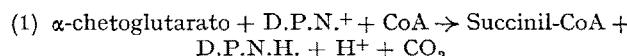
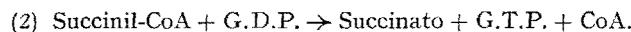


Influenza dell'arsenato sui processi di attivazione dei sistemi enzimatici ossidasici dei grassi. II

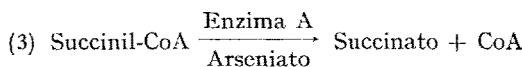
I risultati della nota precedente¹ tendevano a dimostrare che l' α -chetoglutarato attiva i sistemi enzimatici ossidasici dei grassi indipendentemente dalla sua proprietà di sintetizzare A.T.P. tramite il processo della fosforilazione ossidativa. Ora, posto che il processo di attivazione consiste nel fornire energia per la sintesi degli acil-coenzima-A, si deve pensare che l' α -chetoglutarato - il quale di per se, a differenza dell'A.T.P., non contiene legami energetici - per esplicare la sua azione attivatrice deve dare origine, attraverso alla sua ossidazione, alla formazione di sostanze col legami a livello energetico tale da poter essere utilizzati per la sintesi degli acil-coenzima-A. Tale sostanza potrebbe essere rappresentata dal succinil-coenzima-A che si forma secondo la seguente reazione (1):



e il succinil-coenzima-A potrebbe trasferire direttamente il CoA all'acido grasso (GREEN², GREEN, GOLDMANN, MII, BEINERT³, SANADI e LITTLEFIELD⁴, STERN e DEL CAMPILLO⁵). Non si può però escludere che il succinil-CoA agisca tramite il G.T.P. che si forma secondo la seguente reazione (2):



Con le ricerche qui esposte si è partiti dal fatto che in presenza di arseniato il succinil-coenzima-A subisce un processo di arsenolisi (SANADI, GIBSON, AYENGAR e OUELLET⁶; SANADI, GIBSON, AYENGAR e JACOB⁷) secondo la seguente reazione (3):



e si è voluto determinare l'eventuale influenza esercitata dall'arseniato sull'azione attivatrice esplidata dall' α -chetoglutarato sull'ossidazione degli acidi grassi.

Metodi. Il sistema enzimatico ossidasico degli acidi grassi è stato preparato dal fegato di cavia mediante il metodo di LEHNINGER⁸ e l'attività è stata dedotta dalla quantità di O_2 consumata durante l'ossidazione dell'acido caprilico, misurata secondo la tecnica manometrica di Warburg (vedi Tabella, colonna A). L'acido acetacetico formatosi è stato determinato con il metodo di GREENBERG e LESTER⁹ modificato da BARKULIS e LEHNINGER¹⁰: dalla quantità di acido acetacetico trovato si è calcolata la quantità di O_2 teoricamente occorsa per la sua forma-

zione (vedi Tabella, colonna B). Nella colonna C della Tabella si è espressa la quantità di O_2 consumata dal sistema enzimatico per l'ossidazione del solo attivatore, succinato o α -chetoglutarato, in assenza dell'acido caprilico.

μM di O_2 consumate per l'ossidazione dell'acido caprilico nello spazio di tempo di 20 min da 100 mg di estratto enzimatico secco. - Caprilato $0,7 \times 10^{-3}$ A.T.P. 2×10^{-3} M. Succinato e α -chetoglutarato 1×10^{-3} M. $Mg^{++} 1 \times 10^{-2}$. Tampone-Na-K pH 7,4 cm³ 1,4. Preparato enzimatico secondo LEHNINGER cm³ 0,2.

Attivatori	A O_2 totale consumata dal si- stema en- zimatico	B O_2 impie- gato per la forma- zione di ac. acet.	A-B	C O_2 impie- gato p.l' ossidaz. del sol at- tivatore
A.T.P.	9,55	6,55	3,00	—
A.T.P. + AsO_4^{4-} (20 μM)	9,45	6,90	2,55	—
A.T.P. + AsO_4^{4-} (40 μM)	10,00	7,05	2,95	—
A.T.P. + succinato . .	10,20	2,70	7,50	10,50
A.T.P. + succinato + AsO_4^{4-} (20 μM) . .	10,50	3,00	7,50	10,65
A.T.P. + succinato + AsO_4^{4-} (40 μM) . .	11,05	2,80	8,25	9,80
α -chetoglutarato . .	12,20	8,50	3,70	4,40
α -chetoglutarato + AsO_4^{4-} (20 μM) . .	9,80	5,15	4,65	4,15
α -chetoglutarato + AsO_4^{4-} (40 μM) . .	0,00	0,00	0,00	4,55

Risultati e discussione. Dai risultati esposti nella tabella si può ricavare che l'arseniato inibisce l'attività del sistema enzimatico ossidasico dell'acido caprilico soltanto nel caso in cui il processo dell'attivazione è esercitato dall' α -chetoglutarato, senza modificare in alcun modo l'intensità di ossidazione di questo. Tali dati confermano che l'azione attivatrice dell' α -chetoglutarato non può essere riferita alla sua proprietà di sintetizzare A.T.P. tramite il processo della fosforilazione ossidativa; dimostrano inoltre che la scissione arsenolitica del succinil-coenzima-A, derivato dall'ossidazione dell' α -chetoglutarato, inibisce l'azione attivatrice da questo esercitato sull'ossidazione degli acidi grassi. In altra nota (ROSSI¹¹) si è dimostrato che tale azione attivatrice viene inibita anche nei casi in cui è impedita la scissione del succinil-coenzima-A. In definitiva si può concludere che nel fegato di cavia: 1° L'azione attivatrice dell' α -chetoglutarato è legata alla scissione del succinil-CoA che si forma dalla sua ossidazione; 2° che tale scissione deve svolgersi normalmente secondo la reazione (2). Tutto questo fa supporre che l'azione attivatrice dell' α -chetoglutarato debba essere riferita alla formazione di G.T.P.

C. R. ROSSI e M. SACCHETTO

Istituto di Chimica biologica, Università di Padova, il 8 aprile 1958.

Résumé

Dans le foie de cobaye l'arseniate inhibe l'action activatrice provoquée par l'acide α -cétoglutarique sur le système enzymatique oxydasique des acides gras, tandis qu'il ne modifie pas l'action activatrice due à l'A.T.P.

¹ M. SACCHETTO e C. R. ROSSI, *Exper.* 14, 253 (1958).

² D. E. GREEN, *Science* 115, 661 (1952).

³ D. E. GREEN, D. S. GOLDMANN, S. MII e H. BEINERT, *J. biol. Chem.* 202, 137 (1953).

⁴ D. R. SANADI e J. W. LITTLEFIELD, *J. biol. Chem.* 201, 103 (1953).

⁵ J. R. STERN e A. DEL CAMPILLO, *J. Amer. chem. Soc.* 75, 2277 (1953).

⁶ D. R. SANADI, D. M. GIBSON, P. AYENGAR e C. OUELLET, *Biochim. biophys. Acta* 13, 146 (1954).

⁷ D. R. SANADI, D. M. GIBSON, P. AYENGAR e M. JACOB, *J. biol. Chem.* 218, 505 (1956).

⁸ A. L. LEHNINGER, *J. biol. Chem.* 161, 437 (1945).

⁹ L. A. GREENBERG e D. LESTER, *J. biol. Chem.* 154, 177 (1944).

¹⁰ S. S. BARKULIS e A. L. LEHNINGER, *J. biol. Chem.* 199, 339 (1951).

¹¹ C. R. ROSSI, *G. Biochim.* 6, 331 (1957).