

V. Diskussion

1. Morphologische Aspekte

1.1. Die Embryonenmasse

Die Kontrollgruppen

Die Embryonenmasse nahm in der Kontrollgruppe entwicklungsbedingt vom D18 zum D20 um ca. 45% zu. Dieses deckt sich mit den von FREEMAN und VINCE (1974) in der Literatur beschriebenen Angaben.

Der Einfluss der Inkubationstemperatur

In Hinblick auf die Morphologie bewirkt eine Absenkung bzw. Anhebung der Inkubationstemperatur eine Verzögerung bzw. Beschleunigung der Entwicklung (BOEHM et al., 1987; SPIERS und BAUMMER, 1990; PLETTENBERG, 2002; KLEMM, 2002). Eine Entwicklungsverzögerung bzw. -beschleunigung führt zu kleineren bzw. größeren Körpermassen im Vergleich zu normal bebrüteten Embryonen gleichen Alters.

Das Ausmaß der Temperaturänderung war in unserem Experiment nicht stark genug, um eine deutliche Abstufung zwischen den drei Temperaturgruppen zu bewirken. Lediglich die Embryonenmassen der Kaltgruppe und der Warmgruppe unterschieden sich am D18 und D20 signifikant voneinander. Die Zunahmen der Embryonen vom D18 zum D20 betragen unabhängig von der Inkubationstemperatur ca. 45%.

Zur Erklärung dessen kann das Modell von BURGGREN (1998) herangezogen werden (siehe **Abb. V.1.**). Es geht davon aus, dass jeder Organismus eine temperaturabhängige Entwicklungsrate aufweist. So passieren Embryonen, die für eine bestimmte Zeit wärmer bebrütet wurden, in dieser eine größere Anzahl von Entwicklungsstadien als kälter bebrütete Embryonen und wachsen schneller. Das Modell beschränkt sich dabei natürlich nur auf einen Temperaturbereich, der noch eine normale Entwicklung zulässt.

Noch weiter geht PRINZINGER (1996) mit seinem Modell. Nach seiner Meinung setzt jeder Embryo eine bestimmte Energiemenge pro Gramm bis zum Schlupf hin um. Dabei spielt es keine Rolle, welcher Vogelart er angehört, welchen Reifetypus er zum Schlupf besitzt oder wie groß das Ei ist. Ist in unserem Fall der Stoffwechsel aufgrund einer erniedrigten bzw.

erhöhten Inkubationstemperatur verlangsamt bzw. beschleunigt, verlängert bzw. verkürzt sich die Inkubationsdauer bis zum Umsatz der gleichen Energiemenge.

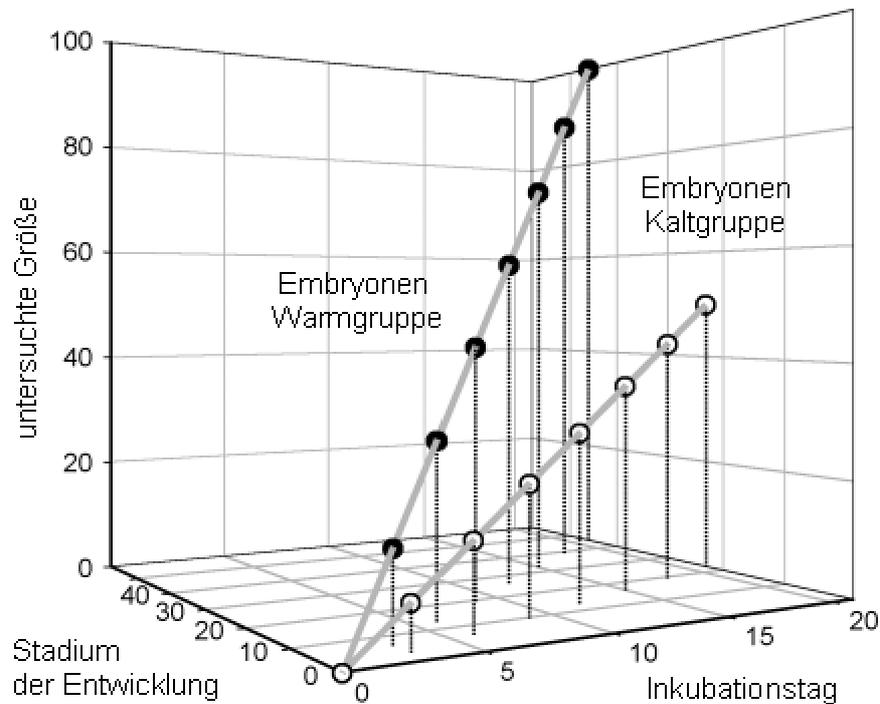


Abb.V.1. Interaktion von Alter, Entwicklungsstadium, untersuchter Größe und Inkubationstemperatur in einem hypothetischen Organismus (BURGGREN, 1998)

Der Einfluss des Sauerstoffangebotes

Eine Verringerung des O₂-Angebotes in der Inkubationsluft auf 15% ab D12 hatte in unserem Experiment kaum Einfluss auf die Embryonenmassen. Trotz des wachstumsbedingt steigenden O₂-Bedarfes des Embryos reicht der erniedrigte O₂-Gehalt der Inkubationsluft (15%) aus, um eine normale Gewichtsentwicklung des Embryos zu gewährleisten.

Die Herzmasse

Die Kontrollgruppen

Die Herzmasse nahm unter normalen Inkubationsbedingungen (37,5°C, 21%O₂) vom D18 zum D20 um ca. 25% zu. Diese entwicklungsbedingte Zunahme steht in Übereinstimmung mit der Literatur (ROMANOFF, 1967). Der Anteil des Herzens am Gesamtgewicht des Embryos (= relative Herzmasse) bleibt dabei in etwa mit 0,8 bis 1% konstant.

Der Einfluss der Inkubationstemperatur

Am D18 traten keine Unterschiede zwischen den Herzmassen der Versuchsgruppen auf. Eine Absenkung der Inkubationstemperatur auf 35,0°C führte zu einer Zunahme der Herzmassen vom D18 zum D20 um ca. 50% und war damit doppelt so hoch wie die in der Kontrollgruppe. Damit lagen die Herzmassen der Kaltgruppe am D20 etwa 20% höher als die der Kontrollgruppe.

Eine Anhebung der Temperatur hatte eine entgegengesetzte Wirkung. Die Herzmassen der Embryonen, die unter 38,5°C bebrütet wurden, blieben vom D18 zum D20 konstant. Die Herzmassen der Warmgruppe waren damit am D20 20% leichter als die der Kontrollgruppe. Die relativen Herzmassen zeigten die Unterschiede zwischen den Gruppen noch deutlicher auf. Während in der Kaltgruppe die relative Herzmasse bei ca. 1,1% konstant blieb, fiel sie in der Warmgruppe vom D18 zum D20 von ca. 0,9% auf 0,6% ab.

Es bleibt weiterhin festzuhalten, dass eine Veränderung der Inkubationstemperatur sich in Hinblick auf die Embryonen- und die Herzmassen in unterschiedliche Richtungen auswirkt.

Diese Ergebnisse entsprechen denen der Untersuchungen von MERKOW und LEIGHTON (1966), MERKOW und LEIGHTON (1967), WARBANOW (1970) und BOEHM et al. (1987)

Die Vergrößerung des Herzens, die unter Absenkung der Inkubationstemperatur auftritt, stellt eine Hypertrophie ohne Hyperplasie dar (BOEHM et al., 1987). Neben der Zunahme des Gewichtes, des Volumens und der Wanddicke des Herzens kommt es zu einer Erhöhung des Wassergehaltes und der Größe der Herzzellen. Die Gehalte an RNA, Protein und Glykogen pro DNA-Einheit sind erhöht. Der DNA-Gehalt und der Kernindex sind dagegen verändert. Mikroskopisch sind dabei keine Veränderungen des Kapillarbettes, des interstitiellen Gewebes oder der Herzzellen feststellbar.

Das Wachstum des Herzens wird u.a. vom O₂-Angebot des Embryos bestimmt (siehe nächste Seite). Eine Senkung bzw. Erhöhung der Inkubationstemperatur führt zu kleineren bzw. größeren Embryonen (siehe S.55).

Die CAM erreicht am D12 ihre maximale Ausdehnung (FREEMAN und VINCE, 1974). Das O₂-Angebot über die CAM ist von diesem Zeitpunkt an begrenzt. Geht man davon aus, dass ein kleiner Embryo einen absolut geringeren O₂-Bedarf hat als ein großer, so ist seine O₂-Versorgung bei gleichem Angebot über CAM besser als die des großen. Diese ungleiche O₂-Versorgung der embryonalen Herzen aufgrund der unterschiedlichen Embryonengrößen könnte eine Ursache für das unterschiedliche Wachstum der Herzen sein.

Der Einfluss des Sauerstoffangebotes

Eine Verminderung des O₂-Gehaltes der Inkubationsluft auf 15% ab D12 führte am D18 und am D20 zu ca. 12% geringeren Herzmassen im Vergleich zur Kontrollgruppe (21%O₂). Die relativen Herzmassen der 15% O₂-Gruppe lagen dabei am D18 leicht unter denen der Kontrollgruppe. Am D20 waren dagegen keine deutlichen Unterschiede festzustellen (siehe **Abb.** und **Tab. IV.10.**).

Kleinere Herzmassen unter einem verringerten O₂-Angebot werden auch von McCUTCHEON et al. (1982) beschrieben. In seinen Untersuchungen führte eine langfristige Abdeckung eines Teiles der Eischale mit daraus resultierender Einschränkung des Gasaustausches zu einer Verlangsamung der Entwicklung des gesamten Embryos. Der Anteil der Herzmassen an den Gesamtgewichten der Embryonen war dabei kleiner als in der Kontrollgruppe. Die Herzen blieben demnach über dem Maß der Entwicklungsverzögerung des Embryos in ihrem Wachstum zurück.

Der Stoffwechsel des embryonalen Herzens erfüllt zwei Aufgaben. Einerseits treibt er das Wachstum des Herzens voran und andererseits stellt er die Energie zur Aufrechterhaltung der Herzarbeit zur Verfügung.

Das adulte Herz hat einem ausgeprägten oxidativen Stoffwechsel. Das unreife Herz besitzt eine größere Kapazität für die anaerobe Glykolyse. Es ist dadurch widerstandsfähiger gegenüber einem O₂-Mangel als das adulte (OSTADAL et al., 1999). Im Vergleich zum Gesamtorganismus reagiert das embryonale Herz aber stärker auf ein vermindertes O₂-Angebot als dieser.

Der Vogelembryo adaptiert sich an eine langfristige Bebrütung unter einem erniedrigten O₂-Angebot durch eine verminderte metabolische Rate und eine damit verlangsamte Entwicklung (BEATTIE und SMITH, 1975). Diese Verminderung der Stoffwechselrate wirkt sich in erster Linie zu Ungunsten des Wachstums aus.

Der experimentell herabgesetzte O₂-Gehalt von 15% in der Inkubationsluft verstärkt die physiologisch auftretende O₂-Verknappung gegen Ende der Inkubationszeit. Die dadurch weiter verringerte Stoffwechselrate des Herzens gekoppelt mit dem im Vergleich zum

Gesamtorganismus überproportional gehemmt Wachstum des Herzens stellt die Ursache für die unterschiedliche Entwicklung von Herz- und Embryonenmassen dar.

Zusammenfassung

Eine moderate Hypoxie (15% O₂) hat in unseren Untersuchungen einen geringeren Einfluss auf die Morphologie als eine Veränderung der Inkubationstemperatur. Die Kompensationsmaßnahmen des Embryos scheinen auszureichen, um eine moderate Hypoxie unbeschadet zu überstehen.

Es ist zu bezweifeln, ob dem Ei während der Brut durch die Henne immer 21% Luft-O₂ zur Verfügung stehen. Vielmehr ist es vorstellbar, dass das Ei in der Natur größere Zeitabschnitte unter milder Hypoxie bebrütet wird, was die biologische Notwendigkeit einer besseren Anpassung an eine O₂-Minderversorgung begründen würde.

2. Funktionelle Aspekte

2.1. Der basale cAMP-Spiegel embryonaler Herzzellen

Die Kontrollgruppen

Der basale cAMP-Spiegel sinkt im Laufe der embryonalen Entwicklung ab und erreicht um D16 eine Plateauphase, die bis zum Schlupf hin anhält (McLEAN et al., 1975; ORELLANA und BROWN, 1985; SMITH und PAPPANO, 1985; EPSTEIN et al., 1987). Die Werte dieser Phase liegen in einem Bereich von 10-15 pmol/mg Protein.

Multipliziert man unsere Ergebnisse zum basalen cAMP-Gehalt mit dem von REITHMANN et al. (1987) angegebenen Zellgehalt pro mg Protein ($5,5 \cdot 10^6$ Zellen/mg Protein) von embryonalen Herzzellen zu diesem Zeitpunkt, so erhält man im Mittel zwischen 10,3 und 12,7 pmol/mg Protein. Damit decken sich unsere Ergebnisse mit denen der Literatur.

Unsere Untersuchungen zeigten keine altersabhängigen Veränderungen des basalen cAMP-Gehaltes vom D18 zum D20, was die Annahme einer Plateauphase zu diesem Zeitpunkt weiter unterstreicht.

Einfluss der Inkubationstemperatur und des Sauerstoffangebotes

Vergleicht man die Temperaturgruppen untereinander, so zeigen sich am D18 und D20 keine signifikanten Unterschiede. Ein verringertes Sauerstoffangebot führt am D18 zu einem um 43% kleineren Medianwert als in der Kontrollgruppe.

2.2. Die Stimulierbarkeit der cAMP-Konzentration in embryonalen Herzzellen mittels Isoproterenol

Die Kontrollgruppen

Das Sympathomimetikum ISO stimuliert das β -Adrenorezeptor-G-Protein-Adenylatcyclase-System und erhöht damit die zelluläre cAMP-Konzentration. Das Ausmaß dieser Stimulation nimmt mit dem Alter der Embryonen ab (SMITH und PAPPANO, 1985).

Während es zur Mitte der Inkubation zu einer Steigerung der cAMP-Konzentration um 350% bei einer 10^{-6} M Isoproterenolkonzentration kommt (REITHMANN et al., 1987), ist um den Zeitpunkt des IP (D19,5-D20) nur noch ein Anstieg von 15-25% zu verzeichnen (PAPPANO et al., 1982; SMITH und PAPPANO, 1985).

Unsere Untersuchungen bestätigen den in der Literatur beschriebenen altersbedingten Abfall der Stimulierbarkeit durch ISO. In den unter normalen Bedingungen bebrüteten Embryonen sank der cAMP-Zuwachs nach ISO-Stimulation von ca. 250% am D18 auf ca. 75% am D20. Die Werte liegen damit in dem von der Literatur vorgegebenen Rahmen. Die angegebenen niedrigen Werte (SMITH und PAPPANO, 1985) von 0-20% für den Zeitpunkt des IP wurden in unseren Untersuchungen aber nicht erreicht.

Als Ursache für das altersbedingte Absinken der Sensibilität der embryonalen Herzzellen gegenüber ISO kommt eine Catecholamin-induzierte Rezeptor-Downregulation in Betracht. REITHMANN et al. (1987) züchteten embryonale Hühnerherzzellen (D11-13) mit und ohne Zusatz von Noradrenalin zum Nährmedium an. War dem Züchtungsmedium Noradrenalin (10^{-8} M) zugesetzt, so sank die Stimulierbarkeit des cAMP-Spiegels durch 10^{-6} M ISO innerhalb von 4h von 350% auf 100% ab. Ohne Zusatz von Noradrenalin zum Nährmedium blieb die Stimulierbarkeit auf gleichem Niveau.

Die Catecholaminspiegel steigen im letzten Drittel der Inkubation bis zu einem Maximum am D20 an (PLETTENBERG, 2002). Die NoradrenalinKonzentration im Blutplasma der Hühnerembryonen entspricht dabei am D20 in etwa der NoradrenalinKonzentration im Züchtungsmedium der Versuche von REITHMANN et al. (1987).

Bei dieser Rezeptor-Downregulation kommt es zu einer Abnahme der Rezeptorenzahl ohne eine Änderung der Bindungseigenschaften (VINCE, 1973; MARSH et al., 1982; MARSH et al., 1985; STEWART et al., 1986).

Einfluss der Inkubationstemperatur

Die Erhöhung der Inkubationstemperatur auf 38,5°C scheint das altersabhängige Verhalten der Stimulierbarkeit des cAMP-Spiegels durch ISO weniger zu beeinflussen als die Absenkung der Inkubationstemperatur auf 35,0°C. Wie die Kontrollgruppe zeigte auch die Warmgruppe einen altersabhängigen Abfall der Stimulierbarkeit. Das Niveau, auf dem sich dieser Abfall vollzog, war in der Warmgruppe und Kontrollgruppe etwa gleich groß. Bei einer Absenkung der Inkubationstemperatur zeigte sich dagegen keine altersabhängige Veränderung der Stimulierbarkeit vom D18 zum D20.

Eine Ursache für das Absinken der Sensitivität der cAMP-Konzentration gegenüber ISO in embryonalen Herzzellen ist in der Zellkultur die Höhe der NoradrenalinKonzentration im Nährmedium (REITHMANN et al., 1987). Diese bedingt eine Rezeptor-Downregulation. Mit steigender NoradrenalinKonzentration im Medium sinkt die Stimulierbarkeit des cAMP-Spiegels durch ISO. Beide verhalten sich demzufolge umgekehrt proportional zueinander.

Es erscheint daher sinnvoll, das altersbedingte Verhalten der Catecholamine unter dem Einfluss der Inkubationstemperatur näher zu betrachten. Ergebnisse zum altersbedingten Verhalten der Noradrenalin-Konzentration im Plasma von Hühnerembryonen unter Temperatureinfluss bei gleichen Versuchsbedingungen liegen aus vorangegangenen Untersuchungen in unserem Haus vor (PLETTENBERG, 2002). Die Noradrenalin-Konzentration im Plasma zeigte unter Normaltemperatur sowie bei einer Erhöhung der Inkubationstemperatur einen Anstieg vom D18 zum D20 auf etwa gleichem Niveau. Eine Temperaturabsenkung führte dagegen zu keinem Ansteigen der Noradrenalin-Konzentration.

Vergleicht man unter dem oben genannten Gesichtspunkt das altersabhängige Verhalten der Noradrenalin-Konzentration im Plasma mit der sympathischen Stimulierbarkeit (Sensitivität der cAMP-Konzentration gegenüber ISO) unter gleichen Inkubationsbedingungen, so ist eine entgegengesetzte Entwicklung zu erkennen. Das bedeutet, in dem Maße, in dem die Noradrenalin-Konzentration im Plasma ansteigt, sinkt die sympathische Stimulierbarkeit ab.

Betrachten wir in diesem Zusammenhang noch einmal das Modell von BURGGREN (1998). Es sagt aus, dass jedes Individuum eine temperaturabhängige Entwicklungsrate besitzt. Eine Erhöhung über die Normaltemperatur beschleunigt die Entwicklung. Eine Temperaturabsenkung verlangsamt sie.

Eine Temperaturabsenkung über mehrere Tage führt zu einer allgemeinen Reduktion des Metabolismus und des Wachstums (TAZAWA und RAHN, 1986).

Fügen wir dem Modell noch die Komponente einer allgemeinen Depression der Stoffwechselfvorgänge unter einer Temperaturabsenkung hinzu, welche über das Maß einer Verlangsamung der Entwicklung hinaus geht, so erhalten wir folgendes Bild (siehe **Abb.V.2.**).

Eine Bestätigung findet dieses Modell auch nach den Untersuchungen von PIROW (1995) zur altersbedingten Entwicklung der Herzfrequenz bei Entenembryonen unter verschiedenen Inkubationstemperaturen (siehe **Abb. V.3.**). Eine Temperaturerhöhung führt zu einer beschleunigten Abfolge des entwicklungsbedingten Verlaufes der Herzfrequenz auf etwa gleichem Niveau wie unter Normalbedingungen. Eine Temperaturniedrigung hat dagegen nicht nur eine Verlangsamung der Abfolge zur Folge, sondern die Herzfrequenz liegt auch auf einem kleineren Niveau als bei Normaltemperatur.

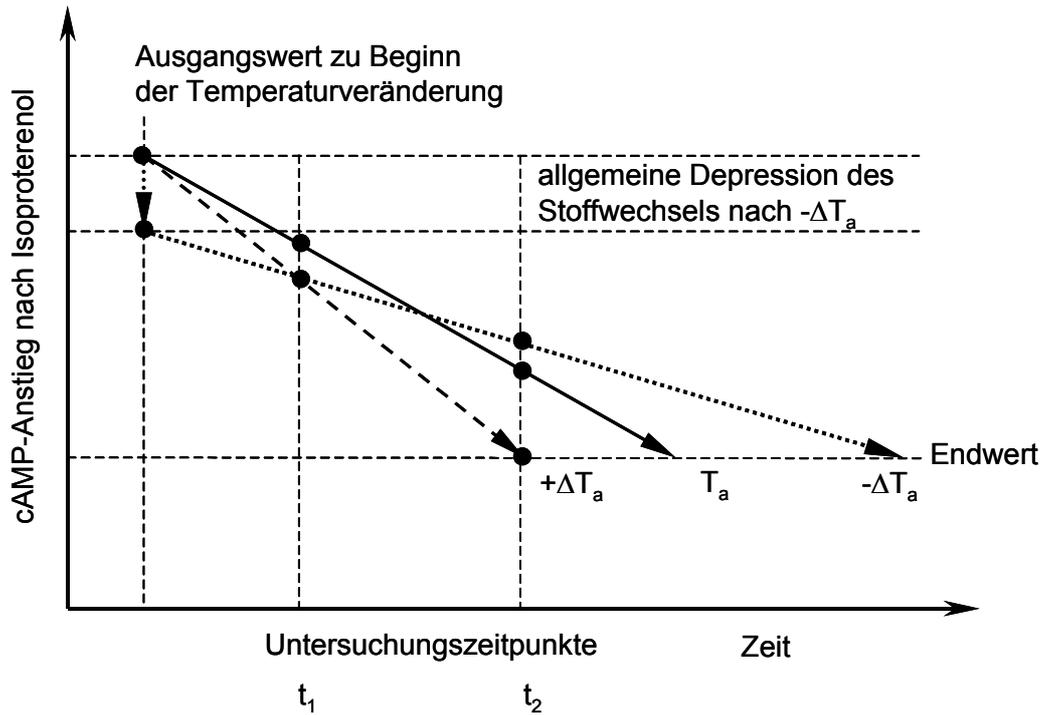


Abb.V.2. Modell zur Entwicklung der Stimulierbarkeit der cAMP-Konzentration in embryonalen Hühnerherzzellen durch ISO unter dem Einfluss verschiedener Inkubationstemperaturen (T_a = Normaltemperatur, $+\Delta T_a$ = Temperaturerhöhung, $-\Delta T_a$ = Temperaturabsenkung)

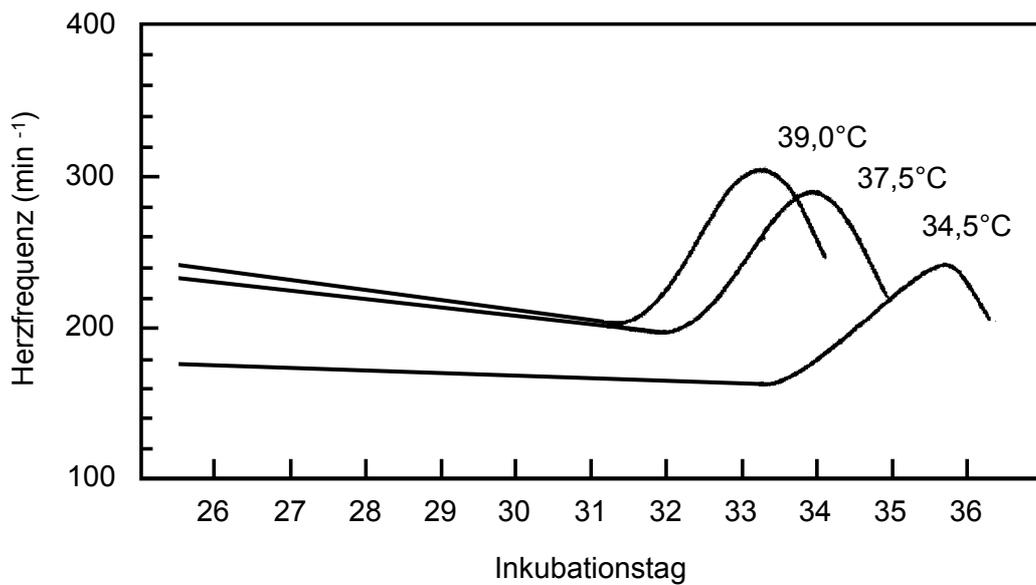


Abb. V.3. Einfluss unterschiedlicher Inkubationstemperaturen auf den Verlauf der Herzfrequenz bei Entenembryonen (PIROW, 1995)

Einfluss des Sauerstoffangebotes

Die 21% O₂-Gruppe zeigte ein signifikantes Absinken der Stimulierbarkeit des cAMP-Spiegels durch Isoproterenol vom D18 zum D20 (p=0,000). Die 15% O₂-Gruppe zeigte keine altersabhängigen Veränderungen. Am D18 liegt der Wert der 21% O₂-Gruppe über dem der 15% O₂-Gruppe (p=0,002). Am D20 besteht kein Unterschied zwischen den Versuchsgruppen.

3. Die funktionelle Entwicklung des Herz-Kreislauf-Systems im letzten Viertel der embryonalen Entwicklung des Haushuhnes

In dieser abschließenden Betrachtung soll aus den Ergebnissen dieser Arbeit und den Angaben der Literatur ein Überblick über die funktionelle Entwicklung des Herz-Kreislauf-Systems im letzten Viertel der embryonalen Entwicklung des Haushuhnes gegeben werden.

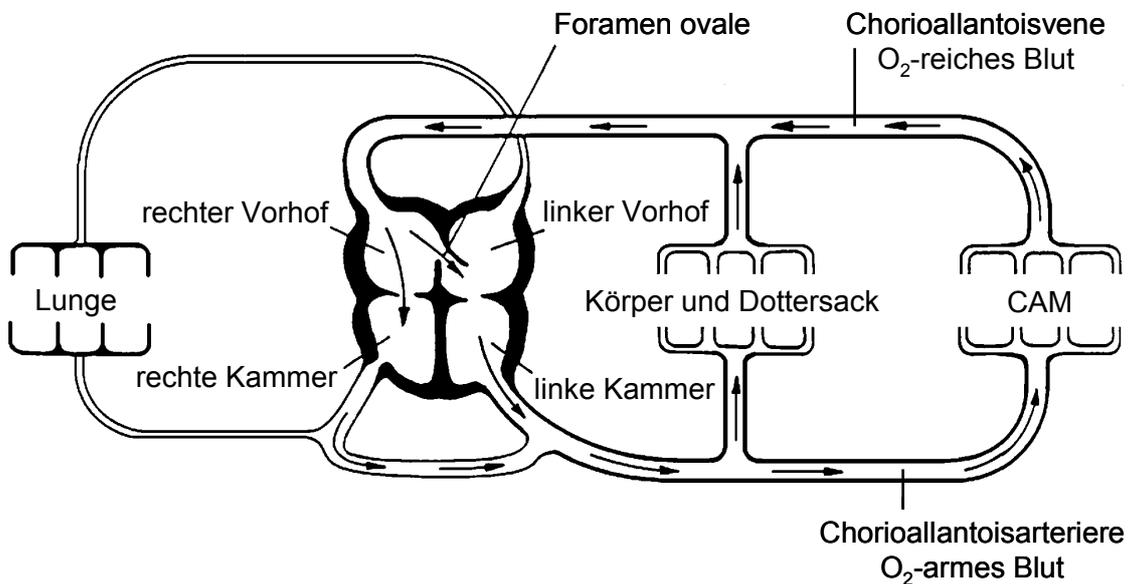


Abb.V.4. Schema des Herz-Kreislauf-Apparates eines Vogelembryonen vor dem Beginn der Lungenatmung

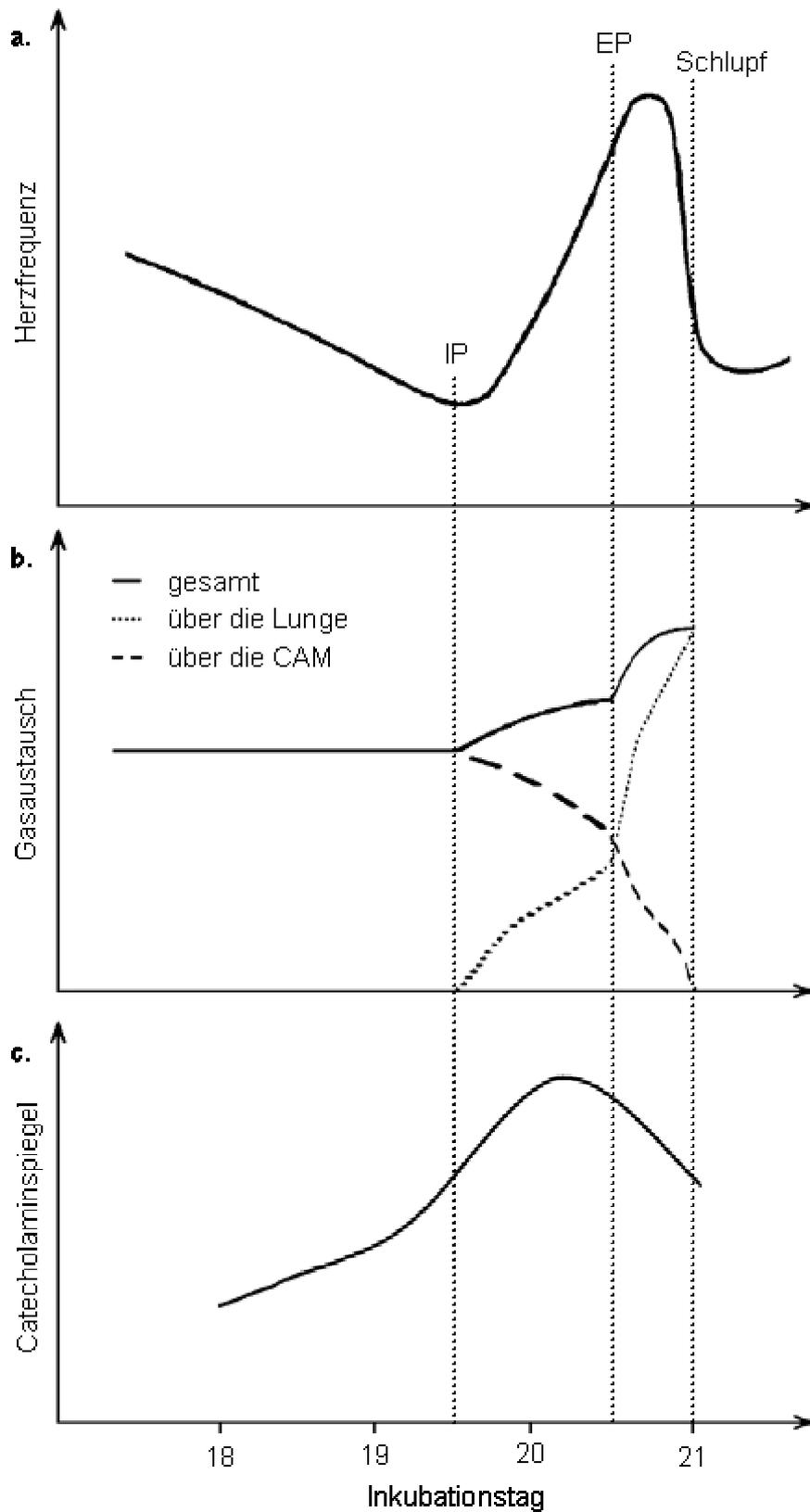


Abb. V.5. Darstellung der Herzfrequenz (a.), der Atmung (b.) und der Catecholaminspiegel (c.) zum Ende der Inkubation bei Hühnerembryonen

In **Abb. V.4.** ist ein Schema des Herz-Kreislauf-Apparates eines Vogels vor dem Beginn der Lungenatmung dargestellt. Im Laufe des Schlüpfens kommt es zur Umstellung des Gasaustausches von der CAM auf die Lunge (siehe **Abb. V.5.b.**). Um diese zu bewerkstelligen, ist es nötig, dass der Vogelembryo die innere Eimembran (IP) und anschließend die Eischale (EP) durchstößt. Diese körperliche Anstrengung erfolgt in einer schwierigen O₂-Versorgungslage (siehe **Kap. II.1.**). Der Atmungsapparat und das Herz-Kreislauf-System müssen in dieser kritischen Situation optimal aufeinander abgestimmt sein, um die Versorgung der lebenswichtigen Organe zu sichern.

3.1. Die Catecholamine

Die Verknappung des O₂ im letzten Viertel der Inkubation führt zu einem Ansteigen der Catecholaminkonzentrationen im Blut (DRAGON et al., 1996; BLUMROEDER und TÖNHARDT, 2002) (siehe **Abb. V.5.c.**), wobei Noradrenalin im Vordergrund steht (DRAGON et al., 1996).

Die gestiegenen Catecholaminlevel bewirken über Zunahme der Synthese der Carboanhydrase und des 2,3-DPG zur Verbesserung des O₂-Aufnahmevermögens des Blutes (DRAGON et al., 1996; PLETTENBERG, 2002).

Beim Säugetier ist ebenfalls ein Gipfel der Catecholaminlevel zum Zeitpunkt der Geburt zu beobachten. Die Catecholamine sind hier an der Absorption der Lungenflüssigkeit, an der Bereitstellung des Glucoseangebotes für das Herz und an der Aufrechterhaltung des peripheren Widerstandes beteiligt (JONES und LAGERCRANTZ, 1984).

CROSSLEY und ALTIMIRAS (2000) vertreten die These, dass im Hühnerembryo die cardiale und vaskuläre Regulation während der Entwicklung primär auf den sich verändernden Catecholaminleveln basiert, da dem extraembryonalen Gefäßsystem eine autonome Innervation fehlt und die intraembryonale autonome Innervation noch nicht arbeitet.

3.2. Die cardiale Regulation

Das Herz ist in einer einzigartigen Situation. Mit abnehmenden O₂-Angebot für den Gesamtorganismus muss die Herzleistung zunehmen, um eine ausreichende O₂-Versorgung der Peripherie zu gewährleisten (DEETJEN und SPECKMANN, 1999). In einer solchen Situation weist das Herz deshalb einen erhöhten O₂-Verbrauch auf.

In Hinblick auf das begrenzte O₂-Angebot im Zeitraum kurz vor dem IP muss der Embryo seine Herztätigkeit und seine Kreislaufregulierung so gestalten, dass die O₂-Versorgung des Gesamtorganismus gesichert ist, ohne das Herz hypoxisch zu schädigen.

Eine Erhöhung bzw. Erniedrigung der Inkubationstemperatur führt zu höheren bzw. niedrigeren Catecholaminspiegeln im Blut von Hühnerembryonen (PLETTENBERG, 2002). Wie in **Kap. V.3.2.** gezeigt, korrespondieren die Ergebnisse der Catecholamin-konzentrationen mit denen dieser Arbeit. Die von REITHMANN et al. (1987) *in vitro* erzeugte Rezeptor-Downregulation zeigte sich *in vivo* bei steigenden Catecholaminleveln auch an den Herzzellen des Hühnerembryos.

Die Herzfrequenz sinkt vom D17 bis zum IP (D19,5) trotz steigender Catecholaminspiegel stetig ab (DÖRNER et al., 1995).

Aufgrund der Kapillarkompression in der Systole ist die Blutversorgung des Herzmuskels nur in der Diastole in ausreichendem Maße gegeben. Mit abnehmender Schlagfrequenz des Herzens steigt der zeitliche Anteil der Diastole relativ zur Systole. Damit verbessert sich die O₂-Versorgung des Herzens. Die Herzfrequenzabnahme stellt demzufolge in Hinblick auf das sich verknappende O₂-Angebot eine Ökonomisierung der Herzarbeit dar.

Als Auslöser für die Schlagfrequenzabnahme des Herzens kommt die beschriebene β_1 -Adrenorezeptor-Downregulation in Betracht. Ein weiteres ursächliches Moment besteht im Wachstum des Herzens. Mit einer Zunahme des Herzvolumens kann das Herzminutenvolumen auch ohne eine Erhöhung der Herzfrequenz gesteigert werden.

Die Sensibilität der β -Rezeptoren wird durch eine Vielzahl von Faktoren beeinflusst. Zu diesen zählen die Schilddrüsenhormone Thyroxin (T₄) und Trijodthyronin (T₃). Sie steigern im adulten Organismus die Sensibilität der β -Rezeptoren gegenüber den Catecholaminen, indem sie sowohl die Bindungsaffinität als auch die Rezeptorenanzahl erhöhen (MALBON et al., 1988). Im Embryo sind sie für die Entwicklung der cardialen β -Rezeptoren zwingend notwendig (LAU und SLOTKIN, 1982). Die Menge der an Plasmaproteine gebundenen Schilddrüsenhormone steigt im Laufe der embryonalen Entwicklung an (DECUYPERE et al., 1990). In den letzten 30 Stunden der Inkubation erfolgt noch einmal eine Verdopplung ihrer Konzentration (FREEMAN, 1964; LAU und SLOTKIN, 1982). Dieser Zeitpunkt (-30h ~ D19,5) entspricht dem Beginn der Lungenatmung (IP) (TULLETT und BURTON, 1985). Die Schilddrüsenhormone sensibilisieren das Herz für Catecholamine und steigern somit die Herzfrequenz und Herzkraft (DEETJEN und SPECKMANN, 1999).

Die Sensibilisierung des Herzens gegenüber den Catecholaminen äußert sich auch tatsächlich in der nach dem IP ansteigenden Herzfrequenz (siehe **Abb. V.5.a.**).

Die Schilddrüsenhormone steigern den Energieverbrauch und fördern neuromuskuläre Erregbarkeit. Die Energie wird durch Steigerung von Lipolyse, Glykogenolyse und Glykolyse bereitgestellt. Der gesteigerte Energieverbrauch in peripheren Geweben zwingt zu einer peripheren Vasodilatation. Die Zunahme des Grundumsatzes führt zu einer verstärkten Wärmeabgabe.

Eine Voraussetzung für die Steigerung des Energieumsatzes ist die Erhöhung der Verfügbarkeit von O₂. Diese ist am Ende der Inkubation aber erst nach dem IP gegeben.

Ein Hühnerembryo aus der O₂-Mangelgruppe am D20, der als einziger das EP vollzogen hatte, zeigte eine höhere Stimulierbarkeit der zellulären cAMP-Konzentration durch ISO als alle anderen Embryonen dieser Gruppe. Dieses ist aber nur ein Hinweis, da es bei einem Fall an statistischer Beweiskraft fehlt. Weitere Untersuchungen sind für Bestätigung dieses Sachverhaltes nötig.

Nach dem EP sinkt die Herzfrequenz ab (siehe **Kap. II.2.2.**). Dieses Absinken steht in zeitlicher Übereinstimmung mit dem Abfall der Catecholaminspiegel im Plasma der Hühnerembryonen (siehe **Abb. V.5.a.+c.**).

3.3. Die vaskuläre Regulation

Untersuchungen zur Veränderung des arteriellen Druckes nach einer Injektion von α - oder β -Antagonisten weisen darauf hin, dass verschiedene Populationen von adrenergen Rezeptoren an der vaskulären Regulation beteiligt sind (CROSSLEY und ALTIMIRAS, 2000).

a. intraembryonal

Der α_1 -**Adrenorezeptor** gilt als der primäre Rezeptorsubtyp, der für die Aufrechterhaltung des Tonus im intraembryonalen Gefäßnetz verantwortlich ist.

Hühnerembryonen zeigen nach einer α -Blockade eine Hypotension (St. PETERY und van MIEROP, 1974; KOIDE und TUAN, 1989; TAZAWA et al., 1992). Diese ist am D19 kurz vor dem IP und der Lungenventilation maximal ausgeprägt (CROSSLEY und ALTIMIRAS, 2000). Am D21 bleiben die Embryonen von einer α -Blockade unbeeinflusst.

Gleiche Resultate wurden bei fetalen Schafen beobachtet. Diese zeigen ebenfalls einen ansteigenden α -adrenergen Tonus mit einem Gipfel zum Ende der Gestation (ASSALI et al., 1977)

Unter Hypoxie, wie sie für den Zeitraum kurz vor dem Schlupf beschrieben wird (RAHN et al., 1974; TULLETT und BURTON, 1985), kommt es zu einer Umverteilung des kardialen Outputs (MULDER et al., 1998). Dabei werden lebenswichtige Organe, wie Herz und Gehirn, zu Lasten von Leber, Dottersack und Karkasse anteilig besser versorgt.

Die Ursache der Umverteilung kann in einer regional unterschiedlichen Kontraktilität der Blutgefäße liegen (LE NOBLE et al., 2000). Trotz vergleichbarer Rezeptorendichte zeigen periphere Arterien (A. femoralis) am D19 eine höhere Kontraktilität gegenüber Noradrenalin als zentrale Arterien (A. carotis).

Ein steigender α -adrenerger konstriktiver Tonus kann im Zeitraum, in dem sich die embryonalen Gasaustauschorgane (CAM) zurückbilden, den für die Durchblutung der CAM wichtigen Perfusionsdruck aufrecht erhalten und die O_2 -Versorgung der lebenswichtigen embryonalen Gewebe sichern.

Diese Aspekte zeigen die Abhängigkeit zwischen dem α -adrenergen Tonus und der Aufrechterhaltung der basalen kardiovaskulären Funktion (GIRARD, 1973; CROSSLEY und ALTIMIRAS, 2000).

b. extraembryonal

Nach einer Injektion des β -Adrenolytikums Propranolol zeigen Hühnerembryonen eine klare Hypertension am D19 und D20 (TÖNHARDT und VALENTIN, 1994). Adulte Hühner zeigen im Gegensatz dazu eine Hypotension (BUTLER, 1967; JONES und JOHANSON, 1972).

Diese unterschiedlichen Blutdruckantworten lassen die Vermutung zu, dass die CAM eine aktive Population an **β_2 -Adrenorezeptoren** besitzt (METCALFE und STOCK, 1993; CROSSLEY und ALTIMIRAS, 2000). Gleiches wird für die Placenta der Säuger, der analogen Struktur zur CAM der Vögel, vorgeschlagen (CARTER, 1993).

Die negativ inotrope Antwort, welche für die adulte cardiale Reaktion auf eine β -Blockade typisch ist, kann durch eine übermächtige Vasokonstriktion der CAM mit resultierender Hypertension im Hühnerembryo maskiert werden.

Mit dem Anstieg der Catecholamine erhöht sich der dilatorische Tonus des Gefäßbettes der CAM. Dieser kann für die Aufrechterhaltung der Sauerstoffsättigung des Blutes in der letzten Phase der Inkubation wichtig sein.

Der Anteil der Chorioallantoismembran am kardialen Output erhöht sich unter Hypoxie zum Ende der Inkubation (D17-19) aber nicht (MULDER et al., 1998).

Zusammenfassung

Die Catecholamine spielen eine wichtige Rolle in der Steuerung des Herz-Kreislauf-Apparates. Sie sind an der Regulation des Blutflusses zum extraembryonalen Kreislauf und der Sicherung eines ausreichenden Perfusionsdruckes zur Aufrechterhaltung des Gasaustausches beteiligt.

Die direkte Freisetzung von Catecholaminen aus der Nebenniere schützt den sich entwickelnden Fetus mit einem unreifen autonomen Nervensystem vor den negativen Folgen einer Hypoxie (LAGERCRANTZ und SLOTKIN, 1986). Eine Entfernung der Nebennieren oder der Blockierung der Catecholaminfreisetzung verursacht bei einer Hypoxie den Tod des Embryonen (LAGERCRANTZ und SLOTKIN, 1986).

4. Das bebrütete Hühnerei – vom Tiermodell zur Zellkultur

Untersuchungen am bebrüteten Hühnerei liegen an der Grenze zwischen Tierversuch, *in vitro* Prüfung und Zellkultur (TÖNHARDT und VALENTIN, 1994).

Das Hühnerei bietet viele Vorteile. Es besitzt mit 21 Tagen eine kurze Inkubationszeit, seine Anschaffungskosten sind gering und der technische Aufwand der Inkubation hält sich in Grenzen. Es ist während der Bebrütung weitgehend frei von maternalen Einflüssen. Der Hühnerembryo ist relativ groß und für Manipulationen gut zugänglich. Beeinflussende Parameter wie Bruttemperatur, Luftfeuchtigkeit und Sauerstoffgehalt der Inkubationsluft, Permeabilität der Eischale u.a. lassen sich einfach verändern.

Der Kreislauf des Hühnerembryos ist mit dem eines Säugetierfetus vergleichbar (ROMANOFF, 1960; WHITE, 1974). Das Gefäßsystem der Chorioallantoismembran des Vogels stellt als embryonales Organ des Gasaustausches ein Analogon zur Placenta des Säugers dar.

Der Hühnerembryo ist sowohl morphologisch als auch physiologisch in weitem Umfang untersucht worden. Aufgrund der Erkenntnisse aus diesen Untersuchungen und der relativ einfachen Handhabung kann das bebrütete Hühnerei als gut geeignetes Modell für die Entwicklungsphysiologie bezeichnet werden (BURGGREN, 1999).

Untersuchungen wie diese, die ausgehend vom Gesamtorganismus „Hühnerembryo“ die Bedingungen auf Zellebene näher charakterisieren, schaffen die Möglichkeiten, Zellkulturen so zu beeinflussen, dass mit ihnen physiologische und pathologische Zustände simuliert und so näher erforscht werden können. Umso perfekter die Simulation ist, desto aussagekräftiger sind ihre Ergebnisse. Diese Arbeiten dienen also dazu, den Einsatz an tierischem Leben für die Forschung in Zukunft zu verringern, ohne das dieses einen Verlust an Qualität und Quantität der Forschungsergebnisse nach sich zieht.