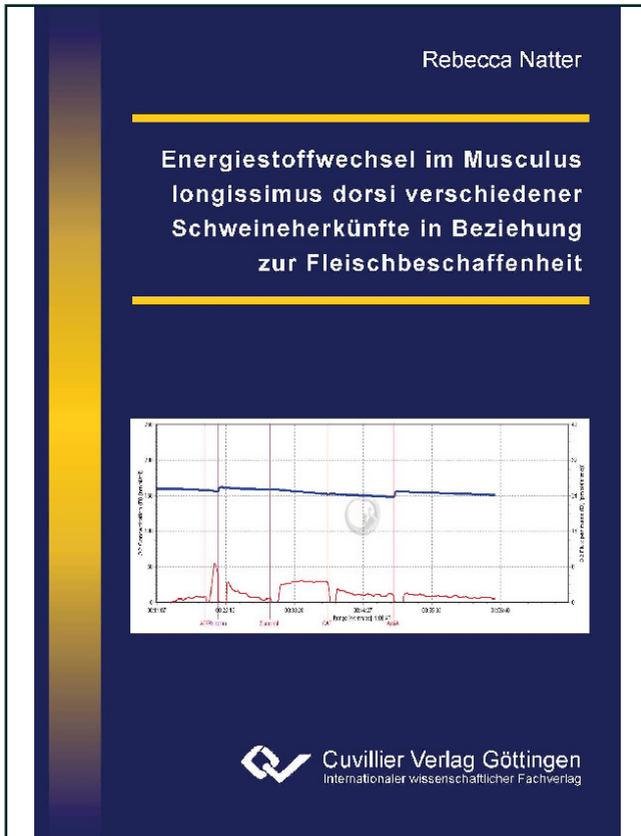




Rebecca Natter (Autor)

# Energiestoffwechsel im Musculus longissimus dorsi verschiedener Schweineherkünfte in Beziehung zur Fleischbeschaffenheit



<https://cuvillier.de/de/shop/publications/369>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentzsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen, Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: [info@cuvillier.de](mailto:info@cuvillier.de), Website: <https://cuvillier.de>

# 1 Einleitung

Die Fähigkeit von frischem Fleisch, den eigenen Saft zu halten, ist eine der wichtigsten Qualitätseigenschaften dieses Lebensmittels. Es hat sich gezeigt, dass ein großer Anteil des Schweinefleisches inakzeptabel hohe Mengen an Tropfsaft produziert (Reichardt et al., 2001; Huff-Lonergan und Lonergan, 2005; Kusec et al., 2007), einhergehend mit einem Verlust an Nährstoffen und daraus resultierenden Gewichtsverlusten, die zu monetären Einbußen führen (O'Neill et al., 2003; Brings et al., 2006; Fischer, 2007). Das Wasserbindungsvermögen (WBV) von Fleisch ist von großer Wichtigkeit in der Fleischindustrie, da es sowohl ökonomische als auch sensorische Attribute des Fleisches beeinflusst (Straadt et al., 2006). Die Gewichtsverluste der abgepackten Selbstbedienungs- (SB) Ware können im Schnitt 1-3% im Einzelhandel betragen und auf bis zu 10% in PSE (pale, soft, exudative/ blass, weich wässrig)-Produkten ansteigen. Im Durchschnitt enthält der ausgetretene Fleischsaft etwa 112 mg wertvolles Protein/ml (Huff-Lonergan und Lonergan, 2005). Ungünstiges Wasserbindungsvermögen (WBV) oder Tropfsaft verursachen außerdem große Probleme in der Schlacht- und Verarbeitungsindustrie. Eine weitere unerwünschte Charakteristik dieses Fleisches ist die unnatürlich blasse Farbe, welche eines der ersten sensorischen Merkmale für den Konsumenten ist, die Qualität der Ware zu beurteilen (Schilling et al., 2004; Otto et al., 2006; Kusec et al., 2007). Ein besonders hoher Tropfsaftverlust (TSV) wird in Schlachtkörpern von Schweinen mit einer Mutation des Ryanodin Rezeptors (RyR)/Kalzium-Freisetzungskanal (CRC) des Sarkoplasmatischen Retikulums (SR) gemessen (Fuji et al., 1991). In den Muskelzellen dieser Schweine ist die Kontrolle der Kalziumfreisetzung gestört, verbunden mit vermehrter Freisetzung der  $Ca^{2+}$ -Kationen aus dem SR in das Sarkoplasma (Iaizzo et al., 1988; MacLennan et al., 1990; Martens, 1998). Diese kontinuierliche Erhöhung des sarkoplasmatischen Kalziums bedingt höhere Kontraktionsraten und einen Anstieg des Muskelstoffwechsels. Intra vitam können Schweine mit dieser Erkrankung dies zumeist gut kompensieren, allerdings bedingt physischer Stress, z.B. um die Schlachtung, bei diesen Schweinen durch die schnell eintretende Hypoxie innerhalb des Gewebes eine Beschleunigung der anaeroben Energiebereitstellung und Laktatbildung. Der dadurch verursachte schnellere pH-Wert- Abfall führt zu einem reduzierten WBV durch Denaturierung der

Muskelproteine und schnellere Annäherung des pH-Wertes an den isoelektrischen Punkt der Myosin- Moleküle (Savage et al., 1990; Scheffler und Gerrard, 2007).

In den letzten Jahrzehnten wurden zwar durch molekularbiologische Untersuchungen auf die RyR-Mutation „stressempfindliche“ Schweine weitestgehend aus der Population eradiert (Stresssanierung), doch sind immer noch hohe Variabilitäten der Fleischqualität feststellbar, so dass weitere genetische Marker, die mit reduziertem WBV und anderen Fleischqualitätsproblemen verbunden sind, gesucht werden (Otto et al., 2005; Otto et al., 2006; Scheffler und Gerrard, 2007). Fleischqualität ist ein quantitativ vererbtes Merkmal und die Bestimmung der involvierten Gen Loci sind anhand damit assoziierter Marker für eine effiziente Züchtung essentiell.

Wie bereits beschrieben stehen Abweichungen in der Fleischbeschaffenheit in Zusammenhang mit Veränderungen im Energie- und Kalziumstoffwechsel der Muskelzelle, wobei zu vermuten ist, dass auch eine Dysfunktion der Mitochondrien, die einen großen Teil des ATP liefern und zur Kalziumhomöostase beitragen, eine veränderte Fleischqualität zur Folge haben kann (Werner et al., 2005). Bezugnehmend auf diesen Zusammenhang sollte in der vorliegenden Arbeit ein Ausschnitt des Energiestoffwechsels – insbesondere die mitochondriale Funktion – des *Musculus longissimus* (LD) verschiedener Schweineherkünfte vor und nach der Schlachtung dargestellt werden. Diese Ergebnisse sollten in Beziehung zur post mortalen Fleischbildung analysiert werden, unter besonderer Berücksichtigung des Merkmals Tropfsaftverlust (TSV).

## **2 Literaturübersicht**

### **2.1 Stand der Forschung**

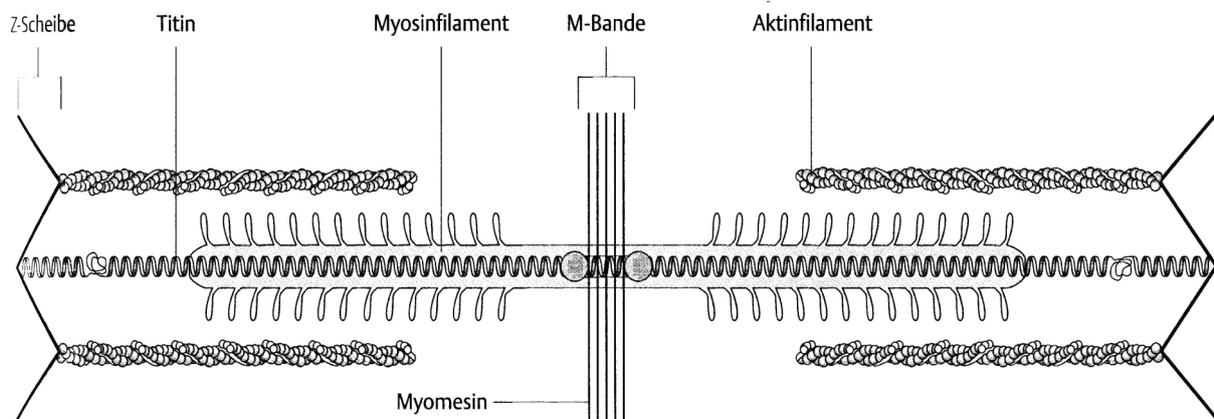
Die Rückenmuskulatur des Schweins besteht aus ca. 22% Proteine, 1-2% Lipide und 75% Wasser. 90-95% dieses Wassers ist zwischen den Myofibrillen lokalisiert und weitere 5% sind chemisch an Muskelproteine gebunden (Apple, 2007), wobei zwischen myofibrillärem und sarkolemalem Wasser zu unterscheiden ist. Das chemisch gebundene Wasser ist locker mit den zellulären Strukturen verbunden, wovon wiederum ein geringer Anteil als „freies“ oder als „fest an die Proteine gebundenes“ Wasser in den Muskelzellen vorhanden ist (Jiang, 1998; Huff-Lonergan und Lonergan, 2005). Veränderungen des Wasserbindungsvermögen (WBV) betreffen daher überwiegend den leicht gebundenen Wasseranteil in den Muskelzellen.

Stressanfälligkeit und die damit einhergehenden Fleischqualitätsmängel werden auf eine Punktmutation im RyR zurückgeführt. Dieser Gendefekt führt zu veränderten Membrancharakteristika der Muskelzellen, insbesondere zu einer erhöhten Freisetzung von Kalziumionen aus dem Sarkoplasmatischen Retikulum (SR), als Antwort auf Stresseinwirkung. Es löst eine Hyperaktivität der metabolischen Prozesse in den Fasern aus (Fiedler et al., 1999).

#### **2.1.1 Struktur und Stoffwechsel der Muskulatur**

Mit einem Anteil von über 40% der Gesamtkörpermasse ist die Muskulatur das mit Abstand am stärksten ausgebildete Organ des Körpers. Herz- und Skelettmuskulatur werden als quergestreifte Muskulatur zusammengefasst. Diese Bezeichnung rührt von der regelmäßigen Anordnung der kontraktilen Myofilamente her, was eine quer zur Muskelfaserrichtung angeordnete Abfolge von doppelt und einfach lichtbrechenden Abschnitten zur Folge hat. Diese Abfolge wird im Lichtmikroskop als Querstreifung wahrgenommen (Petzold, 2006). Man unterscheidet die dunklen A-Banden und die hellen I-Banden. Jede I-Bande ist von der sogenannten Z-Linie durchzogen. Den Abstand zwischen zwei Z-Linien bezeichnet man als Sarkomer. Die A-Bande besteht aus dicken Filamenten, den sogenannten Myosinfilamenten. Die I-Bande besteht aus dünnen Filamenten, den Actinfilamenten. Die H-Zone der Myofibrillen bezeichnet jenen Bereich, in welchem den Myosinfilamenten keine

Actinfilamente gegenüberstehen. Im Bereich der I-Bande liegen diejenigen Actinfilamente, denen kein Myosin gegenüberliegt (Hamm, 1981) (Abbildung 1).

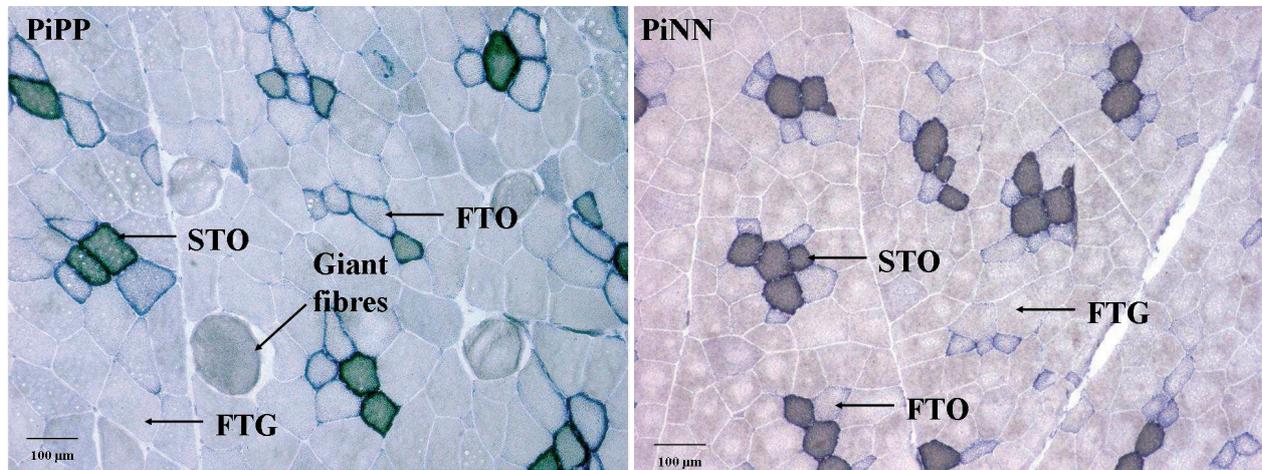


**Abbildung 1: Aufbau eines Sarkomers nach Königshoff (2007)**

Muskeln unterscheiden sich in ihrer Kontraktionseigenschaft durch verschiedene Anteile bestimmter Fasertypen. Bezüglich des Energiestoffwechsels lassen sich die Skelettmuskelfasern grundsätzlich in drei verschiedene Fasertypen einordnen. Die STO- (langsam kontrahierend oxidativ/ **s**low **t**witch **o**xidative) Fasern decken ihren Energiebedarf hauptsächlich über oxidative Stoffwechselwege. Sie besitzen einen hohen Gehalt an Mitochondrien und sind aufgrund ihres hohen Gehalts an Myoglobin sowie mitochondrialen Cytochrome und des hohen Kapillarisierungsgrades rot. Solche Muskeln sind sehr ausdauernd und kontrahieren langsam. Dieser Fasertyp bringt weniger PSE-Fleisch hervor, da die Glykolyse post mortem langsamer verläuft (Loeffler, 2002; Petzold, 2006).

FTG- (schnell kontrahierend glykolytisch/ **f**ast **t**witch **g**lykolytic) Muskelfasern sind deutlich stärker auf die im Zytosol ablaufende Glykolyse angewiesen, da die Art der Energiebereitstellung schneller abläuft und dieser Fasertyp durch eine schnellere Kontraktionsfähigkeit charakterisiert ist. FTG- Fasern enthalten weniger Mitochondrien und sind aufgrund des niedrigen Gehalts an Myoglobin, mitochondrialer Cytochrome und des niedrigeren Kapillarisierungsgrades weniger rot (Loeffler, 2002). Zwischen diesen genannten Fasertypen lassen sich die FTO- (schnell kontrahierend oxidativ/ **f**ast **t**witch **o**xidative) Fasern einordnen, die Eigenschaften der STO- und FTG- Fasern aufweisen. Der intermediäre Fasertyp ist eine Zwischenform, die in den meisten Säugetiermuskeln einen relativ großen Anteil der Fasern einnimmt. Muskeln, wie der Longissimus, haben vorwiegend glykolytische

Muskelfasern, die anfällig für eine schnelle post mortale Glykolyse und daher für PSE-Fleisch sind (Jiang, 1998; Bowker et al., 2000; Loeffler, 2002; Petzold, 2006). In Abbildung 2 sind die drei Fasertypen in Querschnitten des LD dargestellt.



**Abbildung 2: Histologischer Querschnitt des M. longissimus beim Schwein (Pi(PP),Pi(NN)) (Werner, 2007). Pi(PP) sind homozygot MHS positiv, Pi(NN) sind MHS saniert.**

In Tabelle 1 sind die Eigenschaften und weitere Bezeichnungen der verschiedenen Muskelfasertypen zusammengefasst.

**Tabelle 1: Bezeichnung verschiedener Muskelfasertypen und deren Eigenschaften und Gehalt an Mitochondrien**

Parameter	FTG	FTO	STO	Quelle
<b>Myoglobingehalt</b>	niedrig	hoch	hoch	Bechtel (1986), Dransfield u. Sosnicki (1999)
<b>Faserdurchmesser</b>	groß	intermediär	gering	Bechtel (1986), Dransfield u. Sosnicki (1999)
<b>Kontraktions-eigenschaft</b>	schnell	schnell	langsam	Bechtel (1986)
<b>Anzahl d. Mitochondrien</b>	niedrig	intermediär	hoch	Bechtel (1986)
<b>weitere Bezeichnungen</b>	Typ IIb FG	Typ IIa FG/FOG	Typ I SO	Loeffler (2002), Riegel (2007)

Während der embryonalen Entwicklung und der postnatalen Phase des Individuums unterscheidet sich das Muskelwachstum. Während der embryonalen Phase findet in erster Linie Hyperplasie, also Zellvermehrung statt. Diese Zellvermehrung gilt mit der Geburt bei Säugetieren als beendet (Smith, 1963; Rehfeldt et al., 1999). Im jungen Tier liegen die Muskelfasern noch weitgehend undifferenziert in einem auf oxidativen

Stoffwechsel beruhendem Stadium vor. Lediglich Typ II kann sich in eine Faser mit glykolytischem Stoffwechsel umwandeln. Typ I Muskelfasern behalten zeitlebens ihren oxidativen Stoffwechsel (Wegner und Ender, 1990; Riegel, 2007). Das Wachstum des Muskelgewebes schließlich vollzieht sich durch Längen- und Dickenwachstum der vorhandenen Muskelfasern (Hypertrophie), wobei die weißen Typ II- Fasern intensiver wachsen als die intermediären und roten (Wegner und Ender 1990). In einem von Wegner und Ender (1990) untersuchten Zeitabschnitt bei Schweinen vom 70. bis 220. Lebenstag vergrößerten die weißen Fasern ihren Durchmesser um 123%, die intermediären um 97% und die roten Muskelfasern um 93%. Alle drei Fasertypen verlangsamten ihr Wachstum nach dem 180. Lebenstag. Riesenfasern, als Degenerationserscheinung, konnten im lebenden Tier nicht nachgewiesen werden.

Histologische und histochemische Untersuchungen am Schweinemuskel haben gezeigt, dass eine Beziehung zwischen den Fasereigenschaften, der Stressanfälligkeit und der Fleischqualität bestehen. In stressanfälligen Schweinepopulationen wurde außerdem ein hohes Vorkommen von PSE-Fleisch festgestellt. Der Longissimus dorsi Muskel dieser Tiere war charakterisiert durch einen erhöhten Faserdurchmesser und einer erniedrigten Dichte der Blutkapillaren, verglichen mit Tieren, die eine normale Stressanfälligkeit aufwiesen (Fiedler et al., 1999).

### **2.1.2 Kalziumstoffwechsel in Muskelzellen**

Kalziumionen spielen eine zentrale Rolle bei der Kopplung von Erregung und Kontraktion von Muskelzellen. Des Weiteren sind sie an der Regulation der Aktivität verschiedener Enzyme beteiligt, wie zum Beispiel den Dehydrogenasen des Citratzyklus (Anmann et al., 2005). Der Gehalt an freiem Kalzium im Zytosol wird durch verschiedene Mechanismen von aktiven und passiven Transportsystemen bestimmt. Die Veränderungen der Kalziumkonzentration hängt von der Interaktion von wenigstens sechs verschiedenen Prozessen ab: dem Aktionspotential (AP) des T-Systems, der Antwort des „Spannungs-Sensors“, dem Erregungs-Kontraktions-Kopplungsmechanismus (excitation-contraction (EC) coupling), den Eigenschaften des Kalzium Freisetzungskanals (CRC), der Kalziumdiffusion zu und durch die Myofibrillen, der Bindung von Kalzium an myoplastische  $Ca^{2+}$  - Puffer und dem Rückfluss des  $Ca^{2+}$  in das SR durch die Sarkoplasmatische Retikulum Kalzium-

ATPase (SERCA) (Dulhunty, 1992; Smaili et al., 2000). Zur Freisetzung von Kalzium gibt es zwei Efflux-Kanäle. Einer wird durch Inositol-1,4,5-trisphosphat (IP<sub>3</sub>) aktiviert, der andere ist der Ryanodin-Rezeptor-Kanal, der u.a. durch die Erhöhung von zytosolischem Kalzium aktiviert wird (Saris und Carafoli, 2005).

Aufgrund dessen, dass Ca<sup>2+</sup>-Ionen als wichtige zelluläre Signalüberträger fungieren, die viele physiologische Prozesse regulieren, streben die Zellen an, die intrazelluläre Ca<sup>2+</sup>-Konzentration auf möglichst geringem Level aufrecht zu erhalten. Obwohl der Gehalt des Kalziums im Zytosol mit der Zeit variiert, ist die Konzentration immer viel niedriger (≈100 nM) als im extrazellulären Raum (1 mM) oder den Mitochondrien (≈200 nM) und dem SR. Die beiden letzteren Organellen fungieren als intrazelluläre Kalziumreservoirs (Tibor und Siesjo, 1998; Smaili et al., 2000). Im „steady state“ ist der Influx und Efflux von Ca<sup>2+</sup> durch die Mitochondrienmembran in Balance, es besteht ein Fließgleichgewicht. Erst wenn die zytosolische Kalziumkonzentration über einen Schwellwert von ca. 500 nM ansteigt, beginnen die Mitochondrien mit der Akkumulation von Ca<sup>2+</sup> (Tibor und Siesjo, 1998).

Die Muskelkontraktion und –relaxion ist im höchsten Maße abhängig von der Regulation des Kalziumflusses zwischen verschiedenen Muskelkompartimenten. Die Erregung einer Zelle durch extrazelluläre Stimuli erzeugt einen vorübergehenden Anstieg der sarkoplasmatischen Kalziumkonzentration. Sarkoplasmatisches Kalzium stammt aus zwei Quellen: i) aus dem SR, welches der Hauptspeicher für intrazelluläres Ca<sup>2+</sup> ist, und/oder ii) aus dem extrazellulären Raum. Nach der Stimulation eines Muskels, zum Beispiel nach einer elektrischen Erregung der Zellmembran durch ein Aktionspotential, wird Kalzium zur Aktivierung der Kontraktion vom SR in das Zytoplasma freigegeben (Madsen et al., 1996; Duszynski et al., 2006). Hierbei erfolgt eine direkte Interaktion des CRC des SR (Ryanodinrezeptor) mit dem Dihydropyridinrezeptor, einem spannungsabhängigen Protein der Zellmembran. An der Modifikation der Ca<sup>2+</sup>-Freisetzung ist Kalzium sowohl aktivierend (calcium induced-calcium release CICR), als auch inaktivierend beteiligt (Melzer et al., 1995). In der Ruhestellung ist das Myosinköpfchen vom Aktin gelöst und hat ATP gebunden. Die Muskelkontraktion durch Kalziumionen erfolgt in mehreren Stufen: Ein Aktionspotential (AP) wird an der motorischen Endplatte von Nerven auf die Muskelzelle übertragen, wodurch auf der Muskelzellmembran (Sarkolemm) ein Aktionspotential ausgelöst wird (Ebashi, 1991). Durch das AP wird Kalzium aus dem SR freigesetzt, indem das AP das Membranpotential (MP) des

Sarkolemms sowie des T-Systems (Erregungs-Kontraktions-Kopplung) umpolarisiert. Innerhalb des T-Systems ruft das MP in zwei Schritten Veränderungen am Dihydropyridin-Rezeptor hervor, die auf den RyR am SR übertragen werden und dadurch die Freisetzung von Kalzium aus dem SR bewirken. Beim ersten Schritt wird die Depolarisierung in ein anderes Signal umgewandelt. Dieses Transduktionssystem ist in der Membran des T-Systems lokalisiert. Im zweiten Schritt wird das Signal in das innere System transferiert, das dort zur Kalziumfreisetzung führt. Das innere System setzt sich aus einer „foot-region“ und einem zweiten, in der Zisterne der Membran lokalisierten Teil zusammen (Ebashi, 1991). Das Kalzium vermittelt indirekt die Interaktion zwischen Aktin und Myosin und damit die Muskelkontraktion (Dulhunty, 1992; Laube, 2000), indem es an Troponin C bindet und dadurch die ATPase des Myosins aktiviert. Es kommt zur Spaltung von ATP zu ADP und  $P_i$  und zur Anlagerung des Myosinköpfchens an eine freie Bindungsstelle des Aktins. Bei der Anlagerung des Myosin an Aktin diffundiert das  $P_i$  vom Myosinköpfchen ab und verursacht damit eine Konformationsänderung des Myosins, das Köpfchen kippt um  $45^\circ$  und bewegt dabei das Aktinfilament am Myosin vorbei. Durch die Bindung der Kalziumionen an Troponin C kommt es ebenfalls zu einer Konformationsänderung, wodurch der Troponin-Tropomyosin-Komplex die Myosinbindungsstelle am Aktin freigibt (Königshoff und Brandenburger, 2007) (Abbildung 3). Während der Muskelkontraktion gleiten die Aktinfilamente längs zur Faserrichtung zwischen die Myosinfilamente, wodurch sich die Sarkomere verkürzen (Hamm 1981). Nach der Bewegung wird das ADP frei, während Myosin an Aktin gebunden bleibt. Eine erneute Bindung von ATP an das Köpfchen führt zur Lösung der Aktin-Myosin-Bindung. Bleibt diese ATP-Bindung aus, kommt es zur Totenstarre (Königshoff und Brandenburger, 2007). Entscheidend bei der Relaxation ist der zytosolische Kalziumgehalt, der wieder auf einen niedrigen Wert gesenkt werden muß.  $Ca^{2+}$  kann durch die  $Ca^{2+}$ -ATPase (SERCA) zurück ins SR transportiert werden, wodurch  $Ca^{2+}$  von Troponin C und somit vom Aktinmyosin-System gelöst wird (Ebashi, 1991; Saris und Carafoli, 2005) oder es verlässt das Cytoplasma via Plasmamembran oder Mitochondrienmembran ( $Na^+/Ca^{2+}$ -Antiport) (Madsen et al., 1996; Duszynski et al., 2006).