

УДК 57.017.645 : 591.175.7

Юри ВАЙГА, Сийри ВАЙГА

ИЗМЕНЕНИЯ ФРАКЦИОННОГО СОСТАВА БЕЛКОВ И НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ МЫШЦ СМЕШАННОГО ТИПА В ОНТОГЕНЕЗЕ ЦЫПЛЯТ

Функциональный профиль любой мышцы сказывается на ее макро-структуре, в гистологическом строении и характере иннервации. Скелетная мускулатура позвоночных состоит из смешанных мышц, содержащих волокна фазного, тонического или промежуточного типа. В зависимости от выполняемой функции один тип волокон превалирует над другими. В эмбриональной стадии развития мышечная ткань характеризуется достаточной однородностью и ее дифференциация начинается только после установления нервных связей. Известно, что скелетные мышцы у цыплят оснащаются функциональной иннервацией на 14—15-й день эмбрионального развития (Gordon и др., 1977). В результате этого формируются специфические черты отдельных волокон, выражающиеся в изоферментном составе белков миофибрилл, уровне АТФазной активности актомиозинового комплекса и характере энергетического обмена (Разумовская, Дамбинова, 1981).

Особенности дифференциации фазных и тонических волокон скелетных мышц млекопитающих в настоящее время изучены наиболее. Установлено (Иванов и др., 1967; Яковлев, Макарова, 1980; Итина, 1981), что фракционный белковый состав мышц тонического типа отличается от фазного более высоким содержанием белков группы стромы и саркоплазмы и более низким — миофибрилл (за исключением тропомиозина). Онтогенез и биохимический состав мышц смешанного типа изучены слабее. Из мышц многих позвоночных менее всего известны особенности фракционного состава различных типов мышц птиц. Являются ли икроножные мышцы птиц в сравнении с грудными по типу сокращения и строения более тоническими, различаются ли они по фракционному составу белков, пока не установлено. Целью настоящей работы было изучение белкового и нуклеинового обмена мышечной системы цыплят в динамике постэмбрионального онтогенеза.

Материал и методика

Исследования проводили на гибридных цыплятах-бройлерах кросса «Балтика-6» в возрасте 1—30 дней. Белки икроножной мышцы (*m. gastrocnemius*) фракционировали количественно по И. Иванову и др., (1967) с применением некоторых модификаций (Вайга, 1977). Белок во фракциях саркоплазмы (Сп), миозина (М) и актомиозина (АМ) определяли микробиуретовым методом, АТФазную активность по нарастанию в пробах концентрации неорганического фосфата — методом Лоури и Лопеса в модификации В. Скулачева (Никулина, 1965). Использовали следующую инкубационную среду: 2,5 мМ АТФ, 2,5 мМ Ca^{2+} или 2,5 мМ Mg^{2+} + 0,02 мМ Ca^{2+} , 0,05 М трис-НСI буферного

раствора (рН 7,2—9,0), глицин-NaOH (рН 9,2—9,8) и 0,3 мг/мл белка. Нуклеиновые кислоты экстрагировали из гомогенизированной ткани стандартным гидролизом по методу Шмидта—Таннхаузера и определяли по А. Спирину (1958).

Результаты и обсуждение

Анализ данных показывает (рис. 1а), что наибольший прирост содержания белка в икроножной мышце в онтогенезе (1—30 дней) наблюдается во фракциях миофибриллярных белков — от $37,1 \pm 2,1$ до $72,1 \pm 8,5$ мг/г (94%) во фракциях М и от $45,3 \pm 4,5$ до $107,2 \pm 11,8$ мг/г (132%) во фракциях АМ. Количество белков саркоплазмы за этот период увеличивается от $40,5 \pm 3,4$ до $56,1 \pm 4,4$ мг/г, т. е. на 38%. В фазной грудной мышечной ткани прирост содержания саркоплазматических и актомиозиновых белков к 30-му дню постэмбрионального развития составляет 90 и 480% (Вайга, 1977). Столь существенная разница в скорости аккумуляции основных фракций мышечных белков между грудной и икроножной мышцами цыплят обусловлена, в основном, относительно высоким содержанием этих белков в последней непосредственно после вылупления. Особенности динамики содержания миофибриллярных белков икроножной мышцы можно объяснить онтогенетическим своеобразием развития ее сократительной функции. К моменту вылупления икроножная мышца достигает весьма высокой степени функциональной дифференциации, а в ходе дальнейшего развития претерпевает сравнительно небольшие изменения. В грудной мышце преобладают фазные волокна, аккумуляция миофибриллярных белков происходит в основном в постэмбриональный период. При изучении генезиса основных физиологических и гистологических показателей скелетных мышц (скорость сокращения, качественный и количественный состав волокон ткани) установлены значительные различия в степени их зрелости (Melichna и др., 1974; Яковлев, Макарова, 1980). Результаты нашего исследования свидетельствуют, что дифференциация волоконного состава в пользу фазного типа происходит также после вылупления.

Спад интенсивности процессов биосинтеза миофибриллярных белков в раннем постэмбриональном периоде отражается на динамике содержания нуклеиновых кислот в изучаемой ткани (рис. 1, б). Так, содержание суммарной нуклеиновой кислоты за 30-дневный период постепенно снижается на 33%, что обусловлено уменьшением содержания как РНК, так и ДНК в икроножной мышце. Установленная нами динамика соответствует данным других авторов (Никитин, 1972; Melichna и др., 1974), и по всей вероятности вызвана увеличением количества тканево-

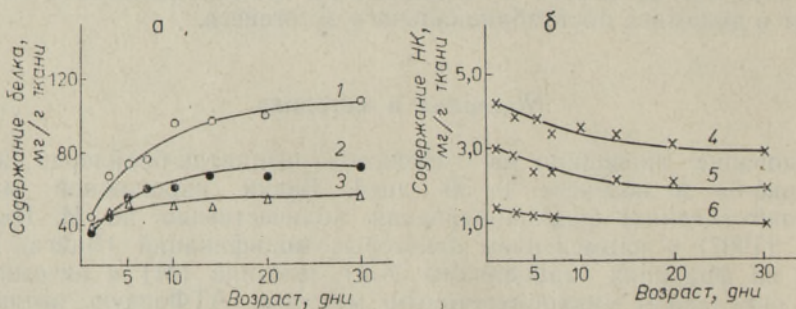


Рис. 1. Динамика содержания белка (а) и нуклеиновых кислот (б) в икроножной мышце цыплят в ранний постэмбриональный период. 1 — актомиозин, 2 — миозин, 3 — белки саркоплазмы, 4 — суммарное содержание НК, 5 — содержание РНК, 6 — содержание ДНК.

специфического белка. Непосредственно после вылупления цыплят в грудной мышце наблюдается повышение содержания нуклеиновых кислот, которое продолжается пять дней (70%), затем отмечается медленное уменьшение (к 30-му дню достигает 19%) (Вайга, Вайга, 1982).

При изучении зависимости АТФазной активности фракций М и АМ от рН обнаружена их относительно низкая энзиматическая активность в физиологических условиях (рН=7,5: ионная сила 0,15) (рис. 2, а). По мере роста цыплят миозиновая АТФазная активность обеих фракций значительно возрастает. Эта т.н. щелочная активация миозиновой АТФазы является критерием наличия миофибриллярных белков, свойственных фазным волокнам (Лебедева и др., 1978; Unsworth и др., 1982). В отличие от указанных авторов, наблюдавших рост степени щелочной активации миозина в онтогенезе скелетных мышц млекопитающих, миозиновая АТФазная активность фракции М и АМ икроножной мышцы при рН 9,5, оптимальной для миозина,

увеличивается независимо от возраста цыплят в 2,5—3,0 раза. Актомиозиновая АТФазная активность максимальна при физиологических условиях среды и свидетельствует о свойственной актомиозину рН-зависимости (рис. 2б). У 30-дневных цыплят энзиматическая активность во фракции АМ значительно увеличивается. Из этого можно предполагать, что рост содержания белков актомиозинового комплекса происходит за счет изоформ быстрого миозина.

Динамичность содержания выделенных фракций и АТФазные свойства их указывают на то, что белки миофибрилл накапливаются в фазных волокнах в постэмбриональном периоде развития икроножной мышцы. Известно, что миофибриллы тонических волокон скелетных мышц лягушки нерастворимы в Веберовом растворе (Васильева и др., 1976). По-видимому, белки миофибрилл тонических волокон смешанной икроножной мышцы цыплят переходят в солевые растворы с высокой концентрацией. Это вероятно, тем более, что уровень их содержания при вылуплении цыплят весьма высок, достигая почти 50% соответствующего показателя зрелой ткани. Хотя на основании полученных результатов пока еще трудно представить механизм распределения отдельных типов волокон в икроножной мышечной ткани, с определенной уверенностью можно сказать, что в ней, по сравнению с грудной мышцей, к началу постэмбрионального периода объем гетеросинтеза в значительной мере уменьшается.

Результаты нашего исследования свидетельствуют о гетерохронности в процессе развития отдельных разновидностей скелетных мышц цыплят, приводящих к большей зрелости мышц конечностей.

ЛИТЕРАТУРА

- Вайга Ю. А. Постнатальная динамика содержания и фракционного состава сократительных белков грудной мышцы цыплят. — Изв. АН-ЭССР. Биол., 1977, 26, № 3, 243—246.
Вайга Ю. А., Вайга С. А. Особенности обмена белков и нуклеиновых кислот в грудной мышце цыплят с различной направленностью продуктивности. — Тез. докл. Всесоюз. симп. по биохимии с.-х. животных. Витебск, 1982, 36—37.

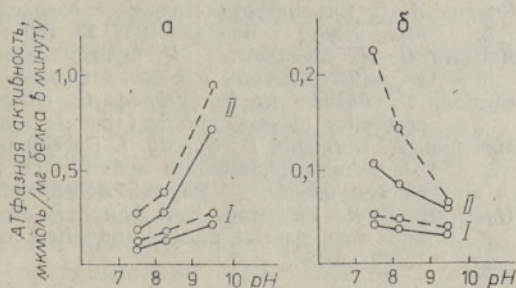


Рис. 2. Зависимость миозиновой АТФазной (а) и актомиозиновой АТФазной (б) активностей миозина (сплошная) и актомиозина (пунктир) от рН инкубационной среды у 1-дневных (I) и 30-дневных (II) цыплят.

- Васильева В. В., Лапина Л. Ф., Ушаков В. Б. Экстрагируемость и фракционный состав сократительных белков из фазных и тонических мышечных волокон лягушки. — В кн.: Биохимика и биохимия мышечного сокращения. М., 1976, 40—43.
- Иванов И. И., Кеериг Ю. Ю., Брагин В. И., Зайцев А. Е., Небышинец В. К., Хайкина Л. И., Шиндин В. А. Изменения фракционного состава белков различных типов мускулатуры в онтогенезе кролика. — Ж. эвол. биохим. и физиол., 1967, 3, 193—199.
- Итина Н. А. Изменения скорости сокращения скелетных мышц и свойств миозина в онтогенезе позвоночных. — Ж. эвол. биохим. и физиол., 1981, 17, 205—212.
- Лебедева Н. А., Соловьев А. Л., Ефимова Л. Ф. Особенности ферментных свойств актомиозина в эмбриогенезе. — Укр. биохим. журн., 1978, 50, 419—423.
- Никитин В. Н. Макромолекулярные аспекты старения. — В кн.: Ведущие факторы онтогенеза. Киев, 1972, 6—42.
- Никулина Г. Н. Обзор методов колориметрического определения фосфора по образованию молибденовой сини. — М.—Л., 1965.
- Разумовская Н. И., Дамбинова С. А. Биохимические аспекты участия нервной системы в развитии и специализации скелетных мышц. — В кн.: Проблемы миогенеза. Л., 1981, 160—174.
- Спирин А. С. Спектрофотометрическое определение суммарного количества нуклеиновых кислот. — Биохим., 1958, 23, 159—175.
- Яковлев Н. Н., Макарова Т. Н. Функциональная и метаболическая дифференциация волокон скелетных мышц. — Физиол. ж. СССР, 1980, 66, № 8, 1129—1144.
- Gordon, T., Purves, R. D., Vrbova, G. Differentiation of electrical and contractile properties of slow and fast muscle fibres. — J. Physiol., 1977, 269, 535—547.
- Melichna, J., Gutmann, E., Syrový, I. Developmental changes in contraction properties, adenosine triphosphatase activity and muscle fibre pattern of fast and slow chicken muscle. — Physiol. Bohemoslovaca, 1974, 23, 511—520.
- Unsworth, B. R., Vitzmann, F. A., Fitts, R. H. A comparison of rat myosin from fast and slow skeletal muscle and effect of disuse. — J. Biol. Chem., 1982, 257, 15129—15136.

Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
28/VIII 1985

Jüri VAIGA, Siiri VAIGA

VALKUDE JA NUKLEIINHAPETE FRAKTSIOONILISE KOOSSEISU MUUTUSED TIBU SEGATÜÜPI SKELETILIHASE ONTOGENEESIS

Valgu ja nukleinhapete sisalduse dünaamika alusel kirjeldatakse tibu skeletilihase segatüüpi varast postembrüonaalset ontogeneesi. Täheledatai koospetsiifiliste valkude ja nukleinhapete varasemat akumulatsiooni, võrreldes rinnalihase analoogiliste näitajatega. See on aluseks jalalihase varasemale bioloogilisele küpsusele.

Jüri VAIGA, Siiri VAIGA

ONTOGENETIC CHANGES IN THE FRACTIONAL COMPOSITION OF PROTEIN AND NUCLEIC ACID IN THE LEG MUSCLE OF CHICKEN

The histochemical homogeneity of chicken embryonic muscle tissue has already been shown by several authors. The different postembryonic changes in the physiological properties of the fast and slow avian muscles have been stated to base on the progressive increase in the percentage of phasic or tonic fibres, respectively. In the present paper the postembryonic period of development of the mixed leg muscle (m. gastrocnemius) has been studied on the basis of the dynamics of the protein and nucleic acid content. The results show marked differences between both the breast and the leg muscles immediately after hatching. The low speed of the accumulation of specific myofibrillar proteins in the leg muscle in comparison with the breast muscle is due to the high level of those proteins after hatching. The low rate of tissue specific protein biosynthesis is corroborated by a 33% decrease of the nucleic acid content, evidently due to the reduction of the ribosome number. The postembryonic dynamics of the myofibrillar protein fraction ATPase activity provides an evidence of the formation of the fast isomyosins in the phasic fibres. Results show that the ontogenetic shift in the accumulation of specific proteins and nucleic acids in the leg muscle takes place earlier than in the breast muscle. Evidently this may cause a greater biological maturity of the leg muscle in newly hatched chicken.