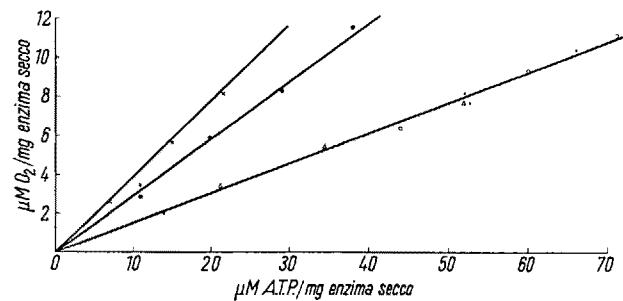


## I processi di attivazione dei sistemi enzimatici ossidasici dei grassi. I

LELOIR e MUÑOZ<sup>1</sup>, LEHNINGER<sup>2</sup>, GRAFFLIN e GREEN<sup>3</sup> riuscirono a preparare dai tessuti animali un sistema privo di cellule integre in grado di ossidare gli acidi grassi. Il sistema è reso attivo dall'aggiunta di A.T.P. il quale agisce fornendo energia per la sintesi degli acil-coenzima-A. La contemporanea ossidazione di un acido del ciclo di Krebs provoca un aumento dell'ossidazione a carico dell'acido grasso. In un primo tempo questo fatto venne interpretato nel senso che gli acidi del ciclo di Krebs attraverso il processo della fosforilazione ossidativa mantengono nel sistema un elevato livello di A.T.P. – Però numerosi dati sperimentali<sup>4</sup> sembrano dimostrare che l'A.T.P., pur essendo necessario, non è sufficiente per mantenere una elevata attività del sistema enzimatico ossidativo dei grassi. Con le ricerche riferite in questa nota si è determinata l'azione esercitata dall'A.T.P. e da alcuni acidi del ciclo di Krebs su tale sistema preparato dal fegato di cavia. In particolare si è determinato se esistesse un rapporto tra: a) quantità di A.T.P. aggiunto direttamente al sistema ed intensità della sua attività; b) quantità di A.T.P. sintetizzato attraverso la fosforilazione ossidativa degli acidi del ciclo di Krebs ed intensità di azione del sistema enzimatico ossidativo dei grassi.

**Metodi.** Il sistema enzimatico ossidativo degli acidi grassi è stato preparato dal fegato di cavia mediante il metodo di LEHNINGER<sup>2</sup> e l'attività è stata dedotta dalla quantità di  $O_2$  consumata durante l'ossidazione dell'acido caprilico misurata con la tecnica manometrica di Warburg. Gli attivatori del sistema erano rappresentati da: A.T.P., A.T.P. in presenza di malonato, A.T.P. in presenza di fumarato e malonato,  $\alpha$ -chetoglutarato in presenza di malonato. Il fumarato è stato impiegato in associazione coll'A.T.P. in quanto da solo è inattivo; l' $\alpha$ -chetoglutarato invece risulta attivo anche quando l'A.T.P. non viene aggiunto. Per ogni prova si istituivano tre manometri: 1° Nel primo si poneva il solo estratto enzimatico: in questo si misura un consumo di  $O_2$  di una certa intensità dovuto alla ossidazione di metaboliti, diversi dall'acido grasso, presenti nel sistema enzimatico. A tale ossidazione è legata la sintesi di A.T.P. che è stata calcolata considerando un P/O uguale a 3. Le prove eseguite con acido malonico avevano lo scopo di diminuire l'intensità di tale ossidazione. 2° Nei casi in cui si impiegava, come attivatori, fumarato o  $\alpha$ -chetoglutarato, si sostituiva un secondo manometro nel quale al sistema enzimatico veniva aggiunto il solo attivatore in assenza del substrato specifico, acido caprilico. In tale manometro si misurava quindi l'intensità di ossidazione del solo attivatore, acido del ciclo di Krebs, e da questa si risaliva alla quantità di A.T.P. sintetizzato calcolando per il fumarato un P/O uguale a 3. Per l' $\alpha$ -chetoglutarato si sono presi in considerazione due diversi P/O, 3 e 4, in quanto, in questo caso, l'intensità di fosforilazione che si accompagna all'ossidazione dell' $\alpha$ -chetoglutarato non è stata ancora stabilita con certezza (SLATER e HOLTON<sup>5</sup>). 3° Nel terzo

manometro il sistema enzimatico veniva posto a contatto sia con gli attivatori sia con il substrato specifico (acido caprilico) e dal consumo di  $O_2$  di questo, per differenza coi valori registrati negli altri due, veniva calcolata l'intensità di ossidazione del solo acido caprilico. Nel grafico si è rappresentata l'intensità di ossidazione dell'acido caprilico in rapporto alla quantità di A.T.P. presente nel sistema, calcolata mediante la somma dell'A.T.P. direttamente aggiunto con quello sintetizzato tramite la fosforilazione ossidativa determinato con le modalità su descritte.



Le  $\mu M$  di A.T.P. segnate in ascissa provengono da:

- A.T.P. aggiunto direttamente al sistema + A.T.P. proveniente da fosforilazione ossidativa basale.
- A.T.P. aggiunto direttamente al sistema + A.T.P. proveniente da fosforilazione ossidativa basale in presenza di malonato.
- A.T.P. aggiunto direttamente al sistema + A.T.P. proveniente da fosforilazione ossidativa basale + fumarato.
- A.T.P. proveniente da fosforilazione ossidativa  $\alpha$ -chetoglutarato (calcolando P/O = 4).
- + A.T.P. proveniente da fosforilazione ossidativa  $\alpha$ -chetoglutarato (calcolando P/O = 3).

**Risultati e discussione.** I risultati esposti nel grafico dimostrano che nei casi in cui l'attivatore è rappresentato dall'A.T.P. o dall'acido fumarico vi è una diretta proporzionalità tra la quantità di A.T.P. presente nel sistema enzimatico e l'intensità con cui si svolge il processo ossidativo a carico dell'acido grasso. In questo caso quindi l'acido fumarico sembra agire in quanto carica A.T.P. per il processo della fosforilazione ossidativa. Invece l'azione attivatrice dell'acido  $\alpha$ -chetoglutarico è molto più intensa di quanto avrebbe dovuto essere qualora si fosse svolta tramite l'A.T.P. sintetizzato durante l'ossidazione dell' $\alpha$ -chetoglutarico stesso. Vi è però sempre un rapporto diretto tra intensità di ossidazione dell' $\alpha$ -chetoglutarato e l'intensità della sua azione attivatrice. I dati su esposti sembrano far escludere che l' $\alpha$ -chetoglutarato agisca tramite l'A.T.P.

M. SACCHETTO e C. R. Rossi

*Istituto di Chimica biologica, Università di Padova (Italia), il 8 aprile 1958.*

### Résumé

Dans le foie de cobaye, l'activité du système enzymatique oxydase des acides gras est en rapport avec la quantité d'A.T.P. qui y est directement introduit ou qui se forme par l'oxydation de l'acide fumarique. Tandis que l'acide  $\alpha$ -cétoglutartique active l'oxydation des acides gras beaucoup plus fortement que l'A.T.P. formé par l'oxydation du même acide  $\alpha$ -cétoglutartique.

<sup>1</sup> L. F. LELLORE e J. M. MUÑOZ, Biochem. J. 33, 731 (1939); J. biol. Chem. 147, 353 (1943); 153, 53 (1944).

<sup>2</sup> A. L. LEHNINGER, J. biol. Chem. 161, 437 (1945).

<sup>3</sup> A. L. GRAFFLIN e D. E. GREEN, J. biol. Chem. 176, 95 (1948).

<sup>4</sup> E. KNOX, B. N. NOYCE e V. H. AUERBACH, J. biol. Chem. 176, 117 (1948). – R. F. WITTER, E. H. NEWCOMB e E. STOTZ, J. biol. Chem. 200, 703 (1953). – E. P. KENNEDY e A. L. LEHNINGER, *Biochemical problems on phosphorus metabolism*, vol. II (J. Hopkins, 1952), p. 253.

<sup>5</sup> E. C. SLATER e F. A. HOLTON, Biochem. J. 56, 28 (1954).