

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ
ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΝΙΚΗΣ ΚΑΙ ΕΙΔΙΚΗΣ ΖΩΟΤΕΧΝΙΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΤΥΠΟΥ ΤΩΝ ΜΥΪΚΩΝ ΙΝΩΝ ΣΕ ΚΡΕΑΣ
ΕΛΛΗΝΙΚΩΝ ΦΥΛΩΝ ΜΙΚΡΩΝ ΜΗΡΥΚΑΣΤΙΚΩΝ

ΚΑΓΙΑ ΒΑΣΙΛΙΚΗ

Εξεταστική Επιτροπή:

Μπιζέλης Ιωσήφ	Αναπληρωτής Καθηγητής	Επιβλέπων
Μπαλάσκας Χρήστος	Επίκουρος Καθηγητής	Μέλος
Χαρισμιάδου Μαρία	Λέκτορας	Μέλος

Αθήνα, Απρίλιος 2011

Μελέτη του τύπου των μυϊκών ινών σε κρέας Ελληνικών φυλών μικρών μηρυκαστικών

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

**ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ
ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ**

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΝΙΚΗΣ ΚΑΙ ΕΙΔΙΚΗΣ ΖΩΟΤΕΧΝΙΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΤΥΠΟΥ ΤΩΝ ΜΥΪΚΩΝ ΙΝΩΝ ΣΕ ΚΡΕΑΣ
ΕΛΛΗΝΙΚΩΝ ΦΥΛΩΝ ΜΙΚΡΩΝ ΜΗΡΥΚΑΣΤΙΚΩΝ**

ΚΑΓΙΑ ΒΑΣΙΛΙΚΗ

Εξεταστική Επιτροπή:

Μπιζέλης Ιωσήφ	Αναπληρωτής Καθηγητής	Επιβλέπων
Μπαλάσκας Χρήστος	Επίκουρος Καθηγητής	Μέλος
Χαρισμιάδου Μαρία	Λέκτορας	Μέλος

Αθήνα, Απρίλιος 2011

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω από καρδιάς τους καθηγητές μου κ. Ιωσήφ Μπιζέλη, κ. Χρήστο Μπαλάσκα και κ. Μαρία Χαρισμιάδου για την πολύτιμη βοήθειά τους, το ενδιαφέρον τους, και τις παρατηρήσεις τους τόσο κατά τη διάρκεια του πειραματικού μέρους όσο και κατά τη συγγραφή της εργασίας.

Επίσης, θα ήταν παράλειψή μου αν ξεχνούσα να ευχαριστήσω τα προσφιλή μου πρόσωπα: την οικογένειά μου, τον Δημήτρη μου, τους φίλους μου Ειρήνη Κοτόρου, Ανδρέα Κωνσταντίνου, Μάρθα Μακρή, για τη στήριξή τους και τις χρήσιμες παρατηρήσεις τους που με βοήθησαν στην ολοκλήρωση της προσπάθειάς μου.

*Στους γονείς μου, Λουκά-Αθανασία,
στα αδέρφια μου Λουκία-Γιάννη &
στον Δημήτρη..*

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

A/A	Μελέτη του τύπου των μυϊκών ινών σε κρέας Ελληνικών φυλών μικρών μηρυκαστικών	Σελίδα
	Περίληψη	6
	Abstract	7
	Θεωρητικό Μέρος	8
1	Δομή και λειτουργία των σκελετικών μυών	9
1.1	Το μυϊκό σύστημα	9
1.2	Μορφολογία των γραμμωτών μυών	9
1.3	Γραμμωτός μυϊκός ιστός	10
1.4	Μυϊκά ινίδια	13
1.5	Μυϊκά νημάτια	14
1.6	Μοριακή δομή μυϊκών νηματίων	17
1.7	Μηχανισμός συστολής	18
1.8	Σύσταση ενός γραμμωτού μυός	19
1.9	Ανάπτυξη μυϊκής ίνας – Μυογένεση	20
1.10	Αύξηση και διαφοροποίηση μυϊκής ίνας	21
2	Κατηγορίες μυϊκών ινών	23
2.1	Γενικά	23
2.2	Προσδιορισμός μυϊκών ινών	24
2.2.1	Ιστοχημικός προσδιορισμός	24
2.2.2	Βιοχημικός προσδιορισμός	27
2.3	Βιολογικά χαρακτηριστικά των γραμμωτών μυϊκών ινών	28
2.4	Ονοματολογία των μυϊκών ινών	32
2.5	Ανάλυση των χαρακτηριστικών των μυϊκών ινών	33
2.5.1	Τύπος συστολής	33

2.5.2	Τύπος μεταβολισμού	34
3	Μυϊκές ίνες και ποιότητα κρέατος	36
3.1	Γενικά	36
3.2	Παράγοντες που επηρεάζουν τον τύπο και τη μορφολογία των μυϊκών ινών	38
3.2.1	Το φύλο	38
3.2.2	Η φυλή	40
3.2.3	Η ηλικία	41
3.2.4	Η ανατομική θέση του μυός	43
3.2.5	Η άσκηση	43
3.2.6	Η διατροφή	45
3.2.7	Η θερμοκρασία του περιβάλλοντος	46
3.2.8	Οι αυξητικοί παράγοντες	46
3.3	Επίδραση των CSA και TNF στην ποιότητα κρέατος	48
3.4	Επίδραση του τύπου μυϊκών ινών στην ποιότητα κρέατος	50
	Πειραματικό μέρος	53
	Σκοπός του πειράματος	54
4	Υλικά και μέθοδοι	55
4.1	Παραλαβή ιστοτεμαχίων	55
4.2	Τομές ιστοτεμαχίων	55
4.3	Ανοσοϊστοχημεία	56
4.4	Παρατήρηση και φωτογράφιση στο οπτικό μικροσκόπιο	58
4.5	Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων	58
5	Αποτελέσματα	59
6	Συζήτηση	68
7	Συμπεράσματα	74
	Βιβλιογραφία	75

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο τύπος των μυϊκών ινών σχετίζεται με την ποιότητα του κρέατος. Ο σκελετικός μυϊκός ιστός δεν είναι ένας ομοιογενής ιστός, αλλά περιλαμβάνει κατηγορίες διαφορετικών μυϊκών ινών ανάλογα με τη μεταβολική τους δραστηριότητα και τη συσταλτότητά τους σε κυτταρικό και μοριακό επίπεδο. Έτσι, οι μυϊκές ίνες διακρίνονται σε γλυκολυτικές, οξειδωτικές και ενδιάμεσες. Η μέχρι στιγμής έρευνα υποδεικνύει ότι υπάρχουν σημαντικές διαφορές στην αναλογία των τύπων των μυϊκών ινών στα μηρυκαστικά και στους χοίρους καθώς και ότι το ποσοστό των οξειδωτικών μυϊκών ινών σχετίζεται με βελτιωμένα ποιοτικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά στο κρέας.

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η εκτίμηση του τύπου μυϊκών ινών σε μικρά μηρυκαστικά. Γι' αυτό το σκοπό παραλήφθηκαν 30 δείγματα μυϊκού ιστού από τον επιμήκη ραχιαίο μυ δύο φυλών αμνών, τα οποία προέρχονταν από την Καραγκούνικη φυλή, από την φυλή Χίου, και από ερίφια της εγχώριας φυλής. Μετά την σφαγή τα δείγματα καταψύχθηκαν μέχρι την ημέρα της ανάλυσης. Στη συνέχεια, παραλήφθηκαν οι τομές ιστοτεμαχίων πάχους 10 μm με τη βοήθεια του κρυοτόμου και έγινε ανοσοϊστοχημική χρώση με μονοκλωνικό αντίσωμα κατά της μυοσίνης «αργού τύπου» το οποίο αναγνωρίζει τις αργές μυϊκές ίνες και αντίσωμα κατά της β-δυστρογλυκάνης η οποία αναγνωρίζει την αντίστοιχη πρωτεΐνη που υπάρχει στην κυτταρική μεμβράνη των μυϊκών κυττάρων. Ακολούθησε φωτογράφιση σε οπτικό μικροσκόπιο και αξιολόγηση των τύπων των μυϊκών ινών.

Τα αποτελέσματα έδειξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τριών τύπων μυϊκών ινών για όλες τις φυλές που εξετάστηκαν. Το ποσοστό των οξειδωτικών μυϊκών ινών των προβάτων κυμαίνεται περίπου στο 12% ενώ των γλυκολυτικών μυϊκών ινών στο 85%. Το ποσοστό των οξειδωτικών μυϊκών ινών των αιγών είναι υπερδιπλάσιο των αντίστοιχων ποσοστών των προβάτων (26%), ενώ το

ποσοστό των γλυκολυτικών μυϊκών ινών των αιγών, είναι κατά πολύ μικρότερο (72%).

ABSTRACT

The type of muscle fibers is associated to meat quality. The skeletal muscles are not a homogeneous tissue, but involve different muscle groups depending on their metabolic activity and their contractile type at cellular and molecular level. Thus, the muscle fibers are divided into glycolytic, oxidative and intermediate. Research so far indicates that there are significant differences in the proportion of muscle fiber types in ruminants and pigs and that the proportion of oxidative muscle fibers is associated with improved quality and organoleptic characteristics of meat.

The purpose of this study is to assess the type of muscle fiber in small ruminants. For this purpose we used 30 samples of muscle tissue from the *longissimus dorsi* muscle of two sheep breeds, Karagkouniki and Chiou, as well as the greek domestic goat. Muscle tissue samples were frozen and subsequently cryosectioned at 10 μm thickness. The sections were then processed for immunohistochemistry with a monoclonal antibody against myosin "slow release", which recognizes slow muscle fibers and a monoclonal antibody against β -dystroglykan, a muscle cell membrane-bound protein. The sections were then photographed in the light microscope in order to evaluate the types of muscle fibers.

The results showed statistically significant differences between the three types of muscle fibers in all breeds examined. The percentage of oxidative muscle fibers of sheep is around 12%, while the glycolytic muscle fibers at 85%. The percentage of oxidative muscle fibers of goats is more than double the corresponding rates in sheep (26%), while the proportion of glycolytic muscle fiber of goats are much smaller (72%).

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Δομή και λειτουργία των σκελετικών μυών

1.1 Το μυϊκό σύστημα

Το μυϊκό σύστημα αποτελείται από τους μυς που είναι μαλακά και συσταλτά όργανα και χρησιμεύουν στην εκτέλεση των διαφόρων κινήσεων του σώματος (σε συνεργασία με τα οστά και τις αρθρώσεις), στη διαμόρφωση του σχήματος του σώματος, στην πρόσληψη τροφής, στην αναπνοή, ενώ παράλληλα, συμμετέχουν στον σχηματισμό σπλάχνων ή αισθητήριων οργάνων και στη θερμορρύθμιση (Μιχαήλ, 1985). Το μυϊκό σύστημα περιλαμβάνει τους λείους, τους γραμμωτούς και τον καρδιακό μυ.

1.2 Μορφολογία των γραμμωτών μυών

Οι γραμμωτοί ή σκελετικοί μύες προσφύονται και με τα δύο άκρα τους στα οστά του σκελετού ή, μερικές φορές, με το ένα άκρο τους σε ένα ινώδη χιτώνα ή σε τένοντες ή περιτονίες ή σε χόνδρους ή στο δέρμα. Ο αριθμός των μυών ποικίλλει όχι μόνο από είδος σε είδος, αλλά και στο ίδιο είδος, ανάλογα με τον τρόπο που γίνεται η καταμέτρησή τους. Υπολογίζονται σε 400-500. Το ολικό βάρος των μυών του σώματος αυξομειώνεται στο ίδιο είδος ανάλογα με τη φυλή, την ηλικία και την κατάσταση υγείας και θρέψεως του ζώου (Μιχαήλ, 1985).

Ένα μοναδικό χαρακτηριστικό των σκελετικών μυών είναι η ποικιλομορφία τους, η οποία οφείλεται στο σχήμα τους αλλά και στην λεπτή υφή τους (τύπος μυϊκών ινών). Ωστόσο, είναι δυνατό να ταξινομηθούν σε τέσσερα είδη:

- ✓ στους μακρούς μυς που εμφανίζουν σχήμα ατρακτοειδές, κυλινδρικό ή ταινιοειδές και απαντούν κυρίως στα πρόσθια και τα οπίσθια άκρα,

- ✓ στους βραχείς μυς που είναι μικροί, έχουν ποικίλο σχήμα και βρίσκονται κυρίως στη σπονδυλική στήλη,
- ✓ στους πλατείς μυς που είναι λεπτοί και απαντούν στην κεφαλή, στον τράχηλο, στη ράχη και κυρίως στα τοιχώματα του θώρακα και της κοιλίας, και
- ✓ στους σφιγκτήρες μυς που είναι κυκλικοί και περιβάλλουν τις οπές του σώματος (Μιχαήλ, 1985).

Σε κάθε μυ διακρίνονται η έκφυση, η κατάφυση και η γαστέρα. Έκφυση ονομάζεται το άκρο του μυός που προσφύεται στο ακίνητο ή σχετικά πιο ακίνητο μέρος του σκελετού και κατάφυση το άλλο άκρο του μυός που προσφύεται στο ευκίνητο ή σχετικά πιο ευκίνητο μέρος του σκελετού, πάνω στο οποίο ενεργεί η δύναμη του μυός. Η γαστέρα εκτείνεται ανάμεσα στα δύο άκρα του μυός (Μιχαήλ, 1985).

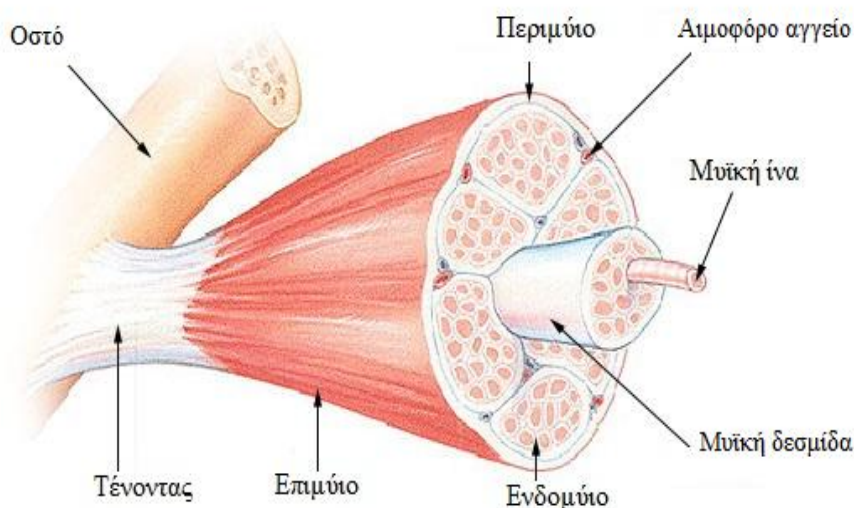
Οι μύες προσφύονται με τα δυο άκρα τους (την έκφυση και την κατάφυση), είτε αμέσως, είτε, όπως συμβαίνει συνήθως, εμμέσως με την παρεμβολή των τενόντων. Οι τένοντες αποτελούνται από κανονικό πυκνό συνδετικό ιστό και έχουν χροιά υπόλευκη ή υποκίτρινη και εξαιρετική στιλπνότητα. Το σχήμα τους είναι συνήθως κυλινδρικό ή ταινιοειδές ή αποπλατυσμένο και το μήκος τους ποικίλει ευρέως. Ανάλογα με τη θέση τους, διακρίνονται σε εκφυτικούς ή καταφυτικούς, με τους οποίους τελείται η έκφυση ή κατάφυση των μυών, και σε διαμέσους οι οποίοι απαντούν κατά το μέσο του μυός και χωρίζουν τη γαστέρα σε δυο μικρότερες γαστέρες (Μιχαήλ, 1985).

1.3 Γραμμωτός μυϊκός ιστός

Ο σκελετικός μυς συγκροτείται από τις μυϊκές ίνες οι οποίες συντάσσονται σε δεσμίδες. Ο κάθε μυς περιβάλλεται από μία στοιβάδα συνδετικού ιστού, η οποία ονομάζεται επιμύιο. Από την εσωτερική επιφάνεια του επιμύιου αρχίζουν ινώδη διαφράγματα, τα οποία καθώς εισδύουν στο εσωτερικό του μυός αναστομώνονται μεταξύ τους και διαχωρίζουν έτσι τις μυϊκές ίνες σε δεσμίδες με ποικίλο πάχος. Το σύνολο των διαφραγμάτων του επιμύιου στο μυ αποτελεί το περιμύιο.

Το συνδετικό περίβλημα της κάθε δεσμίδας επεκτείνεται μέσα σ' αυτή και περιβάλλει χωριστά τις μυϊκές ίνες, σχηματίζοντας το ενδομύιο. Ο συνδετικός ιστός του ενδομυίου, που αποτελείται από κολλαγόνες, δικτυωτές και ελαστικές ίνες και από ινοβλάστες και μόνιμα μακροφάγα, αλληλοσυνδέει τις μυϊκές ίνες, αλλά και επιτρέπει κάποια ελευθερία κινήσεως μεταξύ τους (Εικόνα 1). Τέτοια κίνηση τελείται και από τις μυϊκές δεσμίδες, που μπορούν να κινηθούν ανεξάρτητα από τις παρακείμενες (Μιχαήλ, 1996).

Στο ερειστικό αυτό υπόστρωμα των μυών (περιμύιο και ενδομύιο) οδεύουν αγγεία και νεύρα. Ο σπουδαιότερος, ωστόσο, ρόλος τους είναι η μετάδοση της ενέργειας των μυϊκών ινών στους τένοντες του μυός. Οι μυϊκές ίνες είναι συνήθως βραχύτερες από το μήκος του μυός, γι' αυτό το ένα άκρο τους συνδέεται με τον τένοντα και το άλλο με το ερειστικό υπόστρωμα ή και τα δύο άκρα τους απολήγουν στο υπόστρωμα αυτό. Τα αιμοφόρα αγγεία κατά την πορεία τους στο ενδομύιο αναλύονται σε ένα πλούσιο δίκτυο τριχοειδών με συνεχές επιθήλιο (συνεχή τριχοειδή) (Μιχαήλ, 1996).

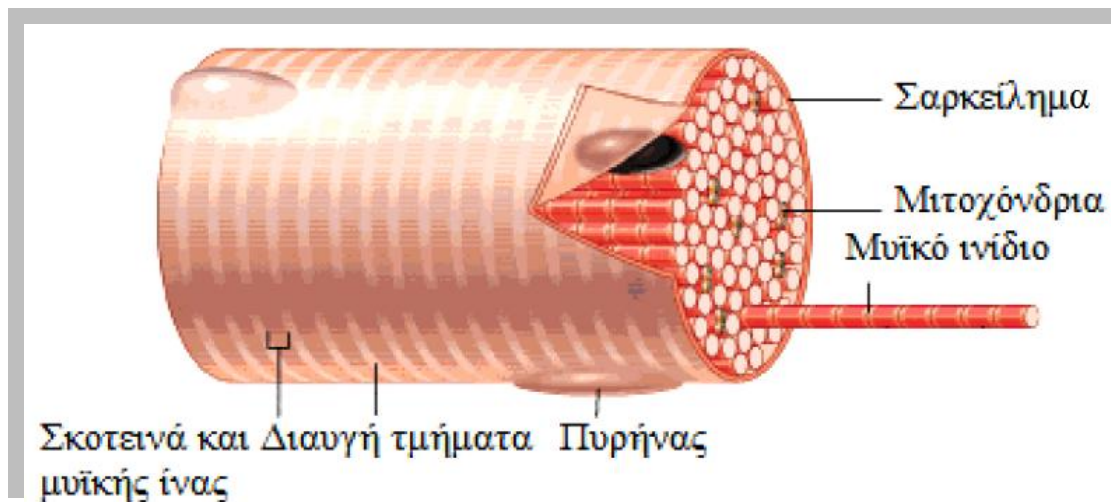


Εικόνα 1: Δομή σκελετικού μυός (<http://en.academic.ru/dic.nsf/enwiki/612392>).

Τις μυϊκές ίνες συγκροτούν πολυπύρρηνα κύτταρα (συγκύττια) με κυλινδρικό σχήμα, μεγάλο μήκος και διάμετρο 10-100 μm . Το πάχος τους ποικίλει τόσο στους διάφορους μυς όσο και στον κάθε μυ ενώ

αυξάνει με τη μηχανική άσκηση. Έτσι, σε περίπτωση παρατεταμένης λειτουργίας των μυών, η παρατηρούμενη υπερτροφία τους οφείλεται στην αύξηση του πάχους των μυϊκών ινών και όχι του αριθμού. Ελαττώνεται, αντίθετα, σε περίπτωση μακροχρόνιας ακινητοποιήσεως των μυών (Μιχαήλ, 1996).

Η γραμμωτή μυϊκή ίνα εμφανίζει πολύπλοκη κατασκευή (Εικόνα 2). Απαρτίζεται από (α) ένα λεπτό περίβλημα, το σαρκείλημα, (β) από άφθονα και λεπτά μυϊκά ινίδια, που σχηματίζουν τη συστατική ουσία της μυϊκής ίνας, (γ) από το σαρκόπλασμα και (δ) από τους πυρήνες (Μιχαήλ, 1996).



Εικόνα 2: Επιμήκης ή σωληνοειδής κατασκευή μυοσκελετικού κυττάρου (<http://faculty.etsu.edu/forsman/Histologyofmuscleforweb.htm>).

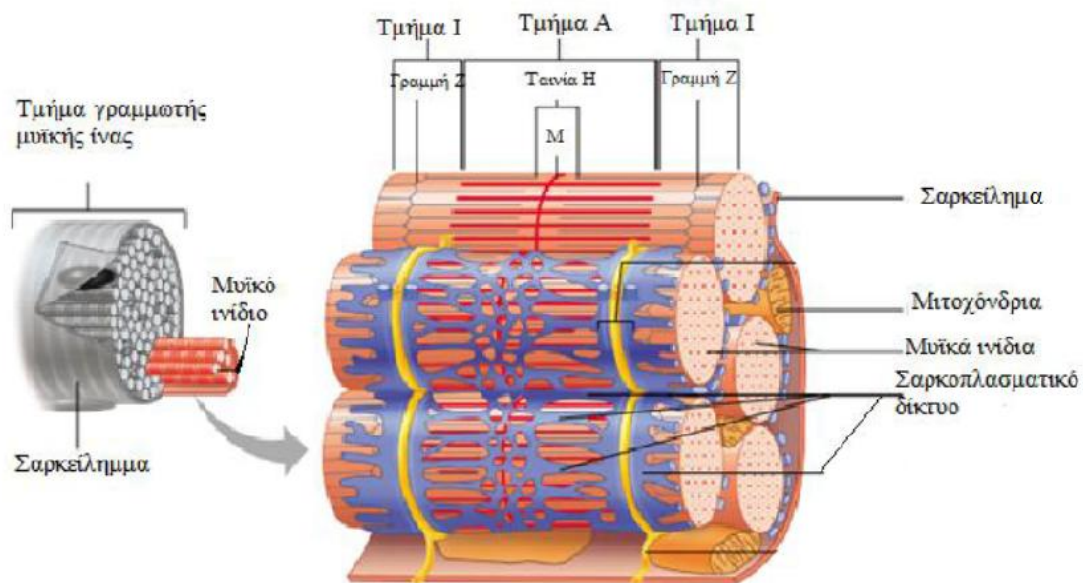
Το σαρκείλημα, όπως φαίνεται στην Εικόνα 2, περιβάλλει όλη τη μυϊκή ίνα. Είναι πολύ λεπτό, χρωματίζεται ελάχιστα και για τους λόγους αυτούς είναι ελάχιστα ορατό στο οπτικό μικροσκόπιο. Με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο αποκαλύφθηκε ότι το σαρκείλημα, που θεωρείται από πολλούς συγγραφείς ως ταυτόσημο με την κυτταρική μεμβράνη των μυϊκών ινών, αποτελείται από τη κυτταρική μεμβράνη της μυϊκής ίνας, που δε διαφέρει από εκείνη των άλλων κυττάρων και από το εξωτερικό πέταλο, που ταυτίζεται με το βασικό υμένα (πέταλο) των επιθηλιακών κυττάρων (Μιχαήλ, 1996).

1.4 Μυϊκά ινίδια

Τα μυϊκά ινίδια αποτελούν τη συστατική ουσία της μυϊκής ίνας και επομένως το σπουδαιότερο συστατικό στοιχείο της. Έχουν πάχος 1-2 μm και διεύθυνση παράλληλη προς τον επιμήκη άξονα της ίνας. Συγκροτούνται από διαδοχικά τμήματα διαφορετικής πυκνότητας, σκοτεινά και διαυγή, από τα οποία τα σκοτεινά είναι θετικώς διπλοθλαστικά (ανισότροπη ουσία), ενώ τα διαυγή απλοθλαστικά (ισότροπη ουσία). Επειδή τόσο τα σκοτεινά όσο και τα διαυγή τμήματα των μυϊκών ινιδίων μιας γραμμωτής μυϊκής ίνας βρίσκονται στα ίδια επίπεδα, η μυϊκή ίνα εμφανίζει εγκάρσιες γραμμώσεις, σκοτεινές και διαυγείς, που παράγονται από τα αντίστοιχα τμήματα των μυϊκών ινιδίων (Εικόνα 2). Το μήκος των διαυγών τμημάτων αυξομειώνεται ανάλογα με τη λειτουργική κατάσταση των μυϊκών ινιδίων, ενώ το μήκος των σκοτεινών τμημάτων παραμένει σταθερό. Το γεγονός αυτό έχει σχέση με το μηχανισμό της συστολής (Μιχαήλ, 1996).

Τα σκοτεινά τμήματα σημειώνονται χάρη συντομίας με το γράμμα A και τα διαυγή με το γράμμα I (προέρχονται από τα αρχικά των *anisotropic* και *isotropic* που αντιστοιχούν στην ανισότροπη, δηλ. σκοτεινή και την ισότροπη, δηλ. φωτεινή διάθλαση του φωτός, αντίστοιχα). Κάθε διαυγές τμήμα διασχίζεται στο μέσο του από μια λεπτή, σκοτεινή και διπλοθλαστική γραμμή Z. Το μεταξύ δύο διαδοχικών γραμμών Z τμήμα του μυϊκού ινιδίου έχει μήκος 2,5 μm περίπου και λέγεται σαρκομερίδιο. Το σαρκομερίδιο αποτελεί την ανατομική και λειτουργική μονάδα της μυϊκής ίνας, μέσα στην οποία τελούνται οι διεργασίες της μυϊκής συστολής (Εικόνα 3). Τα σκοτεινά τμήματα παρουσιάζουν στη μέση μοίρα τους μια διαυγέστερη ζώνη, την ταινία H, που εμφανίζει στο μέσο μια σκοτεινή γραμμή, τη γραμμή M. Εναλλάσσονται έτσι σε κάθε μυϊκό ινίδιο τμήματα σκοτεινά και διαυγή, τα οποία βρίσκονται στα ίδια επίπεδα σε όλα τα μυϊκά ινίδια της

μυϊκής ίνας, με την ακόλουθη σειρά, που εκφράζει και τη σύνθεση του σαρκομεριδίου: Z, 1/2I, 1/2A, M, 1/2A, 1/2I, Z (Μιχαήλ, 1996).



Εικόνα 3: Τρισδιάστατη άποψη σαρκομεριδίου ενός απλού μυϊκού ινιδίου.

(<http://faculty.etsu.edu/forsman/Histologyofmuscleforweb.html>).

1.5 Μυϊκά νημάτια

Τα μυϊκά ινίδια, όπως αποκαλύπτει το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, αποτελούνται από τα μυϊκά νημάτια που διακρίνονται σε δύο είδη, παχιά και λεπτά, που διαφέρουν όχι μόνο στις διαστάσεις, αλλά και στη χημική τους σύσταση. Κάθε μυϊκό ινίδιο περιέχει 1000 ή περισσότερα μυϊκά νημάτια, από τα οποία τα 2/3 περίπου είναι λεπτά. Η εγκάρσια γράμμωση των μυϊκών ινιδίων είναι το αποτέλεσμα της σχέσεως που υπάρχει μεταξύ των δύο ειδών των νηματίων αυτών. Τα νημάτια είναι πρωτεϊνικής φύσης μόρια και διακρίνονται σε κύρια και επικουρικά (Πίνακας 1).

Τα παχιά νημάτια αποτελούνται από μυοσίνη, έχουν διάμετρο 10 nm και μήκος 1,6 μm, είναι παράλληλα και απέχουν μεταξύ τους 45 nm περίπου. Τα λεπτά νημάτια αποτελούνται κυρίως από ακτίνη, έχουν διάμετρο 5 nm και μήκος 1 μm, το ένα άκρο τους προσφύεται στη

γραμμή Z, ενώ το άλλο είναι ελεύθερο και απολήγει ανάμεσα στα παχιά νημάτια (Μιχαήλ, 1996).

Τα παχιά νημάτια χαρακτηρίζουν τα σκοτεινά τμήματα και τα λεπτά νημάτια τα διαυγή τμήματα του μυϊκού ινιδίου. Ενώ όμως τα λεπτά νημάτια συγκροτούν μόνα τους τα διαυγή τμήματα, τα ελεύθερα άκρα τους εκτείνονται και μέσα στα σκοτεινά τμήματα (στα μεταξύ των παχίων νηματίων διαστήματα), συμβάλλοντας έτσι και στη συγκρότηση των τελευταίων αυτών τμημάτων. Το διάστημα μεταξύ των ελεύθερων άκρων των λεπτών νηματίων προσδιορίζει την ταινία H των σκοτεινών τμημάτων, η οποία είναι σχετικά διαυγέστερη, γιατί σ' αυτή υπάρχουν μόνο τα παχιά νημάτια. Τέλος, η γραμμή M παράγεται από τις ακτινωτές νηματοειδείς συνδέσεις που υπάρχουν μεταξύ των ελαφρώς παχύτερων κεντρικών μοιρών των παχίων νηματίων, όπως φαίνεται στις εικόνες 3 και 5 (Μιχαήλ, 1996).

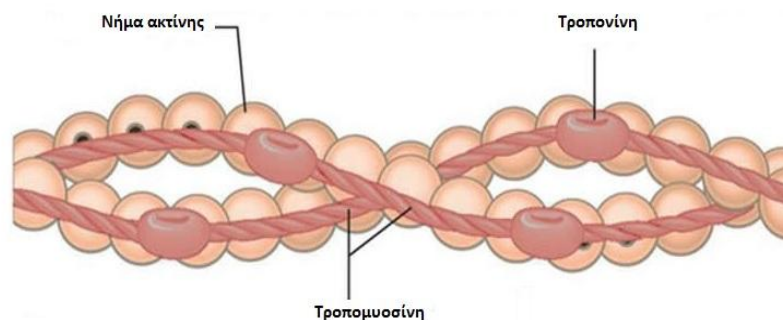
Πίνακας 1: Κύριες και επικουρικές πρωτεΐνες του σαρκομεριδίου (Craig and Radron, 2004). Επισημαίνεται η θέση των πρωτεϊνών αυτών στο σαρκομερίδιο.

Κύριες πρωτεΐνες του σαρκομεριδίου	
Ακτίνη	Λεπτά νημάτια
Μυοσίνη	Παχιά νημάτια
Επικουρικές συσταλτές πρωτεΐνες	
Αμορφίνη	Γραμμή Z
Z-πρωτεΐνη	Γραμμή Z
Προφιλίνη	Λεπτά νημάτια
Θυμοσίνη	Λεπτά νημάτια
Κοφιλίνη	Λεπτά νημάτια
Πρωτεΐνη capZ	Γραμμή Z
Τροπομοδουλίνη	Λεπτά νημάτια

Γελσολίνη	Λεπτά νημάτια
Φιλαμίνη	Γραμμή Z
Σπεκτρίνη	Γραμμή Z
Α-ακτινίνη	Γραμμή Z
Φιμπρίνη ή ινιδίνη	Γραμμή Z
Βιλίνη	Λεπτά νημάτια
Τροπομυοσίνη	Λεπτά νημάτια
Τροπονίνες	Λεπτά νημάτια
Β-ακτινίνη	Γραμμή Z
Βινκουλίνη	Γραμμή Z
Ταλίνη	Γραμμή Z
Τενσίνη	Γραμμή Z
Καντερίνες	Γραμμή Z
Δυστροφίνη	Γραμμή Z
Τιτίνη	Από Γραμμή Z μέχρι Γραμμή M
Νεμπουλίνη	Γραμμή Z
Επικουρικά ενδιάμεσα νημάτια	
Δεσμίνη	Γύρω από τη γραμμή Z
Βιμεντίνη	Γύρω από τη γραμμή Z
Νεστίνη	Γραμμή Z
Σουεμίνη	Γραμμή Z
Παραμενίνη	Γραμμή Z
Κυτοκερατίνες	Γραμμή Z
Επικουρικές πρωτεΐνες	
Πλεκτίνη	Γραμμή Z
Α,Β κρυσταλλίνη	Γραμμή I

1.6 Μοριακή δομή μυϊκών νηματίων

Τα μόρια της ακτίνης, με μοριακό βάρος 42.000, είναι σφαιρικά και έχουν διάμετρο 56 Å. Συντάσσονται το ένα κατόπι του άλλου σε δύο στίχους, που ελίσσονται παράλληλα ο ένας πάνω από τον άλλον, σε σχήμα πλεξίδας, σχηματίζοντας έτσι το κύριο μέρος του λεπτού νηματίου. Ανάμεσα στους δύο ελικοειδείς στίχους των μορίων της ακτίνης εκτείνονται νηματοειδή μόρια, που έχουν μήκος 400 Å, μιας άλλης πρωτεΐνης, της τροπομυοσίνης, ενώ σε κανονικά διαστήματα περίπου 400 Å, υπάρχουν μεταξύ των μορίων της ακτίνης, σφαιρικά μόρια μιας άλλης πρωτεΐνης, της τροπονίνης, τα οποία συνδέονται με την τροπομυοσίνη, όπως φαίνεται στην Εικόνα 4. Οι δύο τελευταίες αυτές πρωτεΐνες έχουν ρυθμιστικό ρόλο πάνω στην αμοιβαία επίδραση ακτίνης και μυοσίνης (Μιχαήλ, 1996).



Εικόνα 4: Σχηματική παράσταση της μοριακής δομής λεπτού νηματίου (<http://classes.midlandstech.edu/carterp/Courses/bio110/chap07/chap07.html>).

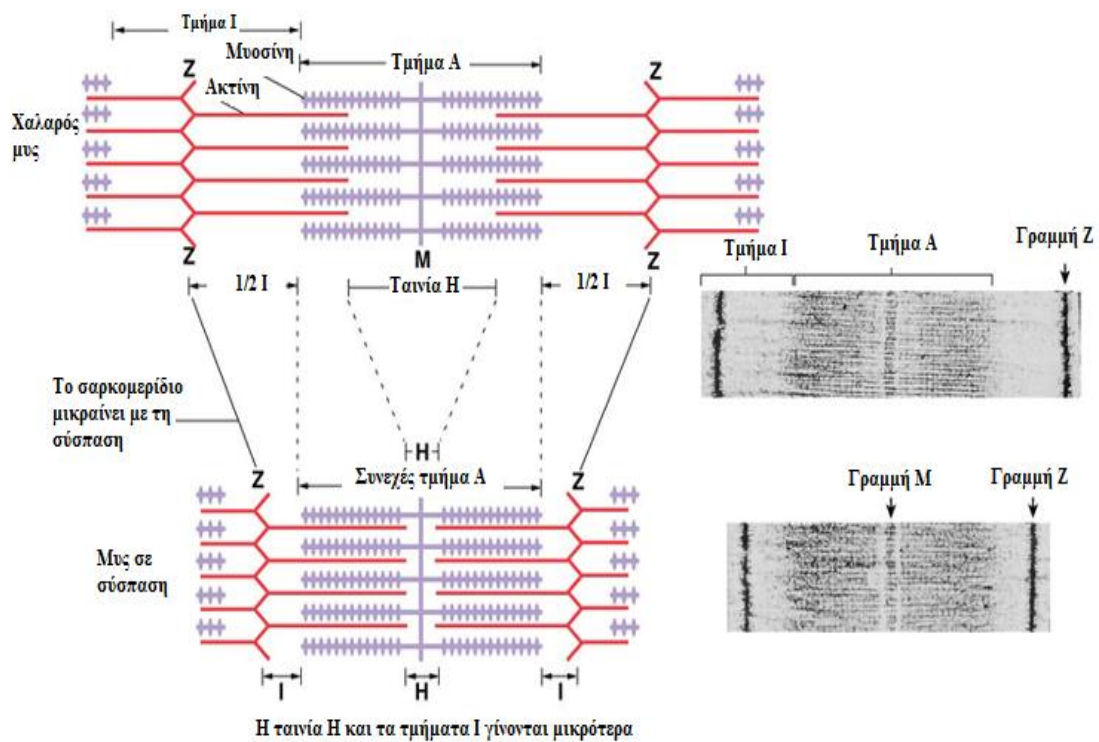
Όσον αφορά τη μυοσίνη, το πολύ μεγάλο μέγεθος αυτού του μορίου (M.B. 500.000) καθώς και ο ασύμμετρος σχηματισμός του, είχε κάνει τη φυσικοχημική ανάλυσή του δύσκολη κατά το παρελθόν. Ωστόσο, μόλις διαπιστώθηκε ότι τα πρωτεολυτικά ένζυμα, όπως η θρυψίνη, είναι σε θέση να διασπάσουν το μόριο της μυοσίνης σε δύο μοναδικά μόρια με καθορισμένα χαρακτηριστικά, το πρόβλημα απλοποιήθηκε. Το μικρότερο μόριο, η ελαφριά μερομυοσίνη (Light Mero-Myosin, L:M:M), έχει τη διαλυτότητα της ανέπαφης μυοσίνης, και το μεγαλύτερο μόριο της μερομυοσίνης (Heavy Mero-Myosin,

H:M:M) περιέχει τη τοποθεσία για την ενζυμική δραστηριότητα και την αλληλεπίδραση με την ακτίνη (Lowey and Cohen, 1962).

1.7 Μηχανισμός συστολής

Η συστολή του σαρκομεριδίου, και επομένως της μυϊκής ίνας, δεν είναι αποτέλεσμα της βραχύνσεως των παχιών ή λεπτών νηματίων. Οφείλεται, αντίθετα, όπως απέδειξαν οι Huxley and Hanson (1957a, b; θεωρία ολισθήσεως των νηματίων), στην ολίσθηση των λεπτών νηματίων πάνω στα παχιά νημάτια, που έχει ως συνέπεια (Εικόνα 5):

- ✓ τον περιορισμό και τελικά την εξαφάνιση της ταινίας H,
- ✓ τη μείωση της εκτάσεως του διαυγούς (I) τμήματος ως την τέλεια εξαφάνισή του,
- ✓ τη βράχυνση του σαρκομεριδίου (Μιχαήλ, 1996).



Εικόνα 5: Σχηματική παράσταση ενός σαρκομεριδίου κατά τη χάλαση (άνω) και τη σύσπαση (κάτω) (<http://samedical.blogspot.com/2010/07/contraction-of-skeletal-muscle.html>). Οι κεφαλές της μυοσίνης, που προβάλλουν πάνω στην ελεύθερη επιφάνεια των παχιών νηματίων, δεν αγγίζουν τα λεπτά νημάτια κατά τη χάλαση. Αντίθετα, κατά τη σύσπαση, επιδρούν αμοιβαία και συνδέονται με τα λεπτά νημάτια, τα οποία έλκουν προς τη γραμμή Μ, υποχρεώνοντας έτσι τις

γραμμές Z να κινηθούν προς τα ελεύθερα άκρα των παχιών νηματίων, με αποτέλεσμα τη μείωση σε μήκος του τμήματος I και της ταινίας H.

Για τη σύσπαση του μυός, όπως και για την επιτέλεση οποιουδήποτε έργου, είναι απαραίτητη η κατανάλωση ενέργειας. Το ATP είναι η κύρια και άμεση πηγή ενέργειας για το μυ. Η αρχική, βέβαια, πηγή ενέργειας στο μυ είναι τα ενδιάμεσα προϊόντα μεταβολισμού, κυρίως των υδατανθράκων και των λιπιδίων.

Εκτός από το ATP υπάρχει στο μυ και μια άλλη πλούσια σε ενέργεια ένωση, η φωσφοκρεατίνη, η οποία υδρολύεται σε κρεατίνη και σε φωσφορικές ρίζες. Κατά την ανάπαυση του μυός φωσφορικές ρίζες από το ATP μεταφέρονται στην κρεατίνη και σχηματίζεται φωσφοκρεατίνη. Κατά τη λειτουργία του μυός η φωσφοκρεατίνη υδρολύεται και με τις φωσφορικές ρίζες που παρέχει, σχηματίζονται ATP και ADP. Έτσι, υπάρχει διαθέσιμη ενέργεια για τη συνέχιση των συσπάσεων του μυός (Σμοκοβίτης, 2004).

1.8 Σύσταση ενός γραμμωτού μυός

Ένας τυπικός μύς θηλαστικού αποτελείται από περίπου 75% νερό, 19% πρωτεΐνες, 2,5% λιπίδια, 1,2% υδατάνθρακες και 2,3% διάφορες διαλυτές μη πρωτεϊνικής φύσεως ουσίες (Allen, 1979). Οι πρωτεΐνες μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις κύριες κατηγορίες, τις πρωτεΐνες του σαρκομεριδίου, του σαρκοπλάσματος και του υποστρώματος.

Οι πρωτεΐνες του σαρκομεριδίου αποτελούν το μεγαλύτερο τμήμα και αντιπροσωπεύουν περίπου το 60% της ποσότητας της συνολικής πρωτεΐνης των μυών. Από αυτές περίπου το 55% είναι μυοσίνη και το 20% ακτίνη. Το υπόλοιπο 25% αποτελούν οι υπόλοιπες πρωτεΐνες, όπως η τροπομυοσίνη, η τροπονίνη, και άλλες, όπως αναλύονται στον πίνακα 1 (Lawrie, 1978).

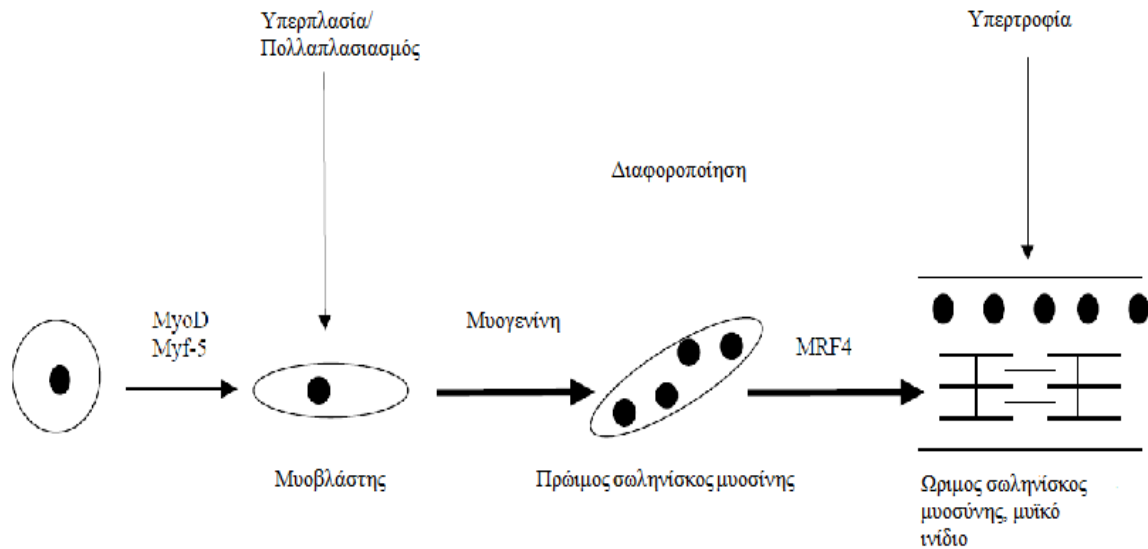
Οι πρωτεΐνες του σαρκοπλάσματος αντιπροσωπεύουν το 30% της ποσότητας της συνολικής πρωτεΐνης. Σε αυτές ανήκουν η μυοσφαιρίνη,

η οποία είναι χρωστική ουσία των μυών, και πολλά ένζυμα που εμπλέκονται στον ενεργειακό μεταβολισμό (Karlsson et al, 1999).

Οι πρωτεΐνες του υποστρώματος αντιπροσωπεύουν το 10% της ποσότητας της συνολικής πρωτεΐνης. Σ' αυτή την κατηγορία ανήκουν το κολλαγόνο και η ελαστίνη, που είναι τα κύρια συστατικά του συνδετικού ιστού (Karlsson et al, 1999).

1.9 Ανάπτυξη μυϊκής ίνας - Μυογένεση

Ο σκελετικός μυς αρχίζει να αναπτύσσεται σε πολύ πρώιμο στάδιο της εμβρυϊκής ανάπτυξης (Allen, 1979; Maltin et al, 2001b; Picard et al, 2002). Η εκκίνηση γίνεται στις μυοτόμες και νευρομυοτόμες περιοχές των σωματιών. Η δέσμευση των μυϊκών κυττάρων ξεκινάει από τα πεπτίδια σηματοδότησης (Wigmore and Evans, 2002), τα οποία έχουν ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της γονιδιακής έκφρασης για έναν από τους δύο μυϊκούς μεταγραφικούς παράγοντες, τον MyoD (myogenic differentiation antigen) ή τον myf-5 (myogenic factor-5). Η έκφραση αυτή είναι αρκετή για τη δέσμευση του κυττάρου η οποία θα έχει ως αποτέλεσμα τη μετατροπή του σε μυοβλάστη. Σε αυτό το στάδιο τα κύτταρα εξακολουθούν να είναι μονοπύρηννα και μπορούν να μεταναστεύσουν σε άλλες περιοχές εντός του εμβρύου και να πολλαπλασιαστούν (Brameld et al., 1998; Buttery et al., 2000). Η γονιδιακή έκφραση του τρίτου μεταγραφικού παράγοντα, της μυογενίνης, βοηθά στην ευθυγράμμιση και την τήξη των μυοβλαστών και την διαφοροποίησή τους σε σωληνίσκους μυοσίνης (myotubes) και αργότερα σε μυϊκές ίνες. Τα τελευταία στάδια της διαφοροποίησης εμπλέκουν έναν τέταρτο μυϊκό μεταγραφικό παράγοντα, τον MRF4 (muscle regulatory factor 4), και ως αποτέλεσμα έχουν τον σχηματισμό μεγάλων πολυπύρηνων κυττάρων (Brameld et al., 2003). Η διαδικασία της μυογένεσης φαίνεται στην Εικόνα 6.



Εικόνα 6: Διαδικασία της μυογένεσης (Brameld et al., 2003).

1.10 Αύξηση και διαφοροποίηση μυϊκής ίνας

Ο αριθμός των μυϊκών ινών μέσα σε ένα συγκεκριμένο μυ είναι καθορισμένος τη στιγμή της γέννησης στα περισσότερα θηλαστικά, με τα τρωκτικά να είναι η εξαίρεση. Ως εκ τούτου, η μεταγεννητική αύξηση των μυών συνεπάγεται αυξήσεις των μυϊκών ινών σε μέγεθος (υπερτροφία) και όχι σε αριθμό. Ο σχηματισμός των μυϊκών ινών πραγματοποιείται σε δύο (ή τρία) βήματα, με τις πρωτογενείς ίνες να διαμορφώνονται πρώτα, ενώ στη συνέχεια οι δευτερογενείς ίνες διαμορφώνονται γύρω από τις πρωτογενείς (Maltin et al, 2001b; Picard et al, 2002; Wigmore and Evans, 2002). Φαίνεται, επίσης, ότι υπάρχουν συγκεκριμένοι πρόδρομοι μυοβλάστες για τους εν λόγω διαφορετικούς πληθυσμούς των ινών. Έτσι, οι πρώιμοι εμβρυϊκοί μυοβλάστες διαμορφώνουν τις πρωτογενείς μυϊκές ίνες, στις αρχές έως τα μέσα της κύησης, ενώ οι όψιμοι εμβρυϊκοί μυοβλάστες διαμορφώνουν τις δευτερογενείς μυϊκές ίνες, στα μέσα έως το τέλος της κύησης. Σε γενικές γραμμές, οι πρωταρχικές ίνες τείνουν να μετατραπούν σε αργής σύσπασης οξειδωτικές (τύπου I) μυϊκές ίνες, ενώ οι δευτερογενείς μυϊκές ίνες τείνουν να μετατραπούν σε ταχείας σύσπασης ίνες (τύποι ΙΑ, ΙΒ), οι οποίες αναλύονται διεξοδικά στα επόμενα κεφάλαια. Ωστόσο, κάποιος βαθμός διαφοροποίησης φαίνεται να υφίσταται και

μετά τον τοκετό, διότι οι πρωτογενείς ίνες μπορούν να μετατραπούν σε ταχείας σύσπασης εάν βρεθούν σε ένα ταχείας σύσπασης μυ και οι δευτερογενείς μπορούν να μετατραπούν σε αργής σύσπασης εάν βρεθούν σε ένα αργής σύσπασης μυ (Maltin et al, 2001b; Picard et al, 2002). Σε μερικά είδη, έχει περιγραφεί ένας τριτογενής σχηματισμός μυϊκών ινών, είτε κατά τη διάρκεια του τέλους της κύησης ή της αρχής της μεταγεννητικής περιόδου. Οι ίνες αυτές συνδέονται στενά με τις δευτερογενείς ίνες και φαίνεται να διαμορφώνουν όλους τους τύπους των μυϊκών ινών. Επιπλέον, ένας πληθυσμός μυοβλαστών (δορυφορικών κυττάρων) θα επιζήσει μέχρι την ενηλικίωση και θα είναι σε θέση να πολλαπλασιαστεί με τις υπάρχουσες ίνες κατά τη διάρκεια της μεταγεννητικής ανάπτυξης (υπερτροφία) ή σε περίπτωση μυϊκής βλάβης (Brameld et al., 2003).

2. Κατηγορίες μυϊκών ινών

2.1 Γενικά

Οι μυϊκές ίνες αντιπροσωπεύουν έναν ανομοιογενή πληθυσμό που διαφέρει στη δομή, στη συστατικότητα, στο μεταβολισμό και σε διάφορες φυσιολογικές ιδιότητες (Pette and Staron, 1990). Ο σκελετικός μυς παρουσιάζει αξιοσημείωτα χαρακτηριστικά προσαρμογής σε έναν αριθμό γενετικών, διατροφικών και περιβαλλοντικών συνθηκών κατά τη διάρκεια της εκτροφής (Lefaucher, 2010). Η δυναμική φύση των μυϊκών ινών καθιστά δύσκολη την ταξινόμηση δεδομένου ότι ορισμένα χαρακτηριστικά μπορούν να αλλάξουν χωρίς να επηρεαστούν τα υπόλοιπα ή χωρίς να αλλοιωθεί το ιστοχημικό αποτύπωμα της μυϊκής ίνας όπως συμβαίνει κατά την ανάπτυξη, την λειτουργική προσαρμογή ή σε παθολογικές καταστάσεις. Επίσης, οι μεταβατικοί τύποι μυϊκών ινών δυσκολεύουν την ταξινόμηση. Θεωρητικά, υπάρχουν τόσα είδη μυϊκών ινών, όσες και οι κινητικές μονάδες που υπάρχουν στο μυ (Karlsson et al, 1999). Η κινητική μονάδα του μυός αποτελείται από τη νευρική ίνα, και το νευρικό κύτταρο από το οποίο ξεκινά, μαζί με τους κλάδους της, και την ομάδα των μυϊκών ινών στις οποίες απολήγει (Σμοκοβίτης, 2004).

Για σχεδόν έναν αιώνα, οι επιστήμονες πίστευαν, ότι οι σκελετικές μυϊκές ίνες χωρίζονται σε δύο κατηγορίες, τις ‘γρήγορες’ και τις ‘αργές’. Το 1873 όταν άρχισε να μελετάει τις μυϊκές ίνες ο κορυφαίος Γάλλος ιστολόγος Ranvier έγινε γρήγορα αποδεκτό ότι οι γρήγορες μυϊκές ίνες είναι συνήθως λευκές και έχουν χαμηλά επίπεδα μυοσφαιρίνης, ενώ οι αργές μυϊκές ίνες είναι συνήθως ερυθρές και έχουν υψηλά επίπεδα μυοσφαιρίνης. Όταν βρέθηκε ότι το χρώμα οφείλεται στη μυοσφαιρίνη και η μυοσφαιρίνη σχετίζεται με τον αερόβιο μεταβολισμό, εξηγήθηκε η σχέση μεταξύ του ερυθρού χρώματος και της ταχύτητας συστολής. Οι λευκές μυϊκές ίνες με χαμηλή αερόβια δυνατότητα βρέθηκαν ενισχυμένες με γλυκολυτικά ένζυμα που τους επιτρέπουν να αποκτούν γρήγορα ενέργεια μέσω της ατελούς οξειδωσης του γλυκογόνου. Έτσι εξηγείται το γεγονός ότι οι

λευκές μυϊκές ίνες δεν έχουν αντοχή στην κόπωση όταν εξαντληθούν τα αποθέματα γλυκογόνου, ενώ παράλληλα, εξηγείται η σπουδαιότητα του διαστήματος αναμονής για την απομάκρυνση του γαλακτικού οξέος μέσω του κυκλοφορικού συστήματος (Denny-Brown, 1929; Feltpcamp and Feltpcamp-Vroom, 1965).

Από τα μέσα του 20^{ου} αιώνα, όταν άρχισαν να αναπτύσσονται ιστολογικές τεχνικές, έγινε αποδεκτή η ύπαρξη μιας τρίτης ενδιάμεσης κατηγορίας μυϊκών ινών, με γρήγορη ταχύτητα συστολής και με αερόβιες και αναερόβιες ικανότητες, ταυτοχρόνως (Ogato and Mori, 1964; Feltpcamp and Feltpcamp-Vroom, 1965).

2.2 Προσδιορισμός μυϊκών ινών

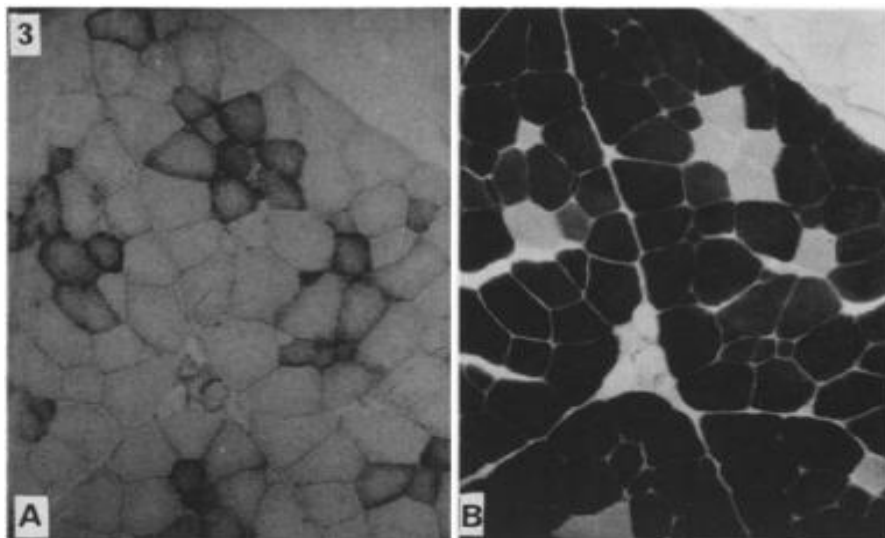
Κατά τη διάρκεια των τελευταίων 40 ετών, έχουν γίνει εκτεταμένες μελέτες σχετικά με τους τύπους των μυϊκών ινών τόσο σε κυτταρικό όσο και σε μοριακό επίπεδο (Cassens and Cooper, 1971; Pette and Staron, 1990). Οι μυϊκές ίνες μπορούν να χαρακτηριστούν από το συνολικό τους αριθμό (total number of fibres, TNF), την διατομή τους (cross-sectional area, CSA), το μήκος τους, τη συσταλτότητά τους και άλλες φυσιολογικές ή μεταβολικές ιδιότητες (Pette and Staron, 1990; Lefaucher, 2010). Οι πιο συνηθισμένες μέθοδοι προσδιορισμού, θα αναφερθούν συνοπτικά. Οι όροι, στην επανεξέταση αυτή, θα χρησιμοποιηθούν όπως στις πρωτότυπες δημοσιεύσεις.

2.2.1 Ιστοχημικός προσδιορισμός

Ο Gauthier (1969) χρησιμοποίησε μια μέθοδο που βασίζεται σε ιστοχημικές αντιδράσεις της αερόβιας οξειδωτικής ικανότητας, με τη χρήση του ενζύμου αφυδρογονάση του ηλεκτρικού οξέος (Succinate dehydrogenase, SDH). Έτσι, κατάφερε να διακρίνει τους τρεις κύριους τύπους των μυϊκών ινών, τον ‘λευκό’, τον ‘ερυθρό’ και τον ‘ενδιάμεσο’. Βασικά, με αυτή τη μέθοδο αντανακλώνται οι διαφορές στο μιτοχονδριακό περιεχόμενο.

Μία άλλη αξιόπιστη μέθοδος που χρησιμοποιείται συχνά για την ιστοχημική κατάταξη των μυϊκών ινών βασίζεται στη διαφορά ευαισθησίας της δραστηριότητας της ATP-άσης μετά την έκθεση είτε σε υψηλές είτε σε χαμηλές τιμές pH. Οι συνθήκες διεξαγωγής αυτής της διαδικασίας καθορίζονται για κάθε είδος ξεχωριστά. Οι τύποι που είναι δυνατόν να οριοθετηθούν με βάση τη δραστηριότητα της ATP-άσης των μυϊκών ινιδίων (muscle ATPase, mATPase) είναι ο οξειδωτικός ή I, ο ενδιάμεσος ή IIA και ο γλυκολυτικός ή IIB (IIC) (Brooke and Kaiser, 1970).

Οι Ashmore και Doerr (1971) συνδύασαν την οξειδωτική χρώση της SDH με τη δραστηριότητα της ATP-άσης και οδηγήθηκαν σε τρεις τύπους μυϊκών ινών, τις οξειδωτικές ίνες βR με την ATP-άση σταθερή στα οξέα, τις οξειδωτικές ίνες αR με την ATP-άση ασταθή στα οξέα και τις γλυκολυτικές ίνες αW με την ATP-άση ασταθή στα οξέα, όπως φαίνεται και στην Εικόνα 7.



Εικόνα 7: Διαδοχικές τομές μυϊκών ινών χοίρου (pH 10,5) x320 A. με την μέθοδο SDH, με την οποία οι βR ίνες παρουσιάζουν πιο έντονη αντίδραση σε σχέση με τις αR αλλά οι αW δεν διακρίνονται εύκολα, B. με την μέθοδο της ATP-άσης όπου οι γλυκολυτικές ίνες παρουσιάζονται σκουρόχρωμες και οι οξειδωτικές ανοιχτόχρωμες (Ashmore and Doerr, 1971).

Όσον αφορά τα μικρά μηρυκαστικά, όλες οι μελέτες που κατατάσσουν τις σκελετικές μυϊκές ίνες συμφωνούν στη δυσκολία διαφοροποίησης μεταξύ των τύπων ΙΑ και ΙΒ, ως εκ τούτου, η χρήση και άλλων ιστοχημικών δεικτών φαινόταν αναγκαία. Έτσι, οι συγγραφείς οι οποίοι ταξινόμησαν τις ΙΑ και ΙΒ ίνες στους χοίρους μέσω της τεχνικής της mATP-άσης, για τα μικρά μηρυκαστικά χρησιμοποίησαν το NADH του τετραζολίου (Reduced Nicotinamide Adenine Dinucleotide), μια ιστοχημική τεχνική που είναι σε θέση να προσδιορίσει τις ταχείας σύσπασης οξειδωτικές και γλυκολυτικές μυϊκές ίνες (Fast Oxidative-Glycolytic, FOG) και ταχείας σύσπασης γλυκολυτικές ίνες (Fast Glycolytic, FG) που αντιστοιχούν στις ΙΑ και ΙΒ, αντίστοιχα (Suzuki and Cassens, 1983). Ο συνδυασμός των ιστοχημικών χρώσεων με το οξειδοαναγωγικό ένζυμο της αναγωγής NADH του τετραζολίου και την ATP-άση, οδήγησε σε τρεις κύριους τύπους ινών: οξειδωτικές αργής σύσπασης (Slow Oxidative, SO), ταχείας σύσπασης οξειδωτικές και γλυκολυτικές (FOG) και ταχείας σύσπασης γλυκολυτικές (FG) (Peter et al, 1972).

Τα συστήματα ταξινόμησης που βασίζονται στις χρώσεις των ενζύμων που εμπλέκονται στον οξειδωτικό μεταβολισμό (Peter et al., 1972) και τη δραστηριότητα της mATP-άσης (Brooke and Kaiser, 1970) φαίνεται να είναι ασυμβίβαστα. Οι ίνες SO ανταποκρίνονται στις ίνες τύπου Ι, αλλά οι FG και FOG ίνες δεν αντιστοιχούν πλήρως στους τύπους ΙΑ, ΙΒ ή ΙΙC (Pette and Staron, 1990). Οι Essen-Gustavsson και Lindholm (1984) κατατάσσοντας διάφορους μύες των χοίρων, σύμφωνα με τη δραστηριότητα της ATP-άσης (Ι, ΙΑ και ΙΒ) και της αναγωγής NADH του τετραζολίου, διαπίστωσαν ότι το 15-20% των ινών τύπου ΙΒ των ραχιαίων μυών χρωματιζόταν ως ενδιάμεσοι με τη μέθοδο της αναγωγής NADH του τετραζολίου. Παρόμοια αποτελέσματα έχουν βρεθεί από τους Fernandez et al. (1995) οι οποίοι χρησιμοποίησαν χρώσεις ATP-άσης και SDH και έδειξαν ότι το 7% των ινών τύπου ΙΒ του θωρακοσφυϊκού μύος (*m. longissimus dorsi*) χρωματίζονται με τη χρώση SDH και συνεπώς μπορούν να

χαρακτηριστούν ως αR ίνες σύμφωνα με την ταξινόμηση των Ashmore και Doerr (1971).

Πιο πρόσφατα, έχουν γίνει διαθέσιμες, ανοσοϊστοχημικές μελέτες, οι οποίες χρησιμοποιούν μονοκλωνικά αντισώματα που δρουν έναντι ισομορφών μυοσίνης, σε μυς με υπεροχή αργών ή γρήγορων μυϊκών ινών (Schiaffino et al., 1986; Schiaffino et al. 1989; Gorza, 1990). Σύμφωνα με τους Klont et al. (1998), μπορούν να προσδιοριστούν ανοσοϊστοχημικά τρεις υπότυποι μυϊκών ινών, ΙΙΑ, ΙΙΧ και ΙΙΒ. Ο τύπος μυϊκών ινών ΙΙΧ που είναι σταθερός στα οξέα, είναι παρόμοιος με τον ΙΙΒ και οι αερόβιες ιδιότητες των ενδιάμεσων είναι μεταξύ των τύπων ΙΙΒ και ΙΙΑ. Μέρος της παραπάνω ασυμβατότητας μεταξύ των συστημάτων κατάταξης μπορεί να εξηγηθεί με αυτούς τους υπότυπους (Klont et al., 1998).

2.2.2 Βιοχημικός προσδιορισμός

Η κατάταξη των μυών σε οξειδωτικούς και γλυκολυτικούς και οι συστατικές τους ιδιότητες μπορούν επίσης να αξιολογηθούν μέσω βιοχημικών τεχνικών, δεδομένου ότι η συγκέντρωση, οι δραστηριότητες και τα ποσοστά των διαφόρων ενζύμων που χρησιμοποιούνται για τη σύσπαση των μυών και το μεταβολισμό της ενέργειας διαφέρουν στους διάφορους τύπους των μυών (KieSSLing and Hansson, 1983; Pette and Staron, 1990).

Οι Briand et al. (1981) χρησιμοποίησαν την ATP-άση και τις δραστηριότητες γλυκολυτικών και μιτοχονδριακών ενζύμων για την ταξινόμηση δώδεκα διαφορετικών μυών προβάτων σε τρεις τύπους. Παρόμοιες μελέτες έχουν διεξαχθεί σε διάφορους μυς βοοειδών (Talmant et al., 1986) και χοίρων (Monin et al., 1987).

Ένας άλλος τρόπος προσδιορισμού των μυϊκών τύπων είναι η απομόνωση των διαφόρων ισόμορφων της μυοσίνης MyCH (Myosin Heavy Chain) με ηλεκτροφόρηση. Τέσσερις διαφορετικές ισόμορφες αλυσίδες μυοσίνης (MyHC) έχουν εντοπιστεί με βάση τους τύπους ινών της ATP-άσης: MHCI είναι ο τύπος Ι, MHCIIa είναι ο τύπος ΙΙΑ,

MHCIIb είναι ο τύπος IIb και MHCIIId(x) είναι ο τύπος IID(X) (Hamalainen and Pette, 1995). Οι μυϊκές ίνες μπορούν να περιέχουν είτε ένα τύπο MyHC (Myosin Heavy Chain) είτε να συνδυάζουν περισσότερους από έναν (Rivero et al., 1996; Rosser et al., 1996). Αυτό δημιουργεί ένα μεγάλο φάσμα μεταξύ των διαφόρων τύπων μυϊκών ινών, οι οποίες σε συνδυασμό με διάφορες ισόμορφες αλυσίδες μυοσίνης οδηγούν σε μια ποικιλομορφία πιο πολύπλοκη από αυτή που μπορεί να εντοπιστεί ιστοχημικά (Klont et al., 1998).

2.3 Βιολογικά χαρακτηριστικά των γραμμωτών μυϊκών ινών

Το σύνολο των ερευνητών συμφωνεί στην ύπαρξη τριών κυρίαρχων τύπων μυϊκών ινών, που έχουν προσδιοριστεί με ιστοχημικές μεθόδους (Brooke and Kaiser, 1970). Τα διάφορα είδη μυϊκών ινών παρουσιάζουν διαφορετικές συσταλτικές, μεταβολικές, φυσιολογικές, χημικές και μορφολογικές ιδιότητες.

Οι **Type I** μυϊκές ίνες ή **οξειδωτικές**, εμφανίζουν ελάχιστο σαρκοπλασματικό δίκτυο και δραστηριότητα της ATP-άσης ενώ μπορούν να αντέξουν παρατεταμένο έργο χαμηλής δύναμης σε συνδυασμό με ένα καλά αναπτυγμένο οξειδωτικό μεταβολισμό, μια αποτελεσματική πυκνότητα τριχοειδών και μικρή διάμετρο. Οι ίνες αυτές παρουσιάζουν χαμηλό όριο διέγερσης (υψηλή ευαισθησία Ca^{2+}) και χρησιμοποιούν μεγάλο ποσοστό ενέργειας *in vivo* επειδή συχνά προορίζονται για τη διατήρηση χαμηλής έντασης συστολής για τις βασικές κινήσεις. Είναι φτωχές σε γλυκογόνο, πλούσιες σε μυοσφαιρίνη και τριγλυκερίδια, ενώ έχουν μεγάλη αντοχή στην κόπωση. Είναι αποδεδειγμένο ότι η πρόσληψη γλυκόζης (Bonen et al., 1981), το επίπεδο GLUT-4 (Glucose transporter type 4) και η δραστηριότητα της εξοκινάσης (Kern et al., 1990), η ενσωμάτωση της ^{14}C -γλυκόζης στο γλυκογόνο (Bär and Blanchaer, 1965), ο κύκλος του γλυκογόνου (Villa-Moruzzi et al., 1979), ο αριθμός των υποδοχέων της ινσουλίνης (Lefaucheur and Vigneron, 1986), και η ευαισθησία στην ινσουλίνη (Henriksen et al., 1990) είναι υψηλότερες στις αργής

σύσπασης τύπου I ίνες σε σχέση με τις ταχείας σύσπασης τύπου II, και ιδίως του τύπου IIb (Lefaucheur, 2010).

Αντίθετα, οι **Type II λευκές (IIb)** μυϊκές ίνες ή **γλυκολυτικές**, εμφανίζουν έντονο σαρκοπλασματικό δίκτυο και δραστηριότητα της ATP-άσης και μπορούν να αντέξουν σύντομες και έντονες συσπάσεις που τροφοδοτούνται από την άμεση διαθεσιμότητα της φωσφοκρεατίνης και της υποβάθμισης του τοπικού γλυκογόνου, μέσω της γλυκολυτικής οδού. Οι ίνες αυτές χαρακτηρίζονται από υψηλό ποσοστό διέγερσης και δεν χρησιμοποιούν μεγάλη ποσότητα ενέργειας *in vivo* επειδή χρησιμοποιούνται περισσότερο περιστασιακά και προορίζονται για βίαιες μετακινήσεις μικρής διάρκειας π.χ. να ξεφύγουν από άμεσο κίνδυνο. Οι γλυκολυτικές ίνες τύπου IIb παρουσιάζουν χαμηλή πυκνότητα τριχοειδών και μεγάλη διάμετρο, είναι πλούσιες σε γλυκογόνο, φτωχές σε μυοσφαιρίνη και τριγλυκερίδια ενώ δεν έχουν αντοχή στη κόπωση. Έχουν χαμηλά επίπεδα GLUT-4 και χαμηλή δραστηριότητα της εξοκινάσης, που υποδηλώνουν την κυρίαρχη χρησιμοποίηση του τοπικά αποθηκευμένου γλυκογόνου κατά τη διάρκεια της έντονης συστολής, με παραγωγή γαλακτικού οξέος (Lefaucheur, 2010).

Οι **Type II ερυθρές (IIa)** μυϊκές ίνες ή **ενδιάμεσες**, διακρίνονται από χαρακτηριστικά που υποδεικνύουν γρήγορη ταχύτητα συστολής και ισχυρό αερόβιο μεταβολισμό. Αυτές οι μυϊκές ίνες περιέχουν πολύ μεγάλες ποσότητες μυοσφαιρίνης, πάρα πολλά μιτοχόνδρια και πάρα πολλά τριχοειδή αγγεία, είναι κόκκινες, έχουν πολύ υψηλό δυναμικό παραγωγής ATP από οξειδωτικές μεταβολικές διαδικασίες, διαχωρίζουν το ATP με ταχύτερο ρυθμό, έχουν γρήγορη ταχύτητα συστολής και είναι ανθεκτικές στην κόπωση. Τέτοιες ίνες σπάνια συναντώνται στους ανθρώπους (Lefaucheur, 2010).

Τέλος, τα χαρακτηριστικά των ινών **Type IIX** που επίσης αντιστοιχούν σε μια ενδιάμεση κατηγορία είναι παρόμοια με εκείνα των ινών IIb, με εξαίρεση την ταχύτητα συστολής που είναι μικρότερη

και τον οξειδωτικό μεταβολισμό που είναι ελαφρώς υψηλότερος (Lefaucheur, 2010).

Όσον αφορά τα ενδομυϊκά λιπίδια των μυϊκών ινών, μπορεί να είναι φωσφολιπίδια, μονο- δι- και τρι-γλυκερίδια (triacylglycerol, TAG), χοληστερόλη, εστέρες της χοληστερόλης και ελεύθερα λιπαρά οξέα. Το επίπεδο των TAG είναι μεγάλο στις αργής σύσπασης τύπου I ίνες, μέτριο στις οξειδο-γλυκολυτικές ίνες ΙΙΑ, και πολύ χαμηλό στις γλυκολυτικές τύπου ΙΙΒ (Essén-Gustavsson et al., 1994; Malenfant et al., 2001). Τα φωσφολιπίδια είναι τα κύρια συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών, η συμβολή τους στο συνολικό ενδομυϊκό λίπος είναι μεταξύ του 0,7% και 0,9% και είναι περίπου 30% υψηλότερο στους οξειδωτικούς σε σχέση με τους γλυκολυτικούς μυς, που πιθανόν να σχετίζεται με την υψηλότερη περιεκτικότητα σε μιτοχόνδρια στους οξειδωτικούς μυς (Leseigneur-Meynier and Gandemer, 1991; Alasnier et al., 1996).

Έχει αναφερθεί θετική συσχέτιση της αντίστασης στην ινσουλίνη των μυών και της συσσώρευσης ενδομυϊκών TAG (Van Loon and Goodpaster, 2006). Ωστόσο, αυτή η συσχέτιση δεν φαίνεται να αποτελεί μια λειτουργική σχέση επειδή,

- ✓ οι τύπου I ίνες περιέχουν περισσότερα TAG και είναι πιο ευαίσθητες στην ινσουλίνη, και
- ✓ η αντοχή στην κόπωση αυξάνει τόσο το ενδομυϊκό περιεχόμενο TAG όσο και την ευαισθησία στην ινσουλίνη.

Ως εκ τούτου, το επίπεδο των TAG δεν φαίνεται να θεωρείται αιτιώδης παράγοντας που επάγει την αντίσταση στην ινσουλίνη και θα μεσολάβήσει στους ενδιάμεσους μεταβολίτες των λιπιδίων (Turinsky, et al., 1990; Lefaucheur, 2010).

Στον πίνακα 2 παρατίθενται τα βιολογικά χαρακτηριστικά των τύπων των μυϊκών ινών.

Πίνακας 2: Συγκεντρωτικός πίνακας με τα βιολογικά χαρακτηριστικά των τύπων μυϊκών ινών I, IIa, IIx, IIb.

+, πολύ χαμηλό, ++, χαμηλό, +++, ενδιάμεσο, +++++, υψηλό, ++++++, πολύ υψηλό.

Ο πίνακας προσαρμόστηκε από τους: *Essen-Gustavsson et al. (1994)*; *Pette and Staron (2000)*; *Quiroz-Rothe and Rivero (2004)*; *Schiaffino and Reggiani (1996)*.

	I	IIA	IIx	IIb
Ταχύτητα συστολής	+	+++	++++	+++++
Μυϊκή ATP-άση	+	+++	++++	+++++
Οξειδωτικός μεταβολισμός	+++++	+++++	++	+
Γλυκολυτικός μεταβολισμός	+	++++	++++	+++++
Εξοκινάση	+++++	+++	+	+
GLUT-4	+++++	+++	+	+
Φωσφοκρεατίνη	+	+++++	+++++	+++++
Γλυκογόνο	+	+++++	++++	+++++
Τριγλυκερίδια	+++++	++	+	+
Πυκνότητα τριχοειδών	+++++	+++	++	+
Μυοσφαιρίνη	+++++	++++	++	+
Ρυθμιστική ικανότητα	+	++++	+++++	+++++
Διάμετρος	++	++	++++	+++++
Αντίσταση στην κόπωση	+++++	++++	++	+

2.4 Ονοματολογία των μυϊκών ινών

Όσον αφορά την ονοματολογία των μυϊκών ινών, έχει διαπιστωθεί ότι κατά το παρελθόν ο κάθε επιστήμονας ονόμαζε διαφορετικά τις μυϊκές ίνες, έτσι, ο αριθμός των αναγνωρισμένων τύπων μυϊκών ινών ήταν συνάρτηση του αριθμού των τεχνικών που χρησιμοποιούνταν για τον προσδιορισμό τους. Στη συνέχεια, οι περισσότεροι επιστήμονες συμφώνησαν στην ύπαρξη τριών κυρίαρχων τύπων μυϊκών ινών, ο καθένας με πολλαπλά ονόματα. Παρατηρήθηκε ακόμα και το φαινόμενο ο ίδιος συγγραφέας να χρησιμοποιεί σε κάθε εργασία διαφορετική ονοματολογία για τον χαρακτηρισμό των μυϊκών ινών, όπως φαίνεται και στον πίνακα 3 (Suzuki, 1971a, b and 1995; Suzuki and Cassens, 1983; Suzuki and Tamate, 1988).

Πίνακας 3: Ονοματολογία που χρησιμοποιήθηκε από διάφορους ερευνητές προκειμένου να ταξινομήσουν τις μυϊκές ίνες βοοειδών κατά το παρελθόν (Peinado et al, 2004).

Moody and Cassens (1968)	Red	Intermediate	White
Ashmore and Doerr (1971)	bR	aR	aW
Suzuki (1971a,b)	C, D	A	B
White et al. (1978)	I	IIA	IIB
Solomon et al. (1981)	bR	aR	aW
Suzuki and Cassens (1983)	IC, ID	IIA	IIB
Suzuki and Tamate (1988)	IC, ID	IIA	IIB, IIC
Carpenter et al. (1996)	SO	FOG	FG
Whipple and Koohmaraie (1992)	bR	aR	aW
Suzuki (1995)	SO1, SO2	FOG	FG
Menzel (1999a,b)	STO	FTO	FTG

2.5 Ανάλυση των χαρακτηριστικών των μυϊκών ινών

2.5.1 Τύπος συστολής

Η συσταλτικότητα των μυϊκών ινών βασίζεται σε διαφορές στην ευαισθησία της δραστηριότητας της ATP-άσης της ακτινομυοσίνης σε σχέση με το pH. Οι κύριοι τύποι μυϊκών ινών που έχουν προσδιοριστεί με ιστοχημικές μεθόδους είναι οι I, ΙΑ, ΙΒ (Brooke and Kaiser, 1970).

Η μοριακή βάση προκύπτει από τον πολυμορφισμό της αλυσίδας της μυοσίνης MyHC, όπου το κάθε ισόμορφο κωδικοποιείται από ένα μοναδικό γονίδιο (Weiss et al, 1999). Ωστόσο, τέσσερα ισόμορφα MyHC προσδιορίστηκαν σε σκελετικά κύτταρα επίμυος, ινδικού χοιρίδιου και κονίκλου με τους τύπους I, Ια, Ιx και Ιb (Bar and Pette, 1988; Schiaffino et al, 1989), το οποίο μας οδηγεί στην αναθεώρηση της κατηγοριοποίησης.

Η ταχύτητα συστολής αυξάνει με την εξής σειρά κατάταξης I<Ια<Ιx<Ιb (Sciaffino and Reggiani, 1996). Ενώ προσδιορίστηκε η παρουσία του Ιb MyHC γονιδίου σε όλα τα θηλαστικά, ο τύπος του ισόμορφου Ιb MyHC αρχικά είχε προσδιοριστεί μόνο στα μικρά θηλαστικά και δημοσιεύτηκε ότι δεν εκφράζεται στους σκελετικούς μυς των μεγάλων θηλαστικών όπως ο άνθρωπος, τα βοοειδή, οι ίπποι, οι αίγες και ο σκύλος (Arguello et al, 2001; Acevedo and Rivero, 2006).

Μέχρι πρόσφατα, οι ερευνητές συμφωνούσαν ότι το ισόμορφο με την υψηλότερη ταχύτητα συστολής του τύπου Ιb MyHC εκφράζεται μόνο στα μικρά θηλαστικά σε σχέση με την υψηλή ταχύτητα συστολής των μυών τους, αν συγκριθούν με μεγαλύτερα ζώα. Ωστόσο, πρόσφατα δεδομένα αποδεικνύουν ότι το ισόμορφο Ιb MyHC εκφράζεται ευρέως στους γλυκολυτικούς μυς του χοίρου και του λάμα (Lefaucheur et al, 1998; Da Costa et al, 2002; Lefaucheur et al, 2002; Graziotti et al, 2004; Lefaucheur et al, 2004). Ως εκ τούτου, η έκφραση του Ιb MyHC δεν περιορίζεται στα μικρά θηλαστικά και οι συμβατικοί τύποι I, ΙΑ,

IIb (Brooke and Kaiser, 1970) φαίνονται να μην προσαρμόζονται επαρκώς στους σκελετικούς μυς του χοίρου και του λάμα.

Η πρωτεΐνη που υπάρχει σε μεγαλύτερη αφθονία στους σκελετικούς μυς, σε ποσοστό 35%, είναι η μυοσίνη. Η δραστηριότητα της ATP-άσης της μυοσίνης είναι στοιχειώδης στον προσδιορισμό της ταχύτητας συστολής. Τουλάχιστον οχτώ συγκεκριμένα σκελετικά MyHC γονίδια βρίσκονται στους γραμμωτούς μυς των θηλαστικών, συμπεριλαμβανομένων δύο αναπτυξιακών (εμβρυϊκών), ενός αργού (τύπου I ή β-καρδιακού), ενός α-καρδιακού, τριών γρήγορων τύπων II MyCH (IIa, IIx, IIb) και ενός εξειδικευμένου οφθαλμικού ισόμορφου. Αυτά τα γονίδια είναι τοποθετημένα σε δύο συστάδες στο γονιδίωμα όλων των θηλαστικών που έχουν μελετηθεί μέχρι τώρα (Mahdali et al, 1984; Weiss et al, 1999a, b; Shrager et al, 2000; Davoli et al, 2002).

Ενώ στο παρελθόν οι επιστήμονες πίστευαν ότι η έκφραση του γονιδίου MyHC ρυθμίζεται μεταγραφικά (Cox and Buckingham, 1992), πρόσφατα δεδομένα υποδεικνύουν ότι η ρύθμιση του γονιδίου είναι πιο περίπλοκη λόγω της παρουσίας αμφίδρομων διαγονιδιακών προωθητών που συντονίζουν την έκφραση των διαφορετικών MyHC ισομόρφων (Haddad et al, 2008; Rinaldi et al, 2008).

2.5.2 Τύπος μεταβολισμού

Ο σκελετικός μυς χαρακτηρίζεται από δραματική αύξηση ενεργειακής κατανάλωσης για να ανταποκριθεί στην φυσική άσκηση. Έτσι, ένα μεγάλο μέρος του ATP υδρολύεται κατά τη διάρκεια της συστολής μέσω της ενεργοποίησης της ATP-άσης της ακτινομυοσίνης (Ashmore and Doerr, 1971; Peter et al., 1972).

Για την αρμονική λειτουργία των μυών απαιτείται ισορροπία μεταξύ κατανάλωσης και παραγωγής ATP, για την πρόληψη της εξάντλησης των αποθεμάτων ενέργειας. Δύο μεταβολικές οδοί χρησιμοποιούνται για την αναζωογόνηση των αποθεμάτων ενέργειας στους σκελετικούς μυς, δηλαδή η αερόβια ή οξειδωτική οδός μέσω της οποίας το γλυκογόνο, η γλυκόζη, τα αμινοξέα, τα κετονικά σώματα και

τα λιπίδια μπορούν να οξειδωθούν στα μιτοχόνδρια, η διαδικασία αυτή απαιτεί υψηλά επίπεδα οξυγόνου. Επίσης συναντάται και η αναερόβια ή γλυκολυτική οδός μέσω της οποίας οι αποθήκες γλυκογόνου μετατρέπονται γρήγορα σε γαλακτικό οξύ, χωρίς την παρουσία οξυγόνου (Ashmore and Doerr, 1971; Peter et al., 1972).

Ο αερόβιος μεταβολισμός επαρκεί για την κάλυψη της ζήτησης ενέργειας, όταν το οξυγόνο είναι αρκετό και οι μύες λειτουργούν με χαμηλή ένταση, αλλά αν η συστολή προχωρά πιο γρήγορα και με υψηλή ένταση, το οξυγόνο γίνεται περιορισμένο και οι μύες πρέπει να χρησιμοποιήσουν την ταχεία αναερόβια γλυκολυτική οδό για την παροχή ενέργειας. Η σημασία των δύο αυτών μεταβολικών οδών έχει χρησιμοποιηθεί για την κατηγοριοποίηση των μυϊκών ινών σε οξειδωτικές, ενδιάμεσες ή γλυκολυτικές (Ashmore and Doerr, 1971; Peter et al., 1972).

3. Μυϊκές ίνες και ποιότητα κρέατος

3.1 Γενικά

Η μειωμένη ανταγωνιστικότητα και η μειωμένη κατανάλωση κρέατος ανά άτομο ανάγκασε τη βιομηχανία κρέατος να στραφεί προς τον καταναλωτή και να ασχοληθεί με θέματα που σχετίζονται με την ποιότητα (Cross and Belk, 1994). Είναι γεγονός, ότι σημειώθηκε σταθερή μείωση κατανάλωσης κόκκινου κρέατος στην Ευρώπη από το 1980. Επικράτησε, επίσης, ανησυχία για την υγεία των καταναλωτών η οποία αφορούσε κυρίως την πρόσληψη κορεσμένου λίπους. Επιπρόσθετα, οι καταναλωτές έχασαν την εμπιστοσύνη τους στην ποιότητα του κρέατος και άρχισαν να ανησυχούν για την προέλευσή του και για τις μεθόδους παραγωγής του (Dransfield et al, 2003). Είναι πλέον σημαντικό για την βιομηχανία του κόκκινου κρέατος να αναπτύξει και να διατηρήσει στρατηγικές ασφαλείας που να αφορούν ολόκληρη την αλυσίδα παραγωγής του τροφίμου ώστε να μπορέσει να διαβεβαιώσει τους καταναλωτές όχι μόνο για τα υψηλά πρότυπα παραγωγής που αφορούν την ασφάλεια του προϊόντος και την ευζωία αλλά και για την ποιότητα του προϊόντος (Tompson, 2002; Bunger et al, 2009).

Η ποιότητα του κρέατος καθορίζεται από πλήθος ενδογενών και εξωγενών παραγόντων καθώς και από τις αλληλεπιδράσεις τους. Ένας ενδογενής παράγοντας που επηρεάζει την ποιότητα του τελικού προϊόντος είναι ο τύπος των μυϊκών ινών (Chang et al, 2003; Dingboom and Weijs, 2004). Η αναλογία των διαφόρων τύπων των μυϊκών ινών ρυθμίζεται από γενετικούς, φυσιολογικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες. Τα μέχρι στιγμής δεδομένα υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές στην αναλογία των τύπων στα μεγάλα μηρυκαστικά και στους χοίρους (Maltin et al, 2001a). Κατά το παρελθόν, έχουν μελετηθεί οι αναλογίες των τύπων των μυϊκών ινών για διάφορες φυλές βοοειδών, χοίρων, ίππων και κονίκλων (Nougues et al, 1974; Stull and Albert, 1980; Maltin et al, 1997; Klosowska and Fiedler, 2003; Maltin et al, 2003), κάτι το οποίο δεν ισχύει όσον αφορά

τις φυλές των μικρών μηρυκαστικών (Hawkins et al, 1985; Carpenter et al, 1996). Συνεπώς, είναι πολύ σημαντικό να παρατηρηθούν οι διαφορές στις αναλογίες των τύπων των μυϊκών ινών στα μικρά μηρυκαστικά ώστε να βελτιωθεί η ποιότητα του κρέατος που παράγουν μέσω βελτίωσης της διατροφής και των συνθηκών εκτροφής (Bunger et al, 2009).

Σε όλα τα κρεοπαραγωγά είδη, η γενετική επιλογή, η βελτίωση της διατροφής και των συνθηκών εκτροφής έχει οδηγήσει σε τεράστια αύξηση της αποτελεσματικότητας της ζωικής παραγωγής και της σύνθεσης του σφάγιου, μειώνοντας το λίπος, και αυξάνοντας τον μυϊκό ιστό. Πολλές μελέτες δείχνουν ότι η πρακτική αυτή θα επηρέαζε δυσμενώς ορισμένες πτυχές της ποιότητας του κρέατος (Cameron et al, 1999). Αν και είναι ευρέως αποδεκτό ότι ο τύπος της μυϊκής ίνας επηρεάζει την ποιότητα του κρέατος (Karlsson et al, 1999), λόγω υψηλής ανομοιογένειας των ιστών και της κυτταρικής σύνθεσης των σκελετικών μυών, καθώς και πολλών παραγόντων που επηρεάζουν την ποιότητα του κρέατος (πριν, κατά τη διάρκεια και μετά τη σφαγή), παραμένει δύσκολος ο προσδιορισμός των μυϊκών βιολογικών χαρακτηριστικών που εμπλέκονται στην ποιότητα του κρέατος (Cassens and Cooper, 1971).

Σύμφωνα με τους περισσότερους ερευνητές, οι οξειδωτικές μυϊκές ίνες σχετίζονται με βελτιωμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά του κρέατος (Calkins et al, 1981; Maltin et al, 1997; Maltin et al, 2001a; Wood et al, 2004), ενώ οι μύες με αυξημένο ποσοστό ενδιάμεσων μυϊκών ινών έχουν περισσότερο συνδετικό ιστό, λιγότερο λίπος και είναι λιγότερο τρυφεροί σε σχέση με τους μυς που έχουν περισσότερες γλυκολυτικές ίνες (Melton et al., 1974; Melton et al., 1975; Calkins et al., 1981).

Άλλοι ερευνητές υποστηρίζουν αδιαμφισβήτητα τη σχέση μεταξύ της τελικής ποιότητας του κρέατος και της σύνθεσης των μυϊκών ινών (Cassens and Cooper, 1971; Ashmore, 1974; Seideman and Theer, 1986). Όχι μόνο ο κάθε μυς διαφέρει από τους υπόλοιπους στη σύνθεση

των μυϊκών του ινών, αλλά ο τύπος των μυϊκών ινών, μέσα στον κάθε μυ, μπορεί να επηρεαστεί από τη φυλή (Johnston et al., 1981), το φύλο (Johnston et al., 1975), τη διατροφή (Suzuki et al., 1976) και την ηλικία του ζώου (Cornforth et al., 1980).

3.2 Παράγοντες που επηρεάζουν τον τύπο και τη μορφολογία των μυϊκών ινών

Τα ιστοχημικά χαρακτηριστικά των μυών, όπως έχει αναφερθεί, μπορούν να επηρεάζονται από πολλούς ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες, και με εξαίρεση το είδος του ζώου, που τεκμηριωμένα είναι πολύ σημαντικός παράγοντας, μέσα στο ίδιο είδος καθοριστικό ρόλο διαδραματίζουν το φύλο, ο γονότυπος, η ηλικία, η ανατομική θέση του μυός, η άσκηση, η διατροφή, η θερμοκρασία του περιβάλλοντος, καθώς και αυξητικοί παράγοντες (Hammond, 1932; Swynghedauw, 1986; Gunning and Hardeman, 1991; Pette and Staron, 2001; Gondret, et al., 2005). Η ποιότητα του κρέατος επίσης επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, μεταξύ των οποίων το είδος του μυός, οι συνθήκες πριν από και κατά τη σφαγή, η μεταποίηση του κρέατος, γενετικοί παράγοντες, η ηλικία και το βάρος του ζώου (Rosenvold and Andersen, 2003; Andersen et al., 2005; Dunshea et al., 2005; Scheffler and Gerrard, 2007; Ngapo and Gariepy, 2008).

3.2.1. Το φύλο

Ο Staun (1963) ήταν ο πρώτος ερευνητής που ασχολήθηκε με τους παράγοντες που επηρεάζουν τον αριθμό και το μέγεθος των μυϊκών ινών αλλά δεν βρήκε σημαντικές διαφορές ανάμεσα στα δύο φύλα, στους χοίρους.

Οι Moody et al. (1970) ανέφεραν ότι, παρόλο που το βάρος κατά τη σφαγή επηρεάζει τη διάμετρο των μυϊκών ινών, η φύση αυτής της επίδρασης εξαρτάται από το φύλο του ζώου και τον υπό μελέτη μυ.

Οι Miller et al. (1975) μέτρησαν την διάμετρο και τον αριθμό των μυϊκών ινών σε θηλυκούς και αρσενικούς χοίρους αλλά δεν βρήκαν

σημαντικές διαφορές ούτε στον τύπο των μυϊκών ινών, ούτε στη διάμετρο της ίνας.

Ο Karlsson (1993) διαπίστωσε ότι η διατομή των τύπων I, ΙΙΑ και ΙΙΒ ήταν μικρότερη στα αρσενικά ζώα σε σχέση με τα θηλυκά, στον επιμήκη ραχιαίο μυ χοίρων.

Οι Petersen et al. (1998) διαπίστωσαν ότι οι ίνες τύπου ΙΙΑ και ΙΙΒ είναι μικρότερες στους κάπρους σε σχέση με τα θηλυκά ζώα, ενώ το βάρος του επιμήκους ραχιαίου μυός είναι ακριβώς το ίδιο, κάτι το οποίο υποδηλώνει ότι ο αριθμός των μυϊκών ινών είναι υψηλότερος στα αρσενικά ζώα.

Οι Bungler et al. (2009) μελέτησαν τα χαρακτηριστικά των μυϊκών ινών σε πρόβατα Texel και Scottish Blackface, δημοσίευσαν ότι ούτε το μέσο μέγεθος της μυϊκής ίνας, ούτε ο αριθμός τους υποδηλώνει σημαντικές διαφορές ανάμεσα στα δύο φύλα, το μέσο μήκος των αργών μυϊκών ινών ήταν παρόμοιο, η σχετική συχνότητα των αργών μυϊκών ινών ήταν σημαντικά υψηλότερη στα αρσενικά, ενώ τα θηλυκά είχαν μεγαλύτερες γρήγορες μυϊκές ίνες.

Όσον αφορά τα ευνουχισμένα ζώα, έχει διαπιστωθεί ότι στα βοοειδή, ο ευνουχισμός μειώνει τη διατομή των μυϊκών ινών και αυξάνει το ποσοστό των γλυκολυτικών ινών (Dreyer et al, 1977; Young and Bass, 1984; Clancy et al, 1986; Seideman et al., 1986), οδηγώντας σε έναν πιο γλυκολυτικό μεταβολισμό (Brandstetter et al., 1998b).

Σε παρόμοια συμπεράσματα κατέληξαν και οι Lefaucheur and Gerrard (2000), οι οποίοι διαπίστωσαν ότι ο ευνουχισμός μειώνει την σχετική επιφάνεια των ινών τύπου I στους χοίρους.

3.2.2. Η φυλή

Αρκετά πειράματα, σε όλο τον κόσμο, έχουν αξιολογήσει την επίδραση της φυλής των προβάτων στην ανάπτυξη και τα χαρακτηριστικά του σφάγιου (Croston et al., 1987; Kirton et al., 1995).

Περιορισμένη έρευνα, ωστόσο, έχει γίνει για τη διαλεύκανση της επίδρασης της φυλής των προβάτων στην ποιότητα του κρέατος (Gibson et al., 2006; Leymaster et al., 2006). Ακόμα λιγότερη έρευνα αφορά τις φυλές και τα χαρακτηριστικά των μυϊκών ινών τα οποία είναι πολύτιμο εργαλείο για την αξιολόγηση της ποιότητας του κρέατος (Chang et al., 2003; Fiedler et al., 2004; Rehfeldt et al., 2004) και ένας δυναμικός *in vivo* δείκτης της ικανότητας προσαρμογής των προβάτων (Tygesen et al., 2005).

Οι Bungler et al. (2009) που μελέτησαν τα χαρακτηριστικά των μυϊκών ινών σε πρόβατα Texel και Scottish Blackface αν και δεν εντόπισαν σημαντικές διαφορές που να αφορούν το φύλο, δημοσίευσαν ότι η επίδραση της φυλής ήταν σπουδαιότερης σημασίας. Οι διαφορές των μυϊκών χαρακτηριστικών μεταξύ των φυλών ήταν σημαντικές και αφορούσαν σχεδόν όλες τις μυϊκές παραμέτρους. Ο συνολικός αριθμός των μυϊκών ινών στα πρόβατα Texel ήταν σημαντικά υψηλότερος (περίπου 20%), ενώ είχαν και σημαντικά λιγότερες και μικρότερες αργές μυϊκές ίνες. Και στις δύο φυλές, η πλειοψηφία των μυϊκών ινών αφορούσε τις γρήγορες μυϊκές ίνες. Ενδιαφέρον προκαλεί το γεγονός ότι στα πρόβατα Texel οι γρήγορες μυϊκές ίνες ήταν περίπου 8% μεγαλύτερες από τις αργές, ενώ στα Scottish Blackface, η κατάσταση ήταν αντίστροφη. Σημαντικές διαφορές βρέθηκαν και στους σχετικούς αριθμούς των οξειδωτικών μυϊκών ινών, αν και δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο μέγεθός τους.

Ο γονότυπος δεν επηρεάζει μόνο την μυϊκή ίνα *per se*, αλλά και ένα σύνολο από μορφο-λειτουργικές παραμέτρους που με τη σειρά τους επηρεάζουν άμεσα την «εικόνα» του μύος τελικά, όπως ο ρυθμός ανάπτυξης, η εναπόθεση λίπους κ.λπ.

Αν για παράδειγμα, ως κριτήριο επιλογής στους χοίρους ληφθεί η παρουσία μεγάλων μυϊκών ινών τύπου ΙΙΒ, αυτό θα έχει αρνητικές επιδράσεις μετά τη σφαγή όπως μειωμένη αιμάτωση των ινών και συνεπώς ανεπάρκεια οξυγόνου άρα και αδυναμία παραγωγής τελικών προϊόντων όπως μονοξειδίου του άνθρακα και γαλακτικό οξύ, φαινόμενο που θα οδηγήσει σε μειωμένη ποιότητα προϊόντος (Karlsson et al., 1999).

Πολλά σημαντικά γονίδια, όπως το μεταλλαγμένο Ryr1 (Ryanodine Receptor), το IGF-II (Insulin-like growth factor II) ή το RN (Rendement Napole) στους χοίρους, της καλλυπυγίας των προβάτων και της ευρυπυγίας των βοοειδών παρακινούν στη δημιουργία άπαχων σφάγιων, με μεταβλητές συνέπειες του TNF, της CSA και της σύνθεσης των ινών, που δεν συνδέονται άμεσα με διαφορές στην ποιότητα του κρέατος (Lefaucher, 2010).

3.2.3. Η ηλικία

Η φυσιολογική διαφοροποίηση των μυϊκών ινών αντιπροσωπεύει μια δυναμική ισορροπία που μπορεί να αλλάζει κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης, ενώ είναι ανάλογη του ρυθμού καταπόνησης των μυών. Οι Guth και Yellin (1971) κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι οι μυϊκές ίνες μεταβάλλονται διαρκώς κατά τη διάρκεια της ζωής των ζώων, υπόκεινται δηλαδή σε μια λειτουργική προσαρμογή και ότι ο τύπος αντανακλά τη μορφο-λειτουργική κατάσταση της ίνας μόνο σε μια ορισμένη στιγμή. Η θεωρία αυτή είναι ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα επειδή προτείνει έναν ορισμένο βαθμό διαφοροποίησης που προκαλείται κατά την ανάπτυξη των μυϊκών ινών. Πολλοί συγγραφείς έχουν δείξει μεταβολές στην αναλογία των διαφόρων τύπων μυϊκών ινών μετά τη γέννηση σε διάφορους μυς των προβάτων (White et al., 1978; Moody et al., 1980; Suzuki και Cassens, 1983).

Είναι γνωστό ότι ο αριθμός των μυϊκών ινών παραμένει σταθερός μετά τη γέννηση. Σύμφωνα με τους Moody et al. (1970) οι μυϊκές ίνες σταματούν να αυξάνονται σε μέγεθος όταν τα μικρά μηρυκαστικά φτάσουν στο βάρος των 45 κιλών.

Κατά τη γέννηση οι μύες είναι οξειδωτικοί (Moody et al., 1978). Η ηλικία κατά την οποία τα είδη των ινών μπορούν να διακριθούν ιστοχημικά το ένα από το άλλο, με βάση τη μέθοδο ATP-άσης της μυοσίνης, κυμαίνονται από μια εβδομάδα (Moody et al., 1978) μέχρι τέσσερις (Cooper et al., 1970; Lefaucheur and Vigneron, 1986). Η αναλογία των οξειδωτικών ινών μειώνεται ενώ των γλυκολυτικών αυξάνεται κατά την ανάπτυξη (Cooper et al., 1970; Van den Hende et al., 1972; Kiessling et al., 1982; Lefaucheur and Vigneron, 1986; Solomon et al., 1990).

Οι White et al. (1978) καθόρισαν τον τύπο των μυϊκών ινών και τη μέση διάμετρο στους εξής μυς προβάτων οι οποίοι αποτελούν τον τετρακέφαλο μηριαίο: στον έξω πλατύ (*m. vastus lateralis*), στον έσω πλατύ (*m. vastus medialis*), στον ορθό μηριαίο (*m. rectus femoris*), και στον μέσο πλατύ μυ (*m. vastus intermedius*). Ενώ στους *m. vastus lateralis*, *m. vastus medialis* και *m. rectus femoris* βρέθηκαν τρία είδη μυϊκών ινών (I, ΙΑ, and ΙΒ), ο *m. vastus intermedius* βρέθηκε να αποτελείται σχεδόν αποκλειστικά από μυϊκές ίνες τύπου I. Από τη γέννηση έως τα πέντε έτη ηλικίας, η μέση διάμετρος των ινών τύπου I και II αυξήθηκε σημαντικά σε όλους τους μυς. Το ποσοστό των ινών τύπου II των *m. vastus lateralis*, *m. vastus medialis* και *m. rectus femoris* μειώθηκε από 85% έως 90% που ήταν κατά τη γέννηση σε περίπου 72% στα 5 έτη της ηλικίας των προβάτων. Ο *m. vastus intermedius* αποτελείτο σχεδόν αποκλειστικά από μυϊκές ίνες τύπου I στα πρόβατα ηλικίας δύο ετών και άνω.

Ωστόσο, ο Henkel (1991) απορρίπτει τις μεταβολές στην αναλογία των τύπων των μυϊκών ινών και προτείνει την ιστοχημεία ως ένα εργαλείο για την ποσοτικοποίηση της επίδρασης των διαφόρων χειρισμών (εκτροφής και διατροφής) στο μέγεθος των μυϊκών ινών.

3.2.4. Η ανατομική θέση του μυός

Στους χοίρους, έχει αποδειχθεί ότι οι βαθύτεροι μύες των άκρων έχουν γενικά υψηλότερο ποσοστό αργών οξειδωτικών ινών τύπου I, ενώ οι επιφανειακοί μύες έχουν υψηλότερο ποσοστό γλυκολυτικών ινών, τύπου IIB (Armstrong et al., 1987).

Γενικά, οι μύες που σχετίζονται με τη στάση του σώματος είναι πιο οξειδωτικοί σε σχέση με τους μύες που σχετίζονται με κινήσεις (Totland and Kryvi, 1991; Henckel, 1995).

Οι μυϊκές ίνες τύπου IIB που βρίσκονται βαθιά είναι περισσότερο οξειδωτικές και έχουν διάμετρο μικρότερη από τις ίνες τύπου IIB που βρίσκονται επιφανειακά (Rosser et al., 1992).

Οι Brandstetter et al. (1997) βρήκαν παρόμοια αποτελέσματα για τον βόειο ημιτενοντώδη μυ (*m. semitendinosus*) με ανάλυση μεταβολικών ενζύμων και MyHC ισόμορφων.

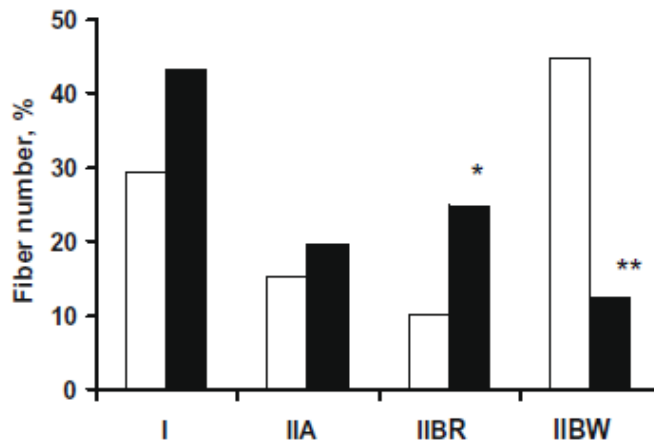
3.2.5. Η άσκηση

Η σωματική άσκηση επηρεάζει τα χαρακτηριστικά των μυϊκών ινών, ανάλογα με το είδος και τη διάρκεια της άσκησης, όπως φαίνεται και στην εικόνα 8. Έτσι, όπως παρατηρήθηκε σε χοίρους, η άσκηση αντοχής προκαλεί την εξής μετάβαση των μυών που εμπλέκονται στην άσκηση: IIBW → IIBR → IIA → I (McAllister et al. 1997).

Η πλειοψηφία της βιβλιογραφίας στον συγκεκριμένο τομέα αφορά τους χοίρους και συγκεκριμένα τις διαφορές στα χαρακτηριστικά των μυϊκών ινών μεταξύ των αγριόχοιρων και των χοίρων που εκτρέφονται σε εντατικά συστήματα.

Οι McCampbell et al. (1974) βρήκαν υψηλότερη περιεκτικότητα σε μυοσφαιρίνη στους αγριόχοιρους σε σχέση με τους οικόσιτους χοίρους, η οποία δείχνει μεγαλύτερη οξειδωτική ικανότητα. Παρόμοια αποτελέσματα βρέθηκαν από τους Essen-Gustavsson και Lindholm (1984), οι οποίοι δημοσίευσαν ότι οι μύες του αγριόχοιρου έχουν

μεγαλύτερη οξειδωτική ικανότητα σε σχέση με τους χοίρους σουηδικής καταγωγής Landrace.



Εικόνα 8: Τύποι μυϊκών ινών από τον τρικέφαλο μυ, σε χοίρους που δεν υπόκεινται σε σωματική άσκηση (λευκές μπάρες) και σε χοίρους οι οποίοι εκπαιδεύτηκαν συστηματικά (μαύρες μπάρες). Τα ζώα εκπαιδεύονταν 5 ημέρες την εβδομάδα για περισσότερο από 20 εβδομάδες. (*, $P < 0,05$; **, $P < 0,01$). Το διάγραμμα προσαρμόστηκε από τους McAllister et al., 1997.

Παρά την εντατική σωματική άσκηση σε διάδρομο, οι Szentkuti and Schlegel (1985) διαπίστωσαν ότι οι εγχώριοι χοίροι είχαν μικρότερο ποσοστό ινών τύπου IIA, καθώς και μεγαλύτερο ποσοστό ινών τύπου ινών IIB, σε σύγκριση με τους αγριόχοιρους που κρατήθηκαν σε ένα στύλο για να περιορίσουν την σωματική τους δραστηριότητα.

Σύμφωνα με τους Karlsson et al. (1999), οι Szentkuti and Schlegel (1985), δημοσίευσαν ότι η σύνθεση των μυϊκών ινών φαίνεται να είναι γενετικά καθορισμένη, ενώ σε μια μελέτη που διεξήχθη από τους Rede et al. (1986), τόσο στον αγριόχοιρο όσο και στις διασταυρώσεις μεταξύ των αγριόχοιρων και των εγχώριων χοίρων παρατηρήθηκαν υψηλότερα ποσοστά μυϊκών ινών τύπου I στον *m. longissimus dorsi* σε σχέση με τους εγχώριους χοίρους.

3.2.6. Η διατροφή

Όσον αφορά την επίδραση της διατροφής των ζώων, ο κατά 50% περιορισμός της διατροφής, εντός της θερμο-ουδέτερης ζώνης, για 3 έως 7 εβδομάδες, δεν άλλαξε την αναλογία των μυϊκών ινών στον *m. longissimus* ενώ προκάλεσε 43% αύξηση του ποσοστού των ινών τύπου I στον *m. rhomboideus*, ένα ερυθρό μυ του αυχένα σε χοίρους κρεοπαραγωγής (Harrison et al., 1996).

Ένα άλλο ερώτημα που απασχόλησε τους επιστήμονες αφορά τη μεταγεννητική αύξηση των μυών η οποία συσχετίζεται θετικά με τον αριθμό των μυϊκών ινών. Οι μεταβολές στον μεταγεννητικό ρυθμό αύξησης των ζώων κρεοπαραγωγής έχουν επιπτώσεις στην αποτελεσματικότητα της παραγωγής και, ενδεχομένως, στην ποιότητα του κρέατος (Dwyer et al, 1993; Rehfeldt et al, 1999; Pedersen et al, 2001). Έτσι, οι Dwyer and Stickland (1994) διπλασίασαν την πρόσληψη τροφής των χοιρομητέρων κατά την κύηση, σε μια τάση προς αύξηση του αριθμού των μυϊκών ινών στους απογόνους με θετικό αντίκτυπο στην μεταγεννητική ανάπτυξη. Κατά το παρελθόν, έχει αποδειχθεί ότι η μειωμένη σε πρωτεΐνες διατροφή ή το επίπεδο διατροφής κάτω των 2 kg/ημέρα κατά τη διάρκεια της κύησης, μπορεί να μειώσει σημαντικά τη μεταγεννητική ανάπτυξη των νεογνών, στους χοίρους (Buitrago et al, 1974).

Επομένως, φαίνεται ότι η διατροφή της μητέρας μπορεί να έχει επιπτώσεις στη μυογένεση και την επακόλουθη μεταγεννητική ανάπτυξη των νεογνών. Μελέτες έχουν δείξει ότι οι ταχέως αναπτυσσόμενοι χοίροι με υψηλό αριθμό μυϊκών ινών μικρής διατομής παράγουν κρέας με καλύτερη ποιότητα από τους χοίρους με χαμηλό αριθμό μυϊκών ινών μεγάλης διατομής, πράγμα που φανερώνει ότι ο αριθμός μυϊκών ινών και η διατομή τους έχει αντίκτυπο στην ποιότητα του κρέατος (Oksbjerg et al, 2000; Rehfeldt et al, 2000).

3.2.7. Η θερμοκρασία του περιβάλλοντος

Η μακροπρόθεσμη έκθεση στο κρύο έχει αποδειχθεί ότι μεταβάλλει τον τύπο των ινών σε πιο αργό για τους οξειδωτικούς μυς που συμμετέχουν στη στάση του σώματος σε Large White χοίρους (Lefaucheur et al., 1991; Herpin and Lefaucheur, 1992).

Με παρόμοιο ρυθμό ανάπτυξης, η έκθεση στους 12°C έναντι των 28°C σε χοίρους μεταξύ 8 και 92 kg σωματικού βάρους, αύξησε επίσης το ρυθμό και την έκταση της πτώσης του pH μετά τη σφαγή αλλά ενίσχυσε το πρόβλημα της διχρωμίας μεταξύ των μυών, η οποία πιθανόν να αλλοιώνει τη ποιότητα του κρέατος. Αντίθετα, η έκθεση σε ένα ζεστό περιβάλλον έχει αναφερθεί ότι μειώνει τόσο τον οξειδωτικό όσο και τον γλυκολυτικό μεταβολισμό στους γλυκολυτικούς μυς των χοίρων (Rinaldo and Le Dividich, 1991).

3.2.8. Οι αυξητικοί παράγοντες

Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, η αύξηση του αριθμού των μυϊκών ινών σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα αυξητικών παραγόντων στην εμβρυϊκή κυκλοφορία, με αποτέλεσμα την αύξηση του ποσοστού των μυοβλαστών. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι το φαινόμενο της ευρυπυγίας των βοοειδών (Brameld et al., 1998; Bass et al., 2000; Buttery et al., 2000). Κατά τη διάρκεια της κύησης, ταυτόχρονα με τον αυξημένο πολλαπλασιασμό των μυοβλαστών, μπορεί να συμβεί μια καθυστέρηση στην διαφοροποίηση των μυϊκών ινών. Η καθυστέρηση αυτή, σχετίζεται με μια καθυστέρηση στην τοπική έκφραση του παρόμοιου με την ινσουλίνη αυξητικού παράγοντα II (IGF-II) (Gerrard and Grant, 1994), ο οποίος είναι ένας σημαντικός τοπικός ρυθμιστής της διαφοροποίησης των μυοβλαστών μέσω της θετικής δράσης του στην γονιδιακή έκφραση της μυογενίνης.

Η μυοστατίνη (Growth Differentiation Factor 8, GDF-8) αρχικά εντοπίστηκε σε επίμυες (McPherron et al., 1997) και όπως τα υπόλοιπα μέλη της οικογένειας των TGFβ (Transforming growth factors beta), έχει αποδειχθεί ότι μειώνει τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των μυοβλαστών *in vitro*. Ως εκ τούτου, η μετάλλαξη

του γονιδίου καταλήγει σε απώλεια της λειτουργικής πρωτεΐνης μυοστατίνης, εξαλείφοντας ένα τοπικό αναστολέα πολλαπλασιασμού των μυοβλαστών, με αποτέλεσμα την αύξηση της διάδοσης των μυοβλαστών και κατά συνέπεια την αύξηση του αριθμού των μυϊκών ινών. Ενδιαφέρον προκαλεί ότι μια σειρά γονιδιακών μεταλλάξεων που έχουν περιγραφεί στα βοοειδή και πιο πρόσφατα, στους χοίρους, με ποικίλες επιπτώσεις στους μυς, δεν επηρεάζουν τον αριθμό των μυϊκών ινών (Smith et al., 2000; Jiang et al., 2002a; 2002b). Αυτό υποδεικνύει ότι η έλλειψη της μυοστατίνης δεν είναι ο μοναδικός παράγοντας που είναι υπεύθυνος για την ευρυπυγία.

Οι Rehfeldt et al. (1993) απέδειξαν ότι η χορήγηση της αυξητικής ορμόνης (Growth Hormone, GH) σε κυοφορούσες χοιρομητέρες στις πρώτες 10-24 ημέρες της κύησης οδήγησε σε αύξηση του συνολικού αριθμού των μυϊκών ινών στον *m. semitendinosus* των απογόνων. Η χορήγηση αυξητικής ορμόνης στα μέσα της κύησης (ημέρες 50-64) μειώνει το βάρος του *m. semitendinosus*, και δεν επιδρά στον συνολικό αριθμό των ινών, ενώ η χορήγηση στα τέλη της κύησης (80-94 ημέρες) έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του βάρους των οργάνων, μια πιο ώριμη μορφολογία των μυών και μερική υπερτροφία των μυϊκών ινών. Συνεπώς, η αρχή της εγκυμοσύνης είναι η κρίσιμη περίοδος για τις εξωγενείς επιδράσεις της GH σχετικά με τον αριθμό των ινών, διότι τότε λαμβάνει χώρα ο πολλαπλασιασμός των μυοβλαστών.

Οι Kelley et al. (1995) ερεύνησαν τις επιπτώσεις της GH σε κυοφορούσες χοιρομητέρες (ημέρες 28-40), η οποία οδήγησε σε αύξηση του βάρους των μυών *m. semitendinosus* και *m. longissimus* των απογόνων. Ωστόσο, οι συγγραφείς δεν μέτρησαν τους αριθμούς ή τα μεγέθη των διαφόρων τύπων μυϊκών ινών και έτσι ο μηχανισμός είναι ασαφής.

Μια πιο πρόσφατη μελέτη (Rehfeldt et al, 2001), απέδειξε την αύξηση του αριθμού τόσο των πρωτογενών όσο και των δευτερογενών μυϊκών ινών σε δύο μυς (*m. semitendinosus* και *m. psoas*) στα μικρόσωμα έως μεσαία χοιρίδια αλλά όχι στα μεγαλόσωμα.

Οι επιστήμονες μελέτησαν τις επιπτώσεις της χορήγησης του β-αγωνιστή κλενβουτερόλη σε αρουραίους κατά την διάρκεια της κύησης (ημέρες 4-17), η οποία οδήγησε σε συρρίκνωση του μυϊκού DNA. Η χορήγηση, όμως, σε όλη τη διάρκεια της εγκυμοσύνης και της γαλουχίας μείωσε τον συνολικό αριθμό των ινών των απογόνων και αύξησε τη διατομή τους. Στις έγκυες μητέρες στις οποίες χορηγήθηκε η κλενβουτερόλη παρατηρήθηκε αυξημένο βάρος μυών, γεγονός που υποδηλώνει ότι η κλενβουτερόλη κατευθύνει τα θρεπτικά συστατικά προς τους μυς της μητέρας, μακριά από τα αναπτυσσόμενα έμβρυα ή από τον μαστικό αδένα (Maltin et al., 1990).

3.3 Επίδραση των CSA και TNF στην ποιότητα κρέατος

Οι περισσότερες έρευνες δείχνουν αντίστροφη σχέση μεταξύ της διαμέτρου των ινών και της οξειδωτικής τους ικανότητας. Οι μυϊκές ίνες τύπου I έχουν τη μικρότερη διάμετρο, του τύπου IIB έχουν τη μεγαλύτερη διάμετρο και οι ίνες IIA έχουν ένα ενδιάμεσο μέγεθος (Cassens and Cooper, 1971; Rosser et al., 1996). Επιπλέον, οι ίνες τύπου I και IIA έχουν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε λιπίδια, μυοσφαιρίνη και περισσότερα τριχοειδή αγγεία σε σχέση με τις ίνες τύπου IIB (Essen-Gustavsson, et al., 1992).

Η πυκνότητα των τριχοειδών είναι ένας σημαντικός παράγοντας που θα πρέπει να εστιάσουν οι έρευνες στο μέλλον, δεδομένου ότι η λειτουργία των μυών πριν από τη σφαγή εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό με την παροχή οξυγόνου και τη δυνατότητα να απομακρυνθούν τα παραπροϊόντα του μεταβολισμού όπως το γαλακτικό οξύ. Η αξιολόγηση της πυκνότητας των τριχοειδών, βοηθάει στην εκτίμηση της ροής του αίματος (Saltin and Gollnick, 1985). Ο συνδυασμός των τύπων, του μεγέθους των ινών και των αγγείων είναι σημαντικός σε σχέση με τον ενεργειακό μεταβολισμό τη στιγμή της σφαγής και την ποιότητα του κρέατος (Cassens et al., 1975; Henckel, 1995).

Αρκετές μελέτες διαπίστωσαν ότι η υπερτροφία των γρήγορης σύσπασης οξειδο-γλυκολυτικών ινών επιδρά αρνητικά στην τρυφερότητα και την ικανότητα συγκράτησης νερού (Lengerken et al.,

1994; Larzul et al., 1997; Maltin et al., 1997). Στην εκτροφή χοίρων έχει αναφερθεί ότι η αύξηση της διατομής των μυϊκών ινών είναι επιζήμια στην ποιότητα του κρέατος, ιδίως στην ικανότητα συγκράτησης νερού και την τρυφερότητα (Rehfeldt et al., 2000).

Πολλά σημαντικά γονίδια, όπως το μεταλλαγμένο *Ryrl*, το IGF-II ή το RN στους χοίρους (Essen-Gustavsson et al., 1992; Lebret et al., 1999; Milan et al., 2000; Van den Maagdenberg et al., 2008), το γονίδιο της ευρυπυγίας των βοοειδών (Grobet et al., 1997), της καλλυπυγίας των προβάτων (Carpenter et al., 1996; Vuocolo et al., 2007), ή η εξωγενής χορήγηση β-αγωνιστών (Dunshea et al., 2005), αυξητικής ορμόνης (Bonneau, 1991) και στεροειδών (Clancy et al., 1986; Fritsche et al., 2000) έχουν ως αποτέλεσμα την αύξηση της διατομής των μυϊκών ινών. Συχνά αυτό εξαρτάται από τον τύπο της ίνας και επηρεάζει σε διαφορετικό βαθμό τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του κρέατος, όπως η ικανότητα συγκράτησης νερού, το χρώμα και η γευστικότητα (Cannon et al., 1995). Ωστόσο, αυτό το είδος των συσχετίσεων δεν αρκεί για να καταλήξουμε ότι οι μυϊκές ίνες με μεγάλη διατομή είναι η αιτία για χαμηλή ποιότητα του κρέατος (Lefaucher, 2010).

Παρόλα αυτά, υπάρχουν μελέτες που δεν υποστηρίζουν την αρνητική επίδραση της διατομής των μυϊκών ινών σε σχέση με την ποιότητα του κρέατος. Διαπιστώθηκε, ισχυρή θετική γενετική συσχέτιση ($r_g = 0,68$) στον επιμήκη ραχιαίο μυ χοίρων Large White, μεταξύ της διατομής των μυϊκών ινών και του ενδομυϊκού λίπους (intramuscular fat, IMF) (Larzul et al., 1997), ένα χαρακτηριστικό που γενικά συνδέεται με βελτιωμένη τρυφερότητα και γευστικότητα στο χοιρινό κρέας. Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε στο μυ στήθους κοτόπουλων, παρατηρήθηκε θετική επίδραση της CSA στην ποιότητα του κρέατος, μέσω μειωμένης περιεκτικότητας μυϊκού γλυκογόνου, υψηλότερου τελικού pH, βελτιωμένης ικανότητας συγκράτησης νερού και τρυφερότητας (Berri et al., 2007). Αντίθετα, στα βοοειδή, η σχέση μεταξύ τρυφερότητας και CSA αποτελεί εξαιρετικά αμφιλεγόμενο ζήτημα (Seideman et al., 1986; Renand et al., 2001).

Επειδή για να υπάρξει υπερτροφία των ινών είναι απαραίτητη μια ισορροπία μεταξύ της πρωτεϊνοσύνθεσης και της πρωτεόλυσης, σχετικές αλλαγές στις διαδικασίες αυτές μπορεί να επηρεάσουν έντονα τον ρυθμό ανάπτυξης των μυϊκών ινών καθώς και την τρυφερότητα του κρέατος (Koochmaraie et al., 2002).

Με την πρώτη ματιά, η αύξηση του TNF θα μπορούσε να είναι μια καλή στρατηγική για την ταυτόχρονη αύξηση της περιεκτικότητας σε άπαχο κρέας, διατηρώντας την ποιότητα του κρέατος με τη μείωση της CSA. Ωστόσο, πρόσφατα δεδομένα σε χοίρους υποδηλώνουν ότι η αύξηση μόνο του TNF δεν θα ήταν επαρκής και το καλύτερο θα ήταν να υπήρχε μια διαβάθμιση του TNF που θα εγγυάται υψηλό ποσοστό καλής ποιότητας κρέατος με μετρίου μεγέθους μυϊκές ίνες (Rehfeldt et al., 2007). Σύμφωνα με άλλες μελέτες, ένα υψηλό TNF σε συνδυασμό με ένα χαμηλό ποσοστό του τύπου ινών τύπου IIB θα ήταν μια καλή στρατηγική για τη βελτίωση τόσο της περιεκτικότητας σε άπαχο κρέας όσο και της ποιότητας του κρέατος στην εκτροφή χοίρων (Ryu et al., 2008; Kim et al., 2008).

3.4 Επίδραση του τύπου μυϊκών ινών στην ποιότητα κρέατος

Επειδή ο τύπος των μυϊκών ινών παρουσιάζει μεγάλη παραλλακτικότητα μεταξύ των μυών του σώματος, θα αναφερθεί ένας πιθανός συσχετισμός τους με την ποιότητα του κρέατος. Ωστόσο, ο προσδιορισμός της βέλτιστης σύνθεσης των ινών για την καλύτερη ποιότητα του κρέατος εξακολουθεί να παραμένει πρόκληση. Τόσο ο συσταλτός, όσο και ο μεταβολικός χαρακτήρας των μυών επηρεάζει την ποιότητα.

Έτσι, όπως ήδη παρουσιάζεται και στον Πίνακα 2, οι ταχείας σύσπασης γλυκολυτικές ίνες παρουσιάζουν ένα περισσότερο εκτεταμένο και αποτελεσματικό σαρκοπλασματικό δίκτυο, υψηλότερη δραστηριότητα της ATP-άσης της ακτινομυοσίνης και υψηλότερα επίπεδα γλυκογόνου από τις αργής σύσπασης οξειδωτικές ίνες που, αντίστροφα, περιέχουν ένα μεγαλύτερο αριθμό μιτοχονδρίων, καθώς και περισσότερα φωσφολιπίδια και μυοσφαιρίνη. Κατά συνέπεια,

σύμφωνα με την σύνθεσή τους, όσον αφορά τους τύπους των ινών, οι μύες έχουν διαφορετικές ικανότητες να απελευθερώνουν και να απορροφούν Ca^{2+} , να ενεργοποιούν τις δραστηριότητες της ATP-άσης, να παράγουν νουκλεοτίδια (αδενίνη), να προκαλούν γλυκόλυση, παραγωγή γαλακτικού οξέος και μείωση pH, ανάλογα με την ρυθμιστική ικανότητά τους (Bowker et al., 2004).

Συνεπώς, αυξάνοντας το ποσοστό των ταχείας σύσπασης γλυκολυτικών ινών στον *m. longissimus* έχει αποδειχθεί ότι αυξάνεται ο ρυθμός και η έκταση της πτώσης του pH, η φωτεινότητα (L^*), η ωχρότητα, η απώλεια ύδατος κατά το μαγείρεμα, η μετουσίωση πρωτεϊνών, ενώ μειώνεται η ικανότητα συγκράτησης νερού στους χοίρους (Larzul et al., 1997; Kauffman et al., 1998; Rosenfold et al., 2001; Ryu and Kim, 2005 and 2006; Choi et al., 2006 and 2007; Choe et al., 2008; Ryu et al., 2008). Ωστόσο, άλλες μελέτες έχουν, επίσης, αναφέρει ότι η αύξηση του ποσοστού των γρήγορης σύσπασης οξειδο-γλυκολυτικών ινών μειώνει την ικανότητα συγκράτησης νερού στο μαγειρεμένο κρέας, την τρυφερότητα, το χυμώδες και το άρωμα (Henckel et al., 1997; Maltin et al., 1997).

Παράλληλα, η αύξηση του ποσοστού των γρήγορης σύσπασης γλυκολυτικών ινών θα μπορούσε να έχει ευεργετικά αποτελέσματα για την ωρίμανση μετά τη σφαγή και την τρυφερότητα σε είδη που εμφανίζουν αργή ωρίμανση μετά τη σφαγή, όπως τα βοοειδή (Seideman et al., 1986; Zamora et al., 1996). Αυτό συμφωνεί και με άλλα αποτελέσματα για τα βοοειδή που δείχνουν μια καλύτερη τρυφερότητα στους επιφανειακούς πιο γλυκολυτικούς μυς από τους μυς που βρίσκονται πιο βαθιά και είναι πιο οξειδωτικοί, όπως ο *m. semitendinosus* (Totland et al., 1988). Ωστόσο, αυτές οι συσχετίσεις δεν επιβεβαιώθηκαν για άλλες φυλές βοοειδών (Wegner et al., 2000) ή προβάτων (Solomon and Lynch, 1988).

Όσον αφορά την αύξηση της αναλογίας των ινών τύπου I, έχει αναφερθεί ότι μειώνει το ρυθμό και την έκταση της πτώσης του pH, τη φωτεινότητα και προκαλεί βελτίωση της ΙΣΝ (Ικανότητα Συγκράτησης

Νερού) στην εκτροφή χοίρων (Larzul et al., 1997; Gil et al., 2003; Ryu and Kim, 2005; Choi et al., 2006). Αυξάνοντας το ποσοστό των αργής σύσπασης ινών τύπου I έχει δημοσιευθεί ότι βελτιώνεται η τρυφερότητα και η γευστικότητα του κρέατος των βοοειδών (Maltin et al., 1998) καθώς και το χυμώδες και η γεύση του κρέατος των προβάτων (Valin et al., 1982). Η θετική σχέση μεταξύ του ποσοστού των ινών τύπου I και της γευστικότητας είναι πιθανόν να οφείλεται στο υψηλό επίπεδο των φωσφολιπιδίων που έχει αποδειχθεί ότι είναι από τους βασικότερους παράγοντες γευστικότητας του μαγειρεμένου κρέατος. Επιπλέον, το υψηλό ποσοστό των ινών τύπου I πιθανόν να έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή κρέατος DFD (Dark Firm Dry), ιδίως όσον αφορά το βόειο κρέας. Είναι επίσης καλά τεκμηριωμένο ότι όταν αυξάνεται το ποσοστό των ινών τύπου I μειώνεται η σταθερότητα του χρώματος με πιθανή μετάβαση σε μια καφετιά κηλίδα (Ozawa et al., 1999).

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Σκοπός του πειράματος

Σκοπός του πειράματος είναι η εκτίμηση του τύπου μυϊκών ινών σε μικρά μηρυκαστικά και η διερεύνηση της σχέσης μεταξύ εγχώριων φυλών μικρών μηρυκαστικών και των ιστολογικών χαρακτηριστικών των μυϊκών τους ινών. Γι' αυτό το σκοπό παραλήφθηκαν 30 δείγματα μυϊκού ιστού από τον επιμήκη ραχιαίο μυ δύο φυλών αμνών, τα οποία προέρχονταν από την Καραγκούνικη φυλή, από την φυλή Χίου, και από ερίφια της εγχώριας φυλής. Οι φυλές αυτές επιλέχθηκαν διότι είναι οι πολυπληθέστερες και πιο γνωστές φυλές μικρών μηρυκαστικών στην ελληνική ύπαιθρο. Πειραματική εργασία που συσχετίζει τις φυλές μηρυκαστικών με τις μυϊκές ίνες, διεξάγεται για πρώτη φορά στην Ελλάδα, ενώ ελληνικές φυλές αιγοπροβάτων σε παρόμοιες εργασίες δεν έχουν χρησιμοποιηθεί κατά το παρελθόν.

4. Υλικά και μέθοδοι

4.1 Παραλαβή ιστοτεμαχίων

Για την εκτέλεση του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν 30 δείγματα μυϊκού ιστού από τον επιμήκη ραχιαίο μυ (*m. longissimus thoracis et lumborum*) σφάγιων μικρών μηρυκαστικών. Τα δείγματα προέρχονται από απογαλακτισμένους αμνούς της Καραγκούνικης φυλής και της φυλής Χίου, και από ερίφια της εγχώριας φυλής. Τα ζώα εσφάγησαν σε ηλικία 45-60 ημερών. Μετά την σφαγή τα δείγματα παρελήφθησαν και τοποθετήθηκαν στους -80°C . Μία ημέρα πριν από την ανάλυση τα δείγματα μεταφέρθηκαν στους -20°C .

4.2 Τομές ιστοτεμαχίων

Τμήμα του μονιμοποιηθέντος ιστοτεμαχίου τοποθετήθηκε αρχικά, με τον απαιτούμενο κάθε φορά προσανατολισμό, σε τεμάχιο φελλού (διαστάσεων περίπου 1 x 1 cm) και αφού καλύφθηκε με κρυοπροστατευτικό μέσο (Tissue Freezing Medium, Germany), εμβαπτίστηκε σε διάλυμα ισοπεντανίου, που είχε ήδη τοποθετηθεί σε υγρό άζωτο. Το ισοπεντάνιο λειτουργεί ως κρυοπροστατευτικός παράγοντας απέναντι στην εμβάπτιση στο υγρό άζωτο. Στη συνέχεια, το ιστοτεμάχιο με το φορέα-φελλό τοποθετήθηκε σε ειδική υποδοχή του κρυοτόμου (Leica CM1500), στην οποία είχε προηγουμένως προστεθεί κρυοπροστατευτικό μέσο, επικαλυπτόμενο εκ νέου και συνολικά με κρυοπροστατευτικό μέσο. Οι τομές του ιστοτεμαχίου πάχους 10 μm , παρελήφθησαν κατά σειρά σε αντικειμενοφόρες πλάκες, επικαλυμμένες με πολυμερισμένη L-λυσίνη.

Η προετοιμασία των αντικειμενοφόρων πλακών πριν από την τοποθέτηση των τομών του ιστοτεμαχίου ακολούθησε την κάτωθι διαδικασία. Οι αντικειμενοφόρες πλάκες προς επικάλυψη τοποθετήθηκαν σε διάλυμα όξινης αλκοόλης (70% αιθανόλη και 1% HCl 1N). Μετά από μια σύντομη ανάδευσή τους εντός του διαλύματος, παρέμειναν σε αυτό για 90 λεπτά. Στη συνέχεια, ξεπλύθηκαν με νερό βρύσης για 90 λεπτά. Μετά την έκπλυσή τους, και αφού αναδεύτηκαν

για λίγο σε απεσταγμένο νερό, οι αντικειμενοφόρες πλάκες εμβαπτίστηκαν σε διάλυμα πολυμερισμένης L-λυσίνης για 10 δευτερόλεπτα. Τελικώς, αφού παρέμειναν για ξήρανση σε κλίβανο στους 37 °C για περίπου 24 ώρες, χρησιμοποιήθηκαν για την παραλαβή των τομών των ιστοτεμαχίων στον κρυοτόμο. Η επικάλυψη των αντικειμενοφόρων πλακών με πολυμερισμένη L-λυσίνη εξασφαλίζει την καλή προσκόλληση των τομών των ιστοτεμαχίων και ελαττώνει σημαντικά τις απώλειες κατά τους χειρισμούς, που οι τεχνικές της ιστοχημείας και της ανοσοϊστοχημείας μπορούν να προκαλέσουν. Στη συνέχεια αποθηκεύτηκαν στους 4 °C.

4.3 Ανοσοϊστοχημεία

Η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε βασίστηκε σε αυτήν που περιγράφηκε αρχικά από τους Balaskas and Gabella (1998), με μικρές παραλλαγές. Πιο συγκεκριμένα, οι αντικειμενοφόρες πλάκες με τις τομές των ιστών τοποθετήθηκαν σε ΦΡΔ (φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα) για 5 λεπτά. Με τον τρόπο αυτό, επιτυγχάνεται η αυτόματη ρύθμιση του pH αλλά και η ενυδάτωση των τομών. Στη συνέχεια, οι αντικειμενοφόρες πλάκες εμβαπτίστηκαν σε διάλυμα ΦΡΔ που περιείχε 3% H₂O₂ και παρέμειναν σε αυτό για διάστημα 15 λεπτών στο σκοτάδι, για την παρεμπόδιση της ψευδούς χρώσης εξαιτίας της αντίδρασης της ενδογενούς υπεροξειδάσης.

Ακολούθησε εμβάπτιση των αντικειμενοφόρων πλακών σε ΦΡΔ για 5 λεπτά και εν συνεχεία τοποθέτηση αυτών σε ειδικό κουτί ανοσοϊστοχημείας (σκοτεινό και κορεσμένο με υδρατμούς). Πριν από την προσθήκη των αντισωμάτων, προηγήθηκε επώαση των τομών σε 200 μl ορού κουνελιού (διαλυμένος σε ΦΡΔ, σε αναλογία 50:50) για 30 λεπτά για τον περιορισμό της μη ειδικής χρώσης.

Ακολούθησε η προσθήκη 200 μl του πρωτεύοντος αντισώματος σε κάθε αντικειμενοφόρο πλάκα, στο οποίο οι τομές επώαστηκαν σε θερμοκρασία δωματίου εντός του κουτιού της ανοσοϊστοχημείας, για τουλάχιστον 12 ώρες. Συγκεκριμένα, ακολούθησε ανοσοϊστοχημική

χρώση με μονοκλωνικό αντίσωμα κατά της μυοσίνης «αργού τύπου» (Monoclonal Anti-Myosin Skeletal, Slow antibody produced in mouse, USA) το οποίο αναγνωρίζει τις αργές μυϊκές ίνες και κατά της β-δυστρογλυκάνης (β-dystroglycan 4F7: sc-33702, Santa Cruz Biotechnology) η οποία αναγνωρίζει την αντίστοιχη πρωτεΐνη που υπάρχει στην κυτταρική μεμβράνη των μυϊκών κυττάρων. Οι αραιώσεις που χρησιμοποιήθηκαν είναι 1:50 για τη β-δυστρογλυκάνη και 1:1000 για την μυοσίνη «αργού τύπου». Μετά την επώαση των τομών με το πρωτεύον αντίσωμα οι αντικειμενόφορες πλάκες ξεπλύθηκαν σε ΦΡΔ 3 συνολικά φορές, για 10 λεπτά κάθε φορά.

Για να γίνει η αντίδραση του πρωτεύοντος αντισώματος ορατή ακολούθησε η εφαρμογή δύο ακόμα αντισωμάτων. Αρχικά προστέθηκε το δευτερεύον βιοτινιλιωμένο αντίσωμα σε ποσότητα 200 μl (Polyclonal Rabbit Anti-Mouse Immunoglobulins /Biotinylated, Denmark), στο οποίο οι τομές επώαστηκαν για 2 ώρες. Ακολούθησε και πάλι ξέπλυμα των αντικειμενοφόρων πλακών σε ΦΡΔ 3 φορές, για 10 λεπτά κάθε φορά. Στη συνέχεια, στις τομές προστέθηκε το τρίτο κατά σειρά αντίσωμα (Vectastain ABC kit, PK4100, Vector, Burlington, USA) σε ποσότητα 200 μl, στο οποίο και επώαστηκαν επίσης για 2 ώρες. Μετά το πέρας της επώασης, ακολούθησε και πάλι ξέπλυμα των αντικειμενοφόρων πλακών σε ΦΡΔ 3 φορές, για 10 λεπτά κάθε φορά.

Στη συνέχεια, στις αντικειμενοφόρους πλάκες προστέθηκε διάλυμα διαμινοβενζιδίνης και ουρίας (D4293, Sigma FastTM, St. Louis, USA) σε απεσταγμένο νερό, για 7-15 λεπτά. Η διαμινοβενζιδίνη αποτελεί το χρωμοφόρο παράγοντα, που επιτρέπει την οπτικοποίηση της αντίδρασης του πρωτεύοντος αντισώματος. Οι αντικειμενοφόρες πλάκες ξεπλύθηκαν σε ΦΡΔ για 1 περίπου λεπτό, έτσι ώστε να σταματήσει η αντίδραση. Νέο ΦΡΔ προστέθηκε για 5 περίπου λεπτά.

Στις αντικειμενοφόρους πλάκες προστέθηκε το διάλυμα Citifluor (City University, London, UK) και καλυπτρίδες για την παρατήρηση στο μικροσκόπιο. Τέλος, ακολούθησε φωτογράφιση των τομών σε οπτικό μικροσκόπιο και αξιολόγηση των τύπων των μυϊκών ινών

Τονίζεται ότι για κάθε αντίσωμα και σε κάθε ιστό χρησιμοποιήθηκε μάρτυρας, στον οποίο έγινε παράλειψη του πρωτεύοντος αντισώματος, με αποτέλεσμα να μην παρατηρηθεί καμία χρώση.

4.4 Παρατήρηση και φωτογράφιση στο οπτικό μικροσκόπιο

Η παρατήρηση και φωτογράφιση των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε σε οπτικό μικροσκόπιο (OLYMPUS BX50), χρησιμοποιώντας λογισμικό για ανάλυση εικόνας (Image-Pro Plus Version 3.1. για Windows 95, MEDIA CYBERNETICS, USA).

4.5 Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με τη βοήθεια του προγράμματος SPSS 16.0. Αρχικά, έγινε έλεγχος κανονικότητας του συνόλου των μυϊκών ινών και των 3 φυλών με την βοήθεια του One Sample Kolmogorov Smirnov Test και βοηθητικών διαγραμμάτων τα οποία έδειξαν ότι το σύνολο των μυϊκών ινών και των τριών φυλών παρουσιάζει κανονικότητα. Στη συνέχεια απεικονίστηκαν τα δεδομένα της περιγραφικής στατιστικής και πραγματοποιήθηκαν αναλύσεις διασποράς και πολλαπλές συσχετίσεις κάθε κατηγορίας μυϊκών ινών με κάθε φυλή, με την στατιστική επεξεργασία 3 Way Anova, Post Hoc Tests, Multiple Comparisons.

4. Αποτελέσματα

Μετά τη παρατήρηση και τη φωτογράφιση των δειγμάτων στο οπτικό μικροσκόπιο, ακολούθησε η ταξινόμηση των μυϊκών ινών στις τρεις βασικές κατηγορίες: οξειδωτικές, ενδιάμεσες και γλυκολυτικές.

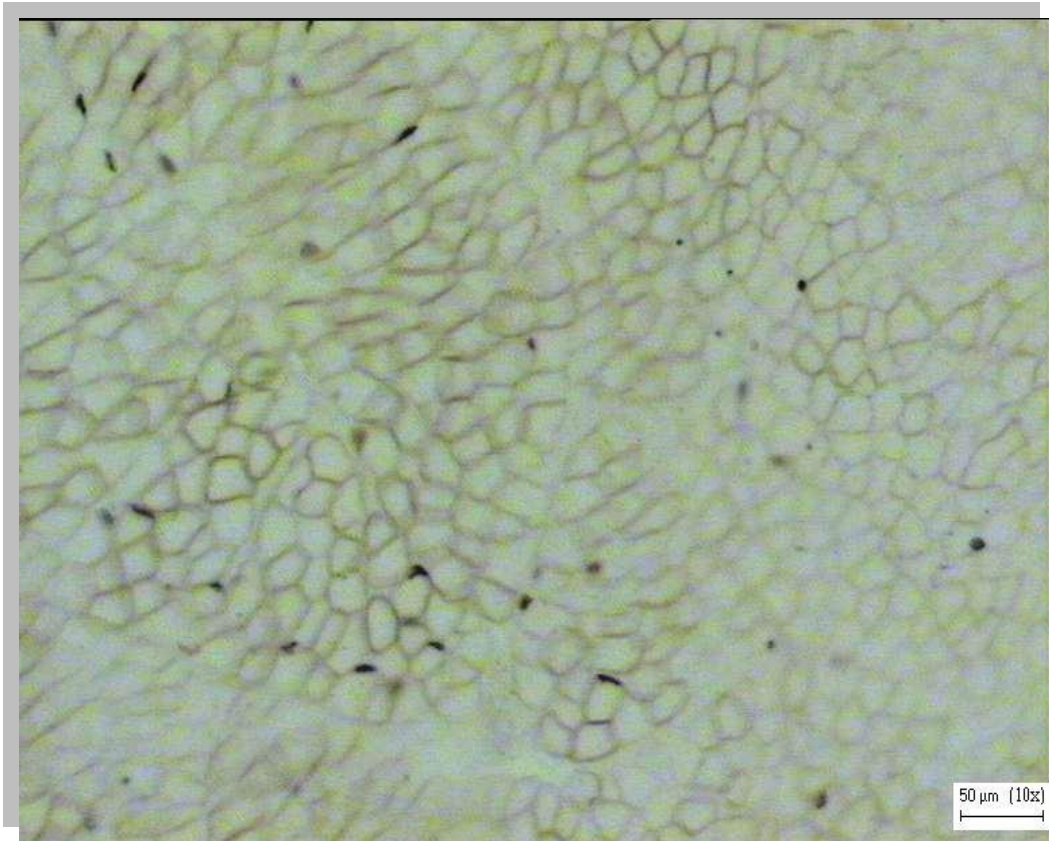
Ακολουθούν ενδεικτικές φωτογραφίες:



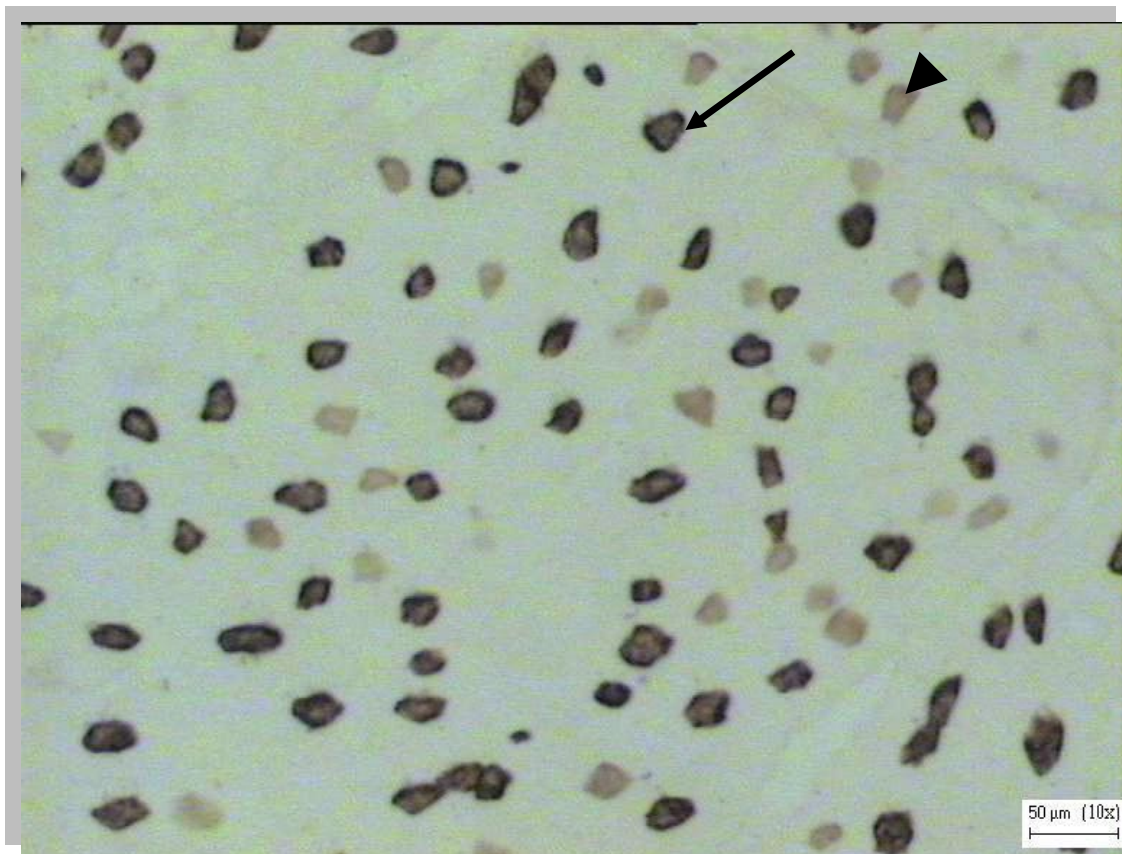
Φωτογραφία 1: Ανοσοϊστοχημεία μονοκλωνικού αντισώματος κατά της β-δυστρογλυκάνης σε τομή κρυστόμου από τον επιμήκη ραχιαίο μυ αμνού Καραγκούνικης φυλής. Διακρίνονται θετικώς χρωσμένα τα σαρκειλήμματα όλων των μυϊκών ινών που με αυτό τον τρόπο διαγράφονται στην μικροφωτογραφία.



Φωτογραφία 2: Ανοσοϊστοχημεία μονοκλωνικού αντισώματος κατά της μυοσίνης «αργού τύπου» σε τομή κρυστόμου από τον επιμήκη ραχιαίο μυ αμνού Καραγκούνικης φυλής. Διακρίνονται τα θετικώς χρωσμένα κύτταρα κατά της μυοσίνης αργού τύπου (βέλος) καθώς και κάποια κύτταρα με ασθενέστερη, πλην ορατή, χρώση (κεφαλή βέλους). Τα κύτταρα αυτά αντιστοιχούν στις οξειδωτικές μυϊκές ίνες ή Type I και τις ενδιάμεσες μυϊκές ίνες ή Type ΙΙΑ, αντιστοίχως.



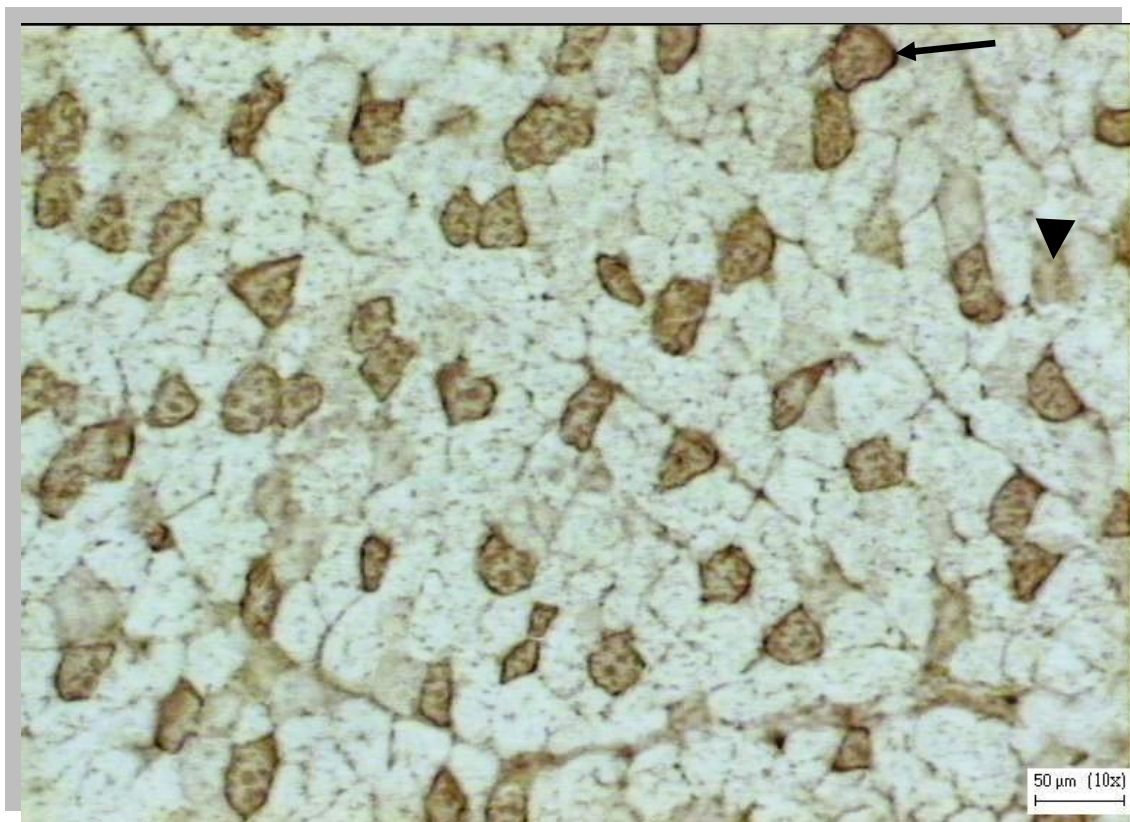
Φωτογραφία 3: Ανοσοϊστοχημεία μονοκλωνικού αντισώματος κατά της β-δυστρογλυκάνης σε τομή κρυστόμου από τον επιμήκη ραχιαίο μυ αμνού φυλής Χίου. Διακρίνονται θετικώς χρωσμένα τα σαρκειλήμματα όλων των μυϊκών ινών που με αυτό τον τρόπο διαγράφονται στην μικροφωτογραφία.



Φωτογραφία 4: Ανοσοϊστοχημεία μονοκλωνικού αντισώματος κατά της μυοσίνης «αργού τύπου» σε τομή κρυοτόμου από τον επιμήκη ραχιαίο μυ αμνού φυλής Χίου. Διακρίνονται τα θετικώς χρωσμένα κύτταρα κατά της μυοσίνης αργού τύπου (βέλος) καθώς και κάποια κύτταρα με ασθενέστερη, πλην ορατή, χρώση (κεφαλή βέλους). Τα κύτταρα αυτά αντιστοιχούν σε οξειδωτική μυϊκή ίνα ή Type I και ενδιάμεση μυϊκή ίνα ή Type IIA, αντιστοίχως.



Φωτογραφία 5: Ανοσοϊστοχημεία μονοκλωνικού αντισώματος κατά της β-δυστρογλυκάνης σε τομή κρυοτόμου από τον επιμήκη ραχιαίο μυ εριφίου εγχώριας φυλής. Διακρίνονται θετικώς χρωσμένα τα σαρκειλήμματα όλων των μυϊκών ινών που με αυτό τον τρόπο διαγράφονται στην μικροφωτογραφία.



Φωτογραφία 6: Ανοσοϊστοχημεία μονοκλωνικού αντισώματος κατά της μυοσίνης «αργού τύπου» σε τομή κρυστόμου από τον επιμήκη ραχιαίο μυ εριφίου εγχώριας φυλής. Διακρίνονται τα θετικώς χρωσμένα κύτταρα κατά της μυοσίνης αργού τύπου (βέλος) καθώς και κάποια κύτταρα με ασθενέστερη, πλην ορατή, χρώση (κεφαλή βέλους). Τα κύτταρα αυτά αντιστοιχούν σε οξειδωτική μυϊκή ίνα ή Type I και ενδιάμεση μυϊκή ίνα ή Type II, αντιστοίχως.



Φωτογραφία 7: Ανοσοϊστοχημεία με δύο μονοκλωνικά αντισώματα, κατά της β-δυστρογλυκάνης και κατά της μυοσίνης «αργού τύπου», σε τομή κρυοτόμου από τον επιμήκη ραχιαίο μυ αίγας εγχώριας φυλής με την οποία διακρίνονται τα σαρκειλήματα όλων των μυϊκών ινών, τα κύτταρα κατά της μυοσίνης αργού τύπου (βέλος) καθώς και κάποια κύτταρα με ασθενέστερη, πλην ορατή, χρώση (κεφαλή βέλους).

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με τη βοήθεια του προγράμματος SPSS 16.0 (Πίνακας 4). Επίσης, έγινε έλεγχος κανονικότητας του συνόλου των μυϊκών ινών και των 3 φυλών με την βοήθεια του One Sample Kolmogorov Smirnov Test και βοηθητικών διαγραμμάτων τα οποία έδειξαν ότι το σύνολο των μυϊκών ινών και των τριών φυλών παρουσιάζει κανονικότητα. Συνεπώς μπορεί να γίνει ανάλυση διασποράς των δεδομένων (Anova).

Πίνακας 4: Μέσος όρος και τυπικό σφάλμα του αριθμού των τριών τύπων μυϊκών ινών των τριών φυλών. Με τη βοήθεια της επεξεργασίας Ανονα υπογραμμίζονται οι στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στην ίδια κατηγορία μυϊκών ινών και για τις τρεις φυλές.

	Type I	Type IIA	Type IIB
Καραγκούνικη	25,7±3,35	3,3±0,56	208,2±21,57
Χίου	36,5±3,25	9,4±1,9	294,7±22,27
Εγχώρια φυλή αιγών	58,1±6,9	4,1±0,73	219,9±15,15
Σημαντικότητα (P)	***	**	***

*P>0,05 NS (not significant), p<0,05 *, p<0,01 **, p<0,001 ****

Τα αποτελέσματα του πίνακα 4 απεικονίζουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τριών τύπων μυϊκών ινών για όλες τις φυλές που εξετάστηκαν, γεγονός που επιβεβαιώνει την έντονη σχέση μεταξύ των φυλών και των τύπων των μυϊκών ινών στα μικρά μηρυκαστικά. Παρατηρούμε ότι οι αμνοί της φυλής Χίου, έχουν τις περισσότερες γλυκολυτικές μυϊκές ίνες Type IIB, ενώ τα ερίφια έχουν τις περισσότερες οξειδωτικές μυϊκές ίνες Type I.

Με τη βοήθεια του πίνακα 5 γίνονται πιο εμφανείς οι διαφορές ανάμεσα στις φυλές των αμνών και των εριφίων. Παρατηρούμε ότι το ποσοστό των οξειδωτικών μυϊκών ινών των εριφίων είναι υπερδιπλάσιο των αντίστοιχων ποσοστών των αμνών, ενώ το ποσοστό των γλυκολυτικών μυϊκών ινών των εριφίων, είναι κατά πολύ μικρότερο.

Πίνακας 5: Ποσοστά του μέσου όρου του αριθμού των τριών τύπων μυϊκών ινών των τριών φυλών.

	Type I	Type IIA	Type IIB
Καραγκούνικη	12%	1,5%	86,5%
Χίου	12,4%	3,1%	84,5%
Εγχώρια φυλή αιγών	26,4%	1,8%	71,8%

Στον πίνακα 6 γίνεται αναλυτικότερη σύγκριση μεταξύ φυλών και κατηγορίας μυϊκών ινών.

Πίνακας 6: Πολλαπλές συσχετίσεις κάθε κατηγορίας μυϊκών ινών με κάθε φυλή με την στατιστική επεξεργασία 3 Way Anova, Post Hoc Tests, Multiple Comparisons.

Type I		P	
Καραγκούνικη	Χίου	0,092	NS
Καραγκούνικη	Εγχώρια φυλή	0,003	**
Χίου	Εγχώρια φυλή	0,043	*
Type IIA			
Καραγκούνικη	Χίου	0,035	*
Καραγκούνικη	Εγχώρια φυλή	0,771	NS
Χίου	Εγχώρια φυλή	0,072	NS
Type IIB			
Καραγκούνικη	Χίου	0,036	*
Καραγκούνικη	Εγχώρια φυλή	0,136	NS
Χίου	Εγχώρια φυλή	0,000	***

*P>0,05 NS (not significant), P<0,05 *, P<0,01 **, P<0,001 ****

Στον πίνακα 6 είναι εμφανές ότι για τις Type I μυϊκές ίνες, η μεγαλύτερη στατιστικά σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε ανάμεσα στην Καραγκούνικη και την εγχώρια φυλή αιγών ενώ η μικρότερη ανάμεσα στην Καραγκούνικη και της Χίου. Στις μυϊκές ίνες Type IIA η μεγαλύτερη διαφορά καταγράφηκε ανάμεσα στις φυλές Καραγκούνικη και Χίου. Τέλος, στις μυϊκές ίνες Type IIB η μεγαλύτερη διαφορά καταγράφηκε ανάμεσα στις φυλές Χίου και την εγχώρια φυλή αιγών και η μικρότερη ανάμεσα στην Καραγκούνικη και την εγχώρια φυλή αιγών.

5. Συζήτηση

Όπως αναλύθηκε στα προηγούμενα κεφάλαια, η ανάπτυξη των ιστών καθορίζεται από πλήθος ενδογενών και εξωγενών παραγόντων καθώς και από τις αλληλεπιδράσεις τους (Chang et al, 2003; Dingboom and Weijs, 2004). Η αναλογία των διαφόρων τύπων μυϊκών ινών ρυθμίζεται από γενετικούς, φυσιολογικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες. Στην συγκεκριμένη εργασία μελετήθηκε η επίδραση της φυλής (Καραγκούνικη, Χίου, εγχώρια αίγα) σε ζώα με παρόμοια ηλικία σφαγής και ζων βάρος σε μια προσπάθεια να ελαχιστοποιηθούν οι αλληλεπιδράσεις.

Η Καραγκούνικη φυλή προβάτων επιλέχθηκε διότι είναι η πολυπληθέστερη ελληνική φυλή, είναι σημαντική ως προς τις διάφορες φυσιολογικές και παραγωγικές ιδιότητες ενώ έχει χρησιμοποιηθεί ως βελτιωτής για την αναβάθμιση πολλών άλλων πεδινών και ημιορεινών πληθυσμών σε μεγάλο βαθμό. Η φυλή Χίου επιλέχθηκε διότι είναι η πιο γνωστή ελληνική φυλή προβάτων στο εξωτερικό και είναι σημαντική ως προς τις παραγωγικές της ιδιότητες (πολυδυμία, γαλακτοπαραγωγή). Η εγχώρια αίγα επιλέχθηκε διότι είναι η πολυπληθέστερη και η πιο γνωστή φυλή αίγας στην ελληνική ύπαιθρο.

Για τη διεξαγωγή του πειράματος παραλήφθηκαν τομές ιστοτεμαχίων πάχους 10 μm με τη βοήθεια του κρυοτόμου και έγινε ανοσοϊστοχημική χρώση με μονοκλωνικό αντίσωμα κατά της μυοσίνης «αργού τύπου» και κατά της β -δυστρογλυκάνης. Για να γίνει η αντίδραση του πρωτεΐνου αντισώματος ορατή, και κατά συνέπεια να φωτογραφηθούν, να μετρηθούν και να ταξινομηθούν οι μυϊκές ίνες, ακολούθησε η εφαρμογή δύο ακόμα αντισωμάτων.

Η α -δυστρογλυκάνη είναι μια πρωτεΐνη που δεσμεύει την λαμινίνη στη βασική μεμβράνη που περιβάλλει κάθε μυϊκή ίνα και την β -δυστρογλυκάνη που είναι μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη η οποία με τη σειρά της αλληλεπιδρά με τη δυστροφίνη ή την ουτροφίνη στον κυτταροσκελετό. Οι δυστρογλυκάνες (α και β) ενώνονται και αποτελούν τον λειτουργικό πυρήνα ενός μεγαλύτερου συγκροτήματος

πρωτεϊνών που εκτείνεται από τη βασική μεμβράνη στον ενδοκυτταρικό κυτταροσκελετό, ο οποίος χρησιμεύει, ως οικοδόμημα, για την ακεραιότητα του σαρκειλήματος (Côté et al, 1999). Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκε ανοσοϊστοχημική χρώση με αντίσωμα κατά της β-δυστρογλυκάνης η οποία αναγνωρίζει την αντίστοιχη πρωτεΐνη που υπάρχει στην κυτταρική μεμβράνη των μυϊκών κυττάρων, με αυτόν τον τρόπο διακρίνονται θετικώς χρωσμένα τα σαρκειλήματα όλων των μυϊκών ινών.

Οι μυοσίνες συνιστούν μια οικογένεια πρωτεϊνών οι οποίες εξαρτώνται από το ATP και είναι γνωστές για τον ρόλο τους στη σύσπαση των μυών και τη συμμετοχή τους σε ένα ευρύ φάσμα άλλων διαδικασιών πάνω στην κινητικότητα των ευκαρυωτικών κυττάρων. Η μυοσίνη είναι γνωστό ότι αλληλεπιδρά με την ακτίνη στα μυϊκά και στα μη μυϊκά κύτταρα. Το αντίσωμα κατά της μυοσίνης «αργού τύπου» μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον εντοπισμό της αργής μυοσίνης των μυϊκών ινών (Type I) με διάφορες ανοσοϊστοχημικές δοκιμασίες. Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκε ανοσοϊστοχημική χρώση με μονοκλωνικό αντίσωμα κατά της μυοσίνης «αργού τύπου», με αυτόν τον τρόπο διακρίνονται θετικώς χρωσμένα τα κύτταρα κατά της μυοσίνης αργού τύπου καθώς και κάποια κύτταρα με ασθενέστερη, πλην ορατή, χρώση. Τα κύτταρα αυτά αντιστοιχούν στις οξειδωτικές μυϊκές ίνες ή Type I και στις ενδιάμεσες μυϊκές ίνες ή Type IIΑ, αντιστοίχως.

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η εκτίμηση του τύπου μυϊκών ινών σε μικρά μηρυκαστικά και η διερεύνηση της σχέσης μεταξύ εγχώριων φυλών μικρών μηρυκαστικών και των ιστολογικών χαρακτηριστικών των μυϊκών τους ινών. Πειραματική εργασία που συσχετίζει τις φυλές μηρυκαστικών με τις μυϊκές ίνες, διεξάγεται για πρώτη φορά στην Ελλάδα, ενώ ελληνικές φυλές αιγοπροβάτων σε παρόμοιες εργασίες δεν έχουν χρησιμοποιηθεί κατά το παρελθόν.

Η σύγκριση των αποτελεσμάτων των διαφόρων μελετών είναι δύσκολο να πραγματοποιηθεί λόγω διαφορών στην μεθοδολογία του

πειράματος, όπως η επιλογή των φυλών, των μυών, η μέθοδος ταξινόμησης των μυϊκών ινών, οι διαφορές στη δειγματοληψία, το βάρος και η ηλικία των ζώων που επιλέγονται (Bunger et al, 2009). Μια άλλη πρακτική δυσκολία καθιστά το γεγονός ότι έχουν πραγματοποιηθεί πολύ λίγες εργασίες προσδιορισμού των τύπων μυϊκών ινών στα μικρά μηρυκαστικά και ιδιαίτερα στις αίγες.

Ο Suzuki (1971a; 1971b) προσδιόρισε τους τύπους μυϊκών ινών σε διάφορους μυς προβάτων. Οι αργής σύσπασης οξειδωτικές ίνες στον μυ *m. longissimus dorsi* προσδιορίστηκαν σε ποσοστό 12% κατά μέσο όρο και οι ταχείας σύσπασης ίνες σε ποσοστό 87% (52% οι γλυκολυτικές και 35% οι ενδιάμεσες).

Οι Carpenter et al. (1996) διασταύρωσαν προβατίνες της φυλής Rambouillet με κριούς Dorset οι οποίοι έφεραν το γονίδιο της καλλυπυγίας και προσδιόρισαν τους τύπους μυϊκών ινών στους απογόνους στον μυ *m. longissimus dorsi*. Στους απογόνους οι οποίοι δεν φέρουν το γονίδιο της καλλυπυγίας, οι τύποι μυϊκών ινών προσδιορίστηκαν ως εξής: SO 11,7%, FOG 41,8% και FG 46,5%. Στους απογόνους οι οποίοι φέρουν το γονίδιο της καλλυπυγίας, οι τύποι μυϊκών ινών προσδιορίστηκαν ως εξής: SO 7,8%, FOG 29,2% και FG 61,3%.

Οι Peinado et al. (2004) προσδιόρισαν τους τύπους μυϊκών ινών σε πρόβατα της φυλής Segurena στον μυ *m. longissimus thoracis*. Οι αργής σύσπασης οξειδωτικές ίνες προσδιορίστηκαν σε ποσοστό 10%, οι ταχείας σύσπασης γλυκολυτικές ίνες προσδιορίστηκαν σε ποσοστό 53,7% και 33,3% στις ίνες με έντονη οξειδωτική δραστηριότητα ενώ, τέλος, οι ενδιάμεσες ίνες προσδιορίστηκαν σε ποσοστό 36% και 29,4% στις ίνες με ασθενή γλυκολυτική δραστηριότητα.

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας έρχονται σε συμφωνία όσον αφορά τα ποσοστά των οξειδωτικών ινών Type I με τους Suzuki (1971a; 1971b), Carpenter et al. (1996) και Peinado et al. (2004). Συνεπώς, το ποσοστό των Type I μυϊκών ινών του *m. longissimus* στις περισσότερες φυλές προβάτων είναι γύρω στο 12% με εξαίρεση τα

πρόβατα τα οποία φέρουν το γονίδιο της καλλυπυγίας. Επίσης, αν θεωρήσουμε τις γρήγορες μυϊκές ίνες Type II ως ένα σύνολο, τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας συμφωνούν με τα αποτελέσματα των Suzuki (1971a; 1971b), Carpenter et al. (1996) και Peinado et al. (2004). Ωστόσο, εντός του πληθυσμού των Type II ινών τα αποτελέσματα τα αποτελέσματα όλων των εργασιών (Suzuki, 1971a; 1971b; Carpenter et al., 1996; Peinado et al., 2004) έχουν μεγάλες αποκλίσεις μεταξύ τους.

Όσον αφορά τους τύπους μυϊκών ινών των αιγών, οι βιβλιογραφικές πηγές είναι πολύ περιορισμένες. Οι Arguello et al. (2001) χρησιμοποίησαν αίγες της ισπανικής φυλής Murciano-Granadina για να κατατάξουν τις μυϊκές ίνες του *m. semitendinosus* με τη βοήθεια μονοκλωνικών αντισωμάτων που δρουν έναντι ισόμορφων μυοσίνης και εντόπισαν τρεις MyCH οι οποίες χαρακτηρίστηκαν I, IIA και IIX. Οι Arguello et al. (2001) προσδιόρισαν ανοσοϊστοχημικά πέντε τύπους μυϊκών ινών στις αίγες σύμφωνα με τις ισόμορφες αλυσίδες μυοσίνης που περιέχει ο *m. semitendinosus*: I, I+IIA, IIA, IIX και IIX. Ωστόσο, η συγκεκριμένη μέθοδος δεν επιτρέπει τον αριθμητικό προσδιορισμό των μυϊκών ινών και έτσι δεν υπάρχει δυνατότητα σύγκρισης αυτών των αποτελεσμάτων με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, όμως, το ποσοστό των οξειδωτικών μυϊκών ινών των αιγών είναι υπερδιπλάσιο των αντίστοιχων ποσοστών των προβάτων (26%), ενώ το ποσοστό των γλυκολυτικών μυϊκών ινών των αιγών, είναι κατά πολύ μικρότερο (72%).

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, δείχνουν, επίσης, έντονη σχέση μεταξύ των φυλών και των τύπων των μυϊκών ινών στα μικρά μηρυκαστικά, κάτι το οποίο έχει δημοσιευθεί και στο παρελθόν από τους Hawkins et al. (1985) και τους Bunge et al. (2009). Από συγκρίσεις του αριθμού και του μεγέθους των μυϊκών ινών σε διάφορα σπονδυλωτά ζώα, έχει διαπιστωθεί ότι οι διαφορές των ειδών τείνουν να σχετίζονται με μεταβολές στο συνολικό αριθμό των ινών και όχι από μεταβολές στο μέγεθός τους, όπως ήταν αναμενόμενο. Το γεγονός αυτό

πιθανόν να οφείλεται στο μεταβολισμό των ινών, όπως η διάχυση του οξυγόνου, που ενεργεί ως εμπόδιο για την συνολική ανάπτυξη. Εντός των ειδών, όμως, η σημαντικότερη επίδραση των ιστολογικών χαρακτηριστικών των μυών είναι γενετικής προέλευσης (Rehfeldt et al., 1999). Τα ευρήματα των Bungler et al. (2009), παρέχουν αποδεικτικά στοιχεία για μια γενετική βάση των καθιερωμένων διαφορών της φυλής στα ιστολογικά χαρακτηριστικά των ινών. Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας έρχονται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα των Bungler et al. (2009).

Οι περισσότερες μελέτες οι οποίες διερεύνησαν τη σχέση της φυλής με τα χαρακτηριστικά των μυϊκών ινών, είχαν συνήθως ως στόχο τη διερεύνηση της χρήσης των χαρακτηριστικών των μυϊκών ινών ώστε να αποτελούν κριτήριο ορισμένων ποιοτικών παραμέτρων της ποιότητας του κρέατος. Ο συντελεστής συσχέτισης μεταξύ των χαρακτηριστικών των μυϊκών ινών και των χαρακτηριστικών της ποιότητας του κρέατος έχει βρεθεί ότι είναι χαμηλός έως μέτριος (Smith and Carpenter, 1970). Παρόλα αυτά, τα χαρακτηριστικά των μυϊκών ινών εξακολουθούν να θεωρούνται χρήσιμοι δείκτες για την ποιότητα του κρέατος, δεδομένου ότι οι μετρήσεις της ποιότητας επηρεάζονται από την επίδραση πολλών παραγόντων πριν, κατά τη διάρκεια, και μετά τη σφαγή, ενώ τα ιστολογικά χαρακτηριστικά φαίνεται να είναι λιγότερο ευαίσθητα σε τέτοιους οξείς περιβαλλοντικούς παράγοντες (Bunger et al, 2009). Σύμφωνα με τον Lefaucher (2010) η σχέση μεταξύ της σύνθεσης των ινών και της ποιότητας του κρέατος δεν είναι καθολική μεταξύ των ειδών και εξαρτάται από πολλούς παράγοντες που αλληλεπιδρούν, όπως ο τύπος των μυών, το είδος, η φυλή, ο γονότυπος, η ηλικία, η διατροφή, το περιβάλλον εκτροφής, καθώς και οι συνθήκες σφαγής και επεξεργασίας μετά τη σφαγή. Εκτός από τις μυϊκές ίνες, άλλα συστατικά, όπως το ενδομυϊκό λίπος και ο συνδετικός ιστός μπορούν να επηρεάσουν πολλαπλά τις πτυχές της ποιότητας του κρέατος με ένα πολύπλοκο τρόπο. Εξαιτίας αυτού του πολύπλοκου δικτύου αλληλεπιδράσεων, είναι δύσκολο να βρεθεί ένας απλός και καθολικός βιολογικός δείκτης

της ποιότητας του κρέατος που θα μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε όλες τις καταστάσεις.

Στη συγκεκριμένη εργασία δεν πραγματοποιήθηκε συσχετισμός της ποιότητας του κρέατος και των τύπων των μυϊκών ινών σε πειραματικό, παρά μόνο σε θεωρητικό επίπεδο. Το γεγονός, όμως, ότι επιβεβαιώθηκε για πρώτη φορά στην Ελλάδα η ύπαρξη σχέσης μεταξύ των εγχώριων φυλών αιγοπροβάτων και των τύπων των μυϊκών τους ινών, καθιστά αναγκαία τη συνέχιση της ερευνητικής προσπάθειας.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- ✓ Με την εργασία αυτή, έγινε μια πρώτη προσπάθεια εκτίμησης του τύπου μυϊκών ινών σε μικρά μηρυκαστικά ελληνικών φυλών. Τα χαρακτηριστικά των μυϊκών ινών θεωρούνται χρήσιμοι δείκτες για την ποιότητα του κρέατος. Η σχέση μεταξύ της σύνθεσης των ινών και της ποιότητας του κρέατος δεν είναι καθολική αλλά εξαρτάται από πολλούς παράγοντες που αλληλεπιδρούν, ενώ, εξαιτίας αυτού του πολύπλοκου δικτύου αλληλεπιδράσεων, είναι δύσκολο να βρεθεί ένας απλός δείκτης της ποιότητας του κρέατος που θα μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε όλες τις καταστάσεις.
- ✓ Πειραματική εργασία που συσχετίζει τις φυλές μηρυκαστικών με τις μυϊκές ίνες, διεξάγεται για πρώτη φορά στην Ελλάδα, ενώ ελληνικές φυλές αιγοπροβάτων σε παρόμοιες εργασίες δεν έχουν χρησιμοποιηθεί κατά το παρελθόν.
- ✓ Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, δείχνουν, έντονη σχέση μεταξύ των φυλών και των τύπων των μυϊκών ινών στα μικρά μηρυκαστικά.
- ✓ Το ποσοστό των οξειδωτικών μυϊκών ινών των προβάτων κυμαίνεται περίπου στο 12% ενώ των γλυκολυτικών μυϊκών ινών στο 85%.
- ✓ Το ποσοστό των οξειδωτικών μυϊκών ινών των αιγών είναι υπερδιπλάσιο των αντίστοιχων ποσοστών των προβάτων (26%), ενώ το ποσοστό των γλυκολυτικών μυϊκών ινών των αιγών, είναι κατά πολύ μικρότερο (72%).
- ✓ Για τον καλύτερο έλεγχο της ποιότητας του κρέατος απαιτείται υψηλή γνώση της φυσιολογίας του μυϊκού συστήματος.
- ✓ Για την εξαγωγή χρήσιμων συμπερασμάτων στα δεδομένα της Ελλάδας θα ήταν σκόπιμο να συνεχιστεί η έρευνα.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ελληνική βιβλιογραφία

1. **Μιχαήλ Σ.** (1985). Συγκριτική ανατομική των κατοικίδιων θηλαστικών, Μυολογία, Αφοί Κυριακίδη ΑΕ, Θεσσαλονίκη, 133-221.
2. **Μιχαήλ Σ.** (1996). Ιστολογία, Μυϊκός ιστός, Αφοί Κυριακίδη ΑΕ, Θεσσαλονίκη, 141-160.
3. **Σμοκοβίτης Α.** (2004). Φυσιολογία, Πηγές ενέργειας στους μυς, Αφοί Κυριακίδη ΑΕ, Θεσσαλονίκη, 184-185.

Διεθνής βιβλιογραφία

4. **Avecevedo L.M.** and **Rivero J.L.** (2006). New insights into skeletal muscle fiber types in the dog with particular focus towards hybrid myosin phenotypes. *Cell and Tissue Research*, 323, 283-303.
5. **Alasnier, C., Réminon, H.** and **Gandemer, G.** (1996). Lipid characteristics associated with oxidative and glycolytic fibres in rabbit muscles. *Meat Science*, 43, 213–224
6. **Allen R.E., Merkel R.A.** and **Young R.B.** (1979), Cellular Aspect of Muscle Growth: Myogenic Cell Proliferation. *Journal of Animal Science*, 49, 115-127.
7. **Andersen, H. J., Oksbjerg, N., Young, J. F.,** and **Therkildsen, M.** (2005). Feeding and meat quality – A future approach. *Meat Science*, 70, 543–554.
8. **Arguello A., Fernandez J.L.** and **Rivero J.L.** (2001). Limb myosin heavy chains isoproteins and muscle fiber types in the adult goat (*Capra hircus*). *Anatomical Record*, 264, 284-293.
9. **Armstrong, R. B., Delp, M. D., Goljan, E. F.** and **Laughlin, M. H.** (1987) Distribution of blood flow in muscles of miniature swine during exercise. *Journal of Applied Physiology* 62 (3), 1285-1298.
10. **Ashmore, C. R.** (1974). Phenotypic expression of muscle fiber types and some implications to meat quality. *Journal of Animal Science*, 38, 1158–1164.
11. **Ashmore, C.R.,** and **Doerr, L.** (1971). Comparative aspects of muscle fiber types in different species. *Experimental Neurology*, 31, 408–418.
12. **Balaskas, C.,** and **Gabella, G.** (1998). Glial fibrillary acidic protein (GFAP) immunoreactivity in enteric ganglia of the chick embryo. *Brain Research*, 804(2), 275-283.

13. **Bar A.** and **Pette D.** (1988). Three fast myosin heavy chains in adult rat skeletal muscle. *FEBS letters*, 235, 153-155.
14. **Bär, U.**, and **Blanchaer, M. C.** (1965). Glycogen and CO₂ production from glucose and lactate by red and white skeletal muscle. *American Journal of Physiology*, 209, 905–909.
15. **Bartlett, J. E.**, **J. J. Guenther, K. K. Novotney** and **R. D. Morrison.** (1979). Myofiber number and type in baby calves as influenced by breed-type. *Journal of Animal Science*, 49 (Suppl. 1), 211.
16. **Bass J.J.**, **Sharma M.**, **Oldham, J.**, **Kambadur R.** (2000). Muscle growth and genetic regulation. In: *Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction* (PB CRONJE, Ed) CABI Publishing, 227-236.
17. **Berri, C.**, **Bihan-Duval, E.**, **Debut, M.**, **Sante-Lhoutellier, V.**, **Baeza, E.**, **Gigaud, V.** (2007). Consequence of muscle hypertrophy on characteristics of Pectoralis major muscle and breast meat quality of broiler chickens. *Journal of Animal Science*, 85, 2005–2011.
18. **Bonen, A.**, **Tan, M. N.**, and **Watson-Wright, W. M.** (1981). Insulin binding and glucose uptake differences in rodent skeletal muscles. *Diabetes*, 30, 702–704.
19. **Bonneau, M.** (1991). Regulation of pig growth by somatotropic hormones, II. The effect of exogenous GRF or PST administration on performance and meat quality. *Pig News Information*, 12, 39–45.
20. **Bowker, B. C.**, **Grant, A.**, **Swartz, D. R.**, and **Gerrard, D. E.** (2004). Myosin heavy chain isoforms influence myofibrillar ATPase activity under simulated postmortem pH, calcium, and temperature conditions. *Meat Science*, 67, 139–147.
21. **Brameld J.M.**, **Fahey A.J.**, **Langley-Evans S.C.**, **Buttery P.J.** (2003). Nutritional and hormonal control of muscle growth and fat deposition. *Archiv Tierzucht Dummerstorf*, 46, Special Issue, 143-156.
22. **Brameld, J.M.**, **Buttery, P.J.**, **Dawson, J.M.**; **Harper, J.M.** (1998). Nutritional and hormonal control of skeletal muscle cell growth and differentiation. *Proceedings of the Nutrition Society*, 57, 207-217.
23. **Brandstetter, A. M.**, **Picard, B.** and **Geay, Y.** (1997) Regional variations of muscle fibre characteristics in m. semitendinosus of growing cattle. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, 18, 57-62.

24. **Briand, M., Talmant, A., Briand, Y., Monin, G. and Durand, R.** (1981) Metabolic types of muscle in the sheep: I. Myosin ATPase, glycolytic, and mitochondrial enzyme activities. *European Journal of Applied Physiology* 46, 347-358.
25. **Brooke M.H. and Kaiser K.K.** (1970). Muscle fiber types: How many and what kind? *Archives of Neurology*, 23, 369-379.
26. **Buitrago, J. A., E. F. Walker, W. I. Snyder, and W. G. Pond.** (1974). Blood and tissue traits in pigs at birth and at 3 weeks from gilts fed low or high energy diets during gestation. *Journal of Animal Science*. 38:766–771.
27. **Bunger L., Navajas E.A., Stevenson L., Lambe N.R., Maltin C.A., Simm G., Fisher A.V., Chang K.C.** (2009). Muscle fibre characteristics of two contrasting sheep breeds: Scottish Blackface and Texel, *Meat Science*, 81, 372-381.
28. **Buttery, P.J., Brameld, J.M., Dawson J.M.** (2000). Control and manipulation of hyperplasia and hypertrophy in muscle tissue. In: Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction (P.B CRONJE, Ed) CABI Publishing, 237-254.
29. **Calkins C.R., Dutson T.R., Smith G.C., Carpenter Z.L., Davis G.W.** (1981). Relationship of fiber type composition to marbling and tenderness of bovine muscle. *Journal of Food Science*, 46, 708-710.
30. **Cameron, N. D., Nute, G. R., Brown S. N., Enser, M., and Wood J. D.** (1999). Meat quality of Large White pig genotypes selected for components of efficient lean growth rate. *Animal Science*, 68, 115-127.
31. **Cannon, J. E., Morgan, J. B., Heavner, J., Mckeith, F. K., Smith, G. C., and Meeker, D. L.** (1995). Pork quality audit: A review of the factors influencing pork quality. *Journal of Muscle Foods*, 6, 369–402.
32. **Carpenter E., Rice O., Cockett N.E., and Snowden G.D.** (1996). Histology and composition of muscles from normal and callipyge lambs. *Journal of Animal science*, 74, 388-393.
33. **Carpenter, C. E., Rice, O. D., Cockett, N. E., and Snowden, G. D.** (1996). Histology and composition of muscles from normal and Callipyge lambs. *Journal of Animal Science*, 74, 388–393.
34. **Cassens R.G. and Cooper C.C.** (1971). Red and white muscles. *Advances in Food Research*, 19, 1-74.

35. **Cassens, R. G., Marple, D. N. and Eikelenboom, G.** (1975). Animal physiology and meat quality. *Advances in Food Research*, 21, 71-155.
36. **Chang K.C., Da Costa N., Blackley R., Southwood O., Evans G., Plastow G.** (2003) Relationships of myosin heavy chain fiber types to meat quality traits in traditional and modern pigs. *Meat Science*, 64, 93-103.
37. **Choe, J. H., Choi, Y. M., Lee, S. H., Shin, H. G., Ryu, Y. C., Hong, K. C.** (2008). The relation between glycogen, lactate content and muscle fiber type composition, and their influence on postmortem glycolytic rate and pork quality. *Meat Science*, 80, 355–362.
38. **Choi, Y. M., Ryu, Y. C., and Kim, B. C.** (2006). Effect of myosin heavy chain isoforms on muscle fiber characteristics and meat quality in porcine longissimus muscle. *Journal of Muscle Foods*, 17, 413–427.
39. **Choi, Y. M., Ryu, Y. C., and Kim, B. C.** (2007). Influence of myosin heavy- and light chain isoforms on early postmortem glycolytic rate and pork quality. *Meat Science*, 76, 281–288.
40. **Clancy, M. J., Lester, J. M., and Roche, J. F.** (1986). The effects of anabolic agents and breed on the fibers of the longissimus muscle of male cattle. *Journal of Animal Science*, 63, 83–91.
41. **Cooper, C.C., Cassens, R.G., Kastenschmidt, L.L., Briskey, E.J.,** (1970). Histochemical characterization of muscle differentiation. *Developmental Biology* 23, 169.
42. **Cornforth, D. P., A. L. Hecker, D. A. Cramer, A. A. Spindler, and M. M. Mathias.** (1980). Maturity and its relationship to muscle characteristics of cattle. *Journal of Animal Science*, 50, 75–80.
43. **Côté P.D., Moukhles H., Lindenbaum M. and Carbonetto S.** (1999). Chimaeric mice deficient in dystroglycans develop muscular dystrophy and have disrupted myoneural synapses. *Nature Genetics*, 23,338-342
44. **Cox R.D. and Buckingham M.E.** (1992). Actin and myosin genes are transcriptionally regulated during mouse skeletal muscle development. *Developmental Biology*, 149, 228-234.
45. **Craig R.W. and Padron R.** (2004) Myology, 3rd Edition, Section 2, Muscle Contraction, Chapter 7: Molecular structure of sarcomere.
46. **Cross H.R. and Belk K.E.** (1994). Objective measurements of carcass and meat quality. *Meat Science*, 36, 191-202.

47. **Cross, H. R., G. C. Smith and Z. L. Carpenter.** (1972). Palatability of individual muscles from ovine leg steaks as related to chemical and histological traits. *Journal of Food Science*, 37,282
48. **Croston, D., Kempster, A. J., Guy, D. R., and Jones, D. W.** (1987). Carcass composition of crossbred lambs by 10 sire breeds compared at the same carcass subcutaneous fat proportion. *Animal Production*, 44, 99–106.
49. **Da Costa N., Blackley R., Alzuherri H. and Chang K.C.** (2002). Quantifying the temporospatial expression of postnatal porcine skeletal myosin heavy chain genes. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 50, 353-364.
50. **Davis G. W.** (1981). Relationship of fiber type composition to marbling and tenderness of bovine muscle. *Journal of Food Science*, 46, 708–710.
51. **Davoli R., Fontanesi L., Zambonelli P., Bigi D., Gellin J., Yerle M.** (2002). Isolation of porcine expressed sequence tags for the construction of a first genomic transcript map of the skeletal muscle in pig. *Animal Genetics*, 33, 3-18.
52. **Denny-Brown, D. E.** (1929). The histological features of striped muscle in relation to its functional activity. *Proceedings of the Royal Society B*, 104, 371.
53. **Dingboom E.G. and Weijs W.A.** (2004). The effect of growth and exercise on muscle characteristics in relationship to meat quality. Muscle development of livestock animals: Physiology, Genetics and Meat quality (pp. 83-102). Cambridge: CABI Publishing.
54. **Dransfield, E., Martin, J. F., Bauchart, D., Abouelkaram, S., Lepetit, J., Culioli, J., et al.** (2003). Meat quality and composition of three muscles from French cull cows and young bulls. *Animal Science*, 76, 387–399.
55. **Dreyer, J. H., R. T. Naudé, J. W. N. Henning, and E. Rossouw** (1977). The influence of breed, castration and age on muscle fibre type and diameter in Friesland and Afrikaner cattle. *South African Journal of Animal Science*. 7, 171-180.
56. **Dunshea, F. R., D’Souza, D. N., Pethick, D. W., Harper, G. S., and Warner, R. D.** (2005). Effects of dietary factors and other metabolic modifiers on quality and nutritional value of meat. *Meat Science*, 71, 8–38.
57. **Dwyer, C. M., and N. C. Stickland.** (1994). Supplementation of a restricted maternal diet with protein or carbohydrate alone prevents a reduction in fetal

- muscle fibre number in the guinea-pig. *British Journal of Nutrition* 72:173–180.
58. **Dwyer, C. M., J. M. Flether, and N. C. Stickland.** (1993). Muscle cellularity and postnatal growth in the pig. *Journal of Animal Science.* 71:3339–3343
59. **Ertbjerg, A. J. Møller, C. Bejerholm, and S. Støier.** (2000). Long-term changes in performance and meat quality of danish landrace pigs: A study on a current compared with an unimproved genotype. *Animal Science.* 71:81–92.
60. **Essen-Gustavsson, B., Karlsson, A., Lundstrom, K., and Enfalt, A. C.** (1994). Intramuscular fat and muscle fibre lipid contents in halothane-gene-free pigs fed high or low protein diets and its relation to meat quality. *Meat Science*, 38, 269–277.
61. **Essen-Gustavsson, B., Karlstriim, K. and LundstrBm, K.** (1992) Muscle fibre characteristics and metabolic response at slaughter in pigs of different halothane genotypes and their relation to meat quality. *Meat Science*, 31, 1-11.
62. **Essen-Gustavsson, B., Lindholm, A.,** (1984). Fiber types and metabolic characteristics in muscles of wild boars, normal and halothane sensitive Swedish Landrace pigs. *Comparative Biochemistry and Physiology.* 78A, 67.
63. **Feltcamp T.E.W. and Feltcamp-Vroom T.M.** (1965). Antibodies against the Various Types of Skeletal Muscle Fibres, *Immunology*, 9, 275.
64. **Fiedler, I., Dietl, G., Rehfeldt, C., Wegner, J., and Ender, K.** (2004). Muscle fibre traits as additional selection criteria for muscle growth and meat quality in pigs—results of a simulated selection. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 121, 331–344.
65. **Fritsche, S., Solomon, M. B., Paroczay, E. W., and Rumsey, T. S.** (2000). Effects of growth-promoting implants on morphology of longissimus and semitendinosus muscles in finishing steers. *Meat Science*, 56, 229–237.
66. **Gauthier G. F.** (1969). On the relationship of ultrastructural and cytochemical features to color in mammalian skeletal muscle. *Zeitschrift fur Zellforschung* 95, 462-482.
67. **Gerrard D.E., Grant A.L.** (1994). Insulin-like growth factor-II expression in developing skeletal muscle of double muscled and normal cattle. *Domestic Animal Endocrinology* 11, 339-347.

68. **Gibson, L.L., Croken, G. and Byrbidge-Boyd, C.M.** (2006). The Effects of Terminal Sire Breed on Carcass Quality and Sensory Traits of Lamb. A final report to the Alberta Sheep and Wool Commission.
69. **Gil, M., Oliver, M. A., Gispert, M., Diestre, A., Sosnicki, A. A., Lacoste, A.** (2003). The relationship between pig genetics, myosin heavy chain I, biochemical traits and quality of *M. Longissimus thoracis*. *Meat Science*, 65, 1063–1070.
70. **Gondret, F., Combes, S., Lefaucheur, L., and Lebret, B.** (2005). Effects of exercise during growth and alternative rearing systems on muscle fibers and collagen properties. *Reproduction, Nutrition and Development*, 45, 69–86.
71. **Gorza L.** (1990). Identification of a novel type 2 fibre population in mammalian skeletal muscle by combined use of histochemical myosin ATPase and anti-myosin monoclonal antibodies. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 38, 257-265.
72. **Graziotty Graziotti G.H., Palencia P., Delhon G. and Rivero J.L.** (2004). Neuromuscular partitioning, architectural design and myosin fiber types of the *M. Vastus lateralis* of the llama (*Lama glama*). *Journal of Morphology*, 262, 667-681.
73. **Graziotty G.H., Rios C.M. and Rivero J.L.** (2001). Evidence of the three fast myosin heavy chains isoforms in type 2 skeletal muscle fibers in the adult llama (*Lama glama*). *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 49, 1033-1044.
74. **Grobet, L., Martin, L. J. R., Poncelet, D., Pirottin, D., Brouwers, B., Riquet, J.** (1997). A deletion in the bovine myostatin gene causes the double-muscled phenotype in cattle. *Nature Genetics*, 17, 71–74.
75. **Gunning, P., and Hardeman, E.** (1991). Multiple mechanisms regulate muscle fiber diversity. *FASEB Journal*, 5, 3064–3070.
76. **Guth, L., and H. Yellin.** (1971). The dynamic nature of the so-called fiber types 1 of mamalian skeletal muscle. *Experimental Neurology*, 31, 277–300.
77. **Haddad F., Qin A.X., Bodell P.W., Jiang W., Giger J.M. and Baldwin K.M.** (2008). Intergenic transcription and developmental regulation of cardiac myosin heavy chain genes. *American Journal of Physiology*, 294, H29-H40.

78. **Hamalainen**, N. and **Pette**, D. (1995). Patterns of myosin isoforms in mammalian skeletal muscle fibres. *Microscopy Research and Technique*, 30, 381-389.
79. **Hammond**, J. (1932). Growth and Development of Mutton Qualities in the Sheep. Oliver and Boyd, London. **Joubert**, D. M. 1956. An analysis of factors influencing postnatal growth and development of the muscle fiber. *Journal of Agricultural Sciences*, (Carnb.) 47, 59.
80. **Harrison**, A. P., **Rowlerson**, A. M., and **Dauncey**, M. J. (1996). Selective regulation of myofibre differentiation by energy status during postnatal development. *American Journal of Physiology – Regulatory Integrative Comparative Physiology*, 270, R667–R674.
81. **Hawkins** R.R., **Moody** W.G. and **Kemp** J.D. (1985). Influence of genetic type, slaughter weight and sex on ovine muscle fiber and fat-cell development. *Journal of Animal Science*, 61, 1154-1163.
82. **Henckel**, P. (1995). Perimortal metabolic events and consequences for meat quality. Proceedings 2nd Dummerstorf Muscle Workshop Muscle Growth and Meat Quality, *Restock*, 77-82.
83. **Henckel**, P., **Oksbjerg**, N., **Erlandsen**, E., **Barton-Gade**, P., and **Bejerholm**, C. (1997). Histo- and biochemical characteristics of the longissimus dorsi muscle in pigs and their relationships to performance and meat quality. *Meat Science*, 47, 311–321.
84. **Henckel**, P. (1991). Can meat quality be assessed histochemically? *Development of Animal Veterinary Science*, 25, 212.
85. **Henriksen**, E. J., **Bourey**, R. E., **Rodnick**, K. J., **Koranyi**, L., **Permutt**, M. A., and **Holloszy**, J. O. (1990). Glucose transporter protein content and glucose transport capacity in rat skeletal muscles. *American Journal of Physiology – Endocrinology and Metabolism*, 259, E593–E598.
86. **Herpin**, P., and **Lefaucheur**, L. (1992). Adaptive changes in oxidative metabolism in skeletal muscle of cold-acclimated piglets. *Journal of Thermal Biology*, 17, 277–285.
87. **Huxley** H.E. and **Hanson** J. (1957a). Quantitative studies on the structure of cross-striated myofibrils: I. Investigations by interference microscopy. *Biochimica et Biophysica Acta*, 23, 229-249.

88. **Huxley** H.E. and **Hanson** J. (1957b). Quantitative studies on the structure of cross-striated myofibrils: II. Investigations by biochemical techniques. *Biochimica et Biophysica Acta*, 23, 250-260.
89. **Jiang** Y.L., **Li** N., **Fan** X.Z., **Xiao** L.R., **Xiang** R.L., **Hu** X.X., **Du** L.X., **Wu** C.X. (2002a). Associations of T → A mutation in the promoter region of myostatin gene with birth weight in Yorkshire pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 15 (2002a), 1543-1545.
90. **Jiang** Y.L., **Li** N., **Plastow** G., **Liu** Z.L., **Hu** X.X., **Wu** C.X. (2002b). Identification of three SNPs in the porcine myostatin gene (MSTN). *Animal Biotechnology* 13 (2002b), 173-178
91. **Johnson**, D. M., **D. F. Stewart**, **W. G. Moody**, **J. Boling** and **J. D. Kemp**. (1975). Effect of breed and time on feed on the size and distribution of beef muscle fiber types. *Journal of Animal Science*, 40, 613.
92. **Johnston**, D. M., **W. G. Moody**, **J. A. Boling**, and **N. W. Bradley**. (1981). Influence of breed type, sex, feeding systems, and muscle bundle size on bovine fiber type characteristics. *Journal of Food Science*, 46, 1760–1765.
93. **Jurie**, C., **Robelin**, J., **Picard**, B., and **Geay**, Y. (1995). Post-natal changes in the biological characteristics of semitendinosus muscle in male Limousin cattle. *Meat Science*, 41, 125–135.
94. **Karlsson**, A. (1993). Porcine muscle fibres—biochemical and histochemical properties in relation to meat quality. Ph.D Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences, *Department of Food Science, Uppsala, Sweden*.
95. **Karlsson**, A. H., **Klont**, R. E., and **Fernandez**, X. (1999). Skeletal muscle fibers as factors for pork quality. *Livestock Production Science*, 60, 255-269.
96. **Kauffman**, R. G., **Vanlaack**, R. L. J. M., **Russell**, R. L., **Pospiech**, E., **Cornelius**, C. A., **Suckow**, C. E. (1998). Can pale, soft, exudative pork be prevented by postmortem sodium bicarbonate injection? *Journal of Animal Science*, 76, 3010–3015.
97. **Kelley** R.L., **Jungst** S.B., **Spencer** T.E., **Owsley** W.F., **Rahe** C.H. **Mulvaney**. R. (1995). Maternal treatment with somatotropin alters embryonic development and early postnatal growth of pigs. *Domestic Animal Endocrinology*, 12, 83-94.
98. **Kern**, M., **Wells**, J. A., **Stephens**, J. M., **Elton**, C. W., **Friedman**, J. E., **Tapscott**, E. B. (1990). Insulin responsiveness in skeletal muscle is

- determined by glucose transporter (Glut4) protein level. *Biochemical Journal*, 270, 397–400.
99. **Kiessling** K.H and **Hansson** I. (1983) Fibre composition and enzyme activities in pig muscles. *Swedish Journal of Agricultural Research* 13, 257-261.
100. **Kiessling**, K.-H., **Lundstrom**, K., **Petersson**, H., **Stalhammar**, H., (1982). Age and feed related to changes of fiber composition in pig muscle. *Swedish Journal of Agricultural Research* 12, 69.
101. **Kim**, J. M., **Lee**, Y. J., **Choi**, Y. M., **Kim**, B. C., **Yoo**, B. H., and **Hong**, K. C. (2008). Possible muscle fiber characteristics in the selection for improvement in porcine lean meat production and quality. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 21, 1529–1534.
102. **Kirton**, A. H., **Carter**, A. H., **Clarke**, J. N., **Sinclair**, D. P., **Mercer**, G. J. K., and **Duganzich**, D. M. (1995). A comparison between 15 Ram breeds for export lamb production. 1. Liveweights, body components, carcass measurements, and composition. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 38, 347–360.
103. **Klont** .R. E., **Brocks** L. and **Eikelenboom** G. (1998). Muscle Fibre Type and Meat Quality. *Meat Science*, 49, S219-S229.
104. **Klosowska** D. and **Fiedler** I. (2003). Muscle fiber types in pigs of different genotypes in relation to meat quality Proceedings of the conference: “Effects of genetics and non-genetic factors on carcass and meat quality of pigs (Poland, 2003). *Animal Science Papers and Reports*, 21, 49-60.
105. **Koohmaraie**, M., **Kent**, M. P., **Shackelford**, S. D., **Veiseth**, E., and **Wheeler**, T. L. (2002). Meat tenderness and muscle growth: Is there any relationship? *Meat Science*, 62, 345–352.
106. **Larzul**, C., **Lefaucheur**, L., **Ecolan**, P., **Gogué**, J., **Talmant**, A., **Sellier**, P. (1997). Phenotypic and genetic parameters for longissimus muscle fiber characteristics in relation to growth, carcass, and meat quality traits in Large White pigs. *Journal of Animal Science*, 75, 3126–3137.
107. **Lawrie** R. (1978). Biochemistry of muscle in relation to growth. In patterns of growth and development in cattle. *Edited By H. De Boer and J. Martin*. The Hague. Boston. London.

108. **Lebret, B., Le Roy, P., Monin, G., Lefaucheur, L., Caritez, J. C., Talmant, A.** (1999). Influence of the three RN genotypes on chemical composition, enzyme activities and myofiber characteristics of porcine skeletal muscle. *Journal of Animal Science*, 77, 1482–1489.
109. **Lefaucher L., Hoffman R.K. Gerrard D.E., Okamura C.S., Rubinstein N. and Kelly A.** (1998). Evidence of three adult fast myosin heavy chains isoforms in type II skeletal muscle fiber in pigs. *Journal of Animal Science*, 76, 1584-1593.
110. **Lefaucher L., Milan D. Ecolan P. and Le Calennec C.** (2004). Myosin heavy chain composition of different skeletal muscles in Large White and Meishan pigs. *Journal of Animal Science*, 82, 1931-1941.
111. **Lefaucher, L.** (2010) A second look into fiber typing-Relation to meat quality. *Meat Science*, 84, 257-270.
112. **Lefaucheur, L., Ecolan, P., Plantard, L. and Gueguen, N.** (2002). New insights into muscle fiber types in the pig. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 50, 719–730.
113. **Lefaucheur, L., Le Dividich, J., Mourot, J., Monin, G., Ecolan, P., and Krauss, D.** (1991). Influence of environmental temperature on growth, muscle and adipose tissue metabolism, and meat quality in swine. *Journal of Animal Science*, 69, 2844–2854.
114. **Lefaucheur L. and Gerrard D.** (2000). Muscle fiber plasticity in farm mammals. *Journal of Animal Science*, 77, 1-19.
115. **Lefaucheur, L., Vigneron, P.** (1986). Post-natal changes in some histochemical and enzymatic characteristics of three pig muscles. *Meat Science*. 16, 199.
116. **Lengerken, G., Maak, S., Wicke, M., Fiedler, I., and Ender, K.** (1994). Suitability of structural and functional traits of skeletal muscle for the genetic improvement of meat quality in pigs. *Archiv fur Tierzucht*, 37, 133–143.
117. **Leseigneur-Meynier, A., and Gandemer, G.** (1991). Lipid composition of pork muscle in relation to the metabolic type of the fibres. *Meat Science*, 29, 229–241.
118. **Leymaster, K. A., Shackelford, S. D., Wheeler, T. L., and Koohmaraie, M.** (2006). Direct breed effects on growth, carcass, and meat quality traits of

- sheep. *Proceedings of the eighth World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, MG, Brasil: Belo Horizonte.
119. **Lowey S.** and **Cohen C.** (1962). Studies on the Structure of Myosin. *Journal of Molecular Biology*, 4, 293-308.
120. **Mahdavi V., Chambers A.P.** and **Nadal-Ginard B.** (1984). Cardiac alpha- and beta- myosin heavy chain genes are organized in tandem. *PNAS USA*, 81, 2626-2630.
121. **Malenfant, P., Joanisse, D. R., Theriault, R., Goodpaster, B. H., Kelley, D. E., and Simoneau, J. A.** (2001). Fat content in individual muscle fibers of lean and obese subjects. *International Journal of Obesity*, 25, 1316–1321.
122. **Maltin C.A., Balcezak D., Tilley R.** and **Delday M.** (2003) Determinants of meat quality: tenderness. *Proceedings of the Nutrition Society*, 62, 337-347.
123. **Maltin C.A., Delday M.I., Hay S.M.** (1990). The effect of clenbuterol administration in utero and throughout lactation on pre- and post-natal muscle development in the rat. *Growth, Development and Aging* 54, 143-150.
124. **Maltin C.A., Delday M.I., Sinclair K.D., Steven, J., Sneddon A.A.** (2001b) Impact of manipulations of myogenesis in utero on the performance of adult skeletal muscle. *Reproduction* 122, 359-374.
125. **Maltin C.A., Lobley C.E., Grant C.M., Miller L.A., Kyle D.J., Horgan H.W.** (2001a). Factors influencing beef eating quality-2. Effects of nutritional regimen and genotype on muscle fiber characteristics. *Animal Science*, 72, 279-287.
126. **Maltin C.A., Warcup C.C., Mathews K.R., Grant C.M., Porter A.D.** and **Delday M.I.** (1997). Pig muscle fiber characteristics as a source of variation in eating quality. *Meat Science*, 47, 237-248.
127. **Maltin, C. A., Sinclair, K. D., Warriss, P. D., Grant, C. M., Porter, A. D., Delday, M. I.** (1998). The effects of age at slaughter, genotype and finishing system on the biochemical properties, muscle fibre type characteristics and eating quality of bull beef from suckled calves. *Animal Science*, 66, 341–348.
128. **May, M. L., M. E. Dikeman** and **R. Schalles.** (1977). Longissimus muscle histological characteristics of Simmental , Angus, Hereford , Angus and Limousin , Angus crossbred steers as related to carcass composition and meat palatability traits. *Journal of Animal Science* 44, 571.

129. **McAllister** **McAllister**, R. M., **Reiter**, B. L., **Amann**, J. F., and **Laughlin**, M. H. (1997). Skeletal muscle biochemical adaptations to exercise training in miniature swine. *Journal of Applied Physiology*, 82, 1862–1868.
130. **McCampbell**, H.C., **Griffin**, F.M., **Seerley**, R.W., **Foley**, C.W., (1974). Wild and domestic swine: growth and composition. *Journal of Animal Science* 38, 220.
131. **McPherron** **McPherron** A.C., **Lawler** A.M., **Lee** S.J. (1997). Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF- β superfamily member. *Nature* 387, 83-90
132. **Melton**, C. C., M. E. **Dikeman**, H. J. **Tuma**, and D. H. **Kropf**. (1975). Histochemical relationships of muscle biopsies with bovine muscle quality and composition. *Journal of Animal Science* 40, 451–456.
133. **Melton**, C. C., M. E. **Dikeman**, H. J. **Tuma**, and R. R. **Schalles**. (1974). Histological relationships of muscle biopsies to bovine meat quality and carcass composition. *Journal of Animal Science* 38, 24–31.
134. **Menzel**, M., (1999a). Histochemical and morphometric studies of the musculature of the forelimb of sheep with reference to its function. Bending and extension of elbow joints. *Anatomy, Histology and Embryology*. 181, 283–291.
135. **Menzel**, M., (1999b). Histochemical and morphometric studies of the musculature of the forelimb of sheep with reference to its function. Flexor and extensor for carpal and toe joints. *Anatomy, Histology and Embryology*. 181, 385–395.
136. **Milan**, D., **Jeon**, J. T., **Amarger**, V., **Robic**, A., **Thelander**, M., **Rogel-Gaillard**, C. (2000). A mutation in PRKAG3 associated with excess glycogen content in pig skeletal muscle. *Science*, 288, 1248–1251.
137. **Miller**, L.R., **Garwood**, V.A., **Judge**, M.D. (1975). Factors affecting porcine muscle fiber type, diameter and number. *Journal of Animal Science*, 41, 66.
138. **Monin**, G., **Mejenes-Quijano**, A., **Talmant**, A. and **Sellier**, P. (1987) Influence of breed and muscle metabolic type on muscle glycolytic potential and meat pH in pigs. *Meat Science*, 20, 149-158.
139. **Moody**, W. G., and R. G. **Cassens**, (1968). Histochemical differentiation of red and white muscle fibers. *Journal of Animal Science*, 27, 961–968.

140. **Moody**, W. G., **D. A. Tichenor**, **J. D. Kemp** and **J. D. Fox**. (1970). Effect of weight, castration and rate of gain on muscle fiber and fat cell diameters in two ovine muscles. *Journal of Animal Science*, 31, 676.
141. **Moody**, W. G., **J. D. Kemp**, **M. Mahyuddin**, **D. M. Johnston** and **D. G. Ely**. (1980). Effect of feeding systems, slaughter weight and sex on histological properties of lamb carcasses. *Journal of Animal Science*, 50, 249.
142. **Moody**, W.G., **Enser**, M.B., **Wood**, J.D., **Restall**, D.J., **Lister**, D., (1978). Comparison of fat and muscle development in Pietrain and Large White piglets. *Journal of Animal Science*, 46, 618.
143. **Ngapo**, T. M., and **Garipey**, C. (2008). Factors affecting the eating quality of pork. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48, 599–633.
144. **Nougues J.**, **Rous A.M.** and **Vignerón P.** (1974). Study of variation of number and dimensions of muscle fibers in three breeds of rabbits and their reciprocal crosses. *Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique*, 14, 293-311.
145. **Ogato**, T. and **Mori**, M. (1964). Histochemical study of oxidative enzymes in vertebrate muscles. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 13, 171.
146. **Oksbjerg**, N., **J. S. Petersen**, **I. L. Sørensen**, **P. Henckel**, **M. Vestergaard**, **M. P. Ertbjerg**, **A. J. Møller**, **C. Bejerholm**, and **S. Støier**. (2000). Long-term changes in performance and meat quality of danish landrace pigs: A study on a current compared with an unimproved genotype. *Animal Science*. 71:81–92.
147. **Ouali**, A. (1990). Meat tenderization: Possible causes and mechanisms. A review. *Journal of Muscle Foods*, 1, 129–165.
148. **Ouali**, A., and **Talmant**, A. (1990). Calpains and calpastatin distribution in bovine, porcine and ovine skeletal muscles. *Meat Science*, 28, 331–348.
149. **Ozawa**, S., **Mitsuhashi**, T., **Mitsumoto**, M., **Matsumoto**, S., **Itoh**, N., **Itagaki**, K. (1999). The characteristics of muscle fiber types of longissimus thoracis muscle and their influences on the quantity and quality of meat from Japanese Black steers. *Meat Science*, 54, 65–70.
150. **Pedersen**, P. H., **N. Oksbjerg**, **A. H. Karlsson**, **H. Busk**, **E. Bendixen**, and **P. Henckel**. (2001). A within litter comparison of muscle fibre characteristics and growth of halothane carrier and halothane free crossbreed pigs. *Livestock Production Science*. 73:15–24.

151. **Peinado B., Latorre R., Vázquez-Autón J. M., Poto A., Ramírez G., López-Albors O., Moreno F. and Gil F.** (2004) Histochemical Skeletal Muscle Fibre Types in the Sheep. *Anatomia Histologia Embryologia*. 33, 236–243.
152. **Peter, J. B., Barnard, R. J., Edgerton, V. R., Gillespie, C. A., and Stemple, K. E.** (1972). Metabolic profiles of three fiber types of skeletal muscle in guinea pigs and rabbits. *Biochemistry*, 11, 2627–2633.
153. **Petersen, J.S., Henckel, P., Oksbjerg, N., Sørensen, M.T.** (1998). Adaptions in muscle fibre characteristics induced by physical activity in pigs. *Animal Science*, 66, 733.
154. **Pette D. and Staron R.S.** (1990). Cellular and molecular diversities of mammalian skeletal muscle fibers. *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, 116, 1-76.
155. **Pette D. and Staron, R. S.** (2001). Transitions of muscle fiber phenotypic profiles. *Histochemistry and Cell Biology*, 115, 359–372.
156. **Pette, D., and Staron, R. S.** (2000). Myosin isoforms, muscle fiber types, and transitions. *Microscopy Research and Technique*, 50, 500–509.
157. **Picard B., Lefaucher L., Berri C., Duclos M.J.** (2002). Muscle fibre ontogenesis in farm animal species. *Reproduction Nutrition and Development Development*, 42, 415-431
158. **Quiroz-Rothe, E., and Rivero, J. L.** (2004). Coordinated expression of myosin heavy chains, metabolic enzymes, and morphological features of porcine skeletal muscle fibre types. *Microscopy Research and Technique*, 65, 43–61.
159. **Rehfeldt C., Kuhn G., Vanselow J., Furbass R., Fiedler I., Nurberg G., Clelland A.K., Stickland N.C., Ender K.** (2001). Maternal treatment with somatotropin during early gestation affects basic events of myogenesis in pigs. *Cell and Tissue Research* 306 (2001), 429-440.
160. **Rehfeldt C., Tuchscherer, A., Hartung M., and Kuhn G.** (2007). A second look at the influence of birth weight on carcass and meat quality in pigs. *Meat Science*, 78, 170–175.
161. **Rehfeldt, C., Fiedler, I., and Stickland, N. C.** (2004). Number and size of muscle fibres in relation to meat production. In M. F. W. Te Pas, M. E. Everts,

- and H. P. Haagsman (Eds.), Muscle development of livestock animals: Physiology, genetics, and meat quality, *Cambridge: CABI Publishing*. 1-38.
162. **Rehfeldt, C., Fiedler, I., Dietl, G., and Ender, K.** (2000). Myogenesis and postnatal skeletal muscle cell growth as influenced by selection. *Livestock Production Science*, 66, 177–188.
163. **Rehfeldt, C., Fiedler, I., Weikard, R. Kanitz, E., Ender K.** (1993). It is possible to increase skeletal muscle fibre number in utero. *Bioscience Reports* 13, 4, 213-220.
164. **Rehfeldt, C., N. C. Stickland, L. Fiedler, and J. Wegner.** (1999). Environmental and genetic factors as sources of variation in skeletal muscle fibre number. *Basic Applied Myology*. 9:235–253
165. **Renand, G., Picard, B., Touraille, C., Berge, P., and Lepetit, J.** (2001). Relationships between muscle characteristics and meat quality traits of young Charolais bulls. *Meat Science*, 59, 49–60.
166. **Rinaldi C., Haddad F., Bodell B.W., Qin A.X., Jiang W.H. and Baldwin K.M.** (2008). Intergenic bidirectional promoter and cooperative regulation of the Iix and Iib MHC genes in fast skeletal muscle. *American Journal of Physiology- Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 295, R208-R218.
167. **Rinaldo, D., and Le Dividich, J.** (1991). Effects of warm exposure on adipose tissue and muscle metabolism in growing pigs. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 100A, 995–1002
168. **Rivero, J. L. L., Talmadge, R. J. and Edgerton, V. R.** (1996) Myosin heavy chain isoforms in adult equine skeletal muscle: An immuno-histochemical and electrophoretic study. *Anatomical Record*, 246 (2), 185-194.
169. **Rosenvold, K., and Andersen, H. J.** (2003). Factors of significance, for pork quality – A review. *Meat Science*, 64, 219–237.
170. **Rosenvold, K., Petersen, J. S., Laerke, H. S., Jensen, S. K., Therkildsen, M., Karlsson, A. H.** (2001). Muscle glycogen stores and meat quality as affected by strategic finishing feeding of slaughter pigs. *Journal of Animal Science*, 79, 382–391
171. **Rosser, B. W. C., Wick, M., Waldbillig, D. M. and Bandman, E.** (1996) Heterogeneity of myosin heavy-chain expression in fast-twitch fibre types of

- mature avian pectoralis muscle. *Biochemistry and Cell Biology*, 74 (5), 115-728.
172. **Ryu**, Y. C., and **Kim**, B. C. (2005). The relationship between muscle fiber characteristics, postmortem metabolic rate, and meat quality of pig longissimus dorsi muscle. *Meat Science*, 71, 351–357.
173. **Ryu**, Y. C., and **Kim**, B. C. (2006). Comparison of histochemical characteristics in various pork groups categorized by postmortem metabolic rate and pork quality. *Journal of Animal Science*, 84, 894–901.
174. **Ryu**, Y. C., **Choi**, Y. M., **Lee**, S. H., **Shin**, H. G., **Choe**, J. H., **Kim**, J. M. (2008). Comparing the histochemical characteristics and meat quality traits of different pig breeds. *Meat Science*, 80, 363–369.
175. **Saltin**, B. and **Gollnick**, P. (1985). Skeletal muscle adaptability: significance for metabolism and performance. In *Handbook of Physiology: Skeletal Muscle*, ed. L. D. Peachy, R. H. Adrian, S. R. Geiger, 555-631. Williams and Wilkins, Baltimore.
176. **Scheffler**, T. L., and **Gerrard**, D. E. (2007). Mechanisms controlling pork quality development: The biochemistry controlling postmortem energy metabolism. *Meat Science*, 77, 7–16.
177. **Schiaffino**, S., **Saggin**, L., **Viel**, A., **Ausoni**, S., **Sartore**, S. and **Gorza**, L. (1986) Muscle fibre types identified by monoclonal antibodies to myosin heavy chains. In *Biochemical Aspects of Physical Exercise* eds. G. Benzi, L. Packer, and N. Siliprandi, pp. 27-34. *Elsevier*, Amsterdam.
178. **Sciaffino** R. and **Reggiani** S. (1996). Molecular diversity of myofibrillar proteins: Gene regulation and functional significance. *Physiological Reviews*, 76, 371-423.
179. **Sciaffino** S., **Gorza** L., **Sartore** S., **Saggin** L., **Ausoni** S., **Vianello** M. (1989). Three myosin heavy chain isoforms in type 2 skeletal muscle fibers. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, 10, 197-205.
180. **Seideman**, S. C., and L. K. **Theer**. (1986). Relationships of instrumental textural properties and muscle fiber types to the sensory properties of beef. *Journal of Food Quality*. 9, 251–261.
181. **Seideman**, S. C., **Crouse**, J. D., and **Cross**, H. R. (1986). The effect of sex condition and growth implants on bovine muscle fiber characteristics. *Meat Science*, 17, 79–95.

182. **Shrager J.B., Desjardins P.R., Burkman J.M., Konig S.K., Steward D.R., Su L.** (2000). Human skeletal myosin heavy chain genes are tightly linked in the order embryonic-IIa-IIc/x-IIb-perinatal-extraocular. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, 21, 345-355.
183. **Smith, G. C. and Z. L. Carpenter.** (1970). Lamb Carcass quality. III. Chemical, physical and histological measurements. *Journal of Animal Science*, 31, 697.
184. **Smith, J.A., Lewis A.M., Wiener P., Williams J.L.** (2000). Genetic variation in the bovine myostatin gene in UK beef cattle: Allele frequencies and haplotype analysis in the south devon. *Animal Genetics*, 31, 306-309.
185. **Solomon, M. B., and Lynch, G. P.** (1988). Biochemical, histochemical and palatability characteristics of young ram lambs as affected by diet and electrical stimulation. *Journal of Animal Science*, 66, 1955–1962.
186. **Solomon, M. B., W. G. Moody, J. P. Kemp, and D. G. Ely,** (1981): Effect of breed, slaughter weight and sex on histological properties of ovine muscle. *Journal of Animal Science*, 52, 1019–1021.
187. **Solomon, M.B., Campbell, R.G., Steele, N.C.,** (1990). Effect of sex, exogenous porcine somatotropin on longissimus muscle fiber. Characteristics of growing pigs. *Journal of Animal Science*, 68, 1176.
188. **Staun, H.,** (1963). Various factors affecting number, size of muscle fibers in pig. *Acta Agriculture Scandinavica*. 13, 293.
189. **Stull S.L. and Albert W.W.** (1980). Comparison of muscle fiber types from 2-year-old fillies of the Belgian, Standardbred, Thoroughbred, Quarter horse and Welsh breeds. *Journal of Animal Science*, 51, 340-343.
190. **Suzuki, A.,** (1971a). Histochemical classification of individual skeletal muscle fibers in the sheep. I. On M. semitendinosus, M. longissimus dorsi, M. psoas major, M. latissimus dorsi and M. gastrocnemius. *Japanese Journal of Zootechnical Science*, 42, 39–54.
191. **Suzuki, A.,** (1971b). Histochemical classification of individual skeletal muscle fibers in the sheep. II. on M. serratus ventralis, M. supraspinatus, M. infraspinatus, M. semimembranosus and M. triceps brachii (Caput longum). *Japanese Journal of Zootechnical Science*, 42, 463–473.

192. **Suzuki, A.**, (1995). Differences in distribution of myofiber types between the supraspinatus and infraspinatus muscles of sheep. *Anatomical Record*, 242, 483–490.
193. **Suzuki, A.**, and **H. Tamate**, (1988). Distribution of myofiber types in the hip and thigh musculature of sheep. *Anatomical Record*, 221, 494–502.
194. **Suzuki, A.**, and **R. G. Cassens**, (1983). A histochemical study of myofiber types in the serratus ventralis thoracis muscle of sheep during growth. *Journal of Animal Science*, 56, 1447–1458.
195. **Suzuki, A.**, **H. Tamate**, and **M. Okada**. (1976). The effect of a high plane of nutrition during a given period of growth on size and proportion of skeletal muscle fiber types in the cattle. *Tōhoku Journal of Agriculture Research*, 27, 20–25.
196. **Swynghedauw, B.** (1986). Developmental and functional adaptation of contractile proteins in cardiac and skeletal muscles. *Physiological Reviews*, 66, 710–771.
197. **Talmant, A.**, **Monin, G.**, **Briand, M.**, **Dadet, M.** and **Briand, Y.** (1986) Activities of metabolic and contractile enzymes in 18 bovine muscles. *Meat Science*, 18, 2340.
198. **Thompson J.** (2002). Managing meat tenderness. *Meat Science*, 62, 295-308.
199. **Totland, G. K.** and **Kryvi, H.** (1991) Distribution patterns of muscle fibre types in major muscles of the bull (*Bos taurus*). *Anatomy and Embryology*, 184, 441-450.
200. **Totland, G. K.**, **Kryvi, H.**, and **Slinde, E.** (1988). Composition of muscle fibre types and connective tissue in bovine M. Semitendinosus and its relation to tenderness. *Meat Science*, 23, 303–315.
201. **Turinsky, J.**, **O’Sullivan, D. M.**, and **Bayly, B. P.** (1990). 1,2-Diacylglycerol and ceramide levels in insulin-resistant tissues of the rat in vivo. *Journal of Biological Chemistry*, 265, 16880–16885.
202. **Tygesen, M. P.**, **Therkildsen, M.**, and **Harrison, A. P.** (2005). Non-invasive measurement of muscle development in lambs postnatally—implications for meat quality. *Archives of Animal Breeding*, 48, 56–62.
203. **Valin, C.**, **Touraille, C.**, **Vigeneron, P.**, and **Ashmore, C. R.** (1982). Prediction of lamb meat quality traits based on muscle biopsy fibre typing. *Meat Science*, 6, 257–263.

204. **Van den Hende, C., Muylle, E., Oyaert, W., De Roose, P.** (1972). Changes in muscle characteristics in growing pigs: Histochemical and electron microscopic study. *Zentralblatt fur Veterinarmedizin Reihe*, 19, 102.
205. **Van den Maagdenberg, K., Stinckens, A., Lefaucheur, L., Buys, N., and de Smet, S.** (2008). The effect of mutations in the insulin-like growth factor-II and ryanodine receptor-1 genes on biochemical and histochemical muscle fibre characteristics in pigs. *Meat Science*, 79, 757–766
206. **Van Loon, L. J. C., and Goodpaster, B. H.** (2006). Increased intramuscular lipid storage in the insulin-resistant and endurance-trained state. *European Journal of Physiology*, 451, 606–616.
207. **Villa-Moruzzi, E., Locci-Cubeddu, T., and Bergamini, E.** (1979). Developmental changes of glycogen enzymes in fast and slow muscles of the rat. *Growth*, 43, 73–79.
208. **Vuocolo, T., Byrne, K., White, J., McWilliam, S., Reverter, A., Cockett, N. E.** (2007). Identification of a gene network contributing to hypertrophy in callipyge skeletal muscle. *Physiological Genomics*, 28, 253–272.
209. **Wegner, J., Albrecht, E., Fiedler, I., Teuscher, F., Papstein, H. J., and Ender, K.** (2000). Growth-and breed-related changes of muscle fiber characteristics in cattle. *Journal of Animal Science*, 78, 1485–1496.
210. **Weiss A., McDonough D., Wertman B., Acaposatchivi L., Montgomery K. Kucherlapati T.** (1999a). Organization of human and mouse skeletal myosin heavy chain gene clusters is highly conserved. *PNAS USA*, 96, 2958-2963
211. **Weiss A., Sciaffino S. and Leinwand L.A.** (1999b) Comparative sequence analysis of the complete human sarcomeric myosin heavy chain family: Implications for functional diversity. *Journal of Molecular Biology*, 290, 61-75.
212. **Whipple, G., and M. Koohmaraie,** (1992). Effects of lambs age, muscle type, and 24-hour activity of endogenous proteinases on postmortem proteolysis. *Journal of Animal Science*, 70, 798–804.
213. **White N.A., McGavin M.D., Smith J.E.** (1978). Age-related changes in percentage of fiber types and mean fiber diameters of the ovine quadriceps muscles. *American Journal of Veterinary Research*, 39 (8), 1297-302.

214. **Wigmore**, P.M. and **Evans**, D.J. (2002). Molecular and cellular mechanisms involved in the generation of fiber diversity during myogenesis. *International Review of Cytology*, 216, 175-232
215. **Wood J.D.**, **Richardson R.I.**, **Whittington F.M.**, **Southwood ο.**, **Plastow G.** (2004). Effects of breed diet and muscle on fat deposition and eating quality in pigs. *Meat Science*, 67, 651-667.
216. **Young**, O. A., and J. J. **Bass** (1984). Effect of castration on bovine muscle composition. *Meat Science*. 11, 139-156.
217. **Zamora**, F., **Debiton**, E., **Lepetit**, J., **Lebert**, A., **Dransfield**, E., and **Ouali**, A. (1996). Predicting variability of ageing and toughness in beef M. Longissimus lumborum et thoracis. *Meat Science*, 43, 321–333.

Διαδίκτυο

1. **Εικόνα 1:** <http://en.academic.ru/dic.nsf/enwiki/612392>
2. **Εικόνα 2:** <http://faculty.etsu.edu/forsman/Histologyofmuscleforweb.html>
3. **Εικόνα 3:** <http://faculty.etsu.edu/forsman/Histologyofmuscleforweb.html>
4. **Εικόνα 4:**
<http://classes.midlandstech.edu/carterp/Courses/bio110/chap07/chap07.html>
5. **Εικόνα 5:** <http://samedical.blogspot.com/2010/07/contraction-of-skeletal-muscle.html>