

120 ÉVE SZÜLETETT VERZÁR FRIGYES, A KÍSÉRLETI GERONTOLÓGIA MEGALAPÍTÓJA VISSZATEKINTÉS EGY FÉL ÉVSZÁZADRA

Róbert László (Ladislav Robert)

az MTA kültagja

Laboratoire de Recherche Ophthalmologique, Hôtel Dieu, Université Paris 5,
Párizs, Franciaország

Bevezetés

1946-ban, másodéves orvostanhallgatóként az erdélyi magyar nyelvű orvosi egyetemen, a Romániához akkor visszacsatolt Marosvásárhelyen (Tîrgu Mureş) hallottam először Verzár Frigyesről. Fiziológiai professzorunk, Ludány, Verzár tanítványa volt, egyik előadása keretében egy filmet vetített, melyet Verzárral készítették, és ami arról szólt, hogyan serkenti az általuk izolált villikinin hormon a bélbolyhok perisztaltikus mozgását.

Verzárt 1965-ben ismertem meg a Philippe Comte által szervezett, kötőszövevről tartott kongresszuson. Philippe Comte Valette-tel együtt tudományos igazgatója volt a lyoni bőrkutató központnak. Verzárral ezen időtől fogva baráti kapcsolatba kerültem. Többször meglátogattam a baseli intézetben. Együttműködésünk témája a patkányfarokín kollagén keresztkötéseinek tanulmányozása volt a Verzár-féle öregpatkány-tenyésztésben. Az Institut für Experimentelle Gerontologie-ban tett látogatásaim során kapcsolatba kerültem több tanítványával és munkatársával

is. Amint közelebbről megismertem, Verzár iránti elismerésem egyre fokozódott. Talán ő volt az utolsó képviselője azoknak a középeurópai tudósoknak, akiknek enciklopédikus ismeretei kiterjedtek az orvoslás, a természet-, a humán tudományok és a művészetek területére is. Elődei, Claude Bernard és Helmholtz szellemében volt fiziológus. Tanári és kutatói működése kiterjedt szakmája több aspektusára is, így a táplálkozás, emésztés, endokrinológia, anyagcsere-reguláció és a magaslati levegőhöz való adaptáció fiziológiájára. A gerontológia felé érdeklődése csak később fordult.

Amint azt összefoglaló cikkében leírta (Verzár, 1964), az öregedéssel kapcsolatos kutatásban a patkányfarokín először az ő laboratóriumában került felhasználásra, 1955 áprilisában. Verzár ekkor 69 éves volt, közel a nyugdíjhoz (Schlettwein-Gsell, 1966). Ettől az időtől fogva Verzár nemcsak szakértője volt e területnek, hanem egyúttal az experimentális gerontológia megalapítója is. (Az első között volt, vagy éppen az első volt, aki ezt a kifejezést bevezette.) Szakértőjévé vált a kol-

lagén kémiának, valamint a kötőszövet-fiziológiának molekuláris és subcelluláris szinten is. Felismerte, hogy az öregedés tanulmányozása szempontjából milyen fontos a kollagén molekuláris struktúrája. Több eredeti megállapítása szerepel még a cikkben a kollagénrostok struktúrájának meghatározásáról (Verzár, 1965), melyet ő és munkatársai a fent említett lyoni kongresszuson elő is adtak. Tanítványával, von Hahnnal tanulmányozták a DNS hő denaturációját, és szerepét az öregedés folyamatában. Törekvése, hogy a kollagén struktúra és funkciója terén általánosítható elméletet állítson fel a XX. század közepén, meglepő ismeretekről tesz tanúságot. Ekkor ezen ismereteket főleg a bőripari kémiában alkalmazták. Verzár átlépte a hagyományos szakterületek, mint például a kémia, fizikokémia, fiziológia és patológia határait, hogy az akkori idők legmodernebb kémiájának segítségével érthetővé tegye és általánosítani tudja felfedezéseit. Érdemesnek tűnik a kollagén fizikokémiája, biokémiája és fiziológiája terén kifejtett működését az elmúlt fél évszázad tudománytörténetének tükrében részletesebben elemezni.

Munkásságának legfontosabb szakaszait az alábbiakban összegezzük, értékelve hozzájárulását a kötőszövet és az experimentális gerontológia kutatásához. (Robert, 2006). Utolsó találkozásunkkor már elmúlt 90, de még mindig remélte, hogy támogatást fog kapni kutatásai folytatásához. A nemzetközi kuratórium által 1994-ben nekem ítelt Verzár-érem a legkedvesebb emlékem a kötőszövettel és az öregedéssel kapcsolatos beszélgetéseinkről.

*Az experimentális gerontológia helyzete
Verzár kutatásainak kezdetén*

Bár az öregedés mint társadalmi jelenség már Mezopotámiában és Egyiptomban is ismert

volt, tudományos tanulmányozása aránylag új keletű. Ezek a tanulmányok főleg az élet meghosszabbítására irányultak, némelyek ismert tudósoktól származtak, mint Brown-Sequard kísérlete a XIX. század végén, aki állati herekivonatot fecskendezett be önmagának, és állította, hogy ez szexuálisan megfiatalította. Az ilyen és hasonló találmányok nem mentesek a placebohatástól. Az egyetlen kontrollált kísérlet (McCay – Crowell, 1934) patkányban hipokalóriás diéta élettartamot meghosszabbító hatásával foglalkozott patkányban. Ez a téma a mai napig is népszerű.

Több magyarázata is van annak, hogy az experimentális gerontológia nem tudott nagyobb teret hódítani a XIX. és XX. század fordulóján. Először is, az átlagéletkor lényegesen rövidebb volt, mint most. A halálozás csúcsa nőknél általában a szülés körül volt, míg férfiaknál a felnőttkor idején. A halál fő okai akkor a ragályos betegségeken kívül a szív- és érbetegségek voltak. Utóbbi ma is fennáll, csak sokkal idősebb korban. Ez magyarázza a klinikai gerontológusok érdeklődését az életkor előrehaladásával gyakoribb és súlyosbodó betegségek iránt. A kérdés ma is időszerű: az öregségtől halunk-e meg, vagy a korral járó betegségektől?

Verzár kísérletei is erre a kérdésre irányultak. A sejttöregedés mint téma, nem volt sem ismert, sem elismert. Az experimentális embriológia előrehaladottabb állapotban volt, de senki sem kereste az összefüggést a funkciók fejlődése és öregkori hanyatlásuk között. Verzár kísérletei e téren utat nyitottak a kollagénrostok tulajdonságainak tanulmányozására a fiatal kortól az öregkorig. *Az új tudomány* kifejezést a molekuláris biológiára vonatkozóan először Astbury alkalmazta Angliában, modellként használva a mikroszkopikus kollagénrostok felépítését kollagénmolekulákból.

Egy rövid pillantás Verzár közleményeire világosan mutatja az öregedés molekuláris szintű megértésének fontosságát. Kísérletei első lépéseknek tekinthetők az öregedés molekuláris folyamatainak megértéséhez. Elmélete, mely szerint az öregedés a kollagénrostok keresztkötései megszaporodásának a következménye, az első hipotézis egy új tudományág – az öregedés molekuláris biológiájának – megteremtéséhez.

A kötőszövet kutatása az 1950-es években

A kötőszövet-kutatás (az extracelluláris matrix – ECM – kutatása) fokozatosan fejlődött ki, s közben az orvostudományból és az iparból egyaránt kapott impulzusokat. Az emberiség egyik legősibb iparága a bőrcserzés. A kollagénkémia első eredményei a tehénbőr és egyéb állati bőrök ipari felhasználásából származnak.

A savanyú mukopoliszacharidákat, melyek a kollagén mellett a kötőszövet további fontos alkotóelemei, a XX. század első évtizedeiben intenzíven tanulmányozták. E poliszacharidák (glikozaminoglikánok – GAG) és proteoglikánok fontos szerepet játszanak a csont és ízület felépítésében és betegségeiben. E kutatásokban a reumatológusok voltak az úttörők.

A szem korneájának átlátszósága, az üvegtest állaga és a sclera stabilitása a kollagént tartalmazó mukopoliszacharidáktól függ.

A másik strukturális fehérjét, az elasztint a XX. század második felétől kezdődően tanulmányozták. Ez a különös, rostos fehérje elbír 45 percig tartó, 100 °C-os melegítést 0,1 N NaOH-ban, mely egyébként minden más kötőszöveti komponenst denaturálna. Az elasztin kutatása az 1950-es években kezdődött, amikor Baló és Banga a hasnyálmirigyből izolálták és kikristályosították az elasztint

bontó enzimet, az elasztázt. Banga Ilona korábban Verzár munkatársaként dolgozott a kollagén öregedésén. Banga fontos szerepet tulajdonított az öregedésben a mukopoliszacharidáknak, bár ez a feltevés nem igazolódott (Verzár, 1964).

Az ECM-et képező makromolekulák negyedik komponensét, a strukturális glikoproteineket (fibronektin, laminin, thrombospondin stb.) az 1960-as években fedezték fel (Labat-Robert et al., 1986).

Vizsgáljuk meg, mit tudtak a kollagénről, amikor Verzár elkezdte a kísérleteit! Nageotte és Fauré-Frémier (az 1920-as években) kimutatták, hogy a kollagén egy része oldhatatlan, rezisztens, rostos szerkezetű, híg savakban oldhatóvá tehető és újra kicsapható (kikristályosítható) rostos formában. Ilyen rostokat használt Fauré-Frémier az első X-sugárkristálystruktúra RTG tanulmányaihoz. Verzár ismerte ezeket a munkákat, és több közleményében idézte a kollagén kristálystruktúráját. Verzár összefoglaló cikkében megerősítette a kollagén tripla helix szerkezetét (1964).

Az 1950-es években az akkoriban még fiatal kollagéntudomány egyik bonyolult problémája a keresztkötések tanulmányozása volt. Keresztkötés nélkül a kollagén elveszti mechanikai ellenálló képességét. Az alfa-láncok nehéz szétválasztása kovalens, intramolekuláris keresztkötésekre vallott. A részleges oldhatóság híg savakban további intermolekuláris keresztkötésekre mutatott. Ennek bebizonyítása több évtizedet vett igénybe. Verzár ismerte a kollagénkémiaát, és ennek legújabb adatait használta a kollagénöregedés tanulmányozására. Ez annál is inkább említésre méltó, mert a kollagén öregedésének vizsgálata nem az egyedüli téma volt laboratóriumában.

*Verzár kísérleti viszonya
az öregedés tanulmányozásához*

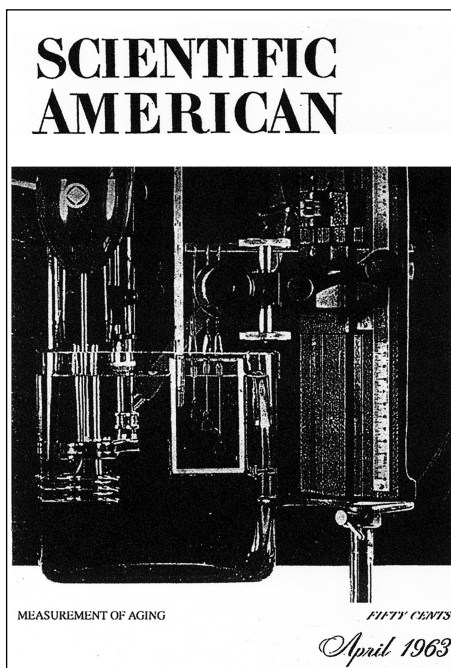
A kollagénrostok szerkezetének megismerése szempontjából legfontosabb tulajdonság a hőérzékenység. Az 50 °C fölé történő melegítés fokozatosan felbontja a tripla helix struktúráját. A hődenaturálás után a rost zselatinná válik, amit ragasztónak használnak.

Verzár munkásságának egyik fontos tényezője, hogy olyan műszert készített, melynek segítségével pontosan és megismételhető módon lehet a patkányfarokín kollagénjét denaturálni (1. ábra). Ez a módszer nagyban elősegítette a kollagén öregedésének vizsgálatát. A vizsgálandó anyag súlyát, hosszát és átmérőjét standardizálták, kizárva ezzel minden zavaró tényezőt. A műszer segítségével pontosan meg lehetett állapítani a hő okozta összehúzódás értékét és a rost hosszúságának változását. Módszerével Verzár nagyszámú munkatársa segítségével megismételhető eredményeket tudott felmutatni. Megjegyzendő, hogy Verzár sikere főleg fiziológiai kísérletein alapult, mint a rost hosszúságának meghatározása izotóniás közegben, és a rost feszültségének mérése az izom-összehúzódás mérésére használt izometriás kísérletekkel. Nagy előnyt jelentett számára fiziológiai gyakorlata. A sikeres és megismételhető kísérletek másik fontos tényezője egy öregedő patkánykolónia megteremtése volt. Ennek létrehozása mind a mai napig nehéz és költséges.

A kollagén öregedése Verzár kísérletei alapján

Verzár 1955-ben kezdte a kollagén öregedésével kapcsolatos kísérleteit. 50 mm hosszú, 20–25 mg súlyú patkányfarokín-rostokat erősítettek két plexicsipesz közé, 15 mm hosszú ínt szabadon hagyva. Az alsó csipeszt egy edény al-

jára erősítették, majd fiziológiás sóoldatot, vagy Ringer-oldatot tartalmazó vízfürdőbe merítették azt (1. ábra). A felső csipeszt izotóniás kimográf fogantyújához erősítették. A terhet a fogantyú súlya képezte. A hőmérsékletnöveléssel előidézett kontrakció erőssége az állat korával arányosan növekedett. A súly, ami teljesen megakadályozza a kontrakciót, a rost biológiai korát határozta meg, és az állat korának függvényeként ábrázolva, exponenciális növekedést mutatott (2. ábra). Később Verzár a kollagénrost feszültségemelkedését melegítés hatására izometriásan mérte.



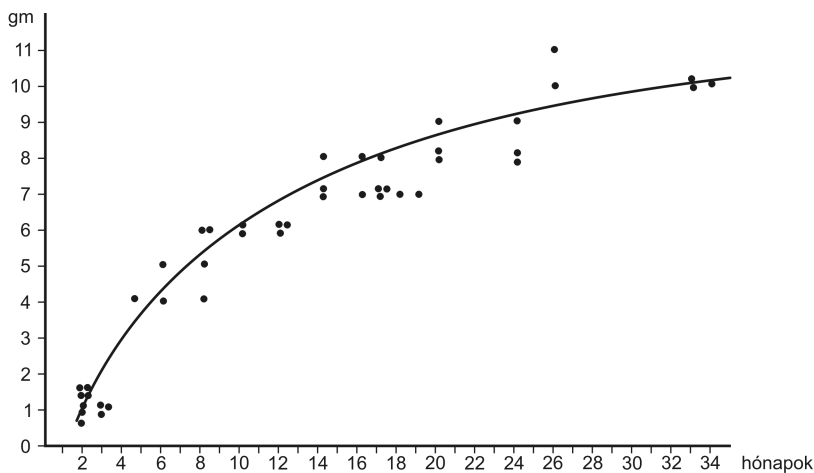
1. ábra • A *Scientific American* címlapja Verzár cikkével a kollagénrostok öregedéséről. A kép a kísérleti berendezést mutatja: a kollagén rostok a jobboldalt látható kimográf „karjára”, függesztve a végükre akasztott súllyal, ami a hő idézte összezsugorodást védi ki. A vízfürdőben a hőmérséklet beállítását szolgálta (reprodukálva a L. Robert [2006] referenciából)

A kollagénrostok kémiai kontrakciója.

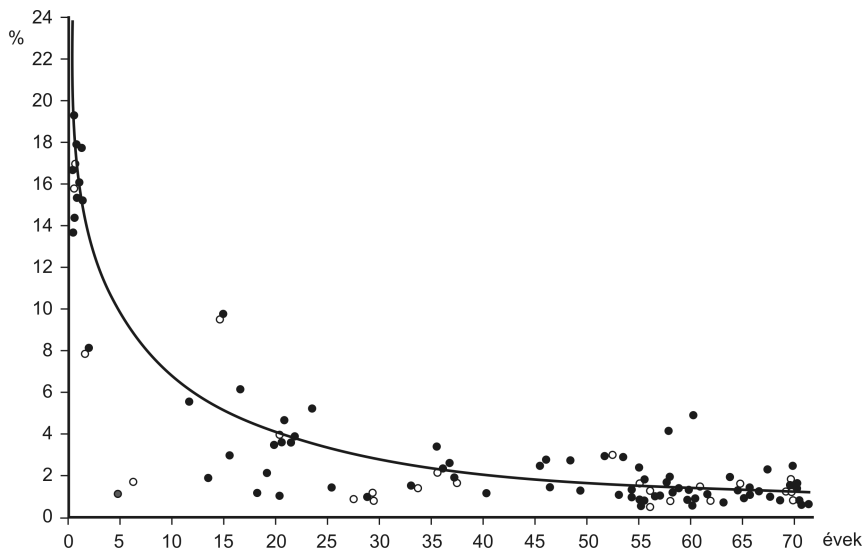
A glükóz fontos szerepe. A Maillard-reakció

A bőrirar régebbi és újabb cserzési módszerei különböző vegyszerek használatán alapsznak, és céljuk a bőr ellenállásának és rugal-

masságának fokozása. A kollagénkémia néhány úttörője (Grassmann Németországban, Gustavson Svédországban és Miles Partridge, az elasztin biokémia későbbi pionírja) a cserzés kémiját használták fel a kollagén biokémijának megértéséhez (Verzár, 1964). Izom-



2. ábra • A kollagénrostok izotonikus kontrakciójának korfüggő növekedése



3. ábra • Hydroxyprolin felszabadulása az emberi kollagénrostok hőkontrakciója folyamán, 65°C hőfokon, 10 perc melegítés után. Abszcissza: kor években; Ordináta: Hyp felszabadulás, az össz. Hyp százalékaként. (Verzár 1964-es revü cikkéből).

kémikusok, mint Laki Kálmán Magyarországon, szintén a cserzés módszerét használták az izomkontrakció tanulmányozásához. Kiderült, hogy egyes vegyszerek már szobahőmérsékleten kollagénrost-kontrakciót váltanak ki. A kálium-jodid, higany, kálium tiocianát egyaránt kontrakciót okozott kollagén-és miosinrostokon.

Banga Ilona, aki először használt 40 %-os kálium-jodidot a kollagénrostok kontrakciójához, majd optikai tanulmányokat végzett a rost struktúráján, az elasztinkémia pionírja volt. Ő a kettős törés változásait a rostokat körülvevő mukopoliszacharidáknak tulajdonította. Később bebizonyították a GAG-ok szerepét a kollagénrostok elrendeződésében, így a korneában, ahol a térbeli elhelyezkedés az átlátszóság fontos tényezője (Robert et al., 2001).

A bécsi Hofecker, aki Verzárral együtt dolgozott ezen a témán, megfigyelte, hogy ellentétben a hődenaturációval szemben tanúsított mechanikus ellenállás folytonos, korfüggő emelkedésével, a kornea kollagénrostjainak ellenállása csak 12 hónapig emelkedik, tovább nem. Ez volt az első jel, ami a kollagénrostok keresztkötéseinek változására mutatott. Később ezt Allen J. Bailey és Simon P. Robbins (1973) is igazolták. Hofecker Verzárral a kémiai kontrakció tanulmányozásához az izometriás módszert használta 0,5 M nátriumperklóráttal. Amint a rostot az oldatba helyezték, kontrakciót követően relaxáció jött létre. A bifázikus jelenség sebessége a korrallal változott, a maximális izometriás kontrakció emelkedett, de a kontrakció-relaxáció sebessége csökkent. A kollagénöregedés tehát analizálhatóvá vált egy többparaméteres modellel: az egyik a stabil kollagén keresztkötésekre vonatkozik, mely a kontrakcióban játszik szerepet, ezt követi egy diffúziós paramé-

ter és egy harmadik, mely a rostok molekuláris stabilitásával van kapcsolatban. A keresztkötések száma a korrallal növekszik (első paraméter), de a diffúziós paraméter csökken. Hasonló eredményeket lehet elérni hidrogénperoxiddal, de főleg **glukózzal**. **A glukóz még a vércukor normális értéke (5,5 mMol/L) alatt is fokozta a kollagén molekuláris öregedését.** Hofecker szerint 1 mMol/L-es glukózoldat 12 hónapos kollagénrostokon olyan változásokat okoz, mint 30 hónapos öregedés. 4 mMol/L-es glukózoldatban a kollagén oly mértékben túlstabilizálódott, hogy a kontrakciót nem követte relaxáció. Ez a magyarázata a kollagén glikáció általi öregedésének, amely később e folyamat standard paradigmájává vált. Ennek fontos szerepe van a diabétesz szövődményeinek kialakulásában. Magyarázata a Maillard-reakció, a redukáló cukrok és a protein aminosoportok egymásra hatása, ami több kémiai átalakulás után úgynevezett *Advanced Glycation Endproduct*-ok=előrehaladt glikációs végtermék, rövidítve AGE képződéséhez vezet. Több káros hatást lehet ezen AGE-knek tulajdonítani, elsősorban a kollagén (és más fehérjék) keresztkötésekkel való rögzítését, oldhatatlanná válását. Szerepet játszanak a cukorbetegség okozta veseelégtelenség kialakulásában is. Ugyanakkor az AGE-k hatnak a sejteken található receptorokra (RAGE – Receptor for AGE-s) és szabad gyökök, proteolitikus enzimek túltermelését idézik elő. Ezen reakciók fontos szerepet játszanak a felnőttkori diabéteszben.

A hydroxiprolin (Hyp) feloldása

Elsőnek Meyer és Verzár (1959) írták le a szabad Hyp (a prolin esszenciális aminosav, melynek a fehérjék felépítésében van fontos szerepe. A Hyp ennek egy származéka. Menyiségéből következtetni lehet az adott szövet-

minta életkorára) megjelenését a kollagén hőkontrakciója folyamán. A Hyp-et különböző mintákból a standardizált Neuman–Logan-módszerrel határozták meg, amit vízfürdőből, mérsékelt hőmérsékleten (55–56 °C) elvégzett termális kontrakció során vizsgáltak. Megfigyelték, hogy fiatal rostokból hamar és elég nagy mennyiségben oldódik ki a Hyp a vízfürdőbe, melyet a kontrakciós kísérlet alatt tízpercenként cseréltek. Idősebb állatok inából lassabban és kisebb mennyiségben oldódott ki a Hyp. Ez a jelenség fokozatosan módosult a rostok életkorának függvényében (3. ábra).

A hő által oldhatóvá vált labilis kollagén, mely az összes kollagén 75 %-át teszi ki fiatal állatoknál, és csak 25 %-át öreg állatokban. Verzár felismerte, hogy a labilis kollagén korral járó csökkenése a keresztkötések szaporodásának tulajdonítható. Hangsúlyozni kell, hogy ez a fontos megfigyelés, ami még ma, ötven év után is érvényes, alapos fizikokémiai kutatásokon, és nem fantáziadús következtetéseken nyugszik, mint azt a világos nomenklátúra is jelzi, melyet Verzár használt a kollagénkémia első éveiben.

Verzár korán felismerte, hogy a kollagén az állati szervezet funkcionálisan fontos komponense. Verzár felismerte azt is, hogy ahhoz, hogy elméletét általánosítani tudja, miszerint a kollagén öregedése az életkor függvénye, más kollagéndús szövetet is meg kellett vizsgálni. Miután a legtöbb kollagéngazdag szövetből nem lehet könnyen, reprodukálható módon olyan vékony rostokat preparálni, mint a patkányfarokból, az eredeti rheológiai módszert nem lehetett alkalmazni. Viszont az eljárás, ami a kollagén oldhatóságán alapszik, jól alkalmazhatónak bizonyult. Miután a bőr kollagénben gazdag szövet, Verzár elhatározta azon bőrreteg tanulmányozását, ami 70 % kollagént tartalmaz. Ezt a réteget használta a

bőripar is. Oldalmegvilágítás segítségével Verzár megállapította, hogy a bőrrostok struktúrája helikoidális, csakúgy, mint az inaké. Egyes vékony rostokat túbicolással ki lehetett preparálni a tehén bőrből, és két üveglemez közé szorítva, fokozatos melegítés alatt tanulmányozni lehetett. A tehénbőrrostoknak hővel szembeni magatartása teljesen megegyezett a patkányfarokín rostjaival, egy lényeges különbséggel: a fiatal és öreg rostok kezdeti kontrakciós hőmérséklete egyforma volt. Verzár ezután megváltoztatta módszereit, és a Hyp oldási eljárást alkalmazta a bőr öregedésének tanulmányozására. Fokozatosan körülbelül 0,5 g-os darabokat preparáltak idősebb korú tehén bőrből. A bőr alatti szövetektől és a bőrretegtől történő megtisztításuk után apró darabokra vágták őket, majd tíz percig 65 °C-on tartották őket. Ilyen körülmények között a hőkontrakció teljes volt. Szűrés után a kioldódott Hyp-et meghatározták. Az oldható kollagén aránya a korral elég gyorsan csökkent négy-öt éves korig, idősebb korban ez lelassult (3. ábra). Ezzel a kísérlettel kimutatták, hogy a bőr kollagéne ugyanúgy reagál, mint az ín kollagén, akár patkányból, akár tehénből, akár farokból, akár bőrből veszik a mintát. Itt újra megerősödött Verzár teóriája, mely szerint a kollagénöregedés a keresztkötések függvénye. Úgyszintén bebizonyosodott a Hyp kioldási technika alkalmazhatósága az öregedéssel kapcsolatos tanulmányokban. Bebizonyosodott a feltevés, hogy az öregedés tanulmányozásában a kollagén korral járó módosulása alkalmazható, és ez független minden más anyagtól.

Verzár módszerének alkalmazása az emberi öregedés tanulmányozásában

A fenti általánosítható eredmények alapján kiderült, hogy az emberbőr tanulmányozá-

sának nincs akadálya. Hasonló eljárást alkalmaztak, mint amit a tehénbőrre dolgoztak ki. Az emberi kollagén általános tulajdonságai hasonlóak a tehénéhez, csak kiterjedtebb időskálával. A *post mortem* hasbőr és az *ex vivo*, sebészeti kivett bőr tanulmányozása hasonló eredményeket adott. Ezeknek az emberbőr-kísérleteknek az összehasonlító tanulmányozása mélyebb biokémiai betekintést engedett a bőr különböző eredetű sérüléseinek regeneratív folyamataiba. A kérdés, melyre Verzár válaszolni akart, annak a biológiai kornak a meghatározása, melyet idősebb és fiatalabb egyének gyógyuló sebeitől származó kollagén vizsgálata alapján lehet megállapítani. Kimutatta, hogy a kollagén, mely a seb gyógyulása folyamán keletkezik, fiatal és idős egyénekben egyforma, és hogy ez fiatal kollagén. Extrakció után az újonnan szintetizált kollagén ugyanúgy elkezd öregedni, mint a szervezet bármely más kollagénrostja. Öt-hat év szükséges ahhoz, hogy a sebhelyből származó kollagén megkülönböztethetetlen legyen az eredeti kollagéntól. Ez érdekes bizonyítéka annak, hogy a keresztkötés poszt szintetikus folyamat, mely követi a kollagén újra felépítését, és lassan eléri az eredeti kollagénrostok állapotát, melyek az élet folyamán sokkal előbb kezdtek el öregedni. Verzár kísérletei kimutatták, hogy egy 75 éves egyén négy hónapos hegében az oldható kollagén 8,92 %, míg az egészséges bőrben csak 1,02 %, azaz az idősebb ember kollagénszerkezete jelentősen különbözik. Ez is egy, az öregedés biokémiájához, a keresztkötések kialakulásához az idő függvényében vizsgálendő részadat.

Filogenetikai kísérletek, a békáin öregedése

A hosszú életű dél-afrikai békát, a *Xenopus levis*t használta Verzár az 1960-as években, hogy a kollagén öregedésére kidolgozott teo-

riájának filogenetikai érvényességét megállapítsa. Régebbi és újabb kísérletei igazolták teóriájának érvényességét az emlősök között, de Verzár igazolni akarta azt a filogenetikailag régebbi kétélű fajokban is. A viszonylag nagy *Xenopus levis* megfelelő választásnak bizonyult az állat hosszú ujjainak könnyen hozzáférhető inai miatt. Verzár intézetében egy békatenyészetet létesítettek, ahol a békákat 12–15 °C-os vízben tartották. Még a 12–15 éves hímek is nemzőképesek voltak, és nagy tenyészetet lehetett létrehozni, ahol három éven keresztül nem volt spontán halálozás. Ezek a kísérletek annyiban is érdekesek voltak, hogy a békák testhőmérséklete körülbelül 15 °C, sokkal alacsonyabb, mint a patkányoké. A maximális élettartamuk nem ismert, de Verzár tenyészetében háromszor hosszabb ideig éltek, mint a legöregebb patkányok. A kétéves állatokból kb. 10 mm hosszú ínrostokat lehetett preparálni. A hőkontrakció okozta feszültség kétéves kortól a 12–13 éves korú állatokig 2,5 g-ról 10–11 g-ra növekedett, testsúlytól függetlenül, de jelentős különbséggel a hímek és nőstények között. Ezeket az eredményeket a Hyp szulációs technikával is ellenőrizték, és ez szélesebb filogenetikai alapokon igazolta az öregedés keresztkötés-teóriáját. A kollagénrostok tekintetében igazolódott a Verzár által kidolgozott eljárás megbízhatósága az öregedés biológiájának tanulmányozására.

A kollagén öregedése kísérleti és fiziológiai viszonyok között

Verzár intézetében több kísérletet végeztek, melyekben molekuláris szinten vizsgálták a kollagénöregedés mechanizmusát farmakológiai beavatkozás vagy patológiai körülmények során. Ilyen az ionsugarak hatása alatti öregedés gyorsulása. Patkányok 6–9000 r besugárzást kaptak, ami megközelíti a letális dózist.

Minden állat meghalt már egyéves kora, tehát 50 százalékkal a várható, 24 hónapos élettartam előtt. Egyiknél sem tapasztaltak kollagén-öregedést, akár az átlagkorhatár előtt, akár az után haltak meg. Verzár levonta a konzekvenciát, miszerint a kollagén öregedése nem játszik szerepet a besugárzás következtében keletkezett szövetsérülésben. Ezzel megcáfolta a dogmát, mely szerint a besugárzás általánosan meggyorsítja az öregedést. Kísérleteinek értékelésében idézte angol kutatók, így Alexander és Stacy munkáit, akik az ionizáló sugarak hatását a DNS-ben okozott sérülésekkel magyarázták. Verzár később bebizonyította, hogy még olyan magas dózis, mint 1500–6000 r sem módosítja a patkányfarokban a kollagén termális kontrakcióját, jóllehet a bőrön kimutathatók voltak a besugárzás által okozott károk. A kísérletet megismételték 100 000 r dózissal anélkül, hogy bármi változást tapasztaltak volna öt hónapos állatok kollagénrostjain.

Ismert volt a terhesség befolyása a kollagénmetabolizmusra. A méh növekedése közben a kollagén mennyisége megszorodik, majd szülés után gyorsan felszívódik, mint azt Frederic J. Woessner és munkatársai (1963) régebbi kísérletei kimutatták. Verzár izometriás technikával igazolta a kollagénrostok gyorsuló öregedését állapotos, ismételt szülő nőstényekben. Ugyanerre az eredményre jutott a Hyp szolúciós technikával is. Ebből óvatosan arra következtetett, hogy további kísérleteket kell végrehajtani a kollagénnel és az öregedésre gyakorolt hormonhatások tekintetében, minthogy a fenti kísérletek erre engedtek következtetni. Valamivel később Olsen és Everitt (1965) kimutatták a hipofízis (hátsó lebeny) hormonok hatását a kollagén kereszt-kötésekre és az öregedésre.

Verzár módszerének másik alkalmazási területe a hipokalóriás diéta hatásának tanul-

mányozása volt a kollagén öregedésére. A sok kísérletből, melyeket az élettartam meghosszabbítása és a test megfiatalítása céljából életének utolsó évtizedében végzett, az egyetlen fennmaradt, még ma is érvényes eredménye a hipokalóriás diéta kedvező hatása. Az átlag életkor 30 %-kal volt magasabb a diétára fogott patkányokban, mint a túltáplált kontrollállatok között. A kollagénkontrakció sebességi konstansa, a Verzár-technika egyik változata, igazolta ezt a 30 %-kal lassabb öregedést. Verzár konklúziója szerint az alultáplált állatok növekedése lassúbb a túltáplált állatokénál. Ez a konklúzió, amit Clive M. McCay és Mary F. Corwell már 1934-ben javasoltak, ma is elfogadott.

Az utolsó tíz év

Verzár élete végéig dolgozott és publikált az experimentális gerontológia terén. Egyik utolsó tanítványa és munkatársa, Zs. Nagy Imre professzor volt, aki jelenleg is a Debreceni Egyetemen dolgozik, ahol Verzár fiziológia-professzor, majd dékán és rektor volt, mielőtt Bázélbe hívták. Verzár utolsó közleménye 1976-ban jelent meg, címe: *Basic Research in Experimental Gerontology* (Verzár, 1976). Szerzője nagyban hozzájárult, hogy ezt az új specialitást komoly tudományos szintre emelje. Ebben a vonatkozásban meg kell említeni Zs. Nagy professzor elektronmikroszkópos vizsgálatait a kollagén termális denaturációjáról. A munkákat részben a bázeli intézetben, részben a Magyar Tudományos Akadémia tihanyi kutatóintézetében, illetve az olaszországi Anconában végezték, ahol Verzár 1970-től a Gerontológiai Kutató Központ igazgatója volt, és ahol Zs. Nagy Imre tíz éven keresztül dolgozott ezen a témán (Zs. Nagy, 2006). A kísérlet folyamán készült elektronmikroszkópos felvételek részletes tanulmányozása bizonyította

az ínrostok ultrastrukturális különbségeit az életkor függvényében.

Kimutatták, hogy idősebb állatokban az egyes kollagénmolekulák szétválasztása termális denaturációval nem könnyű, ami igazolja az intramolekuláris keresztkötések életkortól függő megszaporodását. A kollagén keresztkötések életkortól függő, fokozatos módosulását Zs. Nagy és Verzár csoportja felismerte, amit az alábbi idézet is bizonyít:

„Ez a jelenség (mármint a keresztkötések életkorfüggő módosulása) összefüggésben lehet a keresztkötések strukturális átrendezésével, nevezetesen a dehidro-hidroxinorleucinával, itt az intramolekuláris oxidoredukció által sokkal stabilabb keresztkötés jön létre.” Világosan felismerték tehát a kovalens intermolekuláris keresztkötések fokozatos változását, mint az öregedőkollagén rostok fizikokémiai módosulásának és termális tulajdonságainak alapját.

Röviden meg kell említenünk Verzár hozzájárulásának egyéb aspektusait is az experimentális gerontológiához. A DNS-t, amit azelőtt rejtélyes makromolekulának könyveltek el, először Miescher izolálta Bázelen, az 1950-es évek közepén. Verzár intézetében von Hahn tanulmányozta termális denaturációját. Bár a keresztkötések megszaporodását észlelték a szomszédos proteinkomponensek (hiszton), amit más kutatók is igazoltak, ezek a kísérletek a kollagénrostokkal ellentétben nem mutattak szisztematikus életkorfüggőséget, de rámutattak az életkorral együtt járó funkciócsökkenés biokémiai-morfológiai hátterére. Érdekes kiterjesztése ezen munkáknak Verzár korábbi leírása a korrallal együtt járó natív ín sejteszsége (Zs. Nagy et al., 1969). A sejtek száma, melyeket Van Gieson-módszerrel festett metszeteken (szövetteni festési eljárás) számoltak, a korrallal rendszeresen csökken. Azt is feljegyez-

ték, hogy az életkorral a sejtmagok festhetősége is csökken, ami azt jelenti, hogy a kromatin struktúrája módosul, amit későbbi részletes kísérletek is bebizonyítottak. Ezekben a kísérletekben von Hahn kvantitatív DNS-meghatározást végzett 1–30 hónapos patkányok ináiban. A kísérletek igazolták a korábbi eredményeket, melyeket sejtmagszámolással határoztak meg, és bizonyították a szignifikáns DNS-csökkenést az inakban egy és tíz hónapos életkor között.

A Verzár Intézet egyéb kísérleti és klinikai gerontológiai témái

Verzár hírneve főleg a kollagénöregedést tisztázó eredeti kísérleteihez fűződik, ő egyike az experimentális gerontológia megteremtőinek. Hosszú karrierje alatt, mint azt monográfiáiból is láthatjuk, a gerontológia számos más területén is eredményesen dolgozott. A specialitás meghatározását előadásainak összessége adja, melyet az akkoriban új területnek, a sejtöregedésének szentel, magába foglalja intézetének tudományos eredményeit csakúgy, mint saját, eredeti gondolatait. Csak néhány kísérletet említenünk meg a fent idézett monográfiából. Egyik érdekes kísérlete a Wistar-patkány kolóniájának életkorgörbéje, és a kóros morfológiai elváltozások leírása. Feljegyzett egy fontos tény: az összes fontos paraméter életkortól függő csökkenését és diszperzióját, beleértve a betegségeket és a halál okait. Ez a tény, melyet későbbi kísérletek igazoltak, annál inkább meglepő, mert a patkánykolónia genetikailag homogén volt. Ez a megfigyelés egyike a legelső utalásoknak az öregedés és hanyatlás posztgenetikai (epigenetikai, poszttranszlációs) mechanizmusára.

Verzár másik fontos témája a kísérleti gerontológia terén az izomöregedés, melyet elsősorban Marco Erminivel közösen tanulmá-

nyozott. Első megfigyeléseit az izomsorvadásról Verzár 1959-ben közölte. Verzár és Ermini tanulmányozták a kreatin-foszfát csökkenő utánpótlását az öregedő izomban. Igen érdekes a nutricionalis faktorok szerepe az izom gyógyulásában, jelesül a glukóze, amennyiben a kreatin-foszfát és a kreatin megbomlott arányát helyreállítja. Miután Verzár érdeklődése sokkal előbb kezdődött a táplálkozási problémák és az emésztés fiziológiája iránt, mint az experimentális gerontológia irányában, nem meglepő, hogy ez a téma az utolsó tíz évben visszatérően foglalkoztatta. Példa erre a nutricionalis faktorok hatása a magaslatához történő adaptációhoz, amit Daniela Schlettwein-Gsell-lel együtt tanulmányozott. Verzárt foglalkoztatta az életkortól függő pszicho-kognitív funkciók változása is, e téma teoretikus és experimentális aspektusa a gerontológiában. Longitudinális tanulmányt végzett a bázeli lakosságon, ez volt az öregedéskutatásban az első longitudinális epidemiológiai kísérlet.

Verzár bibliográfiája

Verzár összegyűjtött munkáit 80 éves születésnapja alkalmából ünnepi kötetben adták ki. Teljes bibliográfiáját halála után publikálták (Zs. Nagy, 1995) a Debreceni Egyetemen. Hely hiányában nem tudtuk felsorolni összes munkáját, ehelyett inkább könyveit és összefoglaló cikkeit idéztük. Verzárnak a kollagén öregedéssel kapcsolatos legtöbb munkája részletes összefoglaló közleményében található. (Verzár, 1964). Idéztük Verzár kevésbé közismert, az experimentális gerontológiával kapcsolatos közleményeit, hogy munkásságát perspektivikusan ábrázoljuk. A nem enzimatis glykozilációra és az ezzel kapcsolatos morfológiai megfigyelésekre támaszkodott kollagénkémiái vizsgálatok fontos hozzájárulást jelentettek az ember életkorral járó folyamatainak jobb megértéséhez, ezek mind a mai napig fontos kutatási témái az orvostudományban.

Kulcsszavak: *Verzár Frigyes, kollagén keresztkötés, öregedési folyamat, extracellularis matrix, Maillard-reakció, Advanced Glycation Endproducts (AGE)*

IRODALOM

- Bailey, Allen J. – Robins, Simon P. (1973): Development and Maturation of the Cross-links in the Collagen Fibres of Skin. In: Robert, L. (ed.): *Frontiers of Matrix Biology*. Vol. 1, Karger, Basel, 130–156.
- Labat-Robert, Jacqueline – Timpl, R. – Robert L. (eds.) (1986): Structural Glycoproteins in Cell-Matrix Interactions. In: Robert, L. (ed.): *Frontiers of Matrix Biology*. Vol. II, Karger, Basel
- McCay, Clive M. – Crowell, Mary F. (1934): Prolonging the Lifespan. *Scientific Monthly*, 39, 405–414.
- Meyer, A. – Verzár F. (1959): Age-changes of the Hydroxyproline Release during Thermic Contraction of Collagen Fibers (in German). *Gerontologia*, 3, 184–203.
- Olsen, G. G. – Everitt, A. V. (1965): Retardation of the Ageing Process in Collagen Fibres from the Tail Tendon of the Old Hypophysectomized Rat. *Nature*, 206, 307–308.
- Robert Ladislas – Legeais, J. M. – Robert, A. M. – Renard, G. (2001): Corneal Collagens. *Pathologie Biologie*, 49, 333–353.
- Robert Ladislas (2006): Fritz Verzár Was Born 120 Years Ago: His Contribution to Experimental Gerontology through the Collagen Research As Assessed after Half a Century. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 43, 13–43.
- Schlettwein-Gsell, Daniela (1966): The Institute of Experimental Gerontology in Basel. In: Schock, N. W. (ed.): *Perspectives in Experimental Gerontology. A Festschrift for Dr. F. Verzár*. Ch. Thomas Publ., Springfield, Ill., 19–29.
- Verzár Fritz (1964): Aging of the Collagen Fiber. In: Hall, David A. (ed.): *International Review of Connective Tissue Research*. Vol 2. Academic Press, New York, 243–300.
- Verzár Fritz (1965): Renaturation after Denaturation of Filamentous Protein Molecules. In: Comte, Philippe

- (ed.) (1965): *Biochimie et Physiologie du Tissu conjonctif*. Centre Technique du Cuir, Lyon, 381–390
- Verzár Fritz. (1976): Basic Research in Experimental Gerontology. *Experientia*. 32, 746–747.
- Woessner, Frederick J. Jr. – Noble, N. L. – Boucek, R. J. (1963): Synthesis and Degradation of Collagen in the Rat. In: Robert, Ladislav – Polonovski, Michel (eds.): *Exposés Annuels de Biochimie Médicale*. Vol. 24. Masson, Paris, 203–215.
- Zs. Nagy Imre (1995): Dr. Verzar Frigyes (1886-1979). The Great Personalities of the Medical Education at Debrecen. Vol 10. Published by the University Medical School, Debrecen in Hungarian)
- Zs. Nagy Imre – Von Hahn, H, P. – Verzár F. (1969): Age-related Alterations in the Cell Nuclei and the DNA Content of Rat Tail Tendons. *Gerontologia* 15, 258–264.
- Zs. Nagy Imre – N. Tóth V. – Verzár F. (1974): High Resolution Electron Microscopy of Thermal Collagen Denaturation in Tail Tendons of Young, Adult and Old Rats. *Connective Tissue Research*. 2, 265–272.
- Zs. Nagy Imre (2006): Fritz Verzár Was Born 120 Years Ago: A Personal Account. *Archives of Gerontology and Geriatrics*. 43, 1–11.

