

URSZULA MACKIEWICZ, LEOKADIA KASPRZAK, LUDWIK OBUCHOWICZ,  
JAN MICHEJDA

AKTYWNOŚĆ ENZYMÓW ODDECHOWYCH  
SZEREGU OKSYDAZY BURSZTYNOWEJ  
W NIEDOKRWISTOŚCI DOŚWIADCZALNEJ Z NIEDOBORU  
ŻELAZA

Z Pracowni Farmakodynamiki A. M. w Poznaniu

Kierownik: prof. dr *J. Dadlez*

Z Zakładu Fizjologii Zwierząt U. A. M. w Poznaniu

Kierownik: prof. dr *Z. Suchcitzowa*

Niedobór żelaza w ustroju doprowadza do powstania niedokrwistości niedobarwliwej i do zaburzeń ze strony szeregu narządów. Niedokrwistość stanowi najbardziej wyraźny przejaw zaburzeń gospodarki żelazem.

Obserwacje ostatnich lat wykazały, że istnieje tak zwana niedokrwistość ukryta, w której poziom hemoglobiny i liczba krwinek czerwonych nie ulegają zmianie, a poziom hemin tkankowych wyraźnie spada [2, 9, 20]. Temu stanowi towarzyszą objawy chorobowe charakterystyczne dla niedokrwistości z niedoboru żelaza. Według niektórych autorów okres jawnej niedokrwistości jest zawsze poprzedzony okresem niedokrwistości ukrytej [9]. W związku z tym spostrzeżeniem należy przypuszczać, że w okresie niedoboru żelaza mogą wystąpić zaburzenia czynności ważnych dla życia hemin tkankowych, szczególnie żelazowych enzymów oddechowych o rdzeniu hemowym. Zachowanie się żelazowych enzymów oddechowych w okresie niedoboru żelaza stało się ostatnio przedmiotem wielkiego zainteresowania [18, 19]. Wykazano, że zawartość cytochromu c w wątrobie, w sercu i w nerkach zmniejsza się zarówno w stanach niedoboru żelaza przebiegających z równoczesnym spadkiem poziomu hemoglobiny, jak i w niedokrwistości ukrytej, w której obraz morfologiczny krwi jest prawidłowy [4, 8, 2]. Zawartość cytochromu c w mięśniu sercowym i w mięśniach szkieletowych ulega także obniżeniu w przewlekłych chorobach zakaźnych, w których występuje niski poziom hemoglobiny [6, 20]. Podawanie w tych schorzeniach żelaza powoduje wzrost zawartości cytochromu c.

Aktywność oksydazy cytochromowej spada jedynie przy równoczesnym braku żelaza i miedzi, jak również tylko wspólne podawanie żelaza i miedzi powoduje powrót aktywności oksydazy cytochromowej do wartości prawidłowych [4, 14, 8].

Katalaza nie wykazuje zmniejszenia aktywności w niedoborze żelaza przebiegającym z małym obniżeniem poziomu hemoglobiny [1, 3], natomiast jej aktywność ulega wyraźnie obniżeniu w okresie kiedy zaznacza się duży spadek poziomu hemoglobiny [15].

Celem naszej pracy było zbadanie aktywności enzymów oddechowych szeregu oksydazy bursztynowej w okresie małego i dużego spadku poziomu hemoglobiny oraz po podawaniu żelaza, gdy hemoglobina wraca do wartości prawidłowych.

#### METODYKA

Do doświadczeń używane były szczury, u których niedokrwistość z niedoboru żelaza wywołano metodą Elvehjema i Kemmerera. Ciężarne samice, na tydzień przed wykotem umieszczano w specjalnych klatkach posiadających podłogę z blachy cynkowanej, a ściany z płyt szklanych. W okresie wykotu jako podściółkę stosowano ligninę i wełnę drzewną, w okresie późniejszym tylko wełnę drzewną. Młode szczury przebywały z matką przez 28 dni, przy czym w celu uniemożliwienia młodemu dostępu do normalnego pożywienia, matka była karmiona w izolacji poczynając od 10. dnia od wykotu. Jedynie mleko podawane było do wspólnej klatki bez ograniczeń. Po 28 dniach matkę usuwano, a młode w dalszym ciągu otrzymywały wyłącznie mleko krowie z dodatkiem witaminy A+D.

Po 4 tygodniach takiej diety zwierzęta wykazywały duży spadek hemoglobiny i krwinek czerwonych. Przez następne 4 tygodnie dodawano do mleka chlorek żelazowy firmy „Merck'a” w ilości 0,5 mg na szczura dziennie. Po tym czasie poziom hemoglobiny wracał do wartości prawidłowych.

Do doświadczeń użyto 3 serie szczurów:

- 1 seria — w okresie małego spadku poziomu hemoglobiny (1 miesiąc życia),
- 2 seria — w okresie dużego spadku poziomu hemoglobiny (2 miesiąc życia),
- 3 seria — w okresie powrotu poziomu hemoglobiny do wartości prawidłowych (3 miesiąc życia).

Zwierzęta kontrolnie otrzymywały normalną dietę i badania na nich były przeprowadzane w tym samym czasie co u zwierząt z niedokrwistością, to znaczy w 1, w 2 i w 3 miesiącu życia.

Hemoglobinę oznaczano metodą Kinga i wyrażono w gramach na 100 ml krwi.

Aktywność enzymów oddechowych szeregu oksydazy bursztynowej badano według metod Slater'a [17] w standardowych naczynkach Warburga o pojemności 15 ml, w temperaturze 38°C, przy wychyleniach 120/min.

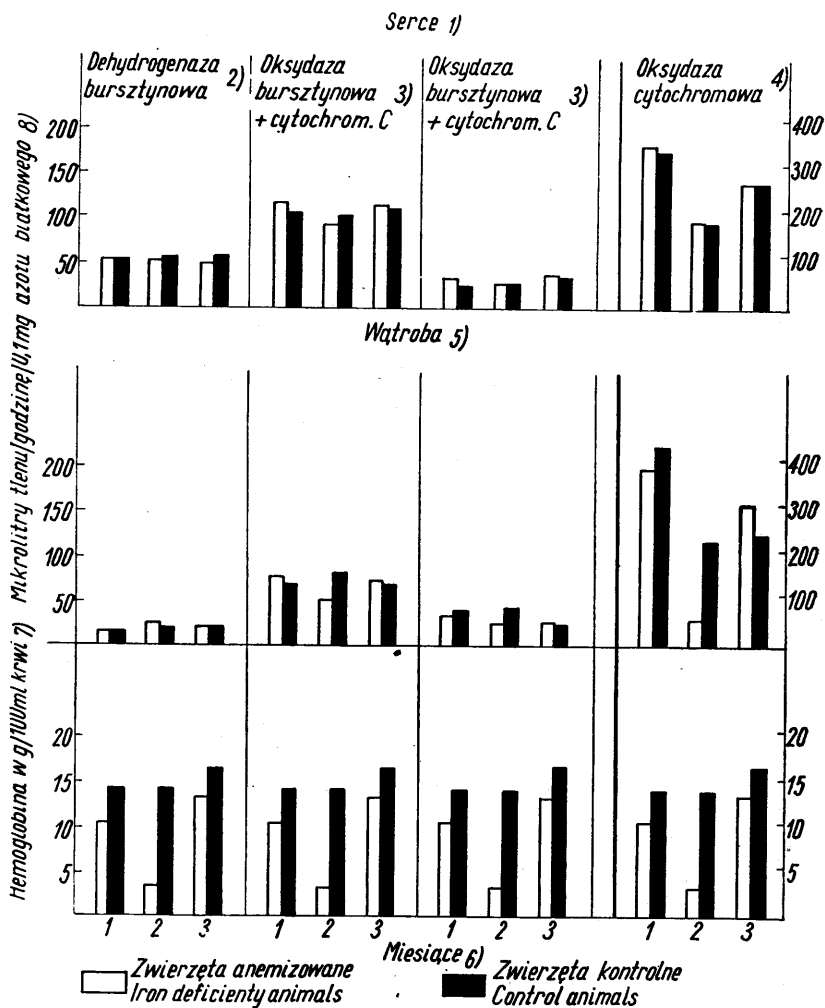
Aktywność oksydazy cytochromowej badano wg metody Slater'a [16] jako aktywność przy nieskończenie wielkim stężeniu cytochromu C (zasada Lineweavera i Burke'go). Dla każdorazowo przygotowanego askorbinianu sodu oznaczano autooksydację wobec wszystkich używanych stężeń cytochromu c. Substrat przelewano z ramienia bocznego naczynka Warburga po 10-minutowym wyrównaniu termicznym. Pomiar prowadzono przez 20 minut w odstępach 5-minutowych i wyniki wyrażono jako mikrolitry zużytego tlenu na godzinę. Całkowita pojemność płynu w naczynku wynosiła 3 ml.

Końcowe stężenia odczynników w naczynkach Warburga były następujące:

SDH\*: błękit metylenowy — 0,001 M, cyjanek potasu — 0,001 M, bursztynian sodu — 0,027 M, bufor fosforanowy o pH 7,3 — 0,072 M, dla preparatu — 0,084 M.

\* Skróty stosowane w pracy: SDH — dehydrogenaza bursztynowa, SOX — oksydaza bursztynowa, OX — oksydaza cytochromowa, Hb — hemoglobina.

SOX: bufor fosforanowy o pH 7,3 — 0,105 M, bursztynian sodu — 0,027 M, cytochrom c —  $0,35 \times 10^{-4}$  M, chlorek wapnia — 0,0003 M.



Ryc. 1. Graficzne zestawienie aktywności enzymów szeregu oksydazy bursztynowej i poziomu hemoglobiny krwi w przebiegu niedokrwistości doświadczalnej u szczura.

Fig. 1. Activity of succinic oxydase enzyme system and blood haemoglobin level in experimental anaemia in rat compiled graphically.

Heart 1): Succinic dehydrogenase 2); Succinic oxidase + cytochrome C 3); Cytochrome oxidase 4); Liver 5); Months 6); Haemoglobin in g./100 ml. of blood 7); Microlitres of oxygen/hour/0.1 mg. of protein nitrogen 8).

OX: cytochrom c — 0,67, 0,34, 0,22, 0,16,  $0,11 \times 10^{-4}$  M, askorbinian sodu — 0,02 M, bufor fosforanowy o pH 7,3 — 0,054 M.

Cytochrom preparowano według metody Keilina i Hartree'go [11].

Wszystkie odczynniki używane w doświadczeniach przygotowywano na wodzie podwójnie destylowanej.

Badania przeprowadzano na homogenacie całkowitym serca i wątroby oraz na preparacie serca i wątroby. Szczura dekapitowano, po czym szybko wyjmowano serce i wątrobę, osuszano krew na bibule i umieszczano w lodówce.

Homogenat całkowity przygotowywano w buforze fosforanowym 0,18 M o pH 7,3 w stosunku 1:19. Czas homogenizacji wynosił 3 minuty przy prędkości obrotów około 1000/min.

Preparat uzyskiwano metodą Keilina i Hartree'go [10] z pewnymi własnymi zmianami.

Serce miażdżono lekko w homogenizatorze, miazgę przenoszono do próbki wirowkowej, dodając 20 ml wody destylowanej, wirowano przez 10 minut z siłą 8500 g. Odwirowany płyn wylewano, a do osadu dodawano drugą porcję wody destylowanej (ok. 20 ml) i po dokładnym rozmieszaniu bagietką wirowano powtórnie przez 10 minut z siłą 8500 g. Wirowanie powtarzano kilkakrotnie, aż do chwili kiedy płyn nad osadem nie wykazywał zabarwienia. Osad przenoszono do homogenizatora z 5 ml buforu fosforanowego 0,02 M o pH 7,3 i homogenizowano przez 3 minuty przy 1000 obrotach/min. Następnie rozmieszany osad przenoszono do probówek i wirowano przez 10 minut z siłą 480 g. Płyn zlewano i przechowywano w lodówce. Osad po rozmieszaniu z 5 ml buforu fosforanowego 0,02 M o pH 7,3 wirowano przez 10 minut z siłą 480 g. Oba płyny łącznie i dodawano kwasu octowego 1 n do uzyskania pH 5,7, następnie natychmiast wirowano z siłą 1230 g przez 15 minut. Płyn wylewano, a osad zawieszano w buforze fosforanowym 0,1 M o pH 7,3, dodając 0,5 ml buforu na każde 100 mg tkanki wyjściowej.

1,5 g wątroby homogenizowano z 10 ml buforu fosforanowego 0,02 M o pH 7,3, wirowano przez 10 minut z siłą 700 g. Po odwirowaniu płyn pobierano ilościowo i przechowywano w lodówce. Osad zawieszano w 10 ml buforu fosforanowego 0,02 M, wirowano przez 10 min. z siłą 700 g. Oba płyny łącznie i wirowano z siłą 18 000 g przez 10 min. Po odwirowaniu płyn wylewano, a osad przepłukiwano w wodzie destylowanej, następnie wirowano z siłą 18 000 g przez 10 min. Uzyskany osad zawieszano w buforze fosforanowym 0,1 M o pH 7,3, dodając na każde 100 mg tkanki wyjściowej 0,1 ml buforu.

Z homogenatu całkowitego serca i wątroby pobierano dwie próby po 0,5 ml dla oznaczenia azotu białkowego metodą Kjeldahl'a. Białko strącano przy pomocy 10% kwasu trójchlorooctowego, otrzymany osad wirowano z siłą 2500 g, następnie osad przemywano 5 ml 50% etanolu z kroplą 40% kwasu trójchlorooctowego. Powtórnie wirowano i osad przemywano 5 ml 96% etanolu i przenoszono do kolb Kjeldahl'a. Etanol odparowywano na łaźni wodnej, a osad spalano wobec  $\text{CuSO}_4$  jako katalizatora.

Z preparatu serca i wątroby pobierano po dwie próby po 0,2 ml dla oznaczenia ilości białka metodą biuretową [7]. Białko strącano 5% kwasem trójchlorooctowym.

Pomiarów ekstynkcji dokonywano przy pomocy spektrofotometru Hilgera przy długości fali 540  $\mu$ .

## WYNIKI

Aktywność enzymów oddechowych szeregu oksydazy bursztynowej była badana w trzech seriach szczurów, które otrzymywały specjalną dietę i u szczurów kontrolnych. Na tab. 1 podano poziom hemoglobiny i wyniki

uzyskane dla hemogenatu całkowitego serca i wątroby. Aktywność enzymów wyrażono w mikrolitrach zużytego na godzinę tlenu w przeliczeniu na 0,1 mg azotu białkowego.

1. *Hemoglobina*. Jak wynika z tabeli poziom hemoglobiny u zwierząt anemizowanych po pierwszym miesiącu życia (okres ssania) ulega nieznacznemu obniżeniu, pod koniec drugiego miesiąca życia wyraźnie spada, uzyskując wartości bardzo niskie, aby następnie po podawaniu żelaza w ciągu miesiąca wzrosnąć do wartości prawidłowych. Zwierzęta kontrolne wykazują nieznaczny wzrost poziomu hemoglobiny w trzecim miesiącu życia.

2. *Dehydrogenaza bursztynowa*. W sercu enzym ten nie wykazuje zmian aktywności. Natomiast w wątrobie w okresie niedokrwistości aktywność wzrasta przeciętnie o 50% w stosunku do szczurów kontrolnych. Wzrost ten może być wynikiem zmiany proporcji enzymu do aktywnej masy tkanki.

3. *Oksydaza bursztynowa + cytochrom C*. W sercu wykazuje o  $\pm 7\%$  niższą aktywność w okresie niedokrwistości. W wątrobie u zwierząt kontrolnych po dwóch miesiącach życia zaznacza się przejściowy wzrost aktywności. W okresie silnie zaznaczonej niedokrwistości aktywność oksydazy bursztynowej spada wyraźnie o 39% i zwiększa się rozrzut między wynikami (podobnie jak przy oksydazie cytochromowej).

4. *Oksydaza bursztynowa — cytochrom C*. W sercu w poszczególnych miesiącach wykazuje różnice aktywności, ale nie daje spadku u zwierząt w okresie niedokrwistości. W wątrobie podobnie nie spostrzega się różnic w pierwszym i trzecim miesiącu życia, przy ogólnym spadku aktywności między zwierzętami kontrolnymi i anemizowanymi w trzecim miesiącu życia. W drugim miesiącu życia w okresie niedokrwistości aktywność oksydazy bursztynowej spada o 41%.

5. *Oksydaza cytochromowa*. W sercu aktywność oksydazy cytochromowej wykazuje zależność od wieku: spada o 48% w drugim miesiącu życia i wzrasta o 33% w trzecim miesiącu życia zarówno u zwierząt anemizowanych, jak i u zwierząt kontrolnych. W wątrobie zaznacza się spadek aktywności między pierwszym a drugim miesiącem życia. Podobny chociaż słabszy spadek aktywności oksydazy cytochromowej w piątym tygodniu życia obserwował *Lustinec*.

W okresie niedokrwistości aktywność oksydazy cytochromowej maleje o 77% w stosunku do zwierząt kontrolnych. W okresie tym obserwuje się

Tabela 1. Aktywność enzymów oddechowych szeregu oksydazy burszynowej w homogenacie całkowitym.  
Table 1. Activity of succinic oxidase system in whole homogenate.

Dieta Diet	Wiek Age	Ilość szczurów Number of rats	Hemoglobina Haemoglo- bin	Serce — Heart			Wątroba — Liver				
				SDH	SOX + cyt. C	SOX - cyt. C	OX	SDH	SOX + cyt. C	SOX - cyt. C	OX
-Fe	1 miesiąc 1 month	7	10.5 ±1.6	51 ±3.7	115 ±22.0	27 ±11.1	352 ±51.5	14 ±1.9	74 ±10.7	35 ±7.0	393 ±121.0
	1 miesiąc 1 month	5	14.1 ±1.6	50 ±4.5	102 ±17.6	20 ±4.0	336 ±75.8	13 ±1.8	65 ±5.0	40 ±9.0	441 ±160.4
-Fe	2 miesiące 2 months	18	3.3 ±0.8	51 ±8.8	90 ±30.5	25 ±12.3	182 ±43.2	25 ±6.3	49 ±17.7	26 ±11.7	54 ±30.7
	2 miesiące 2 months	7	14.0 ±2.3	53 ±1.5	97 ±15.7	24 ±5.8	176 ±24.8	17 ±3.4	80 ±10.8	44 ±10.8	231 ±42.1
+Fe	3 miesiące 3 months	10	13.3 ±1.2	48 ±6.0	110 ±20.2	35 ±10.5	266 ±45.0	19 ±3.8	71 ±5.5	25 ±10.0	308 ±90
	3 miesiące 3 months	5	16.5 ±0.5	52 ±5.4	106 ±28.8	33 ±8.8	266 ±31.0	19 ±13.0	66 ±13.0	23 ±5.0	238 ±59

Objaśnienia: 1. Wyniki podano jako średnie arytmetyczne ze średnim odchyleniem.

Explanations 1. The results given as arithmetic means with a mean deviation.

2. Aktywność enzymów wyrażono w  $\mu\text{l O}_2/\text{godz}/0.1 \text{ mg}$  azotu białkowego.

2. Enzyme activity given in  $\mu\text{l O}_2/\text{h}/0.1 \text{ mg}$  of protein nitrogen.

3. Poziom hemoglobiny wyrażono w gramach na 100 ml krwi.

3. Horizontal hemoglobin level given in g/100 ml of blood.

4. K = zwierzęta kontrolne karmione dietą normalną.

4. K = control animals fed on normal diet.

5. - Fe = zwierzęta karmione dietą mleczną.

- Fe = animals fed on milk diet.

6. + Fe = zwierzęta karmione dietą mleczną z dodatkiem 0.5 mg  $\text{FeCl}_3$  dziennie.

+ Fe = animals fed on milk diet with 0.5 mg  $\text{FeCl}_3$  added daily.

7. Homogenat sporządzano w proporcji 1:19 w buforze fosforanowym 0.18 M o pH 7.3

Homogenate prepared in ratio 1:19 in phosphate buffer 0.18 M pH 7.3

duży rozrzut wyników u poszczególnych szczurów, który waha się w granicach od 9,4 do 144,0  $\mu\text{l O}_2/\text{godz.}/0,1 \text{ mg N}$  białkowego (tab. 2).

Po podawaniu żelaza aktywność oksydazy cytochromowej jest wyższa u zwierząt anemizowanych niż u zwierząt kontrolnych.

*Tabela 2.* Aktywność oksydazy cytochromowej w wątrobie w okresie niedokrwistości doświadczalnej.

*Table 2.* Activity of cytochrome oxidase in liver during experimental anaemia

Hemoglobina w g/100 ml krwi. Hemoglobin in g/100 ml of blood	Oksydaza cytochromowa w $\mu\text{l O}_2/\text{godz}/$ 0.1 mg azotu białkowego. Cytochrome oxidase in $\mu\text{l O}_2/\text{h}/$ 0.1 mg of protein nitrogen.
4.1	38.8
5.0	61.6
2.8	39.1
4.3	144.0
5.0	105.2
2.0	90.0
4.1	110.0
4.1	14.7
3.5	19.7
3.8	9.4
3.0	12.3
2.6	29.6
2.0	42.5
3.4	68.1
2.0	72.5
2.4	36.0
3.0	19.2
3.2	51.5

Podane wartości są wynikami uzyskanymi u poszczególnych szczurów.

Values given are the results obtained in individual rats.

Aktywność oksydazy cytochromowej porównano na preparacie serca i wątroby, który otrzymano sposobem opisanym w metodyce. Na tab. 3 zestawiono wyniki dla wątroby uzyskane z preparatu i wyrażone w mikrolitrach zużytego tlenu na godzinę w odniesieniu do 0,1 mg białka oraz wyniki z tab. 1 przeliczone na świeżą masę tkanki użytej do homogenatu całkowitego. Podobnie jak w homogenacie całkowitym występuje w preparacie wątroby wyraźny spadek aktywności oksydazy cytochromowej w okresie niedokrwistości i wzrost aktywności oksydazy cytochromowej po podawaniu żelaza. Poza oksydazą cytochromową badano przy użyciu preparatu oksydazę bursztynową i dehydrogenazę bursztynową. Uzyskane

wyniki nie odbiegały od tych, które są podane na tabeli 1, jedynie w sercu zaznacza się w okresie niedokrwistości nieznaczne obniżenie aktywności oksydazy cytochromowej i całego układu oksydazy bursztynowej. Duży rozrzut wyników uzyskanych z preparatu poszczególnych szczurów nie pozwala jednak na dokładniejszą interpretację wyników.

Tabela 3. Aktywność oksydazy cytochromowej wątroby w homogenacie całkowitym i preparacie.  
Table 3. Activity of cytochrome oxidase in whole liver homogenate and enzyme preparation.

Dieta Diet	Wiek Age	Homogenat całkowity Whole homogenate			Preparat Enzyme preparation		
		Ilość zwierząt Number of ani- mals	Hemoglobina w g/100 ml krwi Haemoglobin in g/100 ml of blood	$\mu\text{O}_2/\text{godz}/1 \text{ mg}$ świeżej masy $\mu\text{O}_2/\text{h}/1 \text{ mg}$ of wet weight	Ilość zwierząt Number of ani- mals	Hemoglobina w g/100 ml krwi Haemoglobin in g/100 ml of blood	$\mu\text{O}_2/\text{godz}/0.1 \text{ mg}$ białka $\mu\text{O}_2/\text{h}/0.1 \text{ mg}$ of protein
-Fe	1 miesiąc 1 month	7	10.5 ±1.9	113 ±32.8	4	9.6 ±1.4	56 ±10.0
K	1 miesiąc 1 month	5	14.1 ±1.7	87 ±45	2	12.6 ±1.0	72 ±6.0
-Fe	2 miesiące 2 months	18	3.3 ±0.7	13 ±6.9	12	3.3 ±0.8	14 ±7.9
K	2 miesiące 2 months	8	14 ±1.6	58 ±8.0	4	16.2 ±2.6	69 ±28.3
+Fe	3 miesiące 3 months	10	13.3 ±1.2	105 ±18.7	7	13.3 ±0.6	96 ±21.0
K	3 miesiące 3 months	5	16.5 ±0.5	64 ±14.6	3	16.6 ±0.5	43 ±11.0

Objaśnienia jak w tabeli 1.

Explanations see table 1.

#### OMÓWIENIE WYNIKÓW

Przeprowadzone doświadczenia miały na celu zbadanie aktywności enzymów oddechowych szeregu oksydazy bursztynowej w stanie niedoboru żelaza i w okresie remisji uzyskanej podawaniem żelaza.

Jak wynika z tabeli i wykresów dehydrogenaza bursztynowa, enzym, który nie zawiera żelaza w połączeniu hemowym i jest silnie związany ze strukturą tkanki, nie zmienia swej aktywności nawet w okresie silnie zaznaczonej niedokrwistości.



Aktywność oksydazy bursztynowej i oksydazy cytochromowej zachowuje się różnie w zależności od użytej do doświadczeń tkanki.

W sercu aktywność oksydazy bursztynowej mierzona z dodatkiem egzogenego cytochromu c, jak i bez niego oraz aktywność oksydazy cytochromowej dorównuje aktywności tych enzymów u zwierząt kontrolnych. Podobne zjawisko obserwował *Schultze* [15] badając aktywność katalazy w okresie niedoboru żelaza. W badaniach tego autora aktywność katalazy spadała w wątrobie i nerkach, natomiast w sercu pozostawała na prawidłowym poziomie.

W wątrobie w okresie silnie zaznaczonej niedokrwistości aktywność oksydazy cytochromowej wyraźnie maleje. Spadkowi aktywności oksydazy cytochromowej towarzyszy obniżenie aktywności całego układu oksydazy bursztynowej i to zarówno mierzonej z dodatkiem cytochromu C egzogenego, jak i bez niego. Wynika stąd, że spadek aktywności oksydazy cytochromowej jest większy niż naturalna nadwyżka oksydazy cytochromowej w układzie oksydazy bursztynowej, oraz że obniżenie aktywności oksydazy cytochromowej mierzone w warunkach doświadczalnych może zahamować rzeczywistą funkcjonalną aktywność oddechową tkanki. Efekt ten zaznacza się jedynie w okresie silnego obniżenia poziomu hemoglobiny. Przy niewielkim spadku poziomu hemoglobiny, jaki obserwujemy pod koniec pierwszego miesiąca życia szczura, nawet w wątrobie nie można zauważyć zmian aktywności oksydazy bursztynowej i cytochromowej w stosunku do aktywności tych enzymów u zwierząt kontrolnych. Nasuwa się stąd wniosek, że w niedokrwistości doświadczalnej oksydaza cytochromowa wykazuje większą trwałość i aktywność jej spada później niż poziom hemoglobiny we krwi. Obserwacje te są zgodne z badaniami *Beutlera*, *Adamsa* i *Schultzego* [1, 3, 15], którzy stwierdzili, że aktywność katalazy w wątrobie przy niewielkim obniżeniu poziomu hemoglobiny nie zmienia się, natomiast wyraźnie spada, kiedy hemoglobina przyjmuje niskie wartości.

Podawanie przez nas żelaza dawało w ciągu czterech tygodni powrót hemoglobiny do prawie normalnego poziomu. Aktywność oksydazy bursztynowej w wątrobie powracała w tym czasie do wartości prawidłowych, a aktywność oksydazy cytochromowej przewyższała aktywność tego enzymu u zwierząt kontrolnych. Wyniki te sugerują, że zwierzę, któremu w okresie niedokrwistości doświadczalnej podaje się żelazo, odbudowuje aktywniej oksydazę cytochromową niż hemoglobinę. *Schultze* podobne wyniki uzyskał dla katalazy [15]. Aktywność katalazy według tego autora wykazuje większą trwałość w okresie niedoboru żelaza i powraca prędzej do wartości prawidłowych niż poziom hemoglobiny.

Stwierdzono, że na syntezę hemu wywiera wpływ nie tylko żelazo, ale również miedź [4, 5, 8, 14, 15]. W naszych doświadczeniach niedokrwistość wywołana była brakiem żelaza i miedzi (dieta mleczna), ale remisja uzy-

skana przez podawanie samego żelaza, zawierającego miedź jedynie jako zanieczyszczenie śladowe w ilości ok. 0,1%\*. Należy więc przypuszczać, że zwierzęta używane do doświadczeń posiadały dostateczny zapas miedzi w organizmie, albo już śladowe ilości miedzi towarzyszące podawanemu żelazu wystarczały do aktywowania oksydazy cytochromowej. Za obecnością czynnej miedzi w organizmie przemawia fakt uzyskania przez nas powrotu hemoglobiny do wartości prawidłowych po podaniu samego żelaza, podczas gdy *Elvehjem* i *Kemmerer* otrzymywali remisję dopiero po podaniu żelaza łącznie z miedzią. W tkankach anemizowanych przez nas szczurów nie badaliśmy zawartości miedzi, brak więc nam danych do dyskusji nad wpływem samej miedzi lub miedzi i żelaza na poziom hemin tkankowych. Nasze badania w przeciwieństwie do wyników *Schultzego* i *Gublera* [14, 8] wykazują jednak, że żelazo ma decydujące znaczenie dla aktywności oksydazy cytochromowej. Dowodzi tego fakt powrotu aktywności oksydazy cytochromowej po podawaniu żelaza do wyższych wartości u zwierząt anemizowanych, niż u zwierząt kontrolnych, przy równoczesnej niepełnej jeszcze remisji hemoglobiny.

Trudności metodyczne napotykanne w pracy związane ze stosowaniem homogenatu całkowitego i preparatu opisanego w metodyce skłaniają nas do wniosku, że dokładne ilościowe rozpracowanie tego zagadnienia wymaga użycia preparatów mitochondrialnych o dobrze zachowanej strukturze.

У. Мацкевич, Л. Каспшак, Л. Обузович, Л. Михайда

#### АКТИВНОСТЬ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ЭНЗИМОВ РЯДА ЯНТАРНЫХ ОКСИДАЗ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ АНЕМИИ ИЗ-ЗА НЕДОСТАТКА ЖЕЛЕЗА

##### Резюме

Манометрическим методом были проведены исследования активности дыхательных энзимов ряда янтарных оксидаз в период анемии и после принятия железа.

Установлено, что:

1. Активность цитохромовой оксидазы в несколько раз снижается в период сильно выступающей анемии в полном гомогенате и препарате печени крысы.
2. Активность всего расположения янтарных оксидаз снижается при неизменяемости янтарного дегидрогеназа.
3. Изменения активности исследуемых энзимов в полном гомогенате и препарате сердца крысы не обнаружены.
4. Принятие в течение четырёх недель железа вызвало ремиссию гемоглобина до правильного уровня, а также давало повышение активности янтарных оксидаз до правильной нормы и повышение активности цитохромовых оксидаз, превышающей активность этих энзимов у контролируемых животных.

\* Pani Doc. dr A. Smoczkiewiczowej składamy serdeczne podziękowania za ilościowe oznaczenie zanieczyszczeń miedzią w preparacie żelaza.

*M. Mackiewicz, L. Kasprzak, L. Obuchowicz, J. Michejda*

*Summary*

ACTIVITY OF SUCCINIC OXIDASE ENZYME SYSTEM  
IN EXPERIMENTAL ANAEMIA

The findings are:

1. Repeated decrease in activity of cytochrome oxidase in whole homogenate and rat liver preparation during severe anaemia.
2. Decrease in activity of the whole succinic oxidase system with succinic dehydrogenase activity unchanged.
3. No change of activity of examined enzymes in whole homogenate and rat heart preparation.
4. Four weeks' iron administration caused haemoglobin remission to the normal level, increased the activity of succinic oxidase up to normal values and gave an increase in the activity of cytochrome oxidase exceeding the activity of this enzyme in control animals.

PIŚMIENNICTWO

1. Adams D.: *Biochem J.* 1953, 54/2, 328.
2. Beutler E.: *Am. J. Med. Sc.* 1957, 234/5, 517.
3. Beutler E., Blaisdell R.: *J. Lab. Clin. Med.* 1958, 52/5, 694.
4. Cohen E., Elvehjem C.: *J. Biol. Chem.* 1934, 107/1, 97.
5. Elvehjem C., Kemmerer A.: *J. Biol. Chem.* 1931, 93/1, 189.
6. Gobat Y.: *Helv. Med. Acta* 1947, 14, 45.
7. Gornall A., Bardawill C., Dawid M.: *J. Biol. Chem.* 1949, 177, 751.
8. Gubler C., Cartwright G., Wintrobe M.: *J. Biol. Chem.* 1957, 224/1, 533.
9. Jasiński B., Roth O.: *Larvierte Eisenmangelkrankheit.* Basel, Benno Schwabe & Co, 1954.
10. Keilin D., Hartree E.: *cytowane według Slatara E. C. poz. 17.*
11. Keilin D., Hartree E.: *Biochemical Preparations vol. 2, J. Wiley & Sons Inc. and Chapman & Hall Ltd. London 1952.*
12. King E., Gilchrist M.: *Lancet*, 1947, 2, 201.
13. Lustinec K.: *Physiol. Bohemoslovenica*, 1955, 4 (3), 252.
14. Schultze M.: *J. Biol. Chem.* 1939, 129, 729.
15. Schultze M., Kuiken K.: *J. Biol. Chem.* 1941, 137 (2), 527.
16. Slater E.: *Biochem. J.* 1949, 44, 305.
17. Slater E.: *Biochem. J.* 1949, 44, 1.
18. Vanotti A.: *Bull. der Scheiz. Acad. der Mediz. Wissensch.* 1946, 2 (2), 90.
19. Vanotti A.: *Experientia*, 1948, 9, 133.
20. Vanotti A.: *Schw. Med. Wochenschr.* 1949, 79 (12), 213.

Otrzymano: 6. VI. 1960 r.

Adres autorów: Poznań, ul. Fredry 10, Pracownia Farmakodynamiki A. M.