

Światło w.l.s. było w czasie badań subiektywnie gorzej tolerowane przez osoby z grupy starszej, które dawały uczucie dyskomfortu w odmiennym zabarwieniu otoczenia. Mogło to być spowodowane wieloletnią adaptacją do określonych warunków oświetlenia, być może także pewnymi zmianami w układzie wzrokowym, związanymi z wiekiem^{2,4}.

W obu porównywanych grupach wiekowych stwierdzono oddalanie się punktu bliży w miarę upływu czasu pobytu w oświetleniu sodowym. Fakt ten potwierdza przytaczany w piśmiennictwie negatywny wpływ tego źródła światła na zakres akomodacji^{1,2,3,9}. Obniża to wartość w.l.s. dla oświetlania stanowisk pracy, zwłaszcza w odniesieniu do prac precyzyjnych. Pewien korzystny wpływ w.l.s. występujący w miarę upływu czasu stwierdzono w ocenie zdolności rozdzielczej oka do dali, co potwierdzają, choć niejednoznacznie, inne doniesienia^{2,3,9}. W grupie wiekowej średniej pozytywny wpływ oświetlenia sodowego wyrażał się poprawą zakresu fuzji konwergencyjnej, a także ustąpieniem cech zmęczenia o.u.n. około godziny 11.00, obecnych w oświetleniu żarowym^{1,2,3}.

Wyniki badania w zastosowanym natężeniu oświetlenia w.l.s. sugerują, że mimo cech dodatnich tego źródła światła, nie zapewnia ono pełnego komfortu widzenia podczas oświetlania wnętrza, zwłaszcza w starszym wieku. Ze względu jednak na jej duże walory ekonomiczne wskazane byłoby dalsze badania nad dostępną już

lampą sodową o skorygowanym, rozszerzonym widmie, a także oświetleniem mieszanym.

PIŚMIENNICTWO

1. Adamek B., Remlein-Mozolewska G., Anczykowska E., Pienkowska-Machoy E., Gandecki A.: Ocena dynamiki funkcji wzrokowych w warunkach oświetlenia żarowego i sodowego. I. Ostrość wzroku, akomodacja, fuzyja, pole widzenia, heteroforia. *Klin. oczna* 92: 201-203 (1990). — 2. De Boer J.B., Fischer D.: Interior lighting. (Philips Technical Library, Deventer 1981). — 3. Klotzbücher M.: Einfluss von Beleuchtungsquellen unterschiedlicher spektraler Zusammensetzung auf Leistung bei geistiger Arbeit und ausgewählte physiologische Funktionen. *Zbl. Arbeitsmed.* 30: 241-248 (1980). — 4. Nowakowska E., Stanioch W.: Badania stanu czynnościowego oczu w warunkach sztucznego oświetlenia z różnych źródeł światła. *Ochrona Pracy* 20: 8-12 (1965). — 5. Piper H.A.: The effect of HPS light on performance of a multiple refocus task. *Lighting Design and Application*: 36-43 (1981). — 6. Rozenblum Z.J.: Ergonomika precyzyjnej pracy wzrokowej. *Klin. oczna* 88: 341-343 (1986). — 7. Stanioch W.: Anomalie widzenia przy oświetleniu lampami sodowymi i rtęciowymi. *Przeg. Elektrotechn.* 55: 41-42 (1979). — 8. Stanioch W.: Zmiany psychofizyczne wzroku przy oświetleniu lampami wysokoprężnymi. *Wiad. Elektrotechn.* 49: 289-293 (1981). — 9. Starkiewicz W.: Psychofizjologia wzroku. (PZWL, Warszawa 1960). — 10. Trusiewicz D., Stanioch W.: Wpływ światła wysokoprężnej lampy sodowej na czynności wzroku. *Klin. oczna* 89: 489-491 (1987).

Praca wpłynęła: 19.03.1990 (nr 5653).

BYDŁĘCE ciało szkliste zawiera różne białka o łącznym stężeniu 1,7 mg/cm³. Wśród nich występuje kolagen oraz rozpuszczalne białka niekolagenowe. Charakterystyka biochemiczna białek niekolagenowych była przedmiotem poprzedniej pracy¹⁰.

Głównym składnikiem kolagenowym ciała szklatego jest kolagen typu II. Jego cząsteczka składa się z trzech identycznych łańcuchów α_1 , odpowiada więc kolagenowi występującemu w chrząstce. Stwierdzono jednak, że skład aminokwasowy i cukrowy łańcuchów α_1 (II) kolagenu ciała szklatego różni się nieco od kolagenu chrząstki. Łańcuchy tego białka wykazują niższą ruchliwość elektroforetyczną^{1,2}. Ponadto wykazano, że ciało szkliste zawiera dodatkowo białka zakwalifikowane do kolagenu typu IX. Z uwagi na szczególną rozpuszczalność w buforze fosforanowym nazwano je symbolem C-PS (*collagenes phosphate soluble*). Wyizolowano dwie frakcje tego białka: C-PS 1 i C-PS 2. Różnią się one masą cząsteczkową i rozpuszczalnością. Białka C-PS 1 i C-PS 2 są produktami proteolizy kolagenu typu IX^{1,2}.

Badania ostatnich lat wykazały, że ciało szkliste zawiera dodatkowo kolagen typu XI o składzie podjednostkowym α_1 (XI), α_2 (XI), α_3 (XI)^{1,8}. Ilościowa analiza różnych frakcji kolagenowych ciała szklatego wykazała, że kolagen typu II stanowi 79% całkowitej ilości kolagenu, C-PS 1 i C-PS 2 odpowiednio po 10% i 5%, a pozostałość stanowi kolagen typu XI — 8%¹.

Wiadomo, że degradacja kolagenu przebiega inaczej niż innych białek. W fizjologicznym przedziale pH i temperatury kolagen jest odporny na działanie większości enzymów proteolitycznych. Trawienie kolagenu zachodzi dwiema drogami: pod działaniem kolagenaz tkankowych lub pod działaniem katepsyn kolagenolitycznych^{2,4,6,7}.

Postanowiono sprawdzić czy bydłęce ciało szkliste wykazuje aktywność kolagenolityczną wobec podstawowych typów kolagenu oraz ocenić aktywność proteolityczną wobec hemoglobiny.

MATERIAŁ I METODYKA

Bydłęce gałki oczne pobierano bezpośrednio po uboju. Przecinano twardówkę w okolicy bieguna tylnego i aspirowano ciało szkliste do strzykawki. Homogenizowano mechanicznie homogenizatorem szklanym z tłokiem teflonowym w temperaturze 4°C. Białko oznaczano metodą biuretową.

Ocenę właściwości kolagenolitycznych bydłęcego ciała szklatego przeprowadzono metodą elektroforezy na żelu poliakrylamidowym w obecności SDS wg metody Weber i Osborna⁹. Roztwór kolagenu odpowiedniego typu oraz homogenat bydłęcego ciała szklatego poddano działaniu przez 24 h w temperaturze 4°C wobec 0,02 M buforu octanowego o pH 4,8. Następnie w różnych objętościach połączono: roztwór kolagenu odpowiedniego typu z buforem octanowym, homogenat ciała szklatego z tym buforem, homogenat ciała szklatego z roztworem kolagenu odpowiedniego typu i inkubowano przez 3 h w temperaturze 37°C. Następnie wykonano elektroforezę

Z Zakładu Biochemii AM w Białymstoku, kierownik: prof. dr med. Edward Bańkowski i z Kliniki Okulistycznej AM w Białymstoku, kierownik: prof. dr med. Andrzej Stankiewicz

Reprint requests to: Dr Małgorzata Wolańska, ul. Gajowa 77 m. 4; 15-794 Białystok, Poland

MAŁGORZATA WOLAŃSKA
i ALINA BAKUNOWICZ-ŁAZARCZYK

Aktywność proteolityczna i kolagenolityczna bydłęcego ciała szklatego

PROTEOLYTIC AND COLLAGENOLYTIC ACTIVITY OF THE CATTLE VITREOUS

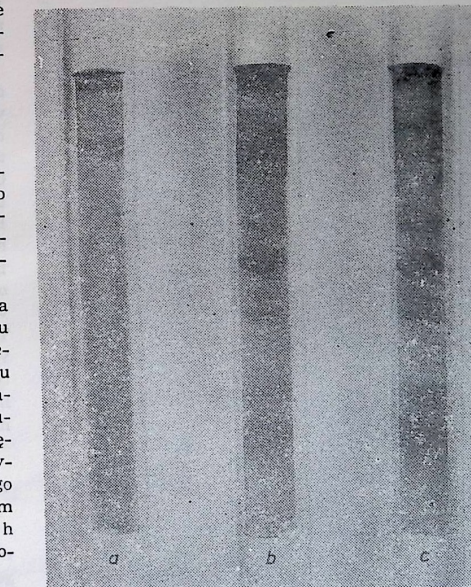
The vitreous contains collagen and soluble non-collagen proteins. The degeneration of collagen takes place in a different manner than in the other proteins. It has been detected that the cattle vitreous does not show any collagenolytic activity against the basic types of collagen (I, II, IX, and XI). The vitreous digests haemoglobin only in the acidic section of pH (optimum 3.5-4.5). No proteolytic activity towards Hb in physiological pH has been found.

HASŁA: ciało szkliste, kolagen, aktywność proteolityczna, aktywność kolagenolityczna

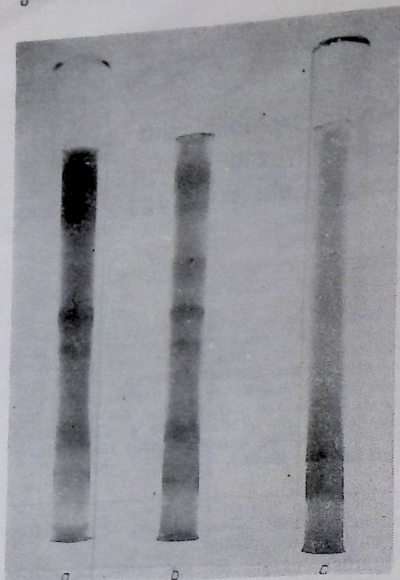
KEY WORDS: vitreous, collagen, proteolytic activity, collagenolytic activity

rezy na żelu poliakrylamidowym w obecności SDS trzech wymienionych układów.

Po zabarwieniu żelu uzyskano obraz przedstawiony na ryc. 1-4.



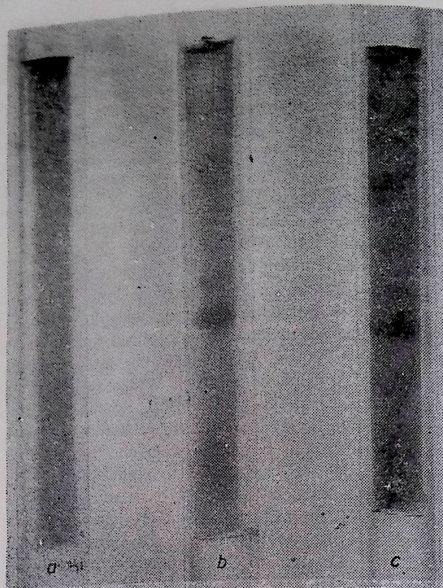
Ryc. 1. a — ruchliwość elektroforetyczna kolagenu typu I, b — ruchliwość elektroforetyczna homogenatu ciała szklatego z kolagenem typu I po 3 godzinnej inkubacji. Widoczne są wszystkie frakcje jak na żelu c, c — obraz elektroforetyczny bydłęcego ciała szklatego. Widoczne są pasma świadczące o obecności białek o różnej masie cząsteczkowej (typowych dla elektroforogramu bydłęcego ciała szklatego).



Ryc. 2. a — ruchliwość elektroforetyczna kolagenu typu II zanieczyszczonego kolagenem XI, b — ruchliwość elektroforetyczna bydłęcego ciała szklistego i kolagenu typu II (zanieczyszczonego typem XI) po 3 godzinnej inkubacji. Nie wykazano zaniku pasm charakterystycznych dla kolagenu typu II, c — porównawczy elektroforogram bydłęcego ciała szklistego.



Ryc. 3. a — obraz elektroforetyczny kolagenu typu III, b — ruchliwość elektroforetyczna ciała szklistego z ww. typem kolagenu po 3 godzinnej inkubacji. Nie widać zaniku pasm charakterystycznych dla kolagenu typu III, c — elektroforogram bydłęcego ciała szklistego.



Ryc. 4. a — elektroforogram kolagenu typu IX, b — elektroforogram kolagenu typu IX i bydłęcego ciała szklistego. Nie wykazano zaniku pasm charakterystycznych dla kolagenu typu IX, c — porównawczy elektroforogram bydłęcego ciała szklistego.

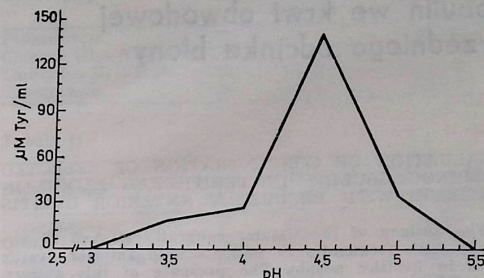
Podjęto również próbę oceny właściwości kolagenolitycznych bydłęcego ciała szklistego w pH fizjologicznym. Oznaczenie wykonano w wyżej wymienionych układach stosując bufor fosforanowy 0,01 M o pH 7,4.

Pomiar aktywności proteolitycznej wykonano w przedziale pH 2,5–8,5. Różnice między kolejnymi próbami wynosiły 0,5 jednostki. 4% roztwór hemoglobiny zdenaturowanej 6 M mocznikiem rozcieńczono buforem Brittona-Robinsona o odpowiednim pH, w stosunku 1:1. Oznaczenie aktywności proteolitycznej wykonano w układzie zawierającym: 0,5 ml ciała szklistego i 0,5 ml Hb (oba o odpowiednim pH). Próbę inkubowano w łaźni wodnej w temperaturze 37°C przez 4 h. Reakcję przerywano przez dodanie 2,5 ml 5% kwasu tróchloroctowego (TCA). Próba kontrolna, nieinkubowana zawierała: 0,5 ml ciała szklistego, 0,5 ml Hb, 2,5 ml 5% TCA. Następnie próby badane jak i kontrolne sążono. W przesączu oznaczano zawartość kwasorozpuszczalnej tyrozyny metodą Folina-Ciocalteu⁵. Aktywność proteolityczną ciała szklistego wyrażono w μmol ach tyrozyny/mg białka.

WYNIKI I OMÓWIENIE

Ryc. 1–4 przedstawiają obraz elektroforetyczny trzech wyżej wymienionych układów przy zastosowaniu kolagenów różnych typów w pH 4,8. Identyczny obraz uzyskano przeprowadzając elektroforezę w pH fizjologicznym. We wszystkich elektroforogramach nie stwierdzono zaniku pasm charakterystycznych dla poszczególnych typów kolagenu. Stwierdzono, iż bydłce ciało szkliste nie wykazuje aktywności kolagenolitycznej wobec podstawowych typów kolagenu (I, II, III, IX i XI). Sprawdzono natomiast obecność aktywności proteolitycznej

ciała szklistego wobec hemoglobiny. Uzyskano obraz przedstawiony na ryc. 5.



Ryc. 5. Aktywność proteolityczna bydłęcego ciała szklistego.

Stwierdzono, iż ciało szkliste trawi hemoglobinę jedynie w kwaśnym przedziale pH (optimum 3,5–4,5). Nie stwierdzono aktywności proteolitycznej wobec Hb w pH fizjologicznym. W pH niższym i wyższym od optymalnego aktywność enzymu gwałtownie maleje. Wskazywałoby to na obecność w cieple szklistym enzymów z grupy katepsyn o optymalnej aktywności w pH 3,5–4,5. Jednak powyższe fakty nie wyjaśniają mechanizmu degradacji kolagenu w cieple szklistym. Być może

ciało szkliste zawiera kolagenazę w formie nieaktywnej — latentnej. W dalszych badaniach będą podjęte próby wyjaśnienia mechanizmu degradacji kolagenu w cieple szklistym.

PIŚMIENNICTWO

1. Ayad S., Weiss J.B.: A new look at vitreous — humor collagen. *Bioch. J.* 218: 835 (1984).
2. Bańkowski E.: Polimorfizm molekularny kolagenu kręgowców. *Postępy Bioch.* 28: 301–303 (1982).
3. Burgeson R.E., Hollister D.W.: Collagen heterogeneity in human cartilage. Identification of several new collagen chains. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 87: 1124–1127 (1979).
4. Capodoci C., Muthukumar G., Amoroso M., Berg R.A.: Activation of neutrophil collagenase by cathepsin G. *Inflammation* 13: 3–5 (1989).
5. Folin O., Ciocalteu V.: Tyrosine and tryptofan determination in proteins. *J. Biol. Chem.*, 73: 627–650 (1927).
6. Kirschke A., Kambhavi A.A., Bohley P., Barret A.J.: Action of rat liver cathepsin L on collagen and other substrates. *Biochem. J.* 201: 367–371 (1982).
7. Krane S.M.: Collagenases and collagen degradation. *J. Invest. Dermat.* 79: 83–88 (1982).
8. Smith G.N. jr., Williams J.M., Brandt K.D.: Effect of polyanions of fibrillogenesis by type XI collagen. *Collagen Rel. Res.* 7: 17–21 (1987).
9. Weber K., Osborn M.: The reliability of molecular weight determinations by dodecyl-sulfate polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.* 224: 4406–4411 (1969).
10. Wolańska M., Bańkowski E.: Soluble non-collagen proteins of bovine vitreous humour. *Acta Biochim. Pol.* 36: 37–41 (1989).

Praca wpłynęła: 19.06.1990 (nr 5673).