxims –un indicador el deute d'oxigen contret pel subjecte–, no estan afectats per l'administració de L-carnitina. En qualsevol cas, part del piruvat produït, en lloc de ser transformat en lactat amb l'oxidació del NADH, pot estar contribuint a l'increment de la reserva d'acetil-CoA en els teixits. Seguint una suplementació de L-carnitina, el subjecte podria haver incrementat el seu deute màxim d'oxigen sense augmentar la concentració de lactat en la sang i en els teixits. És difícil quantificar la quantitat de deute d'oxigen extra solament en base als nivells de carnitina en sang abans i després de la suplementació, ja que l'acetil-CoA s'acumularà principalment en els teixits que estan treballant. Una possible estimació es podria obtenir a partir d'experiments que establissin el balanç d'energia total (aeròbica i anaeròbica) d'un exercici supramàxim estàndard determinat abans i després de l'administració de L-carnitina.

Administració de L-carnitina i canvis sanguinis

S'ha comprovat que la concentració de àcids grassos lliures del plasma no sembla que està influïda per l'administració de L-carnitina tant en repòs (0.36 mM en controls, 0.33 mM per a suplementats amb L-carnitina) com en exercici (0.59 mM en controls, 0.56 mM en suplementats amb L-carnitina). Estudis portats a terme per a triglicèrids mostren un descens no significatiu d'àcids grassos després del tractament amb L-carnitina, tant en repòs com en exercici.⁴⁶

Els nivells plasmàtics de glicerol són iguals abans (0.06 mM) i després (0.06 mM) del tractament amb L-carnitina. L'increment de glicerol en el plasma a causa de l'exercici és el mateix abans i després de l'administració de L-carnitina (0.23 mM). El B-hidroxibutirat tendeix a augmentar després de l'administració de L-carnitina tant en repòs (53.2 µM enfront de 41.2 µM) com en exercici (119 µM enfront de 98 µM).

La suplementació de carnitina, que té com a missió millorar la forma física i, per tant, la salut tant d'esportistes com de no esportistes, té un impacte metabòlic mínim si jutgem les dades obtingudes fins ara. El resultat més interessant, i encara està per confirmar, és l'increment del poder aeròbic màxim que han observat alguns autors.

És evident que en pacients amb un subministrament d'oxigen deteriorat en miocardi i múscul esquelètic té lloc una millora després de l'administració de L-carnitina. En aquests subjectes, aquest tractament augmenta la concentració de carnitina

determinados trabajos submáximos y/o máximos. Estos resultados pueden indirectamente confirmar el pequeño aumento observado en la VO_2 máx. Respecto a la ventilación pulmonar, parámetro que se sabe no es el primer factor limitante para el desarrollo del máximo poder aeróbico, se ha visto que no parece ser alterado tras el tratamiento con L-carnitina tanto en ejercicios submáximos como máximos.

No se han encontrado cambios significativos del cociente respiratorio entre el post y el pretratamiento con L-carnitina durante el ejercicio. Esto parece indicar, salvo excepciones, que la proporción de lípidos utilizados para generar energía a través de la ruta aeróbica no varía como consecuencia de la suplementación con L-carnitina.

Efectos de la administración de L-carnitina sobre el metabolismo anaeróbico

El posible incremento del flujo de nucleótidos de adenina a través de la membrana interna mitocondrial como consecuencia de una reducción de la inhibición del translocador de adenilato llevada a cabo por la suplementación de L-carnitina podría resultar en un incremento de la concentración de ATP en el músculo en reposo.

El nivel de lactato en sangre en reposo, así como la cantidad de lactato acumulada en sangre tras ejercicios submáximos, un indicador de la deuda de oxígeno contraída por el sujeto, no está afectado por la transmisión de L-carnitina. En cualquier caso, parte del piruvato producido, en vez de ser transformado en lactato oxidándose el NADH, puede estar contribuyendo al incremento de la reserva de acetil-CoA en los tejidos. Siguiendo una suplementación de L-carnitina, el sujeto podría haber incrementado su deuda máxima de oxígeno sin aumentar la concentración de lactato en sangre y en los tejidos. Es difícil cuantificar la cantidad de deuda de oxígeno extra sólo en base a los niveles de carnitina en sangre antes y después de la suplementación, ya que el acetil-CoA se acumulará principalmente en los tejidos que están trabajando. Una posible estimación podría obtenerse a partir de experimentos que estableciesen el balance de energía total (aeróbica y anaeróbica) de un ejercicio supramáximo estándar determinado antes y después de la administración de L-carnitina.

Administración de L-carnitina y cambios sanguíneos

Se ha comprobado que la concentración de ácidos grasos libres del plasma no parece estar influenciada por la administración de L-carnitina tanto en reposo (0.36 mM en controles, 0.33 mM para suplementados con L-carnitina) como en ejercicio (0.59 mM en controles, 0.56 mM en suplementados en L-carnitina). Estudios llevados a cabo para

total del múscul. Aquest augment, juntament amb el descens de la concentració d'acetil-CoA a causa de la gran activitat de la CoA-carnitina acetiltransferasa, i l'alliberació consegüent de CoA, activa el flux d'energia a través del cicle dels àcids tricarbòxilics i estimula, via disminució de la relació cetil-CoA/CoA, la piruvatdeshidrogenasa promovent un major camp energètic procedent de rutes aeròbiques després d'un deute d'oxigen creixent.⁴⁸

Per analogia amb pacients amb obstrucció vascular, s'ha suggerit que subjectes que portin a terme un exercici intens poden patir o experimentar en determinats punts, segons el tipus i la intensitat de l'exercici, canvis metabòlics en el múscul similars als experimentats per aquests pacients, amb la qual cosa l'administració de L-carnitina seria molt beneficiosa. Els efectes de la L-carnitina estan probablement minimitzats pel fet que solament una petita fracció de la massa muscular, inicialment anaeròbica, pot aprofitar els avantatges de la suplementació i donar lloc a un petit increment de la VO_2 màx. total i un petit descens de la concentració de lactat en la sang que, possiblement, no pugui ser quantificat.

Els descobriments descrits podrien ser confirmats en un model simple que consistiria en una preparació aïllada del múscul perfós en el qual puguin ser localitzats i quantificats més bé els canvis esperats en el camp energètic de les rutes aeròbiques i anaeròbiques.

El metabolisme lipídic no sembla estar influït pel tractament amb L-carnitina. Es podria considerar la possibilitat que les variables bioquímiques mesurades en mostres sanguínies no mostressin canvis quantificables, degut al fet que els efectes de la suplementació de L-carnitina es manifestin solament a nivell tissular.

Conclusions

Tal com ja hem indicat, s'ha observat que l'administració exògena de L-carnitina prevé la isquèmia de miocardi i augmenta la tolerància a la fatiga del cor.^{49, 50, 51} Més recentment,⁴⁸ s'ha comprovat que l'administració de L-carnitina a pacients amb oclusió intermitent incrementa, de manera significativa, els nivells total de carnitina, augmentant el temps d'esforç per a aquests pacients.

No és possible afirmar encara que en subjectes normals (esportistes o no) la suplementació de L-carnitina permeti incrementar el màxim poder aeròbic individual, tot i que en alguns casos s'ha evidenciat aquest increment. Aquest augment és possible, probablement, gràcies a la reducció de part dels acil-CoA de cadena curta lliures per unió a la L-carnitina en els músculs en exercici, amb l'alliberació consegüent de CoA lliure. L'estimulació del piruvatdeshidrogenasa, causada per la disminució del quocient acetil-CoA/CoA, augmentaria el

triglicèridos muestran un descenso no significativo de los mismos tras tratamiento con L-carnitina, tanto en reposo como en ejercicio.⁴⁶

Los niveles plasmáticos de glicerol son iguales antes (0,06 mM) y después (0,06 mM) del tratamiento con L-carnitina. El incremento de glicerol en plasma debido al ejercicio es el mismo antes y después de la administración de L-carnitina (0,23 mM). El β -hidroxibutirato tiende a aumentar tras la administración de L-carnitina tanto en reposo (53,2 μ M frente a 41,2 μ M) como en ejercicio (119 frente a 98 μ M).

La suplementación de carnitina, que tiene como misión mejorar la forma física y por tanto la salud tanto de deportistas como de no deportistas, tiene un impacto metabólico mínimo a juzgar por los datos obtenidos hasta el momento. El resultado más interesante, y aun queda por confirmar, es el incremento del poder aeróbico máximo que han observado algunos autores.

Es evidente que en pacientes con un suministro de oxígeno deteriorado en miocardio y músculo esquelético tiene lugar una mejora tras la administración de L-carnitina. En estos sujetos, dicho tratamiento aumenta la concentración de carnitina total del músculo. Este aumento, junto con el descenso de la concentración de acetil-CoA debido a la gran actividad de la CoA-carnitina acetiltransferasa, y la consiguiente liberación de CoA, activa el flujo de energía a través del ciclo de los ácidos tricarbòxilicos y estimula, via disminució de la relació acetil-CoA/CoA, la piruvato deshidrogenasa promovent un mayor campo energètic procedent de rutes aeròbiques tras una deuda de oxígeno creciente.⁴⁸

Por analogía con pacientes con obstrucción vascular, se ha sugerido que sujetos que lleven a cabo un ejercicio intenso pueden sufrir o experimentar en determinados puntos, dependiendo del tipo y de la intensidad del ejercicio, cambios metabólicos en el músculo similares a los experimentados por estos pacientes, con lo cual la administración de L-carnitina sería muy beneficiosa. Los efectos de la L-carnitina están probablemente minimizados por el hecho de que sólo una pequeña fracción de la masa muscular, inicialmente anaeròbica, puede aprovechar las ventajas de la suplementación y dar lugar a un pequeño incremento de la VO_2 máx. total y un pequeño descenso de la concentración de lactato en sangre que posiblemente no pueda ser cuantificado.

Los descubrimientos descritos podrían ser confirmados en un modelo simple consistente en una preparación aislada de músculo perfundido en el cual puedan ser mejor localizados y cuantificados los cambios esperados en el campo energético de las rutes aeròbiques i anaeròbiques.

El metabolismo lipídico no parece estar influenciado por el tratamiento con L-carnitina. Se podría considerar la posibilidad de que las variables bio-

flux del cicle de Krebs. Aquest seria el paper real de la L-carnitina en el metabolisme aeròbic. El requisit necessari perquè la suplementació de L-carnitina activi la ruta aeròbica seria l'existència de músculs o regions musculars que pateixin esforços que excedeixin el seu potencial aeròbic màxim, mentre que la resta de la massa muscular estaria encara per sota d'aquest líndar o límit. Evidentment, la contribució d'aquest increment de flux d'energia aeròbica en una petita massa de teixit es manifestaria mínimament en valorar el canvi en el consum d'oxigen en la totalitat de l'organisme. Malgrat aquesta limitació, els beneficis per al subjecte serien, en qualsevol cas, notables.

La suplementació de L-carnitina en esportistes podria ser beneficiosa perquè l'exercici prolongat dona lloc a un augment de l'excreció urinària de carnitina,^{15, 29} cosa que probablement va acompanyada d'una disminució de la concentració de carnitina en els músculs actius. Aquesta disminució pot no ser ràpidament compensada per processos nutricionals o metabòlics naturals i una suplementació dietètica podria ser avantatjosa.

Un altre efecte positiu de la suplementació de L-carnitina en els músculs podria ser l'increment de la seva capacitat anaeròbica. La suplementació juga un paper positiu en l'augment de la capacitat de tamponació del piruvat i en la reducció de l'acumulació de lactat en el múscul. El paper hipotètic de la L-carnitina en aquest context necessita més investigació. Un experiment crucial seria aquell en què es pogués establir el balanç de diverses rutes energètiques en un múscul estimulat de manera supramàxima.

Tal com hem esmentat abans, els possibles efectes beneficiosos de la suplementació de L-carnitina en determinats punts del teixit muscular probablement no indueixen canvis quantificables en la composició dels fluids corporals, cosa per la qual el nivell plasmàtic dels intermediaris més importants del metabolisme lipídic no variarà significativament. Aquesta és la raó per la qual aquestes variables no sembla que estiguin influïdes per la suplementació de L-carnitina. Els canvis podrien, potser, ser trobats en el camp tissular en regions que no són fàcilment accessibles per a l'experimentador.

Considerant que: 1) la L-carnitina és un component natural del múscul, 2) fins i tot una presa excessiva de L-carnitina no és perjudicial per a animals i humans, i 3) l'administració de L-carnitina ofereix la possibilitat d'augmentar, sota unes condicions determinades, el metabolisme aeròbic i anaeròbic pel seu paper específic en el transport d'àcids grassos de cadena llarga activats a través de la membrana interna mitocondrial, la L-carnitina pot ser considerada, en potència, una ajuda nutricional. En qualsevol cas, és prematur establir tant la dosi com el tipus d'administració de L-carnitina que contribueixi a mantenir un nivell constant de la

químicas medidas en muestras sanguíneas no muestren cambios cuantificables, debido a que los efectos de la suplementación de L-carnitina se manifiesten a nivel tisular.

Conclusiones

Como ya se ha indicado, se ha observado que la administración exógena de L-carnitina previene la isquemia de miocardio y aumenta la tolerancia al estrés del corazón.^{49, 50, 51} Más recientemente,⁴⁶ se ha comprobado que la administración de L-carnitina a pacientes con oclusión intermitente incrementa, de forma significativa, los niveles totales de carnitina, aumentando el tiempo de esfuerzo para estos pacientes.

No es posible afirmar todavía que en sujetos normales (deportistas o no) la suplementación de L-carnitina permita incrementar el máximo poder aeróbico individual, aunque en algunos casos se ha evidenciado este incremento. Tal aumento es posible, probablemente, gracias a la reducción de parte de los acetil-CoA de cadena corta libres por unión a la L-carnitina en los músculos en ejercicio, con la consiguiente liberación de CoA libre. La estimulación de la piruvato deshidrogenasa, debida a la disminución del cociente acetil-CoA/CoA, aumentaría el flujo del ciclo de Krebs. Este sería el papel real de la L-carnitina en el metabolismo aeróbico. El requisito necesario para que la suplementación de L-carnitina active la ruta aeróbica sería la existencia de músculos o regiones musculares que estén sufriendo esfuerzos que excedan a su potencial aeróbico máximo, mientras que el resto de la masa muscular estaría todavía por debajo de este umbral o límite. Evidentemente, la contribución de este incremento de flujo de energía aeróbica en una pequeña masa de tejido se manifestaría mínimamente al valorar el cambio en el consumo de oxígeno en totalidad del organismo. A pesar de esta limitación, los beneficios para el sujeto serían notables en cualquier caso.

La suplementación de L-carnitina en deportistas podría ser beneficiosa debido a que el ejercicio prolongado da lugar a un aumento de la excreción urinaria de carnitina,^{15, 29} lo que probablemente va acompañado de una disminución de la concentración de carnitina en los músculos activos. Esta disminución puede ser no rápidamente compensada por procesos nutricionales o metabólicos naturales y una suplementación dietética podría ser ventajosa.

Otro efecto positivo de la suplementación de L-carnitina en los músculos podría ser el incremento de su capacidad anaeróbica. La suplementación juega un papel positivo en el aumento de la capacidad de tamponación del piruvato y en la reducción de la acumulación de lactato en el músculo. El papel hipotético de la L-carnitina en este contexto,

molècula en els teixits, independentment del grau de síntesi endògena la qual, com és sabut, varia en diferents situacions fisiopatològiques i en relació amb la ingestió en la dieta.

necesita de mayor investigación. Un experimento crucial sería aquel en el que se pudiera establecer el balance de varias rutas energéticas en un músculo estimulado de forma supramáxima.

Como se mencionó anteriormente, los posibles efectos beneficiosos de la suplementación de L-carnitina en determinados puntos del tejido muscular probablemente no inducen cambios cuantificables en la composición de los fluidos corporales por lo que el nivel plasmático de los intermediarios más importantes del metabolismo lipídico no variará significativamente. Esta es la razón por la cual estas variables no parecen estar influenciadas por la suplementación de L-carnitina. Los cambios podrían, quizás, ser encontrados a nivel tisular en regiones que no son fácilmente accesibles para el experimentador.

Considerando que 1) la L-carnitina es un componente natural del músculo, 2) incluso una toma excesiva de L-carnitina no es perjudicial para animales y humanos y 3) la administración de L-carnitina ofrece la posibilidad de aumentar, bajo determinadas condiciones, el metabolismo aeróbico y anaeróbico por su papel específico en el transporte de ácidos grasos de cadena larga activados a través de la membrana interna mitocondrial, la L-carnitina puede ser considerada, en potencia, una ayuda nutricional. En cualquier caso, es prematuro establecer tanto la dosis como el tipo de administración de L-carnitina que contribuya a mantener un nivel constante de la molécula en los tejidos, independientemente del grado de síntesis endógena que, es conocido, varía en distintas situaciones fisiopatológicas y en relación con la ingestión en la dieta.

Bibliografía

1. GULEWITCH, V.S.; KRIMBERG, R.: *Physiol. Chem.* 45, 326-330. 1905.
2. KUTCHER, F.: *Industrie Chimique Belge*, 11, 1.329-1.339. 1960.
3. TOMITA, M.; SENDJU, Y.: *Physiol. Chem.* 169, 263-277. 1927.
4. CARTER, H.E.; BHATTACHARYYA, P.K.; WEIDMAN, K.R.; FRAENKEL, G.: *Arch. Biochem. Biophys.* 38, 405-416. 1952.
5. FRIEDMAN, S.; FRAENKEL, G.: *Arch. Biochem. Biophys.* 59, 491-501. 1955.
6. FRITZ, I.B.: *Acta Physiol. Scand.* 34, 367-385. 1955.
7. BIEBER, L.L.: *Annu. Rev. Biochem.* 57, 261-283. 1988.
8. REBOUCHE, C.J.; ENGEL, A.G.: *Biochim. Biophys. Acta* 630, 22-29. 1980.
9. REBOUCHE, C.J.: *Fed. Proc.* 41, 2.848-2852. 1982.
10. BROOKS, D.E.; McINTOSH, J.E.A.: *Biochem. J.* 148, 439-445. 1975.
11. CARLIN, J.L.; REDDAN, W.G.; SANJAK, M.; HODACH, R.: *Eur. J. Appl. Physiol.* 61, 1.275-1278. 1986.
12. CEDERBLAD, G.; LINDSTEDT, S.; LUNDHOLM, K.: *Clin. Chim. Acta* 53, 311-321. 1974.

13. HARRIS, R.C.; FOSTER, C.V.L.; HULTMAN, E.: *J. Appl. Physiol.* 63, 440-442. 1987.
14. LENNON, D.F.L.; STRATHAN, F.W.; SHRAGO, E.; NAGEE, F.J.; MADDEN, M.; HANSON, P.; CARTER, A.L.: *J. Aspl. Physiol.* 55, 789-785. 1983.
15. FOSTER, C.V.L.; HARRIS, R.C.; SNOW, D.H.: *Comp. Biochem. Physiol.* 91 A, 827-835. 1988.
16. SNOSWELL, A.M.; KOUNDAKJIAN, P.: *Biochem. J.* 96, 127-133. 1972.
17. ANGELINI, C.; VERGANI, L.; COSTA, L.; MARTINUZZI, A.; DUNNER, E.; MARESCOTTI, C.; NÖSADINI, R.: *Adv. Clin. Enzymol.* 4, 103-110. 1986.
18. MARCONI, C.; SASSI, G.; ARPINELLI, A.; CERRETELLI, P.: *Eur. J. Appl. Physiol.* 54, 131-135. 1985.
19. BREMER, J.: *Physiol. Rev.* 63, 1.420-1.480. 1983.
20. HOPPEL, C.L.; DAVIS, A.T.: *Biochem. Soc. Trans.* 14, 673-674. 1986.
21. HAMILTON, J.W.; LI, B.U.K.; SHUG, A.L.; OLSEN, W.A.: *Gastroenterology*, 91, 10-16. 1986.
22. BORUM, P.R.; BENNET, S.G.: *J. Am. Coll. Nutr.* 5, 177-182. 1986.
23. ANGELINI, C.; LUCKE, S.; CANTARUTTI, F.: *Neurology* 26, 633-637. 1976.
24. BIEBER, L.L.; FIOL, C.J.: *Biochem. Soc. Trans.* 14, 674-676. 1986.
25. MITCHELL, M.E.: *Am J. Clin. Nutr.* 31, 481-491. 1978 b.
26. CEDERBLAD, G.: *Am. J. Clin. Nutr.* 45, 725-729. 1987.
27. MAEBASHI, M.; KAWAMURA, N.; SATO, M.; YOSHINAGA, K.; SUZUKI, M.: *J. Lab. Clin. Med.* 87, 760-766. 1976.
28. MAEBASHI, M.; KAWAMURA, N.; YOSHINAGA, K.: *Nature* 249, 173-174. 1974.
29. SUZUKI, M.; KANAYA, M.; MURAMUTSU, S.; TAKAHASHI, T.: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 22, 169-174. 1976.
30. BREMER, J.: *J. Biol. Chem.* 237, 2.228-2.231. 1962.
31. FRITZ, I.B.; YUE, K.T.N.: *J. Lipid Res.* 4, 279-288. 1963.
32. SILIPRANDI, N.; SILIPRANDI, D.; CIMAN, M.: *Biochem. J.* 96, 777-780. 1965.
33. HÜLSMANN, W.C.; SILIPRANDI, D.; CIMAN, M.; SILIPRANDI, N.: *Biochim. Biophys. Acta* 93, 166-168. 1964.
34. PANDE, S.V.; PARVIN, R.: *J. Biol Chem.* 255, 2.994-3.001. 1980.
35. BREMER, J.: *Biochim. Biophys. Acta* 48, 622-624. 1961.
36. SILIPRANDI, N.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 488, 188-125. 1986.
37. ALKONYI, I.; KERNER, J.; SANDOR, A.: *FEBS Lett.* 52, 265-268. 1975.
38. CHILDRESS, C.C.; SACKTOR, B.; TRAYNOR, D.R.: *J. Biol. Chem.* 242, 754-760. 1966.
39. PEARSON, D.J.; TUBBS, P.K.: *Biochem. J.* 105, 953-963. 1967.
40. SOOP, M.; BJORKMAN, O.; CEDERBLAD, G.; HAGENFELDT, H.; WAHREN, J.: *Eur. J. Appl. Physiol.* 64, 2.394-2.399. 1988.
41. COOPER, M.B.; JONES, D.A.; EDWARDS, R.H.T.; CORBUCCI, G.C.; MONTANARI, G.; TREVISANI, C.: *J. Sports Sci.* 4, 79-87. 1986.
42. BOHLES, H.: *Z. Kardiol.* 76, suppl. 5, 14-18. 1987.
43. GREIG, C.; FINCH, K.M.; JONES, D.A.; COOPER, M.; SARGEANT, A.J.; FORTE, C.A.: *Eur. J. Appl. Physiol.* 56, 457-460. 1987.
44. NEGRAO, C.E.; JI, L.L.; SCHAUER, J.E.; NAGLE, F.J.; LARDY, H.A.: *J. Appl. Physiol.* 63, 315-321. 1987.
45. STUMPF, D.A.; PARKER, W.D. Jr.; ANGELINI, C.: *Neurology* 35, 1.041-1.045. 1985.
46. DAL NEGRO, R.; POMARI, G.; ZOCCATELLI, O.; TURCO, P.: *Clin. Trials. J.* 23, 242-248. 1986.
47. DRAGAN, G.J.; VASILIU, A.; GEORGESCU, E.; DUMAS, I.: *Rev. Roum. Morphol. Embryol. Physiol. Physiologie* 24, 23-28. 1987.
48. BREVETTI, G.; CHIARIELLO, M.; FERULANO, G.; POLICICCHIO, A.; NEVOLA, E.; ROSSINI, A.; ATTISANO, T.; AMBROSIO, G.; SILIPRANDI, N.; SNGELINI, C.: *Circulation* 77, 767-773. 1988.
49. FERRARI, R.; CUCCHINI, F.; VISIOLI, O.: *Int. J. Cardiol.* 5, 213-216. 1984.
50. FOLTS, J.D.; SHUG, A.L.; KOKE, J.R.; BITTAR, N.: *Am. J. Cardiol.* 41, 1.209-1.214. 1978.
51. KOSOLCHAROEN, P.; NAPPI, J.; PEDUZZI, P.; SHUG, A.L.; PATEL, A.K.; FILIPEK, T.; THOMSEN, J.H.: *Curr. Ther. Res.* 30, 753-764. 1981.

