

ЗАНЯТТЯ № 1

Т е м а: БІОХІМІЧНИЙ АНАЛІЗ М'ЯЗОВОЇ ТКАНИНИ

Мета заняття: вивчити хімічний склад скелетних м'язів і в'яснити механізм м'язового скорочення.

Теоретичний вступ:

М'яз володіє специфічною функцією – скороченням і розслабленням. Характерним для м'язової клітини є те, що вона містить специфічні скорочувальні білки – до 45%. Білки саркоплазми складають біля 30% і білки стромі до 15% від загальної кількості білка.

З небілкових речовин до складу м'язів входять азотисті та безазотисті екстрактивні речовини, ліпіди і мінеральні речовини.

З катіонів у м'язах є калій, натрій, кальцій, магній, фтор, у невеликих кількостях мідь, марганець, цинк, кобальт, миш'як та ін. З аніонів – найбільше фосфорної і соляної кислоти. М'язи характеризуються високим вмістом калію, фосфору, сірки.

Різні іони, що є в м'язах, відіграють важливу роль у підтриманні сталості реакцій середовища, осмотичних процесів. Наприклад іони натрію підвищують збудливість м'яза, калію, кальцію, магнію – для процесів скорочення і розслаблення.

На долю м'язової тканини в організмі людини припадає 40-45% ваги всього тіла. Хімічний склад м'язів відрізняється своєю складністю. М'язи містять 72-80% води і 20-28% сухого залишку. Головна складова частина сухого залишку - білки; вони складають від 16,5 до 21% від ваги м'яза.

У м'язі відрізняють:

а) структурні білки (скорочувальні білки фібрил і білки м'язової стромі - міостроміни);

б) білки саркоплазми, які представляють собою різні ферменти, що каталізують реакції обміну речовин у м'язі.

До структурних білків перш за все відноситься міозин - скорочувальний білок міофібрил, який володіє ферментативними властивостями аденозинтрифосфатази і каталізує реакцію розщеплення АТФ на АДФ і неорганічний фосфат. Інші структурні білки - актин і міостромін - складають основу м'язової стромы і сарколеми (зовнішньої оболонки м'язового волокна). Крім того, актин утворює з міозином скорочувальний комплекс - актоміозин, який скорочується під впливом розщеплення АТФ.

Особливе місце серед м'язових білків займає хромопротеїд міоглобін, близький за своєю структурою до гемоглобіну крові. Причому цей білок здатний приєднувати кисень набагато активніше, ніж гемоглобін. Нагромаджуючи кисень, який приносить кров, він служить у м'язі ніби запасним його резервуаром.

Речовини небілкової природи, які переходять у розчин (екстракт) після осадження м'язових білків, називаються екстрактивними. До них відносяться багаті на енергію азотовмісні речовини: АТФ (основне джерело енергії м'язових скорочень), креатинфосфат (головний резерв макроергічних фосфорних груп, які використовуються для ресинтезу АТФ), а також креатин (використовується для синтезу креатинфосфату), його ангідрид - креатинін, дипептиди: карнозин і ансерин (регулятори процесів гліколітичного і дихального ресинтезу АТФ), трипептид глютаціон (приймає участь в окислювальних процесах), кодегідрогенази (НАД і НАДФ), вільні амінокислоти і ряд інших речовин.

До безазотистих екстрактивних речовин відноситься в першу чергу глікоген - резервний вуглевод м'язів (0,3%). Із м'язового екстракту він може бути легко осаджений за допомогою спирту і виділений у чистому вигляді.

Інші безазотисті екстрактивні речовини складають від 0,5 до 1,1% від ваги м'яза. Це глюкоза, гексозофосфорні ефіри, піровиноградна і молочна кислоти і інші; сюди ж відносяться холестерин і фосфоліпіди, які не розчиняються у воді і можуть бути вилучені із роздріблених м'язів розчинниками жирів.

Нарешті м'язи містять порівняно велику кількість мінеральних іонів (І-16,5%). Найбільший вміст K^+ і PO_4^{3-} , трохи менше Na^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cl^- , ще менше Fe^{3+} і SO_4^{2-} .

Всі ці речовини можуть бути виділені із м'яза, виявлені за допомогою специфічних якісних реакцій і визначені кількісно.

Фракційний склад білків скелетних м'язів (в % білкового азоту до загального азоту м'язової тканини).

№ п/п	Білкові фракції	Вміст, (%)	Відношення до розчинника
1.	Білки саркоплазми: - міоген; - білки-ферменти; - міоглобін.	до 30	розчинні у воді розчинний в розчині аміаку
2.	Структурні білки м'язів: - міозин; - актин; - тропоміозин; - тропонін.	до 50	розчинні у сольових розчинах (0,03 - 0,6 М КСІ)
3.	Білки строми Міостромін	до 10	нерозчинні у воді і сольових розчинах (КСІ)

Під впливом тренування у м'язах відбуваються зміни у їх хімічному складі та морфологічній будові.

Під впливом тренування у м'язах підвищується активність тканинних ферментів. Завдяки активації аеробних процесів посилюється синтез речовин необхідних для роботи м'яза: АТФ і креатинфосфату, збільшуються запаси глікогену. Значно прискорюється утворення скорочувальних білків міозину та актину, зростає буферна ємність крові, клітинної саркоплазми, зменшується кількість вільних жирів. Серед усіх біохімічних перетворень у м'язах, пов'язаних з тренуванням, відіграє збільшення в них АТФ, креатинфосфату, ГТФ. ІТФ, що є джерелами енергії для м'язової роботи. Тренування посилює окисно-відновні процеси в м'язах, сприяє перебудові їх обміну в бік посилення аеробних процесів. Треновані м'язи можуть виконувати більш тривалу і напружену роботу при витрачанні менших ресурсів, меншому нагромадженню молочної кислоти.

Підвищення вмісту креатину і креатинфосфату в м'язах при тренуванні зумовлено інтенсивністю синтезу креатину в нирках та печінці. Ріст м'язової тканини, збільшення її маси залежить від збільшення кількості води і мінеральних речовин у них, а це в свою чергу пов'язано із загальною динамікою водно-сольового обміну.

Підвищення процесів біосинтезу білків веде до морфологічних змін у м'язовому волокні: потовщення міофібрил, збільшення нервових контактів з сарколемою, збільшення кількості мітохондрій, збільшення буферної ємності клітин, завдяки чому підвищується аеробні енергетичні можливості м'язів.

Особливості біохімічних змін у м'язах певною мірою залежать від характеру тренувань. При тренуванні на швидкі та короткочасні навантаження м'язи працюють за рахунок алактатного (креатинкіназного) чи лактатного гліколітичного енергозабезпечення. При тренуванні на тривалі навантаження м'язами використовується енергія аеробного обміну.

Контрольні запитання:

1. За рахунок посиленого синтезу яких речовин проходить робоча гіпертрофія м'язів.
2. Перелічити:
 - а) фосфоровмісні речовини м'язів;
 - б) вуглеводи;
 - в) макроергічні сполуки м'язів.
3. Роль іонів Ca^{2+} і Mg^{2+} в процесах м'язового скорочення.
4. Чи потрібна енергія при розслабленні м'язів. Якщо так, то навіщо?
5. Назвіть м'язовий білок, який володіє ферментативною здатністю.
6. Назвіть суттєві відмінності гіпотез Девіса і Хакслі. На які макроергічні сполуки особливо багатий м'яз?

Лабораторна робота

Апаратура: Водяна баня.

Обладнання: Фарфорові ступки з пестиком, колби, марля, паперові фільтри, скляні палочки, пробірки.

Реактиви: Дистильована вода, 10% розчин їдкого натру, 2% розчин оцтової кислоти, 5% розчин сірчаної кислоти, насичений розчин пікринової кислоти, реактив Уффельмана, 3% розчин молібденовокислого амонію, 1% розчин хлористого барію, 5% розчин хлористого калію, азотна кислота

Хід роботи:

1. Якісне дослідження м'язових білків.

Підготовка матеріалу для дослідження: м'яз звільнити від жиру і сполучної тканини і добре подрібнити ножицями. 6-8 г подрібненої кашки помістити у фарфорову ступку, залити 30 мл дистильованої води і старанно розтерти товкачиком. Через 10 хв. рідину профільтрувати через подвійний шар марлі в колбу.

М'язову кашку, яка залишилася після фільтрування перенести з марлевого фільтра в фарфорову ступку, залити 10-12 мл 5% розчину хлористого калію, впродовж 2-3 хв. розтирати і профільтрувати через паперовий фільтр в іншу колбу.

Одержані екстракти (водний і сольовий) використати для виконання лабораторних робіт.

2. Вивчення білкових фракцій м'язової тканини.

а) Білки м'язової плазми.

В пробірку налити 2 мл водного екстракту і провести біуретову реакцію (до досліджуваної рідини додати 2 мл 10% розчину їдкого натру і 2-3 краплі 2% розчину сірчаної кислоти).

Результати:

б) Структурні білки м'язів.

В пробірку налити 2 мл сольового екстракту і провести біуретову реакцію.

Результат:

3. Якісне визначення деяких екстрактивних і мінеральних речовин м'язів.

Одержання безбілкового екстракту: 15 мл водного екстракту підкислити 5 краплями 10% розчину оцтової кислоти і нагріти до кипіння для осадження білків. Після цього рідину профільтрувати через паперовий фільтру велику пробірку. В одержаному безбілковому фільтраті відкрити екстрактивні речовини і мінеральні солі.

а) Відкриття креатину і креатиніну.

У дві пробірки налити по 1 мл одержаного безбілкового екстракту. В перу додати 1 мл 5% розчину сірчаної кислоти і нагрівати впродовж 10 хв. у киплячій водяній бані, після чого рідину профільтрувати і обережно нейтралізувати (за лакмусом) 10% розчином їдкого натру. Потім в дві пробірки налити по 3 мл 10% їдкого натру і по 5-8 крапель насиченого розчину пікринової кислоти. В обох пробірках появляється оранжево-червоне забарвлення, причому більш інтенсивне у 1-ій пробірці.

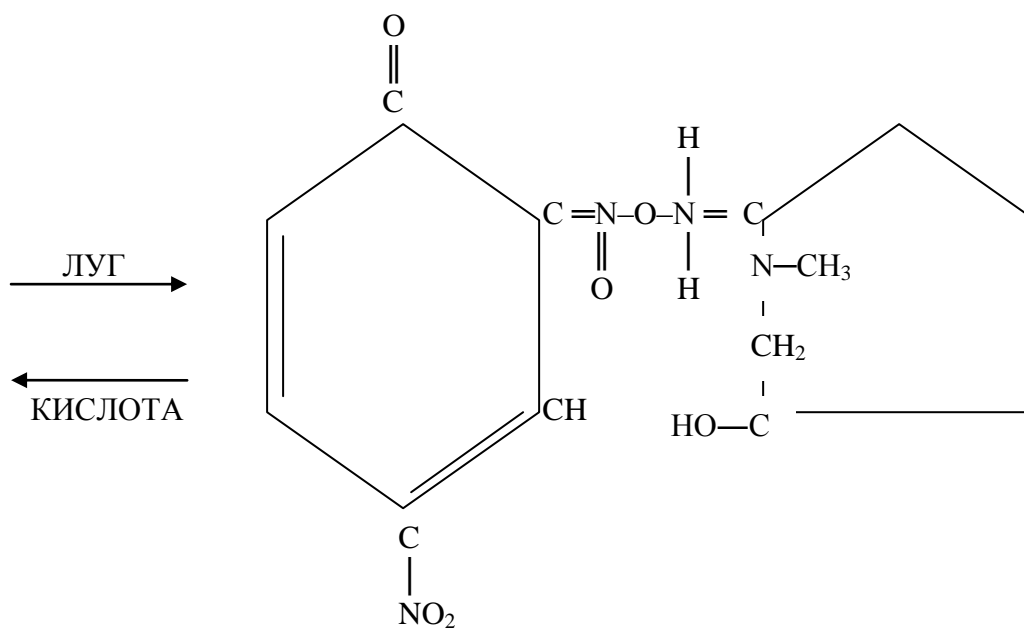
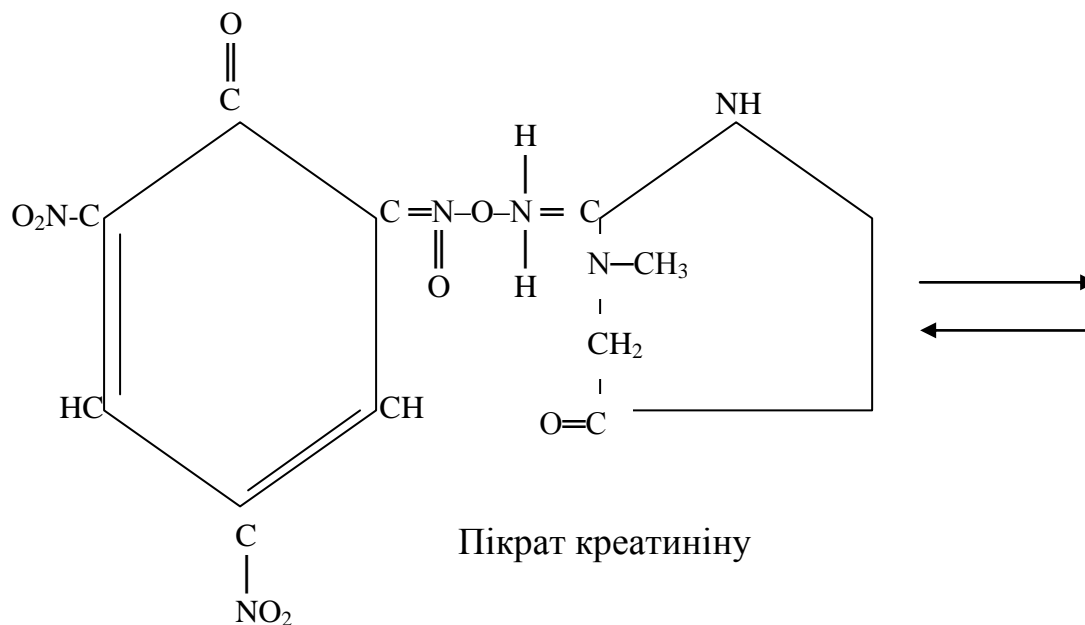
Результат:

Хімізм реакції.

Креатин, який знаходиться у фільтраті першої пробірки, при нагріванні з кислотою перетворюється в креатинін, що призводить до його збільшення у фільтраті.

В 2-ій пробірці перехід креатину в креатинін не відбувається. Креатинін, взаємодіючи з енольною формою пікринової кислоти, утворює пікрат

креатиніну, який в лужному середовищі перетворюється в свою таутомерну форму, яка має оранжево-червоне забарвлення.



В кислому середовищі реакція проходить у протилежному напрямку і забарвлення зникає.

Результат:

б) Відкриття молочної кислоти.

При взаємодії молочної кислоти з реактивом Уффельмана (100 мл 2% розчину фенолу + 10 крапель хлористого заліза) виникає зелено-жовте забарвлення внаслідок утворення молочнокислого заліза.

В пробірку калити 1 мл реактиву Уффельмана і додати по краплях водний безбілковий фільтрат - фіолетове забарвлення реактиву переходить у зелено-жовте.

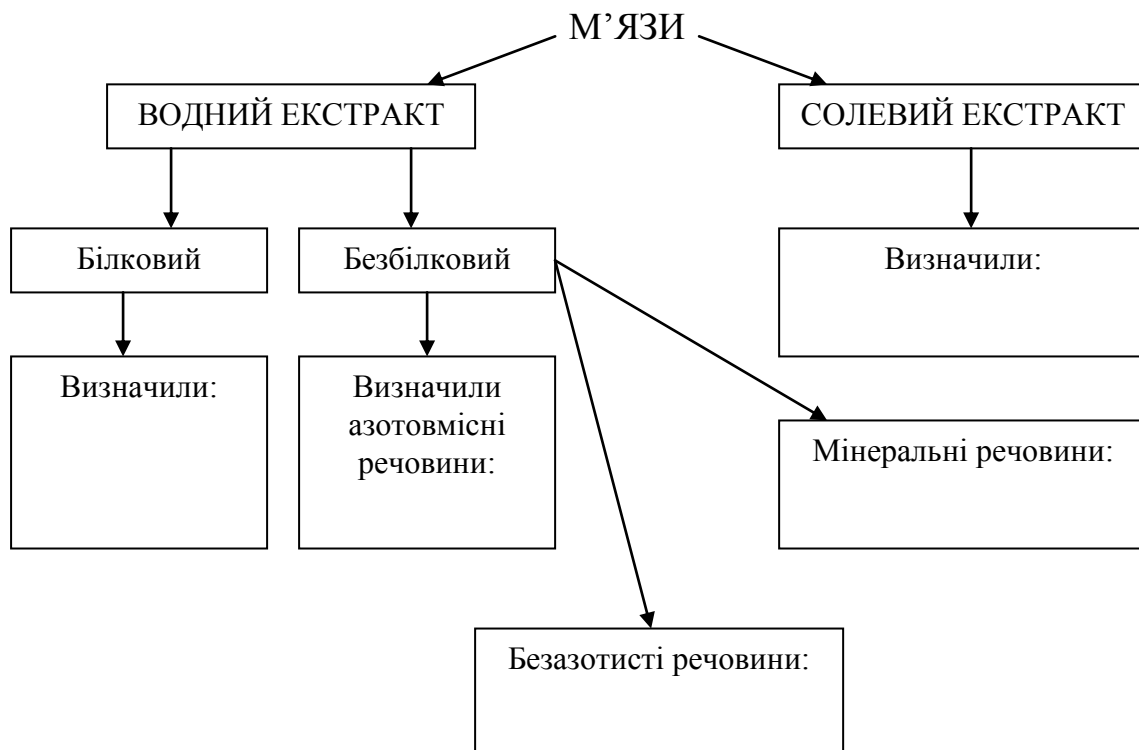
Результат:

в) Відкриття мінеральних речовин м'язової тканини.

У дві пробірки налити по 1 мл безбілкового водного екстракту відкрити у 1-ій із них фосфати (нагріваючи з декількома (5-6 кр.) азотної кислоти і 2 мл 3% розчину молібденовокислого амонію) і в 2-ій сульфати (додати 2 мл 1% розчину хлористого барію).

Результати: Одержані дані представити у вигляді схеми:

Висновки:



Розібрати механізм м'язового скорочення по схемі, що прикладається.