

Gerontologiai Laboratorium, Basel (Igazgató: Prof. Dr. Verzár Frigyes) közleménye:

## SZERVES SAVAK HATÁSA A KOLLAGEN ROSTOK DUZZADÁSÁRA ÉS FIZIKAI ÁLLANDÓIRA

(A Magyar Biológiai Társaság Gerontologiai Szakosztályában 1958. V. 9.-én elhangzott előadás)

BANGA ILONA, a biológiai tudományok doktora

A gyenge savak közül legkiterjedtebben az ecetsav hatását vizsgálták a kollagenre. A NAGEOTTE (1927) által kezdeményezett vizsgálatok óta számos közlemény jelent meg, amelyek a kollagen savi duzzadásával foglalkoznak. Ennek dacára a reakció hatásmechanizmusa mind a mai napig nincs tisztázva. GUSTAVSON (1956) „*The Chemistry and Reactivity of Collagen*” c. könyvében két fejezetben is foglalkozik a gyenge savak hatásával. „*The Action of Weak Acids*” és a „*Lyotropic Effect of Weak Acids*” c. fejezetekben leírt kísérleti eredmények szintén csak az ecetsavra vonatkoznak. Egyéb organikus savak hatását a gyapjú proteinjére, a keratinra, STEINHARDT, FUGITT és HARRIS (1943) írták le.

GUSTAVSON az ecetsav koncentrált oldataiban kifejtett hatását lyotrop hatásnak minősíti, amely alatt azt érti, hogy az ecetsavat molekuláris formában fixálja a kollagen, valószínűleg a peptid kötéseken. Az ecetsav ebben az esetben dimer formában, mint nem ionizált sav kötődik, és így nem mint sav fejti ki a hatását. Ez a hatás össze van kötve nagyfokú peptizációval, mely a kollagen megnövekedett permanent duzzadását vonja maga után.

Az organikus savak hatásának vizsgálata a kötőszövet, közelebbről a kollagen öregedésének problémájával kapcsolatban ismét előtérbe került. BANFIELD (1952 és 1956) igen érdekes eredményei az emberi Achilles ínval kapcsolatban az ecetsavi duzzadásban egy olyan reakcióra mutat rá, mellyel a kor faktor significánsan kimutatható. Más oldalról VERZÁR (1956 a) vizsgálatai igen fontosak a kollagen rost strukturális változásával kapcsolatban. VERZÁR (1956 b) kimutatja, hogy az a spirális struktúra, melyet natív rostokon laterális megvilágításban a patkányfarokín kollagen rostjain mikroszkópban meg lehet figyelni, híg ecetsav hatására eltűnik.

A híg savak hatásával függ össze a prokollagen kioldásának problémája is. A prokollagen organikus pufferekkel pH 3–4 között OREKHOVICH, TUSTANOVSKY, OREKHOVICH és PLOTNIKOVA (1948) vizsgálatai szerint csak fiatal állatok bőréből vonható ki mérhető mennyiségben és az öreg állatok bőr kollagenje nem tartalmaz citrát pufferrel kioldható prokollagent.

Ez a munka systematikusan foglalkozik különféle, egy- és több-bázisú gyenge organikus savak megkötésével és a kollagen duzzadásával. A vizsgált organikus savak között az askorbinsav is szerepel, melynek specifikus hatása a kollagen rost képzésére ma még szintén tisztázatlan.

A savak kis koncentrációban (n/400) és azonos pH mellett lettek vizsgálva, hogy összehasonlító adatokat lehessen nyerni a savak fixálása és a duzzadás között. A munka tárgyalja azt a hatást is, amelyet a gyenge savak a rostok fizikai tulajdonságaira kifejtenek. BANGA, BALÓ és SZABÓ (1956 c) által leírt módszer segítségével összehasonlító adatok nyerhetők a fiatal és öreg állatok kollagen rostjainál. Ezt a módszert tovább javítva quantitativ módszerré alakítottuk át, melynek részleteiről alább számolunk be.

Munkahypothézisül a BANGA, BALÓ és SZABÓ (1956 a, 1956 b és 1956 c) által felállított theoria szolgál, mely szerint a kollagen nem egyetlen egységes fehérjéből épül fel, hanem a felépítésében kétféle strukturprotein: a prokollagen és metakollagen vesz részt, amelyen kívül még kétféle mukoprotein is be van építve a kollagen molekulába. Utóbbiakat röviden BANGA és BALÓ (1954) mukoid<sub>1</sub> és mukoid<sub>2</sub>-nek nevezte el. A theoria értelmében a kollagen rostban az egyes komponensek különböző kötések és hydrogen hidak által kémiaiilag össze vannak kötve és a kollagen rost jól ismert fizikai tulajdonságai az egységes kollagen rost tulajdonságainak tudhatók be. Ha valamelyik a komponensek közül hiányzik (kioldás vagy lehasítás révén), úgy a kollagen fizikai tulajdonságai megváltoznak.

Mivel savi hatásra VERZÁR (1956 a) vizsgálatai szerint a rost struktúrájában már mikroszkópban is kimutatható változás áll be, ezt a hatást összefüggésbe hozzuk a fizikai tulajdonságokban kimutatható változásokkal és a kollagent felépítő komponensek közti kötések fellazításával.

A gyenge savak hatásmechanizmusának megértése szempontjából a BANGA és BALÓ (1956) által leírt kollagenmukoproteinaset (kollagenase) is bevontuk vizsgálatainkba. Ez a ferment az általunk mukoid<sub>2</sub>-nek nevezett mukoproteint oldja ki.

### Módszerek

Kísérleteinket kétféle methodikával végeztük. Az egyik a kontrahált rost fizikai tulajdonságának mérésén alapszik. Ezek mérése egy általunk kidolgozott quantitativ módszer segítségével történt.

A munka második része a rostok biokémiai vizsgálatán alapszik. Az organikus savak megkötését és a kollagen duzzadását vizsgáltuk különböző körülmények között. A részletes kísérleti módszert alább ismertetjük.

Módszerünkben a kollagen rost 5-féle fizikai tulajdonságát mértük:

1. *Megrövidülés ideje (kontrakciós idő)*<sub>1</sub> kémiai kontrakció alatt. 40%-os KJ-ban 22 C°-on mértük azt az időt, ami alatt a rost 50%-os kontrakciót

mutat. A rostok hossza 40 mm, az átmérője 0,12—0,14 mm volt, melyek 20 mm-re kontraháltak.

Az alábbi tulajdonságok mérése kontrahált rostokkal történt.

2. *Nyújthatóság*: A kontrahált rostokat kimostuk és 20 C°-ú vízben vizsgáltuk, hogy mennyi súly (g) szükséges ahhoz, hogy ismét eredeti hosszukra nyúljanak meg.

3. és 4. *Túlnyúlás és szakíthatóság*: Az eredeti hosszukra megnyúlt rostoknál vizsgáltuk, hogy további megterhelésre mennyire nyúlnak meg (túlnyúlás) és milyen megterhelésnél szakadnak el (szakíthatóság).

5. *Elaszticitás*. A kontrahált kollagen rostok elasztikusak. Az elaszticitás mértékét vizsgáltuk úgy a „nyújthatóság”, mint a „túlnyúlás” alatt. Minden egyes megterhelés után meghatároztuk azt az utat, amelyet a megnyújtott rost megterhelés nélkül visszafelé megtesz. Az elaszticitást mm-ben adjuk meg.

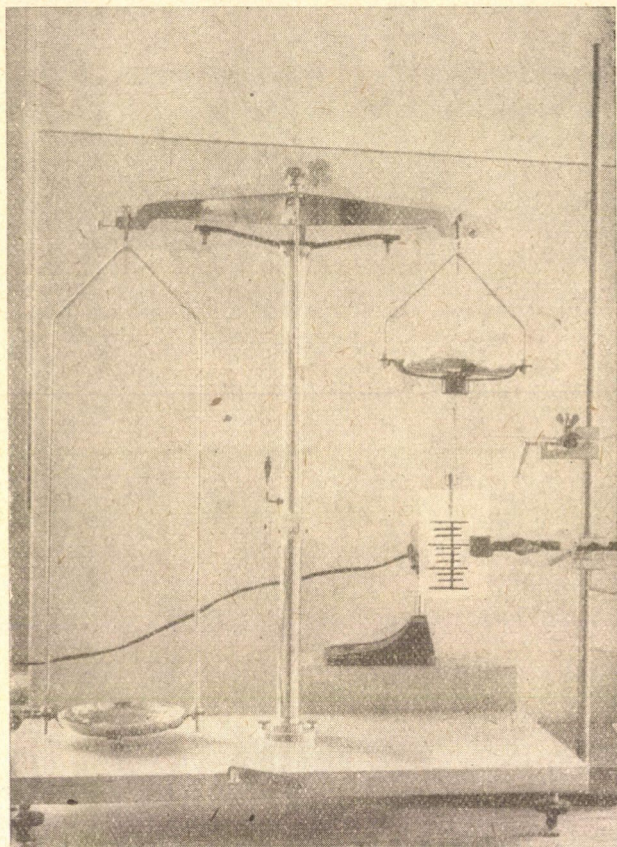
Készülék, mely a kollagen rost fizikai tulajdonságainak mérésére szolgál.

A kollagen rost kémiai kontrakcióját (40% KJ-ban), majd utána a nyújthatóságát, túlnyúlását, szakíthatóságát és elaszticitását (vízben) az 1. ábrán látható készüléken határoztuk meg. Ez egy olyan mérleg, melynek a jobb szára át van alakítva úgy, hogy arra a kollagen rostot egy leakasztható csipesszel felfüggeszthessük. A rost egy küvettába merül, mely a KJ-ot, ill. a vizet tartalmazza és ráakasztható egy üveghorogra, mely a küvettába merül. A roston előzőleg egy hurkot készítünk és ezzel akasztjuk az üveghorogra. A küvetta hátlapján milliméter beosztású skála van hátulról megvilágítva. Ezen skálán olvasható le a konstans hosszról (40 mm) induló rost megrövidülése 40%-os KJ-ban, továbbá a küvetta kicserélése után a nyújthatóság és az elaszticitás vízben. A mérleg baloldalára rakjuk a súlyokat a nyújthatóság és elaszticitás mérése alatt. Ez utóbbi mérésénél, ahelyett, hogy a súlyokat közben leszednénk, a mérleg bal szárának kézzel való felemelésével szüntetjük meg a megterhelést és a skálán leolvassuk mm-ben a visszaugrott rost hosszát.

A mérleget előzőleg bekalibráljuk úgy, hogy a rost azon hosszúsága mellett, amelynél állandóan dolgozunk, a mérleg 1 g megterheléssel éppen ki legyen egyensúlyozva. Az 1 g megterhelést a kontrakció megindulásáig tartjuk a mérlegen, azután levesszük. *Mérési módszer. Kontrakciós idő mérése*: A hurokkal ellátott száraz rostot pontosan 40 mm hosszúságnál (a hurok csomójától számítva) befogjuk a csipeszbe, melyet ráakasztunk a mérlegre. Most a kollagen roston levő hurkot ráakasztjuk az üveghorogra, mely bele nyúlik a küvettába. A küvettát úgy szabályozzuk, hogy a 40 mm-en belüli értékek jól leolvashatók legyenek. Ekkor megtöltjük a küvettát pontosan 22 C°-ú 40%-os frissen készült KJ oldattal. Újra leolvassuk a rost hosszúságát és stopperrel mérjük a megrövidülés idejét. (Közben a mérleg 1 g megterheléssel ki van egyensúlyozva.) A kontrakció megindulása után levesszük a súlyt és mérjük azt az időt, amikor a rost 20 mm-re (50%) összeugrik. Ez a kontrakciós idő. A mérésnél ki kell iktatnunk még azt a kis megterhelést is, amit

a mérleg bal szára képvisel. Ezt a mérleg bal szárának időnkénti felemelésével érjük el. Tehát az 50%-ra való megrövidülés idejét a teljesen megterhelés nélküli rost megrövidülésével kell mérnünk.

*Nyújthatóság, szakíthatóság és elaszticitás mérése:* A kontrakció befejezése után azonnal levesszük a KJ-ot tartalmazó küvettát és egy vízzel telt (20 C°) másik küvettába mártjuk a rostot egy percre. Ezen mosás után egy harmadik



1. ábra

vízzel telt (20 C°) és milliméter skálával ellátott küvettába merül a rost. Ebben mérjük a rost nyújthatóságát, szakíthatóságát és elaszticitását. Először leolvassuk a megterhelés nélküli hosszt úgy, hogy a mérleg bal szárát megemeljük, hasonlóan a megrövidülés alatti méréshez. Ez a nyújthatóság kiindulási, vagyis 0 értéke. Ezután kezdjük rakni a súlyokat óvatosan úgy, hogy a súly ráhelyezése alatt a mérleg mindig megterhelés nélkül legyen. Leolvassuk a rost megnyúlását és utána a mérleg bal szárának megemelése után a megter-

helés nélküli hosszát. A különbség, mely a megterhelés alatti és megterhelés nélküli rost között van, adja az *elaszticitást*, melyet mm-ben fejezünk ki. Az a súly, amelynél a rost kiindulási hosszát eléri (a 40 mm-t), adja a *nyújthatóság* mértékét, melyet g-ban adunk meg. További súly rárakásával mérjük a *túlnyúlást*, vagyis a 40 mm hosszát, és ezt %-ban fejezzük ki. Közben mindig mérjük a rost elaszticitását is. *Szakíthatóság* az a súly g-ban kifejezve, amelynél a rost elszakad.

*Kollagen rostok preparálása és előkészítése*: A levágott patkányfarokról a bőrt lehúzzuk és a kollagen rostokat tartalmazó ínszalagot a porcok közül kihúzzuk. A kollagen rostok tömege egy vékony hártyaburokban van, amelyet lefejtünk. Az egyes kollagen rostok izolálása kézzel történik. A rostokat összetartó alapállományt körömmel húzogatjuk le, ami után a rostok szét-esnek. Az alapállománytól való megtisztítás nem teljesen tökéletes. A rostokat levegőn szárítjuk. *Organikus savakkal való előkezelés a fizikai tulajdonságok vizsgálatához*. Az organikus savak hatásának vizsgálatához 4 db hurokkal ellátott rostot 40 ml n/400 savoldatba tettünk 10 percre 20 C°-on. A NaCl-dal jelzett kísérletekben a savon kívül még n/10 NaCl-ot is oldottunk. Sav inkubálás után a rostokat 10 percig mostuk 40 ml dest. vízben, ill. n/10 NaCl-ban. Majd levegőn szárítottuk.

### Biokémiai vizsgálatok

*Organikus savak megkötése és duzzadás vizsgálat*: 50 mg kollagen rostot 40 ml n/400 savoldatba tettünk 1 órára időnkénti kavarással mellett. A savoldatnak 8—8 ml-ét n/100 NaOH oldattal phenolphtalein jelenlétében titráltuk a kísérlet kezdetén és 1 óra inkubálás után. A kísérlet végén úgy jártunk el, hogy fiatal állatok esetében a nagymértékben megduzzadt gél állapotban levő rostokat 1 mm átmérőjű szűrőszitán leszűrtük. Öreg állatok esetében a duzzadt rostokat egy üvegbottal szedtük ki. Úgy a kísérlet kezdetén, mint a kísérlet végén 4 titrálást végeztünk, annak átlagát véve, számítottuk ki a megkötött sav mennyiségét, melyet 1 g kollagenre adunk meg. A duzzadás mértéke az 50 mg által kötött víz mennyisége volt, melyet analitikai mérlegen való mérés útján határoztunk meg, a rostok 10 percig tartó szűrőpapíron való leitatása után. Fiatal állatok esetében az analitikai mérlegen való mérés nem volt lehetséges a gél állapotba való átmenet miatt. Néhány esetben úgy jártunk el, hogy a szitán lecsurgatott rostokat egy kifaraffinózott tálba öntöttük és lemértük. Egy g kollagenre számítva a gélek több mint 120—140 g H<sub>2</sub>O-t tartalmaztak. Hasonló kísérleteket végeztünk n/10 NaCl jelenlétében is, amikor a duzzadást úgy fiatal, mint öreg állatnál meg lehetett határozni.

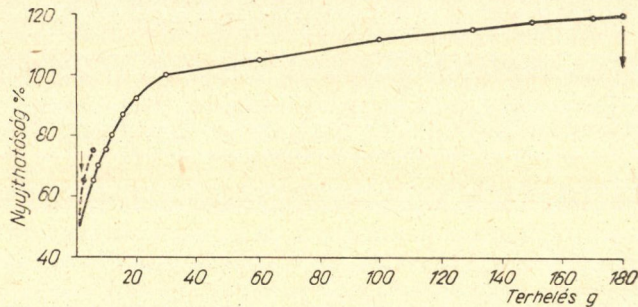
Kollagenmukoproteinase (Kollagenase) hatását úgy vizsgáltuk, hogy a rostokat a savkezelés előtt 24 órára kollagenase oldatba tettük. 50 mg rosthoz 25 ml 0,5 mg/ml kollagenaset vettünk.

## Eredmények

*Fiatal és öreg állatok kollagen rostjainak összehasonlítása a kontrahált rostok fizikai tulajdonságai alapján*

Ezeknél a vizsgálatoknál igen fontos, hogy egyforma vastagságú rostokat hasonlítsunk össze. Azok a rostok felelnek meg a legjobban, amelyek majdnem egészen végig futnak a patkányfarkon és átmérőjük végig azonos. VERZÁR (1955 b) kísérletei szerint ezek kb. 10 cm hosszúak, átmérőjük vizsgálataink szerint 0,11–0,12 mm fiatal állatoknál, 0,14–0,15 mm öreg állatoknál száraz állapotban.

A vizsgált ötféle fizikai tulajdonságban minden esetben szignifikáns különbséget találtunk a fiatal és öreg állatok kollagen rostjainál. Ha a fiatal



2. ábra. Fiatal és öreg állatok kollagen rostjainak nyújthatósága és szakíthatósága 6 perces kontraháció után. ○—○—○ öreg rostok (24 hónap) .—.—.— fiatal rostok (5 hónap) ↓ szakadást jelent

és öreg állatok rostjait egyforma ideig kontraháltattuk a KJ oldatban, pl. 6 percre, akkor a nyújthatósági vizsgálatok alkalmával a fiatal állatok rostjai már 1–3 g megterhelésnél elszakadtak anélkül, hogy az eredeti hosszúságukat elérték volna. Ugyanakkor az öreg állatok rostjai nagy súlyokat kibírtak, és csak 150–400 g megterhelésnél szakadtak el. A 2. ábra demonstrálja azokat az eredményeket, amelyeket azonos kontrahációs idő alkalmazása mellett a fiatal és öreg állatok nyújthatóság és szakíthatóság vizsgálatánál kaptunk.

Sorozat vizsgálatok során meghatároztuk 3 fiatal (4, 5 és 6 hónapos), valamint 3 öreg (19, 21 és 28 hónapos) állat kollagen rostjainak fizikai tulajdonságát. 5–6 hónapos korban a patkányok teljesen kifejlett, nemileg érett állatok. Az öregedés jelei VERZÁR (1955 b) vizsgálatai szerint a patkányok rostjainál már 18 hónapos korban kimutathatók és 18–22 hónapos állatok már öreg állatok. A patkányoknak csak 50%-a éri el a 24–26 hónapos kort. Az I. tábla összesítve tartalmazza a kapott eredményeket. Minden állat 4–4 rostjánál végeztük el a fizikai tulajdonságok mérését, melynek középértékét és a középérték hibáját tüntetjük fel a táblázatban. Az egyes rostok

között meglehetősen nagy ingadozások voltak tapasztalhatók, különösen a nyújthatóság és a szakíthatóságban. Mégis a különbségek nyilvánvalók és szignifikánsak a fiatal és öreg állatok között. Ez a különbség mind az ötféle tulajdonságban kifejezésre jut.

I. tábla

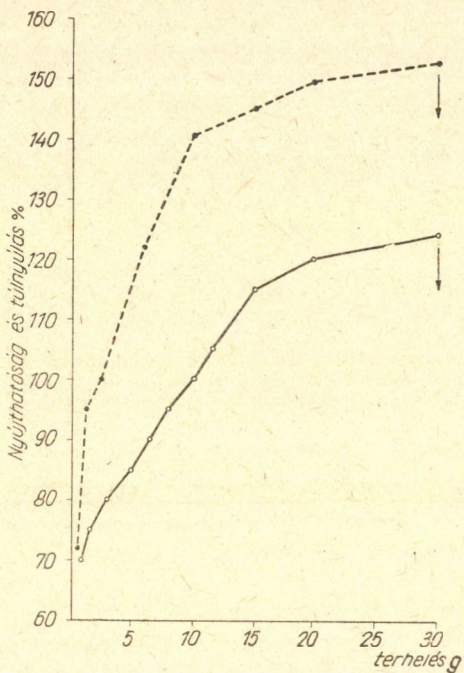
*Fiatal és öreg állatok kollagen rostjainak fizikai tulajdonságai*

Állatok kora hó	Kontrakciós idő sec.	Nyújthatóság g	Túlnyúlás %	Szakíthatóság g	Elaszticitás mm
4	134±15	2± 0,5	—	9± 5	10±1
5	187±14	14± 4	115±10	35± 8	8±1
6	200±16	16± 5	115±10	65±15	8±1
19	360±20	19±10	120±10	134±14	7±0,8
21	380±22	32±10	122±15	175±30	6±0,8
28	420±30	42±10	125±10	260±40	5±0,5

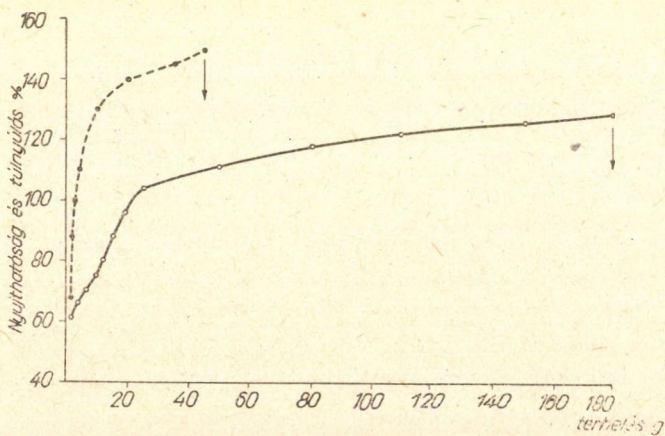
Az I. tábla adatai bizonyítják, hogy a módszer alkalmas arra, hogy a kollagen rost fizikai tulajdonságaiban található különbségeket számadatok alapján hasonlítsuk össze. A tábla adatai egyúttal arra is rávilágítanak, hogy a kontrahált rost fizikai tulajdonságai a kortól függő tényezők, melyeknek kvantitatív mérése egyszerű eszközökkel megvalósítható.

*Organikus savak hatása a fiatal és öreg állatok kollagen rostjainak fizikai tulajdonságaira*

Az organikus savak híg oldataiban pH 3,5 körül óriási duzzadást hoznak létre. Kísérleteinkben vizsgáltuk, hogy ez a duzzadás hogyan befolyásolja a kollagen rost általunk mért fizikai tulajdonságait. A módszerben megadott módon való kezelés és vízben való rövid leöblítés után a rostokat megszáritottuk és vizsgáltuk, fent megadott módszerünk segítségével, a tulajdonságaikban beállott változásokat. A következő gyenge organikus savakat használtuk: ecetsav, tejsav, bořostyánkősav, citromsav, oxalsav és askorbinsav. A fiatal állatok rostjai ezekben a savakban 10 perc alatt teljesen megduzzadtak és gél állapotba mentek át, így velük méréseket végezni nem lehetett. Ha a fiatal rostokat 10 perc helyett csak 5 perces savhatásnak tettük ki, akkor velük a vizsgálatokat el lehetett végezni. A 3. ábra mutatja a kontroll (kezeletlen) és 5 perces askorbinsav hatásnak kitett fiatal rost nyújthatóságát. A 4. ábra hasonló kísérletet mutat az öreg állat rostjával kapcsolatban. Mindkét esetben 50%-ra kontrahált rostból indultunk ki és vizsgáltuk a nyújthatóságot különböző megterhelésnél. Úgy a fiatal, mint az öreg állat rostja askorbinsav kezelésre nagymértékben nyújthatóvá vált. Különösen kis megterhelés esetében jelentékeny a különbség. Az öreg állatoknál az askorbinsav hatás abban



3. ábra. Aszkorbinsav kezelés hatása fiatal állatok rostjaira. ○—○—○ kontroll rostok, —.—.—. askorbinsavval kezelt rostok, ↓ szakadást jelent



4. ábra. Aszkorbinsav kezelés hatása öreg állatok rostjaira. ○—○—○ kontroll öreg állat rostja, —.—.—. ugyanaz askorbinsav kezelés után, ↓ szakadást jelent



is kifejezésre jut, hogy sokkal kisebb megterhelésre szakadnak el, mint a kezeletlen állatok rostjai, vagyis a szakíthatóság tekintetében a fiatal állatokhoz válnak hasonlókká.

II. tábla

*Öreg állatok kollagen rostjainál szerves savak hatására bekövetkező változások*

Állatok kora, hó	Kezelés	pH	Kontrakciós idő sec.	Nyújtható- ság g	Túlnyúlás %	Szakíthatóság g	Elaszticitás mm
22 24	Kontroll	—	360±20 380±25	20±5 25±6	122±10 122±10	150±30 180±30	7±1 6±1
22 24	Ecetsav	3,5	150±15 175±20	17±5 17±5	122±10 122±10	140±20 140±25	7±1 6±1
22 24	Tejsav	4,2	150±15 175±20	20±5 20±5	122±10 122±10	140±30 140±25	6±1 6±1
22 24	Borostyánkő- sav	4,2	150±15 175±20	17±5 17±5	122±10 122±10	130±25 140±25	7±1 6±1
22 24	Citromsav	4,0	150±15 160±20	14±4 15±5	135±10 135±10	55±15 70±17	12±2 12±2
22 24	Oxalsav	4,0	150±15 150±15	14±5 14±5	130±20 130±5	50±15 50±15	11±2 11±2
22 24	Aszkorbinsav	4,0	150±15 150±15	10±3 10±3	150±10 140±10	65±20 72±21	13±2 13±2

Mivel a fiatal állatok rostjai 10 perces savkezelésre gél állapotba mentek át, rendszeres vizsgálatokat csak az öreg állatok rostjainál tudtunk elvégezni. Sorozat vizsgálatainkhoz 22 és 24 hónapos állatokat használtunk. Az egy sorozatba tartozó vizsgálatokhoz egy anyától származó állatokat vettünk. Az organikus savak hatását a kollagen rostok fizikai tulajdonságaira a II. tábla tünteti fel. Az eredmények eléggé egyöntetűek. Mind a 6-féle savnál azt találtuk, hogy a kontrakciós idő megrövidül. Mégpedig a kezeletlen öreg rostoknál talált átlagos 360 sec.-ről 150 sec.-re csökken, ami megfelel a fiatal rostok kontrakciós idejének. Míg a kontrakciós idő megrövidülése egyöntetűen minden savnál kimutatható, addig a nyújthatóság, túlnyúlás, szakíthatóság és elaszticitás szempontjából az organikus savak nem teljesen egyformán viselkedtek. Ebből a szempontból az organikus savak két csoportra oszthatók. Az első csoportba tartoznak az ecetsav, tejsav és borostyánkősav,

míg a másodikba a citromsav, oxalsav és askorbinsav. Míg az első csoport hatására nem következik be signifikans változás a kontrahált rost fent jelzett fizikai tulajdonságainál (lásd *I. és II. tábla* adatait öreg állatoknál), addig a második csoportnál az összes mért tulajdonságban signifikans változás áll be. A nyújthatóságához szükséges megterhelés 20–25 g-ról leesik 10–14 g-ra. A túlnyúlás növekszik. A szakíthatóságához szükséges súly 150–180 g-ról 50–70 g-ra csökken, az elaszticitás pedig nő. Az elaszticitásban a legkifejezettebb hatást az askorbinsavnál találtuk, amely az összes savak közül a legnagyobb mértékben növelte a rostok rugalmasságát.

Az összes savakat azonos normalitásnál ( $n/400$ ) és kb. azonos pH-nál (pH 3,5–3,6) alkalmaztuk. A duzzadás az összes savaknál kb. azonos volt, mint a *III. tábla* 2 oszlopa feltünteti. A különbségek látszólag nem a pH-val vagy a savkoncentrációval függnek össze.

A következőkben vizsgáltuk az organikus savak hatását NaCl jelenlétében fiatal és öreg állatok rostjaira. Előkísérletünkben megállapítottuk, hogy ha a savakhoz, melyek  $n/400$  koncentrációban voltak jelen,  $n/10$  NaCl-ot adtunk, akkor a rostok nem duzzadtak meg. Víz kötésük alig tért el a natív rost tiszta vízben mért értékétől és kb.  $1/10$  része volt annak, amit a rostok egyedül savban NaCl nélkül kötöttek. A fizikai tulajdonságokban nagy különbség volt kimutatható. A KJ-ban való 50%-os kontrakció fiatal állatnál 140–200 sec. helyett 400–500 sec. alatt, öreg állatnál pedig 900–1000 sec. alatt ment végbe. Ez utóbbiak sok esetben ilyen hosszú idő alatt sem tudták elérni az 50%-os kontrakciót. Míg tehát egyedül savban a rostok kontrakciós ideje megrövidül, addig NaCl jelenlétében ez lelassul, sőt öreg állatoknál sok esetben nem is megy végbe. A nyújthatósági vizsgálat alatt a rostok nagyon szakadékonnyakká váltak. A fiatal állatok rostja 1–2 g, míg az öregeké 10–15 g megterhelésnél elszakadt. NaCl jelenlétében tehát duzzadás nem mutatható ki, és a savhatás egész másként nyilvánul meg, mint NaCl nélkül, különösen az öreg állatok rostjainál. Ezek kontrahált állapotban olyan szakadékonnyakká válnak, mint a kezeletlen fiatal állatok rostjai. A kontrakciós idő elhúzódása arra mutat, hogy a sav NaCl jelenlétében is mélyreható változást hoz létre a rost struktúrájában.

#### *Kollagenase hatása a rostok fizikai tulajdonságára*

Kollagenase előkezelés (0,5 mg per ml enzimkoncentráció 60 perc 18 C°-on) után a rostok gyorsabban és erőteljesebben kontrahálódnak, és a nyújthatósági kísérletnél már minimális megterhelésnél elszakadnak. A fiatal 6 hónapos állat rostja 100–120 sec., a 22 hónaposé 250–300 sec. alatt kontrahál, a szakíthatóság az előbbinél 1 g, az utóbbinál 30 g körül következik be. A kollagenase tehát hasonló hatást fejt ki, mint az organikus savak, csak ez nagyobb mértékben jut kifejezésre.

*Organikus savak kötése só jelenlétében és anélkül és a kollagen duzzadása*

Az organikus savak hatásának megértése szempontjából kvantitatív vizsgálatokat végeztünk a rost duzzadása, a duzzadás NaCl-dal való gátlása és a sav kémiai kötése szempontjából. Ezeket a vizsgálatokat úgy fiatal, mint öreg állatokkal elvégeztük. Sorozat vizsgálatainkhoz egy anyától származó állatokat vettünk. Fiatal állatként a 4 hónapos, öreg állatként a 18 és egyes esetekben 28 hónapos patkányfarokín kollagen rostjai szolgáltak. Az előbbi kísérletekben használt 6-féle organikus savon kívül még az almasav- (inaktív) és a borkősavat is bevontuk vizsgálatainkba. Tehát összesen 8 különböző organikus sav hatását vizsgáltuk, melyek között egy- és több-bázisú, valamint oxysavak is szerepelnek. Kísérleti eredményeinket a III. táblában foglaltuk össze.

III. tábla

*Fiatal és öreg állatok kollagen rostjainak savi duzzadása és savkötése. Kezelés: 50 mg kollagen rostot 1 órán keresztül 40 ccm n/400 savban inkubálunk 20 C°-on*

Savi kezelés	Állatok kora hó	Duzzadás 1 g kollagen által kötött g H <sub>2</sub> O		Savkötés 1 g kollagen által kötött milliequivalens sav	
		NaCl nélkül	NaCl-dal	NaCl nélkül	NaCl-dal
Ecetsav } Tejsav } Borostyánkősav } Almasav } Borkősav }	4 18 28	Gél : < 130 80 ± 8 40 ± 4	10 ± 2 8 ± 1 4 ± 1	0,24 ± 0,04 0,18 ± 0,04 0,16 ± 0,04	0,33 ± 0,04 0,21 ± 0,04 0,19 ± 0,04
Citromsav Oxalsav	4 18	Gél : < 130 70 ± 7	16 ± 2 18 ± 2	0,45 ± 0,04 0,44 ± 0,04	0,36 ± 0,04 0,52 ± 0,04
Aszkorbinsav	{ 4 18	Gél : < 130 80 ± 8	15 ± 2 8 ± 1	0,18 ± 0,04 0,22 ± 0,04	0,35 ± 0,04 0,38 ± 0,04

A duzzadási kísérletek azt mutatták, hogy a fiatal állatok rostjai mind a 8 különféle sav hatására egyöntetűen olyan nagymértékben megduzzadtak, hogy a rostok elvesztik struktúrájukat, üvegszerűvé és homogénné válnak. Ezt gél állapotnak neveztük el. Mivel a vízfelvételt pontosan ezeknél a rostoknál mérni nem lehetett, ezért a táblázatban úgy jelöltük, hogy több mint 130 g H<sub>2</sub>O-t kötnek meg. Ha a gél gézen vagy szőrszítán leszűrtük és egy paraffinos tálba kiöntöttük, akkor megszáradása után átlátszó filmet kaptunk, mely hasonlít a gelatinhoz. Az utóbbtól azonban abban különbözik, hogy vízben nem mutat nagyobb duzzadást, mint amit a savi duzzadás alatt mutatott. A gélről leszűrt folyadék sűrű viszkózus.

Az öreg állatok rostjai a fiatalokétól eltérően viselkedtek. Duzzadás alkalmával nem veszítették el struktúrájukat, nem mentek át gél állapotba,

bár szintén üvegszerűekké váltak. Egy órai savban való inkubálás után azonban a folyadékból egy üvegbot segítségével könnyen ki lehetett őket szedni, és a megkötött víz mennyiségét meg lehetett határozni. Öreg rostok víz kötése a korral fokozatosan csökken és mint a *III. tábla* adatai mutatják, a 28 hónapos állat kollagen rostja csak fele annyi vizet köt meg, mint a 18 hónapos állaté.

NaCl  $n/10$  koncentrációban nagymértékben befolyásolta a duzzadást. Fiatal állatoknál megakadályozta a gél állapotba való átmenetet és öreg állatoknál a duzzadást  $1/10$ -ére csökkentette. A citromsav, oxalsav és askorbinsav esetében NaCl jelenlétében a duzzadás valamivel nagyobb volt, mint a többi savaknál. A savi duzzadással egy időben meghatároztuk a kollagen által kötött sav mennyiségét, melyet szintén a *III. táblázatban* adunk meg. Ecetsav-, tejsav-, borostyánkősav-, almasav-, és borkősavból egyforma mennyiségű savat kötnek a rostok. A kor faktor itt is kifejezésre jut. A fiatal állatok rostjai több savat kötnek, mint az öreg állatok rostjai. A citromsav- és oxalsavból a rostok jóval többet kötnek, de sem ezeknél, sem az askorbinsavnál nincs különbség a fiatal és öreg állatok kollagenjének savkötése között. NaCl jelenlétében minden esetben több savat kötnek a rostok, mint NaCl nélkül. Az első csoportba tartozó 6 sav esetében a kor faktor ugyanúgy jut kifejezésre, mint NaCl nélkül. Citromsav, oxalsav és askorbinsav esetében a hatás fordított. Ezeknél — szemben az előbbi 6 savval — az öreg állatok rostjai kötnek több savat, mint a fiatalokéi.

#### IV. tábla

*Askorbinsav jelenlétében a savi duzzadás reversibilis és a savkötés nem reversibilis*

	Első askorbinsav kezelés		Második askorbinsav kezelés	
	NaCl nélkül	NaCl-dal	NaCl nélkül	NaCl-dal
1 g kollagen által kötött g H <sub>2</sub> O	80	8,5	80	10
1 g kollagen által kötött milliequivalens sav	0,22	0,38	0,00	0,00

A továbbiakban azt a kérdést vizsgáltuk, hogy a két folyamat, vagyis a savi duzzadás és a savkötés hogyan függnek össze egymással. Vagyis együtt jár-e minden esetben a savi duzzadás a savkötéssel? A kísérletet az ecetsav- és askorbinsavval végeztük el. A *IV. tábla* az askorbinsavval kapott eredményeket tünteti fel. A kérdést úgy vizsgáltuk, hogy az első savhatás után a rostokat megszáritottuk, analitikai mérlegen mértük és újra  $n/400$  savba tettük  $1^h$ -ra. Utána ismét mértük a duzzadást és a savkötést. Míg a duzzadás minden esetben reversibilis volt, addig a rostok a másodszori savkezelés alatt nem kötöttek savat. A kísérleti eredmények azonosak voltak NaCl

jelenlétében és anélkül. Ez az eredmény azt mutatja, hogy a savi duzzadás nincs összefüggésben a savkötéssel.

Ha a savi duzzadás után megszáradt rostokat vízbe tettük, akkor a kötött savat leadták anélkül, hogy vízben ún. permanens duzzadást mutattak volna.

#### *Savi duzzadás és savkötés kollagenase kezelés után*

A kollagenase hatását azért vizsgáltuk a savi duzzadással kapcsolatban, mert LOEVEN (1955) szerint a kötőszövet mukopolysaccharidja a felelős a savi duzzadásért. A kollagenase egy mukoproteinase, mely BANCA és BALÓ (1956 c) vizsgálatai szerint a natív kollagenből mukopolysaccharidot, ill. mukoproteint old ki. Érdekesnek látszott megvizsgálni, hogy ha kollagenase-val kioldjuk azt a mukoproteint, amelyre az enzim specifikus, akkor hogyan viselkednek a rostok sav hatására. A rostokat kollagenase kezelés után savoldatba tettük és ekkor nagyon érdekes kép tárult elénk. A rostok a híg savakban igen gyorsan kontrahálni kezdtek és kb. 50%-ra megrövidültek. A megrövidüléssel egy időben a rostok két részre különültek el: egy külső, keskeny, homogen és egy belső spirális részre. Míg a külső homogen rész lassan növekedett, addig a belső spirális rész folyton csökkent, végül eltűnt. Ekkor a megduzzadt rost hajszálvékony finom filamentumokra esett szét. Ez a folyamat, amit desintegrációval jelölünk, a legkifejezettebben askorbinsav hatására jött létre. A teljes desintegráció csak a fiatal állatok rostjainál következett be, míg az öreg állatok rostjai gél állapotba mentek át és megszáradva egy filmet alkottak. A desintegrált rostokat a folyadékristóól, mely kocsonyaszerű volt, nem lehetett elválasztani. Az itt leírt jelenség pontos hasonmása annak, amit akkor lehet látni, ha a kollagen rostok hő vagy koncentrált sók hatására kontrahálnak és utána kollagenase oldatban desintegrálnak.

#### V. tábla

##### *Savi duzzadás és savkötés kollagenase kezelés után*

	Állat kora hó	Askorbinsavas duzzadás		Ecsavas duzzadás	
		kontroll	koll.-ase után	kontroll	koll.-ase után
1 g kollagen által kötött g H <sub>2</sub> O	6	Gél <130	Desinte- gráció	Gél <130	Desinte- gráció
	24	78	Gél <130	104	102
1 g kollagen által kötött milliequi- valens sav	6	0,17	0,30	0,28	0,26
	24	0,22	0,40	0,16	0,10

Az V. táblában foglaltuk össze a kollagenase kezelésre kapott eredményeket. A savkötési kísérletek azt mutatták, hogy míg az ecetsav, de a

többi organikus sav esetében is, kollagenase kezelésre nem változik a savkötés mértéke, addig a rostok askorbinsavból majdnem kétszer annyit kötnek kollagenase kezelés után, mint előtte.

### Megbeszélés

Ha a kollagent egyedül, mint aminosavakból felépített proteint tekintjük, úgy a híg savak duzzadást létrehozó hatását az elektrovalens reakcióval kell magyaráznunk, mely a karboxyloportok disszociációjának visszaszorításában, ill. töltés megszüntetésében jut kifejezésre. BEAR (1952) a kollagen duzzadását egyedül a DONNAN-effektusnak minősíti. Ugyanakkor GUSTAVSON (1956) „*The Chemistry and Reactivity of Collagen*” c. könyvében részletesen kifejti, hogy az osmotikus ún. Donnan hatással a kollagen viselkedése ecetsavval szemben nem magyarázható meg. Ő ezt a hatást lyotrop vagy Hofmeister effektussal próbálja megmagyarázni.

A lyotrop hatással azonban még két másik hatás is együtt jár. Az egyik a kollagen nagyfokú peptizációja, a másik a permanens duzzadás. A lyotrop hatás véleményünk szerint azzal a hatással egyenlő, melyet BANGA, BALÓ és SZABÓ (1956 a, b és c) a natív kollagen metakollagénné való átalakulásával demonstráltak. Az itt közölt kísérletek viszont azt mutatják, hogy a híg organikus savak hatását sem lyotrop hatással, sem egyedül a Donnan-theoriával magyarázni nem lehet. Híg savak hatására ugyanis sem nagyfokú peptizáció, sem permanens duzzadás nem következik be. De az elektrovalens reakcióval nem lehet megmagyarázni azt a hatást sem, amelyet a gyenge savak úgy egyedül, mint NaCl jelenlétében a rostok fizikai tulajdonságaira kifejtenek. Ez a hatás irreversibilis, szemben a sav elektrovalens reakciójának reversibilitásával. Ennek magyarázatát csak úgy adhatjuk meg, ha feltételezzük, hogy a kollagen rost egy többkomponensű rendszert képez. Ez a munka leginkább a COHEN (1942), PARTRIDGE (1948), BUNGENBERG DE JONG (1949), HIGHBERGER, GROSS and SCHMITT (1951) és KARL MEYER (1945, 1950) felfogását támasztja alá, miszerint a kollagen rost, ill. a kollagen rostból felépített kötőszövet mukopolysaccharid-protein-komplex-nek minősíthető. Azok a reakciók, melyek gyenge organikus savak, valamint kollagenase hatására létrejönnek, a mukopolysaccharid-protein-komplex közti kötéseken lejátszódó hatásoknak tudhatók be.

Módszerünket, mellyel a kollagen fizikai tulajdonságát mérjük, a következő megfontolások alapján dolgoztuk ki. A kémiai kontrakció (40%-os KJ-ban 20 C°-on) úgy jön létre, hogy a kollagen rostból kioldódik egy mukoid (ugyanúgy mint hydrothermal kontrakciónál), BANGA [1953], BANGA és BALÓ [1954], melyet mukoid<sub>1</sub>-nek nevezünk. Ez a mukoid felelős azért, hogy a kollagen rost polypeptid láncai kifeszített, megnyújtott állapotban legyenek (Astbury: beta konfiguráció). A mukoid<sub>1</sub> kioldása vagy kötéseinek elhasadása

megszünteti a rost stabilitását. A polypeptid lánc, mely magas rendezettségű formában volt jelen, összeugrik, megrövidül (Astbury: alfa konfiguráció). Így jön létre a valódi kontrakció, amelynél a régi helyett újabb rendezettség áll elő (BANGA, BALÓ, SZABÓ 1956 a). A mukoid<sub>1</sub> kioldását követi a prokollagen kioldása a hő és kémiai relaxáció alatt. Ekkor a polypeptid láncoknak egy rendezetlen formája jelenik meg és ez az, amit metakollagennek nevezünk (BANGA, BALÓ és SZABÓ 1956 b. és c.). A polypeptid láncok rendezetlensége a metakollagénél a hőhatás alatti zsugorodásban, synerezisben nyilvánul meg.

Módszerünkben minden olyan hatást, amely a kémiai kontrakció meggyorsulását vagy meglassúbbodását váltotta ki, olyan hatásnak minősítettünk, mely a mukoid<sub>1</sub> kötéseinek szilárdságával függ össze. Minél gyorsabban megy végbe a kontrakció, annál gyengébbek a mukoid<sub>1</sub> kötési és fordítva, minél lassabban, annál szilárdabbak.

A kontrahált rost nyújthatósága és szakíthatósága feltételezésünk szerint összefüggésbe hozható a prokollagen és metalollagen közötti kötések szilárdságával. Minél erősebbek ezek a kötések, annál nagyobb erő szükséges a rost megnyújtásához és elszakításához. Ha ezek a kötések lazák, vagy elhasadtak, akkor már minimális megterheléssel is nagy megnyúlás észlelhető, és a szakítási súly is kisebb lesz.

Az összes vizsgált organikus savak hatására a kontrakciós idő megrövidülését tapasztaltuk, ami arra mutat, hogy a mukoid<sub>1</sub> kötési lazultak fel. A KJ sokkal gyorsabban oldotta ki a mukoidot, ha ennek kötési előzőleg a sav hatására meggyengültek. Hogy ezekben a savakban a duzzadás nem egyedül a karboxyloportok disszociációjának visszaszorítása révén jön létre, azt bizonyítja az is, hogy HCl jelenlétében azonos pH (3,5) mellett a duzzadás jóval kisebb. GUSTAVSON (1956) adatai szerint a kollagen rost maximális duzzadása alkalmával saját súlyának 20-szorosát köti víz formájában HCl jelenlétében. Ugyanakkor a mi adataink szerint pH 3,5-nél az organikus savak hatására a fiatal állatok rostjai saját súlyuknak több mint 130-szorosát kötik, az öreg állatok rostjai pedig 80-szoros duzzadást mutatnak (I. III. tábla 3. oszlop). A sav és NaCl hatásának analízise azt mutatta, hogy mialatt a NaCl a duzzadást gátolja, ugyanakkor a sav által fellazított mukoid<sub>1</sub> kötéseit új sókötésekkel fixálja, aminek következtében az, KJ hatására jóval nehezebben oldódik ki. De a savhatás itt is létrejön, ami a nyújthatóság és szakíthatóság megnövekedésében jut kifejezésre. NaCl nélkül a nyújthatóság és szakíthatóság csak citromsav, oxalsav és askorbinsavval mutatható ki, viszont NaCl jelenlétében minden sav ugyanezt a hatást fejt ki.

A kollagenase, mint mukoproteinase a kollagenrostban levő azon mukoproteint oldja ki, melybe a mukoid<sub>1</sub> komponens is beletartozik. Ennek következtében, kollagenase kezelés után, a kontrakció nagy sebességgel megy végbe és utána a mukoid és prokollagen közötti kötések fellazulása következtében a rost azonnal elszakad.

Nagyobb mennyiségű rosttal végzett biokémiai vizsgálatok azt mutatták, hogy a kollagenase kezelés utáni savi reakció lényegesen másként zajlik le, mint kollagenase nélkül. A fiatal állatok rostjainál bekövetkező teljes desintegráció arra vall, hogy ha a mukoid kioldódott, akkor a kollagen rost teljes szétesése már híg savakra bekövetkezik. Feltételezésünk szerint a prokollagen és metakollagen közötti kötések hasadnak el a mukoidmentes rostban. Ez a folyamat a natív rostban csak lyotrop hatásra következik be. Ebből az is következik, hogy feltételezésünk helyes, miszerint a lyotrop hatás két reakció összekapcsolódásából jön létre: az egyik a mukoid kioldódása, a másik pedig a prokollagen és metakollagen közötti kötések elhasadása.

Az organikus savak megkötése a kollagen rost által nincs összefüggésben a duzzadással, legalábbis híg savak alkalmazása mellett. A savak megkötése inkább azzal a változással látszik összefüggeni, ami a fizikai tulajdonságokban kifejezésre jut. Emellett szól az is, hogy azok a savak, melyek nagyobb mértékben kötődnek, azok hatására jön létre a fizikai tulajdonságokban kimutatható legnagyobb változás. Még további kísérletek szükségesek annak tisztázására, hogy a sav milyen csoportok által kötődik meg. Ezzel függ össze az askorbinsav szerepe is, mely kollagenase kezelés után nagyobb mértékben kötődik. Ennek közelebbi magyarázatát egyelőre nem tudjuk megadni.

VERZÁR (1955 a, 1956) mutatta ki először, hogy a kollagen rost hydrothermal kontrakciója a fiatal és öreg állatok között signifikans különbséghez vezet. Öreg állatok rostjainál sokkal több súly szükséges a kontrakció gátlásához azonos hőmérsékleten, mint fiatal állatokénál. Mint már fent említettük, a hydrothermal kontrakció alatt ugyanúgy, mint a lyotrop hatás első fázisában egy mukopolysaccharid (BANGA 1954) oldódik ki a kollagen rostokból. PARTRIDGE (1948) rövid hőkezelésre a szárított porcogóból szintén egy oldható mukoid extrahálhatóságára mutatott rá. VERZÁR (1955 b, 1956) kísérleteiből az következik, hogy az öreg állatok rostjaiban ez az oldható mukoid nagyon erős benső koheziós erővel kötődik, szemben a fiatal állatok kollagen rostjaival, ahol ezek a kötések gyengék. Verzár fenti eredményeivel teljesen egybehangzó a kémiai kontrakciónál kapott jelenlegi eredményeink. A meg rövidülés ideje KJ-ban (l. I. tábla 2. oszlop) nagymértékben elhúzódik, másrészt a kontrahált rost szakíthatóságához szükséges súly két nagyságrenddel nagyobb az öreg, mint a fiatal állatoknál. A VERZÁR-féle hydrothermal kontrakció és a kémiai kontrakció, mely a lyotrop hatásnak felel meg, kísérleteinkben azonos eredményre vezetett a fiatal és öreg patkányok kollagen rostjai vizsgálatánál.

Vizsgálatainkból leszűrhető konklúzió továbbá az, hogy azok a különbségek, melyek fiatal és öreg állatok kollagen rostjai között a VERZÁR-féle hydrothermal kontrakciós kísérletek során nyilvánvalókká váltak, az általunk mért mind az 5-féle fizikai tulajdonságban szintén kimutathatók voltak.



De a savi duzzadás és a kollagenase kezelés utáni reakciók egy másik törvény-szerűségre is rámutattak. Nem lehet az öreg állatok rostjait átalakítani úgy, hogy azok duzzadása a fiatalokéhoz legyen hasonló. A fiatal állatok kollagen rostja savi duzzadásnál gél állapotba megy át, de nem desintegrálódik és NaCl-dal ismét rostképződés figyelhető meg. Ez a *Nageotte*-féle reakció. Szemben a fiatal állatokkal, az öregek kollagen rostja nem alakul át géllé. Kollagenase előkezelés után a fiatal állat rostja desintegrálódik úgy, hogy rostképződést többé kiváltani nem lehet. Ugyanakkor az öreg állatok rostja hasonló kezelésre csak gél állapotba megy át. Tehát a különbség mindig megmarad. Valószínűleg a mukoid és protein közötti kötésekben vagy a mukoid bizonyos kémiai csoportjában olyan mélyreható változások jönnek létre az öregedéssel kapcsolatban, amit sem kollagenase, sem savi hatással kiegyenlíteni nem lehet.

Szemben a duzzadással, a fizikai tulajdonságok között kimutathatók olyan reakciók, melyek szerint az öreg állatok rostja a fiatalokéhoz válik hasonlóvá. Másrésztől fiatal állat rostja átalakítható úgy, hogy bizonyos fizikai tulajdonságai hasonlókká válnak az öregéihez. Ilyen reakciókat írtak le BANGA, BALÓ és SZABÓ (1956 d) az askorbinsav és kaliumpermanganat alkalmazása esetében. Az askorbinsav a rostok „fiatalodását”, a  $\text{KMnO}_4$  pedig „öregedést” hoztak létre. Az askorbinsav hasonló hatása a most alkalmazott methodikánál is kimutatható volt (l. II. tábla). A nyújthatóságon kívül növekedett az öreg rostok szakíthatósága és a legsignifikánsabb változás a rugalmasság növekedésében mutatható ki (l. 2. és 3. ábra). Ennek megfelelő reakciót figyeltünk meg fent citált munkánkban, amikor az öreg rostok KJ-ban való relaxációját írtuk le askorbinsav hatására. Tehát bizonyos reakciókban kiváltható a rostok fiatalodása, de ez nem általános jelenség. Úgy látszik, hogy a duzzadásban kimutatható különbségek, melyek BANFIELD (1952, 1957) munkáiból is nyilvánvalók, éppúgy mérvadók az öregedés megítélésénél, mint a rost fizikai tulajdonságai.

### Összefoglalás

I. A patkányfarokín kollagen rostja fizikai tulajdonságainak kvantitatív mérésére egy módszert dolgoztunk ki, mely a rost 5-féle fizikai állandóját adja meg. 1. Kontrakciós idő KJ-ban, 2. kontrahált rost: nyújthatósága, 3. túlnyúlása, 4. szakíthatósága, 5. rugalmassága. Mind az öt fizikai állandó mérése signifikáns különbséget mutatott a fiatal és öreg állatok kollagen rostjánál.

II. 6-féle organikus sav hatását vizsgáltuk a kollagen rost fizikai tulajdonságára. Mind a hatféle sav csökkentette a rostok kontrakciós idejét. Az ecetsav, tejsav és borostyánkősav nem, míg a citromsav, oxalsav és askorbinsav a nyújthatóság-, szakíthatóság- és rugalmasságot is befolyásolta. A rostok rugalmassága askorbinsav hatására növekedett meg legjobban.

III. A fiatal és öreg állatok kollagen rostjai duzzadását és savkötését vizsgáltuk 8 organikus sav híg oldatának hatására, NaCl jelenlétében és anélkül. A fiatal és öreg állatok kollagen rostjai között a duzzadásban minden esetben minőségi különbség mutatható ki. A fiatal állatok rostjai minden savban géllé alakulnak át, az öreg állatok rostjai struktúrájuk megtartása mellett mérhető duzzadást mutatnak. A savhoz viszonyítva 25-szörös NaCl koncentráció a duzzadást gátolja. A savakat a kollagen rostok a kor előrehaladtával csökkenő mértékben kötik meg. Citrom- és oxalsavból a rostok többet kötnek, mint egyéb savakból. NaCl jelenlétében a duzzadás teljes gátlása mellett a savkötés nagyobb, ami arra mutat, hogy a savi duzzadás és savkötés nem közvetlenül összefüggő reakciók.

IV. Kollagenase (pankreas kollagenmukoproteinase) kezelés után a fiatal állatok rostjai híg savakban teljesen desintegrálódnak és többé rostképződés NaCl-dal nem váltható ki. Öreg állatok rostjai hasonló kezelésre gél állapotba mennek át és náluk a rostképződés helyreállítható. Aszkorbinsav esetében a fenti reakciók nagyobb mértékben jönnek létre és a savkötés kollagenase kezelés után megnövekszik, szemben egyéb savak hatásával.

F. VERZÁR professzornak ezúton fejezem ki hálás köszönetemet, részint azért, hogy lehetővé tette munkám elvégzését, másrészt a sok hasznos tanácsért és meleg érdeklődésért, mellyel munkámatkísérte. Az ábrák és táblázatok készítésében való segítségért K. HUBERnek és F. FREULERnek mondok köszönetet.

#### IRODALOM

1. Astbury, W. T. és Bell, F. O.: Nature, **147**, 696, 1941.
2. Banfield, W. G.: Anat. Rec. **114**, 157, 1952.
3. Banfield, W. G.: J. Geront. **11**, 372, 1956.
4. Banga, I.: Nature, Lond. **172**, 1099, 1953.
5. Banga, I.: Acad. Sci. Hung. Suppl. **4**, 33, 1954.
6. Banga, I. és Baló, J.: Acta physiol. Hung. **6**, 235, 1954.
7. Banga, I. és Baló, J.: Nature, Lond. **178**, 310, 1956.
8. Banga, I., Baló, J. és Szabó, D.: Acta physiol. Hung. **9**, 61, 1956.
9. Banga, I., Baló, J. és Szabó, D.: J. Geront. **11**, 242, 1956 a; Acta Morph. Acad. Sci. Hung. **6**, 391, 1956 a.
10. Banga, I., Baló, J. és Szabó, D.: Experientia Suppl. **4**, 28, 1956 b.
11. Bear, R. S.: Advanc. Protein Chem. **7**, 69, 1953.
12. Bungenberg de Jong, H. G.: In Kruyt, H. R.: Colloid Science II. Elsevier Publish Co. Amsterdam.
13. Gustavson, K. H.: Academic Press Inc. New York 10 N. Y. 1956.
14. Highberger, H. H., Gross, J. és Schmitt, F. O.: Proc. nat. Acad. Sci. Wash. **37**, 286, 1951.
15. Loeven, W. A.: Acta anat. **24**, 217, 1955.
16. Meyer, K.: Advanc. Protein Chem. **2**, 249, 1945. Connective Tissue Trans. 1st Conference Josiah Macy Jr. Foundation New York 1950.
17. Nageotte, J.: C. R. Soc. Biol. **96**, 828, 1927.
18. Orekhovich, V. N., Tustanowsky, A. A., Orekhovich, K. D. és Plotnikova, N. E.: Biochimija Moskva, **13**, 55, 1948.
19. Partridge, S. M.: Biochem. J. **43**, 387, 1948.
20. Steinhart, J., Fugitt, C. H. és Harris, M.: J. Res. nat. Bur. Stand. **30**, 123, 1943.
21. Verzár, F.: Experientia **11**, 230, 1955.
22. Verzár, F.: Helv. physiol. pharmacol. Acta **13**, C. 64, 1955 a.
23. Verzár, F.: Helv. physiol. pharmacol. Acta **14**, 207, 1956.
24. Verzár, F.: Symposium on Connective Tissue. Hendon Hall London 1956 a.