

Morphologische Aspekte des subkutanen und intramuskulären Fettzellwachstums beim Rind

Summary

Title of the paper: **Morphological aspects of growth in subcutaneous and intramuscular adipocytes in cattle**
The accumulation of subcutaneous fat and intramuscular fat storage (marbling of meat) are the results of both hypertrophy and hyperplasia of fat cells. The growth related changes in the fat cell diameter are presented under the influence of endogenous and exogenous factors. 60 bulls of the breeds White-Blue Belgians (WBB), German Angus (DA), Galloway (Ga) and Black Pied (SR) were grown up to the age of 24 months and then slaughtered. 10 bulls of each breed were slaughtered at the age of 2, 4, 6, 12 and 24 months. Shot biopsy samples and post mortem muscle were used to measure the adipocyte diameter and computer image analysis of the intramuscular fat islands. The hypertrophy of the subcutaneous fat cells shows characteristic growth curves, that are influenced by breed and nutrition. The increase in number and the enlargement of the intramuscular fat islands could have caused by proliferation and differentiation processes of the adipocytes contributing to the breed specific shaping of the marbling clearly. Future examinations should explore the regulation of differentiation of adipocytes on cellular and molecular level, as a basis for innovative methods of the farm animal breeding, for the improvement of product quality.

Key words: fat tissue, adipocytes, marbling, growth, beef cattle

Zusammenfassung

Das subkutane Fettwachstum und die intramuskuläre Fetteinlagerung (Marmorierung des Fleisches) sind das Ergebnis der Hypertrophie und Hyperplasie von Fettzellen. Die wachstumsbedingten Veränderungen des Fettzelldurchmessers werden unter dem Einfluß endogener und exogener Faktoren dargestellt. 60 Bullen der Rassen Weiß-Blaue Belgier (WBB), Deutsch Angus (DA), Galloway (Ga) und Schwarzbuntes Milchrind (SR) wurden bis zum Alter von 24 Monaten gehalten. Von den gleichen Rassen wurden jeweils 10 Tiere im Alter von 2, 4, 6, 12 und 24 Monaten geschlachtet. Sowohl durch Schußbiopsie als auch post mortem entnommene Muskel- und Fettproben dienten zur Messung der Adipozyten und zur Computerbildanalyse der intramuskulären Fetteinlagerungen. Die Hypertrophie der subkutanen Adipozyten zeigt während des Wachstums einen charakteristischen Verlauf, der durch Tierart, Rasse und Ernährung beeinflußt wird. Aus der Zunahme der Anzahl und der Vergrößerung der intramuskulären Fettflächen wird die Bedeutung der Proliferations- und Differenzierungsprozesse der Adipozyten für die rassespezifische Ausprägung der Marmorierung deutlich. Zukünftige Untersuchungen sollten die Regulation der Adipozytendifferenzierung auf zellulärer und molekularer Ebene erforschen, als Grundlage für innovative Methoden der Tierzüchtung zur Verbesserung der Produktqualität.

Schlüsselwörter: Fettgewebe, Fettzellen, Marmorierung, Wachstum, Rind

1. Einleitung

Für den modernen Menschen ist das hohe Nahrungsenergieangebot, bei eingeschränktem Energieverbrauch, durch die genetisch bedingte Anlage von Fettreserven im Körper bekanntlich zum Gesundheitsrisiko geworden. Die Tierzüchtung der letzten Jahrzehnte hat daraufhin den Fettanteil im Tierkörper weitgehend zurückgedrängt und den

Muskel- bzw. Proteinanteil stark erhöht. Dies läßt uns heute Fleischqualitätsmängel und Gesundheitsprobleme bei den Tieren feststellen, ohne sichtbaren Vorteil für die menschliche Ernährung. Gegenwärtig werden intramuskuläre Fettgehalte im *M. longissimus dorsi* bei Schweinen der Pietrain-Kreuzungen mit 1,1 %, bei Rinder- Masthybriden mit 2,4 % und bei Schafen mit 2,3 %, jeweils im *M. longissimus dorsi*, angegeben (ENDER u.a., 1997). Diese Zahlen zeigen, daß im Muskelfleisch weniger Fett enthalten ist, als z.B. in der Milch. Eine Erhöhung des intramuskulären Fettgehaltes zur Verbesserung der Tiergesundheit und auch im Sinne einer Geschmacksverbesserung des mageren Fleisches muß daher keine negativen Folgen für die menschliche Gesundheit haben. Unter Beachtung der Ernährungsrichtlinien und der Anforderungen an eine gute Fleischqualität haben SAVELL und CROSS (1988) für Rindfleisch einen optimalen Bereich von 3-7 % für den intramuskulären Fettgehalt ermittelt. Das Ziel, den intramuskulären Fettgehalt bei gleichzeitig verbesserter Struktur der Fetteinlagerungen ohne Verfettung des gesamten Schlachtkörpers zu erhöhen, ist jedoch bisher durch Züchtung, Fütterung und Haltung kaum erreicht worden. Grundlagenforschungen zu den zellulären und molekularen Prozessen der Adipogenese (Fettzellentwicklung) im Muskel können Ansatzpunkte dazu liefern.

Obwohl durch zahlreiche Untersuchungen zur Adipogenese beim Menschen im Zusammenhang mit den Forschungen zur Adipositas umfangreiche Kenntnisse über das Wachstum des Fettgewebes vorliegen, ist insbesondere zur Entwicklung des intramuskulären Fettes der Nutztiere sehr wenig bekannt. Die hier vorgestellte morphologische Charakterisierung der Fettzellentwicklung an genetisch differenten Rindern während des Wachstums ist ein Ausgangspunkt für weitere Forschungen zur Adipogenese beim Rind.

2. Material und Methode

60 Bullen der Rassen Weiß-Blaue Belgier (WBB), Deutsch Angus (DA), Galloway (Ga) und Schwarzbuntes Milchrind (SR) wurden unter gleichen Haltungsbedingungen und einem rassespezifischen Fütterungsregime bis zum Alter von 24 Monaten gehalten. Durch Schußbiopsie (WEGNER u. a., 1993) wurden aus dem *M. semitendinosus* und der darüberliegenden subkutanen Fettschicht Muskel- und Fettproben in folgenden Altersstufen entnommen: 140., 180., 240., 300., 400., 500., 600. und 700. Lebenstag und sofort in flüssigem Stickstoff eingefroren. Vom gleichen Tiermaterial wurden jeweils 10 Tiere im Alter von 2, 4, 6, 12 und 24 Monaten geschlachtet. Zur Messung der Adipozyten und zur Computerbildanalyse der intramuskulären Fetteinlagerungen dienten Fleischscheiben aus den Muskeln *M. longissimus dorsi* (*M.l.d.*) und *M. semitendinosus* (*M.st.*), die 24 h p.m. entnommen, in Formalinlösung fixiert und bis zur Bearbeitung gelagert wurden. Nach der Herstellung von Schnittpräparaten mit dem Kryostatmikrotom (30µm Schnittdicke) erfolgte die Messung des Durchmessers der Fettzellen an ungefärbten Präparaten mit einem halbautomatischen Mikroskopbildanalysator.

Für die bildanalytischen Untersuchungen wurden die Fetteinlagerungen an 1-2 mm dicken formalinfixierten Muskelscheiben mit Öl-Rot gefärbt. Die Anwendung einer sogenannten Stückfärbung brachte entscheidende Vorteile gegenüber der Verwendung

von frischen Fleischanschnitten. Eine eindeutige Unterscheidung zwischen Fett und Bindegewebe ist am frischen Fleisch nicht möglich, da beide weiß erscheinen. Weiterhin treten am frischen Fleisch Lichtreflexionen auf, die im Kamerabild ebenfalls weiß erscheinen. Bei der Färbung nimmt lediglich das Fett den roten Farbstoff auf, das Bindegewebe bleibt weiß. Auch kleine Fettflächen, die am frischen Fleisch nicht zu erkennen sind, werden sichtbar und können berücksichtigt werden. Die Auswertung erfolgte mit dem computergestützten Bildanalyse-System Quantimet 570. Die Computerbildanalyse bietet die Möglichkeit, quantitative Merkmale jeder einzelnen Fettinsel zu erfassen, und zu einer objektiven Beschreibung der intramuskulären Fetteinlagerungen zusammenzufassen. Eine ausführliche Methodenbeschreibung ist bei ALBRECHT u.a. (1996) zu finden. Die biostatistische Auswertung der Daten erfolgte u. a. mit der Varianzanalyse nach dem General Linear Model des statistischen Analyse-Systems (SAS 6.11, 1989).

3. Ergebnisse und Diskussion

Subkutanes Fettzellwachstum

Die Messung des subkutanen Adipozytendurchmessers an der Biopsieprobe erlaubt es, bereits am lebenden Tier Auskunft über den Fettansatz zu erhalten. Besonders bei geringer subkutaner Fettschicht liefert der mikroskopisch gemessene Adipozytendurchmesser auch dann Ergebnisse, wenn herkömmliche Methoden, wie z. B. Ultraschall, versagen.

Im Alter von 140 Tagen haben die Adipozyten einen Durchmesser von 40-50 μm (Abbildung 1). Dieser nimmt besonders stark bis zum 240. Lebenstag zu und hat sich bis zum 500. Lebenstag etwa verdoppelt. Danach stagniert die Zunahme des durchschnittlichen Adipozytendurchmessers.

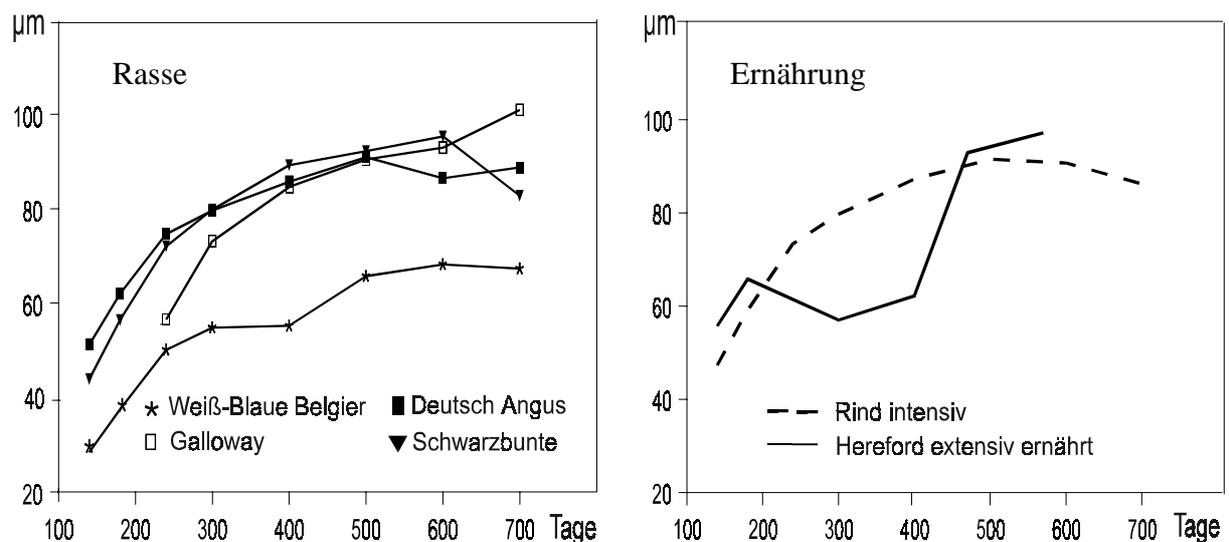
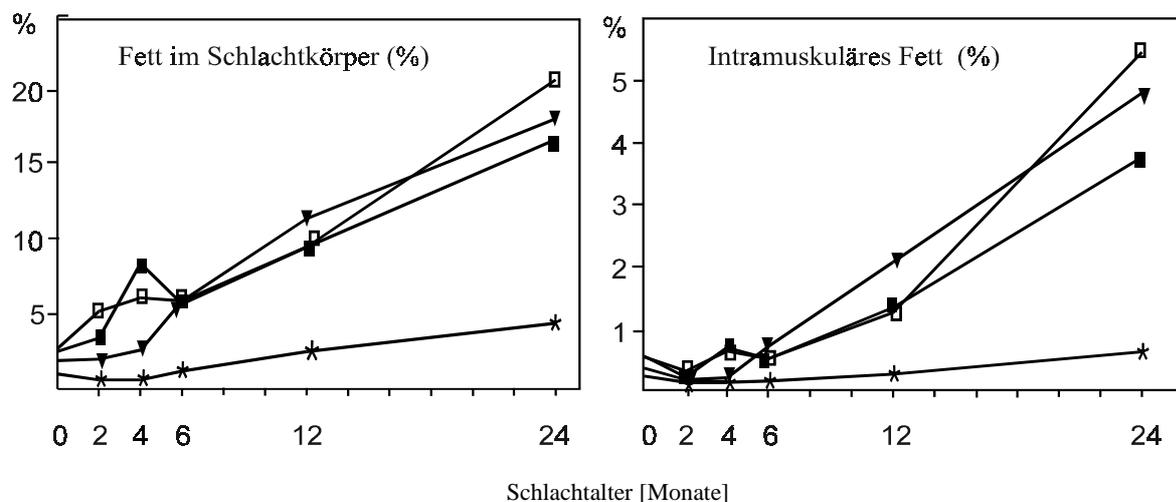


Abb. 1: Veränderung des subkutanen Fettzelldurchmessers während des Wachstums unter dem Einfluß von Rasse und Ernährung (Changes of subcutaneous adipocytes diameter during growth influenced by breed and nutrition)

Eine Ausnahme bilden intensiv gefütterte Gallowaybullen, deren Adipozyten bis zu 700 Tagen weiterwachsen und mehr als 100 μm erreichen. Die Adipozytendurchmesser der extrem muskulösen Weiß-Blauen Belgier liegen während der gesamten Mastperiode um etwa ein Drittel unter den Werten der anderen untersuchten Rassen.

Neben der Rasse haben Haltung und Fütterung einen wesentlichen Einfluß auf die Entwicklung der Adipozyten. Bei extensiv gehaltenen Hereford-Ochsen verringert sich der Adipozytendurchmesser im Winter bei verringertem Nahrungsangebot um 10 μm . Im Sommer wird das Niveau intensiv ernährter Mastbullen (90-100 μm) erreicht (WEGNER u.a., 1994). Demnach entspricht die Entwicklung der Adipozyten der zugeführten Futterenergie. Es gibt jedoch genetisch bedingte Unterschiede in Bezug auf den Zusammenhang zwischen Ernährung und Fettzellwachstum. Schwarzbuntbullen, die knapp über dem Erhaltungsbedarf ernährt wurden, hatten einen um ein Drittel kleineren Adipozytendurchmesser als normal gefütterte Tiere. Extensiv ernährte Highlandbullen erreichten jedoch mit 700 Tagen den gleichen Adipozytendurchmesser wie intensiv gefütterte Mastbullen (WEGNER unveröff.).

Bei einem Mittelwert von 100 μm ist offenbar die maximale Größe der subkutanen Adipozyten beim Rind erreicht. Da aber der Fettansatz im Schlachtkörper in der Wachstumsperiode von 12-24 Monate stark ansteigt (Abbildung 2), scheint in diesem Zeitraum eine Zunahme der Adipozytenanzahl, d.h. eine weitere Differenzierung von Präadipozyten zu Adipozyten vorrangig zu sein. Mit lichtmikroskopischen Untersuchungsmethoden konnte die Adipozytenhyperplasie jedoch nicht quantifiziert werden. Die maximale Größe der Adipozyten ist, wie die Ergebnisse bei den Weiß-Blauen Belgiern im Vergleich zu den anderen Rassen zeigen, genetisch bedingt unterschiedlich und ein Hinweis für das Fettansatzvermögen der Tiere. Die Untersuchungen machen deutlich, daß die subkutane Verfettung beim Rind eng mit der Fettzellgröße verbunden ist und, daß die für die Adipositas des Menschen verantwortlichen Faktoren, genetische Veranlagung und Ernährung, auch beim landwirtschaftlichen Nutztier entscheidend sind.



Σ Weiß-Blauer Belgier ∞ Deutsch Angus Galloway τ Schwarzbuntes Rind

Abb. 2: Veränderung des Fettanteils im Schlachtkörper und im Muskel während des Wachstums beim Rind (Changes of fat content in the carcass and in the muscle during growth in cattle)

Die von RENAND u.a. (1992) festgestellte enge Beziehung zwischen der Fettzellgröße in vivo und dem Fettgehalt im Schlachtkörper von $R^2=0,63$ kann mit den hier vorgestellten Ergebnissen nur für die Wachstumsphase der Tiere vom 140. bis 500. Lebenstag bestätigt werden. Im späteren Verlauf des Wachstums scheint die Hypertrophie der Fettzellen durch die Hyperplasie überlagert zu sein.

Intramuskuläres Fettzellwachstum

Die sichtbare intramuskuläre Fetteinlagerung, die als Marmorierung des Fleisches bezeichnet wird, ist das Ergebnis von Fettzellwachstum (Hypertrophie) und Fettzellendifferenzierung (Hyperplasie) im Muskel. Die Fettzellendifferenzierung scheint besonders im intramuskulären Fettgewebe eine wichtige Rolle zu spielen, und ist im Gegensatz zur Hyperplasie der Muskelfasern während des Wachstums zu keinem Zeitpunkt abgeschlossen. Nur dadurch ist die Zunahme der Anzahl unabhängiger Fettzellverbände, die im Vergleich der untersuchten Altersstufen festzustellen ist, und die daraus resultierende Feinverteilung der Fettinseln im Muskel möglich. Bereits bei 6 Monate alten Rinderfeten konnten im Muskel reife Fettzellen beobachtet werden (Abbildung 3). Sie sind gekennzeichnet durch die typische Siegelringform, d.h. Zellkern und Zellwand umhüllen einen univakuolären Fetttropfen. Die Lage der ersten Fettzellen im Bindegewebe ist typisch für die spätere Marmorierung am Schlachttier (Abbildung 4). Fettzelleinlagerungen befinden sich hauptsächlich im Bindegewebe, das zwischen den Muskelfaserbündeln liegt. Dabei beginnt die Einlagerung interfaszikulär an den Stellen im Muskel, die am besten von den Blutgefäßen versorgt werden. Erst bei stärkerer Verfettung, etwa ab dem 6. Lebensmonat bei Schwarzbunten, sind auch intrafaszikuläre Fettzellen zu beobachten. Entsprechend der Blutversorgung im Muskelquerschnitt der untersuchten Muskeln (*M.l.d.* und *M.st.*) erfolgt die Fettzelleinlagerung zuerst in den profunden und später verstärkt in den superfizialen Regionen. Diese Wachstumscharakteristik des intramuskulären Fettgewebes wird auch durch die 20 % größeren Fettzellendurchmesser in den profunden Regionen der Muskeln im Vergleich zu den superfizialen deutlich.

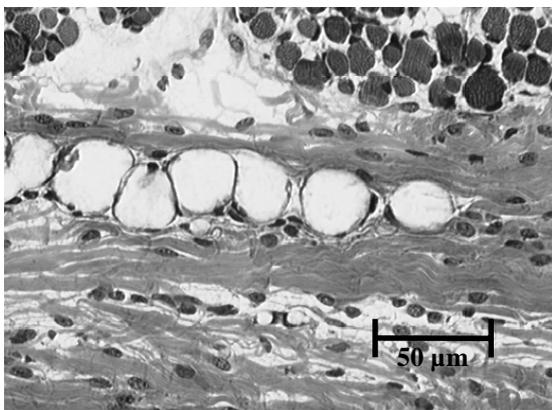


Abb. 3: Erste reife Fettzellen im *M. semitendinosus* bei 6 Monate altem Rinderfetus (First mature fat cells in *M. semitendinosus*)

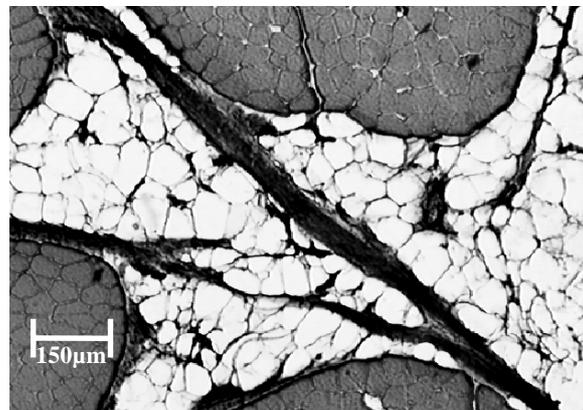


Abb. 4: Intramuskuläre Fetteinlagerung (Marmorierung) bei 24 Monate altem Gallowaybullen (Intramuscular fat deposition, marbling)

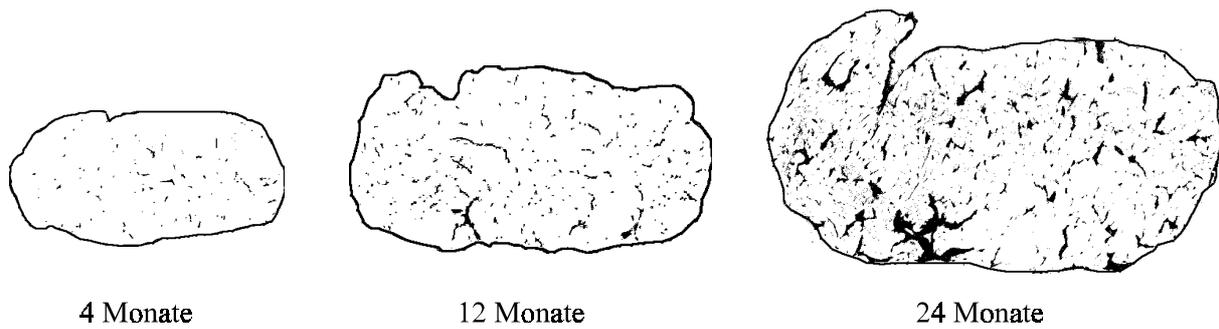


Abb. 5: Veränderung der intramuskulären Fetteinlagerung im *M. longissimus dorsi* während des Wachstums, detektierte Fettflächen aus der computergestützten Bildanalyse (Changes of intramuscular fat deposition in *M. longissimus dorsi* during growth, fat areas detected with computerized image analysis)

Abbildung 5 zeigt in den Muskelquerschnittsflächen des *M.l.d.*, hier als schwarze Punkte, die intramuskuläre Fetteinlagerung und ihre starke Zunahme im Wachstumsverlauf. Die mit der Bildanalyse quantitativ erfaßten Merkmale (Abbildung 6) machen deutlich, daß sowohl die Anzahl als auch die Größe der Fettflächen für die Zunahme der intramuskulären Verfettung verantwortlich sind. Dabei nimmt die Anzahl um das Fünf- bis Zehnfache zu, während sich die Größe der Fetteinlagerungen lediglich verdoppelt bzw. verdreifacht. Die Fettzellendurchmesser (Tabelle 1) verdoppeln sich ebenfalls während des Wachstums von 6 bis 24 Monaten. Daraus ist abzuleiten, daß die Fettzeldifferenzierung, d. h. die Umwandlung von Fibroblasten über Präadipozyten zu Adipozyten und damit die Zunahme von Fetteinlagerungen im Muskel besonders im intramuskulären Fettgewebe der entscheidende Prozeß für das Fettwachstum ist. Bei gleichem Alter der Tiere sind die subkutanen Fettzellen größer als die intramuskulären, daran wird die spätere Entwicklung des intramuskulären Fettgewebes im Vergleich zu anderen Fettdepots deutlich.

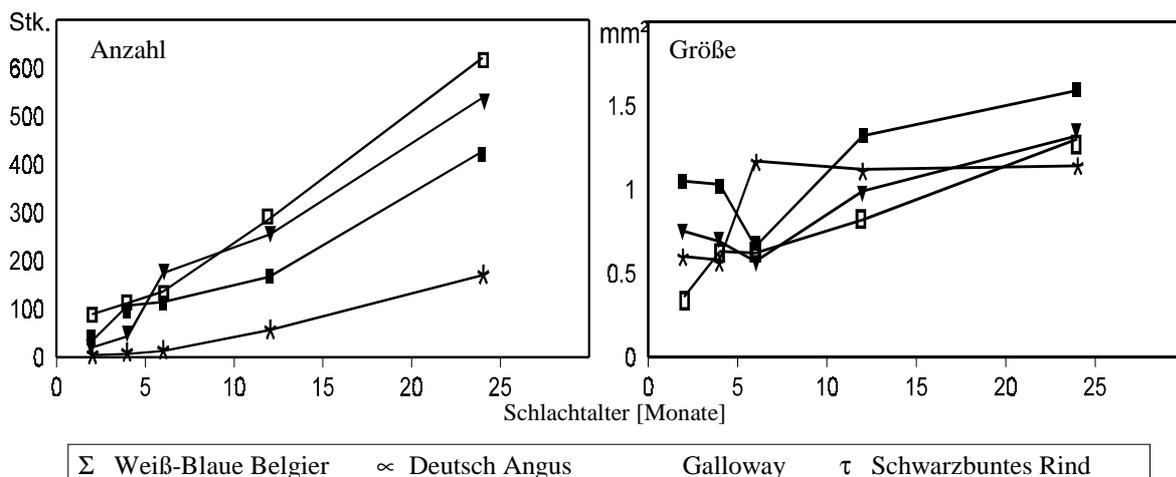


Abb. 6: Veränderung der Anzahl und Größe der Fettflächen im *M. longissimus dorsi* während des Wachstums beim Rind (Changes of number and size of fat areas in *M. longissimus dorsi* during growth in cattle)

Tabelle 1

LS-Mittelwerte des Fettzelldurchmessers im *M. semitendinosus* [μm] (LS means of adipocyte diameter in *M. semitendinosus* [μm])

Rasse	Alter [Monate]		
	6	12	24
Weiß-Blaue Belgier	31,3 ^{aA}	34,5 ^{aB}	73,6 ^{bA}
Deutsch Angus	44,3 ^{aA}	58,9 ^{aA}	83,4 ^{bBC}
Galloway	47,6 ^{aA}	44,3 ^{aBC}	91,0 ^{bC}
Schwarzbuntes Rind	40,5 ^{aA}	50,9 ^{aAC}	78,6 ^{bAB}

Werte mit gleichen Exponenten sind nicht signifikant unterschiedlich ($\alpha < 0,05$), kleine Buchstaben gelten innerhalb

einer Zeile, große Buchstaben innerhalb einer Spalte

Tabelle 2

Morphologische Merkmale des intramuskulären Fettes im *M. semitendinosus* (Rind, 24 Monate)
(Morphological traits of intramuscular fat in *M. semitendinosus*, cattle, 24 month)

		Weiß-Blaue Belgier	Deutsch Angus	Galloway	Schwarzbuntes Rind
n		14	14	13	12
Fettflächenanteil	[%]	1,15 ^a 0,51	3,64 ^b 1,09	5,48 ^c 1,14	4,66 ^c 1,66
Fettflächenanzahl	[Stck.]	70 ^a 26	130 ^b 51	242 ^c 96	166 ^b 86
Fettflächengröße	[mm ²]	2,38 ^a 0,84	3,05 ^b 0,97	2,03 ^a 0,74	2,46 ^{ab} 0,64
Größe der Fettzellen	[μm]	73,6 ^a 7,0	83,4 ^{bc} 10,8	91,0 ^c 8,8	78,6 ^{ab} 7,4
Anzahl der Fettzellen * im Muskelquerschnitt	[x10 ⁴]	3,91 ^a 1,64	7,33 ^b 2,26	6,98 ^b 1,99	7,86 ^b 2,42

Werte mit gleichen Exponenten sind nicht signifikant ($\alpha = 0,05$) unterschiedlich.

* (Summe der Fettflächen im Muskelquerschnitt) / (Mittelwert der Fettzellquerschnittsflächen)

In Tabelle 2 sind am Beispiel des *M. semitendinosus* morphologische Merkmale des intramuskulären Fettes der untersuchten Rinderrassen dargestellt. Die großen Unterschiede in der intramuskulären Fetteinlagerung bei Weiß-Blauen Belgiern und Galloway (Fettflächenanteile von 1,15 und 5,48 %) sind auf eine unterschiedliche Anzahl von Fettflächen (70 und 242) bei annähernd gleicher Fettflächengröße zurückzuführen. Die Weiß-Blauen Belgier haben nur halb so viele Fettzellen im Muskelquerschnitt. Die Fettzellen sind jedoch nur etwa 20% kleiner. Diese Unterschiede zwischen den Rassen weisen daraufhin, daß der geringe Fettgehalt bei den Weiß-Blauen Belgier dadurch bedingt ist, daß sowohl weniger Fettzellen gebildet werden, als auch die vorhandenen Fettzellen nicht, die mit den anderen Rassen vergleichbare Größe erreichen.

4. Schlußfolgerungen

Die Marmorierung des Fleisches, d.h. die intramuskuläre Fetteinlagerung und besonders die für die Fleischqualität wichtige Feinverteilung des Fettes im Muskel sind hauptsächlich das Ergebnis von Proliferations- und Differenzierungsprozessen der Adipozyten. Zwischen den Rassen gibt es gravierende Unterschiede in der Adipogenese, besonders auch zwischen Weiß-Blauen Belgiern und Galloway, die auf genetische Ursachen hinweisen. Zukünftige Forschungen sollten die physiologischen Zusammenhänge in der Adipogenese untersuchen, als Grundlage für innovative Methoden der Tierzucht zur Verbesserung der Produktqualität.

Literatur

- ALBRECHT, E.; WEGNER, J.; ENDER, K.: Eine neue Methode zur objektiven Bewertung der Marmorierung von Rindfleisch. *Fleischwirtschaft* 76 (1996) 95-98
- RENAND, G.; FOSTIER, B.; PAGE, S. J.; FISHER, A. V.: Proc. 38th ICOMST, Clermont-Ferrand, France, (1992), 963-966
- SAS Institute Inc.: SAS User's Guide. Vol. 2, GLM-VARCOMP, Version 6, 4. Edition. . (1990)
- SAVELL, J. W. and H. R. CROSS: The role of fat in the palatability of beef, pork, and lamb. In: *Designing Foods, Animal Product Options in the Marketplace*, National Academic Press, Washington, D. C., (1988) 345-355.
- WEGNER, J.; MATTHES, H.-D.: Zelluläres Wachstum von Muskelfasern und Fettzellen und die Fleischqualität von Hereford-Ochsen unter extensiven Haltungsbedingungen. *Arch. Tierz.* 37 (1994) 599-604
- WEGNER, J.; ENDER, K.; LANGHAMMER, H.: Charakterisierung des Wachstums von Muskelfasern und Fettzellen unter dem Einfluß des Wirkstoffes Zeranol beim Rind. *Arch. Tierz.* 36 (1993) 39-48

Eingegangen: 5.12.1997

Akzeptiert: 18.03.1998

Anschrift der Verfasser

Dr. JOCHEN WEGNER, Dr. ELKE ALBRECHT, Prof. Dr. habil. KLAUS ENDER

Forschungsinstitut für die Biologie landwirtschaftlicher Nutztiere

Wilhelm-Stahl-Allee 2

D-18196 Dummerstorf

e-mail: wegner@fhn-dummerstorf.de