

ГЕОРГИ УЗУНОВ, ДОЦЕНТ, КБН и ИОРДАН ПЕТРОВ, ПРОФЕСОР, ДЛН
ВИСШ ИНСТИТУТ ПО ЗООТЕХНИКА И ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА - СТАРА ЗАГОРА

Процесите в мускулната тъкан *in vivo* и настъпващи *post mortem* са пряко свързани със специфичните протеинни структури, които осъществяват комплексни биохимични, физикохимични и морфологични промени, по степен зависими от редица фактори: вид и възраст на животните, вид на мускулите и различия в типа на обмен и химическия им състав - съдържание на гликоген, АТФ, миоглобин, саркоплазма, саркозоми и пр.

Определяне активността на специфичните ензимни системи е основен тест за характеризирание особеностите на даден уровень на обмен при отделните тъкани. При мускулната тъкан степента на активност на ензимите и координираното им каталитично действие са фактори регулиращи специфичните функционално-биохимични и морфологични характеристики на тъканта - динамичните процеси в мускула.

От съществен интерес в това отношение са проучванията свързани с характера на енергообмен при различните типове мускули: влакна - червени (бавни, тънки, тонични) и бели (бързи, дебели, тетанични, фазни) (4). Бе установено, че в бързите (светли) мускули преобладават гликолитичните процеси, а в тъмните (бавни) интензивно се извършват окислителни процеси, вследствие наличието на повече митохондрии (3, 4, 19). Независимо от успешните работи в тази насока, много от проучванията за точна биохимична характеристика на особеностите на бавните и бързи мускули, е лимитирана и от положението, че не съществуват еднообразни по състав на мускулните влакна мускули.

Според някои автори (3, 4, 14, 20) тоничната функция на мускулната тъкан е свързана с повишеното съдържание на тропомиозин, а според Заалишвили (2), тя е в пряка връзка с различните съотношения на Н (тежки) и Л (леки) меромиозинови субединици в

миозиновите молекули, респективно в молекулната организация на самия миозин. В тази насока с най-голяма стойност са изследванията на Sarcar (18) според който, миозина на светлите мускули съдържа три типа I меромиозин с 20,000 далтона, докато миозина на тъмните съдържа два типа I меромиозинови субединици. Това състояние на нещата поставя въпроса за друг подход на диференциране на мускулните типове, което ни насочи към характеризирание на миозиновите молекули изолирани от светли и тъмни мускули по степен на участие на тях на тиолови групи и АТФ-азна активност.

В настоящата работа АТФ-азната активност на миозиновите препарати от различни типове мускули от различни животни и птици бе проучена при успоредно проследяване на креатинфосфокиназната и алдолазна активност в мускулни хомогенати на съответните мускули.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Изследванията бяха проведени върху *m. Longissimus dorsi*, *Semitendinosus a. Psoas major* на едри и дребни преживни, свине и зайци и при *m. Pectoralis major*, *Pectoralis minor*, *Semitendinosus* на селскостопански птици.

Високопречистен миозин бе изолиран по метода на Perry (17). АТФ-азната активност на миозиновите препарати бе измерена по нарастването на неорганичния фосфор (Фн) в инкубационната среда по метода на Fiske a. Subbarow (11).

Стойностите на SH-групите на миозина се определяха по метода на Elmann (10), като АТФ-азната активност на миозина и моларитетата на тиоловите групи се стандартизираха спрямо концентрацията на миозина, определяна по метода на Lowry (13).

Креатинфосфокиназната активност бе определяна в мускулни хомогенати по метода на Müller (13), в модификация на Гринио и Консигторум.

Алдолазната активност бе определяна по метода на Bergmeyer (7).

Резултатите получени от отделните серии експерименти, са обработени по метода на Стюдънт-Фишер.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Резултатите от проучванията на АТФ-азната активност на миозина получен от различните типове мускули на отделните видове селскостопански животни и птици са представени на таблици 1 и 2.

От таблица 1 се вижда, че *m. Longissimus dorsi* който са застъпен в по-голям % светлите влакна (Фиг. 1), с преимуществено анаеробна обмяна, се характеризира с по-високи стойности на миозиновата АТФ-аза в сравнение с тази при *m. Psoas major* у всички видове животни. Най-фрапиращи са разликите на миозиновата АТФ-азна активност между двата мускула при свине и малачета.

При телетата от породата "Черно-шарена" (Холщайн-фризийска-Амер.) и "Българска кафява", такива големи различия на миозиновата АТФ-аза при отделните мускули не се наблюдават. (И тук с най-висока миозинова АТФ-азна активност се характеризира *m. Longissimus dorsi*). АТФ-азата на миозиновите препарати получени от мускули на двете породи телета не показва достоверни междупородни различия.

Най-малка вариабилност миозиновата АТФ-аза при отделните изследвани мускули се установява при овцете от породата "Ил дьо Франс". АТФ-азната активност на миозина от *m. Longissimus dorsi* при свине е с най-високи стойности в сравнение с АТФ-азата на миозиновите препарати получени от другите видове селскостопански животни - 8,76 мМ Фн/мг миозин/5 мин. Това напълно се покрива с хистохимичния анализ (Фиг. 2) от който се вижда съотношението на светли и тъмни влакна.

АТФ-азата на миозиновите препарати от *m. Semitendinosus* на зайци показва най-високи стойности в сравнение с останалите изследвани мускули при този вид животни.

За да се получат по пълни сравнителни изследвания, бяха проведени серия от експерименти за установяване нивата на АТФ-азната активност на миозинови препарати получени от различни мускули при селскостопански птици.

От резултатите представени на табл. 2, се вижда, че при 18-месечни гъски миозиновата АТФ-аза на *m. Pectoralis major* е с най-високи стойности. При мъжките екземпляри активността достига до отцепване 12,30 мМ Фн/мг миозин/5 мин от субстрата, стойност превишава многократно АТФ-азната активност на миозиновите препарати от мускулите на всички изследвани животни и птици. При пилетата и пуйките миозиновата АТФ-аза при аналогичния мускул е 3-4кратно по-ниска и се движи до 3,17 мМ Фн/мг миозин/5 мин (пилета) и до 3,75 мМ Фн/мг миозин/5 мин (пуйки).

(Независимо, че се спазваше максимална стандартизация по отношение възраст, условия на отглеждане и хранене на животните, порода и място на вземане на пробите, при отделните опитни животни се получаваха различия в данните, които както се вижда от стандартното отклонение, в някои случаи варира в широки граници).

Миозина се отнася към SH-ензимите и количествените стойности на SH-групите-едни от функционалните групи на миозиновата молекула, съществени за каталитичните и механизми (съкратителни) процеси осъществявани от миозиновите структури, биха могли да бъдат характеризиращ тест за метаболитната и видова характеристика на мускулите.

На табл. 3 са представени количествените стойности на тиоловите групи на миозинови препарати от различни мускулни типове на селскостопански животни. Както се вижда от таблицата, по моларитета на общите, свободни и маскирани SH-групи, се улавят не

само видови, но и междупородни различия (при едри преживни). Много по-висок моларитет притежават миозиновите препарати от мускулите на телетата в сравнение с препаратите получени от мускула на тълкан на малачета.

От друга страна, между стойностите на тиоловите групи на миозиновите препарати получени от мускули на телетата порода "Черно-шарена" и от породата "Българска кафява" се наблюдават много добре подчертани междупородни разлики. С висок моларитет на тиоловите групи (при отделните мускули), се характеризират миозиновите препарати получени от телетата, порода "Черно-шарена".

В сравнение с едрите преживни, при дребните преживни (овце) миозиновите препарати получени от различните типове мускули, показват по-ниски стойности. Същевременно моларитетът на тиоловите групи на миозиновите препарати получени от различните мускули на овце, не се наблюдават големи разлики.

При сравнение на данните от преживни животни с тези от непрехивни (свине и зайци) по отношение моларитета на SH-групите на миозиновите препарати, се установиха специфични разлики. Както се вижда, миозина получен от мускулна тълкан на непрехивните животни, има много по-ниски стойности на тиоловите групи в сравнение с миозина от мускули на преживни.

От групата на бозайниците, най-нисък моларитет на тиоловите групи показват миозиновите препарати получени от мускулна тълкан на зайци. От изследваните селскостопански птици, с най-високи стойности на SH-групите се характеризира миозина от мускулна тълкан на гъски, а с най-ниски стойности, миозина от мускули на пуйки (табл. 4).

При изследване моларитета на тиоловите групи на миозина в зависимост от функционалната и метаболитна характеристика на мускулите (от които е получен), се наблюдава също определена специфика. Миозина от светлите мускули притежава по-висок моларитет на тиоловите групи. Например, миозиновите препарати получени от *m. Semitendinosus* на телетата от породата "Черно-шарена", имат най-високи стойности на SH-групите, а при малачета миозиновите препарати от *m. Longissimus dorsi*.

С оглед по-пълно характеризиране на някои метаболитни особености и степени на енергообезпеченост на различните типове мускули при опитните животни и птици, бяха проведени изследвания и на креатинфосфокиназната и алдолазна активност (табл. 5, 6, 7, 8). Резултатите от табл. 5, показват, че при светлите мускули на изследваните селскостопански животни, креатинфосфокиназната активност има по-високи стойности. Това положение най-добре е изразено при малачетата, и до известна степен при телетата от породата "Българска кафява". Интересно е, че креатинфосфокиназната активност в мускулна тълкан на телетата от породата "Черно-шарена" е многократно по-ниска от тази уста-

новена при другите едри преживни.

При дребните преживни креатинфосфокиназната активност на отделните мускули достига най-ниски стойности, като съществуват минимални разлики между отделните типове мускули.

Високо ниво креатинфосфокиназата показва и в мускулната тъкан на свинете, като специфични разлики за отделните типове мускули има, но те са по-слабо изразени. При зайците също се маркират високи стойности на креатинфосфокиназната катализа, но при този вид животни ензимната активност показва изразена специфика за отделните типове мускули.

С най-висока креатинфосфокиназна активност от всички изследвани мускули от изследваните животни и птици се характеризира *m. Femoris* и *m. Pector. major* при 4-месечните пуйки, като максималните стойности са от порядъка на 138,42 Е/мг белтък при *m. Femoris*. Най-висока креатинфосфокиназна активност бе доказана при 6-месечните пилета, която е от порядъка на 10,8 Е/мг белтък.

Данните от изследванията на алдолазната активност при различните типове мускули при селскостопанските животни и птици са представени на табл. 7 и 8. При този типично саркоплазмен ензим получените стойности се подчиняват на други закономерности.

Най-висока алдолазна активност показват мускулните хомогенати от малачета. При телетата от двете породи, стойностите на алдолазната активност са няколкократно по-ниски, като тук не могат да се отбележат междупородни различия. При отделните типове мускули на свинете, алдолазната активност е с твърде ниски стойности и тук не може да се отбележи специфика по отношение метаболитната характеристика на мускулите. Ниска алдолазна активност се отбелязва при *m. Longissimus dorsi* на овците.

Тук отново трябва да припомним, че разделянето на мускулите на два ясно различими типа е само относително. Така например Beecher et al (22) определят като типични червени мускули само онези, които имат повече от 40% червени мускулни влакна, като типични бели, които имат по-малко 30% червени мускулни влакна. Още повече, един и същ мускул от различни бозайници може да бъде по-тъмен или по-светъл. Тези данни обясняват липсата на пълна аналогия между данните за АТФ-азната активност от отделните животни, макар общата тенденция да се запазва.

От изследванията се вижда, че функционалните различия водят до различия в структурата и ензимните процеси. Например, различния моларитет на тиоловите групи в мускулните структури, модулира каталитичния процес на миозиновата АТФ-аза. Като следствие от променената АТФ-азна активност, се променят креатинфосфокиназната и алдолазна активност. Тъй-като изследвания в сравнителен аспект не са правени, се налага да се изложат възможните причини, които определят тези различия. Locker a. Nagyard (21)

a. Libera et al (23) предполагат наличието на две различни миозинови молекули (две миозини) съответно в двата типа мускулни влакна (Levy a. Moy, 24)

считат, че съществуват структурни различия в миозиновите молекули от бели и червени мускули. Varany et al (5) установяват по-ниско цистеиново съдържание в миозина от червени мускули и предполагат, че някои от Н-групите които присъствуват в активния център на миозина на белите мускули, липсват в молекулата на миозина от червени мускули.

В заключение, характеризирането на активностите на миозиновата АТФ-аза, креатинфосфокиназата и алдолазата при различните мускули, би позволило да се отчете влиянието им като фактори определящи спецификата и на процесите протичащи по-нататък в мускула като суровина. Например, зреенето на месото, което е един автокаталитичен процес, се съпровожда от редица биохимични изменения: разпадане на креатинфосфата, увеличаване съдържанието на Са-иони в екстракта, разпадане на АТФ, асоцииране на активния миозина в актомиозинов комплекс и свързаната с това степен на хидратация и разпадане мост на белтъчните компоненти и други процеси значими за технологичните процеси.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гринио Л.П., А.В.Консистерум, *Вопр.медицинской химии*, 10, вып. 1, 1964
2. Заалишвили М.М., *Физикохимические основы мышечной деятельности*, Тбилиси, 1971
3. Иванов И.И., Коровкин Б.Ф., Пинаев Г.П., *Биохимия мышц*, Москва, Медицина, 1977
4. Магазаник В., в кн. *Развитие сократительной функции мышц двигательного аппарата.*, Л. 1974
5. Barany M., Gaetjens E., Barany K., and Karp E., *Archives of Biochem. and Biophys.*, 106, 280, 1964
6. Beecher G.R., Cassens R.G., Hoextra W.J., Briskey E.J., *J. Food Sci* 30, 969, 1965
7. Bergmeyer H.U., *Methoden der enzymatischen analyse*, Verlag Chemie GMBH, Weinheim, 1962
8. Ebashi S., *Regulatory Mechanism of Muscle Contraction with special Reference to the Ca-troponin-tropomiosin system.*, *Essays Biochem.*, 10, 1-36, 1974
9. Ebashi S., *Excitation-Contraction Coupling*, *Annu. Rev. Physiol.*, 38, 293, 1976
10. Elmann G.L., *Arch. Biochem. and Biophys.*, 70, 82, 1959
11. Fiske G.H. and Subbarow Y., *J. Biol. Chem.*, 66, 375, 60, 1925
12. Locker R.H. and Hagyard C.J., *Arch. Biochem. and Biophys.*, 123, 370, 1968
13. Lowry, O.H. Rosebrough N.J., Farr A.L. and Randall R.J., *J. Biol. Chem.*, 193, 265, 1951
14. Mannherz H.G., Goody R.S., *Proteins of contractile systems.*, *Annu. Rev. Biochem.*, 45, 427, 1976
15. Mommerts W.F.H.M., *Energetics of muscular contraction*, *Physiol. Rev.*, 49, 428, 1976
16. Müller G.H. et al., *Das Deutsche Gesundheitswesen*, 17, H26, 1962
17. Perry, S.V.; *Methods in Enzymology*, 2, Pergamon Press, 1963
18. Sarcar S., Cook P.H., *In vitro synthesis of light and heavy poly peptide chains of myosin*, *Biochem. Res. Commun.*, 41, 918, 1970
19. Sreter F.A., Seidel J.C., Gergely J., *J. Biol. Chem.*, 241/24/5772, 1966

20. Taylor E.W., Chemistry of muscle contraction, Annu.Rev.Biochem. 41,577,1972
21. Weber A., Murray J.M. Molecular control mechanism in Muscle contraction, Physiol.Rev.,53,612,1973
22. Beecher G.H., Cassens R.G., Hoekstra W.J., Briskey E.J., J. of Food Sci.,30,969,1965
23. Libera ,L.D., S.Sartore,S.Pierbon-Bormioli, S.Schaffino,BBRC,96, 4,1662,1980
24. Levy H.M., W.Moy, BBA,658,2,318,1981

Таблица 1

АТФ-азна активност на миозин, получен от различни по функционална характеристика мускули от селскостопански животни

Брой	Вид животни	АТФ-азна активност - микромола Фн/мг миозин/5мин		
		м у с к у л и		
		m.Longissimus dorsi	m.Semitendinosus	m.Iliopsoas
4	Малачета(2год)	6,02±1,73	4,40±2,80	1,53 ± 0,69
4	Телета"Бълг.кафяво" (18 мес)	5,56 ±0,95	4,88 ±1,61	3,53 ± 0,80
4	Телета"Черно-шарено" (18 мес)	5,78 ±1,21	4,22 ±1,59	3,78 ± 0,97
4	Свине(12 мес)	8,76 ± 3,78	2,66 ±0,73	2,07 ± 0,30
4	Овце"Ил дьо франс" (12 мес)	3,43 ± 1,30	3,66 ±0,63	3,08 ± 0,36
4	Зайци	5,04	6,38	4,23

Таблица 2
АТФ-азна активност на миозин, получен от различни по функционална характеристика мускули от селскостопански птици

Брой	Вид птици	АТФ-азна активност - микромола ФН/мг миозин/5 мин			
		м у с к у л и			
		<i>m.Pectoralis major</i>	<i>m.Pect.minor</i>	<i>m.Femoris</i>	<i>m.Semitendinosus</i>
4	Гъски (10мес. ♀)	11,08 ±3,55	-	-	-
4	Гъски (10мес. ♂)	12,30 ±2,77	-	-	-
4	Пуйки (8мес)	2,43 ±0,45	2,26 ±1,06	3,04 ±0,13	4,62 ±1,51
4	Пуйки (4мес)	2,26 ±0,88	3,75 ±1,36	3,42 ±0,75	5,86 ±0,97
4	Пилета (3мес)	3,13 ±1,09	-	-	2,08 ±0,68

Таблица 3
Стойности на sH-групите на миозинови препарати получени от различни по функционална характеристика мускули на селскостопански животни

Брой	Вид животни	Молове sH-групи / 10 ⁵ грама миозин								
		м у с к у л и								
		<i>m.Longissimus dorsi</i>			<i>m.Semitendinosus</i>			<i>m.Psoas</i>		
		sH-групи			sH-групи			sH-групи		
		общ	свобод-ни	маски-рани	общ	свобод-ни	маски-рани	общ	своб.маск	
4	Малачета	0,086 ±0,006	0,058 0,003	0,028 0,007	0,086 0,002	0,040 0,004	0,046 0,003	0,084 0,005	0,062 0,006	0,022 0,008
4	Телета "Бъл-гарско кафяво"	0,099 ±0,005	0,044 0,009	0,055 0,004	0,097 0,007	0,039 0,008	0,058 0,005	0,100 0,008	0,039 0,006	0,061 0,005
4	Телета "Амер. черно-шарено"	0,169 ±0,023	0,094 0,029	0,075 0,029	0,211 0,058	0,095 0,015	0,116 0,072	0,147 0,010	0,105 0,012	0,042 0,008
4	Свине (12 мес)	0,077 ±0,003	0,037 0,003	0,040 0,005	0,074 0,005	0,035 0,003	0,039 0,005	0,079 0,007	0,036 0,002	0,043 0,006
4	Овце "Ил дьо Франс"	0,095 ±0,003	0,038 0,002	0,057 0,003	0,079 0,006	0,036 0,003	0,043 0,005	0,099 0,005	0,037 0,003	0,062 0,003
3	Зайци	0,037 ±0,004	0,033 0,005	0,004 0,001	0,067 -	0,005 -	0,062 0,011	0,045 0,002	0,005 -	0,040 0,003

Таблица 4

Стойности на SH-групите на миозинови препарати получени от различни по функционална характеристика мускули от селскостопански животни

Бр. Вид птици	Молове SH-групи/10 ⁵ грама миозин											
	М У С К У Л И											
	m. Pectoralis major			m. Pect. minor			m. Femoris			m. Semitendinosus		
	SH-групи			SH-групи			SH-групи			SH-групи		
	общ	своб.	маск.	общ	своб.	маск.	общ	своб.	маск.	общ	своб.	маск.
4 Пуйки (4мес)	0,074 ± 0,002	0,033 0,009	0,041 0,010	0,081 0,006	0,028 0,009	0,053 0,002	0,079 0,002	0,022 0,007	0,057 0,006	-	-	-
4 Пуйки (8мес)	0,037 ± 0,006	0,030 0,005	0,007 0,001	0,048 0,003	0,035 0,002	0,013 0,005	0,043 0,001	0,007 -	0,036 0,002	0,044 0,001	0,011 0,001	0,068 -
4 Гъски (10мес) ♀	0,071 ± 0,002	0,028 0,002	0,043 0,003	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4 Гъски (10мес) ♂	0,093 ± 0,003	0,030 0,001	0,063 0,003	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4 Пилета (6мес)	0,081 ± 0,001	0,064 0,002	0,017 0,003	-	-	-	-	-	-	0,096 0,003	0,065 0,002	0,031 0,005

Таблица 5

Креатинфосфокиназна активност при различни по функционална характеристика мускули на селскостопански животни

Брой	Вид животни	креатинфосфокиназна активност в Е/мг протеин		
		М У С К У Л И		
		m. Longissimus dorsi	m. Semitendinosus	m. Psoas
4	Малачета	84,83 ± 3,10	108,01 ± 14,87	89,36 ± 6,51
4	Телета (18 мес.) "Бълг. кафяво"	39,31 ± 15,84	60,98 ± 24,8	28,83 ± 9,10
4	Телета (18 мес.) "Черно-шарено"	6,81 ± 0,89	10,58 ± 2,58	9,36 ± 2,41
4	Свине (12мес)	56,30 ± 3,10	67,83 ± 0,56	56,81 ± 1,44
4	Овце "Ил дьо Франс"	5,05 ± 0,88	5,86 ± 2,10	4,10 ± 1,91
3	Зайци	51,77 ± 8,17	46,61 ± 7,11	37,03 ± -

Таблица 6

Креатинфосфокиназна активност при различни по функционална характеристика мускули на селскостопански птици

Брой	Вид птици	Креатинфосфокиназна активност в Е/мг протеин			
		м у с к у л и			
		m.Pect.major	m.Pect.minor	m.Femoris	m.Semitendinosus
4	Пуйки (4мес)	52,49 +3,48	109,91 +33,84	138,42 +17,18	— —
4	Пуйки (8мес)	34,97 +2,24	35,47 +4,55	42,49 + 9,01	40,76 +2,47
4	Гъски (10 мес ♀)	22,82 +1,47	—	—	—
4	Гъски (10 мес ♂)	24,56 +0,19	—	—	—
4	Пилета (6 мес)	10,79 +1,35	—	—	14,82 +2,54

Таблица 7

Алдолазна активност при различни по функционална характеристика мускули от селскостопански животни

Брой	Вид животни	Алдолазна активност в Е/0,1 г протеин		
		м у с к у л и		
		m.Longissimus dorsi	m.Psoas	m.Semitendinosus
4	Малачета	113,72 ±3,50	114,88 ±9,60	138,84 ±13,72
4	Телета "Бълг. кайфяво" (18 мес)	20,60 ±3,15	22,99 ±9,00	23,10 ± 7,36
4	Телета "Черно шарено" (18 мес)	26,67 ±7,88	34,70 ±10,57	24,27 ± 5,85
4	Свине (12мес)	19,99 ±8,02	19,01 ± 0,37	20,76 ± 4,60
4	Овце "Ил дьо Франс"	7,44 ±1,99	18,97 ±3,94	17,06 ± 3,96

Алдолазна активност при различни по функционална характеристика
мускули на селскостопански птици

Брой	Вид на птиците	Алдолазна активност в Е/0,1 г протеин	
		м у с к у л и	
		<i>m.Pectoralis major</i>	<i>m.Semitendinosus</i>
4	Гъски (10мес ♀)	12,04 ±1,46	
4	Гъски (10мес ♂)	13,27 ±0,54	
4	Пилета (6 мес)	17,35 ±2,17	11,57 ±3,67