

MM 78

*Forschungsinstitut für die Biologie landwirtschaftlicher Nutztiere,
Dummerstorf-Rostock, Germany,
Institut für Fleischforschung Bydgoszcz, Poland,
Pathologisches Institut am Bezirkskrankenhaus für Psychiatrie, Leipzig, Germany*

Veränderungen der Muskelfasertypenverteilung im *M. longissimus dorsi* von Ebern während des Wachstums, dargestellt mit verschiedenen histochemischen Methoden

J. WEGNER¹, ILSE FIEDLER¹, DANUTA KLOSOWSKA², B. KLOSOWSKI²
und BRIGITTE ZIEGAN³

Adresse der Autoren: ¹Wilhelm-Stahl-Allee 2, 18196 Dummerstorf, Germany,
²Pl. Weyssenhoffa 11, P 85-072 Bydgoszcz, Poland,
³Chemnitzer Straße 50, 04289 Leipzig, Germany

Mit 4 Abbildungen und einer Tabelle

(Eingegangen im Juli 1992)

Summary

Changes in the distribution of muscle-fiber-types from the *M. longissimus dorsi* of male pigs. A Histochemical Approach

Samples of the *M. longissimus dorsi* from growing up pigs were taken by a shooting-biopsy. The types of muscle-fibers could be demonstrated by two different histochemical staining procedures. With these two histochemical staining procedures significant differences between the different structure of the muscle-fibers during increasing age of the pigs could be detected.

Einleitung

Die Muskelfasern stehen in engem Zusammenhang mit den Leistungseigenschaften Fleischansatz, Fleischqualität und Streßanfälligkeit. Die meisten Muskeln, insbesondere auch die für die Fleischproduktion wesentlichen, wie der *M. longissimus dorsi*, stellen eine heterogene Einheit aus Muskelfasern verschiedener Typen dar.

Die Differenzierung der Muskelfasern in verschiedene histochemische Fasertypen ist durch die Innervation und die Funktion begründet (SCHRÖDER, 1982). Während beim Menschen ein typisches Schachbrettmuster durch die unterschiedlichen Fasertypen erzeugt wird, findet man im *M. longissimus dorsi* des Schweines ein Nestmuster. Im Zentrum der Primärbündel befinden sich rote und ihnen anliegende intermediäre Muskelfasern und an der Peripherie weiße Fasern (Abb. 1, 2). Die in der Fleischforschung häufig angewendete Methode zur Darstellung von Muskelfasertypen ist die Nikotinamidadeninnukleotid-Dehydrogenase-Tetrazoliumreduktase (NADH-TR)-Reaktion (NOVIKOFF et al., 1961). Sie bringt bei niedrigem Zeit- und Kostenaufwand den Anforderungen entsprechend gute Ergebnisse (FIEDLER u. WEBER, 1981). Von ZIEGAN

(1979) wurde eine kombinierte Methode zur Darstellung der Muskelfasertypen vorgestellt, die ein Enzym des oxidativen Stoffwechsels und die ATPase gleichzeitig einbezieht.

Gegenstand der vorliegenden Untersuchung war es zu prüfen, ob und in welchem Maße unterschiedliche Aussagen mit den beiden histochemischen Methoden am Beispiel der wachstumsbedingten Veränderungen der Muskelfasertypenverteilung erreicht werden.

Material und Methoden

Von 10 Ebern der Landrasse wurden mit Hilfe der Schußbiopsie Muskelproben aus dem *M. longissimus dorsi* entnommen. Die Tiere waren den gleichen Umweltbedingungen ausgesetzt, wurden einzeln gehalten und ad libitum gefüttert. Die Schußbiopsie im *M. longissimus dorsi* erfolgte am 70., 100., 140., 180. und 220. Lebenstag \pm 4 d. Eine ausführliche Darstellung des verwendeten Schußgerätes und der Methode zur Biopsie ab 70. Lebenstag ist bei WEGNER et al. (1988) zu finden. Sofort nach der Probenentnahme aus dem lebenden Tier wurden die Muskelproben in flüssigem Stickstoff (-196°C) eingefroren und darin bis zur histochemischen Untersuchung aufbewahrt. Die Herstellung der Schnittpräparate erfolgte mit dem Cryostat-Mikrotom, Schnittdicke $10\ \mu\text{m}$. Für den histochemischen Nachweis der Fasertypen wurde pro Tier und Altersstufe jeweils ein Schnitt für die NADH-TR-Reaktion und ein Schnitt für die Methode nach ZIEGAN bereitgestellt. Während die NADH-TR-Reaktion 5 min nach dem Schneiden durchgeführt wurde, ergab sich für die nach ZIEGAN zu behandelnden Schnitte eine mehrtägige Aufbewahrung sowie ein Transport in einer Kühltasche zum Partnerinstitut nach Bydgoszcz, Polen. Die Methode nach ZIEGAN wurde dahingehend verändert, daß zum ATPase-Nachweis die Methode von KLEMM (1970) bei saurer Vorinkubation (pH 4,2) angewendet wurde. Nach Fertigstellung der Präparate erfolgte die Ermittlung des Anteils der einzelnen Muskelfasertypen durch Auszählen von etwa 500 Muskelfasern in 10 Primärbündeln pro Präparat und die anschließende Berechnung der prozentualen Anteile. Die Muskelfasertypen wurden nach der NADH-TR-Reaktion in weiße, intermediäre und rote Muskelfasern entsprechend der Dichte der Formazangranula (Abb. 2) eingeteilt. Dabei zeigen die roten, mitochondrienreichen Fasern die höchste oxidative Enzymaktivität und damit die größte Anhäufung von Formazangranula. Bei der Methode nach ZIEGAN unterscheidet man fast-twitch-glycolytic-fibers (FTO), fast twitch-oxidativ-fibers (FTO) und slow-twitch-oxidativ-fibers (STO). Die FTG-Fasern sind hell angefärbt, FTO-Fasern blau und die STO-Fasern dunkelbraun (in Abb. 3 intensiv dunkel).

Ergebnisse und Diskussion

Die Aufbewahrung und der Transport der Schnittpräparate bis zur histochemischen Inkubation (3–5 d) und dem Eindecken mit Glyceringelatine (Methode nach ZIEGAN) hatte keinen wesentlichen Einfluß auf die Erkennung der Muskelfasertypen. Wie aus Abbildung 4 und Tabelle 1 ersichtlich, werden wachstumsbedingte Veränderungen der

Tabelle 1. Veränderungen des Fasertypenanteils (%) vom 70.–220. Lebenstag (LT); Ergebnisse verschiedener histochemischer Methoden am *M. longissimus dorsi* (Tieranzahl: 10 pro Altersstufe)

Fasertyp	(Methode)	70. LT		100. LT		140. LT		180. LT		220. LT	
		\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s
weiß	(1)	61,59 ^a	4,18	70,18 ^b	3,67	71,35 ^b	5,13	71,78 ^b	3,95	71,03 ^b	5,20
FTG	(2)	57,84 ^a	4,87	64,82 ^b	5,04	65,82 ^b	3,89	68,15 ^b	3,79	64,59 ^b	7,00
intermediär	(1)	21,07 ^a	2,53	16,81 ^b	3,52	14,69 ^b	3,61	15,10 ^b	4,12	14,35 ^b	5,79
FTO	(2)	28,57 ^a	3,79	21,98 ^b	3,23	21,02 ^b	3,61	18,83 ^b	4,79	18,99 ^b	5,69
rot	(1)	17,38 ^a	3,98	13,01 ^b	3,36	13,96 ^b	2,59	13,09 ^b	2,91	14,63 ^b	3,14
STO	(2)	13,59 ^{ab}	2,40	13,20 ^{ab}	3,84	13,15 ^a	1,39	13,03 ^a	2,10	16,42 ^b	3,90

(1) NOVIKOFF et al. (1961); (2) ZIEGAN (1979)

Mittelwerte mit ungleichem Exponenten sind zwischen den Altersgruppen signifikant verschieden ($\alpha = 0,05$)

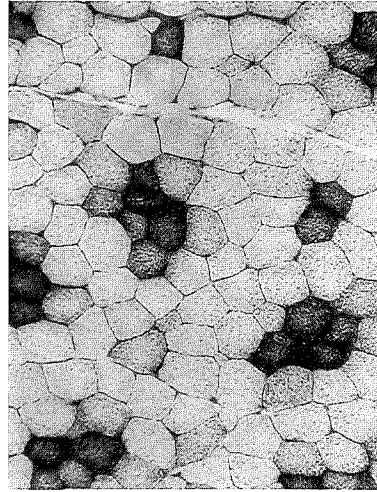


Abb. 1. *M. longissimus dorsi*, NADH-TR-Reaktion, „Nestmuster“

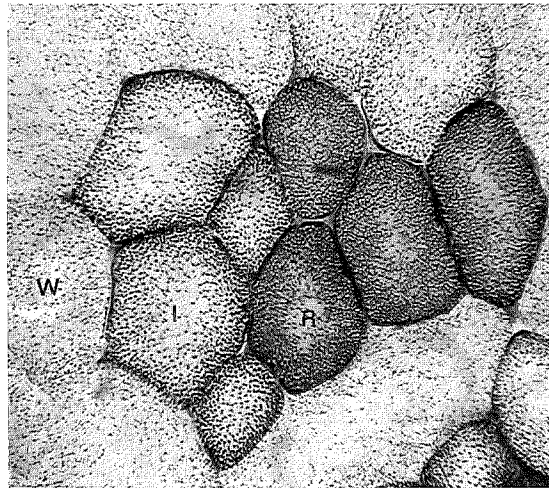


Abb. 2. *M. longissimus dorsi*, NADH-TR-Reaktion, Unterschiede in der Dichte der Formazangranula dienen zur Fasertypenunterscheidung: W = weiße, I = intermediäre, R = rote Muskelfasern

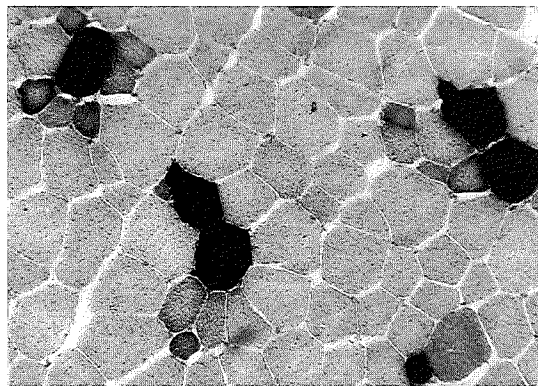


Abb. 3. *M. longissimus dorsi*, kombinierte Methode nach ZIEGAN

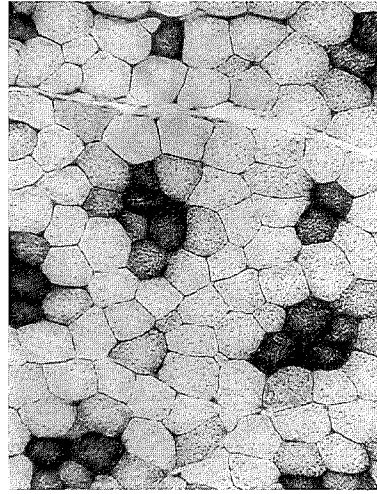


Abb. 1. *M. longissimus dorsi*, NADH-TR-Reaktion, „Nestmuster“

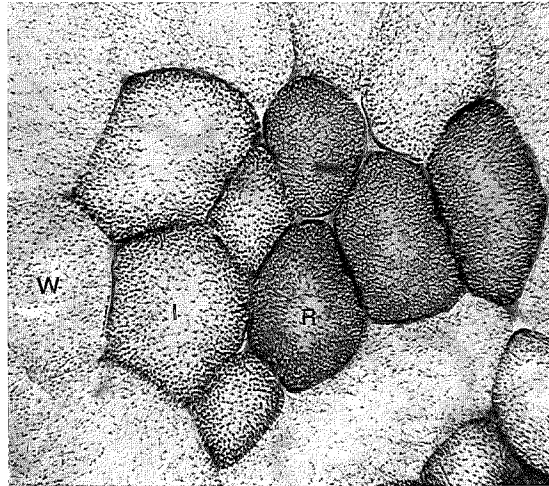


Abb. 2. *M. longissimus dorsi*, NADH-TR-Reaktion, Unterschiede in der Dichte der Formazangranula dienen zur Fasertypenunterscheidung: W = weiße, I = intermediäre, R = rote Muskelfasern

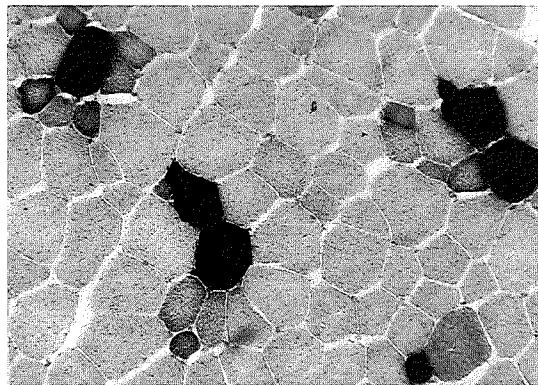


Abb. 3. *M. longissimus dorsi*, kombinierte Methode nach ZIEGAN

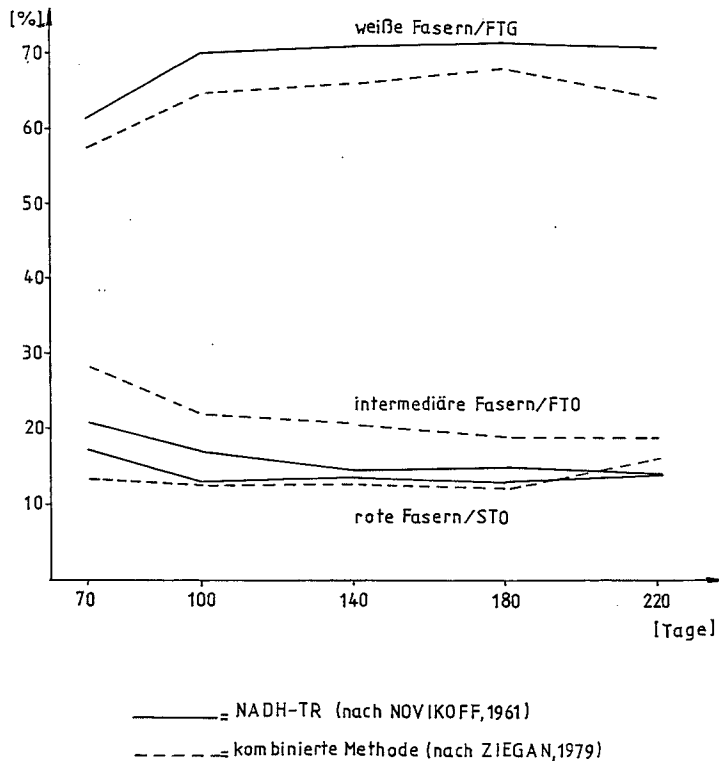


Abb. 4. Veränderung des Fasertypenanteils (%) im *M. longissimus dorsi* vom 70.-220. Lebenstag
Vergleich der histochemischen Methoden

Muskelfasertypenverteilung besonders im Altersabschnitt vom 70. zum 100. Lebenstag deutlich. Der Anteil weißer und FTG-Fasern nimmt um 7–8 % zu. Dementsprechend verringert sich der Anteil intermediärer und roter Fasern. Bei der Fasertypendifferenzierung nach ZIEGAN wird der Anstieg der FTG-Fasern nur durch eine Umwandlung der FTO-Faser realisiert. Im weiteren Wachstumsverlauf bis zum 180. Lebenstag, in der Phase des intensivsten Wachstums der Schweine, gibt es keine wesentlichen Änderungen der Muskelfasertypenverteilung. Nach dem 180. Lebenstag verringert sich der Anteil FTG-Fasern zugunsten der STO-Fasern. Bei der histochemischen Differenzierung mit der NADH-TR-Reaktion ist dies nur in der Tendenz zu beobachten. Eine Übereinstimmung der Aussagen zur Fasertypenverteilung beim Einzeltier mit den beiden durchgeführten histochemischen Reaktionen ist nur mit Einschränkungen festzustellen. So ergaben Regressionsberechnungen zwischen weißen und FTG-Fasern einen Korrelationskoeffizienten von $r = 0,7$, zwischen intermediären und FTO-Fasern $r = 0,6$ und zwischen roten und STO-Fasern $r = 0,4$. Der niedrige Korrelationskoeffizient zwischen den roten (NADH-TR-Reaktion) und den STO-Fasern (Methode ZIEGAN) ergibt sich aus der unterschiedlichen Beurteilung der Fasertypen am 70. und am 220. Lebenstag (Abb. 4). Beim Vergleich der unterschiedlichen histochemischen Methoden (Abb. 4) fällt besonders der höhere Anteil FTO-Fasern und der geringere Anteil FTG-Fasern in allen Altersstufen auf. Hierbei handelt es sich offensichtlich um einen methodischen Einfluß, der bei der Interpretation unbedingt berücksichtigt werden muß. Die Ursache liegt bei beiden Methoden in der nicht immer eindeutigen Abgrenzung zwischen weißen und intermediären Fasern bzw. FTG- und FTO-Fasern, da die intermediären eine Zwischenstufe darstellen. Daraus ergeben sich bei der mikroskopischen Auswertung subjek-

tiv bedingte Differenzen. Hierbei muß nochmals darauf hingewiesen werden, daß die Auswertung in 2 verschiedenen Laboratorien an Serienschritten erfolgte.

Es kann festgestellt werden, daß beide histochemischen Methoden zur Charakterisierung der wachstumsbedingten Veränderungen der Muskelfasertypenzusammensetzung des *M. longissimus dorsi* geeignet sind. Beim Vergleich von Ergebnissen ist die angewandte Methode stets zu berücksichtigen.

Zusammenfassung

Von wachsenden Schweinen wurden mit Hilfe der Schußbiopsie Muskelproben aus dem *M. longissimus dorsi* gewonnen. Anhand von Serienschritten erfolgte die Darstellung der Muskelfasertypen mit zwei unterschiedlichen histochemischen Reaktionen.

Grundlegende Gesetzmäßigkeiten der wachstumsbedingten Veränderung der Fasertypenzusammensetzung konnten mit beiden Reaktionen nachgewiesen werden. Der Vergleich der Einzeltiere in den verschiedenen Altersstufen ergab subjektiv bedingte Unterschiede bei der Ermittlung der Fasertypenzusammensetzung des *M. longissimus dorsi*. Dieser Umstand muß bei der Interpretation von Ergebnissen, die mit verschiedenen histochemischen Reaktionen erzielt wurden, berücksichtigt werden.

Résumé

Variations dans la distribution des types de fibres musculaires du *M. longissimus dorsi* des porcs mâles: une approche histochimique

Des échantillons du *M. longissimus dorsi* de porcs en croissance ont été prélevés par biopsie. Les types de fibres musculaires ont pu être mis en évidence par deux procédés histochimiques différents. Avec ces deux procédés, des différences significatives dans les différentes structures des fibres musculaires, en rapport avec l'augmentation de l'âge des porcs, ont pu être démontrées.

Resumen

Variaciones en la distribución de los tipos de fibra muscular del músculo longísimo del dorso en cerdos. Estudio histoquímico

Mediante pistola de biopsias se obtuvieron muestras del músculo longísimo del dorso en cerdos en crecimiento y los distintos tipos de fibras musculares se manifestaron por dos procedimientos distintos de tinción histoquímica. Merced a dichas técnicas se pudieron manifestar diferencias significativas en la estructura de las fibras musculares en función del incremento de la edad de los cerdos.

Literatur

1. FIEDLER, I., und CH. WEBER, 1981: Methodische Untersuchungen zur Auswahl einer histochemischen Routinemethode für die Differenzierung von Muskelfasertypen. *Z. mikrosk.-anat. Forsch.* **95**, 1027–1034.
2. KLEMM, R. D., 1970: Histochemical demonstration of actomyosin ATPase in avian muscle tissue. *Exp. Neurol.* **28**, 365–371.
3. NOVIKOFF, A. B., W. SHIN und J. DRUCKER, 1961: Mitochondrial localization of oxidative enzymes staining results with two tetrazolium salts. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **9**, 47–61.
4. SCHRÖDER, I. M., 1982: *Pathologie der Muskulatur*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
5. WEGNER, J., U. KOCH und J. KURTH, 1988: Empfehlung zur Anwendung der Schußbiopsie bei Schweinen ab 70. Lebensstag. *Mh. Vet.-Med.* **43**, 607–609.
6. ZIEGAN, B., 1979: Kombinationen enzymhistochemischer Methoden zur Fasertypendifferenzierung und Beurteilung der Skelettmuskulatur. *Acta histochem.* **65**, 34–40.