

Aus dem Institut für Veterinär-Physiologie  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

**Einfluss nicht-ventilierter oder hyperkapnischer Inkubation auf die allgemeine  
embryonale Entwicklung und die embryonale Herzentwicklung  
von zwei Mastgeflügel-Linien  
(Isa JA 757 und Ross 308)**

INAUGURAL-DISSERTATION  
zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Veterinärmedizin  
an der  
Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
Diana Janina Dorn  
Tierärztin aus Oranienburg

Berlin 2010  
Journal-Nr.: 3415

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

**Dekan:** Univ.-Prof. Dr. Leo Brunnberg  
**Erster Gutachter:** Prof. Dr. Heike Tönhardt  
**Zweiter Gutachter:** Univ.-Prof. Dr. Karl Dietrich Weyrauch  
**Dritter Gutachter:** PD Dr. Barbara Tzschentke

*Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):*

poultry, broilers, embryonic development, epigenetics, heart, myocardium,  
carbon dioxide, incubation, hypercapnia

Tag der Promotion: 20.12.2010

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

ISBN: 978-3-86664-906-4

**Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2010**

Dissertation, Freie Universität Berlin

**D 188**

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

Coverbild vorne © r3bel - Fotolia.com

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2011

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

*Meinen Eltern*

*„Holt man den Blick, so sieht man keine Grenzen.“*

*Japanische Weisheit*



## Inhaltsverzeichnis

<b>Inhaltsverzeichnis</b> .....	I
<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	V
<b>1. Einleitung</b> .....	1
<b>2. Literaturübersicht</b> .....	3
<b>2.1. Die Abstammung des Haushuhns</b> .....	3
<b>2.2. Die Domestikation des Haushuhns</b> .....	4
<b>2.3. Verbreitung und züchterische Entwicklung des Haushuhns</b> .....	5
2.3.1. Verbreitung .....	5
2.3.2. Züchterische Entwicklung .....	5
2.3.2.1. Zuchtverfahren bei Mastrassen .....	6
2.3.2.2. Leistungsbedingte Probleme der Hühner vom Masttyp .....	7
<b>2.4. Aszites-Syndrom</b> .....	8
<b>2.5. Epigenetik und Adaptation</b> .....	11
2.5.1. Epigenetik .....	11
2.5.2. Adaptation .....	14
<b>2.6. Entwicklung des Hühnerembryos</b> .....	16
2.6.1. Entwicklung des Herzens und des Gefäßsystems .....	17
2.6.2.1. Strukturelle Entwicklung des embryonalen Arbeitsmyokards.....	21
2.6.2.2. Mikroskopische Beschreibung des Herzmuskelgewebes .....	22
2.6.2. Entwicklung des Herzstoffwechsels .....	23
2.6.2.1. Aerober und anaerober Energiestoffwechsel im Herzen .....	24
2.6.2.2. Intrazelluläre pH-Regulation.....	25
2.6.3. Gasaustausch und –transport im Hühnerembryo .....	26
2.6.3.1. Primärer Blutkreislauf.....	27
2.6.3.2. Sekundärer Kreislauf.....	28
2.6.3.3. Chorioallantoismembran (CAM) .....	29
2.6.3.4. Internal Pipping .....	30
2.6.3.5. Entwicklung und Affinität des Hämoglobins im Hühnerembryo .....	30
<b>2.7. Auswirkungen veränderter Inkubationsbedingungen</b> .....	34
2.7.1. Auswirkungen eines veränderten Sauerstoffgehaltes in der Inkubationsluft .....	34
2.7.1.1. Eigenschaften und Wirkungen von Sauerstoff.....	34
2.7.1.2. Verminderung der Sauerstoff-Konzentration in der Inkubationsluft.....	35
2.7.2. Auswirkungen eines veränderten Kohlendioxidgehaltes in der Inkubationsluft ....	36
2.7.2.1. Eigenschaften und Wirkungen von Kohlenstoffdioxid .....	36
2.7.2.2. Erhöhung der Kohlenstoffdioxid-Konzentration in der Inkubationsluft.....	39

<b>2.8. Zusammenfassung der Literatur und Zielstellung der Arbeit</b> .....	41
<b>3. Material und Methoden</b> .....	43
<b>3.1. Inkubation der Hühnerembryonen</b> .....	43
3.1.1. Herkunft der Hühnerembryonen .....	43
3.1.2. Inkubatoren .....	43
3.1.3. Messung der Inkubationsparameter im Inkubator .....	44
3.1.4. Herkunft und Zusammensetzung der Prüfgase .....	44
3.1.5. Versuchsablauf .....	44
3.1.5.1. Inkubation der Kontrollgruppe .....	44
3.1.5.2. Inkubation der Gasgruppe .....	45
3.1.5.3. Inkubation der nicht-ventilierten Gruppe .....	45
<b>3.2. Gewinnung und Aufbereitung der Proben</b> .....	46
3.2.1. Gewinnung des Blutes .....	46
3.2.2. Präparation der Hühnerembryonen und Herzen .....	46
<b>3.3. Bestimmung der makroskopischen Parameter und des Hämatokrits</b> ....	47
3.3.1. Bestimmung der Körpergröße und der Körperfeuchtmasse der Embryonen .....	47
3.3.2. Bestimmung der Wachstumseffizienz .....	47
3.3.3. Bestimmung der Herzmasse, Herzlänge und Herzdurchmesser .....	47
3.3.4. Bestimmung der Masse des rechten Ventrikels .....	48
3.3.5. Bestimmung des Hämatokrits .....	48
<b>3.4. Herstellung der histologischen Präparate und Färbungen</b> .....	48
<b>3.5. Morphometrische Untersuchungen der histologischen Präparate</b> .....	52
3.5.1. Bestimmung der Zellzahl im Myokard embryonaler Herzen .....	52
3.5.2. Messung der Myokarddicke .....	53
<b>3.6. Statistische Auswertung</b> .....	53
<b>4. Ergebnisse</b> .....	55
<b>4.1. Makroskopische Untersuchung der Embryonen</b> .....	55
4.1.1. Embryonengröße .....	55
4.1.1.1. Broiler-Linie Ross .....	55
4.1.1.2. Broiler-Linie Isa .....	57
4.1.2. Absolute Embryonenmassen (abs. EM) .....	59
4.1.2.1. Broiler-Linie Ross .....	59
4.1.2.2. Broiler-Linie Isa .....	61

4.1.3. Relative Embryonenmassen (rel. EM).....	63
4.1.3.1. Broiler-Linie Ross.....	63
4.1.3.2. Broiler-Linie Isa .....	65
4.1.4. Wachstumseffizienz (We) .....	67
4.1.4.1. Broiler-Linie Ross.....	67
4.1.4.2. Broiler-Linie Isa .....	69
4.1.5. Zusammenfassung der Parameter des embryonalen Wachstums.....	70
<b>4.2. Makroskopische Untersuchung der Herzen .....</b>	<b>74</b>
4.2.1. Absolute Herzmassen (abs. HM) .....	74
4.2.1.1. Broiler-Linie Ross.....	74
4.2.1.2. Broiler-Linie Isa .....	77
4.2.2. Relative Herzmassen (rel. HM) .....	80
4.2.2.1. Broiler-Linie Ross.....	80
4.2.2.2. Broiler-Linie Isa .....	82
4.2.3. Herzdurchmesser (Hd).....	84
4.2.3.1. Broiler-Linie Ross.....	84
4.2.3.2. Broiler-Linie Isa .....	86
4.2.4. Herzlänge (Hl).....	88
4.2.4.1. Broiler-Linie Ross.....	88
4.2.4.2. Broiler-Linie Isa .....	90
4.2.5. Zusammenfassung der allgemeinen makroskopischen Herzentwicklung .....	92
4.2.6. Masse des rechten Ventrikels und rV/tV-Verhältnis beider Rassen .....	94
4.2.6.1. Entwicklung in den Kontrollgruppen .....	94
4.2.6.2. Entwicklung am 17. Inkubationstag .....	95
4.2.7. Entwicklung der Herzgröße und Herzform (Herzindex) .....	97
4.2.7.1. Broiler-Linie Ross.....	97
4.2.7.2. Broiler-Linie Isa .....	100
4.2.7.3. Zusammenfassung.....	102
<b>4.3. Hämatokrit-Werte .....</b>	<b>103</b>
4.3.1. Broiler-Linie Ross .....	103
4.3.2. Broiler-Linie Isa.....	104
4.3.3. Zusammenfassung .....	105
<b>4.4. Lichtmikroskopische Untersuchung der Herzen.....</b>	<b>105</b>
4.4.1. Allgemeine Betrachtung der Herzen am 10. Inkubationstag .....	105
4.4.2. Allgemeine Betrachtung der Herzen am 15. Inkubationstag.....	111
4.4.3. Allgemeine Betrachtung der Herzen am 18. Inkubationstag.....	114

<b>4.5. Auswirkung der veränderten Inkubationsbedingungen</b> .....	119
4.5.1. Myokardstruktur der Versuchsgruppen .....	119
4.5.2. Myokardwanddicken und Zellzahlen bei den Versuchsgruppen .....	121
4.5.2.1. Ross .....	121
4.5.2.2. Isa.....	127
<b>4.6. Zusammenfassende Betrachtung der signifikanten Unterschiede</b> .....	131
<b>5. Diskussion</b> .....	133
<b>5.1. Konzentrationsverläufe von Sauerstoff und Kohlenstoffdioxid während der nicht ventilierten Inkubation</b> .....	133
<b>5.2. Einfluss der veränderten Inkubationsbedingungen auf die allgemeine embryonale Entwicklung</b> .....	135
5.2.1. Entwicklung der Körpergröße, Körpermasse und Wachstumseffizienz .....	135
5.2.2. Allgemeine Entwicklung der Herzen.....	139
5.2.3. Spezielle Betrachtung der Herzentwicklung - Zellzahlen .....	144
5.2.3.1. Rechter Ventrikel.....	145
5.2.3.2. Septum interventriculare .....	147
5.2.3.3. Linker Ventrikel .....	149
5.2.4. Spezielle Betrachtung der Herzentwicklung - Wanddicken.....	150
5.2.4.1. Rechter Ventrikel.....	150
5.2.4.2. Septum interventriculare .....	152
5.2.4.3. Linker Ventrikel .....	152
<b>5.3. Epigentischer Aspekt dieser Studie</b> .....	154
<b>5.4. Schlussfolgerung und Ausblick</b> .....	156
<b>6. Zusammenfassung</b> .....	157
<b>7. Summary</b> .....	159
<b>8. Literaturverzeichnis</b> .....	161
<b>9. Anhang - 1 - Abbildungsverzeichnis</b> .....	180
<b>10. Anhang 2- Tabellenverzeichnis</b> .....	182
<b>11. Anhang 3- Diagrammverzeichnis</b> .....	183
<b>Danksagung</b> .....	186
<b>Selbständigkeitserklärung</b> .....	187



## Abkürzungsverzeichnis

A	Arterie
Abb.	Abbildung
abs.	absolut
ADP	Adenosindiphosphat
ATP	Adenosintriphosphat
AV	atrioventricular
BG	Blutgefäß
Ca <sup>2+</sup>	Kalzium-Ion
CAM	Chorioallantoismembran
C.c.	Coturnix coturnix
Cl <sup>-</sup>	Chlorid-Ion
CO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxid
CpG	Regionen der DNA in denen ein Cytosin-Nukleotid neben einem Guanin-Nukleotid vorkommt.
CSF	Liquor cerebrospinalis
D	Inkubationstag
d	Tag
Diag.	Diagramm
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EM	Embryonenmasse
et al.	et alii (lat.); und andere
EPDC	epicardial derived cells
F1	erste Nachkommen-Generation
Fa.	Firma
GG	Gasgruppe
H <sup>+</sup>	Proton
Hb	Hämoglobin
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Bikarbonat-Ion
Hd	Herzdurchmesser
HE	Hämatoxylin Eosin
HH NTab	Hamburger und Hamilton Normal-Tabelle: Einteilung der Entwicklung der Normalstadien der Hühnerembryonen anhand von morphologischen Eigenschaften
Hkt	Hämatokrit
HI	Herzlänge

HM	Herzmasse
HPS	His-Purkinje-System
IP	internal pipping (innerer Schlupf des Kükens)
IP5	Inositolpentaphosphat
K <sup>+</sup>	Kalium-Ion
KG	Kontrollgruppe
LDH	Laktatdehydrogenase
I.V.	linker Ventrikel
M	Myokard
Ma	äußere Myokardschicht
Mi	innere Myokardschicht
µm	Mikrometer
N	Stickstoff
Na <sup>+</sup>	Natrium-Ion
NVG	nicht-ventilierte Versuchsgruppe
O <sub>2</sub>	Sauerstoff
PAS	Perjodsäure-Leukofuchsin-Färbung
PaO <sub>2</sub>	arterieller Sauerstoffpartialdruck
PaCO <sub>2</sub>	arterielle Kohlenstoffdioxidpartialdruck
pCO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxidpartialdruck
pHa	arterieller pH-Wert
pO <sub>2</sub>	Sauerstoffpartialdruck
resp.	respektive/beziehungsweise
rel.	relativ
Ro	Broiler-Linie Ross 308
ROS	reaktive Sauerstoffspezies
r.V.	rechter Ventrikel
SeE	Serosaepithel
seM	subepikardiales Mesenchym
Sep.	Septum interventriculare
T4	Thyroxin
Tab.	Tabelle
tV	Gesamtventrikel
We	Wachstumseffizienz
2,3-DPG	2,3-Diphosphoglycerat
ZZ	Zellzahl

## 1. Einleitung

Die embryologische Entwicklung ist ein dynamischer Prozess, der durch Stressoren unterschiedlicher Art empfindlich gestört werden kann. Das bebrütete Hühnerei mit dem sich darin entwickelnden Embryo bildet eine unabhängige, funktionelle und strukturelle Einheit, die nach der Eiablage nur noch partiell den mütterlichen Einflüssen unterliegt. Dieser Einfluss beschränkt sich auf im Eidotter vorhandene, für die Entwicklung entscheidende Hormone und Mediatoren. Dennoch steht der Embryo, mit Hilfe der Poren in der kalzifizierten Schale über den Gas-, Flüssigkeits- und Temperatur-Austausch mit der Außenwelt in ständigem Kontakt und kann durch sie in der Entwicklung beeinflusst werden. Das kardiovaskuläre System stellt die erste funktionierende Einheit während der embryonalen Entwicklung dar. Die Herzentwicklung beginnt bereits nach 33-38 Inkubationsstunden. Nach 48 Inkubationsstunden kontrahiert sich der ungekammerte Herzschlauch regelmäßig und rhythmisch. Die Entwicklung des Herzens ist damit von fundamentaler Wichtigkeit für die Lebensfähigkeit und die weitere Entwicklung des Embryos. Veränderungen der Konzentrationen von Sauerstoff und Kohlendioxid können zu epigenetisch vermittelten Anpassungsreaktionen führen. Bezüglich eines veränderten Sauerstoff-Gehaltes in der Inkubationsluft sind in vielen Arbeitsgruppen schon aussagekräftige Ergebnisse erzielt worden, die die Fähigkeit des Embryos beschreiben, auf ein vermindertes Sauerstoffangebot im Inkubator zu reagieren (TAZAWA, MIKAMI, & YOSHIMOTO, 1971 b; TZSCHENTKE & BASTA, 2002; ROUWET, TINTU, RAMSAY, & LE NOBLE, 2002; HÜHNKE & TÖNHARDT, 2004).

Der pränatale Inkubationseinfluss ist besonders bei Küken der Mastrichtung interessant. Diese Tiere leiden an einer erhöhten Aszites-Anfälligkeit, deren Ätiologie noch nicht vollständig geklärt ist. Neben den konstitutionellen und nutritiven Einflüssen werden auch epigenetische Einflüsse diskutiert, die möglicherweise schon während der Inkubation eine erhöhte Aszites-Prädisposition bedingen.

Um die allgemeine embryonale Entwicklung zu verbessern, wird durch Nicht-Ventilation die Kohlenstoffdioxid-Konzentration in den industriellen Inkubatoren der Masthuhn-Brütereiern erhöht. Die Tiere zeigen ein beschleunigtes embryonales Wachstum, ein erhöhtes embryonales Gewicht und verbesserte Schlupfzeiten. Es wird auch ein Einfluss auf die Aszites-Prädisposition diskutiert. Vorrangiges Ziel dieser Arbeit ist die Charakterisierung der Entwicklung der Gas-Zusammensetzungen während der nicht-ventilierten Inkubation und die Untersuchung der allgemeinen embryonalen Entwicklung und der Herzentwicklung von zwei

Masthuhn-Linien, die sich in ihrer Wachstumsrate voneinander unterscheiden. Die Herzentwicklung wird durch makroskopisch morphologische und mikroskopisch morphometrische Untersuchungen dokumentiert. Durch die Gegenüberstellung von hyperkapnischer Inkubation in normoxischen Bedingungen und hyperkapnischer Inkubation unter hypoxischen Bedingungen soll außerdem der Einfluss des Kohlenstoffdioxids auf die Entwicklung näher beleuchtet werden.

## 2. Literaturübersicht

### 2.1. Die Abstammung des Haushuhns

Die Klasse der Vögel (zoologisch Aves) teilt sich in 28 Ordnungen mit 140 Familien und ca. 8660 Arten auf. Nur aus 3 Ordnungen ist das Nutzgeflügel hervorgegangen: aus den Ordnungen Galliformes (Hühnervögel), Anseriformes (Gänsevögel) und aus den Columbiformes (Taubenvögel). Aus der Ordnung Galliformes, welche die wirtschaftlich bedeutendste Ordnung der Hühnervögel darstellt, wurden nur Populationen von 4 Arten aus der Unterfamilie Phasianidae domestiziert (MEHNER & HARTFIEL, 1983). Dazu gehört unter anderem das wilde Bankaviahuhn *Gallus gallus* mit seinen Unterarten, dem Birmesischen Wildhuhn *Gallus gallus gallus*, dem Tongkingwildhuhn *Gallus gallus jabouillei* und dem Vorderindischen Wildhuhn *Gallus gallus murghi*.

Man ist allgemein der Auffassung, dass das wilde Bankaviahuhn *Gallus gallus* und dessen Unterarten die Ahnen unserer heutigen, in viele Rassen aufgespaltenen Haushühner darstellen (ENGELMANN, 1984). Es konnte im Jahr 2008 jedoch anhand genetischer Untersuchungen im Department of Medical Biochemistry and Microbiology der Uppsala University in Schweden gezeigt werden, dass neben dem wilden Bankaviahuhn und seinen Unterarten auch das graue Kammhuhn *Gallus sonnerati* als Vorfahr des Haushuhns angesehen werden kann. Das wurde überzeugend demonstriert durch die Untersuchung des „Yello-Skin“-Allels, welches im Genom heutiger Haushuhnrasen vorhanden ist und ursprünglich vom grauen Kammhuhn stammt.

Ein Ausschnitt über die Abstammung des Bankaviahuhns wird in Tab. 1 dargestellt. Das wilde Bankaviahuhn und das Graue Kammhuhn gehören zur Gattung der Kammhühner *Gallus*, welche über die für Angehörige der Unterfamilie Phasianidae charakteristischen phänotypischen Merkmale verfügen. Sie besitzen einen fleischigen, gezackten Scheitelkamm, fleischige Lappen am Unterschnabel und eine nackte Kehle (MEHNER & HARTFIEL, 1983). Ihre Verbreitungsgebiete waren Indien, China und die malayischen Inseln. Noch heute leben die wilden Bankaviahühner, welche auch als „rote Dschungelhühner“ bezeichnet werden, in Dschungeln und Wäldern und sind sowohl in Küstennähe als auch in 1500 m Höhe anzutreffen.

Ordnung	Familie	Stammarten	Verbreitungsgebiet	Haustier
Galliformes (Hühnervögel)	Phasianidae (Fasanenvögel)	Bankaviahuhn <i>Gallus gallus</i>	Südostasien	Haushuhn <i>f. domestica</i>
		Jagdfasan <i>Phasianus colchicus</i>	Mittelasien, Indien	
		Asiat. Pfau <i>Pavo cristatus</i>	Vorderindien	Pfau <i>f. domestica</i>
		Wachtel <i>Coturnix coturnix</i>	Eurasien	Laborwachtel <i>C.c. japonica</i>

Tab. 1: Ausschnitt über die Abstammung der Geflügelarten (SCHWARK, et al. 1987)

## 2.2. Die Domestikation des Haushuhns

Das biologische prähistorische Material, welches Aussagen über die genauen Orte und Abläufe der Domestikation des Hausgeflügels geben könnte, ist außerordentlich selten (MEHNER & HARTFIEL, 1983). Das lässt sich nach Herre und Röhrs (1990) folgendermaßen erklären: archäozoologische Funde von Vogelresten sind aufgrund ihrer geringen Größe und schnellen Zersetzung weitaus seltener zu finden, als Reste von Säugetieren. Funde, die gemacht worden sind, wiesen einen hohen Zerstörungsgrad auf. Aus diesen Gründen beruhen die meisten Vorstellungen über die Domestikation des Haushuhns auf kulturgeschichtlichen Daten, die jedoch sehr vieldeutig sind und viele züchtungsbiologische Fragen offen lassen (MEHNER & HARTFIEL, 1983).

Als Domestikationszentrum gilt der asiatische Raum. Kulturgeschichtlichen Belegen zufolge wurde das Huhn ca. 3000 v. Chr. im Indusdal domestiziert. Um 1400 v. Chr. traten sie in China auf und haben sich wenig später über Vorderasien in Afrika und Europa verbreitet. Es gilt als gesichert, dass die massive Verbreitung nach Nordeuropa vom römischen Reich ausging. Dennoch gibt es Anhaltspunkte, dass Hühner bereits vor dem römischen Einfluss in Nordeuropa gehalten wurden (KRÄUßLICH & BREHM, 1997). Ob die Verbreitung der Haushühner auf dem amerikanischen Kontinent erst nach der spanischen Eroberung stattfand oder sie bereits viel früher über den Pazifik nach Amerika gelangten, ist umstritten.

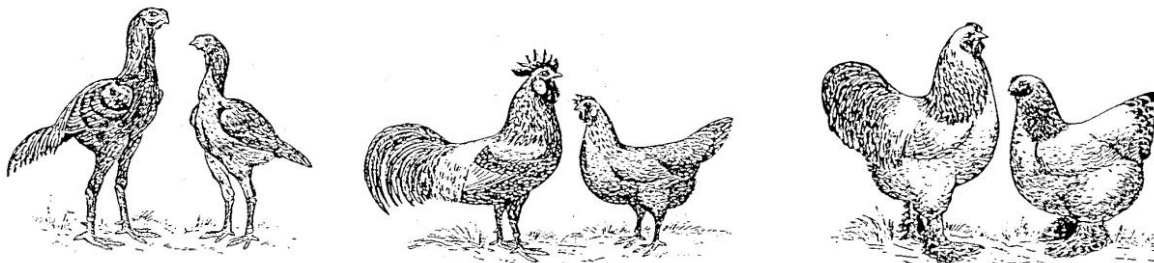
Im Altertum wurde das Huhn (vor allem der Hahn) lange Zeit als Kult- und Symboltier verehrt. Erst im Mittelalter erhielt das Geflügel seine Bedeutung als Eier- und Fleischlieferant. Ein Zusammenhang der Domestikation mit religiösen Motiven wird oft angenommen, lässt sich aber nicht eindeutig belegen (MEHNER & HARTFIEL, 1983).

## 2.3. Verbreitung und züchterische Entwicklung des Haushuhns

### 2.3.1. Verbreitung

Das Huhn ist eines der ältesten Haustiere. Seine Verbreitung erstreckt sich über die ganze Welt. Fast die Hälfte des gesamten Bestandes ist auf Asien verteilt. Im Laufe der Domestikation entstanden etwa 150 verschiedene Hühnerrassen. Die Verschiedenartigkeit drückt sich in unzähligen Variationen von Körperform, Gefiederfarbe sowie in speziellen Merkmalen aus. Dennoch lassen sich die verschiedenen Rassen in insgesamt 3 Nutzungskategorien einteilen: leichte Legerassen, Zweinutzungsrasen und schwere Mastrassen.

### 2.3.2. Züchterische Entwicklung



**Abb. 1: Rasse-Grundtypen der Hühner ( von links: Bankavia- oder Legetyp, Malaien- oder Kämpfertyp, Cochin- oder Asiatentyp), Zeichnung: „Schweizerischer Geflügel-Standard“ (AVIFORUM, 1999)**

Die leichten Legerassen (Abb.1) stammen hauptsächlich aus dem Mittelmeer-Raum. Ihre typischen Vertreter sind die Weißen Leghorn, die Italiener und die aus Spanien stammenden Kastilianer, Andalusier und Minorca. Diese Rassen zeichnen sich durch eine ausgezeichnete Legeleistung (250 Eier und mehr), ein hohes Eigewicht und eine hohe Fruchtbarkeit aus. Das Körpergewicht der Hennen von Legerassen im Alter von 20 Wochen liegt zwischen 1500 und 2000 g, das der Hähne ist etwa 15 bis 20% höher. Wegen ihrer hervorragenden Anpassungsfähigkeit an unterschiedliche Klimabedingungen und Haltungssysteme werden vor allem die Weißen Leghorn für die kommerzielle, intensive Geflügelzucht verwendet. Die Italiener weisen zwar gute Legeleistungen auf, sind jedoch nicht für die Intensivhaltung geeignet (BESSEI, 1999).

Die Zweinutzungsrasen sind Kreuzungen leichter Legerassen mit schweren Rassen, welche eine mindestens befriedigende Legeleistung und eine gute Mastfähigkeit aufweisen. Zu den wichtigsten Vertretern schwerer Rassen zählen die Rhodeländer, Wyandotten, Sussex-Hühner und die New Hampshires. Hennen aus diesen Kreuzungen zeigen im Alter von 20 Wochen ein Körpergewicht von 2000 bis 2500 g. Die Hähne liegen etwa 15 bis 20% über dem Gewicht der Hennen (BESSEI, 1999). Die Zweinutzungsrasen konnten sich in der allgemeinen Industrie jedoch nicht durchsetzen und haben heute als Wirtschaftsgeflügel nur noch im ökologischen Landbau und für die Produktion von Lege- und Masthybriden Bedeutung.

Zu den schweren Hühnerassen zählen zwei verschiedene Typen: die Kämpfer und die Rassen des asiatischen Typs (Abb.1).

Vertreter des asiatischen Typs sind große Hühner mit einem Gewicht von bis zu 6kg. Sie legen nur wenige, kleine Eier, sind spätreif, weisen jedoch ein rasches Wachstum auf. Die Kämpfer gehören zu den ältesten Geflügelrassen. Sie wurden für Hahnenkämpfe gezüchtet. Tiere dieser Rasse verfügen über besondere Merkmale, wie z. B. eine breite, kräftige Brust- und starke Schenkelmuskulatur.

Kämpfer sind meist aggressiv und schwierig im Umgang. Sowohl die Legeleistung als auch die Fruchtbarkeit sind gering. In verschiedenen Zuchtprogrammen versucht man deshalb, vor allem Tiere mit einer ausgezeichneten Brust- und Schenkelmuskulatur, sowie mit guten Zunahmen zu gewinnen. Es wird außerdem darauf geachtet, dass die Tiere einen ruhigen Charakter haben, durch den ein leichter Umgang mit ihnen möglich wird.

### **2.3.2.1. Zuchtverfahren bei Mastrassen**

In den Industrieländern erfolgt die Hühnerproduktion fast ausschließlich in intensivster Form unter Verwendung von Zuchtprodukten international tätiger Zuchtunternehmen. Spezialisierte Firmen mit ihren Zuchtprodukten sind marktbeherrschend. Die Details der Zuchtverfahren unterliegen meist dem Betriebsgeheimnis. Es besteht daher nur eine partielle Transparenz über die Zusammensetzung der Zuchtprodukte. Wichtig für die Wirtschaftsgeflügelzucht sind vor allem die Eierproduktion und die Fleischleistung. Die Großunternehmen optimieren daher ihre Zuchtziele und konzentrieren die Selektion auf einzelne Leistungsmerkmale. Im Vordergrund stehen hierbei für die Masttierzüchtung: Endgewicht bzw. Mastdauer, Futtermittelverwertung, Verlustrate, Schlachtverluste und Verfettungsgrad. Für die Elterntiere kommt es neben der Eizahl auf Bruteieranteil, Befruchtungsrate, Schlupfrate und Kükenqualität an (KRÄUßLICH & BREHM, 1997).

Da die Legeleistung und das Körpergewicht genetisch negativ korreliert sind, ist die züchterische Vereinigung dieser beiden Merkmale sehr schwierig. Folglich kam es zur völligen Trennung von Lege- und Mastlinien.

Im Allgemeinen erfolgt die Züchtung in vertikaler Integration (Abb.2) mit den Stufen Basiszucht (Urgroßeltern), Großeltern und Eltern als Zuchtvermehrter sowie der Stufe der Endprodukte, über deren Leistungsniveau Informationen aus Warentests erzielt werden.

In der Basiszucht werden schwach ingezüchtete reine Linien mit spezifischen Zuchtzielen erstellt und durch Probeanpaarungen auf spezielle oder allgemeine Kombinationseignung getestet. Die günstigsten Kombinationen werden vermehrt. Die Hauptaufgaben der



Basiszuchtbetriebe im Mastgeflügelsektor sind somit die Haltung und Weiterentwicklung der reinen Linien und andererseits die Produktion von Elterntier-Eintagsküken, die dann an Vermehrungsbetriebe abgegeben werden. Von dort erfolgen die Belieferung der Brütereien mit Bruteiern und schließlich die Abgabe der Eintagsküken.

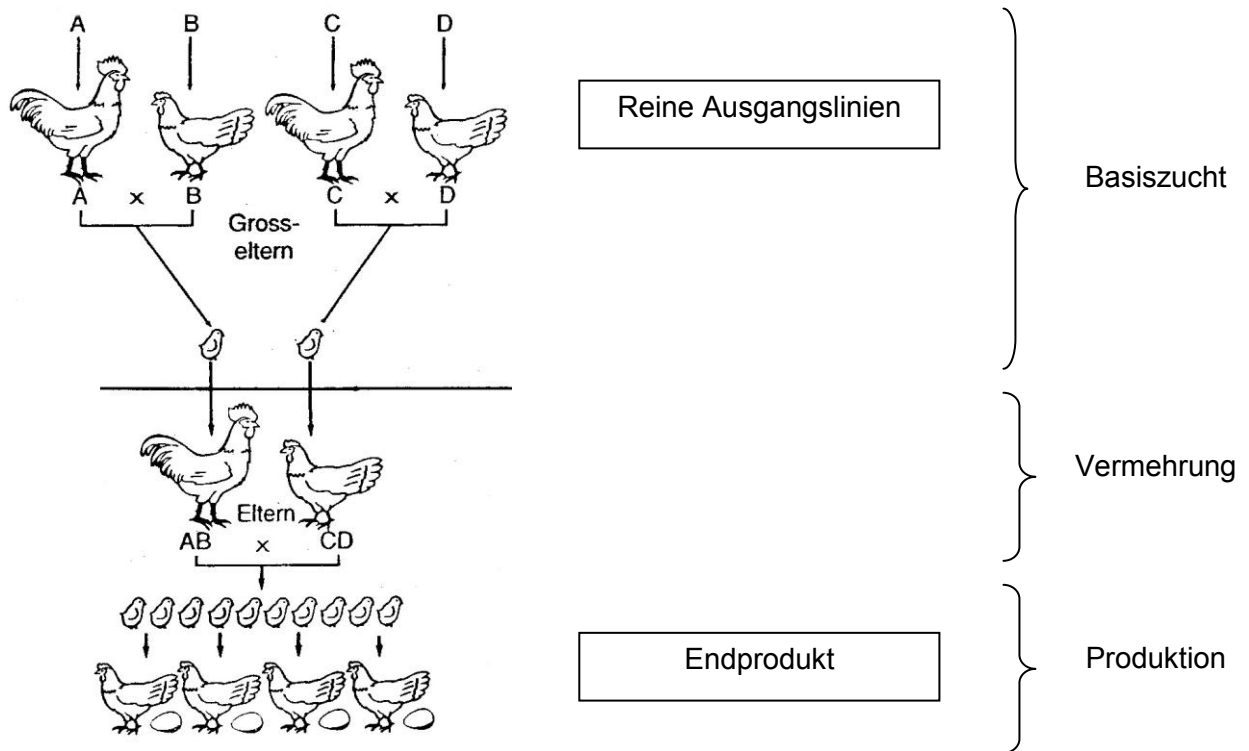


Abb. 2: Organisation der Hybridzucht und der Vermehrung (AVIFORUM, 1999)

Die Hybridzucht beruht auf der Kreuzung verschiedener Rassen oder Linien. Durch den Heterosis-Effekt<sup>1</sup> weisen die Kreuzungen (Hybriden) eine höhere Leistungsfähigkeit und Vitalität als die reinen Ausgangsrassen auf. Für Lege- und Masthybriden gibt es dabei jeweils spezielle Hybridzuchtprogramme.

### 2.3.2.2. Leistungsbedingte Probleme der Hühner vom Masttyp

Seit dem Jahr 1942 wurden Hennen der Legerichtung mit mittelschweren Hähnen verpaart. Die Kreuzungsnachkommen waren besser zur Mast geeignet. In den folgenden Jahren wurden viele Rassen miteinander gekreuzt und auf Wachstum selektiert. Seit dem Jahr 1953 werden in der Masttierzucht spezialisierte Hahnen- und Hennenlinien miteinander gekreuzt.

<sup>1</sup>bezeichnet in der Genetik eine besonders ausgeprägte Leistungsfähigkeit d. Hybriden. Die beobachtete Leistung der F<sub>1</sub>-Generation ist höher als die durchschnittliche Leistung dieser Eigenschaft bei der Parental-Generation.

Dabei werden bei der Zucht der Vaterlinien vor allem die Kriterien Wachstumsleistung, Fleischansatz und Fleischqualität berücksichtigt. Bei den Mutterlinien wird neben der Wachstumsleistung besonderer Wert auf die Legeleistung gelegt. Die heutigen Masthybriden sind also Kreuzungsprodukte, deren Leistungsvermögen sich in den letzten Jahrzehnten enorm gesteigert hat (Tab. 2). Die Mastdauer verkürzte sich seit 1927 um etwa zwei Drittel und das Schlachtgewicht hat sich verdoppelt. Die täglichen Zunahmen sind sogar um mehr als das Fünffache gestiegen (SÄCHSICHES LANDESAMT FÜR UMWELT, 2006).

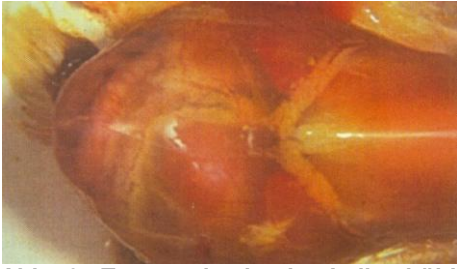
Jahr	Alter in Tagen	Körpergewicht in kg	Tägliche Zunahme in g
1927	105	1,05	10
1947	80	1,45	18
1967	61	1,65	27
1987	44	1,90	43
1997	37	2,00	54

Tab. 2: Entwicklung der Mastleistung (Sächsisches Landesamt für Umwelt, 2006)

Die frappante Leistungssteigerung führte allerdings auch zum gehäuftem Auftreten von Herz-Kreislauf-Erkrankungen bei den Mastrassen der Hühner. Prototypen dieser Erkrankungsgruppe sind das Sudden-Death-Syndrom und das Aszites-Syndrom. Bei Tieren der Legerasse hingegen sind diese Erkrankungen weitgehend unbekannt oder treten nur vereinzelt auf. Besonders das Aszites-Syndrom verursacht, trotz jahrelanger Untersuchungen, noch immer starke Verluste. Von den rund 40 Milliarden Masttieren, die jährlich in der gesamten Welt produziert werden, sterben 5 % mit steigender Inzidenz durch das Aszites-Syndrom. Da diese Tiere meist vor dem Ende der Mastperiode sterben, können sie wirtschaftlich nicht mehr genutzt werden. Die Kosten, die durch diese Verluste entstehen, belaufen sich auf ungefähr 500 Milliarden US-Dollar pro Jahr (URBAITYTE, 2008).

## 2.4. Aszites-Syndrom

Erkrankungen des Wirtschaftsgeflügels, die mit Rechtsherzdilatation, Aszites und Hydroperikard einhergehen, zählt man zu dem Aszites-Syndrom. Klinisch steht die stetig zunehmende Auftreibung des Abdomens im Vordergrund, die mit Schweratmigkeit, Bewegungsunlust, Inappetenz und Wachstumsdepressionen einhergeht. Da die aufgetriebene Leibeshöhle - auch als „Waterbelly“ bezeichnet (DECUYPERE, et al. 2000) - das Gehen und Stehen der Tiere behindert, nehmen sie eine pinguinartige Haltung ein und zeigen einen watschelnden, entenartigen Gang (AGUDELO, 1983; BERGMANN, 1995). Der Tod der Tiere tritt meist ein bis drei Tage nach Auftreten der klinischen Symptome ein (LOHR, 1975). Das pathologisch-anatomische Bild bei einer Obduktion wird bestimmt durch die hochgradige Füllung der Leibeshöhle (Abb. 3) mit mehr oder weniger proteinreichem Transsudat (LOHR, 1975; BERGMANN, et al. 1979; DAHIYA, et al., 2003).



**Abb. 3: Transsudat in der Leibeshöhle (URBAITYTE, 2008 )**

Zusätzlich tritt bei vielen Tieren ein praller, mit leicht getrübbter Flüssigkeit gefüllter, erweiterter Herzbeutel (Hydropericard) auf (LOHR, 1975; BERGMANN, et al. 1979). Weiterhin charakteristisch ist das Auftreten einer Kardiomegalie, die durch die Hypertrophie und Dilatation des rechten Ventrikels sowie die häufig einhergehende Erweiterung des rechten Atriums, des Sinus Venosus und des Brustteils der Vena cava verursacht wird. Auch die Vergrößerung des linken

Ventrikels tritt häufig auf (CRESPO & SHIVAPRASAD, 2003). Durch histologische Untersuchungen an den betroffenen Herzen konnten Veränderungen in Form von ödematösen Faserdissoziierungen, Proliferationen von freiem Bindegewebe zwischen den Muskelfasern, disseminierte Muskelfasernekrosen, Mitochondrienanomalien, örtliche Hämorrhagien und zellige Infiltrationen (Heterophile) festgestellt werden (MAXWELL, ROBERTSON, & MITCHELL, 1993; JULIAN, 1993; SQUIRES & SUMMERS, 1993; BERGMANN, 1995; CRESPO & SHIVAPRASAD, 2003).

In den Versuchen von Mohammadpour (2005) wurden besonders die histomorphologischen Veränderungen des Myokards von an Aszites erkrankten Tieren dargestellt. So zeigten die betroffenen Tiere gegenüber den nicht betroffenen Tieren einen Anstieg in der Dicke des rechten Ventrikels, des Herzgewichtes, des Herzdurchmessers an der Herzbasis und ein Verhältnis zwischen dem rechten Ventrikelgewicht und dem Gesamtgewicht der Ventrikel mit Septum (rV/tV -Verhältnis) von 0,35. Ein rV/tV- Verhältnis von 0,30 oder höher gilt als ein wichtiges Indiz für das Vorliegen des Aszites-Syndroms (FEDDE & WIDEMANN, 1996).

Bevor jedoch die typischen klinischen Symptome bei den erkrankten Tieren auftreten, kann man meist anatomische und hämatologische Veränderungen wahrnehmen (MAXWELL, et al. 1986 a; MAXWELL, et al. 1986 b; MAXWELL, et al. 1987). So können zum Beispiel erhöhte Hämatokrit-Werte oder eine verminderte Sauerstoffsättigung des Hämoglobins im arteriellen Blut Hinweise auf eine Aszites-Prädisposition sein. Auch eine elektrokardiographische Aufzeichnung kann, laut Hassanpour et al. (2005) als diagnostisches Verfahren angewendet werden. Eine stärkere Amplitude der S- (lange Ventrikel Depolarisation) und T-Welle wird als Zeichen einer ventrikulären Hypertrophie beim Aszites-Syndrom betrachtet.

Das Aszites-Syndrom tritt vorrangig bei Mastgeflügel im Alter von drei bis sechs Wochen auf. Probleme mit dem Aszites-Syndrom wurden zunächst schwerpunktmäßig nur in großen Höhen beobachtet, wodurch diese Krankheit vorläufig als „High Altitude Disease“ bezeichnet wurde (CUEVA, et al. 1974; ALBERS & FRANKENHUIS, 1990). Seit sich aber Berichte über das Vorkommen der High Altitude Disease auch in niedrigen Höhen häuften (FITZ-COY & HARTER-DENNIS, 1988), bevorzugen Autoren heute Bezeichnungen wie „Pulmonary Hypertension Syndrom“ (HUCHZERMEYER & DE RUYCK, 1986) oder „Aszites-Syndrom“ (BERGMANN, 1995). Teilweise tritt das Aszites-Syndrom bei Masthühnern als eine

bestandsgefährdende Herdenerkrankung auf. Es kann aber genauso nur Einzeltiere betreffen.

Die Ätiologie des Aszites-Syndroms ist noch nicht vollständig geklärt. Als Hauptursache werden aber die konstitutionellen Besonderheiten des Mastgeflügels angenommen. Die Lungen von Vögeln sind relativ feste Strukturen, die ventral in der thorakalen Körperhöhle fixiert sind. Die kleinen Lungenarteriolen können sich nur begrenzt ausdehnen, um einen erhöhten Blutfluss zu ermöglichen. Beim Mastgeflügel ist die Lungengröße prozentual zur Körpergröße kleiner als bei anderen Vogelarten. Um den erhöhten Sauerstoffbedarf für den verstärkten Metabolismus des schnell wachsenden Mastgeflügels zu decken, ist ein verstärkter Blutfluss durch die Lunge notwendig. Folglich kommt es zu einer primären Blutdruckerhöhung im Lungenkreislauf und später zur Ausprägung des Cor Pulmonale. Das kann letztendlich nach Hypertrophie, Dilatation und Klappeninsuffizienz zu einem Versagen des rechten Ventrikels und zur Ausprägung des Aszites-Syndroms führen. Alveoläre Hypoxie, die durch einen erhöhten Bedarf an Sauerstoff und einen begrenzten Blutfluss durch die Lungenkapillaren ausgelöst wird, ist demnach initial ursächlich für die Entstehung eines Aszites-Syndroms (REECE, 1991). Mit zunehmender Hypoxie steigert der Körper die Sauerstofftransportkapazität des Blutes, indem er die Anzahl der Erythrozyten erhöht (STURKIE, 1996 a; 1996 b). Die daraus resultierende veränderte Viskosität des Blutes trägt zusätzlich zur Druckerhöhung im kleinen Kreislauf bei. Umstände, die einen erhöhten Metabolismus und damit einen verstärkten Blutfluss bedingen (z.B. Kälte) oder einen gesteigerten Widerstand im Blutgefäßsystem zur Folge haben (z.B. große Höhe) stellen demnach eine mögliche Prädisposition für die Ausprägung des Aszites-Syndroms dar.

Auch die Fütterungsweise kann eine mögliche Ätiologie zur Ausprägung des Aszites-Syndroms darstellen. Ein sehr wichtiger Faktor, der für das schnelle Wachstum des Mastgeflügels unabdingbar ist, ist die verstärkte Futteraufnahme durch den gesteigerten Appetit (DUNNINGTON & SIEGEL, 1996). Broiler-Rassen werden häufig unter Bedingungen gehalten, die eine ad libitum Fütterung ermöglichen und nehmen so im Laufe des Tages sehr viel Futter auf. Der Gastrointestinaltrakt der Tiere ist demzufolge fast ununterbrochen in einem gefüllten Zustand. Das führt zu einer Kompression der Luftsäcke und dem daraus folgenden Unvermögen des Mastgeflügels, sein normales Atemzugvolumen zu erreichen. Das reduzierte Volumen führt zu einer Reduktion des Sauerstoffpartialdruckes des Atemgases in den Parabronchien, was eine hypoxische Vasokonstriktion der pulmonalen Arteriolen zur Folge hat. Daraus ergibt sich ein erhöhter Druck im Lungenkreislauf, der die Entstehung des Aszites-Syndroms zur Folge hat (FEDDE, et al. 1998). Auch in anderen Studien von Peacock et al. (1989) konnte nachgewiesen werden, dass z.B. eine restriktive Fütterung die Inzidenz des Pulmonary-Hypertension-Syndroms vermindert.

In Untersuchungen von Bolukbasi et al. (2005) wurde festgestellt, dass auch die Zubereitungsart des Futters Auswirkungen auf die Inzidenz des Aszites-Syndroms haben kann. So wurde das Auftreten von Aszites durch die Gabe von Futterbrei im Gegensatz zu pelletiertem Futtermittel gesenkt.

Neben den nutritiven und konstitutionellen Umständen, die die Inzidenz des Aszites-Syndroms beeinflussen, werden von Nain et al. (2007) auch limitierende biochemische Faktoren auf zellulärer Ebene als eine mögliche Ursache zur Entstehung des Aszites-Syndroms gesehen. Es wurden Faktoren untersucht, die essentiell für den kardialen Energiemetabolismus sind. In diesen Versuchen konnte bei schnell wachsenden Masttieren eine Insuffizienz in der Substrat-Synthese für den kardialen Energiestoffwechsel aufgezeigt werden. Dieser Umstand bildet die Basis einer myokardialen Dysfunktion (NAIN, et al. 2007).

Auch hormonell bedingte Unterschiede zwischen Aszites-sensitiven schnell wachsenden Broilerrassen und den langsam wachsenden Rassen könnten zur Entstehung des Pulmonary Hypertension Syndroms beitragen. Es konnte in Versuchen von Luger et al. (2002) gezeigt werden, dass die Thyroidhormone einen wesentlichen Beitrag zur Ausprägung des Aszites-Syndroms leisten. Bei mit T4 supplementierten Tieren kam es zu einer signifikanten Reduktion der Aszites-Mortalität. Folglich könnten reduzierte Thyroidhormon-Konzentrationen und erhöhte Kortikosteroid-Level eine Schlüsselrolle bei der Schädigung einnehmen, die mit dem Aszites-Syndrom einhergeht (LUGER, et al. 2002). Auch Decuypere et al. (1994; 2000) stellten einen Zusammenhang zwischen der Empfänglichkeit für die Ausprägung des Aszites-Syndroms und der Schilddrüsenfunktion fest, was zu der Vermutung führt, dass hypothyreoide Broiler-Linien Aszites-anfälliger sein könnten.

Zusammenfassend kann man sagen, dass in der relevanten Literatur konstitutionelle Besonderheiten des Mastgeflügels (pulmonale Hypertension), Haltungseinflüsse, alimentäre und toxische Faktoren als ursächlich für die Entstehung des Aszites-Syndroms bei Broilern angenommen werden (JULIAN, 1986; BERGMANN, 1995). Es ist jedoch auch denkbar, dass die Ätiologie dieser Erkrankung ihren Ursprung schon während der embryologischen Entwicklung nimmt und durch epigenetische Mechanismen beeinflusst werden kann, obwohl es erst gegen Ende der Mastperiode auftritt (COLEMAN, 1991). Das würde erklären, warum die Inzidenz des Aszites-Syndroms durch Veränderungen der Inkubationsbedingungen wie in zahlreichen Versuchen von z.B. Buys, Dewil, Gonzales & Decuypere (1998) und De Smit, et al. (2008) beeinflusst werden konnte.

## 2.5. Epigenetik und Adaptation

### 2.5.1. Epigenetik

Der Begriff der Epigenetik wurde das erste Mal 1942 von Conrad Waddington<sup>2</sup> eingeführt. Er beschreibt die Interaktionen von Genen mit ihrer Umwelt, welche die Ausprägung des Phänotyps beeinflussen. Nachdem sich die Definition im Laufe der Jahre veränderte, wird

---

<sup>2</sup> Conrad Hal Waddington (8. November 1905- 26. September 1975): britischer Entwicklungsbiologe, Paläontologe, Genetiker, Embryologe und Philosoph. Er hat den Begriff „Epigenetik“ erstmals benutzt.

Epigenetik heute definiert als ein mitotisch (oder meiotisch) vererbbarer Zustand spezifischer Gen-Aktivität, der nicht durch die Veränderung der DNA hervorgerufen wird (LAIRD, 1999).

Jeder Zelltyp innerhalb eines Organismus hat trotz eines identischen Genoms seine eigene epigenetische Signatur (Epigenom), welche seinen Genotypen, die Entwicklungsgeschichte und seine Umwelteinflüsse widerspiegelt und damit auch den Phänotypen der Zelle und seines Organismus bestimmt (Abb.4). Manche Zellen sind während der fetalen Periode epigenetisch reprogrammierbar und bestimmte Stressoren in dieser sensiblen Phase können zu signifikanten Kurz- und/oder Langzeiteffekten führen, die den Organismus in seiner Entwicklung beeinflussen (NAFEE, et al. 2008).

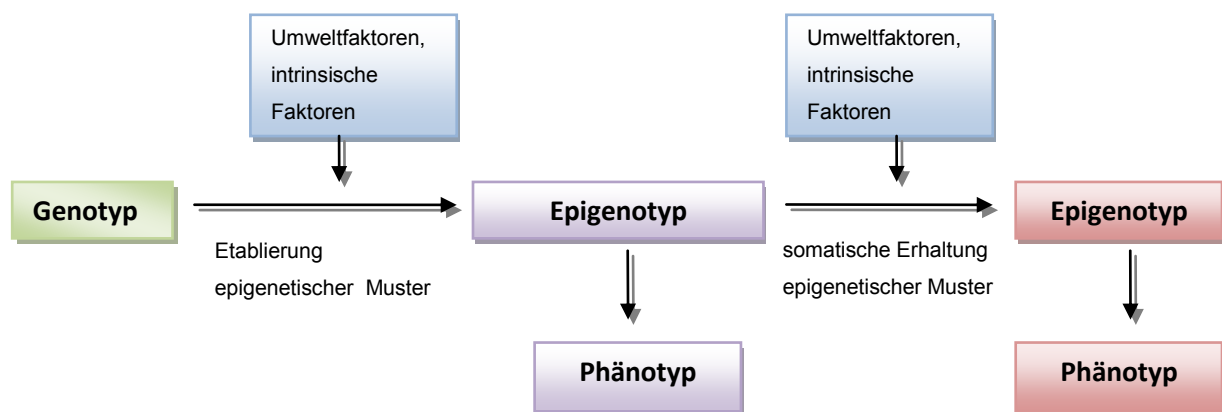


Abb. 4: Darstellung der dynamischen Verbindung zwischen Genotyp, Epigenom und Phänotyp (nach FEIL, 2006)



Abb. 5: Mäuse mit identischem Genom (Waters, 2006)

So konnte z.B. durch Versuche an Agouti-Mäusen (Abb. 5) eindrucksvoll gezeigt werden, wie eine Methyl-Supplementierung im Futter tragender Mäuse die Expression des Agouti-Gens und damit den Phänotyp der F1 Generation und deren Prädisposition gegenüber der Erkrankungen änderte, die mit der Expression des Gens verbundenen sind.

Es häufen sich die Beweise, dass es neben den alimentären noch unzählige andere Stressoren gibt, die das Epigenom beeinflussen und mit Hilfe epigenetischer Mechanismen zu einer Variation in der Genexpression und Transkription führen. Damit können sowohl das phänotypische Erscheinungsbild als auch Prädispositionen für Erkrankungen verändert werden.

Epigenetische Mechanismen beeinflussen die Expression und Transkription von Genen, ohne die DNA zu verändern und ermöglichen damit eine unterschiedliche Interpretation des Erbgutes. Jeder Zelltyp verfügt über ein spezifisches epigenetisches Programm. Die Regulierung des Epigenoms erfolgt über die Verpackung und Markierung der Gene, die durch folgende Mechanismen realisiert werden: DNA-Methylierung und Histonmodifikation.

**DNA-Methylierung:** Die DNA-Methylierung ist ein hoch konservierter epigenetischer Regulationsmechanismus. Vor allem bei der Kontrolle der Genexpression und der Unterdrückung von Transposons spielt sie eine wichtige Rolle (BIRD, 2002). Die Methylierung findet an Cytosin-Resten der DNA statt. Grundsätzlich kann jedes Cytosin methyliert werden, es treten jedoch oft definierte Bereiche mit erhöhter Methylierungsrate auf, die CpG-Inseln genannt werden (ASHIKAWA, 2001). Diese Bereiche können sich bei exprimierten Genen im Promotor, am 5'-Ende des Gens oder auch in der kodierenden Region befinden. Im humanen Genom haben ca. 60% der Gene solche CpG-Inseln (ASHIKAWA, 2001). Durch die Methylierungen werden die Transkriptionsfaktoren „abgestoßen“ und diese Abschnitte der DNA werden nicht „abgelesen“. Häufig wirkt die DNA-Methylierung mit anderen epigenetischen Regulationsmechanismen zusammen.

**Histonmodifikation:** Die große Menge an DNA - in der menschlichen Zelle befinden sich ca. zwei Meter DNA im Zellkern komprimiert - erfordert eine dichte Anordnung der Nukleinsäuren. Es muss dennoch gewährleistet sein, dass zeitnah auf Umwelteinflüsse oder zellinterne Veränderungen reagiert werden kann und Gene bei Bedarf schnell aktiviert oder auch reprimiert werden. Sowohl bei der Verpackung der DNA in der Zelle als auch bei der Regulation der Transkription spielen Histonproteine eine wichtige Rolle. Jeweils zwei der „Core-Histone“ H3, H4, H2A und H2B formen zusammen einen Proteinkomplex um den sich 146 Nukleotidbasen der DNA winden. Die Einheit von Histonproteinen mit der aufgewickelten DNA und weiteren an die DNA gebundenen Proteinen wird als Chromatin bezeichnet. Bezüglich der Transkription von Chromatinbereichen kann zwischen fakultativem und konstitutivem Heterochromatin, welches eine dichte Anordnung besitzt, und Euchromatin mit einer aufgelockerten Anordnung unterschieden werden. Dabei beschreibt Euchromatin die Bereiche mit einer hohen Transkriptionsaktivität. Konstitutives Heterochromatin wird nicht transkribiert. Fakultatives Heterochromatin hingegen enthält inaktive Gene, die unter bestimmten Umständen aktiviert werden können (AVRAMOVA, 2002). Die Regulation der Transkription von Genen kann durch die Modifikationen der Histonproteine beeinflusst werden. Dazu können einzelne oder mehrere Aminosäurereste durch Acetylierung, Methylierung, Phosphorylierung, Ubiquitinylierung oder Sumoylierung modifiziert werden (MANO, 2008). Gegenstand zahlreicher Modifikationen ist der Aminoterminus der Core-

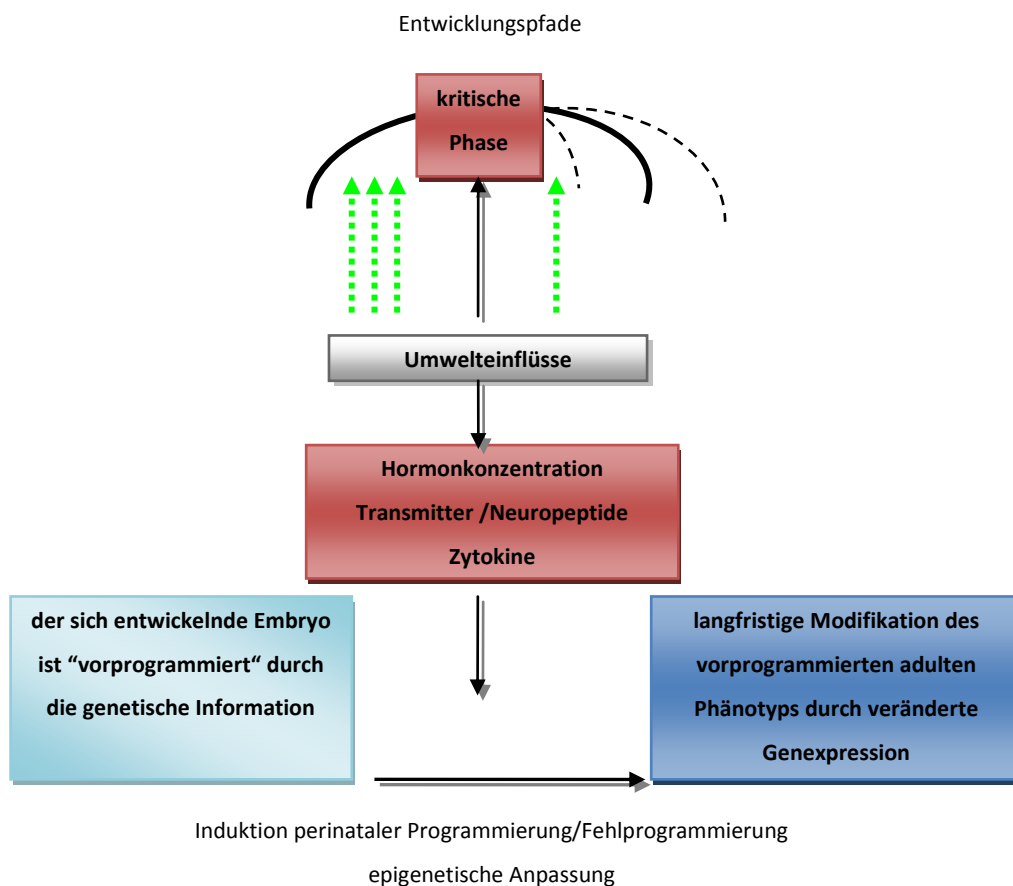
Histone, der als hochkonservierte Kette an der Oberfläche des Nukleosoms präsentiert wird. Lysin- und Arginin-Reste im N-Terminus sind die Hauptziele für eine Histonmodifikation (MANO, 2008). Diesbezüglich am besten untersucht sind die Histone H3 und H4. Zu den am häufigsten untersuchten Modifikationen an den Histonen zählt die Acetylierung. Kommt sie in der Promotor- oder kodierenden Region von Genen vor, zeigt sich eine starke positive Korrelation mit der Transkription der entsprechenden Gene (SCHUBELER, et al., 2004). Es wird angenommen, dass die Acetylierung des N-Terminus der Histonproteine die positive Ladung der Lysin-Reste neutralisiert und damit eine Dekondensation der Chromatinstruktur bedingt. Folglich können Transkriptionsfaktoren an die DNA binden. Epigenetische Mechanismen dienen also der Reaktion des Organismus auf Stressoren, Umweltveränderungen oder zellinterne Veränderungen. Sie bieten ihm damit die Möglichkeit, sich an veränderte Bedingungen anzupassen, zu adaptieren. Während der Embryogenese reagiert das Epigenom besonders empfindlich auf sich verändernde Umweltfaktoren, da die DNA-Syntheserate besonders hoch ist und sich in dieser Zeit die komplizierten Methylierungsmuster und Histonmodifikationen ausprägen, die für die normale Entwicklung des Organismus notwendig sind (NAFEE, et al. 2008). Stressoren, die also in diesem Zeitraum einwirken, können diesen empfindlichen Prozess stören und bereits pränatal einen Einfluss setzen, der sich postnatal positiv oder negativ auswirken kann.

### 2.5.2. Adaptation

Allgemein beschreibt die Adaptation die Fähigkeit eines Organismus oder Regulationssystems, auf Stressoren zu reagieren und sich an die veränderten Bedingungen mit Hilfe von erweiterten Regelmechanismen anzupassen. In der perinatalen Periode entwickeln sich die meisten funktionellen Systeme von einem offenen Steuersystem zu einem geschlossenen, durch Feed-Back-Mechanismen gesteuerten Regelkreis. Adaptionsreize –äußere oder innere belastende Faktoren- die in dieser kritischen Periode einwirken, können zur Einstellung eines anderen Funktionsniveaus von bleibendem Charakter führen. Bei der Schließung der physiologischen Steuersysteme bestimmt die Höhe des aktuell gesteuerten Wertes die Höhe des Sollwertes im entstehenden Regelkreis. In dieser kurzen, für jeden Regelkreis individuellen Zeitspanne (sensible Phase) der pränatalen oder frühen postnatalen Entwicklung können Signale aus der Umwelt entscheidend den Aktivitätsbereich physiologischer Regelsysteme beeinflussen. Dieser Mechanismus kann möglicherweise mit einer durch den Adaptationsreiz entstandenen Veränderung der Expression der an der Regulation beteiligten Gene erklärt werden (TZSCHENTKE & BASTA, 2002; TZSCHENTKE, 2007). Diese besondere Form der Anpassung ist die epigenetische



Adaptation (Abb.6). Sie findet in einer sensiblen Phase statt, während welcher Hormone, Neurotransmitter und Zytokine als Effektoren Umweltinformationen an das Genom übertragen und somit als epigenetische Faktoren wirksam werden (TZSCHENTKE, 2007) und die Expression bestimmter Gene beeinflussen. Die Fähigkeit des Organismus zur Anpassung an sich verändernde Bedingungen schließt damit einerseits die Möglichkeit ein, dass es durch bestimmte Stressoren zu einer Fehladaptation kommt, die letztendlich Prädisposition für metabolische, kardiovaskuläre oder auch neurologische Erkrankungen sein kann. Andererseits besteht aber genauso die Möglichkeit, durch kontrollierten Einsatz spezifischer Adaptationsreize den Organismus besser auf die ihm postnatal begegnenden Umstände vorzubereiten (TZSCHENTKE, 2007). Somit ergibt sich die Hypothese, dass eine gezielte Einflussnahme durch den Einsatz spezifischer Adaptationsreize auch der Verminderung bestimmter Prädispositionen dienen kann.



**Abb. 6: Darstellung der Induktion von epigenetische Adaptation/Fehladaptation (nach TZSCHENTKE, 2007)**

Epigenetische Faktoren spielen auch eine bedeutende Rolle in der embryonalen Herz- und Gefäßentwicklung. So konnte in Versuchen von Reckova, et al (2003) gezeigt werden, dass die hämodynamischen Verhältnisse im Herzen wichtig sind für die Reifung des His-Purkinje-Systems (HPS) im Herzen. So zeigten Hühnerembryonen, die durch eine Ligation des linken Atriums eine reduzierte Ventrikelfüllung aufwiesen, gegenüber den Kontrollen ein unreifes

HPS, welches sich, durch reduzierte Reizleitung, in einer Hypoplasie des linken Herzens äußerte. Hämodynamische Verhältnisse und die damit verbundenen Scherkräfte an den Gefäßen stellen auch den bedeutendsten Reiz für die Vaskulogenese dar (Pkt. 2.6.1.). Epigenetische Veränderungen müssen auch bei der Entwicklung hypertropher Veränderungen des Herzens oder Herzversagen betrachtet werden. So wurde in Versuchen an Ratten gezeigt, dass veränderte Methylierung der Lysine 4 und 9 am H3 Histon in Kardiomyozyten eine wesentliche Rolle in der Entstehung eines Herzversagens spielt (KANEDA, et al., 2009).

Die veränderte Zusammensetzung der Inkubationsluft hat Auswirkungen auf die Entwicklung des Hühnerembryos. So konnte gezeigt werden, dass vor allem der Einfluss einer erhöhten Kohlenstoffdioxid-Konzentration innerhalb der ersten 10 Inkubationstage zu einem früheren Schlupf und einer veränderten Inzidenz des Aszites-Syndroms führen kann (DECUYPERE, et al., 2006; DE SMIT, et al., 2008; DE SMIT, et al., 2006). Auch diesen Beobachtungen könnten epigenetische Mechanismen zu Grunde liegen.

### **2.6. Entwicklung des Hühnerembryos**

Die embryologische Entwicklung ist ein dynamischer Prozess, der nicht nur durch die genetischen Grundlagen des Organismus, sondern auch durch die ihn umgebende Umwelt maßgeblich beeinflusst wird. Innerhalb von 21 Tagen entwickelt sich das Huhn im Ei. Dabei sind bis zum Entstehen eigener Regelsysteme die vom Muttertier in Eidotter und Albumin gespeicherten Mediatoren und Hormone von fundamentaler Wichtigkeit für die frühe embryonale Entwicklung und das Wachstum. So synthetisiert die embryonale Schilddrüse aktiv etwa ab D 8 Monoiodthyrosin und Diiodthyrosin, die Vorstufen der Schilddrüsenhormone  $T_3$  und  $T_4$  etwa ab D 9. Thyroxin ( $T_4$ ) und Schilddrüsen-stimulierende Hormone werden ab D 10 sezerniert (YAHAV, COLLIN, & SHINDER, 2004). Die Hypothalamus-Hypophysen-Schilddrüsen-Achse ist ab dem 10. bzw. 11. Inkubationstag funktionstüchtig (THOMMES, CLARK, MOK, & MALONE, 1984; THOMMES, 1987). Gerade die Hormone der Schilddrüse sind essentiell für den Energiestoffwechsel, das Wachstum der Zellen und des Gesamtorganismus. Ab ungefähr dem 8. Inkubationstag ist der Embryo in der Lage seinen Stoffwechsel selbst zu regulieren.

### 2.6.1. Entwicklung des Herzens und des Gefäßsystems

Das kardiovaskuläre System, welches das erste funktionierende Organ-System in den Embryonen von Wirbeltieren darstellt, spielt eine entscheidende Rolle in der Entwicklung der Vertebraten und deren Homöostase. Dieses System entsteht durch eine hoch organisierte Folge von Abläufen, die eine korrekte zeitliche Expression spezifische Gene erfordert. Sowohl genetische als auch epigenetische Mechanismen sind von großer Wichtigkeit, besonders in der frühen Phase der Entwicklung des kardiovaskulären Systems (RIBATTI, 2006).

Allgemein ähnelt das Kammersystem des Vogelherzens (Abb. 7) dem der Säugetiere (RUBERTE, et al. 2001). Wie auch beim Säuger befinden sich rechts die venöse und links die arterielle Hälfte, wobei jede Herzhälfte in Vorkammer (Atrium cordis) und Herzventrikel (Ventriculum cordis) unterteilt ist. Wenn man die beiden Vorkammern des Vogelherzens vergleicht, stellt man fest, dass das rechte Atrium etwas größer ist und eine dünnere Wandmuskulatur aufweist als das linke. Bei den Ventrikeln des Vogelherzens ergibt sich ein anderes Bild. Im Gegensatz zum rechten Ventrikel ist die linke Herzkammer drei- bis viermal größer und weist eine erheblich dickere Wandmuskulatur auf. Die linke Herzkammer bildet beim Vogel das apikale Herzdrittel allein, da sich der rechte Ventrikel nur bis zu zwei Dritteln über die Distanz zwischen Sulcus coronarius und Herzspitze erstreckt (SALOMON, 1993 b). Das Herz der Vögel ist, bezogen auf die Körpergröße, größer als das der Säugetiere (RUBERTE, et al. 2001). Vergleicht man die relativen Herzmassen der Vögel, so weisen sie, verglichen mit dem Säugetier, ein ungefähr doppelt so großes Herz auf. Für die einzelnen Vogelarten ergeben sich folgende Anteile der Herzmasse an der Körpermasse (SALOMON, 1993 b):

- Truthahn 0,5%
- Ente und Gans 0,8%
- Huhn 0,5-1,42%
- Taube 1,1-1,4%

VOLLMERSHAUS (1992) sieht bei den Vögeln einen engen Zusammenhang zwischen der großen relativen Herzmasse, ihren hohen Grund- und Leistungsumsätzen (Körpertemperaturen von 40-42°C, Flugvermögen) sowie den Herzfrequenzen.

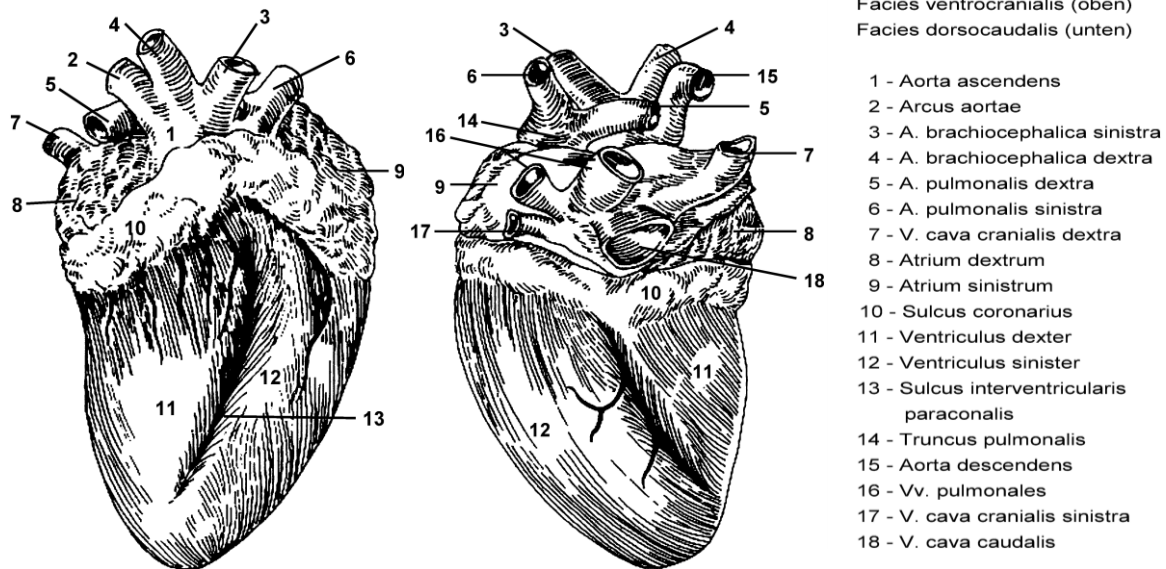
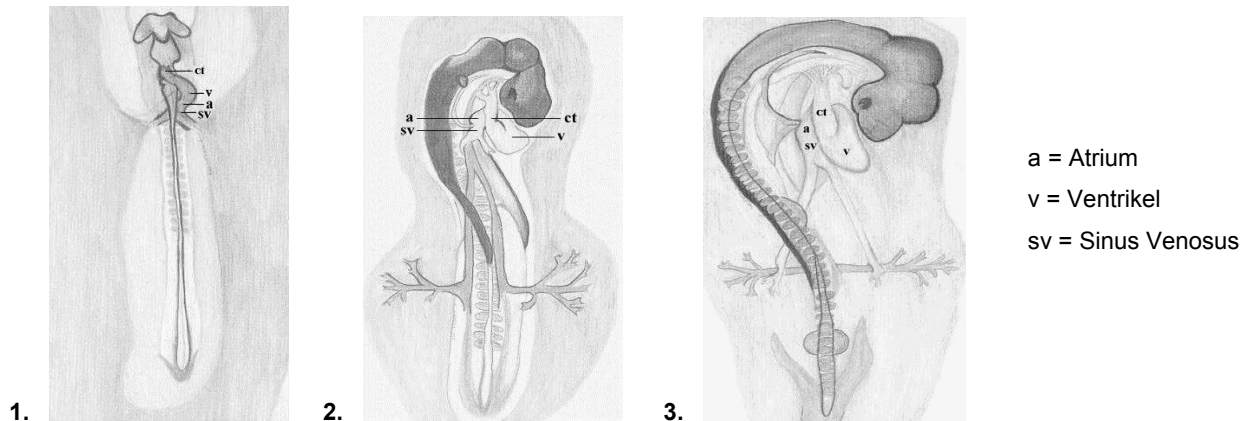


Abb. 7: Herz eines Huhnes (SALOMON, 1993 b)

Das Herz und das Gefäßsystem entwickeln sich aus dem Mesoderm. Das Herz ist in der Embryonalentwicklung des Vogels das erste Organ, welches seine Funktion aufnimmt (ROMANOFF, 1960). Nach der Normal-Tabelle nach Hamburger und Hamilton beginnt die Kardiomyogenese in Stufe 9 nach 29-33 Inkubationsstunden. Das Herz stellt sich initial als ein einfacher Herzschlauch (Abb. 8) dar, der aus zwei konzentrisch angeordneten Zellschichten besteht: dem Epimyokard außen und dem Endokard innen. Die Herzgallerte befindet sich zwischen diesen beiden Schichten (DE JONG, et al. 1997). Der primitive Herzschlauch formt sich dann durch Längenwachstum und Formveränderung zu einer S-Schleife. Während der Drehung der S-Schleife wird das atriale und ventrikuläre Arbeitsmyokard durch lokale Proliferationen und Differenzierungen an der äußeren Kurvatur des Herzschlauches geformt (CHRISTOFFELS, et al., 2000). Im fortgeschrittenen Stadium der Herzentwicklung werden die zunächst aus mesenchymalem Bindegewebe gebildeten Septen des Herzens weitgehend muskulär (DE JONG, et al. 1997, MOORMANN, et al., 2000b). Diese Differenzierung der myokardialen Zellen innerhalb des Mesenchyms stellt die zweite Phase der Bildung des Myokardaufbaus dar und muss unterschieden werden von der direkten Myokardbildung aus dem Mesoderm. Sie wird deshalb auch als „Verstärkung“ bezeichnet. Sie findet vor allem in den Septen und Herzklappen statt, konnte aber auch in den distalen Enden des Herzschlauches beobachtet werden (VAN DEN HOFF, et al. 2001) Die „Myokardialisierung“ stellt einen weiteren Schritt des Aufbaus der Herzstrukturen dar. Sie bezeichnet einen dynamischen Prozess, bei dem Kardiomyozyten in das Mesenchym der endokardialen Klappen einwandern und somit für den muskulären Aufbau der Struktur sorgen (VAN DEN HOFF, et al., 1999). Am 10. Inkubationstag hat sich aus dem

Herzschlauch ein ausgereiftes vierkammeriges Hohlorgan entwickelt, das in den folgenden 11 Entwicklungstagen nur noch an Masse gewinnt (ROMANOFF, 1960).



**Abb. 8:** 1. Herz eines Hühnerembryo nach 33 Inkubationsstunden, 2. nach 48 Inkubationsstunden, 3. nach 72 Inkubationsstunden (MUHLENBERG COLLEGE, 2009)

Die ersten Herzschläge können ab der 10. Stufe der Hamburger und Hamilton Normal-Tabelle (HH-NTab.), also nach 33-38 Inkubationsstunden im kardialen Mesoderm registriert werden. Die Aktionspotentiale treten zunächst in der linken kaudalen Region des Ventrikels auf, noch bevor Arterien oder der Sinus venosus geformt werden (HIROTA, et al. 1987). Nach 36 Inkubationsstunden sind die Kontraktionen der Kardiomyozyten sichtbar. Nach bereits 48 Inkubationsstunden wird der gesamte Blutkreislauf des Embryos durch regelmäßige rhythmische Kontraktionen des Herzschlauches bewerkstelligt (TOKUYASU & MAHER, 1987). Aus dem viszeralen Blatt des Seitenplattenmesoderms (Lamina epithelialis epicardii) und dem extrakardialen Ursprungsgewebe, auch Proepikard genannt (Lamina propria epicardii), entwickelt sich die äußere Schicht der Herzwand, das Epikard. Eine durch direkte Adhäsion vermittelte Ansiedlung proepikardialer Zellen auf die epimyokardiale Oberfläche des Herzens bildet das primitive Epikard, wobei die Atrioventrikularfurche den vornehmlichen Ansiedlungsbereich darstellt.

Zwischen dem Epikard und dem Myokard entwickelt sich ein als subepikardiales Mesenchym bezeichnetes Gewebe. Seine Entwicklung nimmt ebenso in der Atrioventrikularfurche seinen Ursprung und umgibt später, genau wie das Epikard, das gesamte Herz, wobei es über den Atrien weniger ausgeprägt ist oder zum Teil vollständig fehlt (MUNOZ-CHAPULI, et al. 2002). Das subepikardiale Mesenchym enthält mesenchymale fibroblastoide Zellen und epicardial derived cells (EPDC) (PEREZ-POMARES, et al. 1997). Durch epikardiale mesenchymale Transformation werden EPDC gebildet. Epitheliale Zellen des Epikards erhalten durch diesen Prozess die Eigenschaften mesenchymaler Zellen, die in der Lage sind, sich von Nachbarzellen abzulösen und ihr Zytoskelett stark zu verändern. Somit können diese Zellen die Basalmembran des Epithels durchdringen und sich subepithelial im

Mesenchym zu Zellen des kardialen Bindegewebes oder der nutritiven Gefäße des Herzens differenzieren (WESSELS & PEREZ-POMARES, 2004).

Das für die Versorgung des Embryos notwendige Gefäßsystem entsteht aus zwei voneinander unabhängigen Teilen des Kreislaufapparates, dem extra- und intraembryonalen Gefäßsystem (PLENDL, et al. 2002), die sich erst zu einem späteren Zeitpunkt der Embryonalentwicklung zu einem einheitlichen Blutgefäßsystem vereinigen. Die Blutgefäße entwickeln sich, wie auch schon der Herzschauch, aus dem angiogenetischen Material des Mesoderms. Extraembryonale Blutgefäße entstehen in den extraembryonalen Hüllen bereits im Keimscheibenstadium vor den intraembryonalen Gefäßen und werden durch Angiogenese (Sprossungsprozess) gebildet. Bei diesem Prozess entstehen Blutgefäße und Blutzellen aus den sogenannten Blutinseln, die in der proximalen Region des Dottersackes (Area vasculosa) schon nach 26-29 Inkubationsstunden sichtbar werden. Bei den Blutinseln handelt es sich um eine Ansammlung von Mesenchymzellen, deren periphere Zellen sich zu Angioblasten, die später das Endothelgewebe bilden, und die restlichen Zellen zu Hämozytoblasten differenzieren. Die in den Blutinseln auftretenden Spalträume vereinigen sich zu dem Gefäßlumen. Durch die Vereinigung benachbarter Angiothelrohre und Ausprossung wird das Gefäßnetz vergrößert.

Im Gegensatz dazu entstehen die meisten intraembryonalen Blutgefäße durch Vaskulogenese. Bei diesem Prozess entwickeln sich die Blutgefäße aus endothelialen Vorläuferzellen des Mesenchyms, die sich dann zu Vesikeln vereinigen. Diese Vesikel lagern sich aneinander an und bilden die ersten Gefäße. Dieser Prozess der Vaskulogenese ist, bis auf eine kleine Region der Aorta, nicht mit der Entwicklung hämatopoetischer Zellen assoziiert. Durch Gefäßsprossung nehmen die entstandenen Blutgefäße Kontakt zu der Herzanlage auf. Die entsprechenden hämodynamischen Bedingungen führen schließlich zu einer vaskulären Myogenese, durch welche sich der Arteriogenese die Ausbildung einer muskulös-elastischen Tunica media anschließt. Sie ermöglicht die viskoelastischen und vasomotorischen Eigenschaften des arteriellen Hochdrucksystems (PLENDL, et al. 2002). Bei der Arteriogenese tragen wandständige Zellen zu einer Muskularisierung der Gefäße bei, die entweder durch Sprossung oder longitudinale Migration von stabilisierenden Perizyten entlang der endothelialen Gefäße realisiert wird. Scherkräfte, die durch den Blutfluss im vaskulären System entstehen, werden als die treibende Kraft für die Arteriogenese betrachtet (RIBATTI, 2006).

### 2.6.2.1. Strukturelle Entwicklung des embryonalen Arbeitsmyokards

Als die wachsenden und aktiver werdenden Organismen ihren Bedarf nicht mehr ausschließlich über die Diffusion decken konnten, wurde im Zuge der Evolution die Entwicklung des Herzens notwendig. Die Entwicklung der Architektur des Myokards durchläuft während der embryonalen Entwicklung bis zum adulten Herzen mehrere wichtige Stufen (SEDMERA, 2000). Während der frühen embryonalen Herzentwicklung sind die Herzmuskelzellen zwar schon funktionsfähig (KAMINO, 1991), jedoch gibt es entlang des primitiven Herzschauches nur minimale Variation in der Strukturierung. Der Herzschauch besteht aus einer myokardialen Hülle, die ein bis zwei Zellen stark ist, einer azellulären Herzgallerte und dem Endokard. Eine erste Veränderung ist wahrnehmbar durch die peripher umlaufende Anordnung von Aktin und Fibronektin (SHIRAISHI, et al. 1995). Erst nach dem Formen der Herzschleife kann man unterschiedliche Entwicklungen im luminalen Erscheinungsbild wahrnehmen. Eine trabekuläre Strukturierung kann zuerst in den inneren myokardialen Schichten in der Nähe der großen Kurvatur der Herzschleife erkannt werden (CHALLICE & VIRAGH, 1973; ICARDO & FERNANDEZ-TERAN, 1987). Beim Hühnerembryo findet das während der Entwicklungsstufe 16/17 HH-NTab. statt. Die ersten primitiven trabekulären Erhöhungen verlaufen dorsoventral (den Herzschauch umlaufend). Diese frühe Ausbildung trabekulärer Strukturen im Herzen dient der Vergrößerung der Oberfläche, die es dem Myokard ermöglicht auch ohne einen Koronarkreislauf genügend Nährstoffe und Sauerstoff für das Wachstum aufzunehmen, um wachsen zu können. Mit dem Beginn der Septierung können unterschiedliche trabekuläre Strukturen im rechten und linken Ventrikel wahrgenommen werden. Im aviären linken Ventrikel sind die ventrikulären Strukturen dicker und verbleiben in der ursprünglichen dorsoventralen Orientierung (RYCHTER & RYCHEROVA, 1981; STEDING & RAHLF, 1982; BEN-SACHAR, et al. 1985; SEDMERA & CLARK, 1997). Im rechten Ventrikel sind die Trabekel filigraner und mit kürzeren Ausläufern. Sie sind in einer fächerähnlichen Form ausstrahlend angeordnet.

Wenn die Bildung der Septen im Herzen abgeschlossen ist, kommt es durch eine Zunahme der Ventrikel-Masse zu einem „Remodeling“ der trabekulären Strukturen, die eine apiko-basale Orientierung einnehmen. Mit dem stetig wachsenden Ventrikelvolumen und dem Lumen des Ventrikels werden einige Trabekel in die Ventrikelwand gedrückt und sorgen dadurch für eine Dickenzunahme des kompakten Myokards (SEDMERA & CLARK, 1997). Die anderen trabekulären Strukturen verbleiben im Lumen und werden tierartsspezifisch und spezifisch für den rechten oder linken Ventrikel umstrukturiert (SEDMERA D. , 2000)

### 2.6.2.2. Mikroskopische Beschreibung des Herzmuskelgewebes

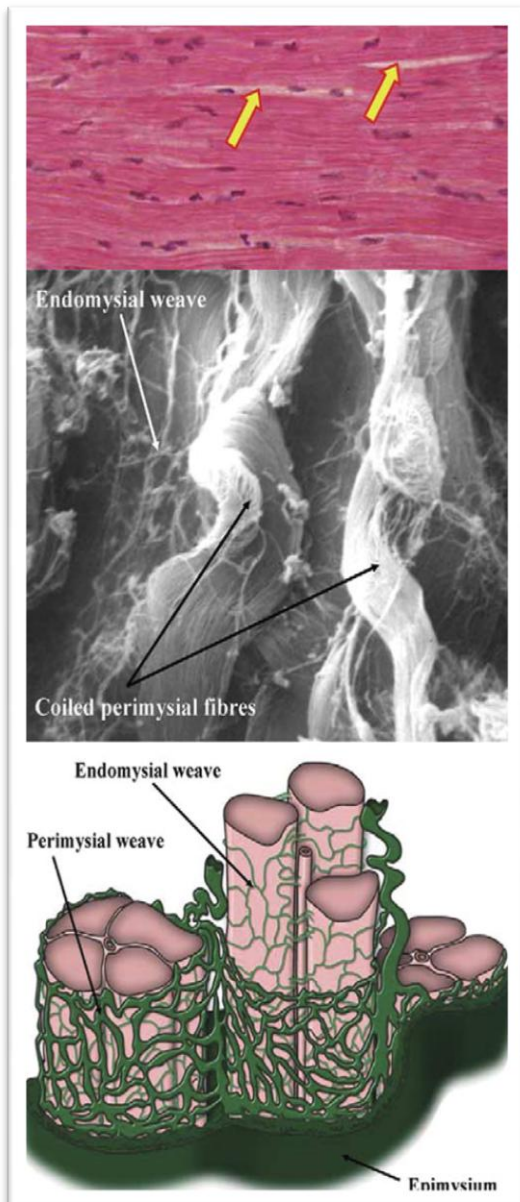


Abb. 9: Herzmuskelgewebe

(oben): Ausschnitt aus der Ventrikelwand (Pfeile kennzeichnen das Bindegewebe zwischen den Zellen),

(mittig): elektronenmikroskopische Aufnahme des endomysialen Netzwerks, das jede Herzmuskelzelle umhüllt und die verdrehten perimysialen Fasern, die die Muskelzellen zu Muskelfasern bündeln

(unten): schematische Abbildung über die Organisation der Herzmuskelzellen. (ANDERSON, et al. 2005)

Der Herzmuskel ähnelt in seiner Struktur der quergestreiften Skelettmuskulatur. Die Herzmuskulatur darf genaugenommen jedoch nicht als modifizierte quergestreifte Muskulatur bezeichnet werden, da es sich ontogenetisch um glatte modifizierte Eingeweidemuskulatur handelt (LANGE, 2005). Die besondere funktionelle Leistungsfähigkeit dieses zentralen Kreislauforgans bedingt einen speziellen Wandaufbau und die Möglichkeit zur spontanen autonom-nervalen Erregungsbildung und unabhängigen intrakardialen Reizleitung (LIEBICH, 1999). Der Aufbau des Arbeitsmyokards ist dreischichtig (SMOLLICH & MICHEL, 1992).

Es wird zwischen einer äußeren und inneren längs verlaufenden sowie zwischen einer mittleren zirkulär verlaufenden Lage unterschieden, wobei die Muskelfasern eine raumspiralige oder schraubenartige Orientierung einnehmen. Die Anordnung der verschiedenen Muskelfaserschichten mit verschiedener Ausrichtung der Fasern ermöglicht eine gleichmäßige Kontraktion des Herzens und somit einen gerichteten Blutfluss (SMOLLICH & MICHEL, 1992). Neben der Arbeitsmuskulatur enthält das Herzmuskelgewebe also noch modifizierte Herzmuskelzellen, die dem Reizbildungs- und Erregungsleitungssystem zugeordnet sind. Die Herzmuskelzellen bilden über eine Vielzahl spezialisierter Kontakte ihrer Zellmembranen sowohl einen strukturellen als auch einen funktionellen Zusammenhang. An den Kontaktstellen zu Nachbarzellen sind besondere Haftkomplexe entwickelt, die als dichte querverlaufende Bänder



auch lichtmikroskopisch nachweisbar sind. Sie werden als *Disci intercalares* (Glanzstreifen) bezeichnet. In ihnen verzahnen sich die Zellgrenzen fingerförmig durch die beidseitige Ausbildung von adhärennten Zellverbindungen, an denen Aktinfilamente fest mit dem Plasmalemm verbunden sind. Das ermöglicht die funktionelle Übertragung der Kontraktion von einer zur nächsten Zelle. Durch eine weitere Sonderbildung der Zellmembran innerhalb der *Disci intercalares* in Form von „gap junctions“ (eine Porenstruktur) ist der Übertritt von Ionen zwischen den Zellen und damit die Erregungsleitung gewährleistet (LIEBICH, 1999). Die Zellen bilden ein funktionelles Synzytium, dessen Erregung nach dem „Alles-oder-Nichts-Prinzip“ abläuft. Ein Aktionspotential führt also unter physiologischen Bedingungen immer zu der Erregung des gesamten Myokards von Vorhöfen und Kammern. Die Herzzelle (*Myocytus cardiacus*) ist die kleinste funktionelle Einheit des Myokards. Sie ist ca. 100-150 µm lang, beim Vogel nur ca. 2-7 µm im Durchmesser und wird von einem oder mehreren *Disci intercalares* begrenzt. Die Herzmuskelzellen schließen nur einen zentral liegenden Zellkern ein und sind, entsprechend der Stoffwechselleistung, reich an metabolisch aktiven Organellen. Neben den in hoher Anzahl vorhandenen und funktionsbedingt vergrößerten Mitochondrien und stark vermehrten Glykogengranula als Energiereserven, ist in den aviären Herzmuskelzellen ein gut ausgeprägtes sarkoplasmatisches Retikulum vorhanden. Ein T-Tubulus-System (transversale Einstülpungen der Zellmembran zur beschleunigten Impulsübertragung) fehlt den aviären Herzmuskelzellen im Gegensatz zu den Herzmuskelzellen der Säugetiere (WEST, et al. 1981).

Jede Herzmuskelzelle ist von einem feinen Netz von Bindegewebsfasern umhüllt (Abb. 9), dem Endomysium. Mehrere so umhüllte Herzmuskelfasern werden dann zusammen von dem Perimysium umgeben, in welchen auch Blutgefäße und Nerven verlaufen. Die Myriade perimysialer Anteile wiederum ist im Epimysium verankert, welches die gesamte Ventrikelmasse umgibt (ANDERSON, et al. 2005).

### 2.6.2. Entwicklung des Herzstoffwechsels

Der Herzmuskel leistet bereits nach 48 Inkubationsstunden kontinuierlich mechanische Arbeit. Diese Pumpleistung ist von einem adäquaten Energieumsatz abhängig. Allein 80-90% des ATP-Umsatzes sind auf die Myokardkontraktion zurückzuführen. Lediglich 1% dient der Aufrechterhaltung der transmembranären Ionentransporte, der Strukturhaltung durch Syntheseleistungen und der Wärmebildung. Die Herzleistung trägt zu etwa 10% zum Gesamtsauerstoffverbrauch des Organismus bei. Laut Tazawa et al. (1971 b) entwickelt sich das Herz in einer zunehmend hypoxischen Umgebung und verfügt sowohl über aerobe als auch über anaerobe Möglichkeiten zur Energiegewinnung (ROMANO, et al. 2001). Im

Gegensatz zum adulten Herzen werden Fettsäuren zu Energiegewinnung aufgrund enzymatischer Unreife nur in geringem Maße herangezogen (ABDEL-ALEEM, et al. 1999). Die Glykolyse ist stark an der ATP-Produktion beteiligt (LOPASCHUK, et al. 1991; PLUNKETT, et al., 1996). Dieser Metabolismus ist im fetalen Herz von Vorteil, da weniger Sauerstoff benötigt wird als bei der Verstoffwechslung von Fettsäuren. Die Glykogenkonzentration des embryonalen Herzens ist 10-20fach größer als im ausgewachsenen Herzen (LOPASCHUK, et al. 1991). Somit kann vorübergehend auf eine Dezimierung externer Substrate bei Normoxie reagiert werden und für eine Energiegewinnung unter anaeroben Bedingungen herrscht eine optimale Ausgangssituation. Die anaerobe Energiegewinnung kann unter Sauerstoffmangel für einen begrenzten Zeitraum aufrecht erhalten werden, ohne die ATP-Konzentration im Herzen zu beeinflussen (ROMANO, et al. 2001).

Trotz dieser guten Grundvoraussetzungen des Herzens auf einen vorübergehenden Sauerstoffmangel zu reagieren zeigen Vogelembryonen kardiovaskuläre Reaktionen auf Sauerstoffmangel schon nach Sekunden bis Minuten (JENSEN & BERGER, 1999). Bereits während der Embryonalentwicklung unter physiologischen Bedingungen wird generell am Limit des Toleranzbereichs gearbeitet (ROMANO, et al. 2001).

Hu und Clark (1989) bezeichnen die Sauerstoffversorgung des embryonalen Herzens sogar als kritisch, da in der frühen Entwicklungsphase die Leistungsfähigkeit zunimmt und gleichzeitig der Sauerstoffverbrauch wächst (RADDATZ & KUCERA, 1992).

### 2.6.2.1. Aerober und anaerober Energiestoffwechsel im Herzen

Die Energie für die Muskelkontraktion stammt aus der Hydrolyse von ATP (Adenosintriphosphat), einer sehr energiereichen chemischen Bindung zwischen einem Adeninrest und drei Phosphaten. In den Muskelfasern von arbeitenden Muskeln muss das ATP neu gebildet werden, da die Vorräte äußerst gering sind. Die Regeneration des ATP-Spiegels im Sarkoplasma erfolgt in roten Muskelfasern aerob auf dem Weg der oxidativen Phosphorylierung von Fettsäuren und Glukose. Obwohl die Glykolyse nicht der einzige energieliefernde, katabole Stoffwechselweg ist, stellt sie einen wichtigen Weg zur Energiegewinnung im Muskel dar. Besonders in der embryonalen Herzmuskulatur wird aufgrund enzymatischer Unreife die Glykolyse zur ATP-Gewinnung herangezogen. Durch die Glykolyse wird Glukose in zwei Moleküle Pyruvat überführt. Die dabei freigesetzte freie Enthalpie wird zur Synthese von ATP aus ADP (Adenosindiphosphat) und Phosphat eingesetzt. Die Kohlenstoffatome der zwei Pyruvatmoleküle, die durch die partielle Oxidation aus einem Molekül Glucose entstehen, werden unter aeroben Bedingungen im Citratcyclus

vollständig zu CO<sub>2</sub> oxidiert. Die bei diesem Vorgang freigesetzte Energie ermöglicht die weitere Synthese von ATP. Glukose wird in Form von Glykogengranula in den Herzzellen gespeichert. Sobald das Herz zu Schlagen beginnt, sind der Glukose-Stoffwechsel und die Glykogen-Speicherung im Herzen aktiviert. Im Hühnerembryo ist das Herz das Gewebe mit der stärksten Glykogen-Speichereigenschaft (ALLEN, 1919). Das embryonale Myokardium hat eine 10-20fach höhere Konzentration an Glykogen als das adulte Herzgewebe (ROMANO, et al. 2001). Glykogen ist ein Polymer aus Glukose-Einheiten. Es liegt intrazellulär als globuläres Molekül mit 10-40 nm Durchmesser vor. Diese Granula können bis zu 120.000 Glukose-Einheiten enthalten. Glykogengranula enthalten ebenfalls die Enzyme, welche die Glykogen-Synthese und den Glykogen-Abbau katalysieren, sowie viele Proteine, die diese Prozesse regulieren (VOET, et al. 2002). Im histologischen Präparat können Glykogengranula durch die Periodsäure-Leukofuchsin-Färbung (PAS) sichtbar gemacht werden. Der Glykogenanteil in der Herzzelle kann durch äußere Faktoren beeinflusst werden. In Versuchen von Titu et al. (2009) zeigten unter Hypoxie inkubierte Hühnerembryonen einen erhöhten Glykogengehalt in den Kardiomyozyten.

Im anaeroben Stoffwechsel wird das aus der Glukose entstandene Pyruvat nur in geringem Maße abgebaut. Im Muskel katalysiert vor allem Laktatdehydrogenase (LDH) die Reduktion von Pyruvat zu Laktat, wenn bei hoher Aktivität ein großer ATP-Bedarf besteht und die Sauerstoffversorgung knapp ist. Laktat entspricht einer Art Endprodukt des anaeroben Stoffwechsels der Glucose. Das Laktat kann entweder aus der Zelle heraus transportiert oder wieder zu Pyruvat umgewandelt werden. Ein Großteil des Laktats wird aus der Muskelzelle heraus und über das Blut zur Leber transportiert, wo es wieder zu Glucose umgesetzt wird.

### 2.6.2.2. Intrazelluläre pH-Regulation

Die pH-Regulation ist ein fundamentaler Prozess, den alle eukaryotischen Zellen gemeinsam haben. In den Kardiomyozyten wird metabolisch Säure, typischer Weise in Form von CO<sub>2</sub> oder Laktat generiert. Der pH-Wert, der sich physiologisch um 7,1 bewegt, wird durch diese Säureproduktion abgesenkt. Ohne kompensatorische Mechanismen würde der pH-Wert-Abfall die normale Zellfunktion stören. Das liegt in der Tatsache begründet, dass die meisten zellulären Proteine sehr anfällig gegenüber Schwankungen des pH-Wertes sind. Eine Absenkung des pH-Wertes in den ventrikulären Herzzellen würde die Myofilament-Interaktionen hemmen und folglich die Kontraktionskraft der Herzmuskelzellen vermindern (VAUGHAN-JONES & SPITZER, 2006). In einem gewissen Bereich können

Säureäquivalente durch das Bikarbonat-Kohlensäure-System der Zelle gepuffert werden. In diesem Puffersystem kommt es durch die Enzymfamilie der Carboanhydrasen zur Katalysation der Hydratation von  $\text{CO}_2$  zu  $\text{HCO}_3^-$  und  $\text{H}^+$ . Darüber hinaus dient ein  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  Antiporter, dessen Umsatzrate bei Ansäuerung allosterisch stimuliert und bei Alkalisierung inhibiert wird, für einen entsprechend hohen Export von Protonen und damit der pH-Homöostase. Als treibende Kraft für den  $\text{Na}^+$ -gekoppelten Protonenexport dient der zelleinwärts gerichtete  $\text{Na}^+$ -Gradient, der wiederum durch die Aktivität der  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -Pumpe unter ATP-Verbrauch aufrecht erhalten wird (sekundär aktiver Transport).

### 2.6.3. Gasaustausch und –transport im Hühnerembryo

Alle Vögel legen hartschalige Eier, deren Schale durch die in ihr enthaltenen Poren permeabel für Gase ist. Aviäre Eier weisen außerdem ein energiereiches Dotter, ein wasserreiches Albumin und eine kalzifizierte Schale zum Schutz des Embryos auf. Der Transfer nutritiver Substanzen von der Henne zum Embryo ist abgeschlossen, bevor das Ei gelegt wird. Lediglich durch den Austausch von Wasser, Sauerstoff und Kohlendioxid steht der Embryo mit seiner Umwelt in Verbindung. Vogelembryonen haben fast ausschließlich einen aeroben Metabolismus. Der notwendige Sauerstoff diffundiert durch Poren in der kalzifizierten Schale in das Innere des Eies und wird von dort mit Hilfe des Blutes in metabolisch aktives Gewebe transportiert. Im Vogelei gibt es drei zum Gasaustausch befähigte Oberflächen: die Area vasculosa (vaskularisiertes Mesoderm des Dottersackes), die Chorioallantois-Membran (CAM) und die Lungen (TAZAWA, et al. 1983). Die Entwicklung dieser gasaustauschenden Oberflächen im Hühnerembryo und damit die Entwicklung der Atmung lässt sich grundsätzlich in vier Phasen unterteilen, die durch Beteiligung unterschiedlicher Kreislaufelemente charakterisiert sind:

1. Primärer Kreislauf
2. Sekundärer Kreislauf
3. Chorioallantois-Membran
4. Internal pipping („innerer“ Schlupf)

### 2.6.3.1. Primärer Blutkreislauf

Nach ca. 36 bis 48 Stunden Bebrütung beginnt, in Verbindung mit der Herzaktion, die Zirkulation des Blutes und damit der primäre Blutkreislauf (Abb. 10 und 11) des Hühnerembryos. Er setzt sich aus den Gefäßen im Embryo selbst und den Dottersackgefäßen zusammen (ROMANOFF, 1960), welche die gefäßreiche Area vasculosa bilden. Sie wird durch den Sinus terminalis von der nicht vaskularisierten Area vittelina in der Peripherie des Dottersackes abgegrenzt (BELLAIRS und OSMOND, 1998).

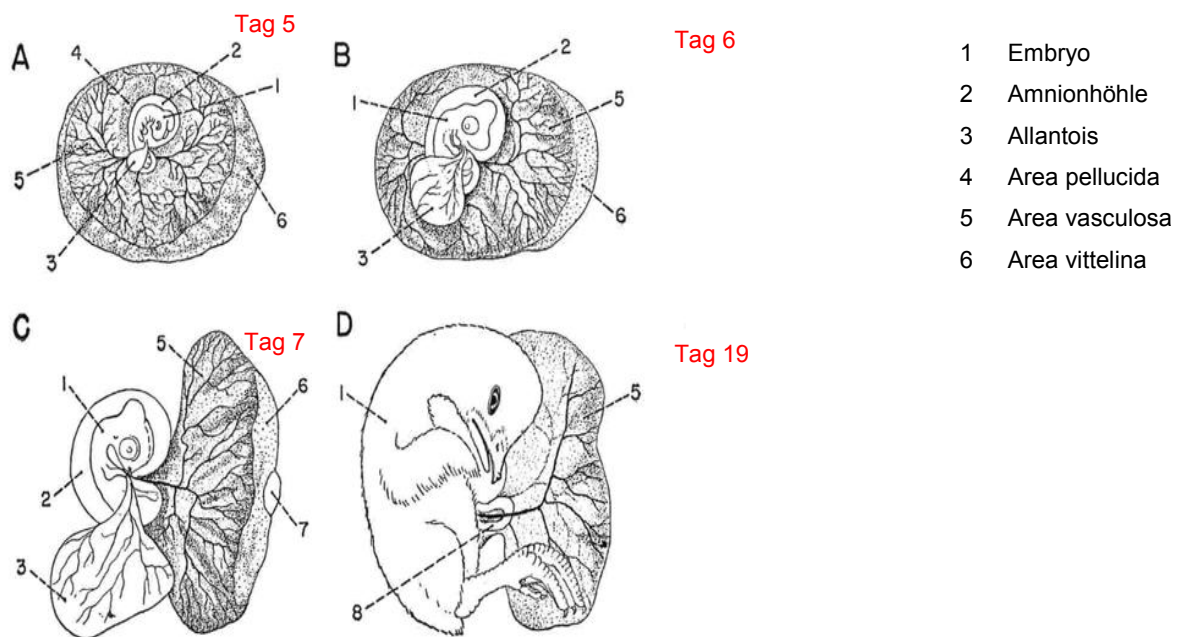
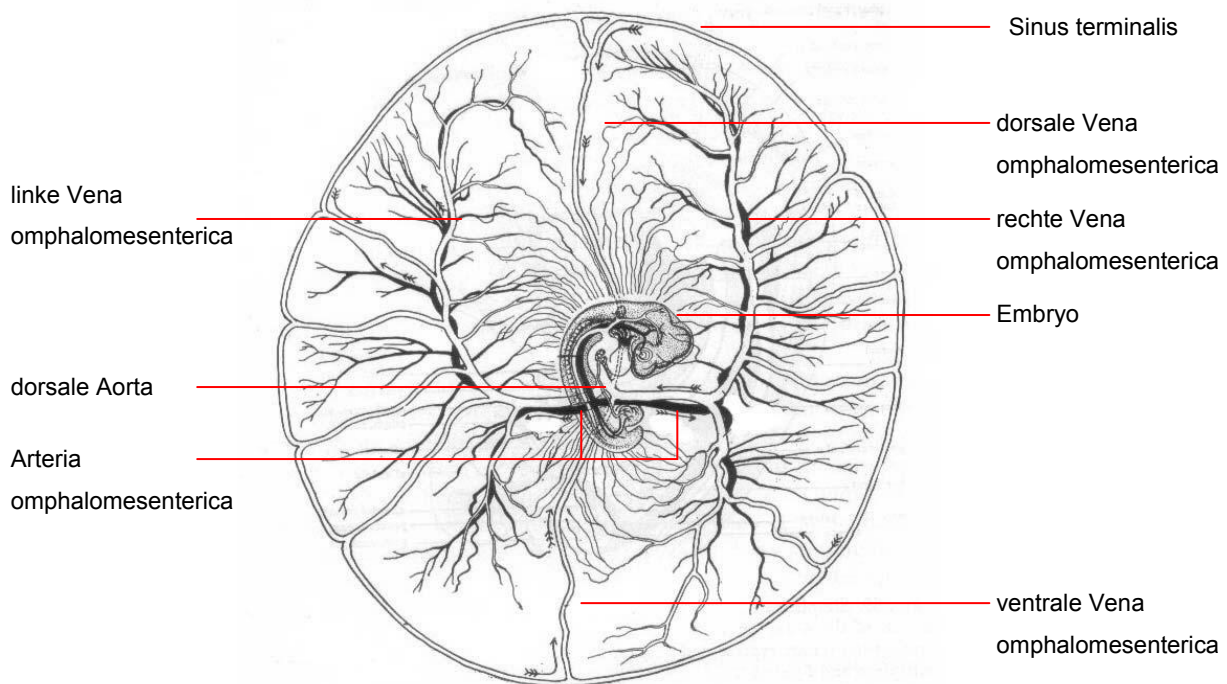


Abb. 10: Dottersack und Dottersack-Kreislauf zu verschiedenen Stadien vom 5. bis zum 19. Inkubationstag. (nachgezeichnet und modifiziert nach DUVAL, 1889)

Die Erythrozyten im Gefäßsystem des primären Kreislaufs (Abb.10 und 11) nehmen den Sauerstoff auf, der durch die Poren der Eischale in das Ei diffundiert. Die ausgetauschte Gasmenge ist noch sehr gering. Die Sauerstoffsättigung des arteriellen bzw. venösen Blutes liegt bei 18% bzw. 45%. Durch die Kontraktionen des Herzschlauches gelangt das Blut über die dorsale Aorta in die rechte und linke Arteria omphalomesenterica resp. Arteria vitellina (Dottersackarterie) und deren Verzweigungen, die gemeinsam das Gefäßnetz der Area vasculosa bilden, in den Sinus terminalis. Der Sinus terminalis führt das Blut über die Venen der Area vasculosa und schließlich die rechte und linke Vena omphalomesenterica resp. Vena vittelina zurück zum Herzen. Die zunächst paarig angelegten Venae omphalomesentericae anastomosieren später.



**Abb. 11: Schematische Darstellung des primären Dottersackkreislaufes des Hühnerembryos am ca. 4. Bebrütungstag (die Blutflussrichtung ist durch Pfeile gekennzeichnet) modifiziert nach Lillie (LILLIE, 1951)**

### 2.6.3.2. Sekundärer Kreislauf

Im Zuge hämodynamischer Veränderungen durchlaufen die Gefäße des primären Stoffwechsels Transformationen, die dazu führen, dass sich am Ende des fünften Bebrütungstages ein Kapillarbett aus einem dichten Netzwerk von Blutgefäßen gebildet hat. Die Entwicklung der Kapillaren in der Dottersackwand erfolgt initial durch die Ausschüttung von Wachstums- und Differenzierungsfaktoren von Entodermzellen (KUTRYK & STEWART, 2003). Durch das stetige Wachsen des Embryos kommt es zu einer Verlängerung der Transportstrecke für Sauerstoff und Nährstoffe. Diese wachsenden Anforderungen werden durch die Erhöhung des Blutvolumens kompensiert. Der Anstieg des Blutvolumens bedingt seinerseits einen erhöhten Blutdruck im Gefäßsystem und induziert somit die Verstärkung der Kapillarwand durch die Bildung von muskulösen und fibroelastischen Schichten (Tunica media und Tunica externa sive adventitia). Die Dottersackgefäße liegen zu diesem Zeitpunkt der Entwicklung in zwei Ebenen vor, wobei die Arteriae omphalomesentericae tief in den Dottersack eingebettet sind und sich die verbliebene Vena omphalomesenterica auf der Oberfläche befindet. Der Sinus terminalis bildet sich zurück. Der Blutfluss der Arterien verhält sich zum Embryo in zentrifugaler Richtung und der der Venen entgegengesetzt in zentripetaler Richtung. In diesem Entwicklungsabschnitt liegt die Sauerstoffsättigung des

venösen Blutes bei 60% und damit deutlich über dem zu 40% gesättigten arteriellen Blut (CIROTTA & ARANGI, 1989).

### 2.6.3.3. Chorioallantoismembran (CAM)

Ab dem sechsten Bebrütungstag übernimmt die CAM die Atemfunktion. Sie entwickelt sich durch die Verschmelzung von Chorion und Allantois und enthält ein verzweigtes Netzwerk aus Kapillaren, die das Blut aus den Umbilicalarterien aufnehmen und über die Umbilicalvenen zum Körper des Embryos zurückführen (BELLAIRS & OSMOND, 1998). Die Verschmelzung von Chorion und Allantois geht mit der Ausbildung einer Vielzahl von Sinusoiden einher, welche die Gefäßoberfläche erheblich vergrößern, die Sauerstoffversorgung verbessern (FREEMAN & VINCE, 1974) und den wachsenden Ansprüchen anpassen. Als gasaustauschendes Organ löst die CAM damit den sekundären Kreislauf ab. Nach zwölf Bebrütungstagen bedeckt die CAM die innere Eischalenmembran vollständig (BURTON & TULLET, 1985) und eine weitere Ausdehnung ist nicht mehr möglich. Sie hat damit die maximale Leistungsfähigkeit zu diesem Zeitpunkt erreicht. Der Sauerstoffbedarf des Embryos verhält sich proportional zum Energieumsatz und steigt damit stetig. Die Sauerstoffdiffusionskapazität hat jedoch ab dem 12. Inkubationstag seine maximale Kapazität erreicht. Es entsteht daher ab dem 13. Bebrütungstag eine physiologische Sauerstoffmangelsituation (FREEMAN & VINCE, 1974), welche von diesem Zeitpunkt an mehr und mehr zunimmt. Dieses Ungleichgewicht aus Sauerstoffangebot und Sauerstoffbedarf ist das auslösende Moment für kompensatorische Reaktionen des Embryos zur Verbesserung der Sauerstoffversorgung.

Es kommt zu einer Erhöhung der Erythrozytenzahl, wodurch sich folglich auch der Gesamthämoglobingehalt und Hämatokrit erhöhen (TAZAWA, et al. 1971 b). In den Erythrozyten selbst kommt es zu einer gesteigerten 2,3-Diphosphoglyzerat-Synthese (2,3-DPG), welche eine Senkung der Adenosintriphosphat-Konzentration (ATP) zur Folge hat (ISAACKS, et al. 1976; DRAGON, et al. 1996). Zwar wirken sowohl ATP als auch 2,3-DPG als allosterische Effektoren negativ auf die Sauerstoffbindungsaffinität der Erythrozyten, jedoch trägt ATP zu diesem Effekt deutlich stärker bei. Folglich kann die Bindungsaffinität der Erythrozyten dem Sauerstoff gegenüber relativ gesteigert werden, wenn sich die 2,3-DPG-Konzentration gegenüber der Menge an ATP erhöht. Auch die Blutzirkulation durch die CAM wird gesteigert. Eine erhöhte Kapillardichte in den Geweben und Organen des Embryos trägt zusätzlich zur Verkürzung der Diffusionsstrecke für Gase (Sauerstoff und Kohlendioxid) bei (SNYDER, et al. 1984).

#### **2.6.3.4. Internal Pipping**

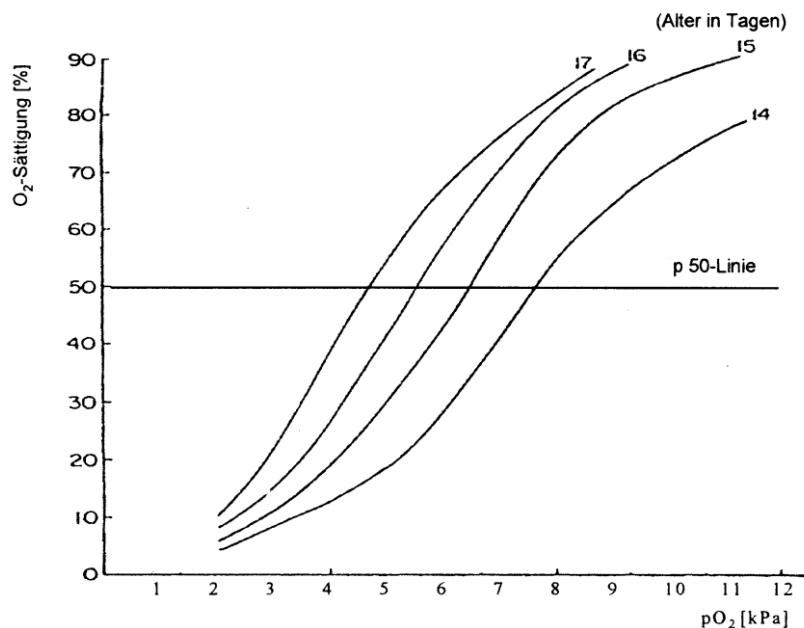
Neben den oben beschriebenen kompensatorischen Maßnahmen wird außerdem die Entwicklung der Lunge forciert. Die Vogellunge, die sich in ihrem Aufbau deutlich von der Lunge der Säugetiere unterscheidet, beginnt sich ab dem dritten Inkubationstag zu entwickeln. Trotz der unterschiedlichen Bauweise wird auch in der Vogellunge eine oberflächenaktive Substanz sezerniert, die dem Surfactant der Säugetiere sehr ähnlich ist (LAMBSON & COHN, 1968; PETRIK & RIEDEL, 1968 a; PETRIK & RIEDEL, 1968 b; HYLKA & DONEEN, 1982). Bei Hühnerembryonen erfolgt die durch Glukocortikoide stimulierte Produktion des Surfactants ab dem 14. Inkubationstag und steigert sich rapide bis zum 18. Tag, anderthalb Tage vor dem Einsetzen der Lungenatmung (HYLKA & DONEEN, 1982). Bereits vor dem internal pipping (IP), welches am 19. Bebrütungstag mit dem Durchstoßen der inneren Eimembran beginnt, sind Atembewegungen des Embryos zu beobachten (ROMIJN, 1948). Allerdings dienen diese noch nicht dem eigentlichen Gasaustausch, sondern helfen die Amnion-Eiweiß-Flüssigkeit aus den Luftwegen auszutreiben. Diese Flüssigkeit wird anschließend aktiv vom Embryo abgeschluckt. Erst mit dem Durchstoßen der Membran zur Luftkammer, dem IP (auch innerer Schlupf genannt), Stunden nach den ersten Atembewegungen kann bei den meisten Embryonen eine funktionierende Lungenatmung wahrgenommen werden (VINCE & TOLHURST, 1975). Damit erfolgt der Übergang von ausschließlich diffusivem zum beginnenden konvektiven Gasaustausch (ROMANOFF, 1960; TULLETT & BURTON, 1985). Dennoch kann unter hypoxischen Umständen der Blutdurchfluss der CAM auch bei schon „intern-geschlüpfen“ Tieren erhöht werden. Dadurch kann zwischen dem konvektiven und dem diffusiven Gasaustausch reguliert werden (SBONG & DZIALOWSKI, 2007).

#### **2.6.3.5. Entwicklung und Affinität des Hämoglobins im Hühnerembryo**

Hämoglobin ist das intrazelluläre Protein, das roten Blutzellen ihre Farbe verleiht. Es handelt sich um ein hochentwickeltes Transportsystem, das unter unterschiedlichsten Bedingungen genau die benötigte Sauerstoffmenge in die Gewebe bringt. Alle Tiere, die aufgrund ihres Körperdurchmessers zu groß sind ( $> 1$  mm), um ihre Gewebe durch einfache Diffusion ausreichend mit Sauerstoff zu versorgen, haben Kreislaufsysteme, die Hämoglobin oder ein Protein mit vergleichbarer Funktion enthalten. Hämoglobin besteht aus zwei Komponenten: dem Häm, dem eigentlichen Farbpigment mit zweiwertigem Eisen (Ferro-Form) und dem Globin, einem Protein mit zweimal zwei identischen Peptidketten ( $\alpha 2, \beta 2$ ). Die



Hauptaufgaben von Hb sind die Bindung und der Transport von Sauerstoff. Daneben transportiert es Kohlendioxid und ist aufgrund seiner Fähigkeit, Wasserstoffionen zu binden, an der Regulation des Säure-Basen-Haushaltes beteiligt. Seine biologische Aktivität entfaltet Hb nur in den Erythrozyten. Sobald es durch Hämolyse aus den Zellen entweicht, verliert es seine Fähigkeit, ausreichend Sauerstoff zu transportieren. Hämoglobin ist ein Protein mit positiver Kooperativität. Die Bindung eines Sauerstoffmoleküls begünstigt also die Bindung weiterer. Dadurch entsteht die sigmoide Form der Sauerstoffdissoziationskurve (STEVENS, 1996). Die biologische Bedeutung dieser sigmoiden Bindungscharakteristik ist sehr groß, da im Bereich hoher Sauerstoffpartialdrücke das Hämoglobinmolekül optimal mit Sauerstoff beladen werden kann. Im Bereich niedriger Partialdrücke, wie sie in den Körpergeweben herrschen, ist die Dissoziationskurve wesentlich steiler. Das bedeutet, dass Sauerstoff dann leichter abgegeben werden kann. Die Sauerstoff-Affinität des Hämoglobins wird zusätzlich auch durch allosterische Effektoren reguliert. Beim Vogel sind dies zum Beispiel Inositolpentaphosphat (IP5), Adenosintriphosphat (ATP) und 2,3-Diphosphoglycerat (2,3-DPG). Sie stabilisieren die Quartärstruktur des desoxygenierten Hämoglobins durch Vernetzung von Polypeptidketten und senken somit die Sauerstoff-Affinität des Hämoglobins.



**Abb. 12: Sauerstoff-Dissoziationskurve des Blutes im Hühnerembryo an verschiedenen Inkubationstagen. Modifiziert nach Freeman und Vince (FREEMAN & VINCE, 1974)**

Die Sauerstoff-Affinität des Blutes scheint mit dem Alter der Embryonen zuzunehmen. Die Abb. 12 zeigt Sauerstoff-Dissoziationskurven vom Blut unterschiedlich alter Hühnerembryonen. Dazu werden die Sauerstoffsättigung und der Sauerstoffpartialdruck gegeneinander in einem Koordinatensystem aufgetragen. Die Sauerstoffsättigung stellt den

prozentualen Anteil des oxygenierten Gesamthämoglobins dar (HOPPE, et al. 1982). Der P50 ist der Halbsättigungswert. Das ist jener Sauerstoffpartialdruck, der notwendig ist, um eine 50%ige Sättigung des Hämoglobins mit Sauerstoff zu erreichen. Der Sauerstoffpartialdruck ist der Teildruck des im Blut gelösten, aber nicht an Hämoglobin gebundenen Sauerstoffes. Er ist ein Maß für die Sauerstoffaufnahme in den Gasaustauschenden Organen. Bei einer verminderten Sauerstoff-Affinität des Hämoglobins kommt es zu einem „Rechts-Shift“. Die Dissoziationskurve ist nach rechts verschoben und der P50 ist erhöht. Um eine 50%ige O<sub>2</sub>-Sättigung des Hämoglobins zu erreichen, ist also bei geringerer Affinität ein erhöhter Sauerstoffpartialdruck notwendig. Das in den Geweben bei der Atmung entstehende CO<sub>2</sub> diffundiert in physikalisch gelöster Form aus den Geweben zu den Kapillaren und durch das Blutplasma in den Erythrozyten hinein. Dort bleibt ein kleiner Teil in physikalisch gelöster Form, ein zweiter, ebenfalls kleiner Anteil wird am Hämoglobin gebunden und bildet Carbaminohämoglobin. Der größte Teil bildet, beschleunigt durch eine hohe intraerythrozytäre Carboanhydrase-Aktivität, im Inneren des Erythrozyten Hydrogencarbonat. Im Plasma findet eine Hydratation von CO<sub>2</sub> kaum statt, da das Plasma keine Carboanhydrase enthält. Der größte Teil des CO<sub>2</sub> wird gelöst im Blut als Hydrogencarbonat transportiert. In den Kapillaren ist der pO<sub>2</sub> niedrig und die bei der Hydrogencarbonatbildung freigesetzten Protonen werden vom Hämoglobin aufgenommen. Dadurch kommt es zu einer Konformationsänderung des Hämoglobins und O<sub>2</sub> wird vermehrt freigesetzt. Des Weiteren fördert die Protonenaufnahme die vermehrte Hydrogencarbonatbildung im Erythrozyten und dadurch den CO<sub>2</sub>-Transport. Da HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> hierbei fast ausschließlich im Erythrozyten anfällt, entsteht ein von innen nach außen gerichteter elektrochemischer Gradient für Hydrogencarbonat. Diesem folgend, strömt HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> durch einen HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>/Cl<sup>-</sup> Antiporter in der Erythrozytenmembran ins Blutplasma. Die CO<sub>2</sub>-Bindungskurve des Blutes verläuft in physiologischen Partialdruckverhältnissen praktisch linear und unterscheidet sich damit sehr von der O<sub>2</sub>-Bindungskurve (Abb. 16). Die Aufnahmefähigkeit des Blutes für CO<sub>2</sub> erhöht sich, wenn das Blut deoxygeniert ist. Diese Eigenschaft des Blutes wird auch als „Haldane-Effekt“ bezeichnet. Der „Haldane-Effekt“<sup>3</sup> hat zwei molekulare Ursachen: a) bei der Oxygenation des Blutes werden H<sup>+</sup>-Ionen frei, die durch die Reaktion mit HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> zur Bildung von CO<sub>2</sub> führen, also die Abgabe von CO<sub>2</sub> verbessern und b) bei der Oxygenation wird oxylabiles Carbamino-CO<sub>2</sub> vom Hämoglobin abgespalten, auch das erhöht zusätzlich die CO<sub>2</sub>-Abgabe. Der „Haldane-Effekt“ erleichtert somit die Aufnahme von CO<sub>2</sub> ins Blut aus dem Gewebe durch die gleichzeitig erfolgte Abgabe von O<sub>2</sub> des Blutes ans Gewebe.

---

<sup>3</sup> benannt nach John Scott Haldane (3.Mai 1860-15. März 1936): schottischer Physiologe, bekannt vor allem durch seine Forschungen auf dem Gebiet der Atmung

Bei Vögeln wurden bisher zwei verschiedene Hämoglobinarten (HbA und HbD) beschrieben, welche sich in der Zusammensetzung der Aminosäuren erheblich unterscheiden. HbA macht etwa 70 % und HbD 30 % des Gesamthämoglobins aus.

Der Unterschied des Vogelhäemoglobins zum Hämoglobin der Säugetiere liegt in seiner verminderten Affinität zu Sauerstoff. Als Ursache für die gesteigerte Bereitschaft des Vogelhäemoglobins, Sauerstoff an das Gewebe abzugeben, wird der erhöhte Sauerstoffbedarf beim Flug des Vogels diskutiert (NICKEL, et al. 1992).

Vogelembryonen produzieren spezifische embryonale Hämoglobin-Formen (HbP, HbP', HbE und HbM) während der ersten Stufe der Entwicklung. Sie werden von den primitiven Erythrozyten, welche die erste Population der roten Blutzellen darstellen und bis zum 6. Inkubationstag die Hauptgruppe roter Blutzellen ausmachen, synthetisiert (BAUMANN & MEURER, 1992). Ab dem 6. Inkubationstag tritt die zweite Generation der roten Blutzellen, die definitiven Blutzellen, in das vaskuläre System ein. Diese Zellen sind nicht mehr in der Lage das embryonale Hämoglobin zu bilden, sondern synthetisieren die adulten Formen des Hämoglobins (Hb A, Hb D und HbH). Das steht im Gegensatz zu den Beobachtungen bei Säugetier-Embryonen, in welchen embryonale und adulte Hämoglobin-Formen von der gleichen Blutzelle gebildet werden.

Obwohl in adulten roten Vogel-Blutzellen zwischen HbA und HbD ein Verhältnis von ca. 3:1 herrscht, produziert die erste Generation der definitiven roten Blutzellen übermäßig HbD (BRUNS & INGRAM, 1973). Erst zu einem späteren Entwicklungszeitpunkt wird das Verhältnis von HbA zu HbD hergestellt, welches im adulten Vogel-Erythrozyten gefunden wird. Die große Menge an HbD, die in frühen definitiven roten Blutzellen vorhanden ist, könnte eine große Rolle bei den Sauerstoffbindungseigenschaften und der Sauerstoff-Transport-Funktion spielen. Die molekularen Mechanismen, die für den Wechsel der Synthese von embryonalem und adultem Hämoglobin verantwortlich sind, konnten noch nicht ermittelt werden. Es scheint aber möglich, dass die Umschaltung der Synthese über epigenetische Mechanismen durch die Veränderung des umgebenden Sauerstoffpartialdruckes beeinflusst werden kann (BAUMANN, et al. 1983). Im Zuge der embryonalen Entwicklung ändert sich nicht nur die Art des Hämoglobins sondern auch die Affinität (Abb. 15). Die größte Affinitäts-Änderung findet innerhalb der definitiven embryonalen Blutzellen nach dem 8. Inkubationstag statt und ist unter anderem auf die graduelle Senkung der ATP-Konzentration in den Erythrozyten zurückzuführen.

## 2.7. Auswirkungen veränderter Inkubationsbedingungen

Die O<sub>2</sub>-Aufnahme steigt während der ersten zwei Inkubationswochen exponentiell an. Sauerstoff- und Kohlendioxidaustausch und das endokrine System sind von fundamentaler Bedeutung für die embryonale Entwicklung während der Inkubation. Änderungen in diesen empfindlichen Systemen könnten das Überleben und die Entwicklung des Embryos nachhaltig beeinflussen.

### 2.7.1. Auswirkungen eines veränderten Sauerstoffgehaltes in der Inkubationsluft

#### 2.7.1.1. Eigenschaften und Wirkungen von Sauerstoff

Sauerstoff (auch Oxygenium genannt) ist das häufigste Element auf der Erde. Es tritt überwiegend in der Form eines kovalenten Homodimers auf, also einer Verbindung aus zwei Sauerstoffatomen. In dieser Form wird er dann als molekularer Sauerstoff (O<sub>2</sub>) oder Dioxygen bezeichnet. Es handelt sich um ein farb- und geruchloses Gas, das in einer Konzentration von ca. 21% einen natürlichen Bestandteil der Luft darstellt. Dass Sauerstoff, obwohl lebensnotwendig, auch ein gefährliches toxisches Potenzial in sich trägt, haben auch schon seine Entdecker Lavoisier<sup>4</sup> und Priestley<sup>5</sup> erkannt. Sauerstoff ist für die meisten Lebensformen zum Überleben absolut notwendig. Diese zentrale Rolle verdankt er seiner Eigenschaft als Elektronenakzeptor in der mitochondrialen Atmungskette, durch die die ATP-Synthese ermöglicht wird (LOPEZ-BARNEO, et al. 2001). Sowohl die Hypoxie<sup>6</sup> als auch oxidativer Stress, ausgelöst durch Hyperoxie<sup>7</sup>, haben schwere Konsequenzen für den gesamten Organismus. So bilden sich bei einer Hyperoxie im Organismus reaktive Sauerstoffspezies (ROS), die eine große Bedeutung bei der Pathophysiologie verschiedener Erkrankungen wie zum Beispiel Arteriosklerose, Tumorerkrankungen, Asthma Bronchiale und chronisch obstruktiven Lungenerkrankungen besitzen.

---

<sup>4</sup> Antoine Laurent de Lavoisier (26. August 1743 – 8. Mai 1794) französischer Chemiker, der als einer der Väter der modernen Chemie gilt.

<sup>5</sup> Joseph Priestley (13. März 1733- 6. Februar 1804) war ein englisch-amerikanischer Theologe, Philosoph, Chemiker und Physiker, der 1774 das Element Sauerstoff isolierte.

<sup>6</sup> Sauerstoffmangel, der zu einem geringeren Sauerstoffpartialdruck in Gewebe und Blut führt

<sup>7</sup> Überangebot an Sauerstoff, das zu einem erhöhten Sauerstoffpartialdruck in Gewebe und Blut führt

Auch ein Sauerstoffmangel kann weitreichende Folgen haben. Selbst ein vorübergehender lokalisierter O<sub>2</sub>-Mangel kann irreversible zelluläre Schäden verursachen. Hypoxie ist zum Beispiel ein entscheidender Faktor in der Pathogenese von Schlaganfällen, Herzinfarkten und chronischen Lungenerkrankungen. Die Antworten eines Organismus auf Hypoxie (Tab. 3) können hinsichtlich der Reaktionen in schnell auftretende bzw. akute (treten innerhalb von Sekunden bis Minuten auf) und langsam auftretende bzw. chronische (treten innerhalb von Stunden bis Tagen ein) Reaktionen unterschieden werden. Langwierige Hypoxie induziert die Expression von Genen, die Transportproteine, Enzyme und Wachstumsfaktoren kodieren, welche molekulare und histologische Modifikationen bewirken. Diese Mechanismen dienen der Reduktion des zellulären Sauerstoffbedarfs mit der Folge einer reduzierten Abhängigkeit von O<sub>2</sub> oder auch der verstärkten O<sub>2</sub>-Zufuhr in die Gewebe. Das Überleben höherer Tiere unter akuter Hypoxie bedarf einer schnellen respiratorischen und kardiovaskulären Anpassung, um eine Sauerstoff-Versorgung der lebenswichtigen Organsysteme wie des Gehirns oder des Herzens zu gewährleisten (LOPEZ-BARNEO, et al. 2001).

Schnelle (akute) Reaktionen auf Hypoxie (s-min)	Langsame (chronische) Reaktionen auf Hypoxie (h-d)
Hyperventilation	Aktivierung des Glukose-Metabolismus
Verstärkte Auswurfleistung des Herzens	Erythropoese
Systemische, arterielle Vasodilatation	Angiogenese und Neovaskularisierung
Pulmonale Vasokonstriktion	Gewebe-Hypertrophie und –Umstrukturierung
Relaxation des Ductus arteriosus	Produktion von Vasodilatoren
Aktivierung der Glukoseaufnahme (Herz- und Skelettmuskel)	

Tab. 3: Übersicht über die schnellen und langsamen Antworten eines Organismus auf Hypoxie (nach LÓPEZ-BARNEO, et al. 2001)

### 2.7.1.2. Verminderung der Sauerstoff-Konzentration in der Inkubationsluft

Die O<sub>2</sub>-Aufnahme steigt während der ersten 14 Inkubationstage exponentiell an. O<sub>2</sub>- und CO<sub>2</sub>-Austausch und das endokrine System sind von fundamentaler Bedeutung für die embryonale Entwicklung während der Inkubation. Änderungen in diesen empfindlichen Systemen könnten das Überleben des Embryos beeinflussen. In Versuchen von Rouwet et al. (2002) und Lange et al. (2006) konnte gezeigt werden, dass Hypoxie während der embryonalen Entwicklung strukturelle Veränderungen im kardiovaskulären System hervorruft. Chronische, milde Hypoxie führte sogar dazu, dass strukturelle und funktionelle

Anomalien bereits beim Schlupf präsent sind. So konnte in Versuchen von Tintu et al. (2009) gezeigt werden, dass Hühner nach einer Inkubation in moderater (15%) chronischer Hypoxie eine linksventrikuläre Dilatation, reduzierte Kontraktionsfähigkeit und eine verstärkte Zellapoptose im Herzmuskelgewebe aufwiesen. In mikroskopischen Untersuchungen der Herzen dieser Tiere zeigten sich neben einer erhöhten Apoptose-Rate außerdem ein erhöhter Gehalt an Glykogen und erweiterte intrazelluläre Räume. Folglich können Änderungen solcher Art postnatal eine Prädisposition für Erkrankungen des kardiovaskulären Systems wie zum Beispiel des Aszites-Syndroms darstellen. In weiteren Versuchen von Ruijtenbeek et al. (2003) konnte außerdem gezeigt werden, dass es bei Hühnerembryonen, die pränatal einer chronischen Hypoxie ausgesetzt worden sind, zu einer gesteigerten arteriellen sympathischen Innervation kam. Ursache sind erhöhte Konzentrationen der Schlüsselenzyme für die Catecholaminproduktion. Des Weiteren wiesen diese Embryonen ein verzögertes Wachstum und eine reduzierte vasodilatatorische Funktion auf. In Versuchen unserer Arbeitsgruppe („Pränatale Entwicklung“, Veterinär-Physiologie, FU Berlin) konnten neben Veränderungen der Elektrolytparameter im Blut (HÜHNKE & TÖNHARDT, 2004; FESKE, 2009) und in der Amnionflüssigkeit und strukturellen Veränderungen an embryologischen Herzen (in Form von Hypertrophie der Herzmuskulatur) auch Veränderungen in der Genexpression der Schlüsselenzyme für den Metabolismus in den Zellen der Herzmuskulatur nachgewiesen werden (STUHRBERG, 2006; LANGE, 2005). Hypoxische Zustände beeinflussen also die Entwicklung der Embryonen nachweisbar.

### **2.7.2. Auswirkungen eines veränderten Kohlendioxidgehaltes in der Inkubationsluft**

#### **2.7.2.1. Eigenschaften und Wirkungen von Kohlenstoffdioxid**

Kohlenstoffdioxid (CO<sub>2</sub>) ist eine chemische Verbindung aus Kohlenstoff und Sauerstoff und wird im normalen Sprachgebrauch als Kohlendioxid bezeichnet. Es ist ein nicht brennbares, farb- und geruchloses Gas, welches in einer Konzentration von ca. 0,04% einen natürlichen Bestandteil der Luft darstellt. CO<sub>2</sub> ist ca. 1,4-mal schwerer als Luft und sinkt deshalb zu Boden. Neben der vielfachen Verwendung im alltäglichen Gebrauch (Bsp. Mineralwasser, Feuerlöschmittel, Schutzgas beim Schweißen etc.) wurde erstmals um 1820 von Henry Hill Hickman<sup>8</sup> auch die narkotische Wirkung bei der CO<sub>2</sub>-Anästhesie genutzt, um Operationen an

---

<sup>8</sup> Henry Hill Hickman (27. Januar 1800- 2. April 1830): englischer Arzt und Vorreiter im Bereich der Anästhesie-Forschung

Tieren durchzuführen (PATON, 1983). Auch in der heutigen Zeit wird Kohlenstoffdioxid in Konzentrationen zwischen 70% und 100% CO<sub>2</sub>-Anteil der Luft im Schlachthof und in der Versuchstierkunde für Narkosen verwendet (HYDE, 1962; PETTY & SULKOWSKI, 1971 a; PETTY & SULKOWSKI, 1971 b; ABEL & BARTLING, 1978; FORSLID, et al. 1986; FENWICK & BLACKSHAW, 1989; MISCHLER, et al. 1994; DANNEMANN, et al. 1997; KOHLER, et al. 1999; MARTOFT, et al. 2002; FOMBY, et al. 2004). Die Wirkungen des CO<sub>2</sub> auf den Organismus sind vielfältig. Es wirkt beispielsweise auf das Atemzentrum. An der Regulation der Atmung sind zwei Regionen in der Medulla oblongata beteiligt: die Neurone der ventralen respiratorischen Gruppe und die Neurone der dorsalen respiratorischen Gruppe, die im Nucleus tractus solitarius liegen. Die Neurone der ventralen respiratorischen Gruppe repräsentieren das eigentliche Atemzentrum, in dem die Rhythmogenese erfolgt (ENGELHARDT & BREVES, 2000). Die Neurone der dorsalen respiratorischen Gruppe sind vor allem für die Verschaltung äußerer Reize zuständig. Diese äußeren Reize können mechanischer (Hering-Breuer-Reflex, Schutzreflex, Head-Reflex, J-Reflex) oder chemischer (PaCO<sub>2</sub>, PaO<sub>2</sub>, pHa) Natur sein. Periphere und zentrale Chemorezeptoren reagieren auf Veränderungen der Blut- und Hirnflüssigkeit und beeinflussen stimulierend oder hemmend die Aktivität des Atemzentrums. Veränderungen des PaCO<sub>2</sub> haben einen besonders ausgeprägten Effekt auf die Ventilation (ENGELHARDT & BREVES, 2000). Eine Erhöhung der CO<sub>2</sub>-Konzentration in der Atemluft hat generell eine Steigerung der Atemfrequenz und des Atemzugvolumens zur Folge. Dieses Phänomen kann bei sehr geringen Konzentrationen einen Anstieg des Blut-pH verhindern. Die Tachypnoe stellt somit ein Kardinalssymptom der Hyperkapnie dar (LUMB, 2000). Tritt CO<sub>2</sub> in sehr hohen Partialdrücken auf, wirkt es jedoch atemdepressiv.

Neben der Beeinflussung der Atmung wirkt CO<sub>2</sub> auch auf den Säure-Basen-Haushalt. Der pH-Wert extrazellulärer Flüssigkeiten liegt bei ca. 7,4. Eine Abweichung von 0,4 führt bereits zu systemischen Ausfällen. Für die Regulation des pH-Wertes existieren verschiedene Puffersysteme. Das wichtigste von ihnen ist das Bikarbonat-Puffersystem, da es sich um das einzige offene System handelt und somit reguliert werden kann. Eine Regulation erfolgt, indem Bikarbonat über die Niere ausgeschieden oder Kohlenstoffdioxid über die Lunge abgegeben wird. CO<sub>2</sub> diffundiert durch die Zellmembran in die Zelle oder den Liquor cerebrospinalis (CSF), dissoziiert und führt so zu einem Anstieg des intrazellulären pH-Wertes und des pH-Wertes des Liquors. CO<sub>2</sub> passiert also die Blut-Liquor-Schranke. Da der Liquor nur über wenige Puffermechanismen verfügt, kommt es bei einer verstärkten CO<sub>2</sub>-Aufnahme zu einem schnelleren Absinken des pH-Wertes als im Blut. Bleiben diese Verhältnisse über längere Zeit unverändert, so wird der Bikarbonatgehalt des Liquors

langsam angepasst und der pH-Wert normalisiert sich wieder (LUMB, 2000; SILBERNAGL & DERSPOPOULOS, 2001).

Auch auf einzelne Blutparameter und Hormone kann ein erhöhter CO<sub>2</sub>-Gehalt Einfluss nehmen. Bei einer kurzfristigen CO<sub>2</sub>-Anästhesie an Ratten konnten leicht erhöhte Plasma-Glukosewerte festgestellt werden (FOWLER, BROWN, & FLOWER, 1980). Dieser Effekt könnte möglicherweise auf eine gesteigerte Catecholamin-Konzentration im Blut zurückzuführen sein. In Versuchen an Hunden von Richards und Stein (1957) konnte gezeigt werden, dass eine einstündige CO<sub>2</sub>-Inhalation von 2,5%, 5%, 10%, 20% und 30% bei einem zunehmenden Anteil von Hunden einen Anstieg von 17-Hydroxycorticosteroid bewirkte. Ab einer Konzentration von 20% zeigten alle behandelten Hunde diesen Anstieg. Führt jedoch andere Stressoren zu einer Aktivierung des Nebennierenmarkes, verminderte der Einsatz geringer CO<sub>2</sub>-Konzentrationen die Aktivierung. CO<sub>2</sub> kann somit als Stressor aber auch als Stress-Protector wirken (LANGLEY & KILGORE, 1955). Ein erhöhter CO<sub>2</sub>-Gehalt in der Atemluft führt außerdem dazu, dass von den Zellen vermehrt Kalium in das Plasma abgegeben wird (BÜCHERL, 1960). In Versuchen von Petty und Sulkowski (1971 b) verursachte eine 70%ige CO<sub>2</sub>-Konzentration durch die erhöhte Kalium-Konzentration im Blutplasma nach ca. sechs Minuten Herzarrhythmien bei Ratten.

Die Wirkung von CO<sub>2</sub> auf das Herz-Kreislauf-System ist sehr komplex und wird sowohl zentral als auch peripher beeinflusst. Sie ist von vielen Faktoren abhängig und kann unter Umständen sehr gegensätzlich sein. Bei einer Erhöhung der CO<sub>2</sub> Konzentration in Atemluft bis zu 20% kommt es zu einer langsamen Steigerung des Herzminutenvolumens (GRAHAM, HILL, & NUNN, 1960). Bei einer weiteren Konzentrationssteigerung fällt das Herzminutenvolumen wieder kontinuierlich ab. Bei sehr geringen CO<sub>2</sub>-Konzentrationen von 3-5% in der Luft zeigte sich bei Ratten eine signifikante Verlangsamung der Herzfrequenz (KROHN, et al. 2002). An isolierten Herzen konnte von Price (1960) durch eine veränderte CO<sub>2</sub>-Konzentration und der damit einhergehenden pH-Wert-Änderung des Blutes eine reduzierte Kontraktionskraft des Herzens gezeigt werden. Auch eine direkte Wirkung auf die Zellen der Herzmuskulatur ist möglich. In Versuchen von Paff et al. (1958) konnte an isolierten Herzzellen von Hühnerembryonen gezeigt werden, dass die Kardiomyozyten, die einer erhöhten CO<sub>2</sub>-Konzentration ausgesetzt waren, eine folgenden Periode des Sauerstoffmangels oder der völligen Sauerstoffabwesenheit für einen längeren Zeitraum tolerieren konnten, nicht aber die Herzzellen, die keiner erhöhten CO<sub>2</sub>-Konzentration ausgesetzt waren. Dieser Effekt beruht wahrscheinlich auf einer Steigerung der Carboanhydrase-Aktivität in den Kardiomyozyten. Eine gesteigerte Aktivität dieses Enzyms könnte eine vermehrte Produktion von Bikarbonat zur Folge haben. Die Zellen wären so in



der Lage, die Ansäuerung durch einen anaeroben Metabolismus länger zu kompensieren. Auch auf den peripheren Widerstand und somit auf den Blutdruck wirkt CO<sub>2</sub> über zwei Mechanismen. Das vasomotorische Zentrum und die Chemorezeptoren in der Aorta und im Carotissinus bilden den einen, die Gefäßwände selbst den anderen Angriffspunkt. Bei der zentralen Regulation des peripheren Widerstandes kommt es durch eine erhöhte CO<sub>2</sub>-Konzentration zu einer Erregung der peripheren Chemorezeptoren, die zu einer Stimulation des vasomotorischen Zentrums führen und eine Vasokonstriktion bewirken. Peripher löst eine Partialdruckerhöhung von CO<sub>2</sub> eine metabolische Dilatation der Gefäße aus, unter anderem durch eine Hemmung der spannungsabhängigen Ca<sup>2+</sup> Kanäle in den glatten Muskelzellen der Arteriolen. Die beiden Effekte -zentral und peripher- können sich überlagern. Das Einatmen hoher CO<sub>2</sub>-Konzentrationen führt zu einem starken Blutdruckanstieg (BLOMQUIST, 1957; MULLENAX & DOUGHERTY, 1963; WERNBERG, 1979), der auf eine Vasokonstriktion zurückzuführen ist.

Neben den oben genannten Wirkungen kann die Anwesenheit von unterschiedlichen CO<sub>2</sub>-Konzentrationen die Funktionsfähigkeit der Nerven und des ZNS beeinflussen. Lorente De Nó (1937) konnte in den 30er Jahren zeigen, dass eine Konzentration von 5% CO<sub>2</sub> in der Atmosphäre die Lebensdauer isolierter Nerven steigert, während die totale Abwesenheit zu einer irreversiblen Schädigung des isolierten Säugetier-Nervens führte. Doch nicht nur die Lebensdauer eines isolierten Nervens, kann durch die Anwesenheit von CO<sub>2</sub> beeinflusst werden, auch die Erregungsweiterleitung an einem isolierten Nerven wird verändert. Eine Senkung des pH-Wertes durch CO<sub>2</sub> führte zu einer Hyperpolarisierung am Nerven (CANTIENI, 1977) und damit zu einer Erhöhung der Reizschwelle.

In vivo konnte bei hohen CO<sub>2</sub>-Konzentrationen in Versuchen an Schweinen eine verminderte elektrische Aktivität der kortikalen und subkortikalen Regionen des Gehirns festgestellt werden (MARTOFT, et al. 2002). Eine CO<sub>2</sub>-Konzentration in der Atemluft von 4-8% bewirkt beim Menschen eine reversible Verminderung der Hörfähigkeit (GELLHORN & SPIESMAN, 1935) und ein reduziertes Ischämie- und Hitze-Schmerzempfinden (GRÖNROOS & PERTROVAARA, 1994).

### 2.7.2.2. Erhöhung der Kohlenstoffdioxid-Konzentration in der Inkubationsluft

Die Tatsache, dass Eier während der Inkubation CO<sub>2</sub> an die Umgebungsluft abgeben, ist schon lange bekannt (ROMJIN, 1951; FREEMAN & VINCE, 1974). Jedoch wurden CO<sub>2</sub>-Konzentrationen höher als 1 % bisher meist als Kontamination betrachtet (OWEN J. , 1991) und daher durch eine ausreichende Belüftung beseitigt. In Versuchen von De Smit et al.

(2006) und auch in früheren Versuchen von Hogg (1997) und Gildersleeve und Boeschen (1983) konnte gezeigt werden, dass erhöhte Konzentrationen von CO<sub>2</sub> in den ersten 10 Tagen der Inkubation positive Effekte auf die embryologische Entwicklung haben. Die erhöhten CO<sub>2</sub>-Konzentrationen wurden durch einen Ventilations-Stopp im Inkubator erreicht. Physiologische Systeme, die mit dem embryologischen Wachstum verknüpft sind, scheinen unter diesen Umständen schneller zu reifen als unter ventilierten Bedingungen (De Smit, et al. 2006). Bedeutend ist, dass der positive Effekt auch noch anhält, wenn die normale Inkubation unter ventilierten Bedingungen wiederhergestellt ist. Das lässt auf eine erfolgte Anpassung des Embryos auf diese veränderten Umweltbedingungen schließen. Die Tiere zeigen ein erhöhtes absolutes und relatives Embryonengewicht, einen früheren Schlupf und eine geringere Streuung der Schlupfzeit. Es veränderte sich in Versuchen von Decuypere et al. (2007) auch das Wachstumsmuster der Tiere nach dem Schlupf. So erreichten die Tiere aus der nicht-ventilierten Inkubation bereits 7 Tage nach dem Schlupf, und damit früher als Tiere aus ventilierter Inkubation, das maximale relative Wachstum. Es ist bekannt, dass sich während der perinatalen Periode funktionelle Systeme von einem offenen Steuersystem zu einem durch Feed-Back-Mechanismen gesteuerten Regelkreis entwickeln. Äußere oder innere belastende oder veränderte Faktoren, die in dieser kritischen Periode einwirken, können zur Einstellung eines anderen Funktionsniveaus von bleibendem Charakter führen. Das heißt, dass auch in der pränatalen Entwicklung in einer sensiblen Phase Signale aus der Umwelt entscheidend den Aktivitätsbereich physiologischer Regelsysteme beeinflussen (TZSCHENTKE, 2007). CO<sub>2</sub> könnte damit einen direkten Effekt auf die Expression bestimmter Gene haben. Erhöhte externe CO<sub>2</sub>-Konzentrationen im Inkubator könnten auch das kardiovaskuläre System beeinflussen, indem es zu einer Vasodilatation kommt, die den Blutdurchfluss erhöht (MIYAMOTO, et al. 2005) und damit den Sauerstofftransport und folglich die embryonale Entwicklung verbessert. Eine Inkubation mit CO<sub>2</sub> scheint auch einen Einfluss auf die Ausprägung des Aszites-Syndroms zu haben. So zeigten Versuchen von Buys et al. (1997) dass Hühner, welche in Inkubatoren mit erhöhten CO<sub>2</sub>-Konzentrationen bebrütet wurden, während der Wachstumsphase eine geringere Aszites-Inzidenz zeigten. Daraus lässt sich schließen, dass die Ätiologie des Aszites-Syndroms schon in der Phase des embryonalen Wachstums liegen könnte, obwohl die klinischen Symptome erst am Ende der Wachstumsphase auftreten (BUYS, et al. 1998).

## 2.8. Zusammenfassung der Literatur und Zielstellung der Arbeit

Das Haushuhn (*Gallus gallus f. domestica*) entwickelt sich innerhalb von 21 Tagen. Im Ei steht es nur über den Wasser- und Gasaustausch, welcher durch die Poren in der Eischale erfolgt, mit der Umwelt in Verbindung. Das Herz als Saug- und Druckpumpe ist das erste funktionierende Organ während der embryologischen Entwicklung des Huhnes. Die Herzentwicklung beginnt bereits nach 33-38 Inkubationsstunden. Nach 48 Inkubationsstunden bewerkstelligt der bis dahin noch ungekammerte Herzschlauch durch regelmäßige, rhythmische Kontraktionen den gesamten embryonalen Blutkreislauf. Die Entwicklung des Herzens ist damit von fundamentaler Wichtigkeit für die Lebensfähigkeit und die weitere Entwicklung des Embryos. Einflüsse, die in der Entwicklungsphase des Herzens durch eine veränderte Zusammensetzung der Inkubationsluft gesetzt werden, können zu strukturellen Veränderungen des kardiovaskulären Systems führen und sowohl die embryonale als auch die weitere Herzentwicklung und –gesundheit nachhaltig beeinflussen. Die Herzgesundheit ist vor allem bei kommerziell genutzten Broilerrassen ein aktuelles und wirtschaftlich bedeutendes Thema. Diese Tiere sind im Gegensatz zu den Legerassen auf einen besonders hohen Anteil an Brustmuskulatur und eine hohe Wachstumsrate gezüchtet. Besonders die Tiere der schnell wachsenden Broiler-Linien wie der Ross 308-Linie verenden häufig noch vor der Schlachtung an dem Aszites-Syndrom (Pulmonary-Hypertension-Syndrom). Bei dieser Erkrankung kommt es zu einer Rechtsherzhypertrophie mit anschließendem Herzversagen, welches sich in Form von Aszites, Atemnot und einer pinguinähnlichen Haltung und letztendlich im Tod der Tiere klinisch manifestiert.

Die genaue Ätiologie dieses Problems ist noch nicht endgültig geklärt. Neben konstitutionellen und nutritiven Einflüssen, wird es immer wahrscheinlicher, dass eine Prädisposition auch schon während der Inkubation, also der embryonalen Entwicklung erworben werden kann.

Durch Veränderung der Inkubationsluft-Zusammensetzung in den ersten 10 Inkubationstagen zugunsten des CO<sub>2</sub>-Anteils in der Luft, wird die allgemeine Entwicklung der Embryonen positiv beeinflusst. Ein Einfluss auf die Aszites-Inzidenz durch dieses Verfahren wird diskutiert. Die erhöhte Konzentration an CO<sub>2</sub> wird in den Brütereien durch eine Nicht-Ventilation erzielt.

Die Daten unserer Versuche zeigen, dass sich während der nicht-ventilierten Inkubation auch der Sauerstoff-Gehalt im Inkubator verändert. Da eine Hypoxie nachgewiesener Maßen zu einer Hypertrophie der embryonalen Herzmuskulatur führen kann, könnte durch eine

nicht-ventilierte Inkubation zwar die allgemeine embryonale Entwicklung bis zum Schlupf verbessert, aber die Herzentwicklung negativ beeinflusst werden und durch kompensatorische Mechanismen zu einer Maladaptation und möglichen gesteigerten Aszites-Prädisposition führen. In der vorliegenden Arbeit werden deshalb erhöhte CO<sub>2</sub>-Konzentration unter normoxischen Bedingungen mit Hilfe von Prüfgasgemischen simuliert und mit der nicht-ventilierten Inkubation hinsichtlich der allgemeinen embryonalen und der Herzentwicklung verglichen. Erstmals wird somit die Herzentwicklung unter diesen beiden Inkubationsmodellen sowohl auf makroskopischer als auch auf mikroskopischer Ebene verglichen. Daraus lässt sich möglicherweise eine verbesserte, standardisierte Zusammensetzung der Inkubationsluft für die Bebrütung schnell wachsender Broiler-Linien ableiten.

### Zielstellung der Dissertation:

1. Charakterisierung der Gaszusammensetzung und Konzentrations-Verhältnisse im Inkubator während der nicht-ventilierten Inkubation.
2. Gegenüberstellung der Auswirkungen der normoxischen und hypoxischen externen Hyperkapnie im Inkubator auf die allgemeine embryonale Entwicklung und die Herzentwicklung.
3. Spezielle Betrachtung der Herzentwicklung unter den verschiedenen Inkubationsbedingungen mit Hinblick auf eine durch epigenetische Mechanismen beeinflusste Entwicklung einer Aszites-Prädisposition.
4. Bessere Kenntnis über die Wirkung der Kohlenstoffdioxid-Konzentration während der Inkubation.

### 3. Material und Methoden

#### 3.1. Inkubation der Hühnerembryonen

##### 3.1.1. Herkunft der Hühnerembryonen

Für den Versuch wurden Hühnerrassen gewählt, die speziell auf einen hohen Fleischansatz gezüchtet worden sind und somit ein erhöhtes Risiko besitzen eine Kardiomyopathie zu entwickeln, die sich in Form des unter Punkt 2.4. beschriebenen Aszites-Syndroms klinisch manifestiert. Die gewählten Broiler-Linien Ross 308 und Isa Ja 574 unterscheiden sich jedoch in ihrer Wachstumsrate. Die Linie Ross 308 ist ein schnell wachsender Broiler, der kommerziell in der Industrie genutzt wird. Die Bruteier dieser Linie bezogen wir von der Fa. Wiesenhof Geflügelindustrie, Standort Möckern. Die langsam wachsende Broiler-Linie Isa JA 757 wird vor allem im ökologischen Landbau genutzt. Die Bruteier stammten vom Bioland – Geflügelhof, Overmeyer, Standort Hopsten-Halverde. Durch die unterschiedliche Wachstumsrate beider Broiler-Linien geht man auch von einer unterschiedlichen Prädisposition aus, am Aszites-Syndrom zu erkranken.

##### 3.1.2. Inkubatoren



Die Bruteier der Versuchs- und Kontrollgruppen wurden alle für die Dauer von 18 Tagen in Thermalschaumplastik-Flächenbrütern mit vollautomatischer Wendung der Marke BRUJA 3000 (Brutmaschinen-Janeschitz GmbH, Hammelburg) inkubiert. Die Temperatursteuerung erfolgte durch ein elektronisches Analog-Thermostat und wurde durch spezielle Brutthermometer kontrolliert. Die Feuchtigkeitsregulierung erfolgte durch 6 manuell befüllbare Wasserrinnen im Inkubator. Die Kontrolle der relativen Feuchtigkeit im Inkubator erfolgte durch digitale LED Hygrometer (Hagen EXO Terra LED Hygrometer). Die Wendung fand vollautomatisch mit einer Geschwindigkeit von 12 Wendungen innerhalb von 24 Stunden statt. Entsprechend der einzelnen Versuchsgruppen wurden die Inkubatoren wie unter 3.1.5. beschrieben manipuliert.

### 3.1.3. Messung der Inkubationsparameter im Inkubator



Die Temperatur, der CO<sub>2</sub>- und O<sub>2</sub>-Gehalt in den Inkubatoren wurde mit Hilfe des InControl 1050 der Fa. Labotec Labor-Technik-Göttingen bestimmt. Das InControl verfügte zusätzlich über eine Datenloggerfunktion, welche die Messwerte in 30minütigen Intervallen speicherte und eine Auswertung über die gesamte Inkubationsperiode ermöglichte.

### 3.1.4. Herkunft und Zusammensetzung der Prüfgase

Die Prüfgase wurden von der Firma Praxair Deutschland GmbH und Co. KG, Berlin hergestellt. Sie enthielten ein Gasgemisch aus O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> und Stickstoff (N). Für unseren Versuch waren steigende CO<sub>2</sub>-Konzentrationen von 0,4-1,5% (400-1500 ppm) und eine gleichbleibende Konzentration von 21% O<sub>2</sub> notwendig. Diese Gasmischung wurde dann mit N aufgefüllt.

### 3.1.5. Versuchsablauf

#### 3.1.5.1. Inkubation der Kontrollgruppe

Die Kontrollgruppe (KG) wurde in den Inkubatoren nach den vom Hersteller für die Flächenbrüter angegebenen Standardbedingungen bebrütet. Die Bruttemperatur betrug 37,3- 37,6°C. Ab dem 3. Inkubationstag wurden die Bruteier täglich für 10 Minuten gekühlt und gelüftet, um einen ausreichenden O<sub>2</sub>-Austausch zu ermöglichen. Die O<sub>2</sub>-Konzentration wurde in 30-minütigen Intervallen überwacht und blieb kontinuierlich bei 21%. Die Konzentration des CO<sub>2</sub> war während der gesamten Inkubationszeit nicht höher als die im Inkubationsraum vorherrschende Konzentration von 0,3%. Die relative Feuchtigkeit wurde manuell reguliert und nach Herstellerangaben ab dem 10. Inkubationstag auf ca. 45% und ab dem 18. Inkubationstag auf ca. 55% eingestellt.

### 3.1.5.2. Inkubation der Gasgruppe

Die Gasgruppe (GG) wurde bis zum 10. Inkubationstag mit gleichbleibendem Gehalt an O<sub>2</sub> (Abb. 13) und steigenden CO<sub>2</sub>-Konzentrationen (Abb. 14) bebrütet. Dazu wurden die Inkubatoren luftdicht abgeklebt und mit den oben erwähnten Prüfgasen versorgt. Die Durchflussrate des Gases wurde nach dem Füllvolumen der Inkubatoren so berechnet, dass ein kompletter Luftaustausch alle 10 min gewährleistet war. Die Durchflussgeschwindigkeit lag bei 2 l/min und wurde durch einen Druckminderer mit Flowmeter (Fa. Praxair Deutschland GmbH und Co. KG, Berlin) reguliert. Die Gaszusammensetzung wurde in 30-minütigen Intervallen über den gesamten Inkubationsverlauf kontrolliert. Die restlichen Inkubationsparameter entsprachen denen der Kontrollgruppe. Ab dem 11. Inkubationstag wurden die Bruteier nach Standard-Bedingungen inkubiert.

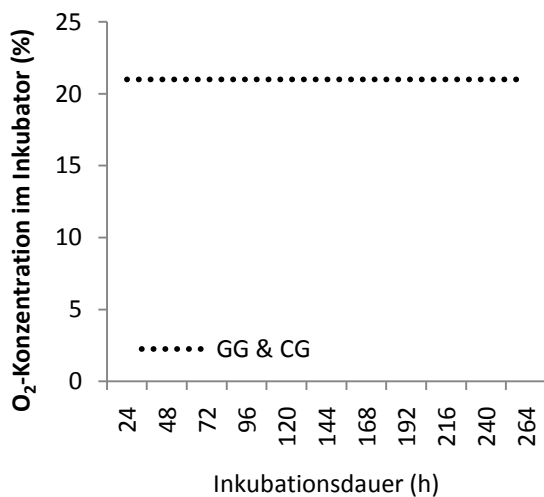


Abb. 13: O<sub>2</sub>-Gehalt in KG und GG

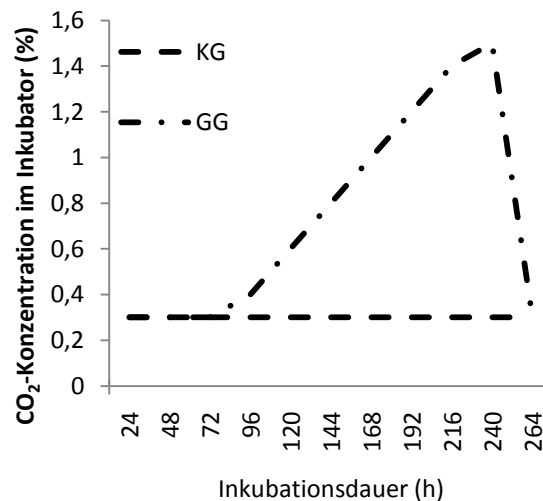


Abb. 14: CO<sub>2</sub>-Gehalt in KG und GG

### 3.1.5.3. Inkubation der nicht-ventilierten Gruppe

Bei der nicht-ventilierten Versuchsgruppe (NVG) wurde der Inkubator luftdicht abgeschlossen und abgeklebt und für die ersten 10 Inkubationstage ohne Lüftung belassen. Die Veränderung der CO<sub>2</sub>- und O<sub>2</sub>-Konzentrationen wurde mit dem Incontrol in einem 30-minütigen Intervall über die Dauer der gesamten Inkubationszeit hinweg gemessen (Abb. 15 und 16). Ab dem 11. Inkubationstag wurde die Standard-Inkubation eingeleitet. Die anderen Inkubationsparameter entsprachen denen der Kontrollgruppe. Lediglich die relative Feuchtigkeit lag in den nicht-ventilierten Inkubatoren nicht signifikant über dem Durchschnitt der anderen.

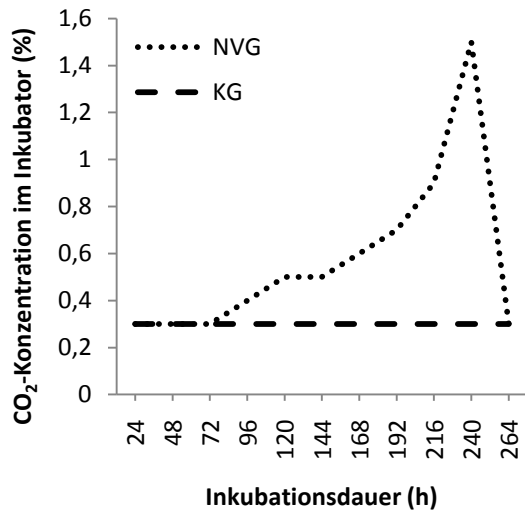


Abb. 15: CO<sub>2</sub>-Gehalt in KG und NVG

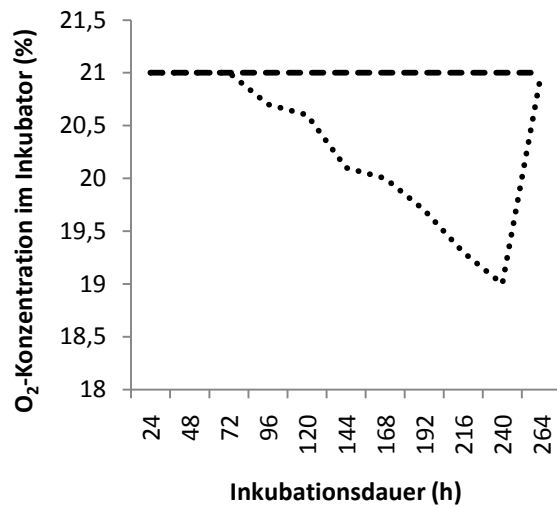


Abb. 16: O<sub>2</sub>-Gehalt in KG und NVG

## 3.2. Gewinnung und Aufbereitung der Proben

### 3.2.1. Gewinnung des Blutes

Die Blutabnahmen zur Bestimmung des Hämatokrit-Wertes erfolgten aus der Chorio-Allantois-Vene. Vor Eröffnung der Eischale wurden die Eier geschickt (durchleuchtet), um den Verlauf der Chorioallantois-Vene zu beurteilen. Die Schale wurde dann oberhalb der Luftkammer entfernt. Nachdem die Schalenmembran beseitigt wurde, konnte die Vene punktiert und das Blut in den für die Hämatokrit-Bestimmung notwendigen Mikrokapillaren aufgefangen werden.

### 3.2.2. Präparation der Hühnerembryonen und Herzen

Die gesäuberte und mit Ethanol (70%) desinfizierte Eischale wurde über Luftkammer eröffnet und der Embryo aus dem Ei entnommen. Mittels Scherenschlag wird er dekapitiert und der Dottersack vorgelagert und entfernt. Die Leibeshöhle wird eröffnet und das Herz wird freigelegt, an der Basis abgesetzt und aus der Körperhöhle entnommen. Die zur mikroskopischen Untersuchung bestimmten Herzen wurden von Gefäß- und Bindegewebsresten befreit und in 4%igem Formalin fixiert.



### **3.3. Bestimmung der makroskopischen Parameter und des Hämatokrits**

#### **3.3.1. Bestimmung der Körpergröße und der Körperfeuchtmasse der Embryonen**

Zur Ermittlung der Körpergröße wurde von dem aus der Eischale entnommenem Embryo unverzüglich die Kopf-Steiß-Länge mit Hilfe eines Lineals bestimmt. Die Körperfeuchtmassen (abs. EM) der Embryonen wurden nach der Dekapitation und der Entfernung des Dottersackes auf einer digitalen Feinwaage bestimmt. Es wurde weiterhin die relative Embryonenmasse (rel. EM) mit folgender Formel bestimmt: (Embryonengewicht/Eigewicht am Probenstag) \*100

Die rel. EM gibt den prozentualen Anteil der abs. EM an der Eimasse an. Es dient der besseren Vergleichbarkeit der Embryonenmassen, da es Fehler ausgleicht, die durch unterschiedliche Wachstumsvoraussetzungen der Embryonen (Größen- bzw. Massenunterschiede der Bruteier) entstehen.

#### **3.3.2. Bestimmung der Wachstumseffizienz**

Die Wachstumseffizienz ( $W_e$ ) ist definiert als das Verhältnis von Embryonenmasse und der Differenz von Eimasse und Eimasse ohne Embryo. Sie ist ein Maß dafür, wie gut der Embryo die im Ei vorhandenen Ressourcen (in Form von nutritiven Substanzen aus Dotter und Eiweiß) verwendet bzw. verwenden kann, um sie in Körpermasse umzusetzen.

#### **3.3.3. Bestimmung der Herzmasse, Herzlänge und Herzdurchmesser**

Nach der Herzentnahme aus dem Embryo wurden alle Herzen mittels eines Mikromessschiebers vermessen und ihre Masse auf einer digitalen Feinwaage bestimmt. Um die Herzmasse (abs. HM) in Relation zur Embryonenmasse zu betrachten, wurde die relative Herzmasse (rel. HM) bestimmt und ausgewertet. Die Vermessung des Herzdurchmessers ( $H_d$ ) erfolgte auf Höhe der Herzbasis, die der Herzlänge ( $H_l$ ) in der medialen Achse des Herzens von der Herzbasis zur Herzspitze. Um zusätzlich eine Aussage über die Größe des Herzens in Relation zur Körpergröße der Embryonen treffen zu können, wurde die Herzlänge mit der Kopf-Steiß-Länge ins Verhältnis gesetzt. Da auch die Herzform Aufschluss über etwaige Abweichungen vom Normbereich geben kann, wurde aus dem Quotienten aus Herzdurchmesser und Herzlänge der Herzindex (STEPHAN, 1993) gebildet und betrachtet.

### 3.3.4. Bestimmung der Masse des rechten Ventrikels

Die Herzen der Versuchsgruppen am 17. Inkubationstag wurden für die Untersuchung der Masseentwicklung des rechten Ventrikels verwendet. Nach der Entnahme aus dem Embryo und der Vermessung wurde bei diesen Herzen unter einem Stereomikroskop der rechte Ventrikel abgetrennt und seine Masse auf einer digitalen Feinwaage bestimmt. Mit Hilfe dieser Masse konnte das rV/tV-Verhältnis bestimmt werden (Verhältnis zwischen der Masse des rechten Ventrikels und der Gesamtventrikel-Masse).

### 3.3.5. Bestimmung des Hämatokrits



Der Hämatokrit (Hkt) gibt den Volumenanteil roter Blutkörperchen in Blut an. Die Referenzmethode ist die Zentrifugation, die in der DIN 58933-1<sup>9</sup> festgelegt ist. Die zu 75% mit dem Blut aus der Chorioallantois-Vene befüllten Mikrokapillaren wurden mit Kitt verschlossen und mit der Hämatokrit-Zentrifuge „Hämatokrit 210“ (Hettich GmbH und Co. KG, Tuttlingen) bei einer relativen Zentrifugalbeschleunigung von 20.000 für eine Dauer von 5 min zentrifugiert. Der Hkt wurde mit Hilfe der Auswertscheibe abgelesen.

## 3.4. Herstellung der histologischen Präparate und Färbungen

Für die histologische Untersuchung wurden die Herzen aller Versuchsgruppen der Inkubationstage 10, 15 und 18 verwendet. Nach der Entnahme wurden die Embryonenherzen in 4%igem Formalin fixiert. Anschließend erfolgte die automatische Paraffineinbettung (Pathcentre, Shandon, Frankfurt), bei der die Gewebekapseln sukzessiv in den unten genannten Reagenzien verblieben. In einer aufsteigenden Alkoholreihe (Tab. 4) (Ethanol 99%, CG Chemikalien, Laatzen) wurde das Gewebe zunächst entwässert und dann in Paraffin ausgegossen. Die Blöcke erkalteten bei 4°C, so dass die Metallkapseln von den Paraffinblöcken abgelöst werden konnten. Die Blöcke wurden anschließend bei Zimmertemperatur gelagert.

---

<sup>9</sup> DIN 58933-1: Hämatologie. Bestimmung des Volumenanteils der Erythrozyten im Blut. Teil 1: Zentrifugationsmethode als Referenzmethode, Berlin: Beuth Verlag, Januar 1995

Reagenz	Zeit	Wiederholungen
10%iges Formalin	1 h	-
Leitungswasser	45 min	-
70%iges Ethanol	45 min	-
85%iges Ethanol	45 min	-
96%iges Ethanol	45 min	2
Isopropanol	1 h	2
Essigsäure-n-Butylester	1 h	2
Paraplast Plus	1 h (60°C)	4

**Tab. 4: aufsteigende Alkoholreihe**

Mit einem Schlittenmikrotom (Fa. Jung, Heidelberg) wurden 5-7 µm dicke Schnitte angefertigt und auf dem Objektträger aufgetragen. Anschließend wurden die Präparate luft- und im Inkubator bei 60°C nachgetrocknet. Die Objektträger mit dem Organschnitt wurden danach in Xylol entparaffiniert, in einer absteigenden Alkoholreihe rehydratisiert (Tab. 5) und in Aqua bidest. überführt.

Reagenz	Zeit	Wiederholungen
Xylol	5 min	2
Ethanol (100%)	3 min	3
Ethanol (96%)	3 min	2
Ethanol (70%)	3 min	1
H <sub>2</sub> O	5 s	1

**Tab. 5: absteigende Alkoholreihe**

Alle Gewebeschnitte wurden mit Hämatoxylin-Eosin (HE) histochemisch gefärbt.

**Hämatoxylin-Eosin-Färbung:** Mit Hämatoxylin, einem Farbstoff, der aus dem Kernholz verschiedener Haematoxylon-Arten gewonnen wird, werden basophile Strukturen (z.B. Nukleinsäuren des Zellkerns) dunkelblau dargestellt. Die mit Eosin durchgeführte Gegenfärbung kennzeichnet die azidophilen Strukturen eines Gewebes (z.B. Strukturproteine des Zytoskeletts).

Die HE-Färbung (Tab. 6) der in Formalin fixierten Gewebeschnitte fand in dem automatischen Färbegerät Leica ST 4040 (Leica Microsystems Nussloch GmbH, Nussloch) statt. Die rehydrierten Schnitte wurden in Hämalun nach Mayer (Hämatoxylin, Merck, Darmstadt) gefärbt. Anschließend wurden die Schnitte in Leitungswasser gewaschen, mit Eosin (Merck, Darmstadt) gegengefärbt und in Aqua bidest. gespült.

Substanz	Zeit
Mayers Hämalaun	3 min
H <sub>2</sub> O	10 min
Eosin	30 s
Aqua dest.	5 s

Tab. 6: Färbeprotokoll der HE-Färbung

Zur Herstellung der Hämalaun-Lösung nach Mayer wurden 1 g Hämatoxylin in 1000 ml H<sub>2</sub>O gelöst und 0,2 g Natriumiodat und 50 g Aluminium-Kalium-Sulfat zugegeben. Anschließend wurde 1 g Zitronensäure hinzugefügt.

In einer aufsteigenden Alkoholreihe (Tab. 7) (Ethanol 99%, CG-Chemikalien, Laatzen) fand anschließend die Entwässerung der Präparate statt. Im Anschluss an die histochemische Färbung wurden die Schnitte mit „Roti®-Histokitt II“ (Carl Roth, Karlsruhe) vom Objektträger-Eindeck-Automat „Promounter RCM 2000“ (Medite Medizintechnik, Burgdorf) eingedeckt.

Substanz	Zeit	Wiederholungen
Ethanol (70%)	3 min	1
Ethanol (96%)	3 min	2
Ethanol (100%)	3 min	3
Xylol	5 min	2

Tab. 7: Dehydratation in der aufsteigenden Alkoholreihe

Angefertigte Spezialfärbungen:

Zusätzlich zu der durchgeführten HE-Färbung wurden die Präparate mit der Perjod-Schiff-Reaktion (PAS) nach McManus, der Trichromfärbung nach Goldner und der Sudanrot-Färbung histochemisch bearbeitet.

**PAS-Reaktion:** Die histochemische Reaktion dieser Färbung erfasst Glykogen, Glykoproteine und Glykolipide. Die Hydroxylgruppen der Zuckermoleküle werden durch die Perjodsäure zu Aldehydgruppen oxidiert, an welche dann die Schiff'sche Reagenz bindet. Dieser Prozess verleiht der Struktur abhängig vom Gehalt an Zuckermolekülen eine rosa bis violette Farbe.

**Trichromfärbung nach Goldner:** Die Trichromfärbung mit den Farbstoffen Eisenhämatoxylin, Orange G und Lichtgrün dient der Differenzierung von Epithel- und Bindegewebe. Zunächst erfolgt eine Kernfärbung mit Eisenhämatoxylinlösung. Anschließend erfolgt die eigentliche Trichromfärbung. Es werden dazu Farbstoffe eingesetzt, die sich in ihrer Molekülgröße unterscheiden. Die feindisperse Phase (Orange G) dringt schnell in alle Strukturen ein, die grobdisperse Phase (Lichtgrün) dringt langsamer ein und färbt zunächst nur die groben Strukturen an. In dieser Färbung stellen sich Muskulatur und Zytoplasma rot, Erythrozyten orange und das Bindegewebe grün dar.

**Sudanrot-Färbung (Sudan III):** Die Sudanrot-Färbung dient der Färbung von intrazellulären Fetteinschlüssen (Fett-Vakuolen). Da intrazelluläre Fett-Vakuolen stets der Fixierung anheim fallen und als optisch leere Löcher erscheinen, wird die Sudanrot-Färbung von Gefrierschnitten angefertigt, wodurch die Fixierung eingespart wird. Fett stellt sich bei dieser Färbemethode orange-rot dar. Sudan-Farbstoffe sind synthetisch hergestellte, fettlösliche Farbstoffe, wobei es sich bei den roten Typen um Azofarbstoffe handelt.

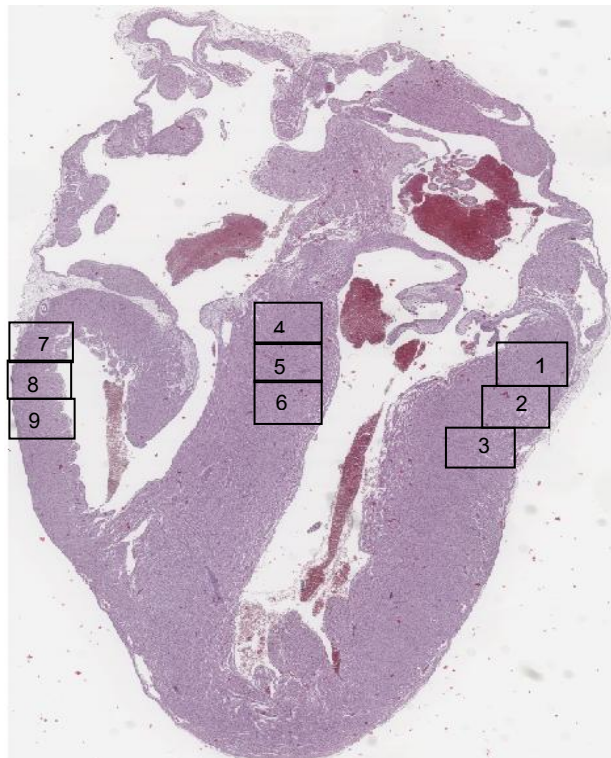
Die folgenden Chemikalien wurden verwendet:

Chemikalien	Firma	Artikel-Nummer
Eosin	Merck	1345
Ethanol (100%)	Merck	100986
Hämatoxylin (Monohydrat)	Merck	115938
Hämatoxylin (Solution)	Sigma	GHS-3
Hyper-Mount-Eindeckmedium	Thermo Shandon	1010471000
Xylol (100%)	Merck	86856025
Zitronensäure-Monohydrat	Merck	2440500

### 3.5. Morphometrische Untersuchungen der histologischen Präparate

#### 3.5.1. Bestimmung der Zellzahl im Myokard embryonaler Herzen

Zur Bestimmung des Zellgehaltes im Myokard wurden die Objektträger mit den Präparaten in HE-Färbung mit Hilfe des ScanScope (Fa. Aperio Technologies Inc., USA) digitalisiert und mit dem Programm Imagescope (Fa. Aperio Technologies Inc., USA) bearbeitet und ausgewertet. Von den zu untersuchenden Herzen wurden je drei lichtmikroskopische Bilder (315 x 190 µm) des linken und rechten Ventrikels sowie des Septums in 400facher Vergrößerung angefertigt und die Zellkerne ausgezählt. Für die Auszählung wurden Transversalschnitte auf Höhe der AV-Klappen herangezogen (Abb. 17).



**Abb. 17:** Standardisierte Auswahl der Gesichtsfelder für die Zellzahlbestimmung in den einzelnen Herzwandanteilen: rechter Ventrikel (Nr. 7-9), linker Ventrikel (Nr. 1-3) und Septum (Nr. 4-6)

Bei jedem Herzen wurde das erste Gesichtsfeld auf Höhe der linken AV-Klappe - angrenzend an das subepikardiale Mesenchym – festgelegt. Ausgehend von diesem Gesichtsfeld wurden auf gleicher Höhe, durch Verlängerung einer gedachten horizontalen Linie, die obersten Gesichtsfelder im Septum interventriculare sowie im rechten Ventrikel bestimmt. Alle weiteren Felder einer Herzwand wurden direkt angrenzend an die jeweils obersten bestimmt.

### 3.5.2. Messung der Myokarddicke

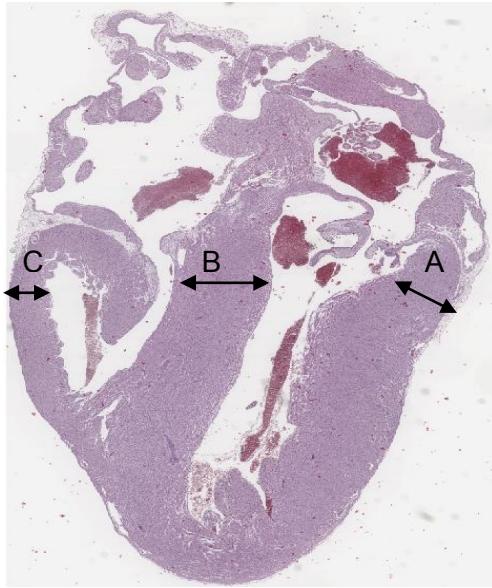


Abb. 18: Myokardstrecken A-C zur Ermittlung der Wanddicken (auf Höhe der A-V-Klappen)

Außer den Zellzahlen wurde die Breite der einzelnen Herzwände ausgemessen. Auch hier wurde darauf geachtet, dass die zu messende Strecke der Kammerwand möglichst an der gleichen Stelle in den verschiedenen Herzen festgelegt wurde. Die Dickenmessung erfolgte ebenfalls auf der Horizontalebene der AV-Klappen in dem gleichen Transversalschnitt, der auch für die Bestimmung der Zellzahlen des Myokards diente. Die Messung der Myokarddicke erfolgt senkrecht zur Oberfläche der Herzwand (Abb. 18). Auch diese Untersuchung wurde mit dem Programm Imagescope der Fa. Aperio Technologies Inc., USA durchgeführt.

### 3.6. Statistische Auswertung

Alle präparatorischen Arbeiten, Wägungen und Messungen wurden ausschließlich von der Autorin selbst durchgeführt, um den individuellen Fehler so gering wie möglich zu halten. Die Messungen am Herz wurden direkt und immer zum gleichen Zeitpunkt nach der Tötung der Embryonen im unfixierten Zustand durchgeführt. Für die Auswertung der Parameter wurde eine deskriptive und explorative statistische Auswertung gewählt. Das Ziel war, das vorliegende Datenmaterial so zu beurteilen, dass morphologisch relevante Differenzen zwischen den Versuchsgruppen einer Broiler-Linie sichtbar werden. Der mögliche Einfluss der Inkubationsformen auf die allgemeine embryonale Entwicklung und die Entwicklung des Herz-Kreislauf-Systems soll somit besser charakterisierbar werden. Die erhobenen Daten wurden in dem Programm Excel (Fa. Microsoft, Redmont/USA) erfasst und mit dem Statistikprogramm SPSS 17.0 (Fa. SPSS Software GmbH, München/Deutschland) ausgewertet.

Parameter, bei denen eine Normalverteilung vorlag, wurden mit Hilfe des t-Tests statistisch ausgewertet. Bei diesem parametrischen, statistischen Testverfahren werden die Unterschiede der Mittelwerte zweier Gruppen auf Signifikanz geprüft. Da die Vergleichsgruppen im vorliegenden Fall aus unterschiedlichen Fällen bestehen, die

unabhängig voneinander aus ihren Grundgesamtheiten gezogen wurden, handelt es sich hierbei um den Vergleich der Mittelwerte unabhängiger Stichproben. Die so untersuchten Parameter werden im folgenden Ergebnisteil als Mittelwerte mit einfacher Standardabweichung, die durch Fehlerbalken gekennzeichnet ist, graphisch dargestellt.

Parameter, bei denen aus Erfahrung keine Normalverteilung angenommen werden konnte, wurden mit Hilfe eines nicht-parametrischen Testverfahrens statistisch ausgewertet. Zur Signifikanzanalyse wurde in diesem Fall der Median herangezogen und mit Hilfe des Mann-Whitney U-Tests statistisch ausgewertet. Dieser Test prüft auf Unterschiede hinsichtlich der zentralen Tendenz von Verteilungen. Es werden hierbei nicht die Messwerte der Variablen, sondern Rangplätze zugrunde gelegt. Die mit dieser Methode statistisch ausgewerteten Parameter werden im Folgenden in Streudiagrammen graphisch dargestellt, aus denen mit Hilfe der Darstellung der minimalen und maximalen Werte die Streuung der Messwerte um den Median ersichtlich wird.

Um Abhängigkeitsstrukturen zwischen 2 Merkmalen besser zu erkennen, wurden die beobachteten Wertepaare zweier statistischer Merkmale in ein Koordinatensystem eingetragen (Abb. 19-21). Aus der sich ergebenden Punktwolke kann die Form der Korrelation abgelesen werden. In den Abb. 20 und 21 wurden die Embryonenmasse (x-Achse) und die absolute Herzmasse (Y-Achse) graphisch dargestellt. Die allometrische Formel  $y=b*x^{\alpha}$  (dargestellt links im Diagramm) wurde mit Excel (Excel-Funktion: Trendlinien-Funktion) errechnet. Aus ihr lässt sich der Anstieg ( $\alpha$ ) ablesen, welcher der Wachstumsrate des Herzens entspricht.

Für die statistische Auswertung wurde grundsätzlich als Signifikanzniveau ein p-Wert kleiner als 0,05 festgelegt.

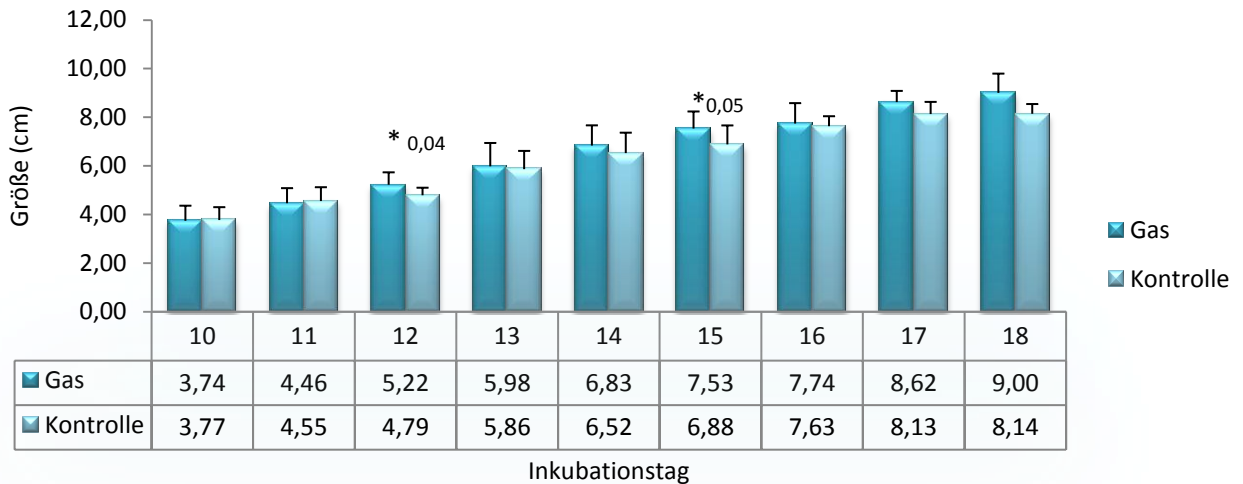


## 4. Ergebnisse

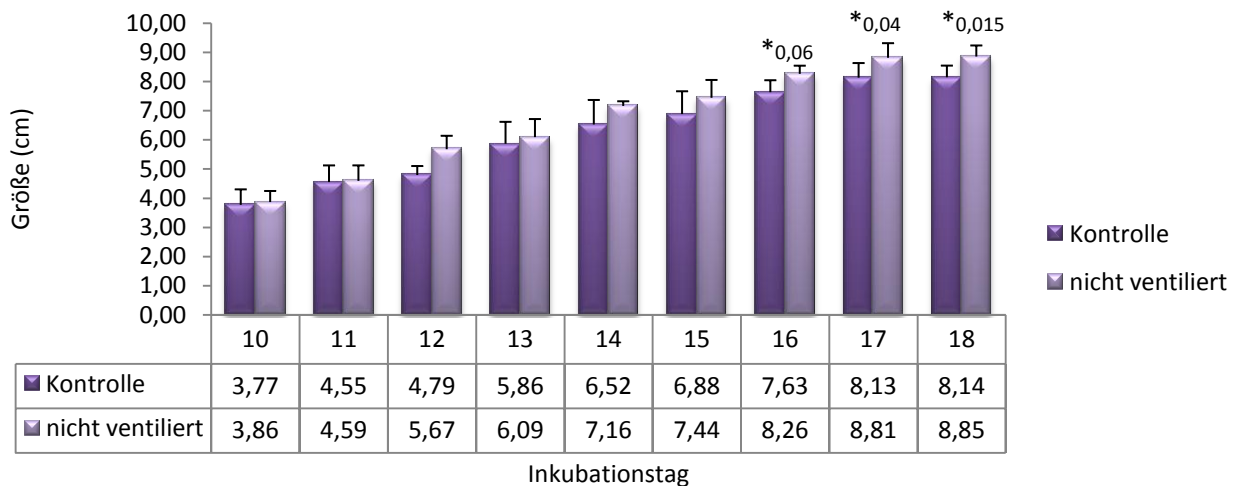
### 4.1. Makroskopische Untersuchung der Embryonen

#### 4.1.1. Embryonengröße

##### 4.1.1.1. Broiler-Linie Ross



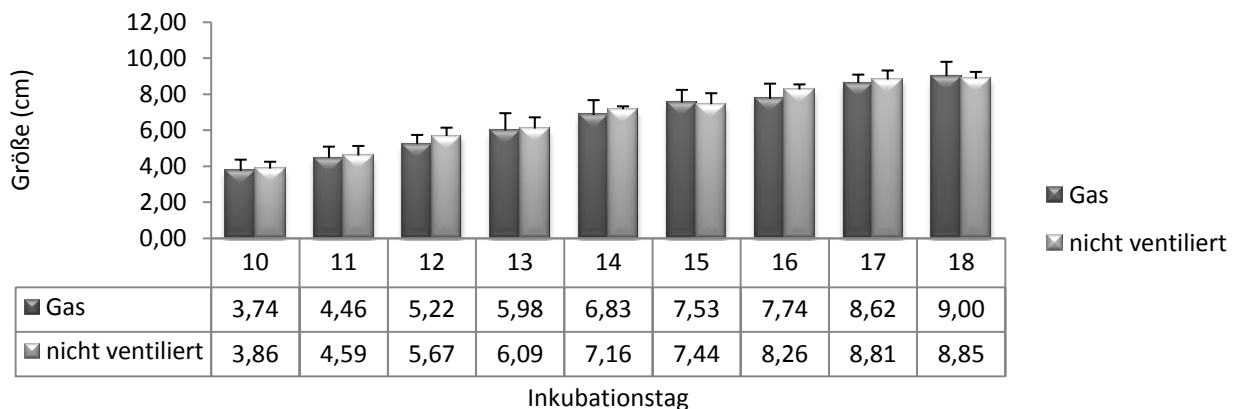
Diag. 1: Darstellung der Größe (Mittelwerte mit Standardabweichung) der Embryonen der GG und KG. Signifikante Unterschiede sind mit Sternchen gekennzeichnet (t-Test, N=170).



Diag. 2: Darstellung der Größe (Mittelwerte mit Standardabweichung) der Embryonen aus der NVG und der KG. Signifikante Unterschiede sind mit Sternchen gekennzeichnet (t-Test, N=161).

Die Diagramme 1 und 2 zeigen den Verlauf der Körpergröße der Broiler-Linie Ross unter allen Inkubationsbedingungen. Alle Gruppen zeigen einen Anstieg der Körpergröße im Inkubationsverlauf, wobei der Zuwachs zur Körpergröße zu Beginn der Beobachtungsperiode stärker ist und zum Ende des Beobachtungszeitraumes wieder abnimmt. Die einzelnen Gruppen nehmen an Körpergröße im Mittel 4,37 cm (KG), 4,99 cm

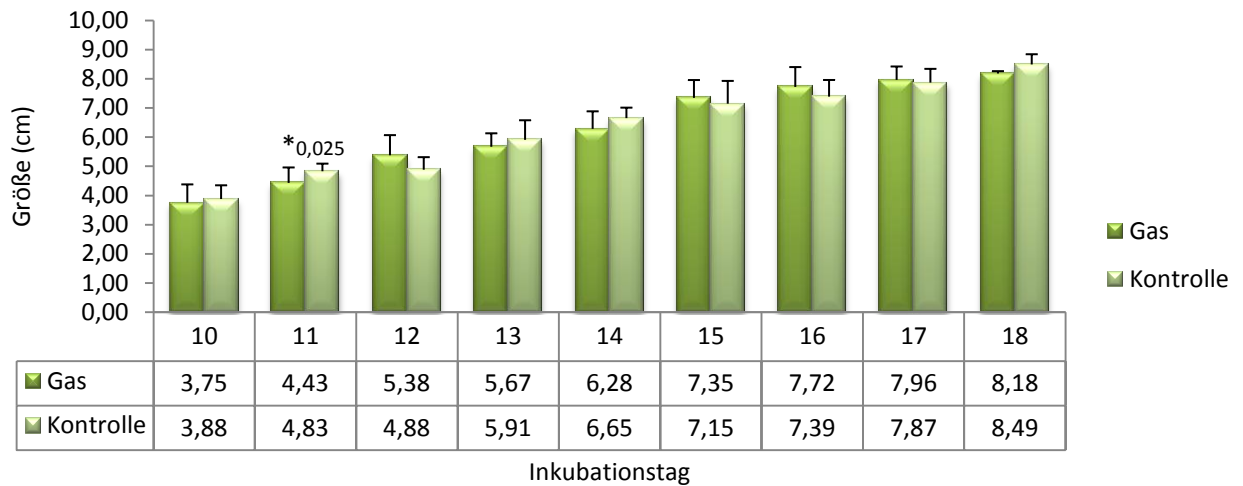
(NVG) und 5,26 cm (GG) zu. Die **Tiere der GG (Gas-Gruppe) weisen insgesamt das größte Wachstum auf**. Es scheint sowohl in der NVG (nicht-ventilierten Gruppe) als auch in der KG (Kontrollgruppe) zum Ende der Beobachtungsperiode eine Plateauphase in der Zunahme der Körpergröße zu geben (siehe Gewichtsentwicklung D 17 und 18), die bei den Tieren der GG nicht vorhanden ist. Die geringste Körpergröße weisen die Tiere der GG am 10. Inkubationstag (D 10) mit einer Kopf-Steißlänge von im Mittel 3,74 cm auf. Den größten Wert am Ende der Beobachtungsperiode am D 18 weisen mit einer mittleren Kopf-Steißlänge von 9 cm abermals die Tiere der GG auf. Im Durchschnitt liegt die KG an allen beobachteten Inkubationstagen unter den Werten beider Versuchsgruppen. Signifikante Unterschiede zwischen der GG und der KG sind an D 12 und D 15 zu beobachten. An diesen Tagen sind die Tiere der GG signifikant größer als die Tiere der KG. Vergleicht man die NVG mit den Kontrolltieren, fallen signifikante Unterschiede vor allem an den letzten Beobachtungstagen D 16-18 auf. Zum Ende der Beobachtungsperiode sind also die Tiere der NVG deutlich größer als die Tiere der KG.



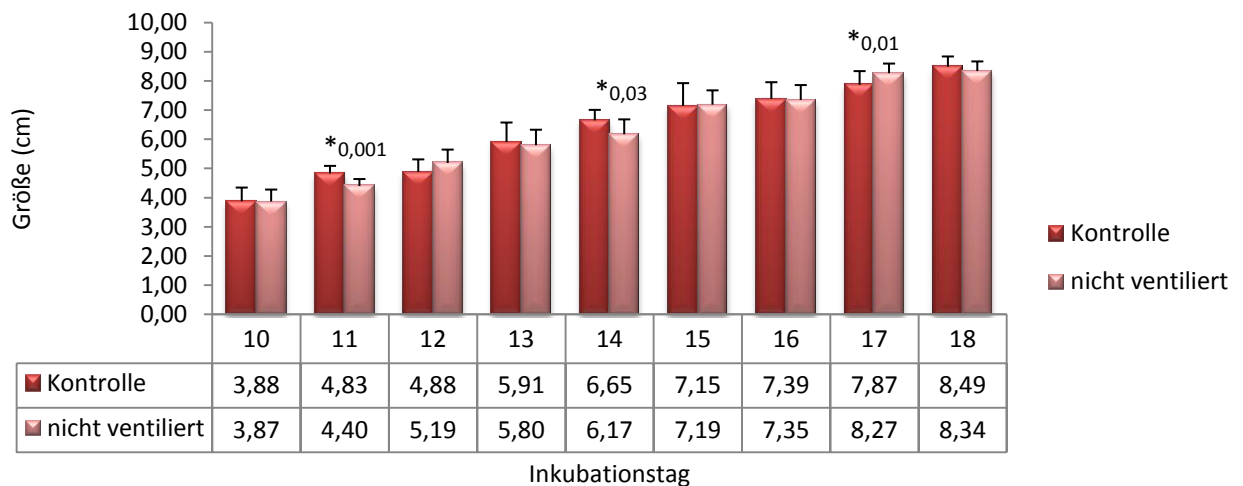
**Diag. 3: Darstellung der Größe (Mittelwerte mit Standardabweichung) der Embryonen beider Versuchsgruppen (N=167).**

Vergleicht man nun die beiden Versuchsgruppen miteinander (Diag. 3), fällt kein signifikanter Größenunterschied zwischen den beiden Gruppen auf. Die GG weist bis D 17 an allen Inkubationstagen sogar eine geringere Körpergröße auf. Vergleicht man beide Versuchsgruppen an D 18, zeigen die Tiere im Mittel einen Größenunterschied von 15 mm, der jedoch nicht signifikant ist. Der Vergleich der Mittelwerte der Kopf-Steiß-Länge an den letzten beobachteten Inkubationstagen zeigt hier noch einmal, dass sich die durchschnittliche Größe der Tiere der GG von D 17 zu D 18 um fast 40 mm erhöht, während die Tiere der NVG nur noch eine mittlere Größenzunahme von 4 mm aufweisen und sich damit im Wachstum ähnlich verhalten wie die KG. Die Tiere der **GG weisen somit insgesamt das stärkste Größenwachstum auf**.

4.1.1.2. Broiler-Linie Isa



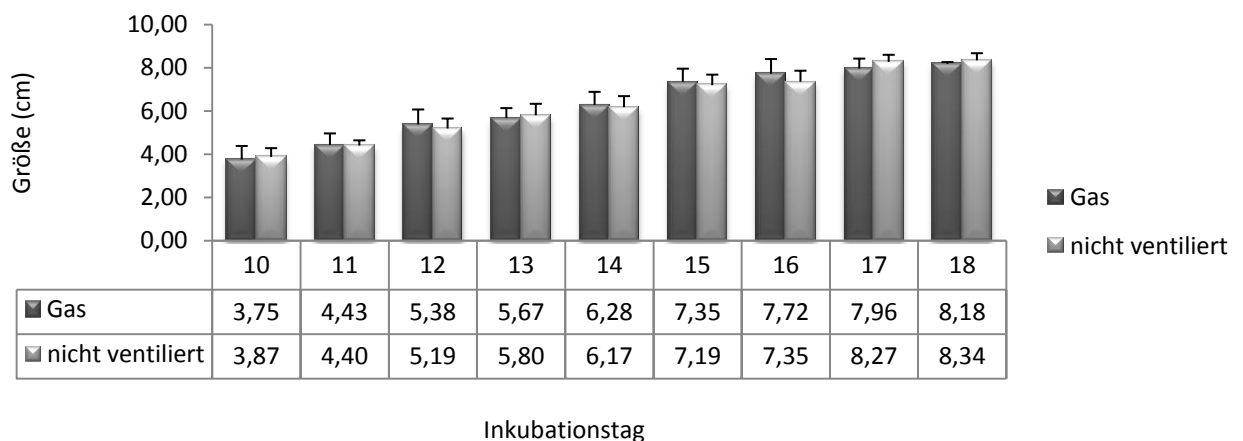
Diag. 4: Darstellung der Größe (Mittelwert mit Standardabweichung) der Embryonen aus der GG und KG. Signifikante Unterschiede sind mit einem Sternchen gekennzeichnet (t-Test, N=191).



Diag. 5: Darstellung der Größe (Mittelwert mit Standardabweichung) der Embryonen aus NVG und KG. Signifikante Unterschiede sind mit Sternchen gekennzeichnet (t-Test, N=187).

Die Diagramme 4 und 5 zeigen den Vergleich des Größenverlaufs der Broiler-Linie Isa zwischen den Versuchsgruppen und der KG. Auch hier zeigen alle Gruppen einen Anstieg der Körpergröße im Inkubationsverlauf, wobei auch hier die Größenzunahmen innerhalb des Beobachtungszeitraumes zu Beginn größer sind als am Ende der Beobachtungsperiode. Die mittleren Größenzunahmen weisen hier bei der KG 4,61 cm, bei der NVG 4,47 cm und in der GG 5,06 cm auf. Erneut zeigen die **Embryonen aus der GG den stärksten Größenzuwachs in der beobachteten Inkubationsperiode**. An D 10 sind auch bei der Broiler-Linie Isa die Tiere der GG diejenigen Versuchstiere mit der geringsten Körpergröße (3,75 cm). Die größten Tiere sind mit 8,49 cm mittlerer Körpergröße an D 18 die Embryonen der KG. Das unter Punkt 4.1.1. beschriebene Wachstums-Plateau kann hier nur an der NVG

dargestellt werden. Die Größenzunahme der Embryonen dieser Gruppe beträgt von D 17 zu D 18 nur 7 mm, während die Tiere der GG in dieser Zeit 22 mm und Kontrolltiere 62 mm wachsen. Die Embryonen der KG sind im Vergleich mit Tieren der NVG an 7 von 9 beobachteten Inkubationstagen größer. An 5 von 9 beobachteten Inkubationstagen liegen sie auch über der Größe der GG. Es gibt also bei der Broiler-Linie Isa Schwankungen zwischen den Inkubationstagen. Es ist **keine eindeutige Aussage bezüglich der Größenentwicklung an den einzelnen Tagen im Beobachtungszeitraum** zwischen den Versuchsgruppen möglich. In der Broiler-Linie Ross waren die Tiere der KG eindeutig überwiegend kleiner als die Embryonen der Versuchsgruppen. Signifikante Unterschiede zwischen der GG und KG gibt es nur an D 11, an dem die Tiere der KG signifikant größer sind als diejenigen der GG. Zwischen den Versuchstieren der NVG und den Kontrolltieren gibt es an 3 Tagen signifikante Unterschiede, wobei auch hier an D 11, aber auch an D 14 die Tiere der KG einen signifikanten Größenunterschied zur Versuchsgruppe zeigen. An D 17 jedoch sind die Tiere aus nicht-ventilierter Inkubation signifikant größer. Das bestätigt, dass keine einheitliche vergleichende Aussage über die Größenentwicklung innerhalb der Beobachtungsperiode zu treffen ist. Auffällig sind jedoch die Signifikanzen beider Versuchsgruppen an D 11.

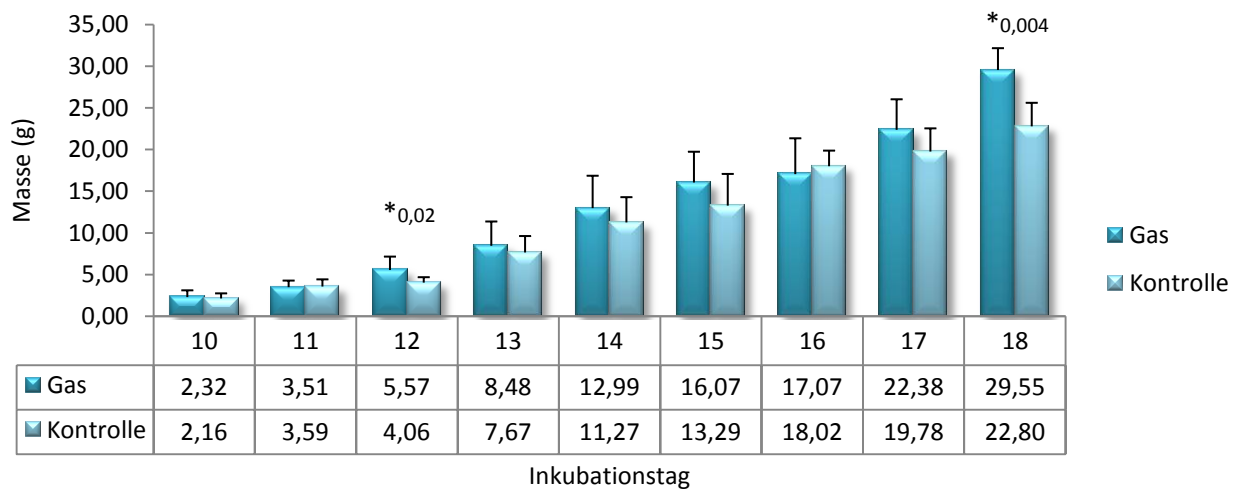


**Diag. 6: Darstellung der Größe (Mittelwert mit Standardabweichung) der Embryonen beider Versuchsgruppen (N=162).**

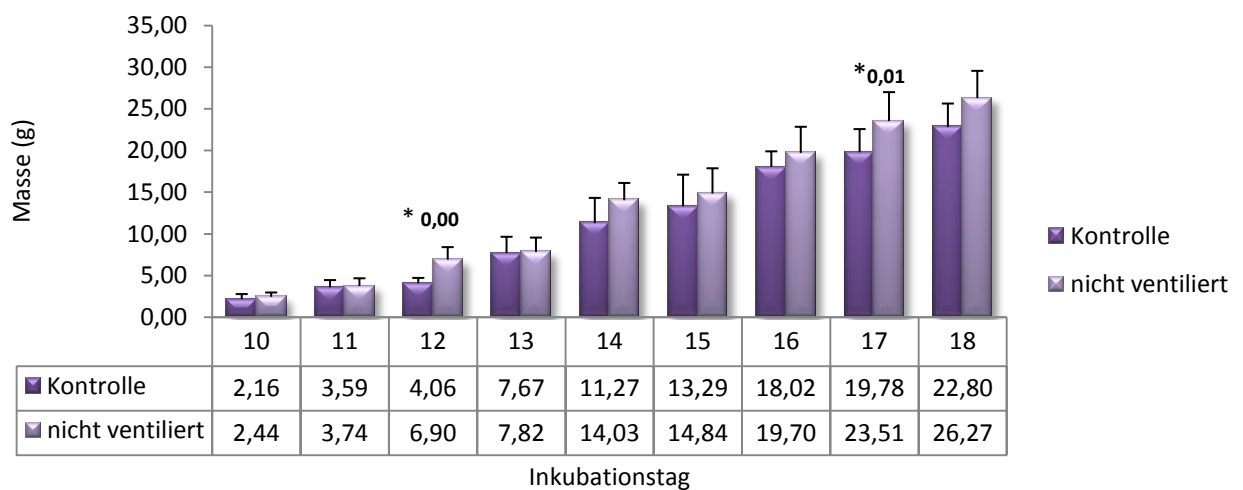
Im Vergleich beider Versuchsgruppen fallen auch bei der Broiler-Linie Isa keine signifikanten Unterschiede in der Größenentwicklung auf. Auffällig ist aber, dass die **Tiere der GG** vom 11. bis zum 16. Inkubationstag größer sind als die Tiere der nicht-ventilierter Inkubation und insgesamt mit 5,06 cm **den größten Zuwachs in der Körpergröße** zeigen.

### 4.1.2. Absolute Embryonenmassen (abs. EM)

#### 4.1.2.1. Broiler-Linie Ross



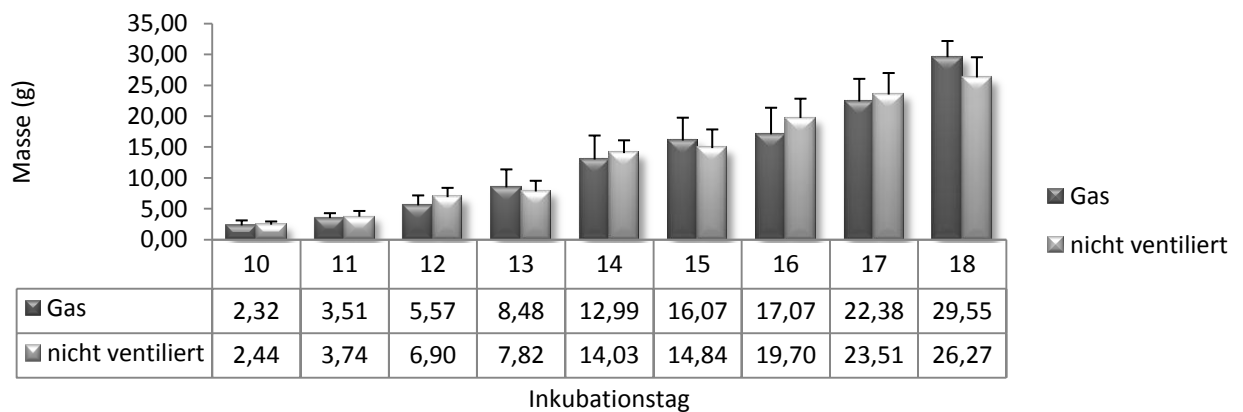
Diag. 7: Darstellung der Masseentwicklung (Mittelwerte mit Standardabweichung) der Embryonen aus GG und KG. Signifikante Unterschiede sind mit Sternchen gekennzeichnet (t-Test, N=170).



Diag. 8: Darstellung der Masseentwicklung (Mittelwerte mit Standardabweichung) der Embryonen aus NVG und KG. Signifikante Unterschiede sind mit Sternchen gekennzeichnet (t-Test, N=161).

Die Diagramme 7 und 8 zeigen den Mittelwertvergleich zwischen den Versuchsgruppen und der KG der Broiler-Linie Ross. Alle Gruppen zeigen deutliche, sich kontinuierlich steigernde Massenzunahmen im Verlauf des Beobachtungszeitraumes. Die mittleren Zunahmen der Gruppen liegen in dem Zeitraum von D 10 bis D 18 bei 20,64 g (KG), 23,83 g (NVG) und 27,23 g (GG). Die **GG zeigt in dem beobachteten Zeitraum also den größten Massezuwachs.**

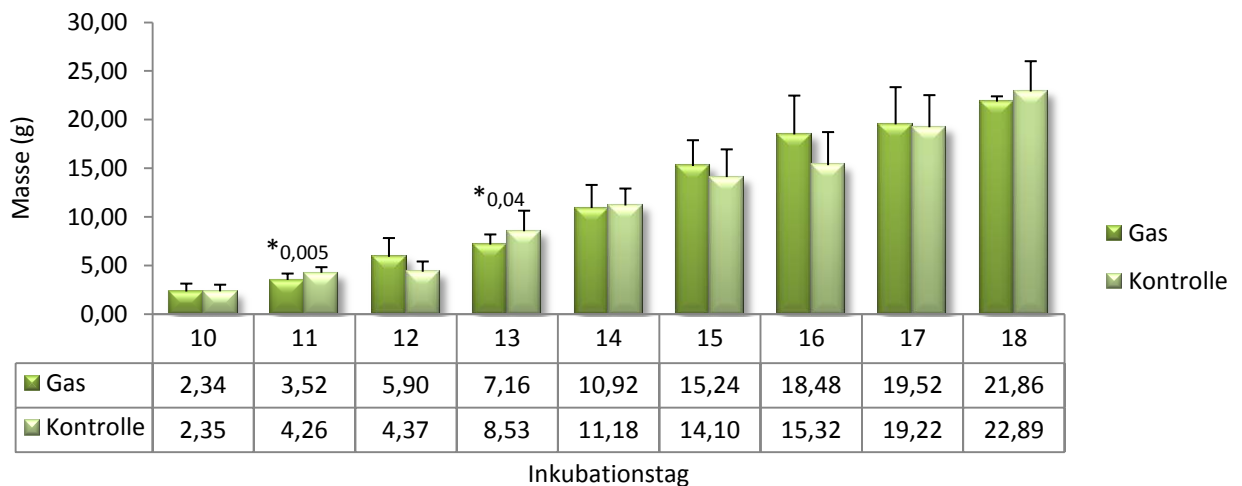
Am 10. Inkubationstag sind die Tiere der KG im Mittel die leichtesten Tiere (2,16 g) während die NVG an diesem Tag die schwersten Tiere (2,44 g) aufweist. Am 18. Inkubationstag sind die Embryonen der GG die schwersten Tiere (29,55 g). Im Durchschnitt liegen die Massen der Kontrolltiere unter denen beider Versuchsgruppen. Signifikante Unterschiede zwischen der GG und der KG bestehen an D 12 und D 18. An diesen Tagen sind die Embryonen der GG signifikant schwerer als die Kontrolltiere. Auch zwischen den Tieren der NVG und der KG bestehen signifikante Unterschiede. An den Inkubationstagen 12 und 17 sind die Tiere aus nicht-ventilierter Inkubation signifikant schwerer als die Kontrolltiere.



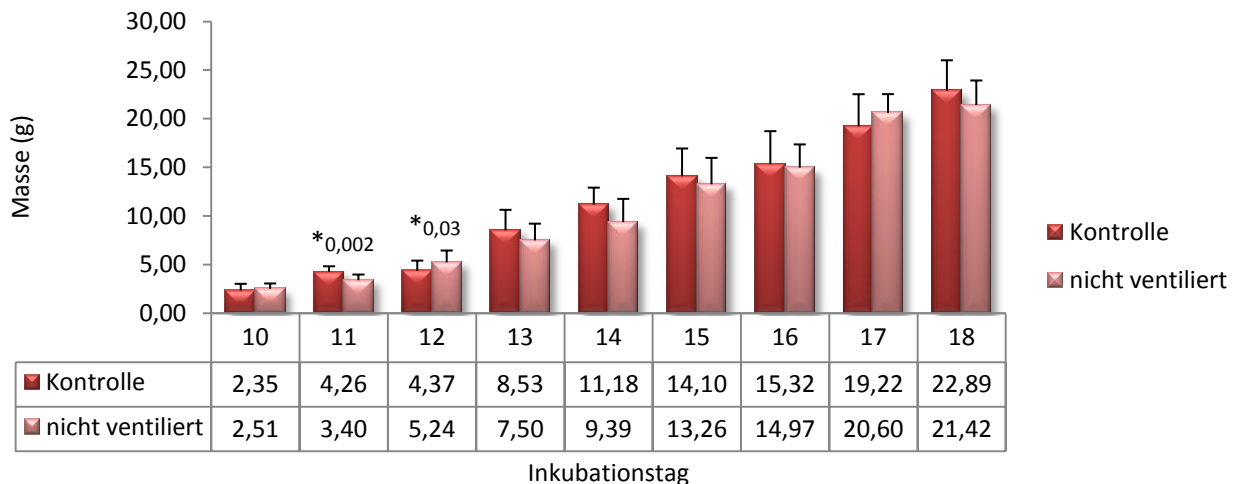
Diag. 9: Darstellung der Entwicklung der Körpermassen (Mittelwerte mit Standardabweichung) beider Versuchsgruppen (N=167).

Bei der Darstellung beider Versuchsgruppen können erneut keine signifikanten Unterschiede hervorgehoben werden. Dennoch ist die Masseentwicklung der Embryonen der GG regelmäßiger als die der **nicht-ventilieren Tiere, die von D 12- 13 und D 14-15 eine Plateauphase** aufweisen und in diesen Tagen im Durchschnitt nur 0,92 bzw. 0,81 g zunehmen. Die durchschnittlichen Zunahmen der GG an diesen Tagen betragen 3,27 bzw. 3,08 g. Besonders in den letzten 3 Tagen des Beobachtungszeitraumes (D 16 bis 18) steigen die mittleren Zunahmen in der GG steiler an als in der KG- oder NVG.

4.1.2.2. Broiler-Linie Isa



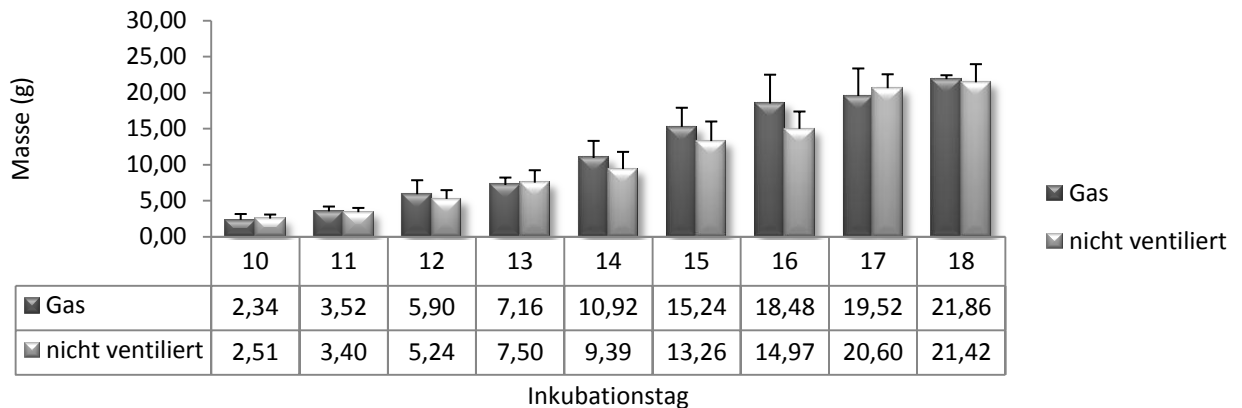
Diag. 10: Darstellung der Masseentwicklung (Mittelwerte mit Standardabweichung) der Embryonen der GG und KG. Signifikante Unterschiede sind mit Sternchen gekennzeichnet (t-Test, N=191).



Diag. 11: Darstellung der Masseentwicklung (Mittelwerte mit Standardabweichung) der Embryonen der NVG und der KG. Signifikante Unterschiede sind mit Sternchen gekennzeichnet (t-Test, N=187).

Auch bei der Broiler-Linie Isa ist im Beobachtungszeitraum ein kontinuierlich steigender Verlauf der Embryonenmasse in allen Gruppen zu beobachten. Die mittleren Gesamtzunahmen der Gruppen im Untersuchungszeitraum sind 20,45 g (KG), 18,91 g (NVG) und 19,52 g (GG). Bei dieser Broiler-Linie sind **die Tiere der KG diejenigen mit dem größten Massezuwachs**. An D 10 sind erneut die Tiere aus der GG die leichtesten Tiere und die Embryonen aus der NVG die schwersten. Wie auch bei der Auswertung der Größenverhältnisse, zeichnet sich bei der Entwicklung der Massenverhältnisse keine eindeutige Tendenz ab. An 5 von 9 Beobachtungstagen liegt die absolute Embryonenmasse der KG über dem der NVG. Auch im Vergleich zwischen der GG und KG liegen die Embryonen aus der KG an 5 von 9 Beobachtungstagen in der Masse vor den Tieren der

GG. Signifikante Unterschiede zwischen der GG und KG bestehen an den Inkubationstagen 11 und 13, an denen die Kontrolltiere signifikant schwerer sind als die Tiere der GG. Signifikanzen gibt es auch zwischen der NVG und der KG an den Inkubationstagen 11 und 12. An D 11 ist erneut die KG signifikant schwerer als die Tiere aus nicht-ventilierter Inkubation, während es sich an D 12 genau gegensätzlich verhält.



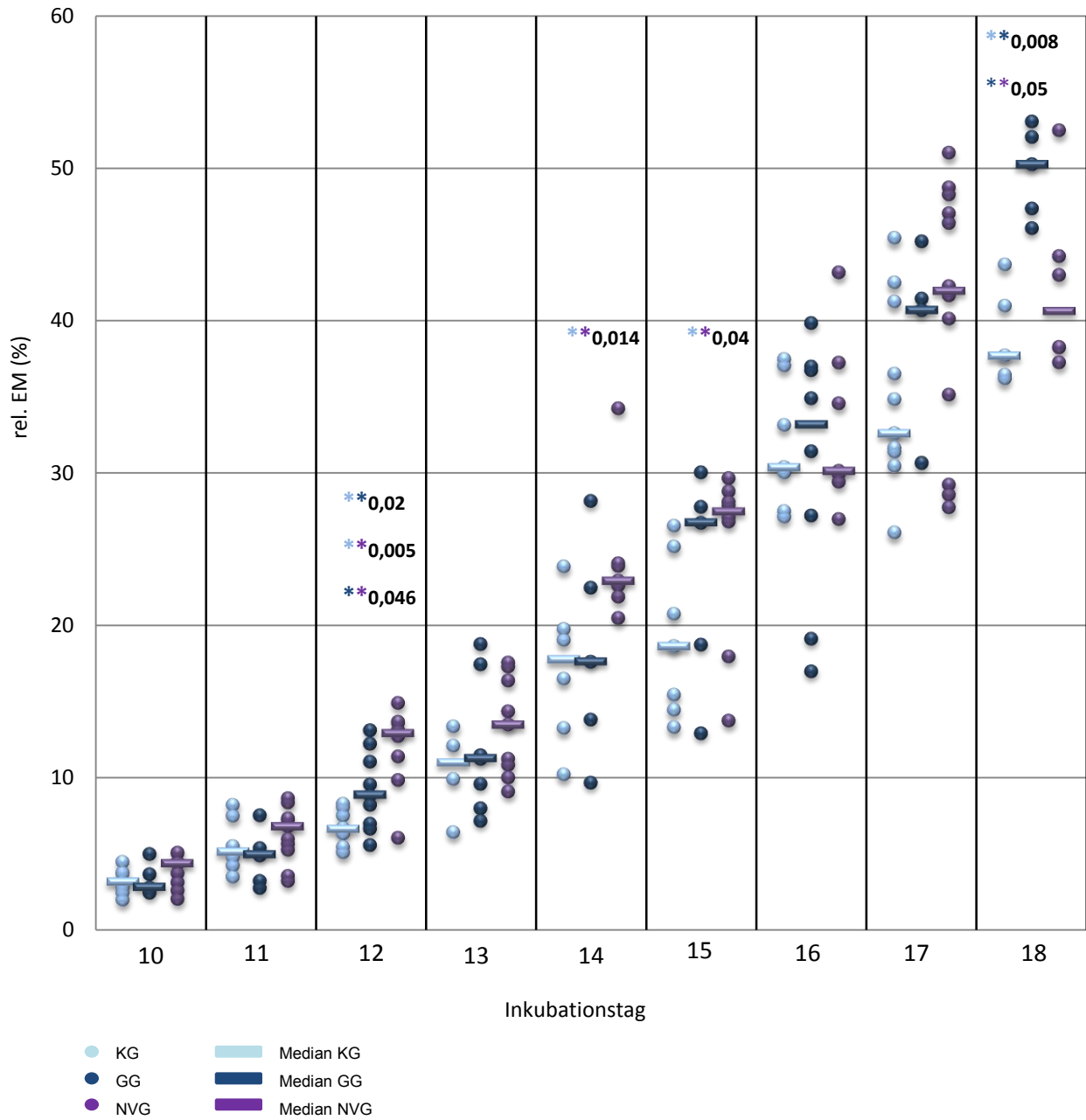
Diag. 12: Darstellung der Masseentwicklung (Mittelwerte mit Standardabweichung) der Embryonen beider Versuchsgruppen (N=162).

Im Vergleich beider Versuchsgruppen gibt es in der Gewichtsentwicklung keine signifikanten Unterschiede, jedoch stellt sich an den letzten beiden Tagen des Beobachtungszeitraums erneut ein **Plateau in der Entwicklung der Tiere aus nicht-ventilierter Inkubation** dar, welches dazu führt, dass die Embryonen der GG an D 18 tendenziell eine höhere Körpermasse aufweisen. In diesem Zeitraum ist die mittlere Zunahme 0,82 g, während die Embryonen der GG in dieser Zeit 2,34 g zunahmten. Insgesamt zeigen die **Embryonen der GG auch höhere Gesamtzunahmen**, obwohl sie an D 10 mit einem Gewicht von 2,51 g die leichtesten Tiere darstellen. An den Inkubationstagen 14-16 stellen sich die Unterschiede in der Masseentwicklung im Diagramm besonders deutlich dar.



4.1.3. Relative Embryonenmassen (rel. EM)

4.1.3.1. Broiler-Linie Ross



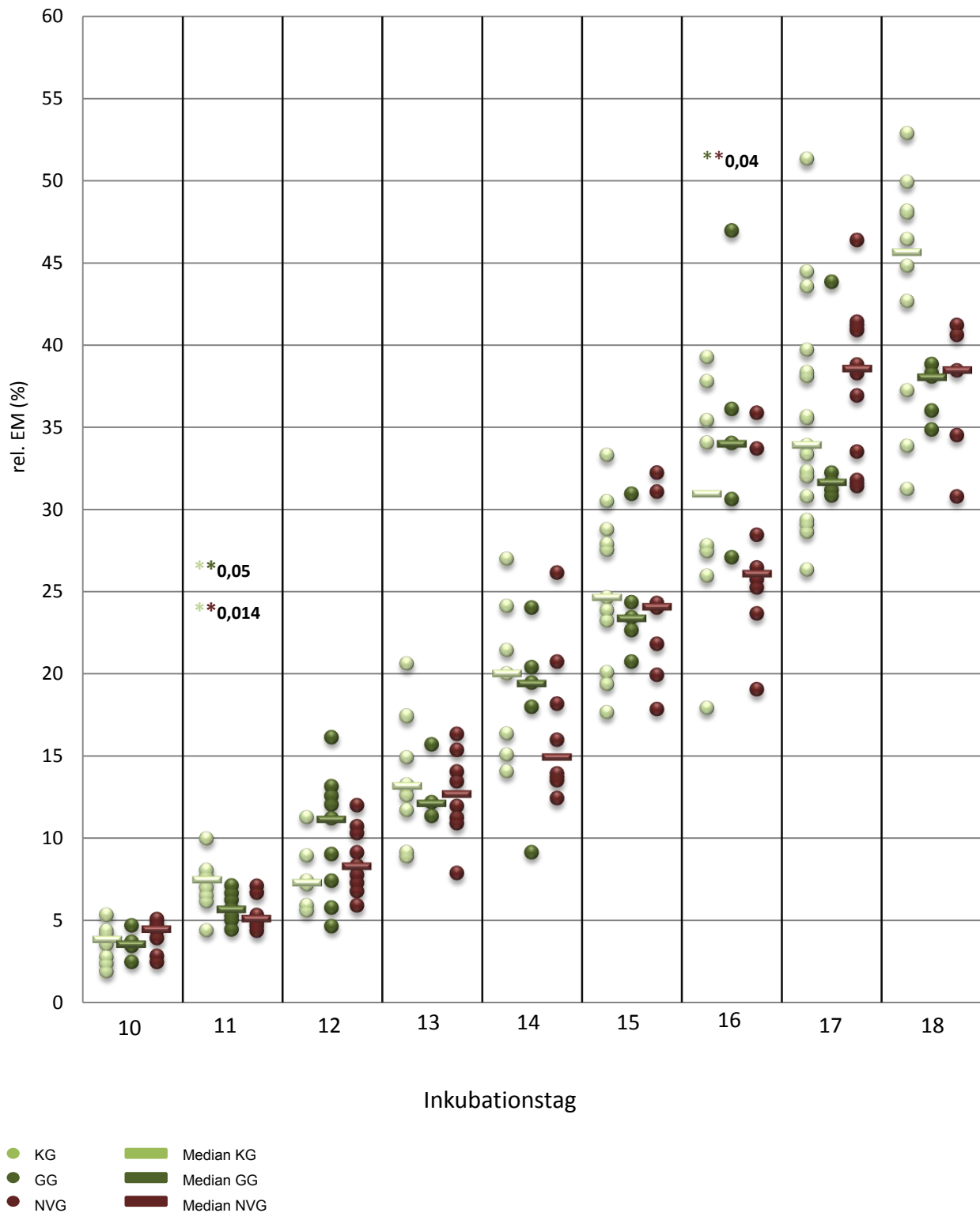
Diag. 13: Darstellung der relativen Embryonenmassen (Streuung um den Median) der Versuchs- und Kontrollgruppen. Signifikante Unterschiede werden mit Sternchen gekennzeichnet (U-Test). Farbige Sternchen kennzeichnen Unterschiede zwischen den gleichfarbigen Versuchsgruppen. (N=249)

Ross	rel. EM (%)	Inkubationstag								
		10	11	12	13	14	15	16	17	18
KG	Max	4,45	8,19	8,26	13,33	23,81	26,49	37,40	45,34	43,58
	Median	<b>3,16</b>	<b>5,13</b>	<b>6,62</b>	<b>10,98</b>	<b>17,73</b>	<b>18,61</b>	<b>30,32</b>	<b>32,55</b>	<b>37,63</b>
	Min	1,99	3,49	5,09	6,41	10,19	13,28	27,07	26,03	36,12
GG	Max	5,05	7,58	13,16	18,80	28,17	30,05	39,83	45,17	53,01
	Median	<b>2,85</b>	<b>4,99</b>	<b>8,89</b>	<b>11,29</b>	<b>17,63</b>	<b>26,75</b>	<b>33,17</b>	<b>40,67</b>	<b>50,22</b>
	Min	2,51	2,83	5,54	7,22	9,71	12,95	17,01	30,65	46,04
NVG	Max	5,06	8,64	14,89	17,53	34,20	29,62	43,11	50,96	52,43
	Median	<b>4,38</b>	<b>6,80</b>	<b>12,91</b>	<b>13,47</b>	<b>22,89</b>	<b>27,45</b>	<b>30,10</b>	<b>41,91</b>	<b>40,59</b>
	Min	2,04	3,22	6,03	9,08	20,44	13,72	26,93	27,72	37,21

Tab. 8: Darstellung der maximalen, minimalen Werte und der Mediane der rel. Embryonenmasse der Versuchs- und Kontrollgruppen. Signifikante Unterschiede der Mediane sind rot hervorgehoben.

Auch in dieser Darstellung zeigt sich in Diagramm 13 mit dazugehöriger Tabelle 8, dass sowohl die Embryonen der GG als auch der NVG am Ende des Beobachtungszeitraumes schwerer sind als die Kontrolltiere. Jedoch zeigen sich nun auch vorher verdeckte Signifikanzen in der Entwicklung zwischen der NVG und den Kontrolltieren. So zeigen sich hier an D 12, 14 und 15 signifikante Unterschiede zwischen diesen Gruppen. Unter Berücksichtigung der Eimassen ist in dieser Darstellung deutlich zu sehen, dass die **Embryonen der GG am Ende der Beobachtungsperiode signifikant schwerer** sind als die Tiere aus NVG und KG. Die relativen Embryonenmassen der einzelnen Gruppen steigen während des Beobachtungszeitraumes an. Die stärksten Zunahmen in der KG liegen zwischen D 13/14 und D 15/16. Die unterschiedliche Entwicklung der relativen Embryonenmasse beginnt in der GG zwischen dem 14. und 15. Inkubationstag. Die relativen Zunahmen in der Embryonenmasse der GG steigern sich ab diesem Zeitraum im Durchschnitt doppelt so stark wie die Zunahmen der KG. In der Gruppe der NVG liegen die stärksten relativen Massezunahmen zwischen den Inkubationstagen 11/12, 13/14. Es zeigen sich **am Ende der Beobachtungsperiode keine signifikanten Unterschiede zwischen der NVG und der KG.**

4.1.3.2. Broiler-Linie Isa



Diag. 14: Darstellung der relativen Embryonenmassen (Streuung um den Median) der Versuchs- und Kontrollgruppen. Signifikante Unterschiede werden mit Sternchen gekennzeichnet (U-Test). Farbige Sternchen kennzeichnen Unterschiede zwischen den gleichfarbigen Versuchsgruppen. (N=270)

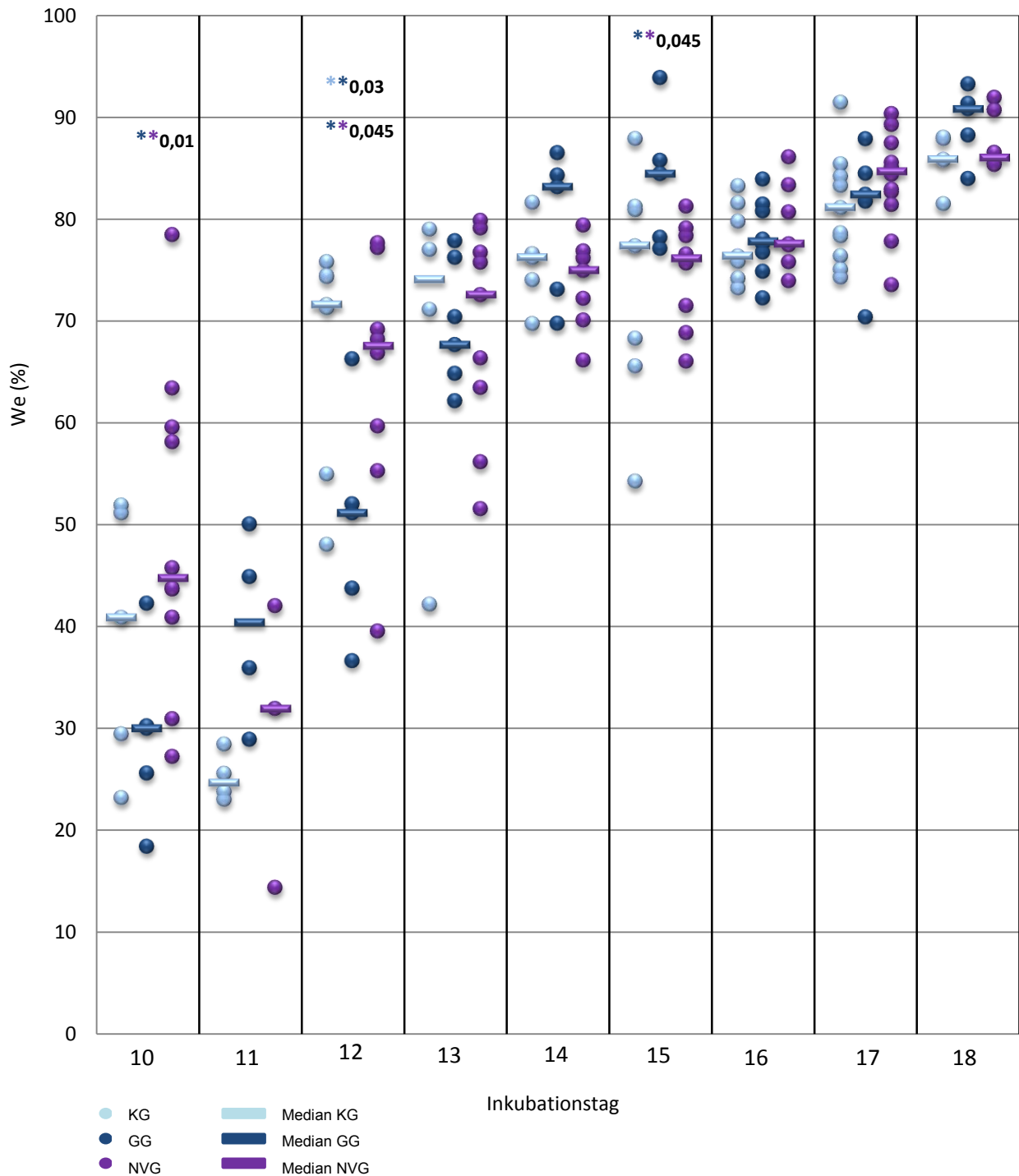
Isa	rel. EM (%)	Inkubationstag									
		10	11	12	13	14	15	16	17	18	
KG	Max	5,34	9,97	11,27	20,60	26,97	33,38	39,23	51,28	52,84	
	Median	<b>3,86</b>	<b>7,48</b>	<b>7,30</b>	<b>13,18</b>	<b>20,01</b>	<b>24,62</b>	<b>30,91</b>	<b>33,87</b>	<b>45,58</b>	
	Min	1,90	4,40	5,60	8,88	14,05	17,64	17,91	26,31	31,21	
GG	Max	4,68	7,11	16,11	15,67	23,99	30,89	46,87	43,76	38,76	
	Median	<b>3,61</b>	<b>5,71</b>	<b>11,18</b>	<b>12,15</b>	<b>19,43</b>	<b>23,38</b>	<b>33,97</b>	<b>31,64</b>	<b>38,01</b>	
	Min	2,47	4,44	4,63	11,33	9,12	20,70	27,04	30,78	34,79	
NVG	Max	5,06	7,08	11,98	16,31	26,11	32,19	35,83	46,31	41,16	
	Median	<b>4,49</b>	<b>5,13</b>	<b>8,31</b>	<b>12,68</b>	<b>14,93</b>	<b>24,05</b>	<b>26,05</b>	<b>38,49</b>	<b>38,40</b>	
	Min	2,45	4,35	5,88	7,86	12,40	17,82	19,02	31,36	30,73	

Tab. 9: Darstellung der maximalen, minimalen Werte und der Mediane der rel. Embryonenmasse der Versuchs- und Kontrollgruppen. Signifikante Unterschiede der Mediane sind rot hervorgehoben.

Durch die Darstellung in Diagramm 14 mit dazugehöriger Tabelle 9 wird die **vorteilhafte Gewichtsentwicklung der KG gegenüber den Versuchsgruppen** dieser Broiler-Linie deutlich. Die Tiere dieser Gruppe sind am Ende der Beobachtungsperiode deutlich schwerer und machen fast 46% der Eimasse aus, während sowohl die Tiere der GG und die Embryonen der NVG ca. 38% der Eimasse aufweisen und sich damit in dem beobachteten Zeitraum annähernd gleich entwickelt haben. Die größten Zunahmen der relativen Embryonenmasse liegen bei den Tieren aus der KG zwischen den Inkubationstagen 12/13, 15/16 und 17/18. Signifikante Unterschiede sind vor allem am 11. Inkubationstag zu beobachten, an dem die Tiere der KG signifikant schwerer sind als die Tiere der anderen Versuchsgruppen. Am 16. Inkubationstag besteht ein signifikanter Unterschied der relativen Embryonenmasse zwischen den Tieren der Versuchsgruppen. An diesem Tag sind die Tiere der GG schwerer als die Tiere aus NVG. Dieser Unterschied besteht aber schon am nächsten Inkubationstag nicht mehr. Die Tiere der NVG sind sowohl an den Tagen davor als auch an den folgenden Inkubationstagen der Beobachtungsperiode schwerer als die Tiere der GG.

### 4.1.4. Wachstumseffizienz (We)

#### 4.1.4.1. Broiler-Linie Ross



Diag. 15: Darstellung der Wachstumseffizienz (Streuung um den Median) der Versuchs- und Kontrollgruppen. Signifikante Unterschiede werden mit Sternchen gekennzeichnet (U-Test). Farbige Sternchen kennzeichnen Unterschiede zwischen den gleichfarbigen Versuchsgruppen. (N=249)

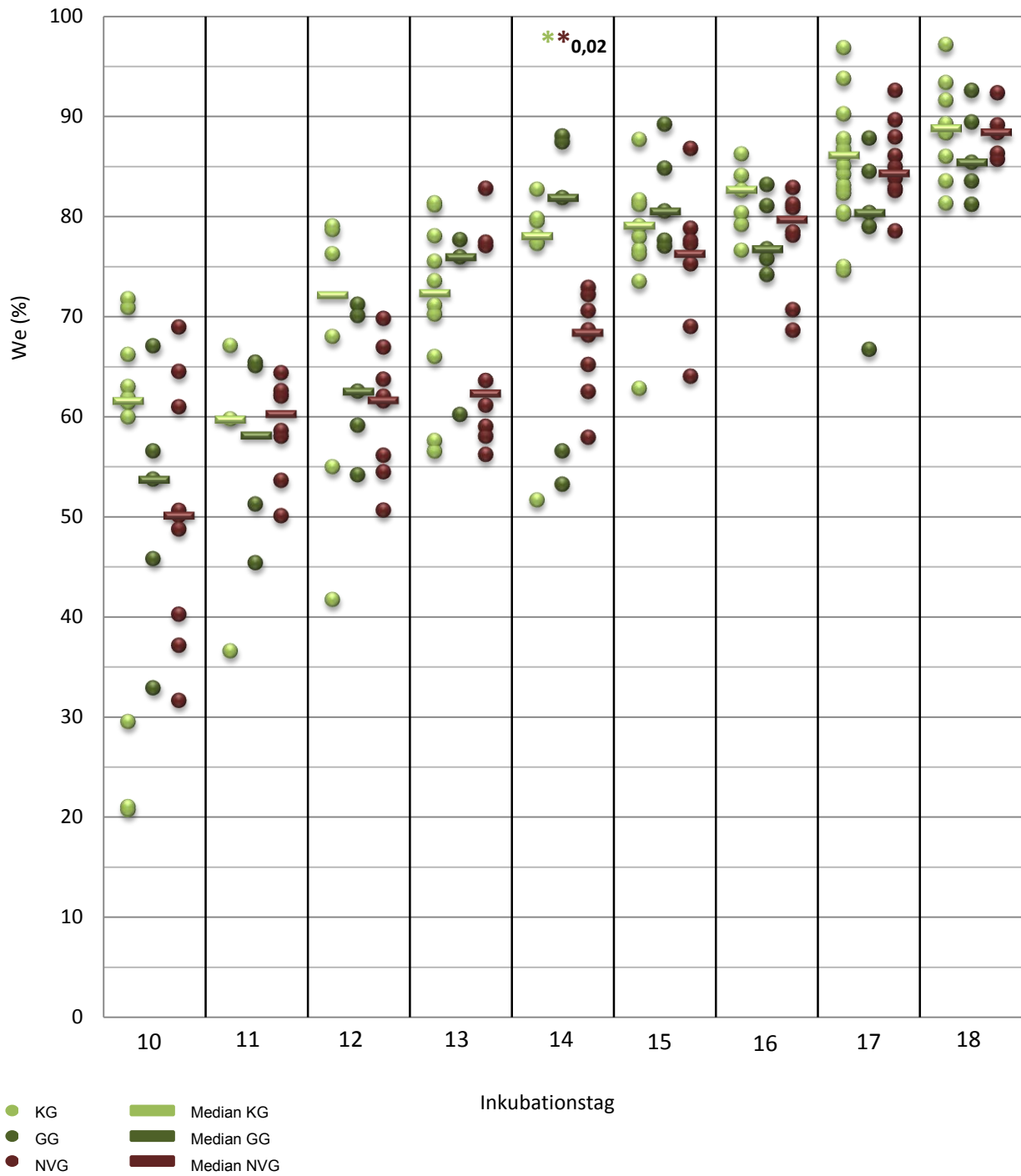
Ross	We (%)	Inkubationstag									
		10	11	12	13	14	15	16	17	18	
KG	Max	51,89	28,47	75,77	78,94	81,56	87,82	83,19	91,38	87,96	
	Median	<b>40,89</b>	<b>24,70</b>	<b>71,54</b>	<b>74,01</b>	<b>76,16</b>	<b>77,31</b>	<b>76,30</b>	<b>81,06</b>	<b>85,77</b>	
	Min	23,22	23,81	48,04	42,18	69,69	54,25	73,18	74,23	81,45	
GG	Max	42,29	50,07	66,23	77,80	86,43	93,78	83,84	87,81	93,17	
	Median	<b>30,04</b>	<b>40,42</b>	<b>51,14</b>	<b>67,63</b>	<b>83,11</b>	<b>84,39</b>	<b>77,75</b>	<b>82,35</b>	<b>90,73</b>	
	Min	18,45	28,95	36,66	62,13	69,72	77,05	72,20	70,34	83,91	
NVG	Max	78,43	42,04	77,62	79,81	79,36	81,22	86,03	90,27	91,89	
	Median	<b>44,76</b>	<b>31,96</b>	<b>67,49</b>	<b>72,52</b>	<b>74,92</b>	<b>76,07</b>	<b>77,52</b>	<b>84,60</b>	<b>85,94</b>	
	Min	27,28	14,44	39,58	51,56	66,12	66,02	73,89	73,52	85,29	

Tab. 10: Darstellung der maximalen, minimalen Werte und der Mediane der Wachstumseffizienz der Versuchsgruppen und der KG. Signifikante Unterschiede der Mediane sind rot hervorgehoben.

In Diagramm 15 mit der dazugehörigen Tabelle 10 ist eine deutliche **Steigerung der Wachstumseffizienz** während des Inkubationsverlaufes von D 10-18 zu sehen. Der stärkste Anstieg bei allen Gruppen ist zwischen den Tagen 11 und 12 zu finden. Die Tiere der GG zeigen die geringste Wachstumseffizienz an D 10, aber die höchste Wachstumseffizienz am 18. Inkubationstag. Die höchste Wachstumseffizienz an D 10 ist bei den Tieren der NVG vorhanden. Am Ende des Untersuchungszeitraumes liegt sie mit 85,94% nur ca. 0,23% über derjenigen der KG, die an der Mehrzahl der Inkubationstage unter den Werten der beiden Versuchsgruppen liegt.

Aus Diagramm 15 ist ersichtlich, dass am letzten Tag des Inkubationseinflusses (D 10) die Tiere der NVG eine signifikant gesteigerte Wachstumseffizienz gegenüber den Tieren der GG aufweisen. Dieser Vorsprung bleibt bis zum 12. Inkubationstag bestehen. Auch an D 12 zeigen die Tiere der NVG eine signifikante Steigerung der Wachstumseffizienz gegenüber den Tieren der GG. Das verändert sich **ab dem 14. Inkubationstag**. Ab diesem Inkubationstag **weisen die Tiere der GG eine zum Teil signifikant verbesserte Wachstumseffizienz auf**, die dann bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes über derjenigen der Tiere aus den beiden anderen Gruppen liegt.

4.1.4.2. Broiler-Linie Isa



Diag. 16: Darstellung der Wachstumseffizienz (Streuung um den Median) der Versuchs- und Kontrollgruppen. Signifikante Unterschiede werden mit Sternchen gekennzeichnet (U-Test). Farbige Sternchen kennzeichnen Unterschiede zwischen den gleichfarbigen Versuchsgruppen. (N=270)

Isa	We (%)	Inkubationstag								
		10	11	12	13	14	15	16	17	18
KG	Max	71,74	67,06	78,99	81,28	82,65	87,60	86,18	96,77	97,07
	Median	<b>61,62</b>	<b>59,56</b>	<b>72,10</b>	<b>72,30</b>	<b>77,95</b>	<b>79,00</b>	<b>82,54</b>	<b>85,97</b>	<b>88,66</b>
	Min	20,08	36,62	41,77	56,54	51,67	62,81	76,58	74,55	81,25
GG	Max	67,03	65,39	71,16	77,59	87,91	89,08	83,08	87,69	92,44
	Median	<b>53,77</b>	<b>58,16</b>	<b>62,52</b>	<b>75,87</b>	<b>81,77</b>	<b>80,42</b>	<b>76,68</b>	<b>80,28</b>	<b>85,28</b>
	Min	32,97	45,43	54,19	60,19	53,26	76,93	74,11	66,67	81,11
NVG	Max	68,88	64,33	69,75	82,70	72,84	86,66	82,79	92,46	92,24
	Median	<b>50,19</b>	<b>60,28</b>	<b>61,64</b>	<b>62,31</b>	<b>68,35</b>	<b>76,20</b>	<b>79,57</b>	<b>84,18</b>	<b>88,26</b>
	Min	31,67	50,08	50,64	56,18	57,90	63,99	68,58	78,46	85,60

Tab. 11: Darstellung der maximalen, minimalen Werte und der Mediane der rel. Embryonenmasse der Versuchs- und Kontrollgruppen. Signifikante Unterschiede der Mediane sind rot hervorgehoben.

Die Boiler-Linie Isa zeigt in der Wachstumseffizienz in allen Gruppen von D 10-13 die stärkste Steigerung. Die KG zeigt, verglichen mit den beiden Versuchsgruppen, an der Mehrzahl der Inkubationstage eine höhere Wachstumseffizienz als die Tiere der Versuchsgruppen. Signifikante Unterschiede bestehen am 14. Inkubationstag zwischen den Tieren der NVG und der KG.

#### 4.1.5. Zusammenfassung der Parameter des embryonalen Wachstums

Die folgenden Tabellen bieten eine Kurzdarstellung über die Ergebnisse der Versuchsgruppen verglichen mit der KG am letzten Tag (D 10) des Einflusses veränderter Inkubationsbedingungen (Tab. 12) und die durchschnittlichen Entwicklungstendenzen nach dem Wiederherstellen der normalen Inkubationsbedingungen (Tab. 13).

Broiler-Linie	Versuchsgruppe	Parameter				
		Größe	abs. Körpermasse	rel. Körpermasse	Wachstumseffizienz	Anzahl d. getesteten Embryonen
Ross	GG	↓	↑	↓	↓	10
	NVG	↑	↑	↑	↑	11
Isa	GG	↓	↓	↓	↓	12
	NVG	↓	↑	↑	↓	10

Tab. 12: Übersicht über die allgemeine embryonale Entwicklung am 10. Inkubationstag im Vergleich zur KG

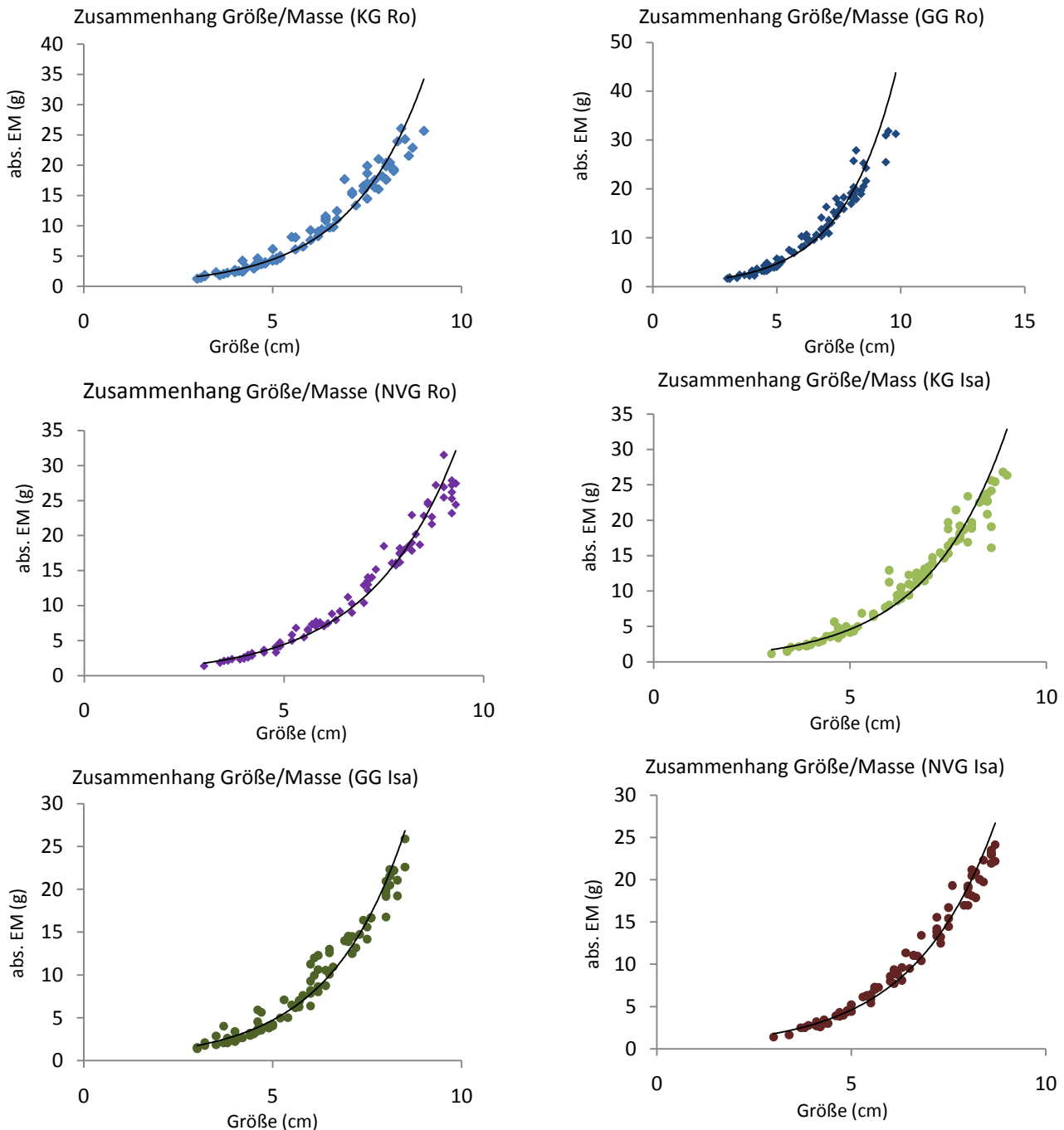


Broiler-Linie	Versuchsgruppe	Parameter				
		Größe	abs. Körpermasse	rel. Körpermasse	Wachstumseffizienz	Anzahl der getesteten Embryonen
Ross	GG	↑	↑	↑	↑	78
	NVG	↑	↑	↑	→	68
Isa	GG	→	→	↓	↓	71
	NVG	↓	↓	↓	↓	69

**Tab. 13: Übersicht über die durchschnittliche allgemeine embryonale Entwicklung vom 11.-18. Inkubationstag im Vergleich zur KG**

Die Tabellen 12 und 13 verdeutlichen eine unterschiedliche Entwicklungstendenz der Broiler-Linien während und nach dem Einfluss der veränderten Inkubation. An D 10 (Tab. 12) weisen die Tiere der NVG innerhalb der Broiler-Linie Ross zunächst eine scheinbar bessere Entwicklung in Größe und Masse auf, was sich in der gegenüber der KG verbesserten Wachstumseffizienz reflektiert. Die GG beider Broiler-Linien scheint an D 10 die schlechtesten Voraussetzungen aufzuweisen. Bis auf einen signifikanten Unterschied in der Wachstumseffizienz sind zwischen beiden Versuchsgruppen jedoch keine der aufgetretenen Unterschiede signifikant und weisen nur einen tendenzielle Abweichung vom Mittelwert bzw. Median auf. In der Periode nach der nicht-ventilierten Inkubation zeigen die Tiere der GG innerhalb der Broiler-Linie Ross das größte Gesamt-Wachstum in der beobachteten Zeit (Tab. 13) und stellen zudem die im Mittel größten Embryonen am 18. Inkubationstag dar. Innerhalb der Broiler-Linie Isa sind die Kontroll-Tiere am Ende des Versuchszeitraumes im Mittel die größten Tiere, obwohl die Embryonen der GG auch hier in dem beobachteten Zeitraum den größten Gesamtzuwachs in der Kopf-Steiß-Länge zeigten. Die höchsten Gesamtzunahmen zeigen innerhalb der Broiler-Linie Ross auch die Embryonen der GG (Tab. 13). Am Ende des Beobachtungszeitraumes sind sie im Mittel die schwersten Tiere. Bei den Tieren der Broiler-Linie Isa weist die KG die höchste Massenzunahme und die höchste Endmasse am 18. Inkubationstag auf. Die höchsten relativen Embryonenmassen in der Broiler-Linie Ross weisen ebenfalls die Embryonen der GG auf (Tab. 13). Innerhalb der Broiler-Linie Isa machen hingegen die Tiere aus der KG den größten prozentualen Anteil am Eigewicht aus.

Auch die höchste Wachstumseffizienz weisen am Ende der Beobachtung die Tiere der GG aus der Ross-Linie auf (Tab. 13). Bei der Broiler-Linie Isa zeigen die Tiere der KG am Ende des Versuchszeitraums die höchste Wachstumseffizienz.



**Abb. 19: Darstellung des Zusammenhangs zwischen Körpergröße und Masse der Versuchsgruppen beider Broiler-Linien während der embryonalen Entwicklung von D 10 bis D 18.**

Aus Abb. 19 ist ersichtlich, dass bei beiden Broiler-Linien innerhalb aller Versuchsgruppen die Körpermasse positiv mit der Körpergröße korreliert. Die Körpermasse steigt also im Beobachtungszeitraum exponentiell zur Körpergröße an. Den stärksten Anstieg der Masse in Abhängigkeit zum Anstieg der Körpergröße zeigen die Embryonen der KG der Ross-Linie.

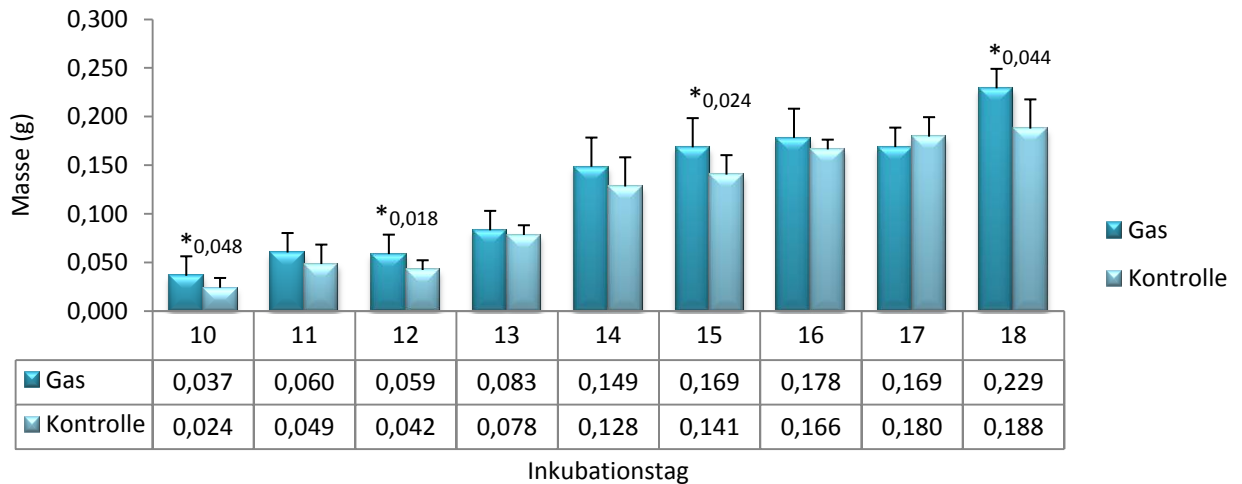
##### Allgemeine Entwicklung der KG beider Broiler-Linien

Die KG beider Broiler-Linien zeigen im Beobachtungszeitraum die gleiche Größenentwicklung. Die Tiere der Broiler-Linie Isa sind im Mittel am Ende des Versuchszeitraumes jedoch 35 mm größer als die Tiere der Broiler-Linie Ross. Die KG beider Broiler-Linien zeigen hinsichtlich der Masseentwicklung im beobachteten Zeitraum keine Unterschiede. Die Tiere der Broiler-Linie Ross weisen am Ende des Versuchszeitraumes im Mittel ein nahezu identisches, absolutes Embryonengewicht auf. Die Embryonen der Broiler-Linie Isa zeigen an fast allen Tagen des Beobachtungszeitraumes höhere relative Embryonenmassen als die Tiere der Broiler-Linie Ross. Auch in der Betrachtung der Wachstumseffizienz zeigen die Tiere der Broiler-Linie Isa im Vergleich der KG während der Beobachtungsperiode an der Mehrzahl der Tage eine höhere Wachstumseffizienz als die Kontrolltiere der Broiler-Linie Ross. Die Häufigkeit der Signifikanzen unterscheidet sich zwischen beiden Broiler-Linien in Umfang und Zeitpunkt des Auftretens. Während bei der Broiler-Linie Ross die signifikanten Unterschiede gehäuft am 12. Inkubationstag auftreten, zeigen die Gruppen der Isa-Linie das größte Vorkommen signifikanter Unterschiede schon am 11. Inkubationstag. Insgesamt betrachtet weist die Broiler-Linie Ross sehr viel mehr signifikante Unterschiede auf als die Tiere der Broiler-Linie Isa. Die Tiere der Ross-Linie scheinen von den veränderten Inkubationsbedingungen in der allgemeinen Entwicklung stärker beeinflusst zu werden.

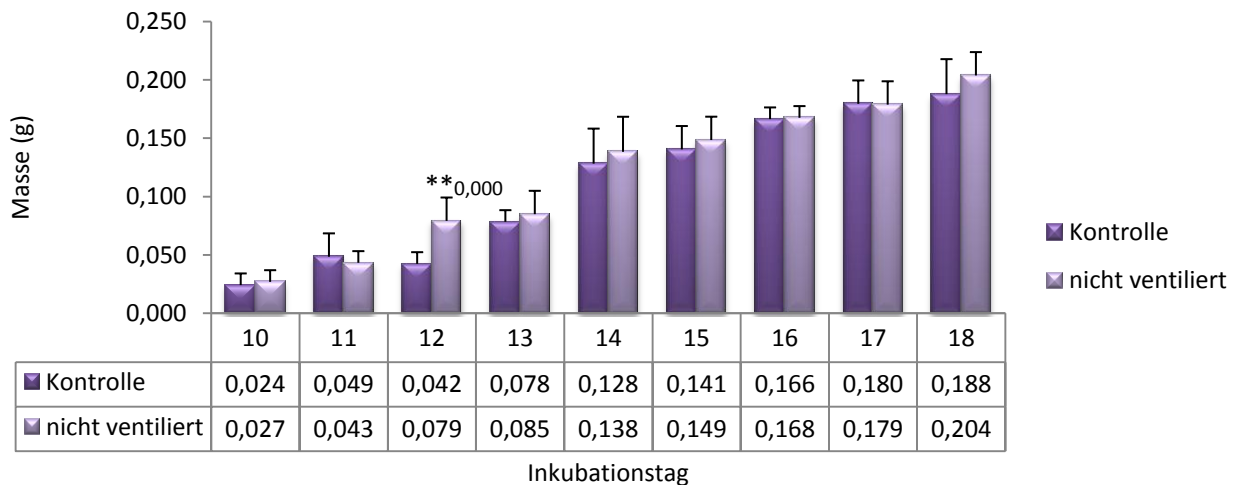
## 4.2. Makroskopische Untersuchung der Herzen

### 4.2.1. Absolute Herzmassen (abs. HM)

#### 4.2.1.1. Broiler-Linie Ross



Diag. 17: Darstellung der absoluten Herzmassen (Mittelwerte mit Standardabweichung) der Embryonen aus der GG und KG. Signifikante Unterschiede sind mit Sternchen markiert (t-Test, N=170).

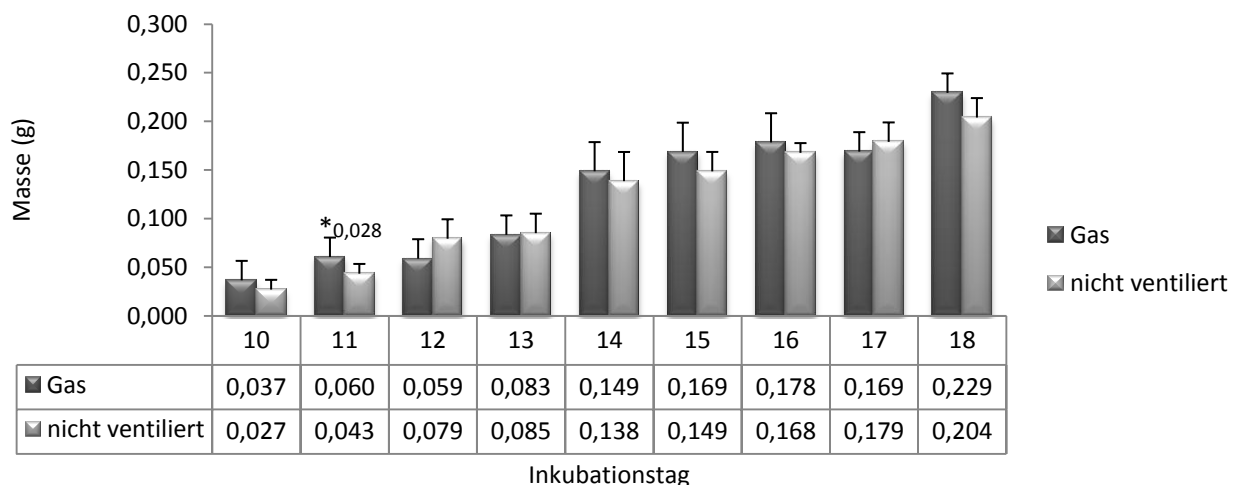


Diag. 18: Darstellung der absoluten Herzmassen (Mittelwerte mit Standardabweichung) der Embryonen aus NVG und KG. Signifikante Unterschiede sind mit Sternchen markiert (t-Test, N=161).

In den Diagrammen 17 und 18 sind die absoluten Herzmassen der Versuchsgruppen und der KG dargestellt. In allen Gruppen ist eine Steigerung der Herzmasse im Inkubationszeitraum festzustellen. Die mittlere Gesamtzunahme der Herzen beträgt 0,164 g bei den Tieren der KG, 0,192 g bei den Tieren der GG und 0,177 g bei den Embryonen der NVG.

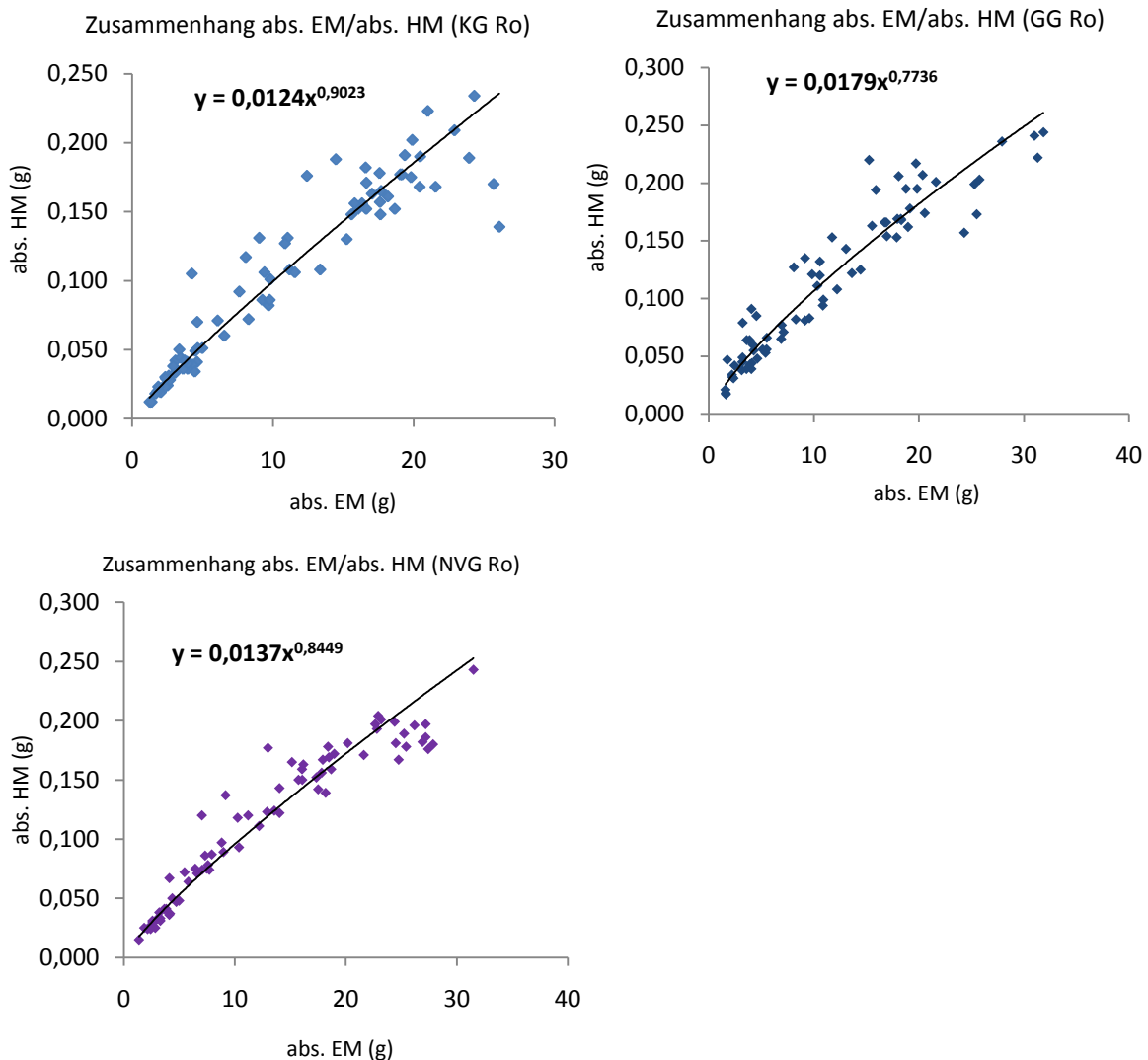
Damit zeigen **die Tiere aus der GG die stärkste Massenzunahme am Herzen** innerhalb des beobachteten Zeitraumes. Am letzten Tag der veränderten Inkubationsbedingungen (D 10) weisen die Tiere der KG mit 0,024 g die geringsten absoluten Herzmassen auf. Die höchsten Herzmassen an D 10 sind mit 0,037 g in der GG vorhanden.

Die **Massesteigerung der Herzen in den ersten 4 Beobachtungstagen (D 10- 13) ist rasant** und liegt fast immer bei 50% der Ausgangsmasse. **Ab D 14 werden die Zunahmen geringer** und liegen bei weniger als 30% des Ausgangswertes. **Dieser Verlauf** kann bei den absoluten Herzmassen **in allen beobachteten Gruppen** gezeigt werden. Signifikante Unterschiede zur Kontrollgruppe liegen hier vor allem bei den Tieren der GG. Sie zeigen an den Inkubationstagen 10, 12, 15 und 18 signifikant höhere absolute Herzmassen. In der Gruppe der nicht-ventilierten Embryonen zeigt sich nur an D 12 eine signifikant erhöhte Herzmasse gegenüber der KG.



**Diag. 19: Darstellung der absoluten Herzmassen (Mittelwerte mit Standardabweichung) der beiden Versuchsgruppen. Signifikante Unterschiede sind mit Sternchen markiert (t-Test, N=167).**

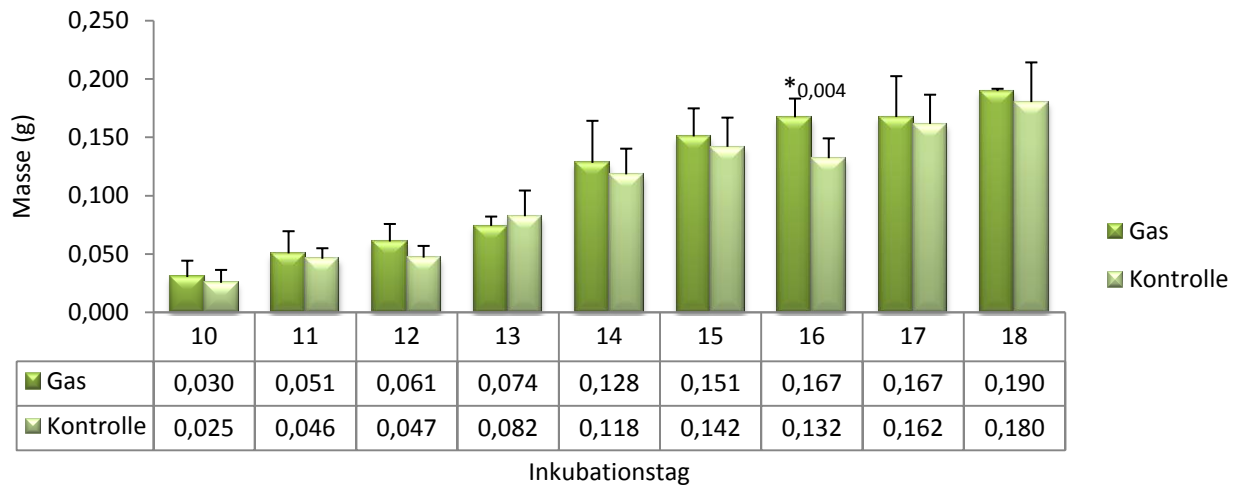
Bei dem Vergleich beider Versuchsgruppen (Diag. 19) kann man deutlich sehen, dass die Tiere der GG fast über den gesamten Beprobungszeitraum hinweg ein höheres absolutes Herzgewicht aufweisen. Signifikant erhöht ist es jedoch nur an D 11. An den Inkubationstagen 13-14 und 17-18 scheint die Massezunahme stärker zu sein als an den anderen Tagen. Dieser „Verlauf“ ist bei den anderen untersuchten Gruppen weniger deutlich ausgeprägt, aber wahrnehmbar.



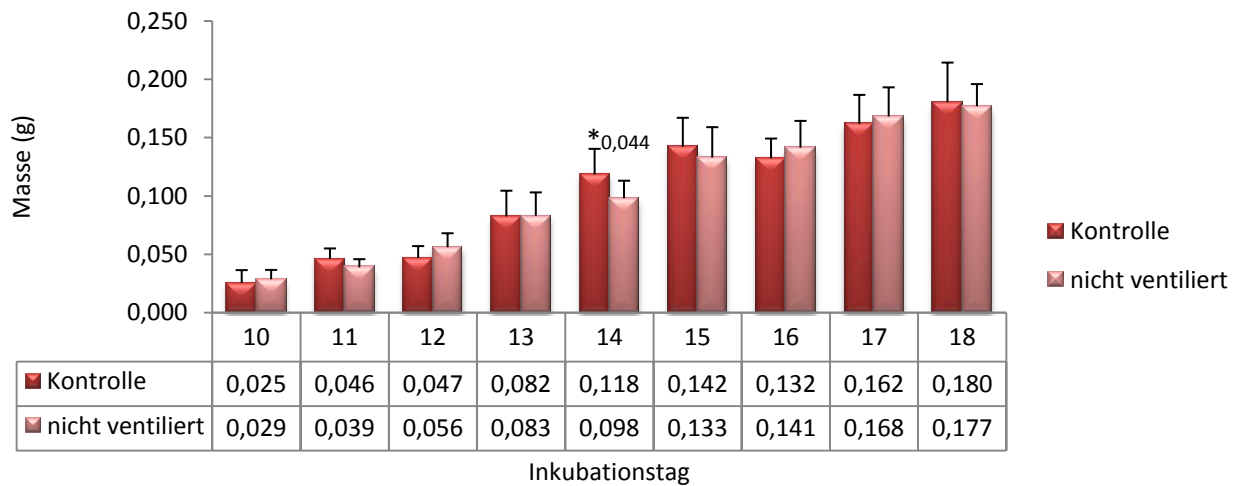
**Abb. 20: Darstellung des Zusammenhangs zwischen der Masseentwicklung des Embryos und des embryonalen Herzens von D 10 bis D 18.**

In Abb. 20 ist die Masseentwicklung des Herzens (y-Achse) in Abhängigkeit der Masseentwicklung des Embryos (x-Achse) graphisch dargestellt. Aus der allometrischen Formel ( $y=b*x^{\alpha}$ ), die für die jeweiligen Versuchsgruppen oben links in den Diagrammen abgebildet ist (Abb. 20), kann die Wachstumsrate des Herzens abgelesen werden. Sie entspricht dem Anstieg ( $\alpha$ ) der Funktion. Es ist ersichtlich, dass beide Merkmale positiv korreliert sind. Die Herzmasse steigt also mit zunehmender Körpermasse. Zum Ende des Beobachtungszeitraumes nimmt die Körpermasse im Vergleich stärker zu als die Herzmasse, was ein Abflachen der Regressionskurve in allen Diagrammen bedingt. Den flachsten Anstieg weisen die Tiere der GG auf. Ihre Herzwachstumsrate ist also am geringsten.

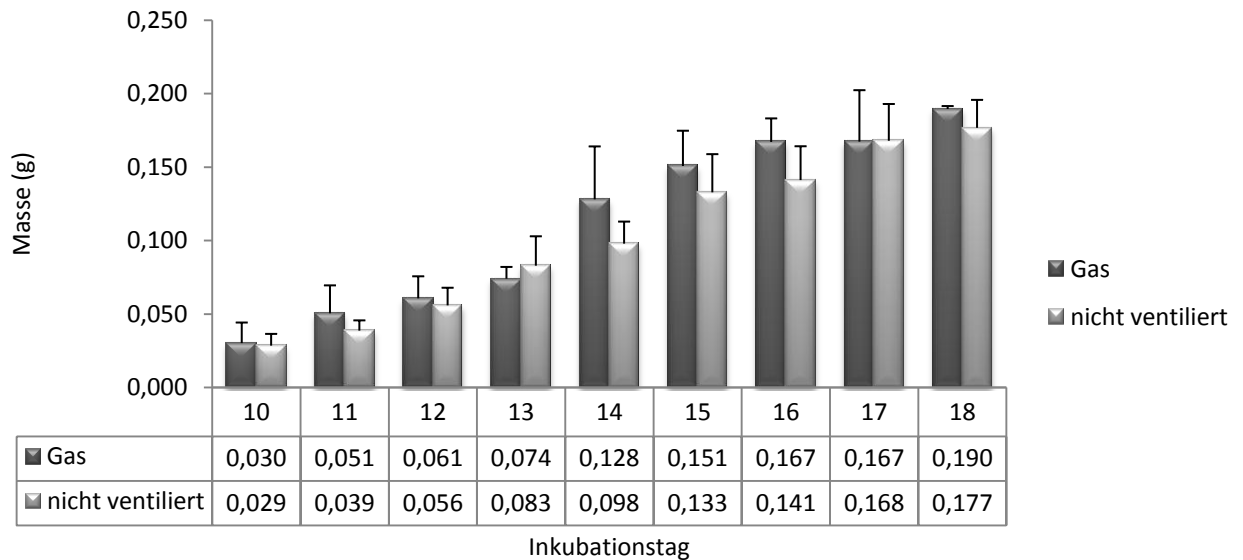
4.2.1.2. Broiler-Linie Isa



Diag. 20: Darstellung der absoluten Herzmassen (Mittelwerte mit Standardabweichung) der Embryonen aus der GG und KG. Signifikante Unterschiede sind mit Sternchen gekennzeichnet (t-Test, N=191).



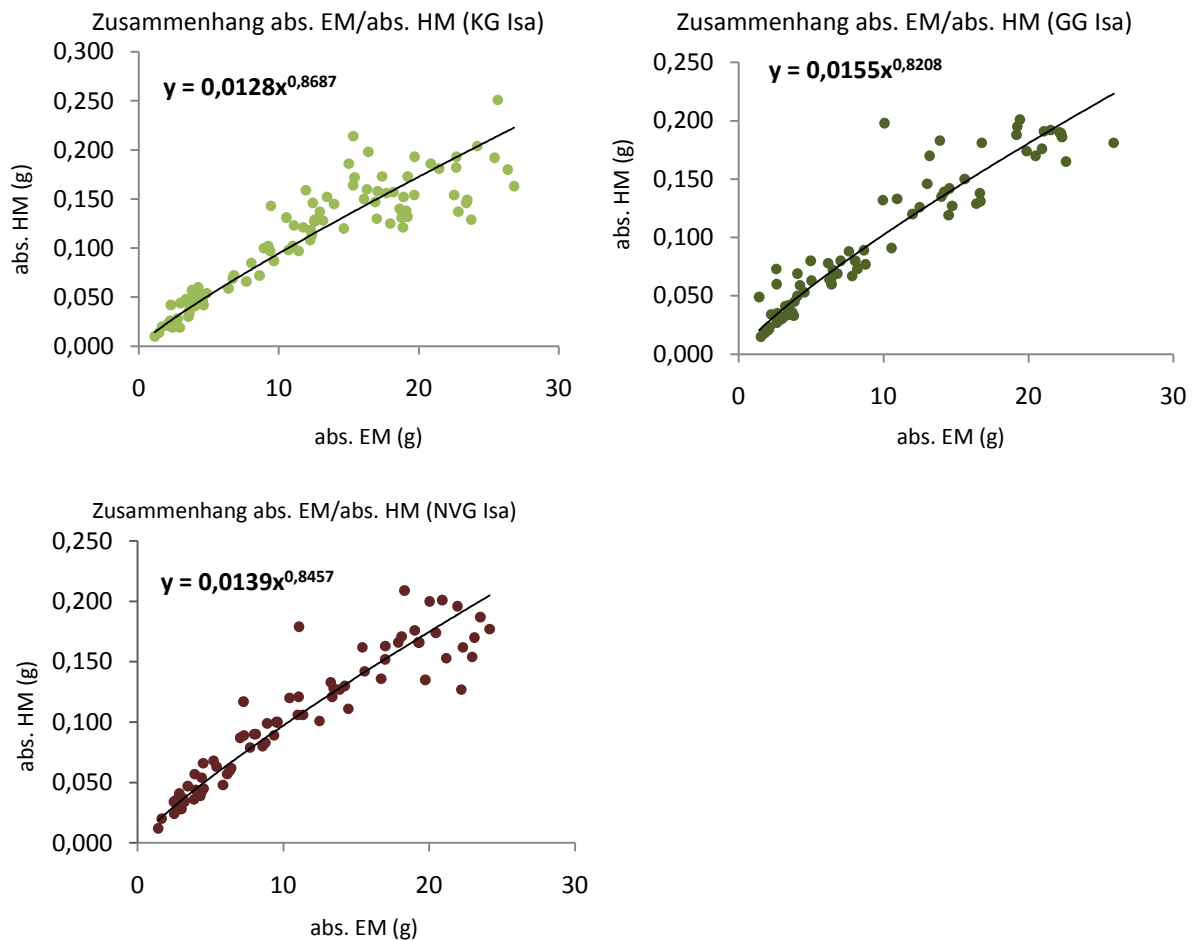
Diag. 21: Darstellung der absoluten Herzmassen (Mittelwerte mit Standardabweichung) der Embryonen aus NVG und KG. Signifikante Unterschiede sind mit Sternchen gekennzeichnet (t-Test, N=187).



**Diag. 22:** Darstellung der absoluten Herzmassen (Mittelwerte mit Standardabweichung) der Embryonen aus der NVG und GG (N=167).

Auch in den Diagrammen 20 -22 ist, wie bei der Broiler-Linie Ross, eine Steigerung der Herzmassen im Beobachtungszeitraum zu erkennen. Die mittleren Gesamtzunahmen liegen hier bei 0,155 g (KG), 0,146 g (NVG) und 0,16 g (GG) und damit **deutlich unter den Gewichtszunahmen der Herzen der Linie Ross**. Die **Tiere aus der GG** zeigen auch hier wieder die **stärkste absolute Massezunahme des Herzens**. Sie zeigen in dieser Darstellung sowohl zu Beginn als auch am Ende der Beobachtungszeit die höchste Herzmasse. Die Herzmassen der Tiere aus nicht-ventilierter Inkubation zeigen einen Verlauf, der annähernd mit der KG übereinstimmt. Einen signifikanten Unterschied gibt es hier an D 14, an dem die KG ein höheres Herzgewicht zeigt als die Versuchsgruppe. Auch die Herzen der Tiere aus der Gas-Inkubation zeigen einen annähernd mit der KG übereinstimmenden Verlauf. Einzig am 16. Inkubationstag ist eine signifikante Abweichung vorhanden. An diesem Tag sind die Herzen der GG deutlich schwerer als diejenigen der KG.



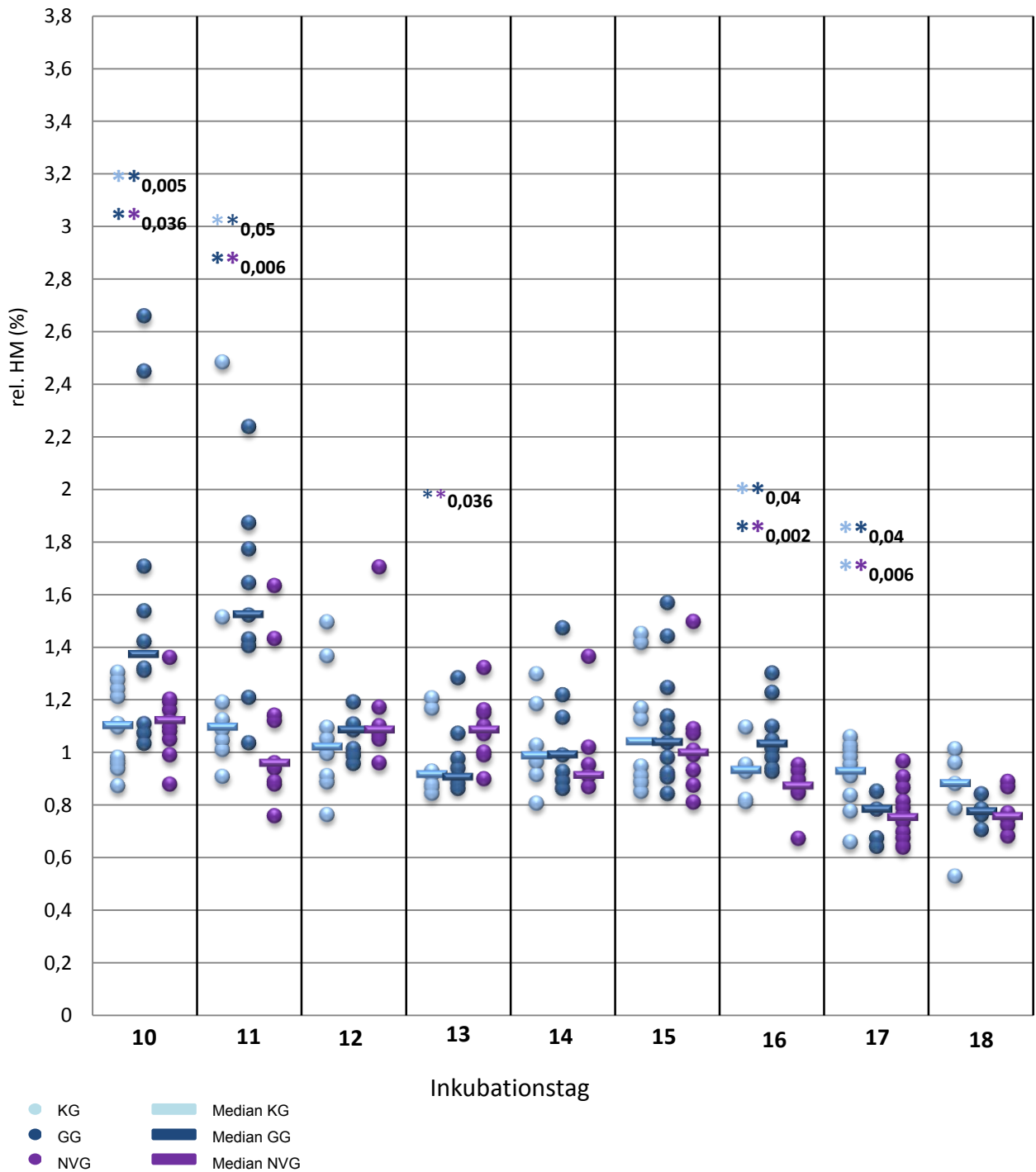


**Abb. 21:** Darstellung des Zusammenhangs zwischen der Masseentwicklung des Embryo und des embryonalen Herzens in der Broiler-Linie Isa von D 10 bis D 18.

In Abb. 21 ist die Masseentwicklung des Herzens (y-Achse) in Abhängigkeit der Masseentwicklung des Embryos (x-Achse) graphisch dargestellt. Aus der allometrischen Formel ( $y=b*x^\alpha$ ), die für die jeweiligen Versuchsgruppen oben links in den Diagrammen dargestellt ist (Abb. 21), kann die Wachstumsrate des Herzens abgelesen werden. Sie entspricht dem Anstieg ( $\alpha$ ) der Funktion. Es ist ersichtlich dass auch in der Broiler-Linie Isa beide Merkmale positiv korreliert sind. Die Herzmasse steigt also mit zunehmender Körpermasse zunächst stärker, am Ende der Beobachtungsperiode weniger stark an. Zum Ende des Beobachtungszeitraumes nimmt die Körpermasse im Vergleich stärker zu als die Herzmasse, was ein Abflachen der Regressionskurve in allen Diagrammen bedingt. Den flachsten Anstieg weisen die Tiere der GG auf. Ihre Herzwachstumsrate ist also am geringsten.

## 4.2.2. Relative Herzmassen (rel. HM)

### 4.2.2.1. Broiler-Linie Ross



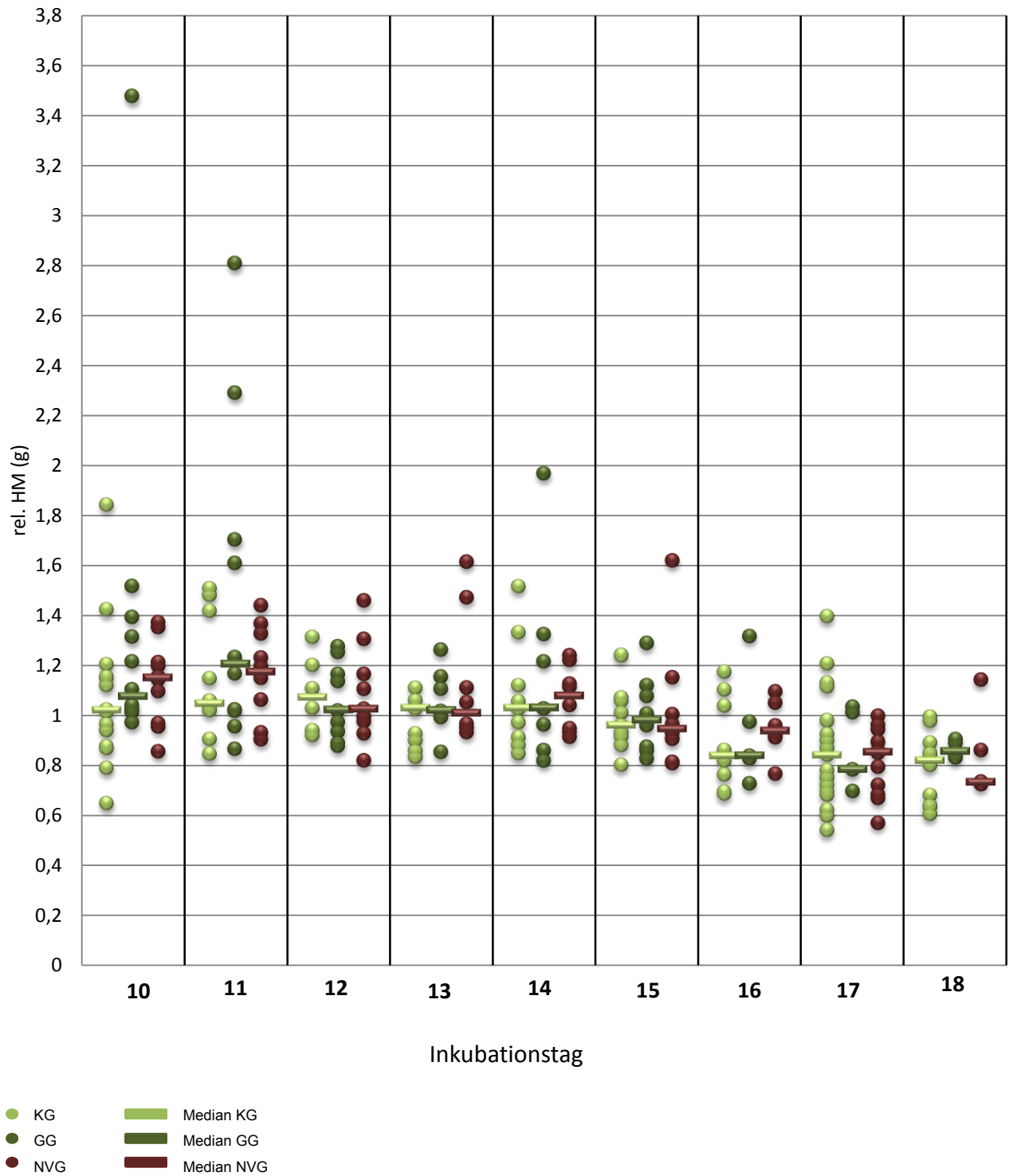
**Diag. 23:** Darstellung der relativen Herzmassen (Streuung um den Median) der Versuchsgruppen und der Kontrollgruppe. Signifikante Unterschiede werden mit Sternchen gekennzeichnet (U-Test). Farbige Sternchen kennzeichnen Unterschiede zwischen den gleichfarbigen Versuchsgruppen. (N=249)

Ross	rel. HM (%)	Inkubationstag								
		10	11	12	13	14	15	16	17	18
KG	Max	1,31	2,48	1,50	1,21	1,30	1,45	1,10	1,06	1,02
	Median	<b>1,10</b>	<b>1,09</b>	<b>1,02</b>	<b>0,92</b>	<b>0,99</b>	<b>1,04</b>	<b>0,93</b>	<b>0,93</b>	<b>0,88</b>
	Min	0,88	0,91	0,77	0,85	0,81	0,85	0,82	0,66	0,53
GG	Max	2,66	2,24	1,19	1,29	1,47	1,57	1,30	0,86	0,85
	Median	<b>1,37</b>	<b>1,52</b>	<b>1,09</b>	<b>0,91</b>	<b>0,99</b>	<b>1,04</b>	<b>1,03</b>	<b>0,79</b>	<b>0,78</b>
	Min	1,04	1,04	0,96	0,87	0,87	0,85	0,93	0,65	0,71
NVG	Max	1,36	1,63	1,70	1,32	1,36	1,49	0,95	0,97	0,89
	Median	<b>1,12</b>	<b>0,96</b>	<b>1,09</b>	<b>1,09</b>	<b>0,91</b>	<b>0,10</b>	<b>0,87</b>	<b>0,76</b>	<b>0,76</b>
	Min	0,88	0,76	0,96	0,90	0,87	0,81	0,67	0,64	0,68

Tab. 14: Darstellung der maximalen, minimalen Werte und der Mediane der rel. Herzmasse der Versuchs- und Kontrollgruppen. Signifikante Unterschiede der Mediane sind rot hervorgehoben.

In der Darstellung aus dem Diagramm 23 mit dazugehöriger Tabelle 15 stellen sich die Masseverhältnisse unter Berücksichtigung der körperlichen Unterschiede zwischen den Hühnerembryonen dar. Allgemein stellt man fest, dass im Laufe der Beobachtungen die Herzen einen **zunehmend kleineren prozentualen Anteil der Körpermasse der Embryonen ausmachen**. In allen Gruppen fallen die Werte von durchschnittlich 1,26 % der Körpermasse an D 10 auf durchschnittlich 0,8 % der Körpermasse an D 18. Die Gruppe mit dem **größten prozentualen Anteil der Herzmasse an der Körpermasse zum Ende der Beobachtungsperiode ist in dieser Darstellung die KG**. Das heißt, die Herzmassen aus dieser Gruppe sind im Verhältnis zur Körpermasse am schwersten. An D 17 sogar signifikant schwerer als diejenigen der GG und diejenigen der NVG. Diese Aussage steht im Gegensatz zu den Werten aus den Diagrammen 17-19, in denen die Tiere der GG die schwersten Herzen aufwiesen. In Tabelle 15 zeigt sich vor allem am Ende der Beobachtungen, dass die Medianwerte der Tiere aus der **GG und der NVG annähernd gleich** sind. Diese Tiere im Verhältnis zur Körpermasse also annähernd **gleich schwere Herzen** besitzen. Dennoch sind die Herzen der GG am Untersuchungsbeginn, wie auch schon in der Darstellung über die absolute Herzmasse, die Herzen, die den höchsten prozentualen Anteil an der Embryonenmasse ausmachen. Sie sind also besonders an D 10 die schwersten Herzen aller Versuchsgruppen und signifikant schwerer als die der KG. Ab dem 12. Inkubationstag gleichen sich die relativen Herzgewichte beider Versuchsgruppen an und sind an D 17 und 18 annähernd gleich.

4.2.2.2. Broiler-Linie Isa



Diag. 24: Darstellung der relativen Herzmassen (Streuung um den Median) der Versuchsgruppen und der Kontrollgruppe. (N=270)

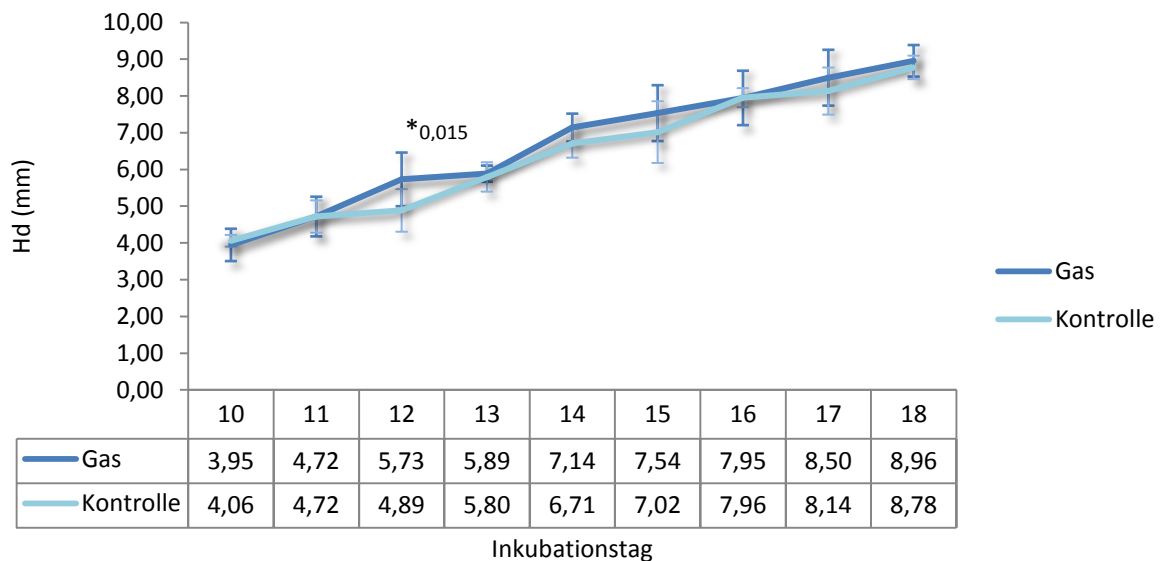
Isa	rel. HM (%)	Inkubationstag								
		10	11	12	13	14	15	16	17	18
KG	Max	1,84	1,51	1,31	1,11	1,52	1,24	1,18	1,39	0,99
	Median	<b>1,02</b>	<b>1,04</b>	<b>1,07</b>	<b>1,03</b>	<b>1,03</b>	<b>0,96</b>	<b>0,84</b>	<b>0,84</b>	<b>0,82</b>
	Min	0,65	0,85	0,92	0,84	0,85	0,80	0,69	0,54	0,61
GG	Max	3,48	2,81	1,28	1,26	1,97	1,29	1,31	1,04	0,91
	Median	<b>1,07</b>	<b>1,20</b>	<b>1,02</b>	<b>1,02</b>	<b>1,03</b>	<b>0,98</b>	<b>0,84</b>	<b>0,79</b>	<b>0,86</b>
	Min	0,97	0,87	0,88	0,86	0,82	0,83	0,73	0,70	0,83
NVG	Max	1,37	1,44	1,46	1,61	1,24	1,62	1,09	1,00	1,14
	Median	<b>1,15</b>	<b>1,17</b>	<b>1,03</b>	<b>1,01</b>	<b>1,08</b>	<b>0,95</b>	<b>0,94</b>	<b>0,86</b>	<b>0,74</b>
	Min	0,86	0,90	0,82	0,93	0,91	0,81	0,77	0,57	0,73

Tab. 15: Darstellung der maximalen, minimalen Werte und der Mediane der rel. Herzmasse der Versuchs- und Kontrollgruppen.

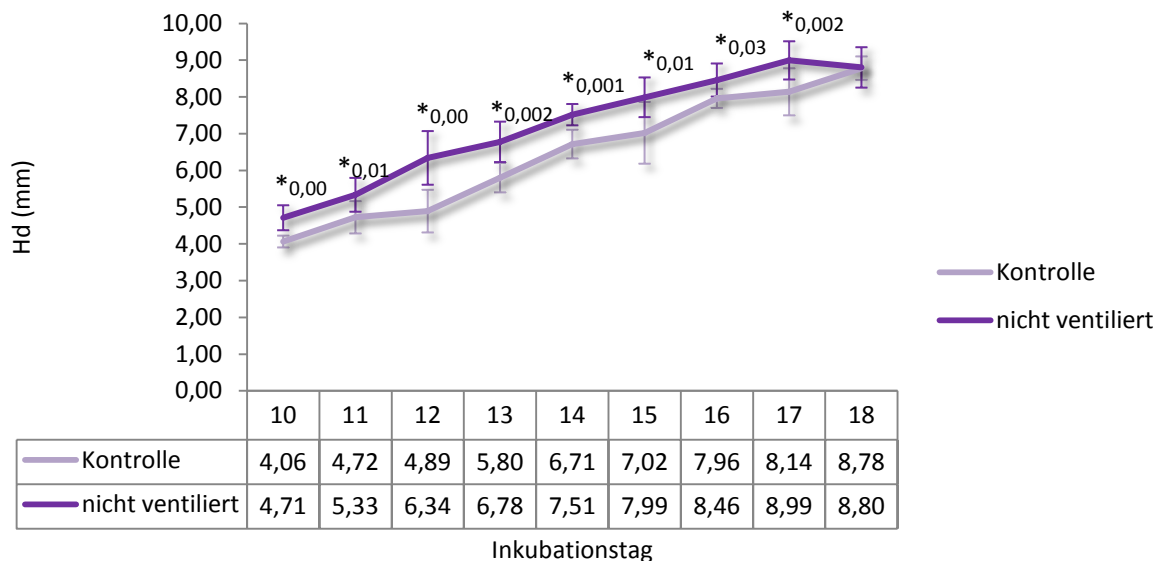
Wie auch bei der Broiler-Linie Ross sinken die relativen Herzmassen im Verlauf der Inkubation. Signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen sind nicht zu beobachten. Es sind kaum Veränderungen zu der Darstellung der absoluten Herzmassen (Diag. 20-22) zu erkennen. Jedoch werden in der Darstellung der relativen Herzmassen die Unterschiede der GG und der NVG gegenüber der KG an den ersten Tagen des Beobachtungszeitraumes deutlich. Obwohl diese Masseunterschiede nicht signifikant sind, so wird doch deutlich, dass die Medianwerte der relativen Herzmassen dieser Tiere höher sind als die der Kontrolltiere. Es ist auch zu sehen, dass am Ende des Beobachtungszeitraumes die Streuung der Werte um den Median in der GG geringer ist als in den anderen Gruppen.

### 4.2.3. Herzdurchmesser (Hd)

#### 4.2.3.1. Broiler-Linie Ross



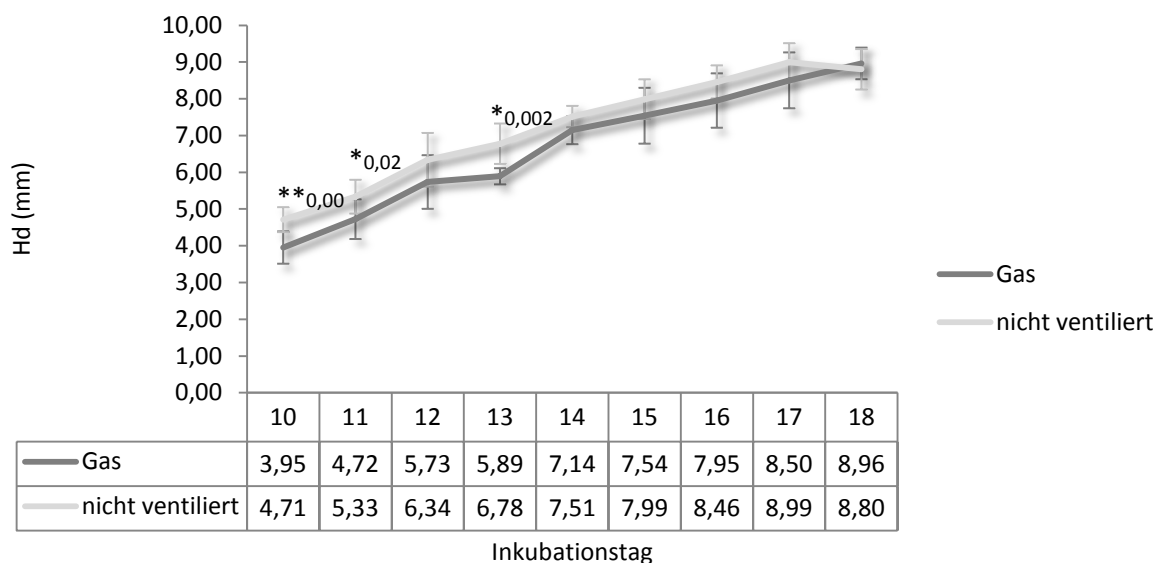
Diag. 25: Entwicklung des Herzdurchmessers (Mittelwerte und Standardabweichung) in der GG und KG. Signifikante Unterschiede sind mit Sternchen gekennzeichnet (t-Test, N=170).



Diag. 26: Entwicklung des Herzdurchmessers (Mittelwerte mit Standardabweichung) in NVG und KG. Signifikante Unterschiede sind mit Sternchen gekennzeichnet (t-Test, N=161).

Aus den Diagrammen 25 und 26 sind deutliche Unterschiede hinsichtlich des Verlaufs der Durchmesser-Entwicklung des Herzens zwischen den einzelnen Versuchsgruppen ersichtlich. Allgemein kann man bei allen Gruppen **in dem betrachteten Zeitraum eine Steigerung des Herzdurchmessers um 100 % des Ausgangswertes beobachten**. So nahm der Herzdurchmesser bei Tieren der KG innerhalb von 9 Tagen von 4,06 auf 8,78 mm um 4,72 mm zu. Die Tiere der GG zeigten einen Durchmesser-Zuwachs von 5,01 mm und

diejenigen der NVG von 4,09 mm. Somit zeigten auch hier die **Tiere aus der GG den höchsten Gesamtwuchs im Herzdurchmesser**. Zu Beginn der Beobachtungen weisen die Embryonen der GG mit einem mittleren Herzdurchmesser von 3,95 mm den geringsten Wert auf. Den **größten Herzdurchmesser an D 10 zeigen die Herzen NVG**. Am Ende des Beobachtungszeitraumes weisen die Tiere einen Herzdurchmesser von 8,78 mm (KG), 8,80 mm (NVG) und 8,96 mm (GG) auf. Der Verlauf des Wachstumszuwachses bei den Tieren der Gas- Inkubation und den Kontroll-Tieren ist annähernd gleich, wobei die Tiere der GG im beobachteten Zeitraum an der Mehrzahl der Tage über den Werten der KG liegen. Diese Abweichungen sind jedoch bis auf den 12. Inkubationstag nicht signifikant. Auffällig sind jedoch die Unterschiede zwischen der NVG und der KG. Die Tiere der NVG zeigen am D 10 nicht nur den höchsten Ausgangswert der einzelnen Gruppen, sondern behalten diese Stellung bis zum D 17 bei. Die Werte liegen an allen Inkubationstagen, außer dem 18., signifikant über denen der KG. Zwischen dem 17. und 18. Inkubationstag zeigt sich wiederum in der NVG eine Stagnation des Wachstums und somit gleichen die Durchmesser der Herzen dieser Gruppe an D 18 dann den Werten der KG. Obwohl die Werte der Herzdurchmesser in der NVG höher liegen als in den anderen Versuchsgruppen, sind die mittleren täglichen Zunahmen mit denen der anderen Gruppen vergleichbar.

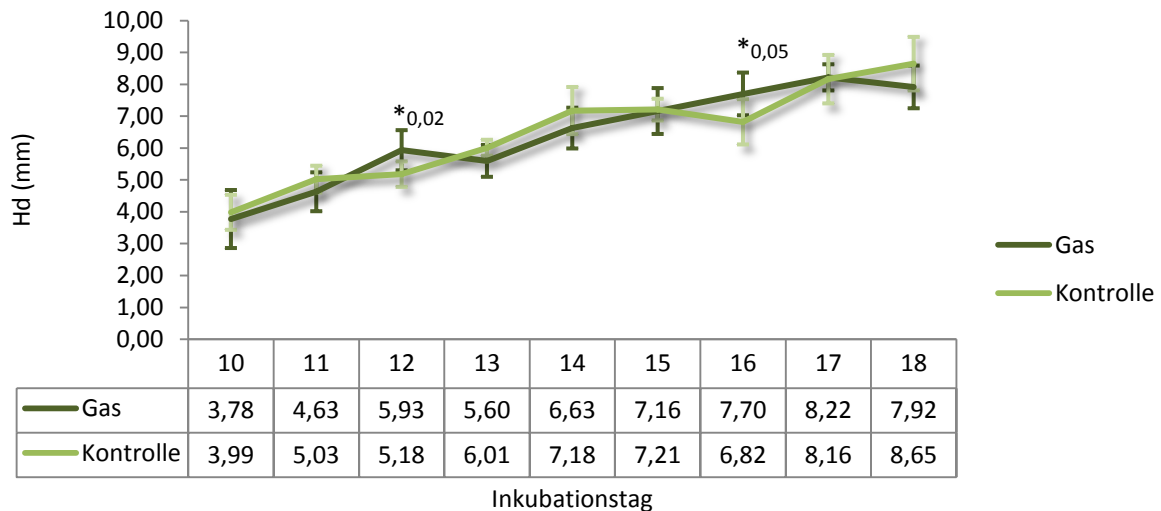


**Diag. 27:Entwicklung des Herzdurchmessers (Mittelwerte mit Standardabweichung) beider Versuchsgruppen. Signifikante Unterschiede sind mit Sternchen gekennzeichnet (t-Test, N=167).**

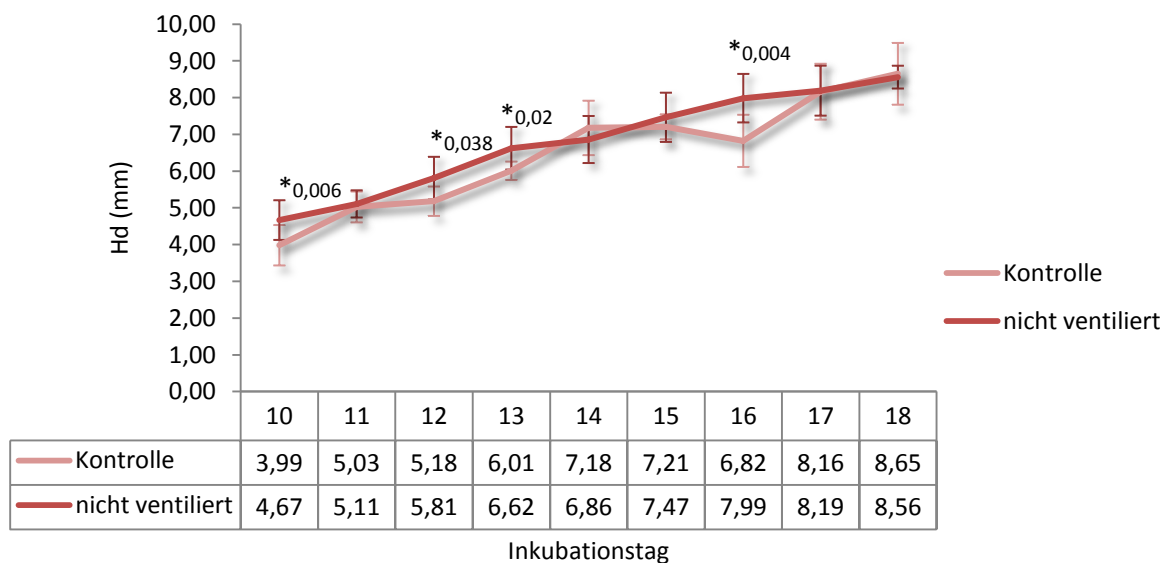
Betrachtet man in Diagramm 27 nun den Verlauf des Herzdurchmesser-Wachstums beider Versuchsgruppen, so fällt auf, dass auch in diesem direkten Vergleich die Herzdurchmesser der Tiere aus nicht-ventilierter Inkubation bis zum 17. Inkubationstag über den Werten der Tiere aus der Gas-Inkubation liegen. Die Unterschiede zwischen den Gruppen sind zum Teil signifikant. Da zwischen dem 17. Und 18. Inkubationstag in der NVG das Wachstum plötzlich

zu stagnieren scheint, gleichen sich die Werte an bzw. liegen die mittleren Herzdurchmesser leicht unter denen der GG.

#### 4.2.3.2. Broiler-Linie Isa



Diag. 28: Entwicklung der Herzdurchmesser (Mittelwerte mit Standardabweichung) zwischen GG und KG. Signifikante Unterschiede sind mit Sternchen gekennzeichnet (t-Test, N=191).

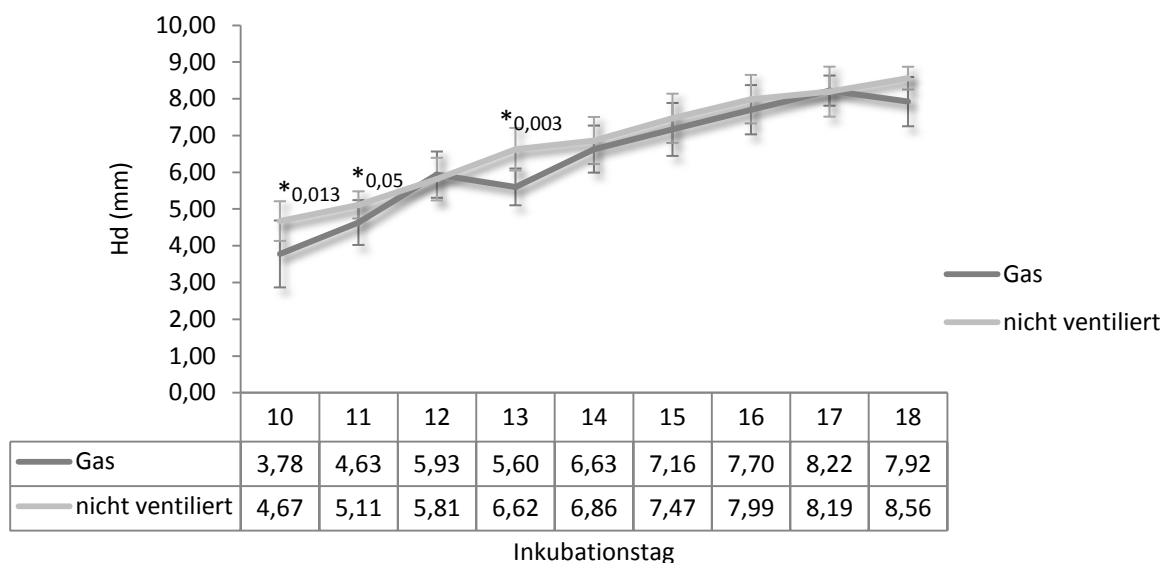


Diag. 29: Entwicklung der Herzdurchmesser (Mittelwerte mit Standardabweichung) der NVG und KG. Signifikante Unterschiede sind mit Sternchen gekennzeichnet (t-Test, N=187).

Auch bei der Broiler-Linie Isa zeigt sich im Inkubationsverlauf in den Diagrammen 28 und 29 eine deutliche **Zunahme des Herzdurchmessers um ca. 100% des Ausgangswertes**. So steigt der Herzdurchmesser in der KG von 3,99 mm auf 8,65 mm um insgesamt 4,57 mm. In der GG nimmt der Herzdurchmesser von 3,78 mm auf 7,89 mm um 4,11 mm zu und der



Herzdurchmesser der nicht-ventilierten Tiere steigt um 3,89 mm. In dieser Broiler-Linie zeigen die Embryonen aus **der KG den höchsten mittleren Zuwachs im Herzdurchmesser**. Allgemein fällt auch auf, dass die Zunahme des Herzdurchmessers innerhalb der KG und der GG nicht gleichmäßig, sondern periodisch erfolgt. Das spiegelt sich im Verlauf des Graphen wider, der keinen geradenähnlichen, wie in der NVG zu sehen, sondern einen eher wellenförmigen Verlauf zeigt. Unterschiede gibt es auch am Ende des Beobachtungszeitraumes an D 18. Hier zeigen wiederum die Tiere der KG den höchsten Wert im Herzdurchmesser mit 8,65 mm. Beide Versuchsgruppen zeigen mit 7,92 mm (GG) und 8,56 mm (NVG) einen geringeren Wert. Signifikante Unterschiede zwischen der GG und KG sind an den Inkubationstagen 12 und 16 zu finden, an denen die Tiere der GG einen höheren Herzdurchmesser aufweisen als diejenigen der Kontroll-Tiere. Ein anderes Bild stellt sich dar im Vergleich der NVG mit der KG (Diag. 29). Der Zuwachs im Herzdurchmesser zeigt im beobachteten Zeitraum hier einen eher linearen Verlauf und stellt sich damit sehr verschieden von demjenigen der KG dar. Auch zwischen diesen beiden Gruppen gibt es signifikante Unterschiede. So ist der Herzdurchmesser der nicht-ventilierten Tiere an der Mehrzahl der beobachteten Tage größer als bei den Kontrollen und an den Inkubationstagen 10, 12, 13 und 16 signifikant.

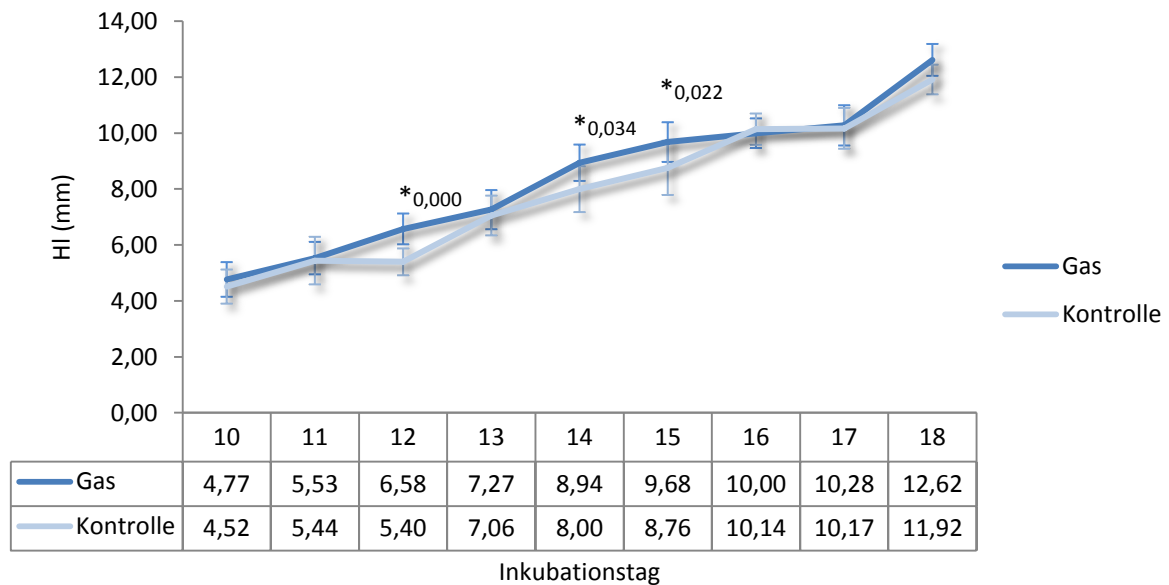


**Diag. 30: Entwicklung der Herzdurchmesser (Mittelwerte mit Standardabweichung) der beiden Versuchsgruppen. Signifikante Unterschiede sind mit Sternchen gekennzeichnet (t-Test, N=162).**

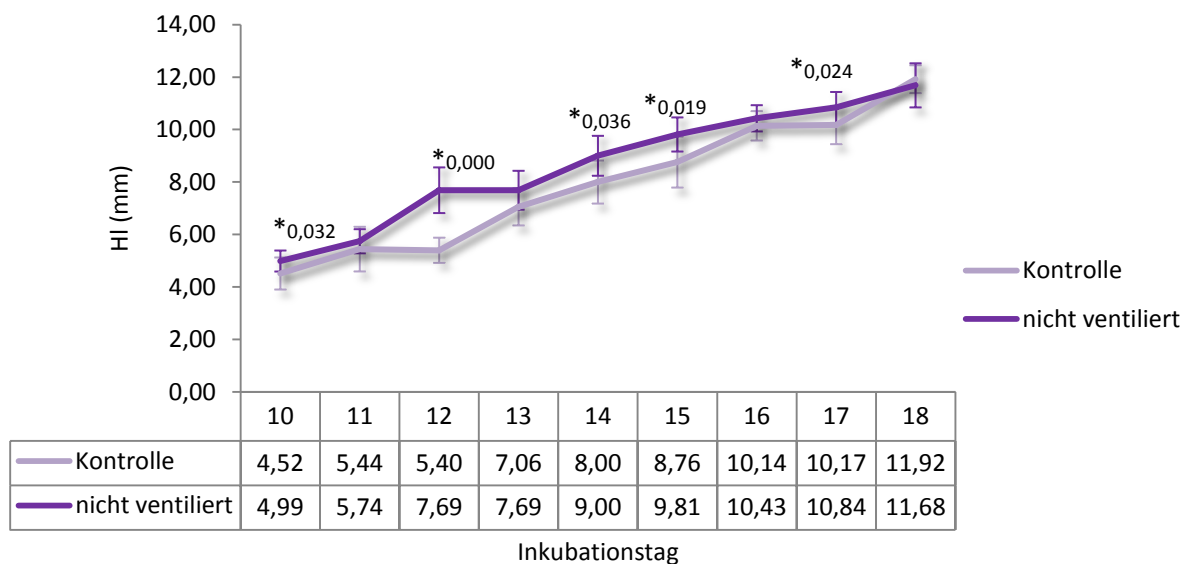
Auch im direkten Vergleich beider Versuchsgruppen in Diagramm 30 kann man den unterschiedlichen Verlauf des Herzdurchmesser-Zuwachses sehen. Der Herzdurchmesser der NVG hat einen eher linearen Verlauf verglichen mit dem eher „wellenförmig“ verlaufenden Graphen der GG. In der Mehrzahl der beobachteten Tage liegen die Werte des **Herzdurchmessers der NVG über denen der GG**. An den Inkubationstagen 10, 11 und 13 sind diese Unterschiede signifikant.

#### 4.2.4. Herzlänge (HI)

##### 4.2.4.1. Broiler-Linie Ross



Diag. 31: Entwicklung der Herzlänge (Mittelwerte mit Standardabweichung) in GG und KG. Signifikante Unterschiede sind mit Sternchen gekennzeichnet (t-Test, N=170).

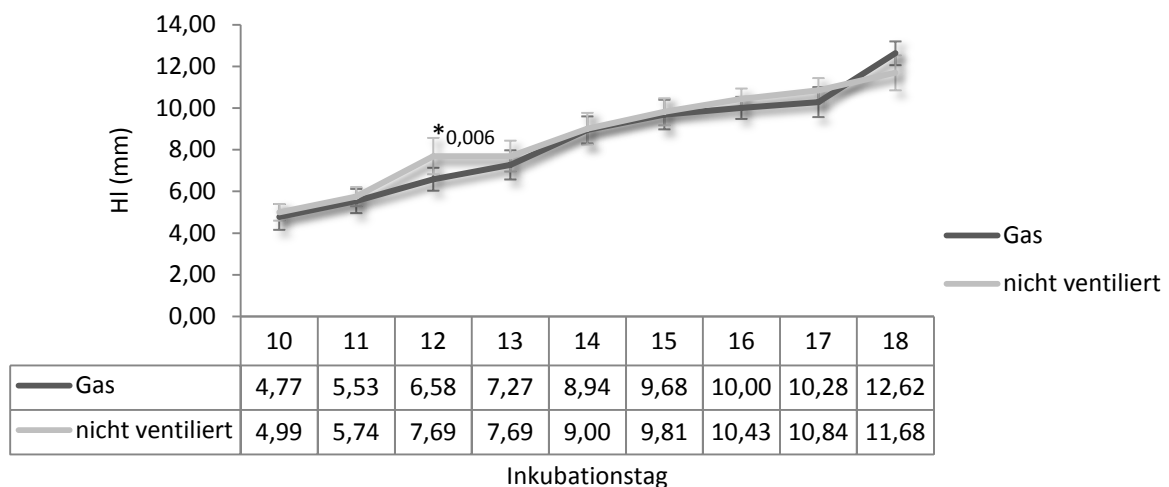


Diag. 32: Entwicklung der Herzlänge (Mittelwerte mit Standardabweichung) in NVG und KG. Signifikante Unterschiede sind mit Sternchen gekennzeichnet (t-Test, N=161).

In den Diagrammen 31 und 32 sieht man den Verlauf des Längenwachstums der Herzen aller Versuchsgruppen in dem beobachteten Zeitraum von 9 Tagen. Allgemein stellt man eine **Steigerung des Ausgangswertes um das fast Dreifache im Verlauf der Inkubation** fest. So nimmt die Länge der Herzen in der KG um 7,4 mm, die der Herzen aus nicht-

#### 4. Ergebnisse

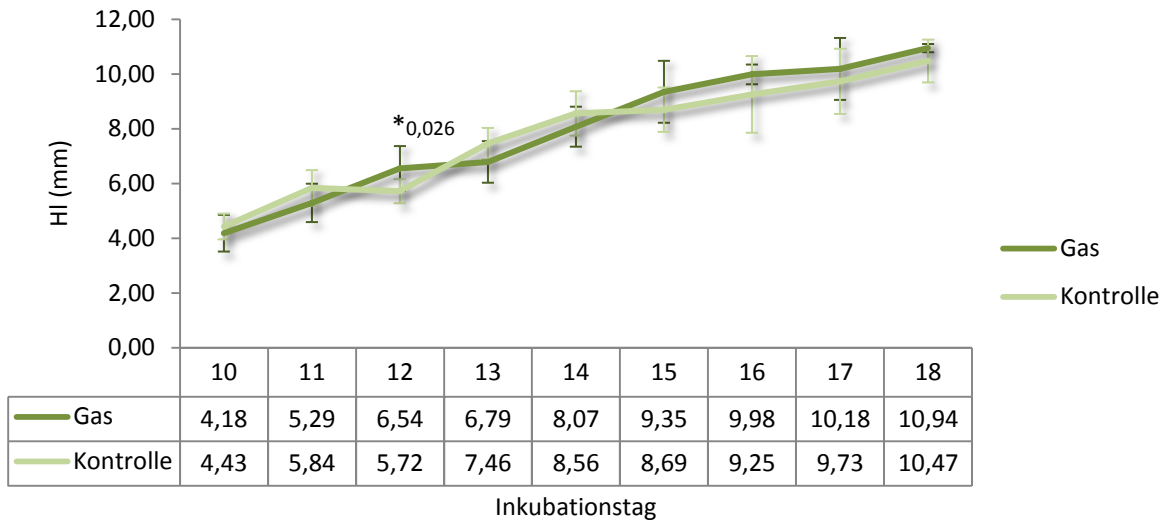
ventilierter Inkubation um 6,69 mm und die der GG um 7,85 mm zu. Auch in diesem Parameter haben die **Tiere der GG den größten Zuwachs**. Am 10. Inkubationstag zeigen wiederum die Tiere der NVG die größte mittlere Herzlänge mit 4,99 mm. Die Tiere der KG zeigen mit 4,52 mm Herzlänge den geringsten Ausgangswert. Beim Vergleich der GG und KG fällt auf, dass der Graph der GG besonders zwischen dem 11./12., 13./14. und dem 17./18. Inkubationstag einen steileren Anstieg besitzt, sich zu diesem Zeitpunkt also ein stärkerer Zuwachs im Herzdurchmesser zeigt. Es ist allerdings bei diesen beiden Gruppen auch ersichtlich, dass vor dem letzten steilen Anstieg des Längenwachstums an D 17 und 18 eine „Ruhephase“ ohne Längenwachstum vom 16. zum 17. Inkubationstag vorhanden ist. Im Verlauf des KG-Graphen scheint eine solche „Ruhephase“ auch von D 11 zu D 12 einzutreten. Das Längenwachstum scheint also auch periodisch zu erfolgen. Allgemein betrachtet liegt die **Herzlänge der Tiere aus der Gas-Inkubation in der Mehrzahl der Inkubationstage dicht an den Werten der Kontrolltiere**. Starke Abweichungen der Größenunterschiede sind an D 12, 14 und 15 vorhanden und signifikant. Auch die Herzlängen der Tiere aus der NVG liegen an den Inkubationstagen 1-17 über den Werten der KG mit signifikanten Unterschieden an den Tagen 10, 12, 14, 15, 17. Jedoch zeigt sich hier ein ähnlicher Verlauf zwischen den Graphen. Das Längenwachstum beginnt in beiden Gruppen mit einem steilen Anstieg, dem sich eine „Ruhephase“ von einem Tag anschließt. Danach steigen beide Graphen erneut an. In der KG gibt es an den Inkubationstagen 16-17 eine erneute Stagnation. Zwischen D 17 und 18 scheint auch der Graph der NVG abzuflachen und könnte möglicherweise damit den Ansatz einer erneuten Ruhephase darstellen, durch die die gemessene Herzlänge an D 18 mit ca. 0,3 mm unter der gemessenen Herzlänge der Kontrolltiere liegt. Die Graphen verlaufen also versetzt, aber zeigen eine ähnliche Entwicklung des Längenwachstums auf.



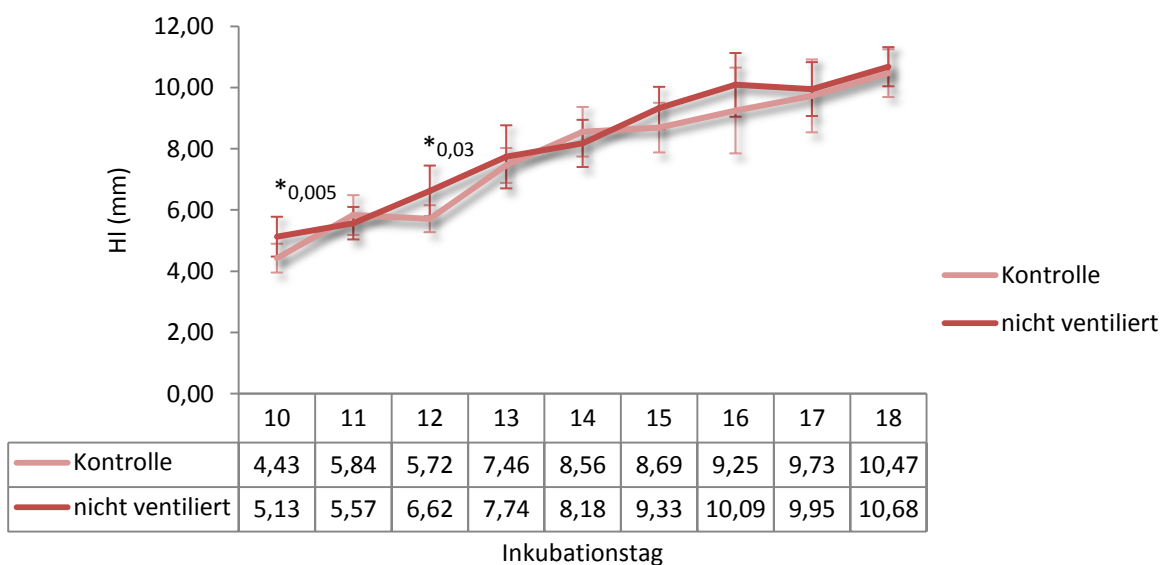
**Diag. 33: Entwicklung der Herzlängen (Mittelwerte mit Standardabweichung) beider Versuchsgruppen. Signifikante Unterschiede sind mit Sternchen gekennzeichnet (t-Test, N=167).**

Bei einem direkten Vergleich beider Versuchsgruppen in Diagramm 33 ist ersichtlich, dass der Verlauf beider Graphen an der Mehrzahl der Tage annähernd gleich ist, obwohl die Herzlängen der Tiere aus nicht-ventilierter Inkubation eine leichte Abweichung nach oben erkennen lassen. Signifikante Unterschiede zwischen den beiden Versuchsgruppen bestehen nur an D 12. An diesem Tag zeigen die Tiere aus der NVG ein signifikant längeres Herz.

#### 4.2.4.2. Broiler-Linie Isa



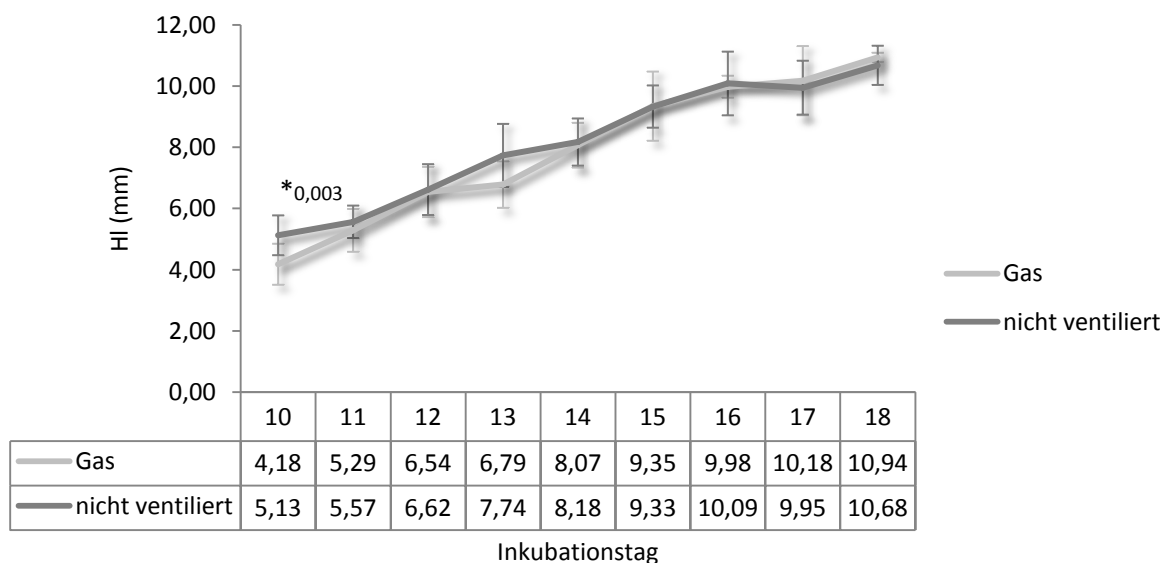
Diag. 34: Entwicklung der Herzlängen (Mittelwerte mit Standardabweichung) in GG und KG. Signifikante Unterschiede sind mit Sternchen gekennzeichnet (t-Test, N=191).



Diag. 35: Entwicklung der Herzlängen (Mittelwerte mit Standardabweichung) in der NVG und KG. Signifikante Unterschiede sind mit Sternchen gekennzeichnet (t-Test, N=187).

Aus den Diagrammen 34 und 35 wird ersichtlich, dass sich die **Herzlängen bei allen Gruppen innerhalb des beobachteten Zeitraumes ungefähr verdoppeln**. Die Zunahmen der Herzlängen insgesamt liegen in der KG bei 6,04 mm, in der GG bei 6,76 mm und in der NVG bei 5,55 mm. Die **Tiere aus der GG haben innerhalb der 9 Beobachtungstage damit den höchsten Längenzuwachs am Herzen**. An D 10 zeigt die GG abermals den geringsten Ausgangswert der Herzlänge mit 4,18 mm. Die Tiere der NVG weisen mit 5,13 mm die längsten Herzen auf. Am Ende der Beobachtungsperiode weisen die Tiere aus der Gas-Inkubation mit 10,94 mm die größte Herzlänge auf. Der allgemeine Verlauf der Graphen der GG und KG ähnelt dem der KG der Broiler-Linie Ross (Diagramm 31-38). Es erfolgt ein steiler Anstieg mit einer „Ruhephase“ zwischen D 12 und 13, bevor ein weiterer Anstieg im Längenwachstum folgt mit einer weiteren „Ruhephase“ zwischen D 14 und 15. Bei dieser Broiler-Linie ähnelt der Verlauf des Graphen der GG diesem Bild und wirkt nur „versetzt“. Die Ruhephasen liegen hier zwischen D 12 und 13 und zwischen D 16 und 17. Insbesondere im letzten Drittel des Beobachtungszeitraumes weisen die Tiere aus der Gas- Inkubation ein gegenüber der KG längeres Herz auf. Signifikante Unterschiede sind an D 12 vorhanden, an welchem die Herzlängen der GG-Tiere deutlich über den Herzlängen der Kontrolltiere liegen.

Im Vergleich der Herzlängen aus nicht-ventilierter Inkubation mit denen der Kontrolltiere ist auffällig, dass der Längenzuwachs besonders im ersten Drittel der Beobachtungsphase stärker ist als bei den Kontrolltieren. Erst zwischen dem 16. und 17. Inkubationstag kommt es zu einer „Wachstumsruhe“, in welcher sich die Herzlängen beider Gruppen wieder annähern. An 7 von 9 Inkubationstagen liegen die Werte der Herzlänge über denen der KG mit signifikanten Unterschieden an den Inkubationstagen 10 und 12.



**Diag. 36: Entwicklung der Herzdurchmesser (Mittelwerte mit Standardabweichung) beider Versuchsgruppen. Signifikante Unterschiede sind mit Sternchen gekennzeichnet (t-Test, N=162).**

Im direkten Vergleich der beiden Versuchsgruppen wird ersichtlich, dass die Tiere aus der der NVG in den ersten zwei Dritteln des Beobachtungszeitraumes eine größere Herzlänge aufweisen als die Tiere aus der Gas-Inkubation mit signifikanten Unterschieden am 10. Inkubationstag. Erst nach der „Ruhephase“ des Längenwachstums bei den Embryonen aus nicht-ventilierter Inkubation an D 16 und 17 zeigen die Embryonen aus der Gas-Inkubation größere Herzlängen.

#### 4.2.5. Zusammenfassung der allgemeinen makroskopischen Herzentwicklung

Die folgenden Tabellen bieten eine Kurzdarstellung über die Ergebnisse der Versuchsgruppen verglichen mit der KG am letzten Tag (D 10) des Einflusses veränderter Inkubationsbedingungen (Tab. 17) und die durchschnittlichen Entwicklungstendenzen nach dem Wiederherstellen der normalen Inkubationsbedingungen (Tab. 18).

Broiler-Linie	Versuchsgruppe	Parameter				
		abs. Herzmasse	rel. Herzmasse	Herzdurchmesser	Herzlänge	Anzahl d. getesteten Embryonen
Ross	GG	↑	↑	↓	↑	10
	NVG	↑	↑	↑	↑	11
Isa	GG	↑	↑	↓	↓	12
	NVG	↑	↑	↑	↑	10

Tab. 16: Übersicht über die allgemeine Herzentwicklung am 10. Inkubationstag im Vergleich zur KG

Broiler-Linie	Versuchsgruppe	Parameter				
		abs. Herzmasse	rel. Herzmasse	Herzdurchmesser	Herzlänge	Anzahl der getesteten Embryonen
Ross	GG	↑	→	↑	↑	78
	NVG	↑	↓	↑	↑	68
Isa	GG	↑	→	↓	↑	71
	NVG	→	→	↑	↑	69

Tab. 17: Übersicht über die durchschnittliche allgemeine Herzentwicklung vom 11.-18. Inkubationstag im Vergleich zur KG

In den Tabellen 17 und 18 sind die Entwicklungstendenzen der Versuchsgruppen beider Broiler-Linien im Vergleich zur Entwicklung der KG dargestellt. Am 10. Inkubationstag (Tab. 17) weisen die Tiere **der NVG größere und abs. und rel. schwerere Herzen** auf als die Tiere der KG. Auch die **Herzen der GG sind abs. und rel. schwerer als die der KG**. Auch in der Länge sind diese Herzen größer als die Kontrollherzen. Lediglich der **Herzdurchmesser ist kleiner als bei den Herzen der KG**. Bei der Broiler-Linie Isa zeigt sich an D 10 ein ähnliches Bild. Die Herzen der NVG sind größer und schwerer als die der KG. Bei der GG scheint lediglich das Gewicht beeinflusst zu sein, nicht die Größe der Herzen, die im Vergleich zur KG sogar kleiner sind.

Im weiteren Verlauf der Inkubation (Tab. 18.) ändern sich auch die an D 10 beobachteten Verhältnisse. In den Versuchsgruppen der Broiler-Linien Ross und Isa zeigen jeweils **die Tiere aus der Gas-Inkubation und aus der NVG das höchste absolute Herzgewicht und größere Herzen in Durchmesser und Länge als die Tiere der KG**. Jedoch sind die Veränderungen **überwiegend nur in der NVG signifikant** (Tab. 19). Innerhalb der Broiler-Linie Ross zeigen die Embryonen der GG zu Beginn der Beobachtungsperiode das höchste relative Herzgewicht, gefolgt von den Embryonen aus nicht-ventilierter Inkubation. Betrachtet man die durchschnittlichen Verhältnisse zwischen GG und KG über die Versuchsperiode, gibt es keine einheitliche Tendenz zu Unterschieden in der rel. Herzmasse. Die NVG zeigen durchschnittlich eine eher reduzierte rel. Herzmasse im Vergleich zur KG. Innerhalb der Broiler-Linie Isa stellt man bei den Tieren aus nicht-ventilierter Inkubation das höchste relative Herzgewicht am 18. Inkubationstag fest. Aber auch hier verläuft die durchschnittliche Entwicklung der rel. Herzmasse ohne eindeutige Tendenz. Innerhalb der Broiler-Linie Isa entwickeln sich die Versuchsgruppen gegenüber der KG mit wenigen signifikanten Unterschieden. Wieder scheinen die Entwicklungen zwischen den Broiler-Linien nicht gleichartig zu verlaufen.

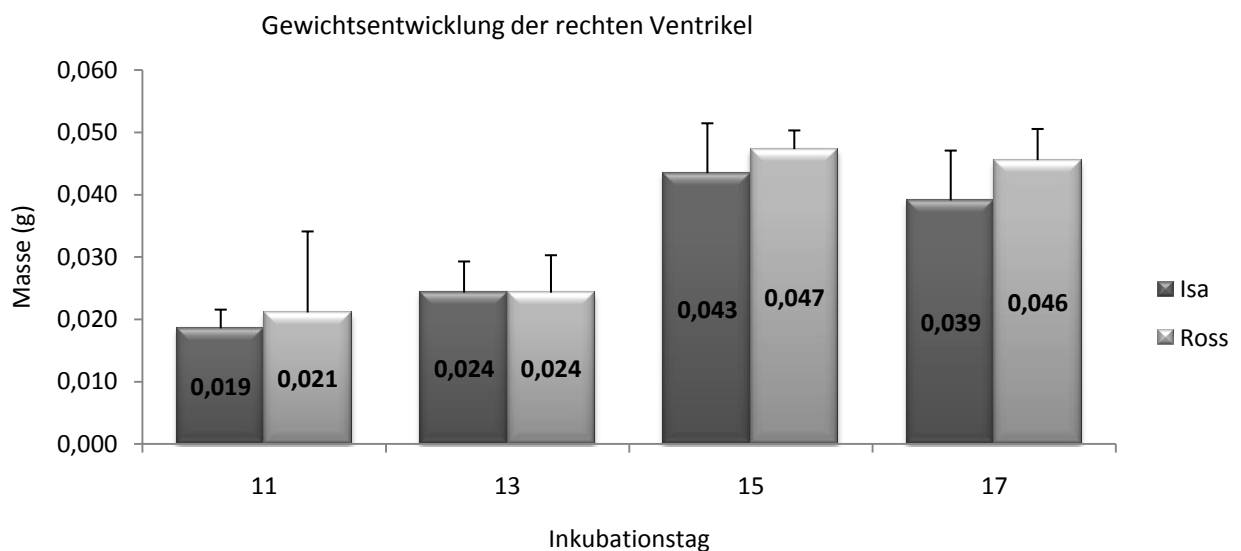
#### Allgemeine Herzentwicklung in den KG beider Broiler-Linien

Die Entwicklung des absoluten Herzgewichts in den KG beider Broiler-Linien verläuft annähernd gleich. Am Ende des Beobachtungszeitraums sind die absoluten Herzgewichte der Broiler-Linie Ross im Mittel 0,008g schwerer als die Herzen der Broiler-Linie Isa. Die Herzen der Embryonen aus der Ross-Linie nehmen den höheren prozentualen Anteil am Körpergewicht ein und sind damit, auch relativ zur Körpermasse, schwerer als die Herzen der Broiler-Linie Isa. Die Tiere der Broiler-Linie Ross weisen im Mittel einen höheren Herzdurchmesser auf als die Tiere der Broiler-Linie Isa. Der Vergleich der KG zeigt außerdem, dass die Tiere der Broiler-Linie Ross in dem Beobachtungszeitraum ein längeres

Herz aufweisen als die Tiere der Broiler-Linie Isa. Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Herzen der Broiler-Linie Ross schwerer und größer sind als die Herzen der Broiler-Linie Isa, obwohl die Tiere am Ende des Beobachtungszeitraums ungefähr gleich groß und gleich schwer sind. Während des Beobachtungszeitraums zeigt sich eine **Häufung der Signifikanzen für die Broiler-Linie Ross an D 12** bzw. in der Periode vom 10. zum 12. Inkubationstag. Auch bei der Broiler-Linie Isa weist dieser Zeitraum die häufigsten Signifikanzen auf. Erneut wird deutlich, dass die signifikanten Einflüsse **innerhalb der Broiler-Linie Ross in höherer Anzahl** vorhanden sind als innerhalb der Broiler-Linie Isa.

#### 4.2.6. Masse des rechten Ventrikels und rV/tV-Verhältnis beider Rassen

##### 4.2.6.1. Entwicklung in den Kontrollgruppen

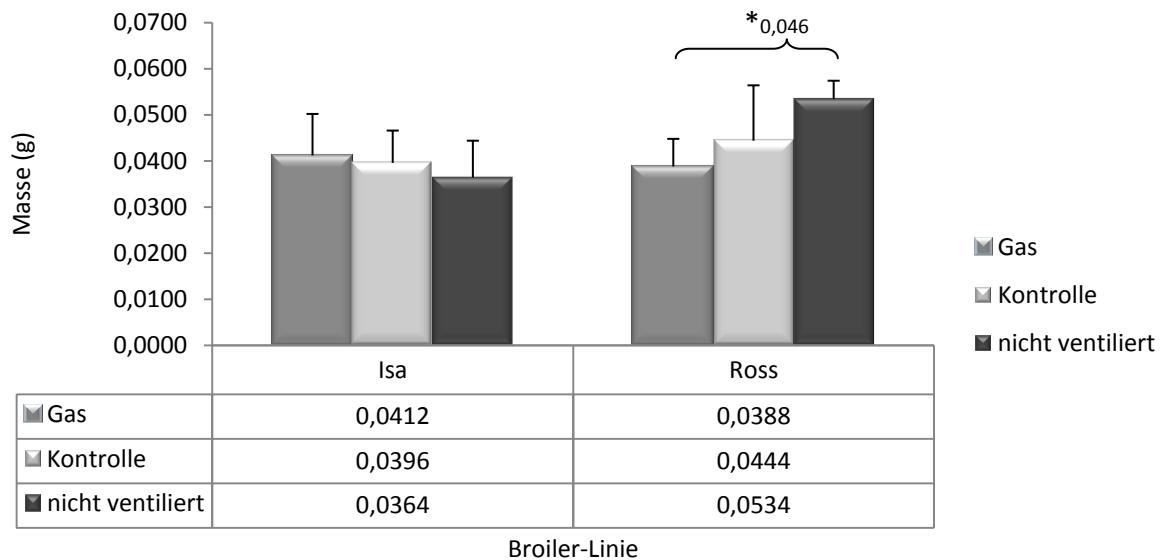


**Diag. 37: Entwicklung der Masse (Mittelwerte mit Standardabweichung) der rechten Ventrikel aus den KG beider Broiler-Linien (N=56).**

In Diagramm 37 ist die Masseentwicklung der rechten Ventrikel beider KG über den Beobachtungszeitraum dargestellt. In beiden Broiler-Linien verdoppelt sich die mittlere absolute Ventrikelmasse in diesem Zeitraum. An fast allen Beobachtungstagen zeigen die Tiere der Broiler-Linie Ross gegenüber den Tieren der Broiler-Linie Isa im Mittel eine höhere Masse des rechten Ventrikels.



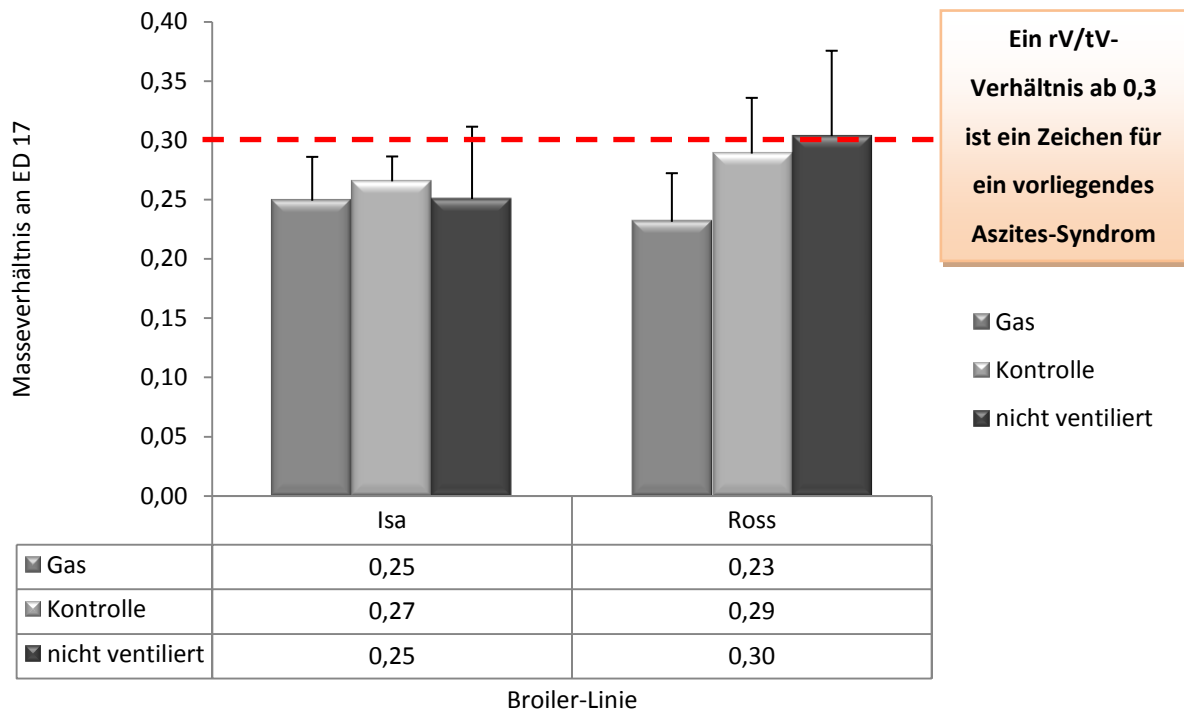
## 4.2.6.2. Entwicklung am 17. Inkubationstag



**Diag. 38: Masse der rechten Ventrikel beider Broiler-Linien (Mittelwerte mit Standardabweichung) am 17. Inkubationstag. Signifikante Unterschiede werden mit Sternchen gekennzeichnet (t-Test). (N=30)**

In dem Diagramm 38 sind die Massen des rechten Ventrikels der Versuchsgruppen und KG beider Broiler-Linien abgebildet. Man erkennt, dass zwischen den Broiler-Linien und zwischen den Versuchsgruppen deutliche Unterschiede liegen. Insgesamt weisen die Tiere der **Linie Isa eine geringere Masse des rechten Ventrikels** auf. Im Vergleich der Versuchsgruppen fällt auf, dass bei der Broiler-Linie Isa die nicht-ventilierten Tiere mit 0,0364 g die geringste Masse aufweisen, während die gleiche Versuchsgruppe der anderen Boiler-Linie die höchste Masse mit 0,0534 g zeigt. Die KG beider Broiler-Linien liegen im mittleren Bereich, unterscheiden sich jedoch um 0,0048 g. Auch die GG ist innerhalb der Linie Isa die Gruppe mit den schwersten rechten Ventrikeln, während es innerhalb der Linie Ross umgekehrt ist. Signifikante Unterschiede bestehen bei den Tieren der Ross-Linie zwischen der GG und den nicht-ventilierten Tieren, wobei die **rechten Ventrikel von Embryonen aus nicht-ventilierter Inkubation signifikant schwerer sind als die Ventrikel von Tieren aus der Gas-Inkubation**.

#### 4. Ergebnisse



Diag. 39: Darstellung des rV/tV-Verhältnisses (Mittelwerte mit Standardabweichung) beider Broiler-Linien am 17. Inkubationstag. (N=30)

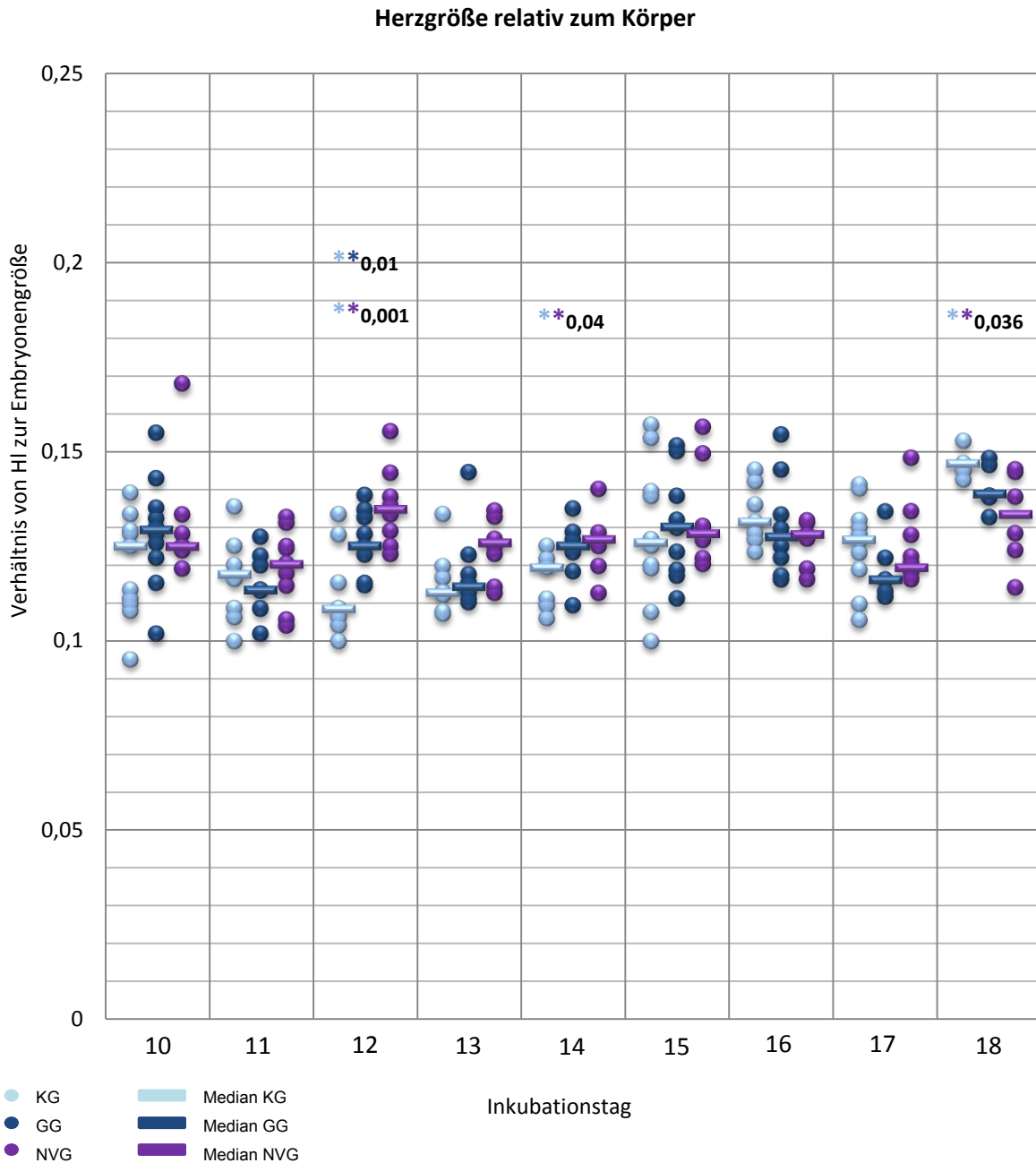
Broiler-Linie			Verteilung des rV/tV-Verhältnis (%)		Anzahl der getesteten Embryonen
			bis 0,3	über 0,3	
Ross	Versuchsgruppe	KG	80,0	20,0	5
		GG	100,	0	5
		NVG	60,0	40,0	5
Isa	Versuchsgruppe	KG	100	0	5
		GG	100	0	5
		NVG	80,0	20,0	5

Tab. 18: Darstellung der Verteilung prozentualen Verteilung der rV/tV-Verhältnisse der einzelnen Versuchsgruppen und Broiler-Linien. Die Werte >0,3 sind rot dargestellt.

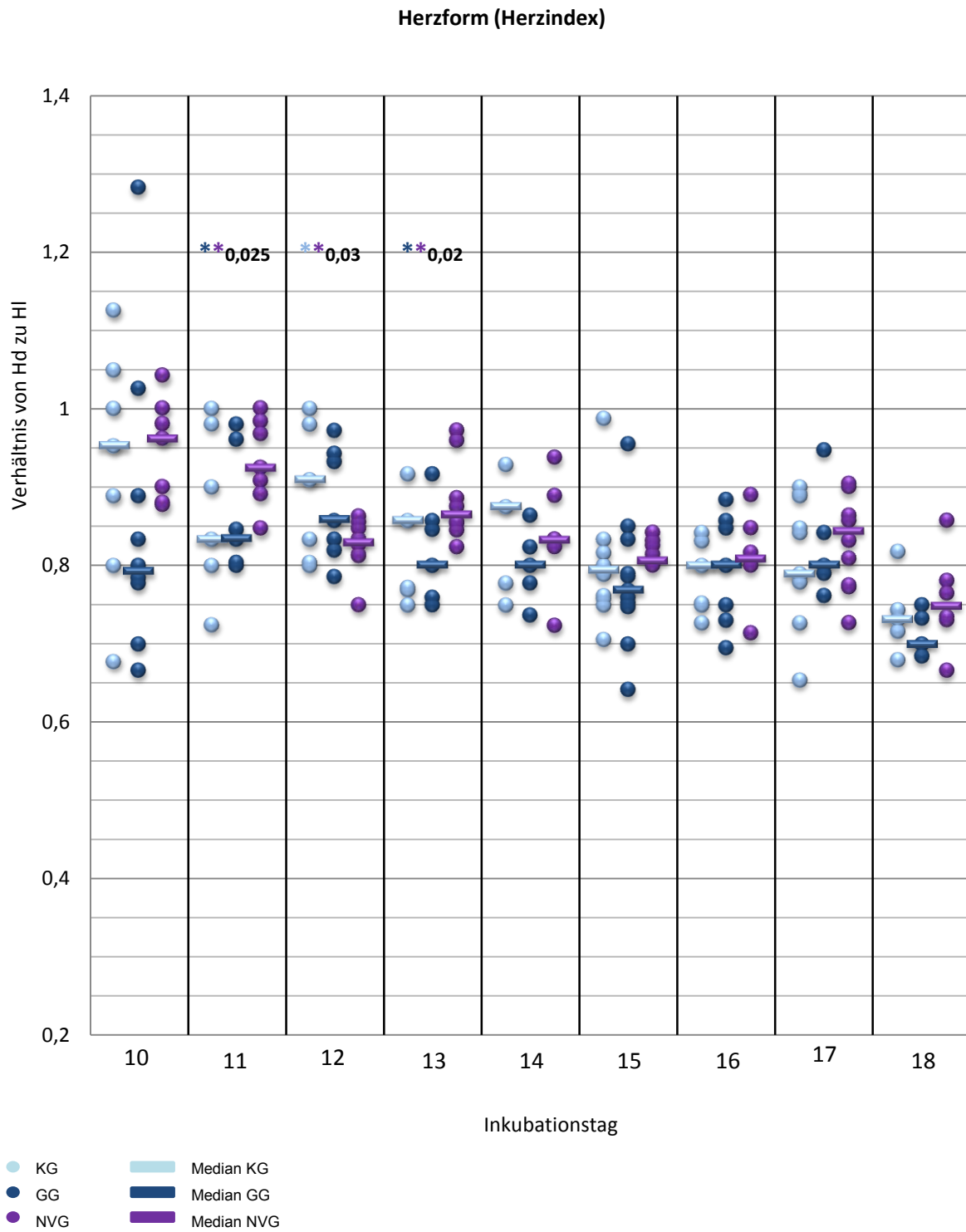
Die Anzahl der getesteten Tiere ist sehr gering, dennoch ist in Diagramm 39 mit zugehöriger Tabelle 20 eine eindeutige Tendenz zu einem höheren rV/tV-Verhältnis in den Tieren der NVG beider Broiler-Linien zu erkennen. Deckungsgleich mit den Angaben zu einer höheren Aszitesanfälligkeit bei den schnell wachsenden Tieren der Broiler-Linie Ross, zeigen diese Tiere auch bei 20% der KG ein erhöhtes rV/tV-Verhältnis. Bei den Embryonen der langsam wachsenden Broiler-Linie Isa weist kein Tier der KG ein erhöhtes rV/tV-Verhältnis auf.

### 4.2.7. Entwicklung der Herzgröße und Herzform (Herzindex)

#### 4.2.7.1. Broiler-Linie Ross



Diag. 40: Darstellung der Herzlänge relativ zur Kopf-Steiß-Länge der Embryonen (Streuung um den Median). Farbige Sternchen kennzeichnen signifikante Unterschiede (U-Test) zwischen den gleichfarbigen Versuchsgruppen. (N= 249)

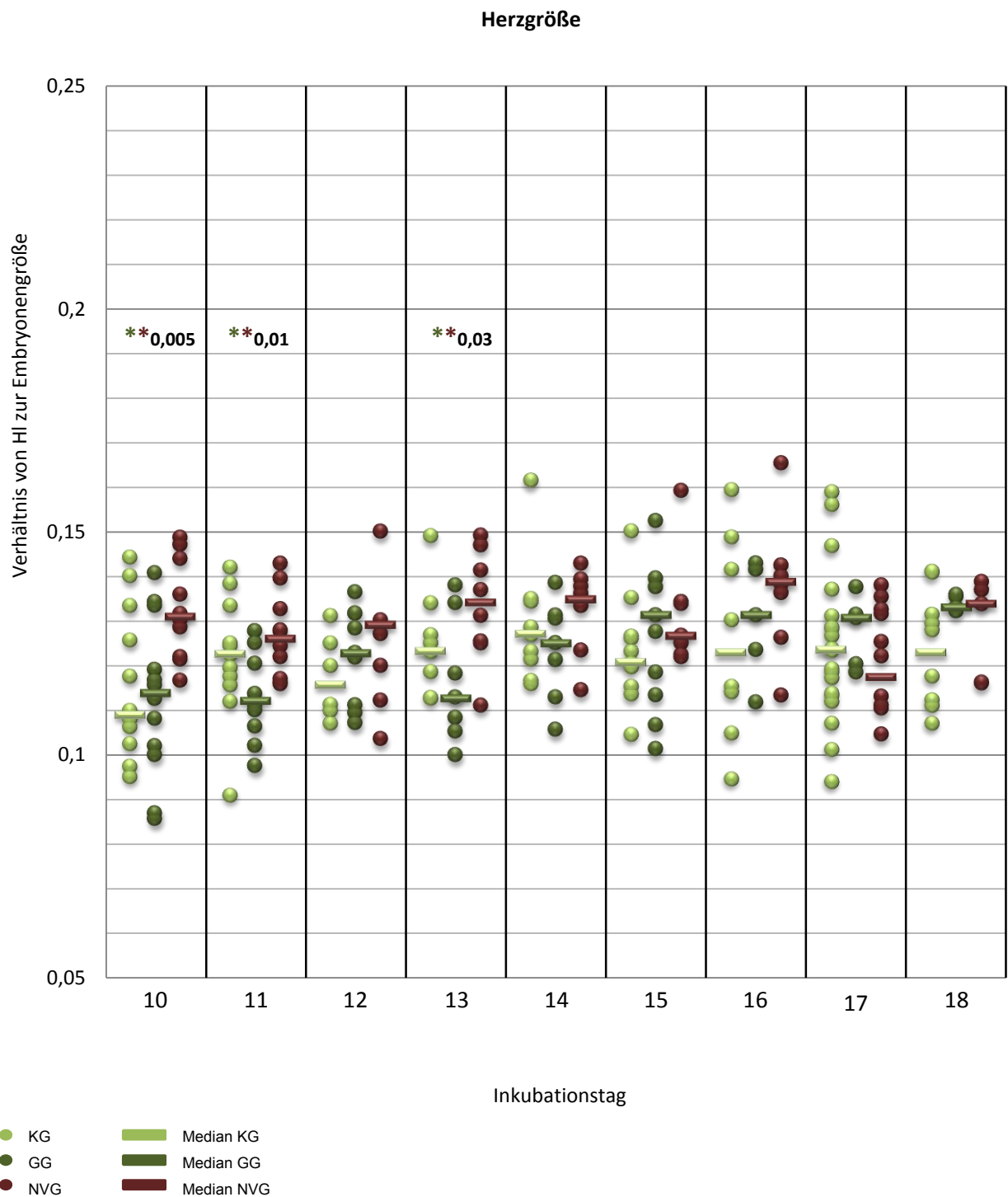


**Diag. 41:** Darstellung des Herzdurchmessers relativ zur Herzlänge (Streuung um den Median). Farbige Sternchen kennzeichnen signifikante Unterschiede (U-Test) zwischen den gleichfarbigen Versuchsgruppen. (N=249)

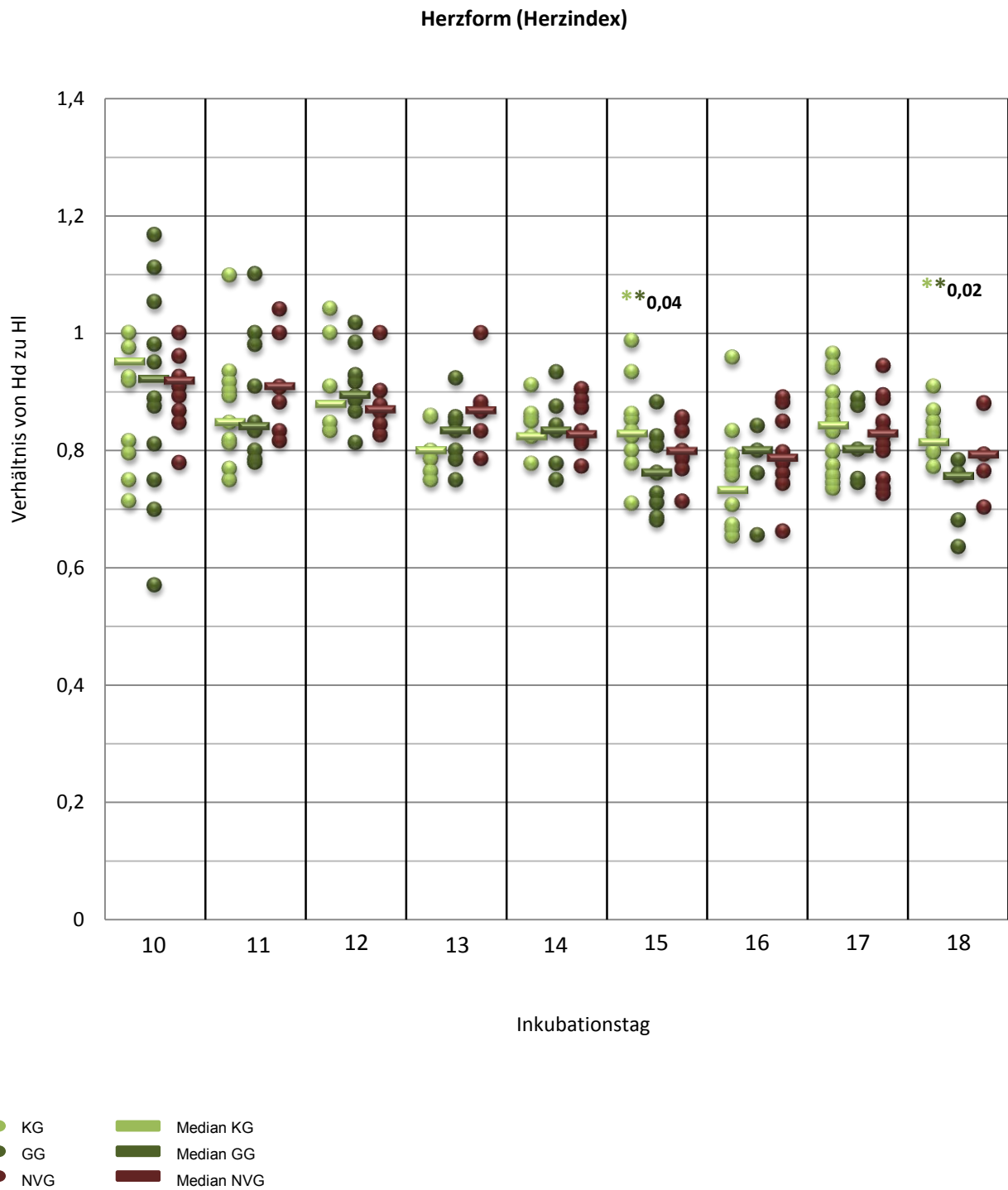
Diagramm 40 zeigt die Größenentwicklung der embryonalen Herzen der Broiler-Linie Ross im Verhältnis zur Kopf-Steiß-Länge der Embryonen und damit die reale Herzlänge im Körper. Die Herzlängen nehmen im Beobachtungszeitraum Werte zwischen 9 und 17 % der Kopf-Steiß-Länge der Embryonen ein und verändern sich in dem Zeitraum vom 10. bis zum 18. Inkubationstag nur minimal. Im Verlauf der Versuche zeigen die Herzlängen jedoch innerhalb der Gruppen eine unterschiedliche Längenentwicklung. **So sind die Herzen beider Versuchsgruppen vom 12. bis zum 15. Inkubationstag gemessen an der Rückenlänge der Embryonen länger als die Herzen der KG.** Signifikant ist dieser Unterschied an den Inkubationstagen 12 und 14. **An D 11 bis D 14 sind die Herzen der NVG am größten.** Ab dem 16. Inkubationstag bis zum Ende der Beobachtungsperiode sind sie Herzen der Kontrolltiere länger als die beider Versuchsgruppen mit signifikanten Unterschieden zu den Herzlängen der NVG am letzten Beobachtungstag.

In Diagramm 41 wird die Veränderung der Herzform, die im Verlauf der Inkubation stattfindet, dokumentiert. So verändert sich das Herz von einer eher kugeligen Form zu einer eher ovalen Form, das heißt, dass der Herzindex im Laufe der Inkubation sinkt. Die Herzen **der GG zeigen an der überwiegenden Anzahl der Inkubationstage die stärkste Tendenz zu einer eher ovalen Herzform, haben also den geringeren Herzindex** (d.h. die Herzlänge ist größer als der Herzdurchmesser). Die **Herzen der NVG zeigen an fast allen Inkubationstagen die stärkste Tendenz zu einer eher kugeligen Herzform, zeigen also einen höheren Herzindex als die KG oder GG.** Die Herzen der KG liegen in der überwiegenden Anzahl der Beobachtungen zwischen den Werten der GG und NVG. Signifikante Unterschiede bestehen vor allem zu Beginn der Untersuchungen an den Inkubationstagen 11, 12 und 13. An den Inkubationstagen 11 und 13 zeigen die Herzen der NVG gegenüber den Herzen der GG einen signifikant erhöhten Herzindex. Am 13. Inkubationstag sind es die Herzen der KG, die eine eher kugelige Form aufweisen, deren Unterschied zu der eher ovalen Form der Herzen der nicht-ventilierten Tiere signifikant ist.

4.2.7.2. Broiler-Linie Isa



Diag. 42: Darstellung der Herzlänge relativ zur Rückenlänge (Streuung um den Median). Farbige Sternchen kennzeichnen signifikante Unterschiede (U-Test) zwischen den gleichfarbigen Versuchsgruppen. (N=270)



**Diag. 43:** Darstellung des Herzdurchmessers relativ zur Herzlänge (Streuung um den Median). Farbige Sternchen kennzeichnen signifikante Unterschiede (U-Test) zwischen den gleichfarbigen Versuchsgruppen. (N=270)

Diagramm 42 zeigt die Entwicklung der Herzlänge im Beobachtungszeitraum relativ zur Rückenlänge der Embryonen bei den Versuchsgruppen und der KG der Broiler-Linie Isa. Auch hier nehmen die Herzen in der Längsachse zwischen 9 und 17% der Rückenlänge der Embryonen ein. **Die Herzen aus nicht-ventilierter Inkubation weisen an der Mehrzahl der Tage die größte Längenausdehnung** auf. Signifikante Unterschiede bestehen bei der Betrachtung der Herzlänge v.a. zwischen den Versuchsgruppen. **An den Inkubationstagen 10, 11 und 14 sind die Herzen aus nicht-ventilierter Inkubation signifikant länger als die Herzen aus der GG.** Dieser Unterschied ist am Ende des Versuchszeitraumes nicht mehr zu beobachten. Am 18. Inkubationstag liegen die Herzen beider Versuchsgruppen in ihrer Längenausdehnung über den Herzlängen der Kontrolltiere.

Bei der Broiler-Linie Isa zeigt sich ebenso die Entwicklung von einem eher kugeligen Herzen mit hohem Herzindex zu einer in der Tendenz eher ovalen Herzform mit niedrigem Herzindex (Diagramm 43). Ebenso wie bei der Broiler-Linie Ross zeigen sich in der Betrachtung der einzelnen Versuchsgruppen signifikante Unterschiede, die jedoch bei dieser Broiler-Linie eher im letzten Drittel des Beobachtungszeitraumes liegen. So zeigen sich signifikante Unterschiede an **den Inkubationstagen 15 und 18, an denen die Herzen der KG eine signifikant höheren Herzindex aufweisen als die Tiere aus der GG.**

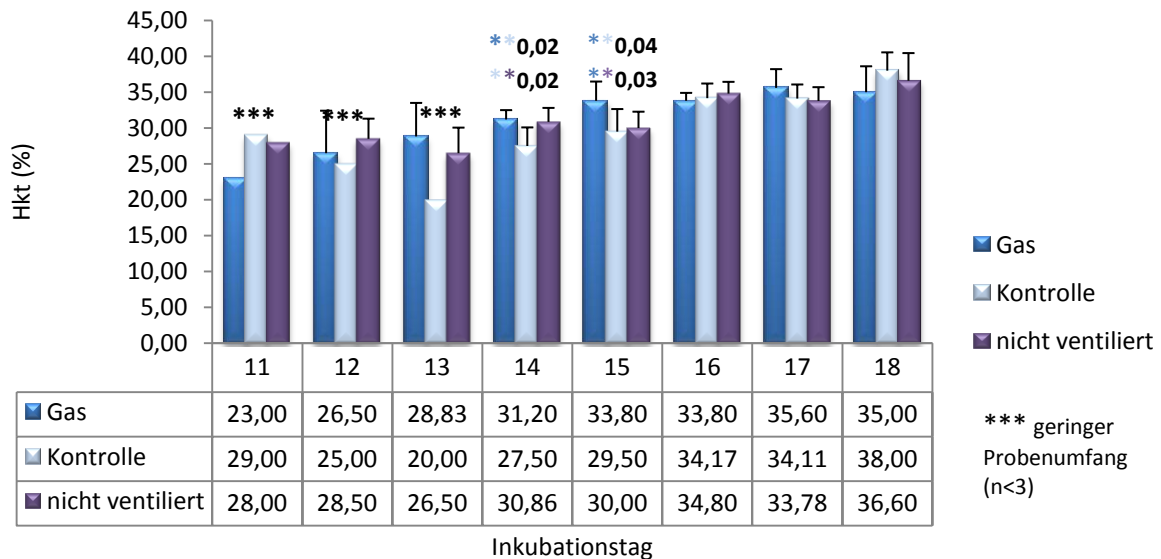
#### 4.2.7.3. Zusammenfassung

Bei beiden KG finden die Längenentwicklung und auch die Entwicklung von einer kugeligen zu einer ovalen Herzform annähernd gleich statt. Die **Längenausdehnung der Herzen im Vergleich zur Rückenlänge ist bei der Broiler-Linie Ross größer** als bei der Broiler-Linie Isa. Innerhalb der Broiler-Linie Ross zeigt die **NVG am Ende des Beobachtungszeitraumes die geringste Längenausdehnung und einen höheren Herzindex.** Bei der Betrachtung der Broiler-Linie Isa fällt auf, dass die Herzen der Versuchsgruppen länger sind als die Herzen der KG, welche am Ende des Beobachtungszeitraumes eine eher kugelige Herzform aufweisen.



### 4.3. Hämatokrit-Werte

#### 4.3.1. Broiler-Linie Ross

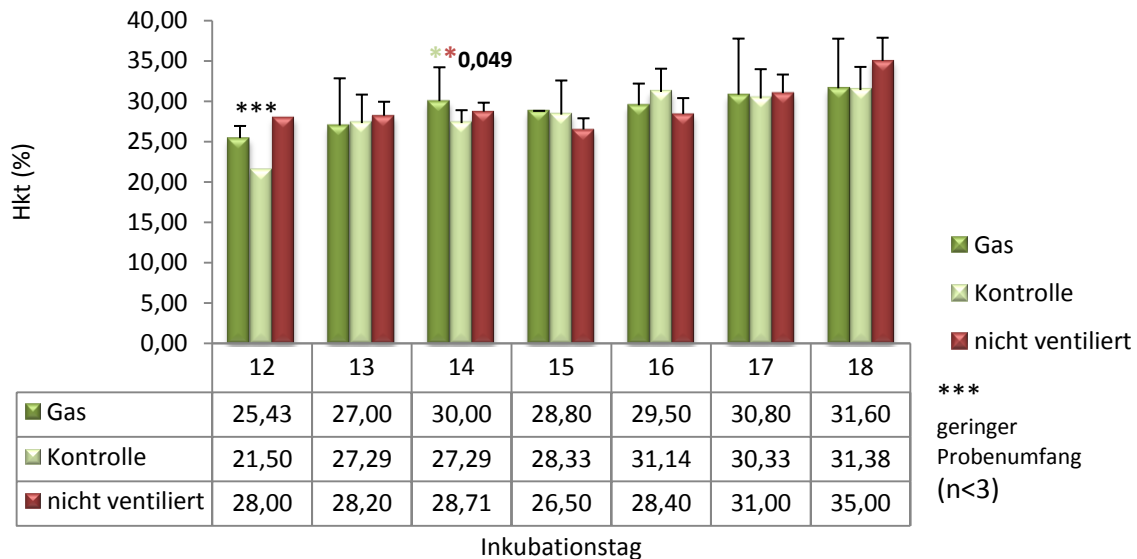


**Diag. 44: Hämatokrit-Werte (Mittelwerte mit Standardabweichung) aller Versuchsgruppen (Broiler-Linie Ross) . Die Sterne markieren signifikante Unterschiede zwischen den gleichfarbig dargestellten Versuchsgruppen (t-Test, N=116).**

Diagramm 44 zeigt die Entwicklung der Hämatokrit-Werte (Hkt) der Ross-Embryonen aller Versuchsgruppen an den verschiedenen Inkubationstagen. An D 10 konnten aufgrund der geringen Blutmengen keine Bestimmungen gemacht werden. Die Inkubationstage 11-13 konnten ebenfalls aufgrund eines zu geringen Stichprobenumfanges nicht eindeutig statistisch ausgewertet werden. Ab dem 14. Inkubationstag bis **zum Ende der Beobachtungsperiode kann man in allen Gruppen einen Anstieg des Hkt beobachten.** Die GG zeigt in dieser Zeit eine Zunahme des korpuskulären Anteils des Blutes von 31,2% auf 35%. In der KG steigt der Wert im gleichen Zeitraum von 27,5% auf 38%, während der Hkt der NVG im Mittel um 5,74% auf 36,6% am 18. Inkubationstag ansteigt. Damit zeigen **die Tiere aus der KG den höchsten Anstieg des Hkt** im beobachteten Zeitraum. Die höchsten Ausgangswerte liegen im Mittel in der Gruppe aus der begasteten Inkubation. Diese Embryonen zeigen einen Hkt von 31,20%. Die Kontrolltiere hingegen zeigen mit 27,5% den niedrigsten Ausgangswert an D 14. Signifikante Unterschiede zwischen den Embryonen aus den verschiedenen Versuchsgruppen liegen vor allem an D 14 und 15. Am 14. Inkubationstag zeigen beide Versuchsgruppen einen signifikant höheren Hkt als die Tiere der KG. Am 15. Inkubationstag zeigen nur noch die Tiere der GG einen signifikanten Unterschied im Hkt zu den Embryonen der beiden anderen Gruppen. **Am 18.**

Inkubationstag zeigen jedoch die Embryonen der KG den höchsten mittleren Hkt mit 38%, während die beiden Versuchsgruppen mit 35% (NVG) und 36,6% (GG) geringere Hkt aufweisen.

#### 4.3.2. Broiler-Linie Isa



Diag. 45: Hämatokrit-Werte (Mittelwerte mit Standardabweichung) aller Versuchsgruppen (Broiler-Linie Isa). Die Sterne markieren signifikante Unterschiede zwischen den gleichfarbig dargestellten Versuchsgruppen (t-Test, N=122).

Diagramm 45 zeigt den Verlauf der Hämatokrit-Werte (Hkt) der Isa-Embryonen aller Versuchsgruppen an den Inkubationstagen 12-18. Auch bei dieser Broiler-Linie ist deutlich der Anstieg des Hkt im Inkubationsverlauf bei allen Versuchsgruppen erkennbar. Die Tiere der KG zeigen einen Hkt-Anstieg von 21,5% auf 31,38%, während der korpuskuläre Anteil des Blutes in den Versuchsgruppen um 6,17% (GG) und 7% (NVG) steigt. Mit 9,88% Hkt-Anstieg in dem beobachteten Zeitraum zeigen damit die Tiere aus **der Kontroll-Inkubation den höchsten Hkt-Anstieg** und den niedrigsten Ausgangswert an D 12. Den **höchsten Hkt-Ausgangswert weisen die Tiere aus der nicht-ventilierten Inkubation** mit 28% auf. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen treten auch hier an D 14 auf, an dem die GG gegenüber der nicht-ventilierten Gruppe einen signifikant höheren Hkt aufweist. **Am Ende der Versuchsperiode zeigen die Tiere aus der nicht-ventilierten Inkubation mit 35% den höchsten Hkt.** Der Hkt der GG und KG an D 18 ist mit 31,6% (GG) und 31,38% (KG) annähernd gleich. **Alle Hkt der Broiler-Linie Isa an D 18 liegen im direkten Vergleich mit den Werten aus Diagramm 44 deutlich unter denen der Ross-Linie.**

### 4.3.3. Zusammenfassung

Im Vergleich beider KG weisen die Tiere der Broiler-Linie Ross am Ende der Beobachtungsperiode einen höheren Hämatokrit auf als die Tiere der Broiler-Linie Isa. Die Betrachtung innerhalb der Broiler-Linie Ross zeigt, dass beide Versuchsgruppen am Ende des Versuchszeitraums einen höheren Hämatokrit aufweisen als die Tiere der KG. Innerhalb der Broiler-Linie Isa zeigen die Tiere aus der NVG einen höheren Hämatokrit als die Tiere der anderen Versuchsgruppen.

## 4.4. Lichtmikroskopische Untersuchung der Herzen

### 4.4.1. Allgemeine Betrachtung der Herzen am 10. Inkubationstag

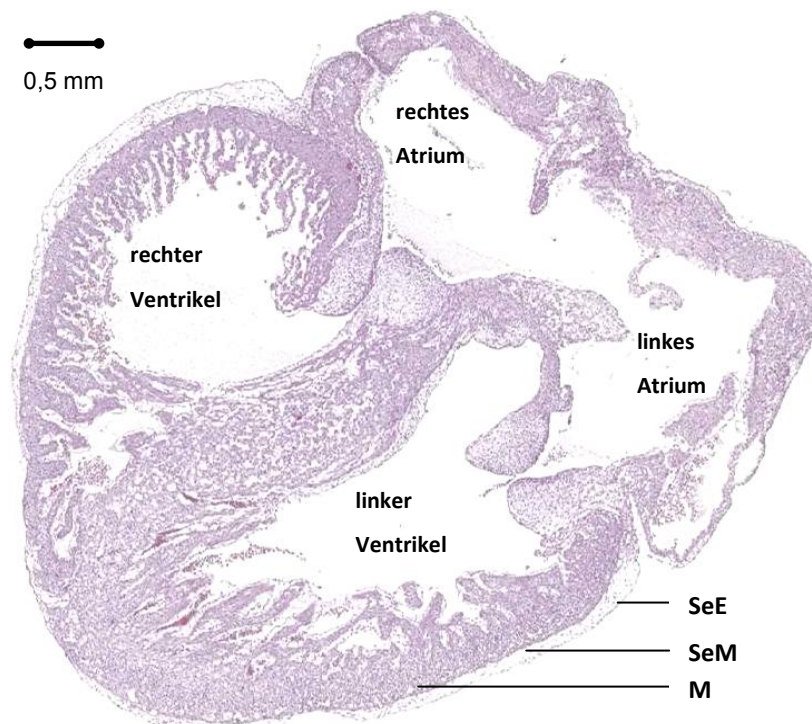


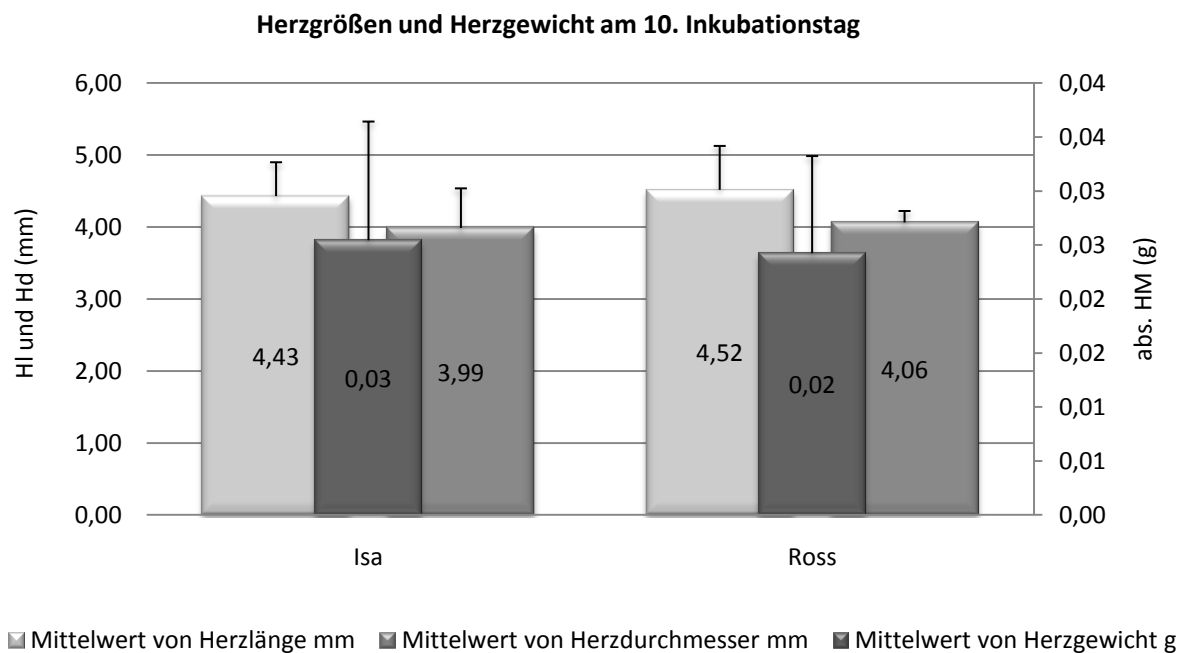
Abb. 22: Herz am 10. Inkubationstag (HE-Färbung)

Die Herzen beider Broiler-Linien weisen am 10. Inkubationstag (Abb. 22) eine abgerundete, kugelige Form auf. Die Angaben in der Literatur bezüglich der zeitlichen Entwicklung der Herzen können bestätigt werden. Am 10. Inkubationstag liegen vollständig gekammerte Herzen vor. Alle Herzkammern lassen sich deutlich voneinander

abgrenzen. Die Herzspitze der untersuchten Herzen

wurde ausschließlich, wie auch in der Literatur beschrieben, vom linken Ventrikel gebildet. Das subepikardiale Mesenchym (seM), welches zwischen dem Serosaepithel des Epikards (SeE) und dem Myokard (M) liegt, ist bei den Herzen am 10. Inkubationstag noch deutlich ausgeprägt (Abb. 22). An der Herzbasis ist seine Ausdehnung am stärksten. In Richtung der Herzspitze ist es weniger stark ausgeprägt ist, überzieht jedoch die gesamte Oberfläche des Myokards.

Bezüglich der Herzform oder der zeitlichen Entwicklung gibt es zwischen den Broiler-Linien Ross und Isa keine Unterschiede, lediglich die Ausdehnung der Herzen lässt leichte Unterschiede erkennen (Diag. 46). Die Herzen der Ross-Embryonen sind um 0,09 mm länger und um 0,07 mm breiter als die Herzen gleichaltriger Isa-Embryonen. Auch die Gewichte der Herzen sind zwischen den beiden KG der Linien Isa und Ross annähernd gleich am 10. Inkubationstag. Signifikante Unterschiede zwischen den Broiler-Linien sind an diesem Inkubationstag nicht vorhanden.



**Diag. 46:** Herzdurchmesser, Herzlänge und absolute Herzmasse (Mittelwerte (im Balken dargestellt) mit Standardabweichung) der Broiler-Linien Isa und Ross am 10. Inkubationstag im Vergleich.

Das Myokard von Tieren dieser Altersgruppe ist aufgrund des fehlenden Koronarkreislaufes noch deutlich trabekulär strukturiert (Abb. 23). Dadurch wird die Oberfläche vergrößert und ermöglicht so eine ausreichende Versorgung mit Nährstoffen und Sauerstoff. Ein dreischichtiger Myokard-Aufbau ist in dieser Altersstufe noch nicht zu erkennen (Abb. 24). Die kompakten Ventrikel-Anteile scheinen in dieser Altersgruppe noch sehr gering.

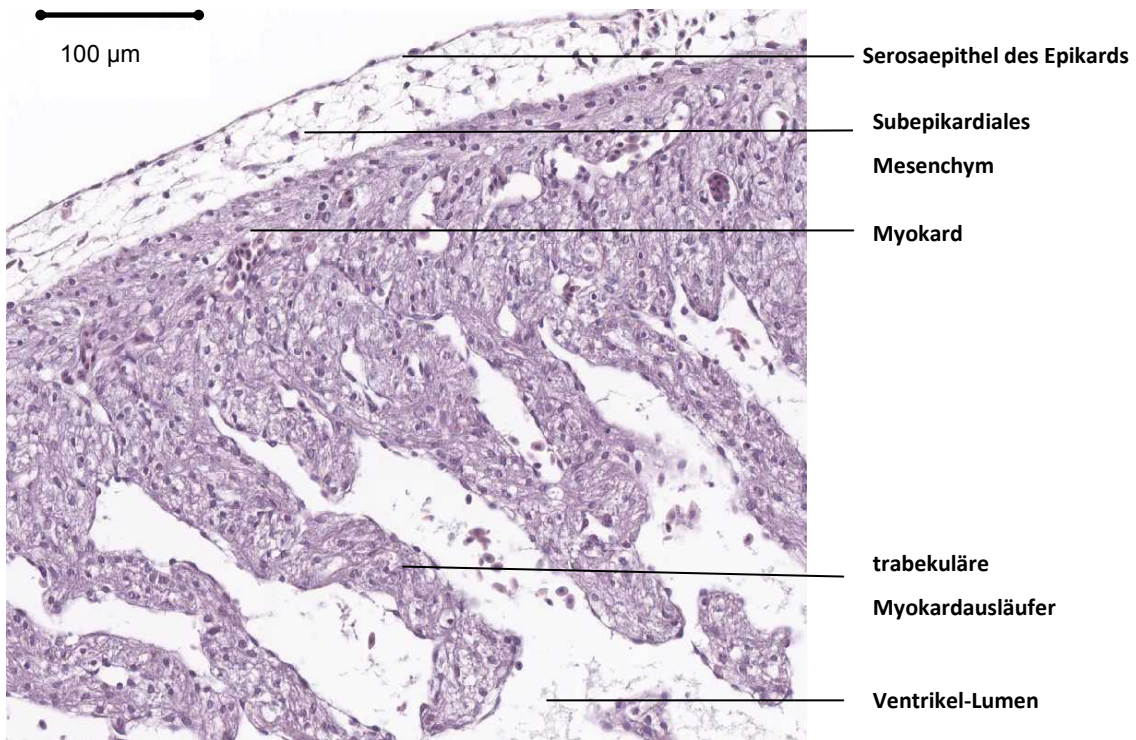


Abb. 23: Myokard des rechten Ventrikels am 10. Inkubationstag (HE-Färbung)

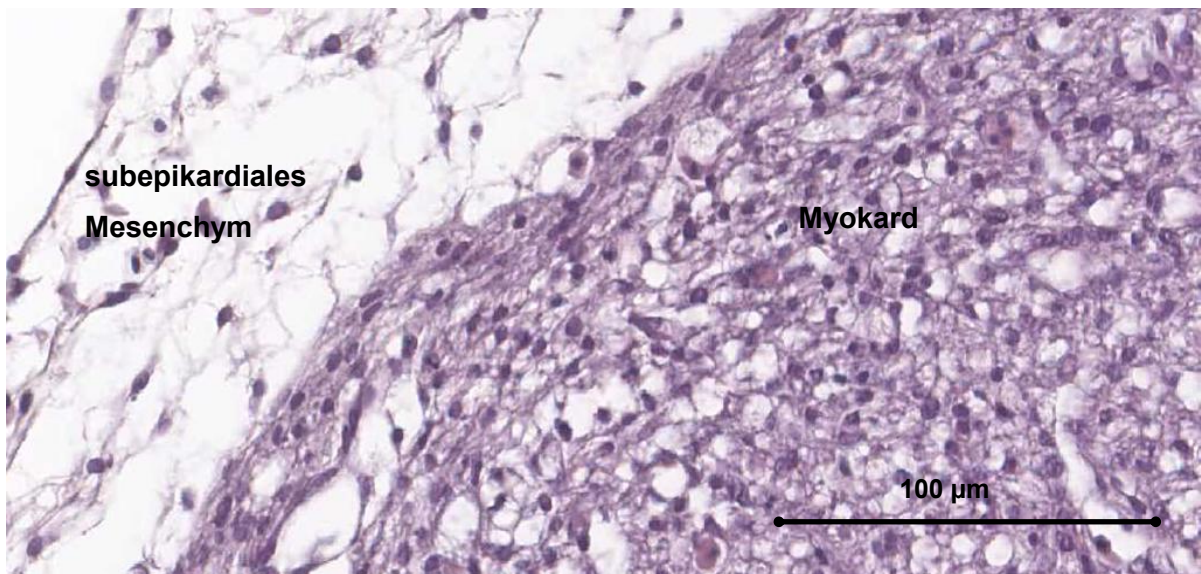
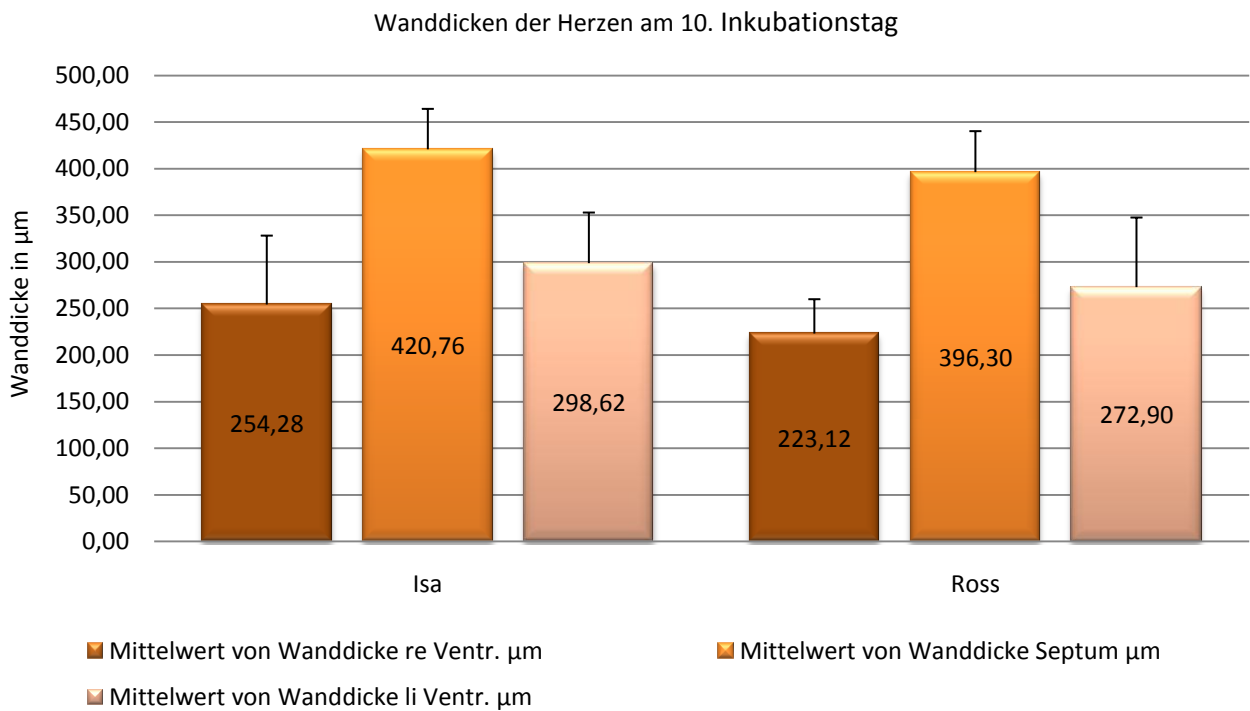
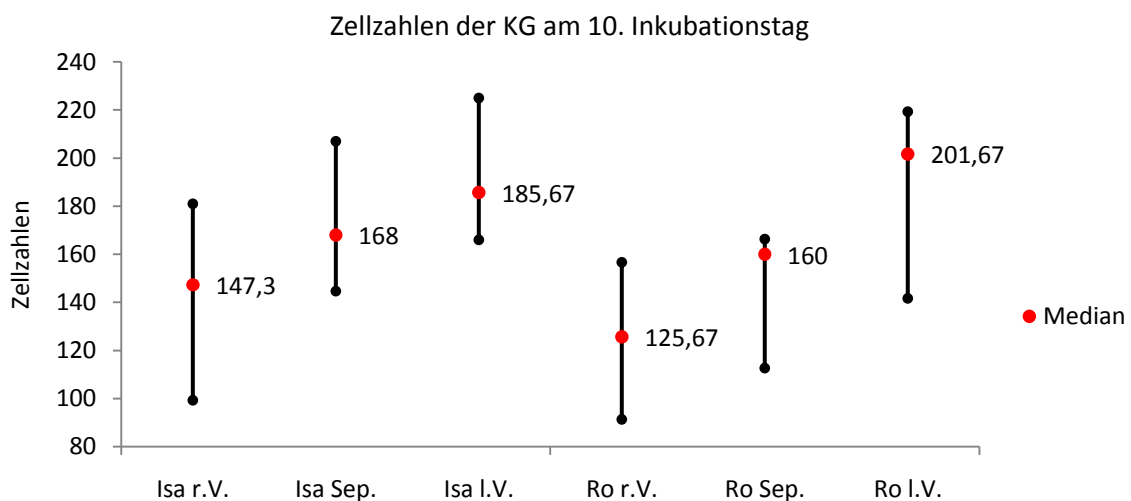


Abb. 24: Myokard des linken Ventrikels am 10. Inkubationstag (HE-Färbung)



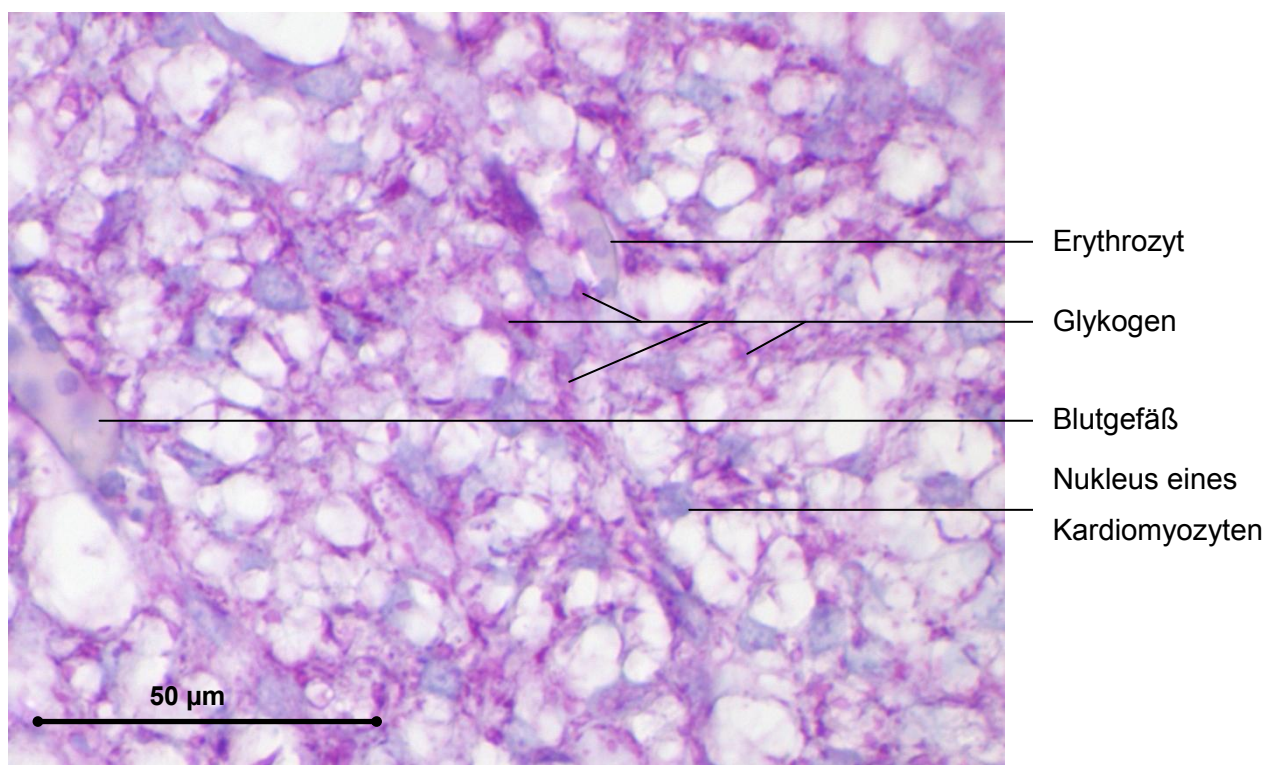
Diag. 47: Darstellung der Wanddicken der KG der Broiler-Linien Isa und Ross (Mittelwerte (im Balken dargestellt) mit Standardabweichung) N=15.



Diag. 48: Darstellung der Zellzahlen (Streuung um den Median) aus rechtem Ventrikel, Septum interventriculare und linkem Ventrikel der KG der Broiler-Linien Isa und Ross am 10. Inkubationstag (N=15).

Die Wanddicken des embryonalen Herzens am 10. Inkubationstag sind in Diagramm 47 graphisch dargestellt. Allgemein zeigt das Septum interventriculare in den Herzen der KG beider Broiler-Linien im Mittel die größte Ausdehnung verglichen mit den Wandstärken des rechten bzw. linken Ventrikels, welche eine annähernd gleiche Dicke aufweisen. Zwischen den Broiler-Linien selbst bestehen keine signifikanten Unterschiede. Lediglich das Septum ist bei den Tieren der Broiler-Linie Isa in seiner Ausdehnung an D 10 im Mittel dicker als bei den Tieren der Ross-Linie. Die gemessenen Zellzahlen am 10. Inkubationstag (Diag. 48) spiegeln nicht die gemessenen Wanddicken wider. Hier weisen bei beiden Broiler-Linien die linken Ventrikelwände die höchste Zelldichte auf. Unterschiede zwischen den Broiler-Linien bestehen v.a. in den Zellzahlen beider Ventrikel. Die Tiere der Broiler-Linie Isa weisen im rechten Ventrikel mehr Zellen auf als die Tiere der Broiler-Linie Ross, welche am 10. Inkubationstag im linken Ventrikel die höhere Zellzahl aufweisen.

Spezialfärbungen am 10. Inkubationstag



**Abb. 25: PAS-Reaktion des Myokards (D 10) des rechten Ventrikels**

Abbildung 25 zeigt deutlich den hohen Gehalt an Glykogengranula (violett gefärbt) im embryonalen Herzgewebe am 10. Inkubationstag. Auch hier wird die noch lockere Myokardstruktur der jungen embryonalen Herzen deutlich.

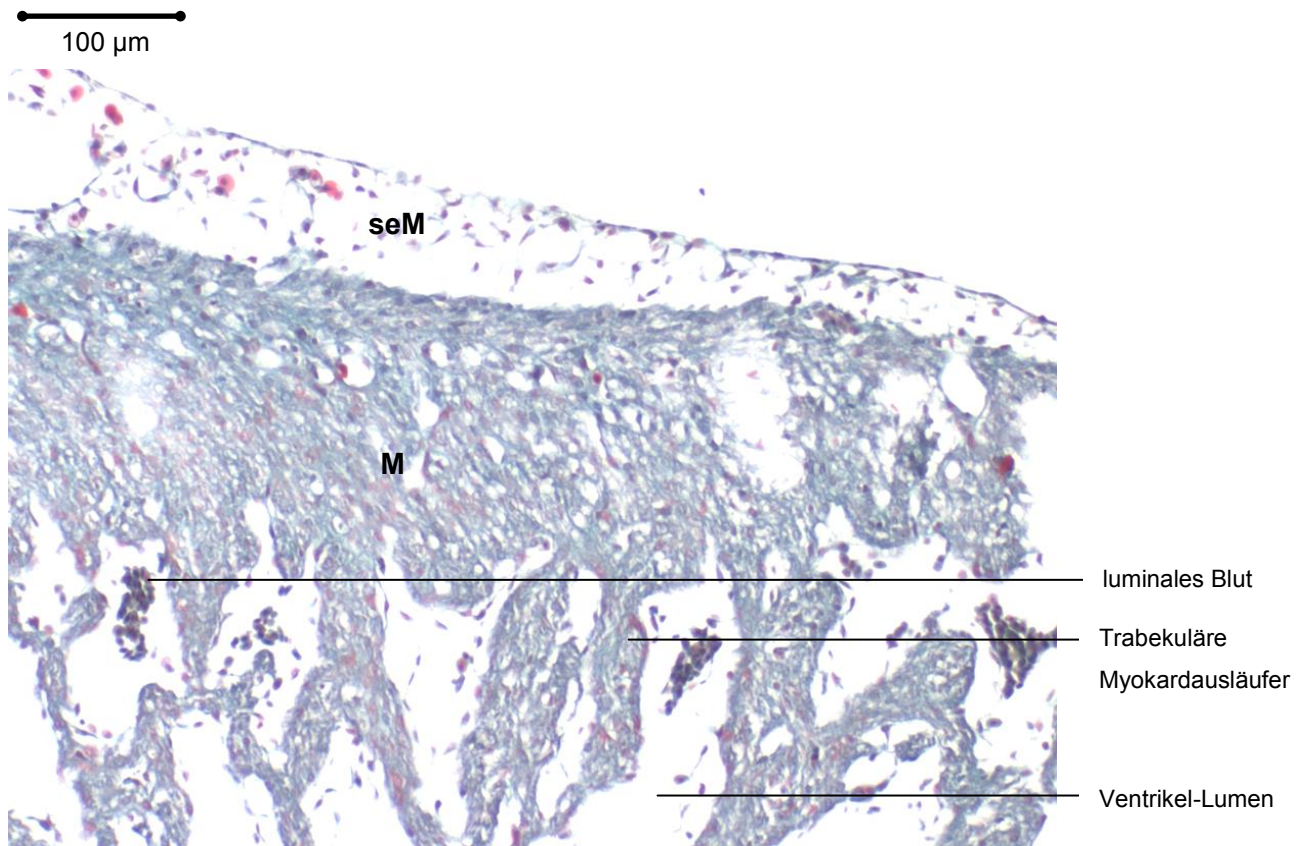


Abb. 26: Myokard des linken Ventrikels an D 10 (Trichromfärbung)

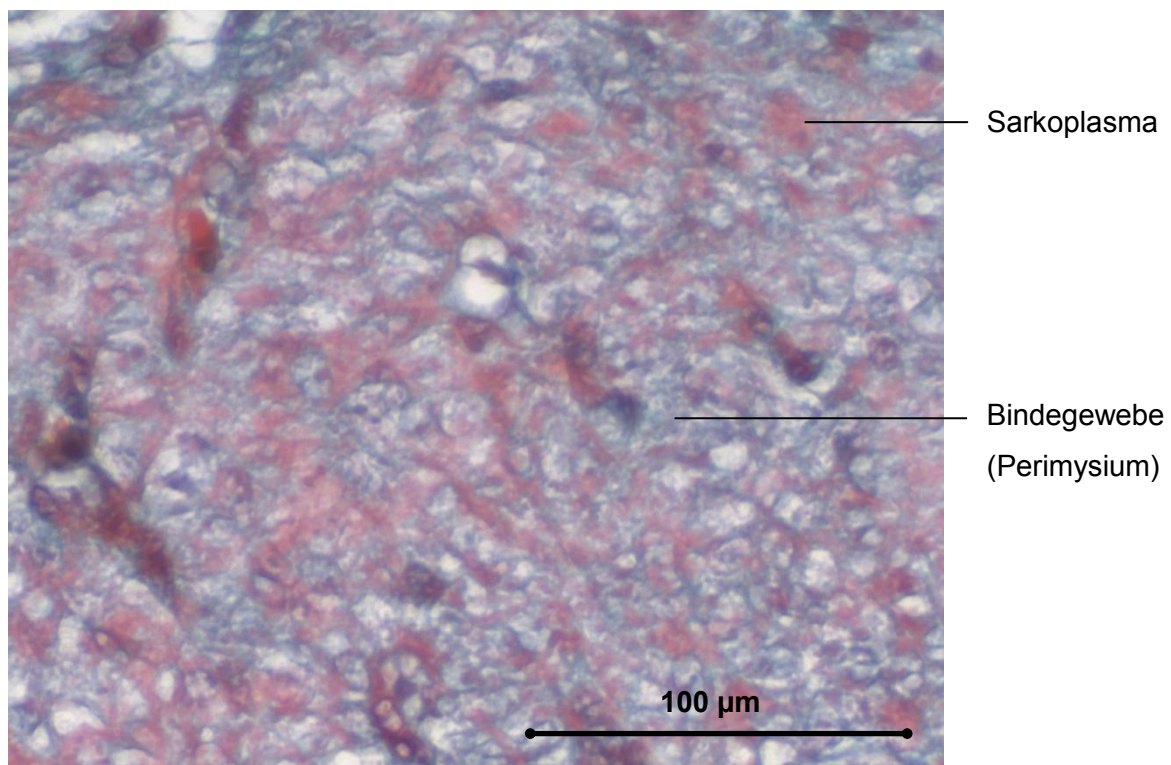


Abb. 27: Myokard des rechten Ventrikels an D 10 (Trichromfärbung)



Die Herzen am 10. Inkubationstag (Abb. 25 und 26) zeigen einen vergleichsweise geringen Anteil an kontraktile Strukturen bzw. Sarkoplasma (rot). Der Anteil an bindegewebigen Strukturen (grün) ist zu diesem Inkubationszeitpunkt deutlich höher.

#### 4.4.2. Allgemeine Betrachtung der Herzen am 15. Inkubationstag

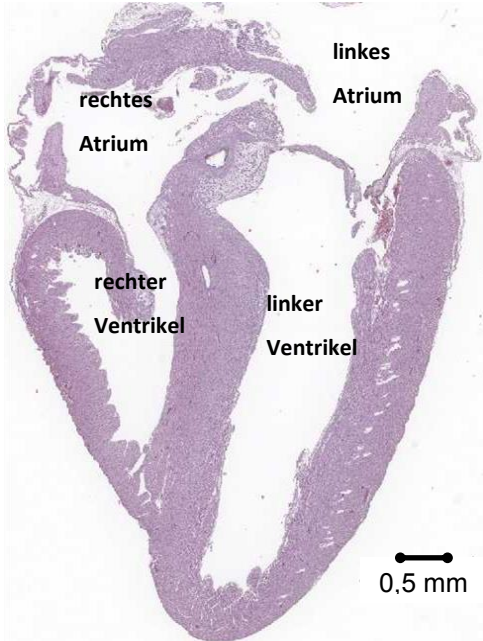
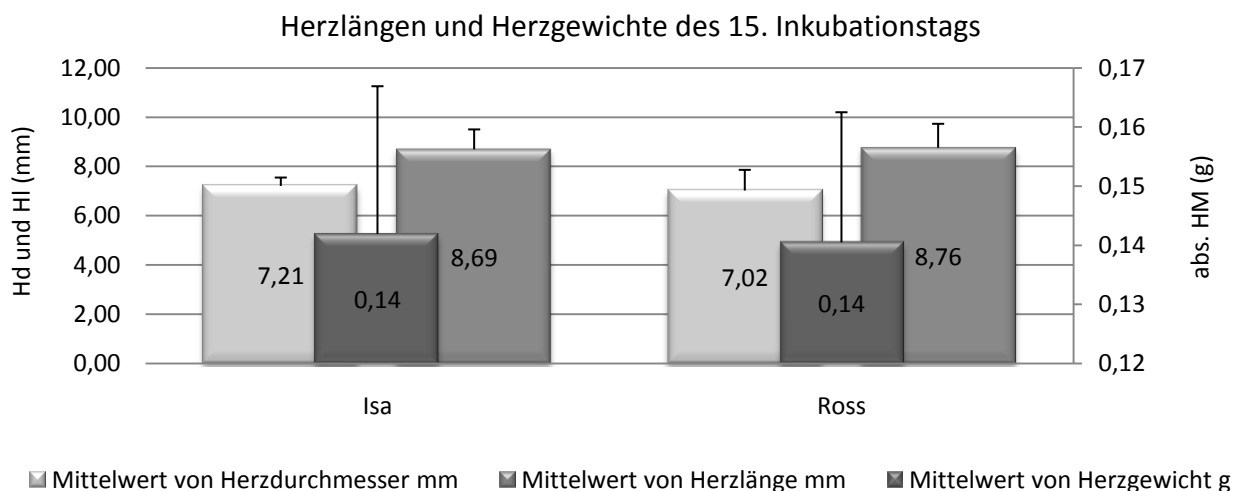


Abb. 28: Herz am 15. Inkubationstag (HE-Färbung)

Am 15. Inkubationstag (Abb. 28), welcher sich im letzten Drittel der Inkubation befindet, hat das Herz deutlich an Größe gewonnen. Bei beiden Broiler-Linien ist die eher kugelige Form vom 10. Inkubationstag einer eher länglichen Herzform gewichen. Die Wandverhältnisse zwischen den Kammern sind nun deutlicher zugunsten des linken Ventrikels ausgeprägt. An diesem Inkubationstag ist das subepikardiale Mesenchym nur noch auf Höhe des Klappenapparates deutlich ausgeprägt. Unterschiede in der Entwicklung zwischen beiden Broiler-Linien sind nicht aufgetreten. Auch die Herzdurchmesser und Herzlängen der Embryonen an diesem Inkubationstag sind annähernd gleich (Diag. 49).



Diag. 49: Herzdurchmesser, Herzlänge und absolute Herzmasse (Mittelwerte (im Balken dargestellt) mit Standardabweichung) der Broiler-Linien Isa und Ross am 15. Inkubationstag.

Neben der Größenveränderung kann man auch eine Veränderung in der Myokard-Struktur im Verlauf der embryonalen Entwicklung beobachten (Abb. 29). Das Herzmuskelgewebe zeigt eine deutlichere Strukturierung. Die äußere längs verlaufende Myokardschicht (Ma) kann nun von der inneren quer verlaufenden Myokardschicht (Mi) unterschieden werden. Auch Arteriolen (A) sind im Gegensatz zum 10. Inkubationstag im Myokard vorhanden.

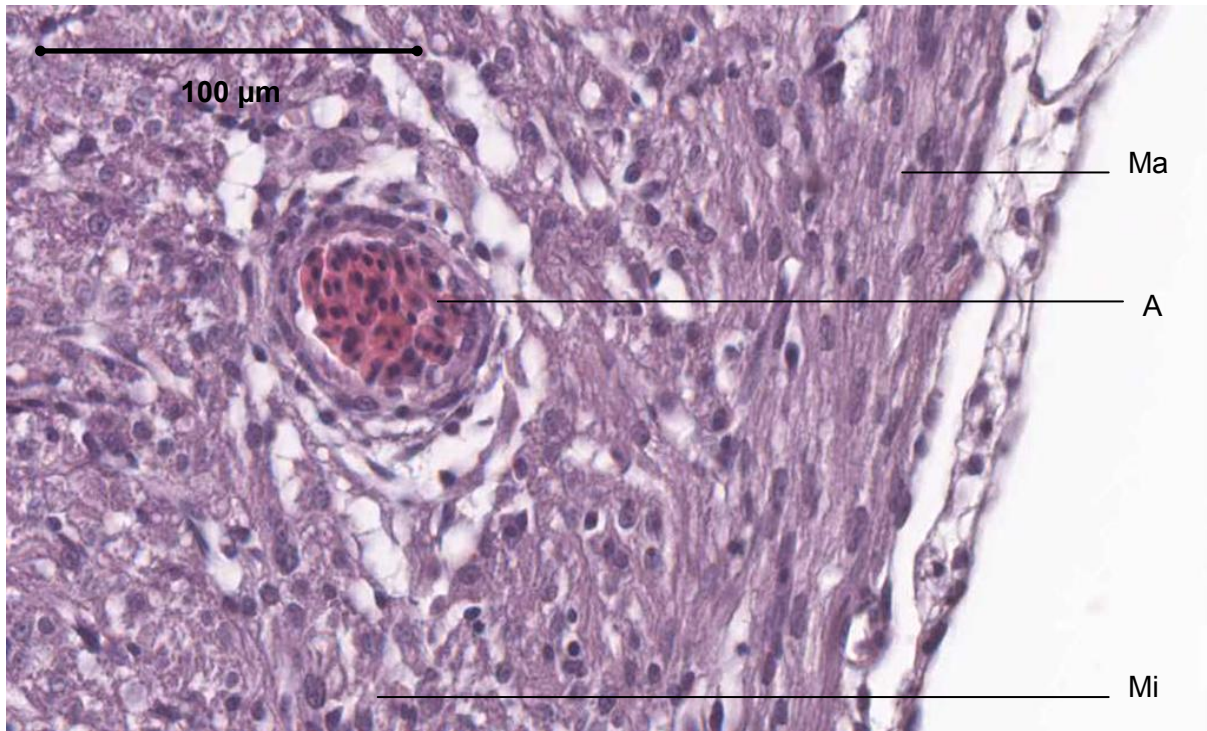
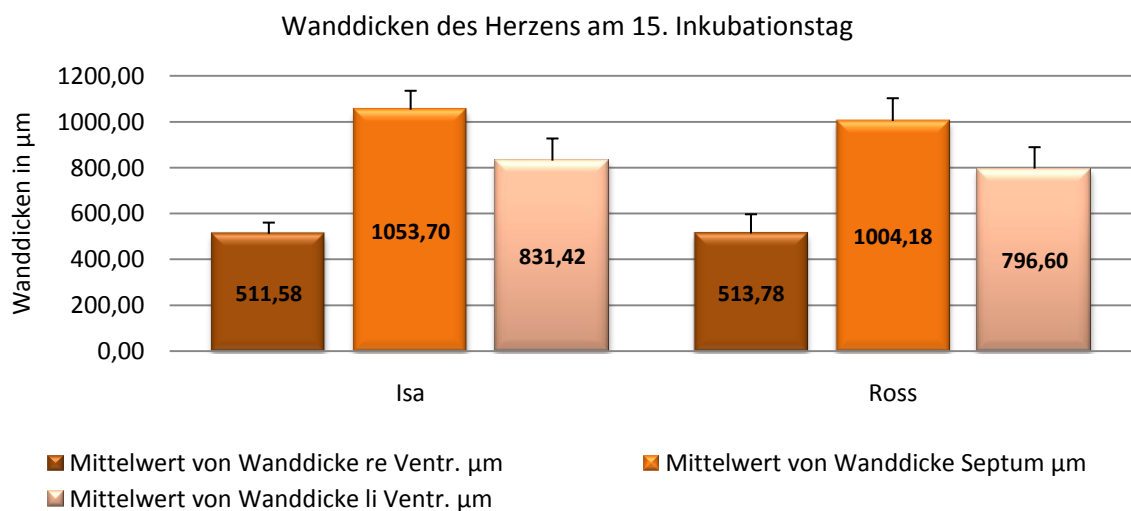
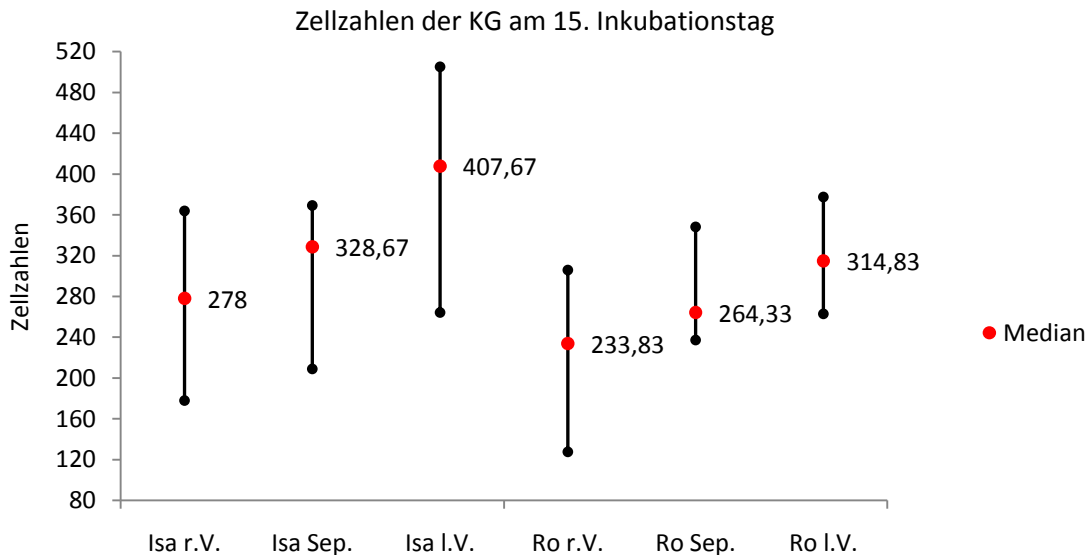


Abb. 29: Strukturierung des Myokards am 15. Inkubationstag (HE-Färbung)



Diag. 50: Darstellung der Wanddicken der KG der Broiler-Linien Isa und Ross (Mittelwerte (im Balken dargestellt) mit Standardabweichung). (N=15)



**Diag. 51:** Darstellung der Zellzahlen (Streuung um den Median) aus rechtem Ventrikel, Septum interventriculare und linkem Ventrikel der Kontroll-Gruppen beider Broiler-Linien am 15. Inkubationstag. (N=15)

Auch am 15. Inkubationstag bleiben die Verhältnisse der Wanddicken bei beiden Broiler-Linien bestehen (Diag. 50). Auch in dieser Altersstufe weisen die embryonalen Herzen im Septum die größte Breitenausdehnung auf, wobei wieder die Herzen der Broiler-Linie Isa ein im Mittel breiteres Septum aufweisen als die Tiere der Broiler-Linie Ross. Im Unterschied zum 10. Inkubationstag zeigen nun beide Rassen einen deutlichen Unterschied zwischen den Wanddicken beider Ventrikel. Die Wände der linken Ventrikel sind in dieser Altersstufe nun deutlich dicker als die rechten Ventrikelwände. Signifikante Unterschiede zwischen beiden Broiler-Linien bestehen auch in dieser Altersstufe nicht. Die Zellzahlen sind graphisch in Diagramm 51 dargestellt. Sie haben sich, im Vergleich zum 10. Inkubationstag, annähernd verdoppelt. Auch in dieser Altersstufe zeigen die linken Ventrikel die höchste Zelldichte. Signifikante Unterschiede zwischen den Broiler-Linien sind nicht vorhanden, obwohl die Tiere der Broiler-Linie Isa in dieser Altersstufe in allen betrachteten Bereichen eine höhere Zellzahl aufweisen als die Tiere der Broiler-Linie Ross.

### 4.4.3. Allgemeine Betrachtung der Herzen am 18. Inkubationstag

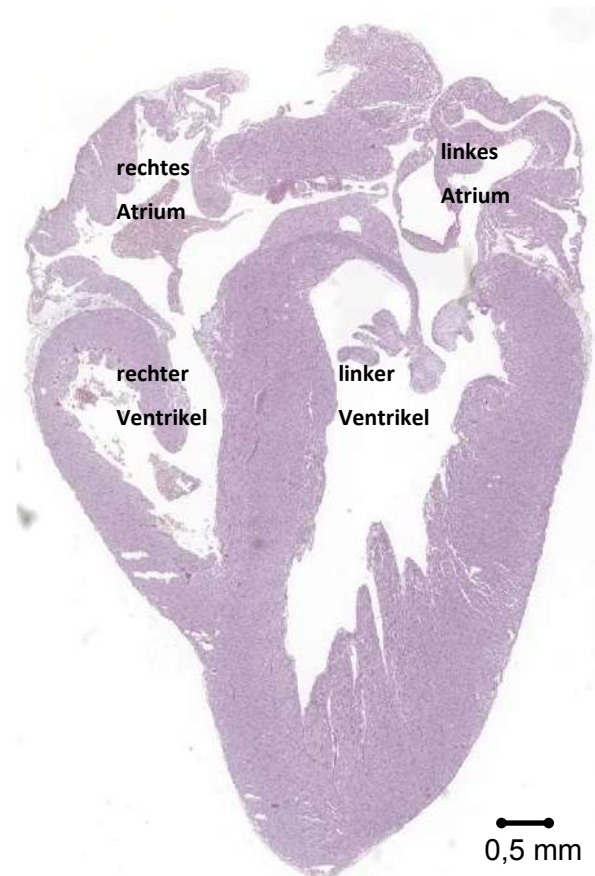
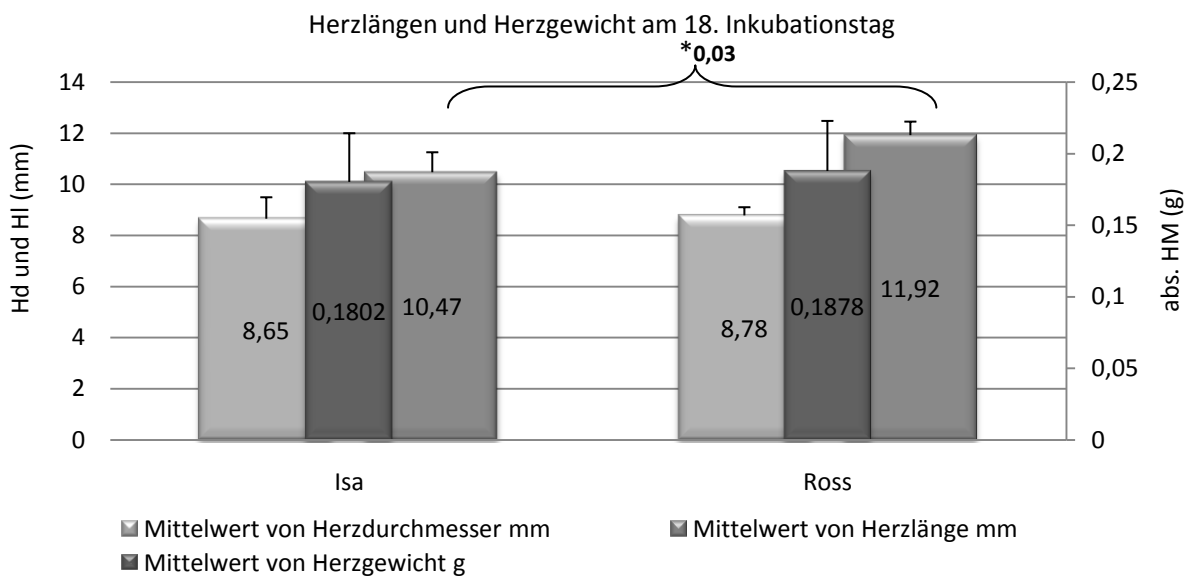


Abb. 30: Herz am 18. Inkubationstag (HE-Färbung)

Ab dem 18. Inkubationstag hat das Herz seine endgültige Form erreicht. Die Herzen der Embryonen dieser Altersgruppe weisen eine spitze Herzform auf. Der linke Ventrikel ist nun deutlich größer und mit einer stärkeren Myokardwand ausgestattet als der deutlich kleinere rechte Ventrikel (Abb. 30). In der Abbildung wird auch noch einmal verdeutlicht, dass die Herzspitze allein vom linken Ventrikel gebildet wird. Auch am Ende der Beobachtungsperiode gibt es in der Entwicklung der Herzen zwischen den Broiler-Linien Isa und Ross kaum Unterschiede. Am 18. Inkubationstag sind die Herzdurchmesser annähernd gleich. Lediglich die Herzlänge ist bei den Tieren der Ross-Linie mit im Mittel 1,5 mm signifikant erhöht (Diag. 52).



Diag. 52: Mittelwerte (in den Balken dargestellt) der Herzdurchmesser, Herzlängen und der abs. Herzmassen beider Broiler-Linien am 18. Inkubationstag. Signifikante Unterschiede sind mit Sternchen gekennzeichnet (t-Test).

Das Myokard der Herzen am 18. Inkubationstag weist eine weitgehend ausgereifte Struktur auf (Abb. 31). Das Muskelgewebe wirkt kompakt und zeigt keine trabekulären Strukturen.

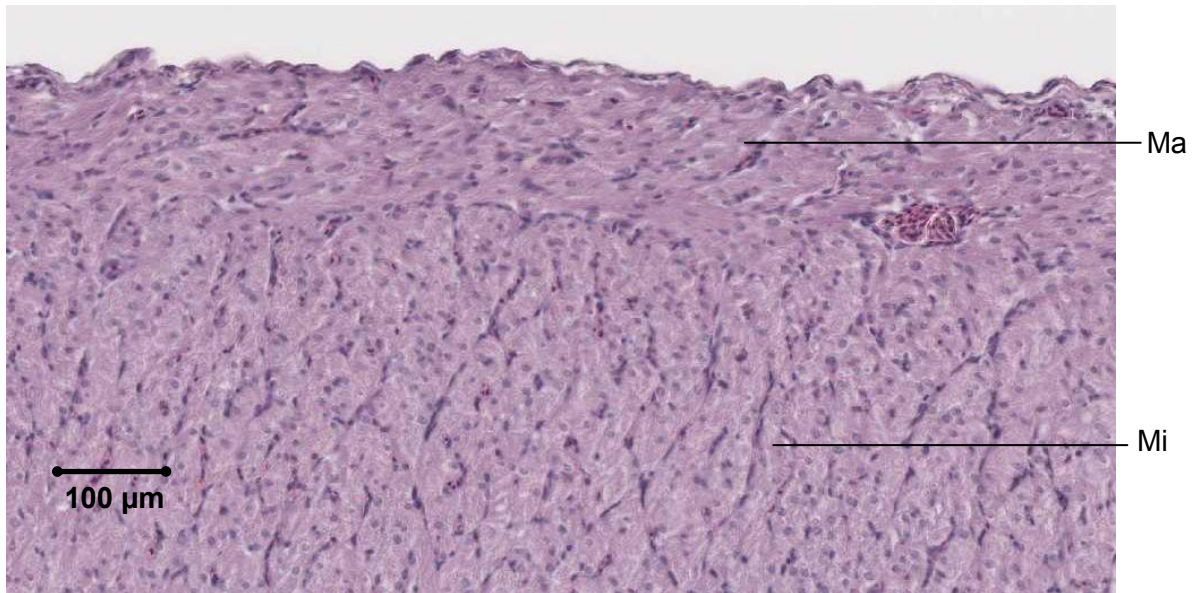


Abb. 31: Übersicht über die Myokardstruktur am 18. Inkubationstag (HE-Färbung)

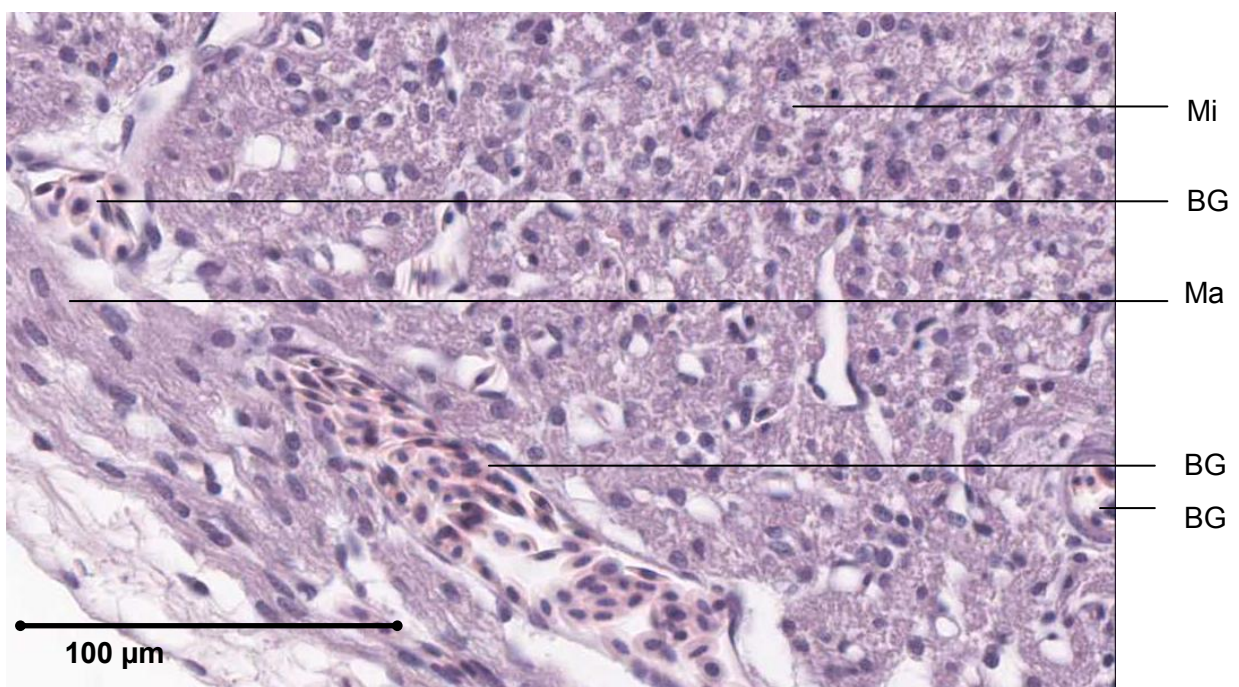
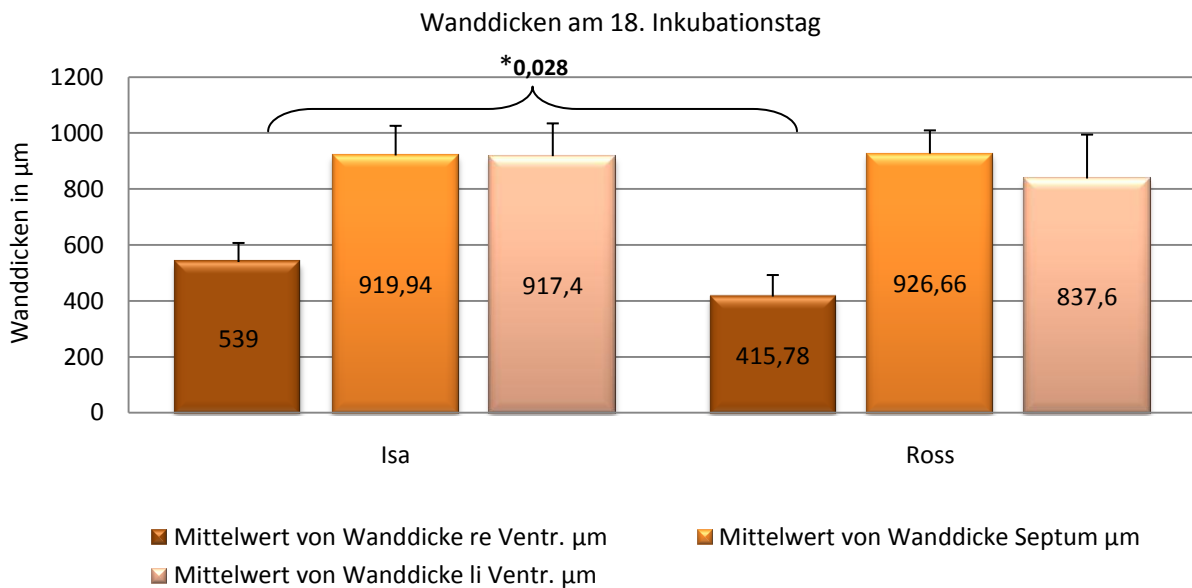


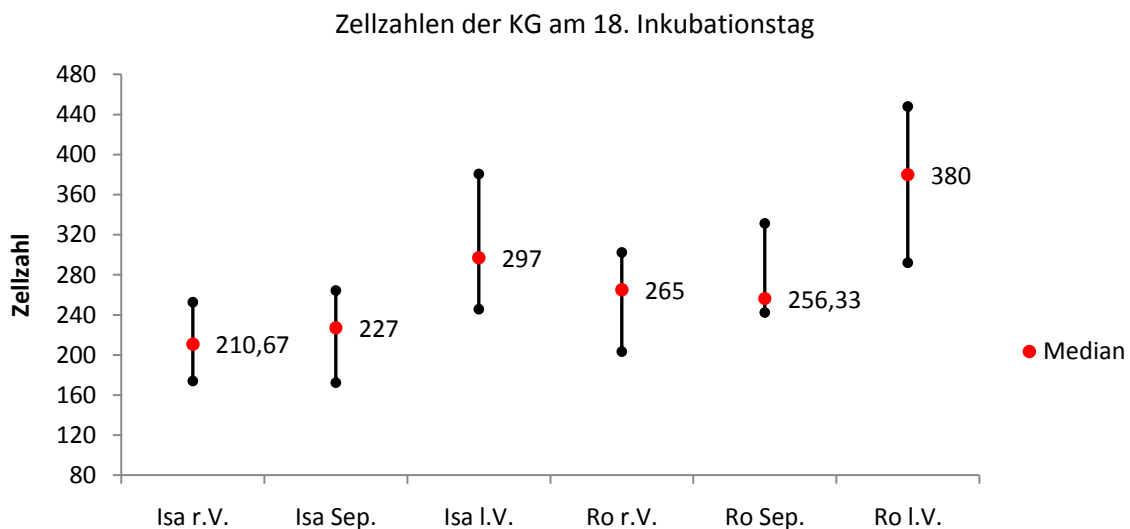
Abb. 32: Strukturierung des Myokards am 18. Inkubationstag (400fache Vergrößerung, HE-Färbung)

Auch am 18. Inkubationstag zeigt das Herzmuskelgewebe eine deutliche Strukturierung (Abb. 32). Die äußere längs verlaufende Myokardschicht (Ma) kann von der inneren quer verlaufenden Myokardschicht (Mi) unterschieden werden. Eine deutlich verbesserte

Durchblutung durch die erhöhte Dichte von Blutgefäßen (BG) im Myokard kann am 18. Inkubationstag beobachtet werden.



**Diag. 53:** Darstellung der Wanddicken der KG der Broiler-Linien Isa und Ross (Mittelwerte (in den Balken dargestellt) mit Standardabweichung). Signifikante Unterschiede sind mit Sternchen gekennzeichnet (t-Test). (N=16)



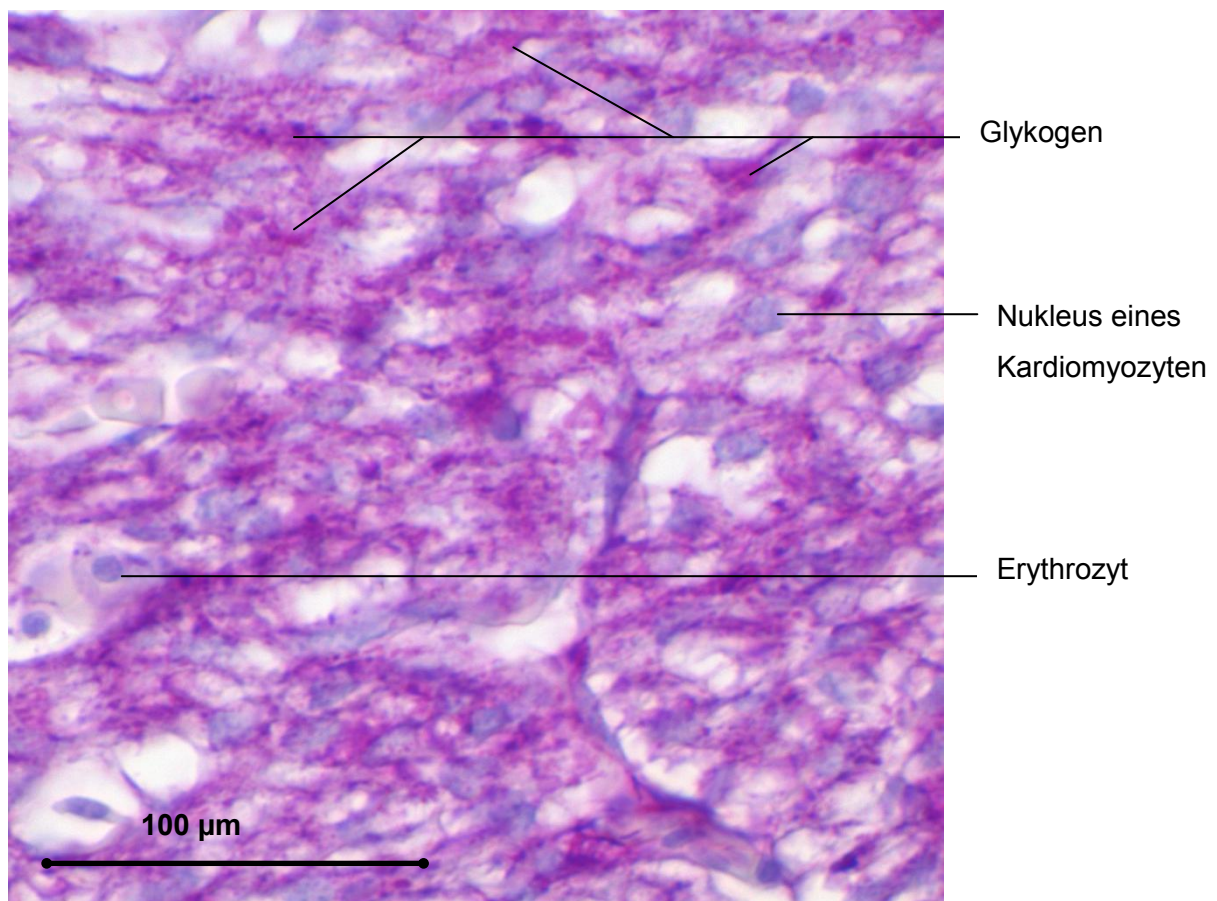
**Diag. 54:** Darstellung der Zellzahlen (Streuung um den Median) aus rechtem Ventrikel, Septum interventriculare und linkem Ventrikel der Kontroll-Gruppen beider Broiler-Linien am 18. Inkubationstag. (N=16)

Am 18. Inkubationstag haben sich die Wanddickenverhältnisse innerhalb des Herzens zu den Beobachtungen der vorherigen Inkubationstage verändert (Diag. 53). Es ist v.a. ein Unterschied in der Ausprägung des Septums verglichen mit den Vortagen erkennbar. Am 18. Inkubationstag scheint die Dickenzunahme des Septums aufgehoben und sogar rückläufig zu sein. Es ist nunmehr ungefähr von der gleichen Ausdehnung wie die Wand des linken

Ventrikels. Diese Veränderung ist in den KG beider Broiler-Linien zu beobachten. Im Verhältnis zum 15. Inkubationstag haben sich die Wanddicken der Ventrikel wenig verändert. Lediglich eine Zunahme der Wanddicke im linken Ventrikel beider Broiler-Linien ist nachzuweisen. Eine im Mittel leichte Abnahme der Wanddicke des rechten Ventrikels der Tiere aus der Broiler-Linie Ross gegenüber den rechten Ventrikeln der Herzen aus der Isa-Linie führt zu einem signifikanten Unterschied zwischen beiden Broiler-Linien am 18. Inkubationstag.

Die Verteilung der Zellzahlen in den untersuchten Abschnitten der embryonalen Herzen bleibt auch am 18. Inkubationstag erhalten (Diag. 54). Bis auf eine Ausnahme im linken Ventrikel der Broiler-Linie Isa bleiben die Zellzahlen im Mittel in allen 3 Bereichen annähernd gleich. Im linken Ventrikel der Broiler-Linie Isa am 18. Inkubationstag sind im Mittel weniger Zellen als am 15. Inkubationstag nachgewiesen worden. Signifikante Unterschiede zwischen den Broiler-Linien bestehen am 18. Inkubationstag nicht.

Spezialfärbungen am 18. Inkubationstag:



**Abb. 33: Ventrikelspitze (PAS-Reaktion)**

Auch in Abb. 33 wird die gegenüber D 10 kompaktere Myokardstruktur deutlich. Der hohe Anteil an Glykogengranula (violett) kann auch in dieser Altersstufe im Myokard nachgewiesen werden.

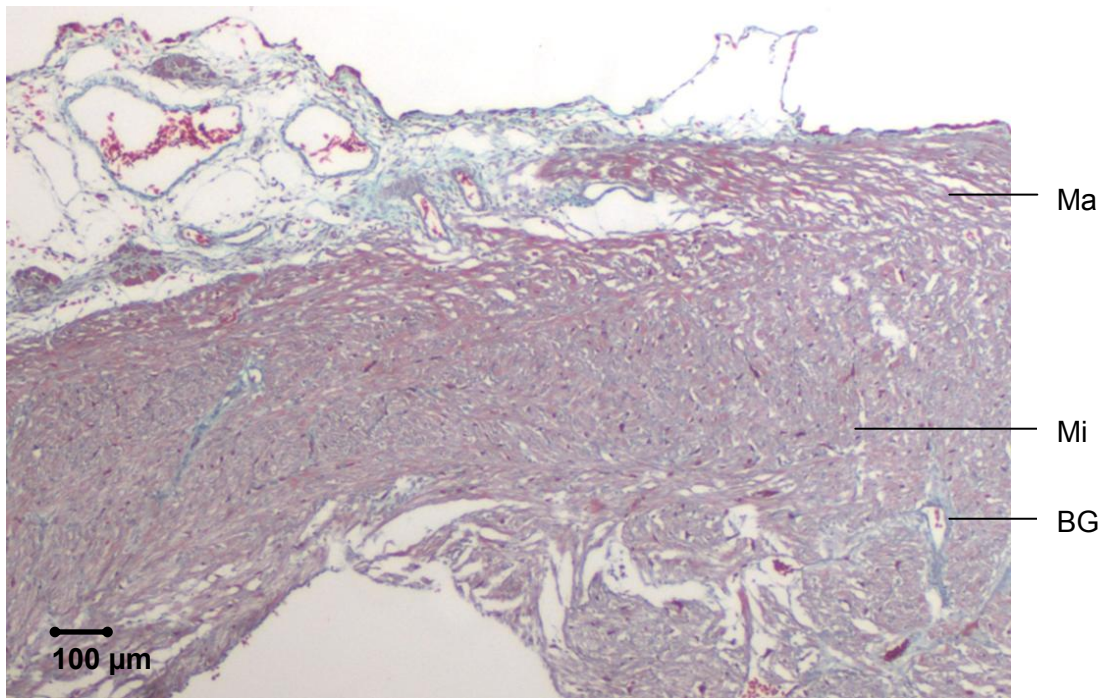


Abb. 34: Vergrößerung des Myokards des linken Ventrikels an D 18 (Trichrom- Färbung)

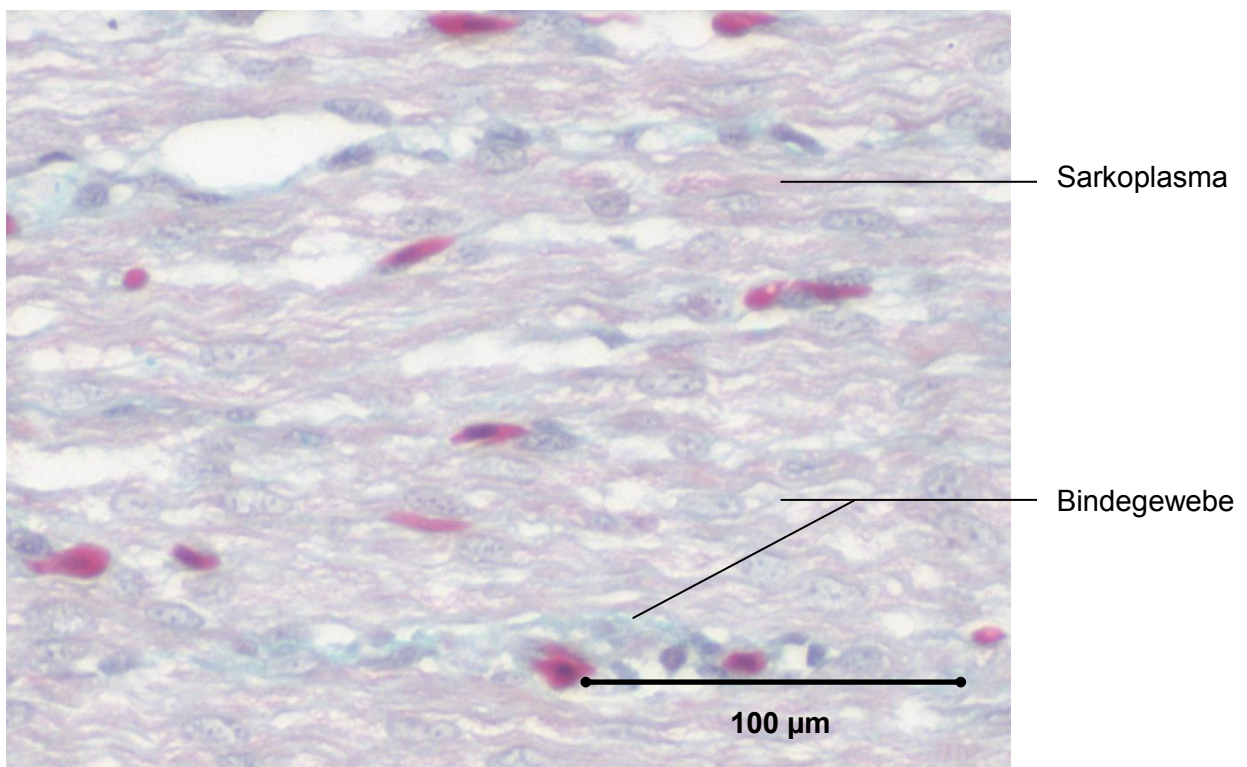


Abb. 35: Myokard des linken Ventrikels D 18 (Trichrom-Färbung)

Aus Abb. 34 und 35 ist ersichtlich, dass sich der Anteil des Sarkoplasmas (rot) und damit der Anteil an kontraktilen Strukturen gegenüber D 10 deutlich vermehrt hat. Der bindegewebige Anteil des Myokards ist im Verhältnis weniger auffällig als am 10. Inkubationstag an der gleichen Lokalisation im linken Ventrikel.

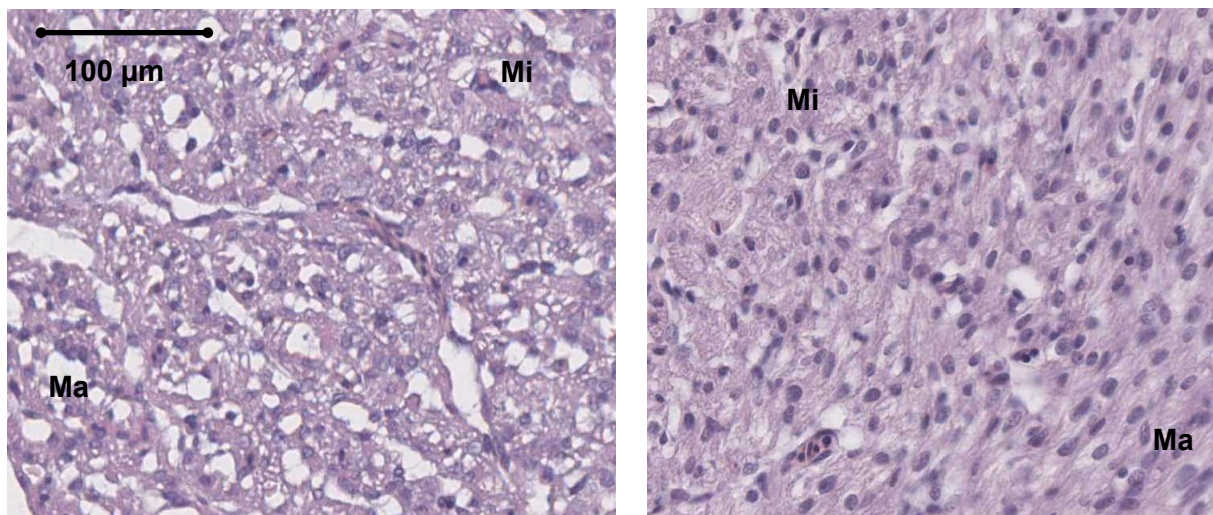


## 4.5. Auswirkung der veränderten Inkubationsbedingungen

### 4.5.1. Myokardstruktur der Versuchsgruppen

Das Myokard entwickelt sich unter allen Bedingungen bei den Tieren beider Broiler-Linien im untersuchten Zeitraum strukturell annähernd gleich. Innerhalb dieser Entwicklung vom 10. bis zum 18. Inkubationstag weist das Myokard einen deutlichen Strukturwandel auf. Dabei entwickelt sich das trabekulär strukturierte, nicht durchblutete Myokard, welches nicht in einzelne Schichten unterteilt werden kann, in ein eindeutig in äußere und innere Muskelschicht abgrenzbares, gut durchblutetes, kompaktes Herzmuskelgewebe. Der Anteil kontraktile Elemente steigt im Laufe des beobachteten Zeitraums an. In allen Altersgruppen enthält das embryonale Myokard eine hohe Dichte an Glykogengranula.

Unterschiede in der Myokardstruktur traten am 18. Inkubationstag auf. Zu diesem Zeitpunkt zeigten alle untersuchten Herzen der KG der Broiler-Linie Isa und 5 von 6 untersuchten Herzen der NVG der Broiler-Linie Ross eine vermehrte Vakuolisierung im Bereich der äußeren Myokardschicht (Abb. 36).



**Abb. 36: Vergrößerung des Myokards im Bereich der Herzspitze D 18 (HE-Färbung).  
Links: vermehrter Vakuolisierung im Bereich der Ma. Rechts: Myokard mit vereinzelt Vakuolen.**

Um den Inhalt bzw. die Ursache für die vermehrte Vakuolisierung näher zu charakterisieren, wurde von allen Herzen sowohl eine PAS-Reaktion als auch eine Sudanrot-Färbung angefertigt.

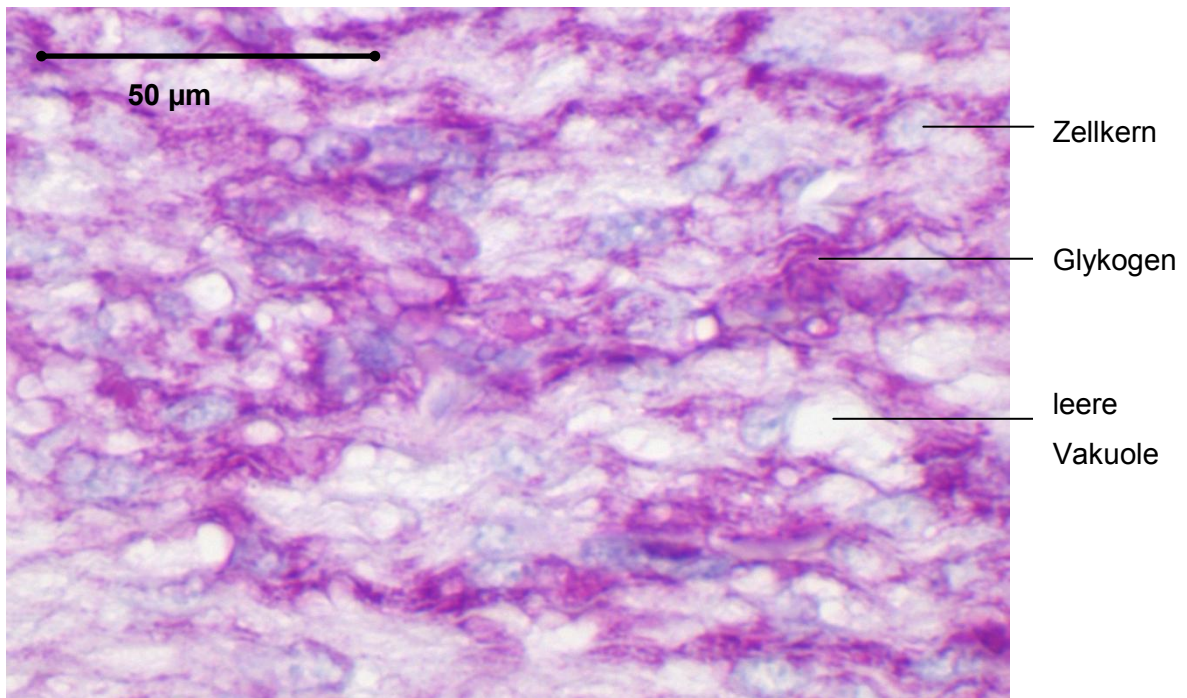


Abb. 37: Vergrößerung des Myokards (Herzspitze, PAS-Reaktion)

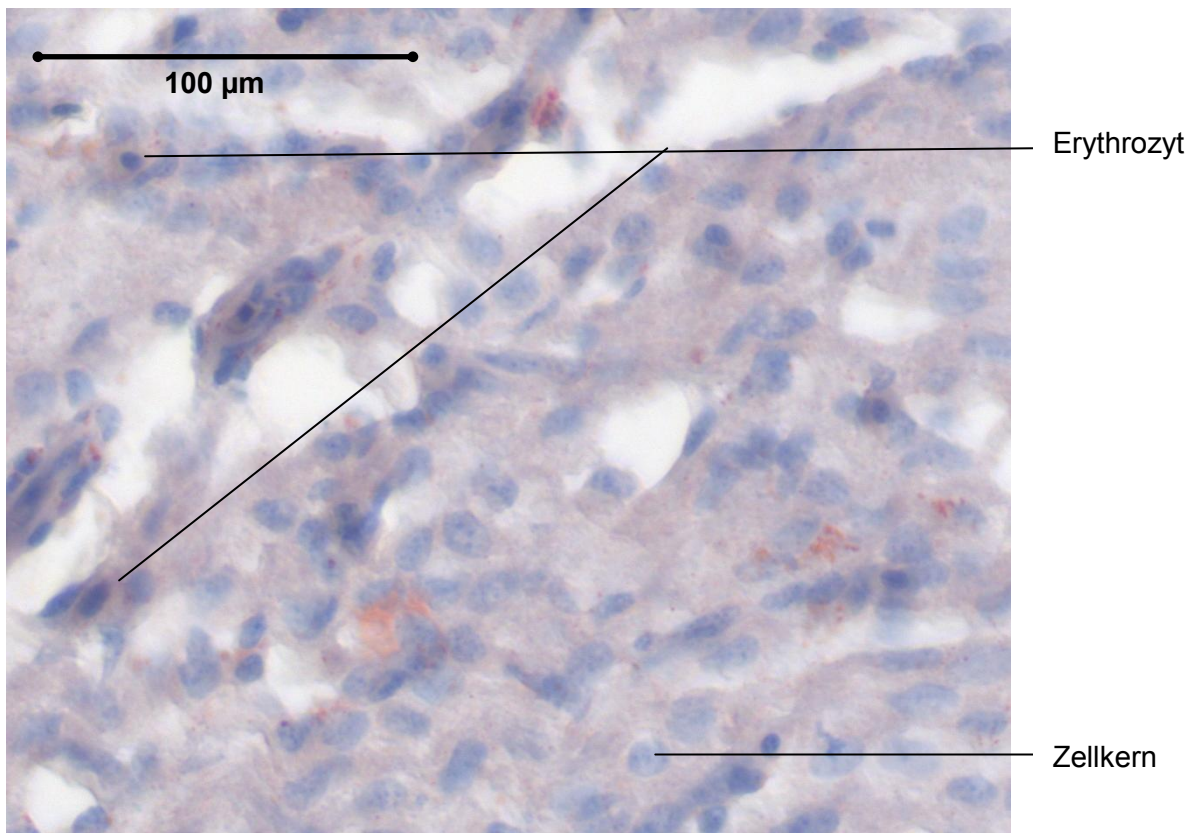


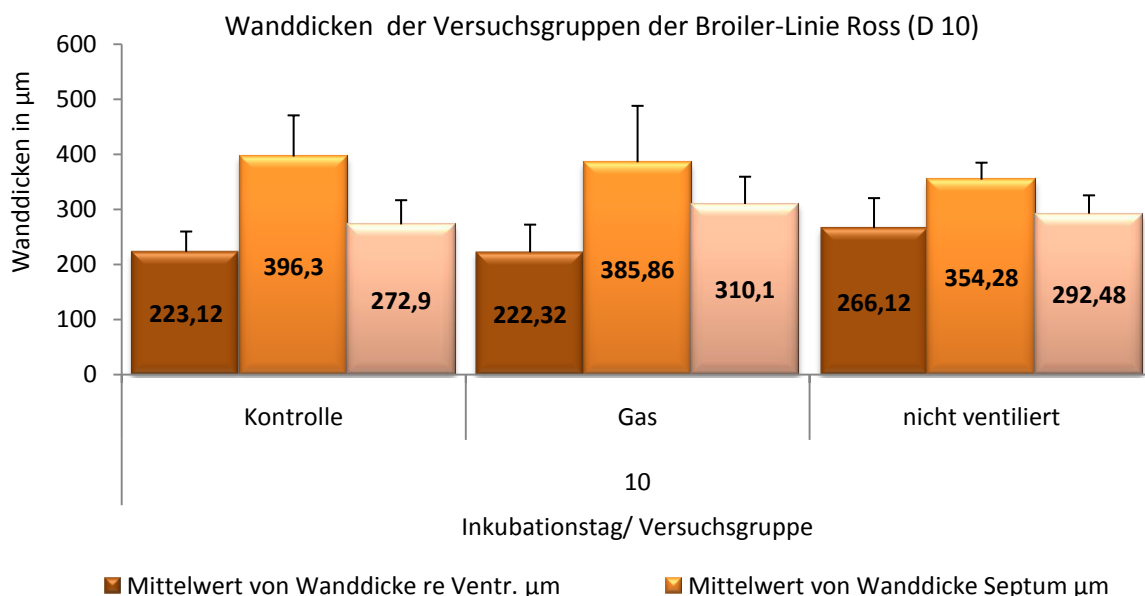
Abb. 38: Vergrößerung des Myokards (Herzspitze, Sudanrot-Färbung)

Beide Abbildungen zeigen, dass die Vakuolen im Muskelgewebe weder mit Glykogen (Abb. 37), welches sich violett darstellen würde, noch mit Fett (Abb. 38), welches sich in der Färbung orange-rot darstellt, gefüllt sind.

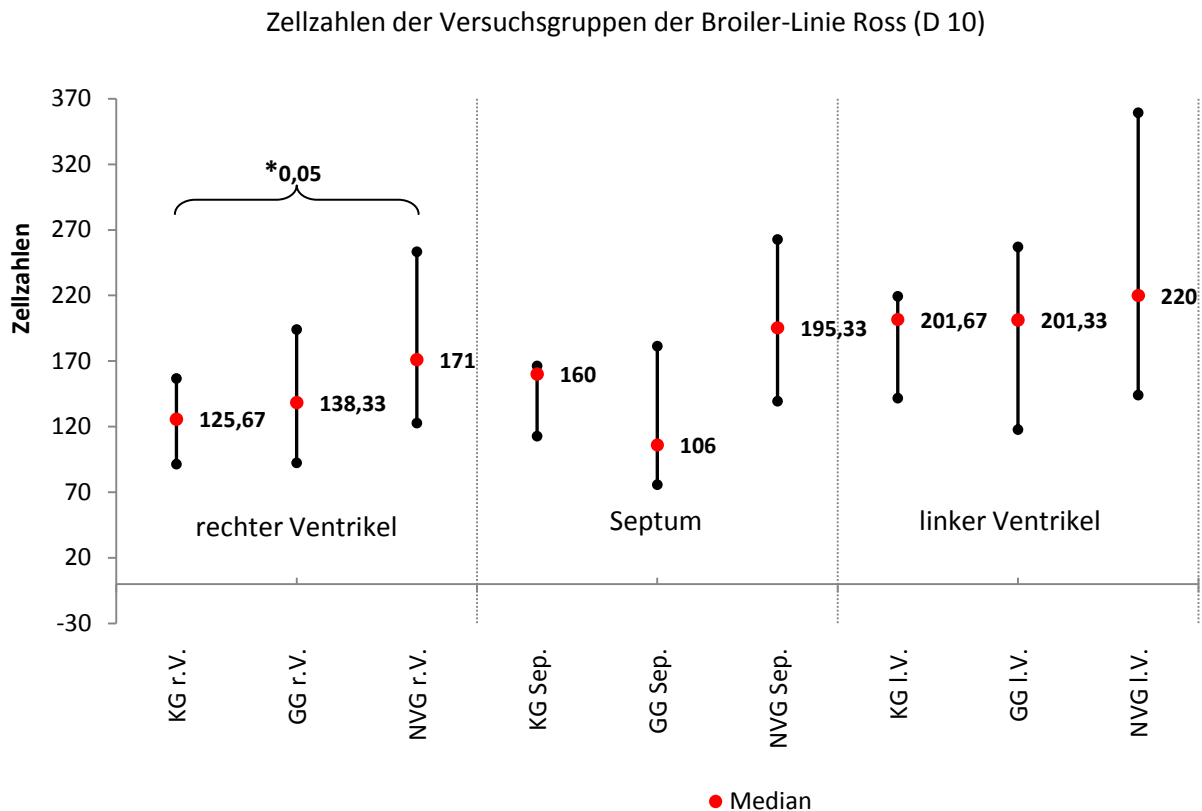
#### 4.5.2. Myokardwanddicken und Zellzahlen bei den Versuchsgruppen

Während der beobachteten Inkubationstage ändert sich die Herzform von einem eher kugeligen Herzen zu einem eher ovalen Herzen und die Zelldichte im Myokard der Ventrikel und des Septums interventriculare nimmt zu. Auch die Wandverhältnisse innerhalb des Herzens verändern sich. Zunächst weist das Septum interventriculare die größte Breitenausdehnung auf. Erst in der Zeit zwischen dem 15. Und 18. Inkubationstag entwickelt es sich zurück. Wohingegen die Wände der Ventrikel, die zu Beginn des Beobachtungszeitraumes im Mittel eine annähernd gleiche Ausdehnung aufwiesen, sich unterschiedlich entwickeln. Am 18. Inkubationstag ist die Wand des rechten Ventrikels nur ungefähr halb so dick wie die Wand des linken Ventrikels, das spiegelt sich in den Zellzahlen v.a. bei den Tieren der Broiler-Linie Ross wider, die im linken Ventrikel ca. 50% mehr Zellen aufweisen als im rechten Ventrikel.

##### 4.5.2.1. Ross



Diag. 55: Darstellung der Wanddicken (Mittelwerte (im Balken dargestellt) mit Standardabweichung) aller Versuchsgruppen am 10. Inkubationstag. (N=15)

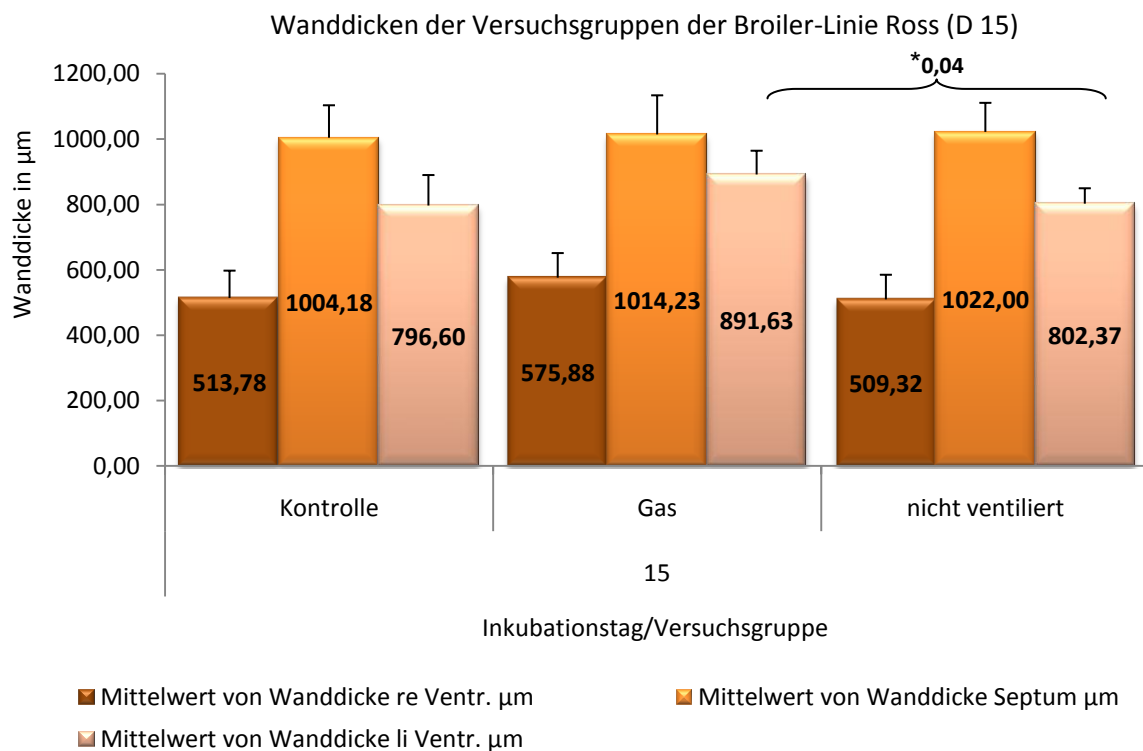


Diag. 56: Darstellung der Zellzahlen aus rechtem Ventrikel, Septum und linkem Ventrikel (Streuung um den Median) am 10 Inkubationstag. Die Median-Werte sind mit ihren Messwerten beschriftet. (N=15)

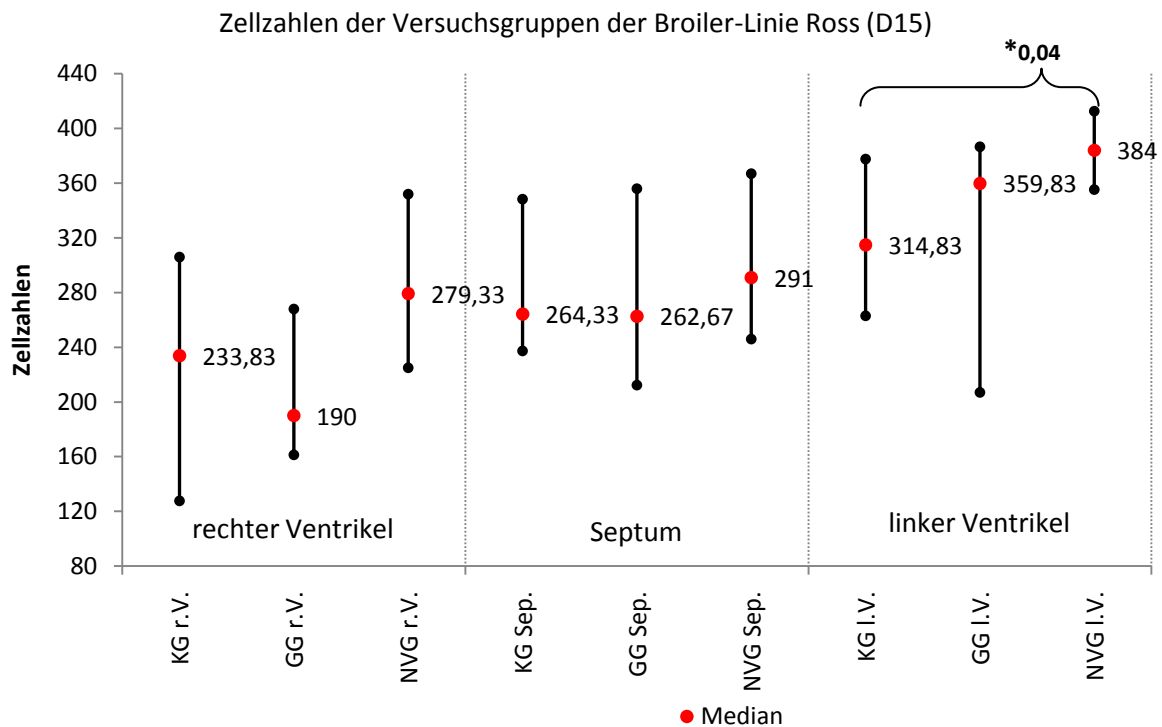
Im Diagramm 55 sind die Wanddicken der Herzen aller Versuchsgruppen am 10. Inkubationstag graphisch dargestellt. Für alle Versuchsgruppen gleichermaßen gilt, dass in dieser Altersgruppe – wie auch unter Pkt. 4.4.1. dargestellt- die **Wände der rechten und linken Ventrikel eine annähernd gleiche Stärke** aufweisen. Bei allen Versuchsgruppen stellt das **Septum interventriculare die dickste Wand** dar, wobei die Tiere der nicht-ventilierten Versuchsgruppe hier mit 354,28  $\mu\text{m}$  im Mittel leicht unter der durchschnittlichen Dicke der Septen von GG und KG liegen. Auch in der Ausdehnung der rechten Ventrikelwand unterschieden sich die Tiere der nicht-ventilierten Inkubation von der GG und KG. Während **die GG und die Tiere der KG eine annähernd gleich starke Wand des rechten Herzens** aufweisen, liegt die Dicke des **rechten Ventrikels bei den Tieren der NVG mit 266,12  $\mu\text{m}$  im Mittel leicht über den Werten der anderen**. Die Dicke des linken Ventrikels liegt bei allen Versuchsgruppen dieser Altersstufe zwischen den Dicken von rechtem Ventrikel und Septum interventriculare. Insgesamt kommt es zwischen den Wänden zu einem ungefähren Verhältnis von 1:2:1,5. Auffällig ist hier, dass sowohl die **Tiere der GG als auch die Tiere aus der NVG eine stärker ausgeprägte Wand des linken Ventrikels gegenüber den Tieren aus der Standard-Inkubation aufweisen**.

Signifikante Unterschiede sind in dieser Altersstufe zwischen den Versuchsgruppen nicht vorhanden.

Die Verteilung der Zellzahlen am 10. Inkubationstag ist in Diagramm 56 graphisch dargestellt. Auch in dieser Darstellung aller Versuchsgruppen weisen **die linken Ventrikel die höchsten Zellzahlen** auf. Unterschiede zeigen sich bei den Embryonen der **GG v.a. im Septum**. Dort weisen diese Tiere **weniger Zellen** auf als die Embryonen aus NVG bzw. der KG. **Die höchsten Zellzahlen weisen in dieser Altersstufe in allen untersuchten Bereichen der embryonalen Herzen die Embryonen aus der NVG** auf. Die Unterschiede in den rechten Ventrikeln sind verglichen mit der KG signifikant.



**Diag. 57: Darstellung der Wanddicken (Mittelwerte (im Balken dargestellt) mit Standardabweichung) aller Versuchsgruppen am 15. Inkubationstag. Signifikante Unterschiede sind mit Sternchen gekennzeichnet (t-Test). (N=15)**



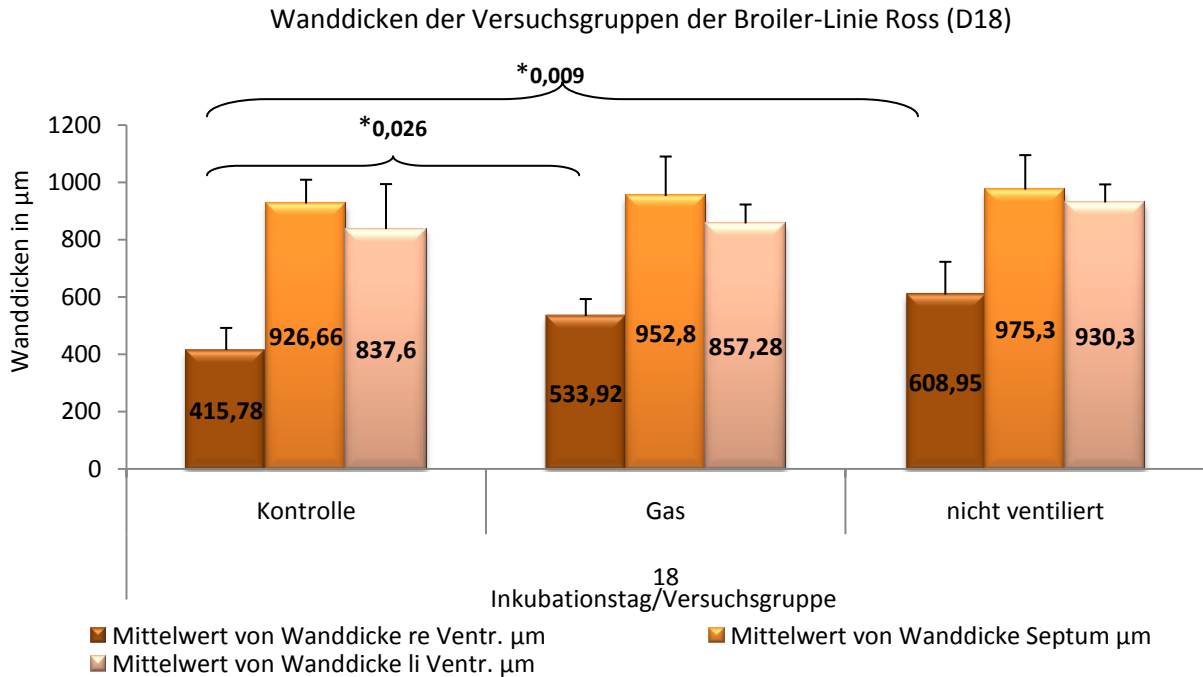
**Diag. 58:** Darstellung der Zellzahlen (Streuung um den Median) aller Versuchsgruppen am 15. Inkubationstag. Der Medianwert ist im Diagramm angegeben. Signifikante Unterschiede sind mit Sternchen gekennzeichnet (U-Test). (N=15)

In Diagramm 57 sind die Wanddicken des Herzens aller Versuchsgruppen am 15. Inkubationstag dargestellt. Vergleicht man die Werte mit denen aus Diagramm 55, fällt auf, dass sich **innerhalb der 5 Inkubationstage die Wanddicken mehr als verdoppelt** haben. Allgemein zeigen die Wände der rechten Ventrikel in allen Versuchsgruppen die geringste Ausdehnung, gefolgt von den Wänden der linken Ventrikel, die sich in dieser Altersgruppe durch ihre Dicke schon deutlich von den rechten Ventrikelwänden unterscheiden. Auch in dieser Altersstufe hat das **Septum interventriculare die stärkste Ausdehnung**. Das Verhältnis von ungefähr 1:2:1,5 bleibt auch in dieser Altersstufe in allen Versuchsgruppen bestehen. Auffällig ist, dass die **Mittelwerte der Wanddicken der rechten und linken Ventrikel in der GG gegenüber den anderen Versuchsgruppen erhöht** sind. So ist die rechte Ventrikelwand im Mittel ca. 64,33µm breiter und die linke Ventrikelwand im Mittel ca. 92,15 µm breiter als die gleichen Ventrikelwände bei den Tieren aus der NVG oder der KG. Die Dicke des Septums ist mit leichten Unterschieden zwischen den einzelnen Versuchsgruppen jedoch in allen Gruppen dieser Altersstufe annähernd gleich dick.

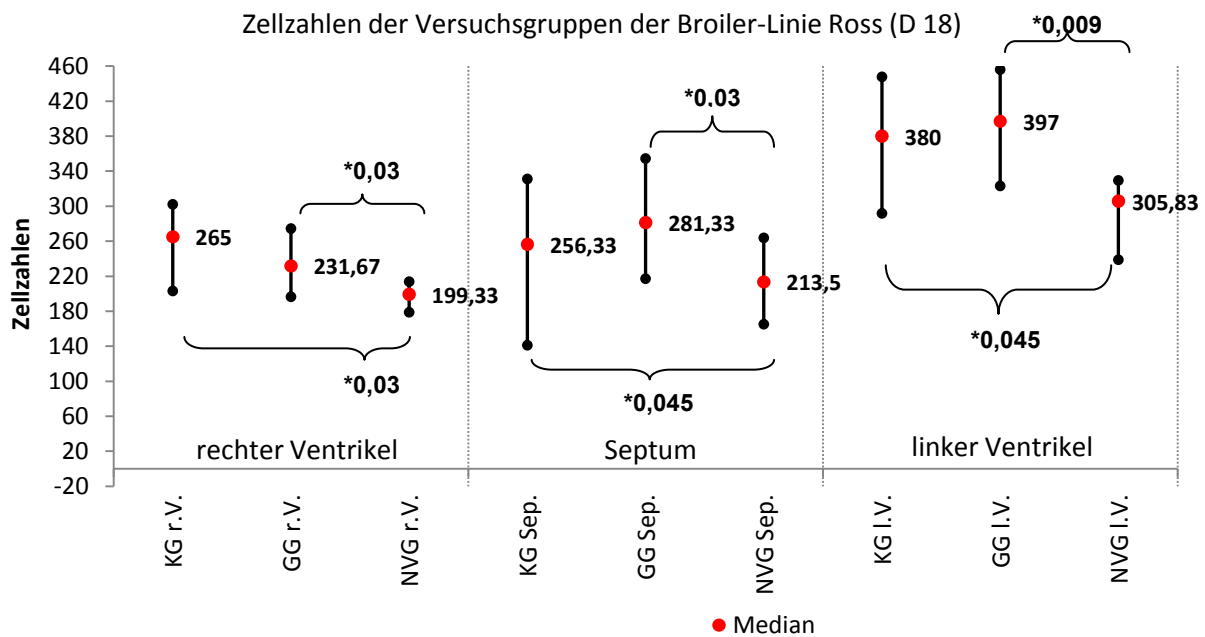
Ein signifikanter Unterschied besteht zwischen der Ausdehnung der linken Ventrikel bei der GG und der NVG.

#### 4. Ergebnisse

Die Verteilung der Zellzahlen ist in Diagramm 58 graphisch dargestellt. Erneut zeigen die **Tiere aus der NVG in allen untersuchten Bereichen der embryonalen Herzen die höchsten Zellzahlen**. Im linken Ventrikel ist dieser Unterschied verglichen mit der KG signifikant. In der **GG weist die Wand des rechten Ventrikels im Mittel die geringsten Zellzahlen** auf.



**Diag. 59:** Darstellung der Wanddicken (Mittelwerte (im Balken dargestellt) mit Standardabweichung) aller Versuchsgruppen am 18. Inkubationstag. Signifikante Unterschiede sind mit Sternchen gekennzeichnet (t-Test). (N=15)



**Diag. 60:** Darstellung der Zellzahlen (Streuung um den Median) aller Versuchsgruppen am 15. Inkubationstag. Medianwerte sind im Diagramm mit ihren Messwerten beschriftet. Signifikante Unterschiede sind mit Sternchen gekennzeichnet (U-Test). (N=15)

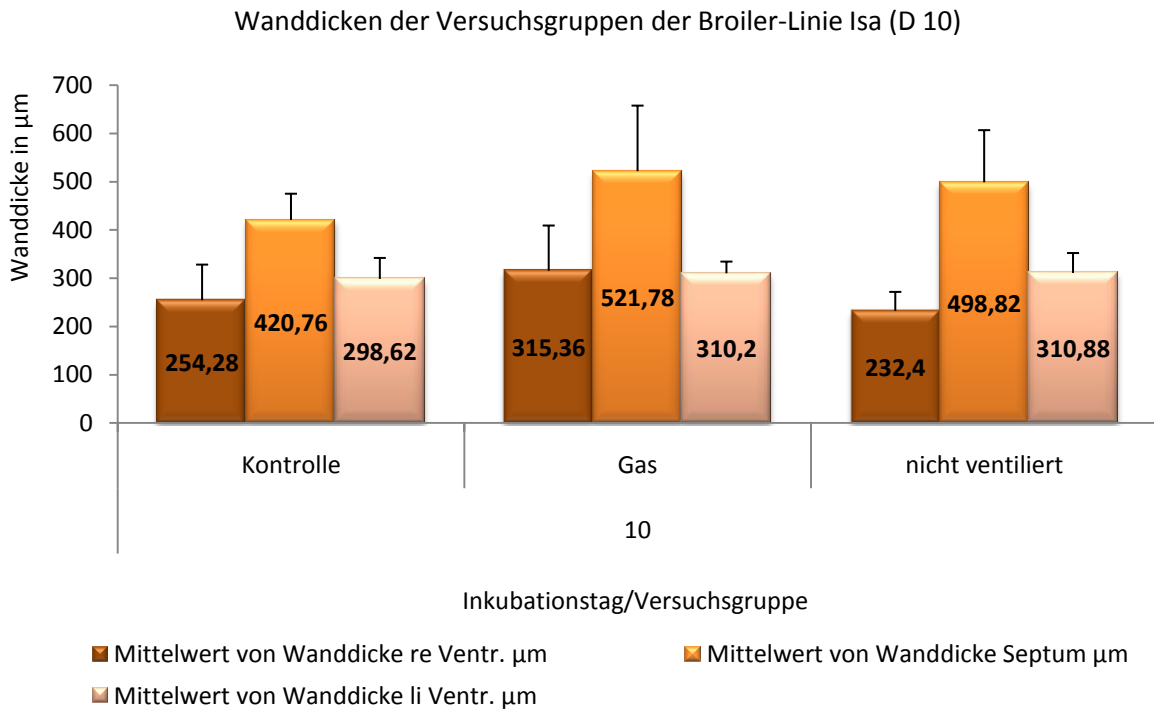
Nur drei Tage später, am 18. Inkubationstag - drei Tage vor dem Schlupf - zeigt sich ein anderes Bild als in den Tagen zuvor. In Diagramm 59 sind die Wanddicken der Herzen am 18. Inkubationstag graphisch dargestellt. Die **Ausdehnungen der Ventrikelwände** sind nur in den **linken Ventrikeln der Tiere aus der nicht-ventilierten Inkubation deutlich angestiegen**. Sie weisen jetzt im Mittel 82,86 µm mehr auf als die Wände der linken Ventrikel aus der GG und der KG. Die Dicke des Septums interventriculare ist in allen Gruppen ein wenig gesunken und weist im Mittel nur noch 951,16 µm auf. Die **Dicke des rechten Ventrikels hat sich nur bei den Tieren aus der NVG deutlich nach oben verändert**.

Die Tiere aus dieser Versuchsgruppe weisen jetzt eine signifikant dickere Wand des rechten Ventrikels auf als die Tiere der KG. Obwohl sich die Dicke der rechten Ventrikelwand in der GG vom 15. Zum 18. Inkubationstag sogar rückläufig verändert hat, weisen auch die Tiere aus dieser Inkubation eine signifikant dickere Ventrikelwand des rechten Herzens gegenüber der KG auf. Das vorher in allen Versuchsgruppen gleichermaßen entstandene Verhältnis der Wanddicken von ca. 1:2:1,5 veränderte sich am 18. Inkubationstag gruppenabhängig. Die Tiere der KG weisen ein Wandverhältnis von ca. 1:2,3:2 auf. Bei den Tieren der GG entsteht ein ungefähres Verhältnis von ca. 1:2:1,5 und die Herzen der NVG weisen ein Wandverhältnis von ca. 1:1,5:1,5 auf. Zusammenfassend steigerten sich die Mittelwerte der Wanddicken vom 10.-15. Inkubationstag. Ab dem 15. Inkubationstag bis zum 18. Inkubationstag scheinen diese Werte in der KG und der GG wieder zu sinken. Die Wandverhältnisse ändern sich im Vergleich zur KG am stärksten in der NVG, in der sich sowohl die rechte als auch die linke Ventrikelwand in ihrer Ausdehnung im Vergleich zur KG am stärksten steigert.

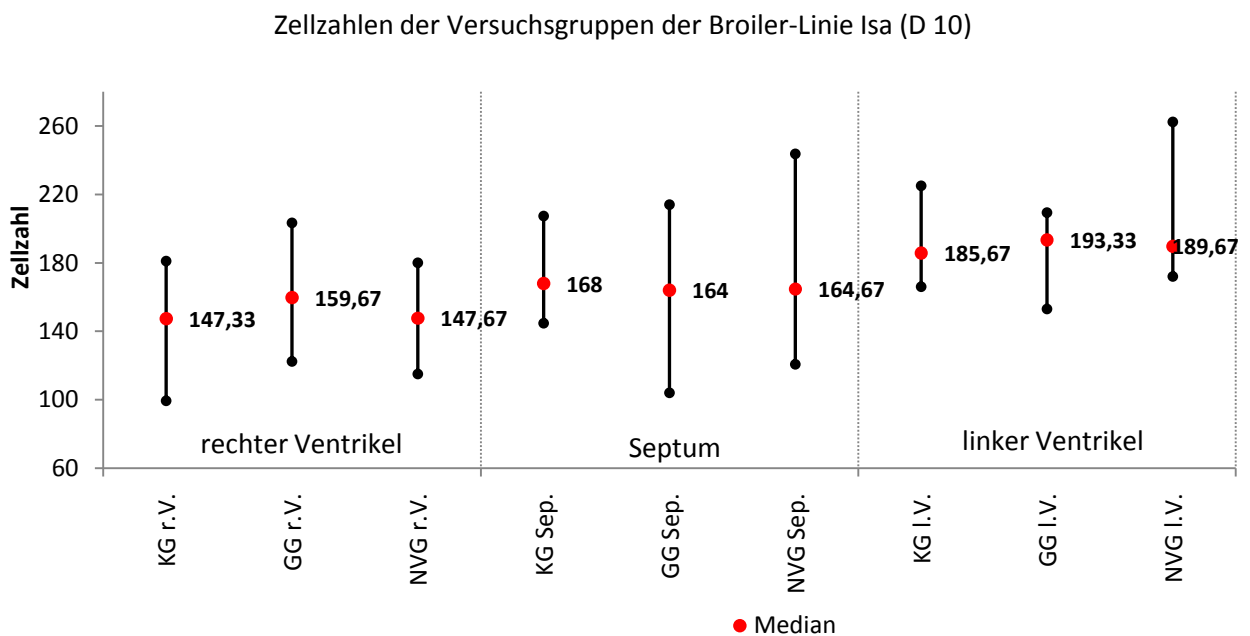
Die Zellzahlen am 18. Inkubationstag sind in Diagramm 60 graphisch dargestellt. Auch am 18. Inkubationstag weisen die linken Ventrikel aller Versuchsgruppen der Broiler-Linie Ross die höchste Zelldichte auf. Unterschiede bestehen jedoch zwischen den Versuchsgruppen. So zeigen erstmalig die Tiere aus der **NVG am 18. Inkubationstag die geringste Zelldichte**, die sich zudem signifikant von denen der KG und denen der GG unterscheiden. Die GG zeigt in Septum und linkem Ventrikel zwar leicht erhöhte Zellzahlen, diese Unterschiede sind jedoch nicht signifikant.



4.5.2.2. Isa



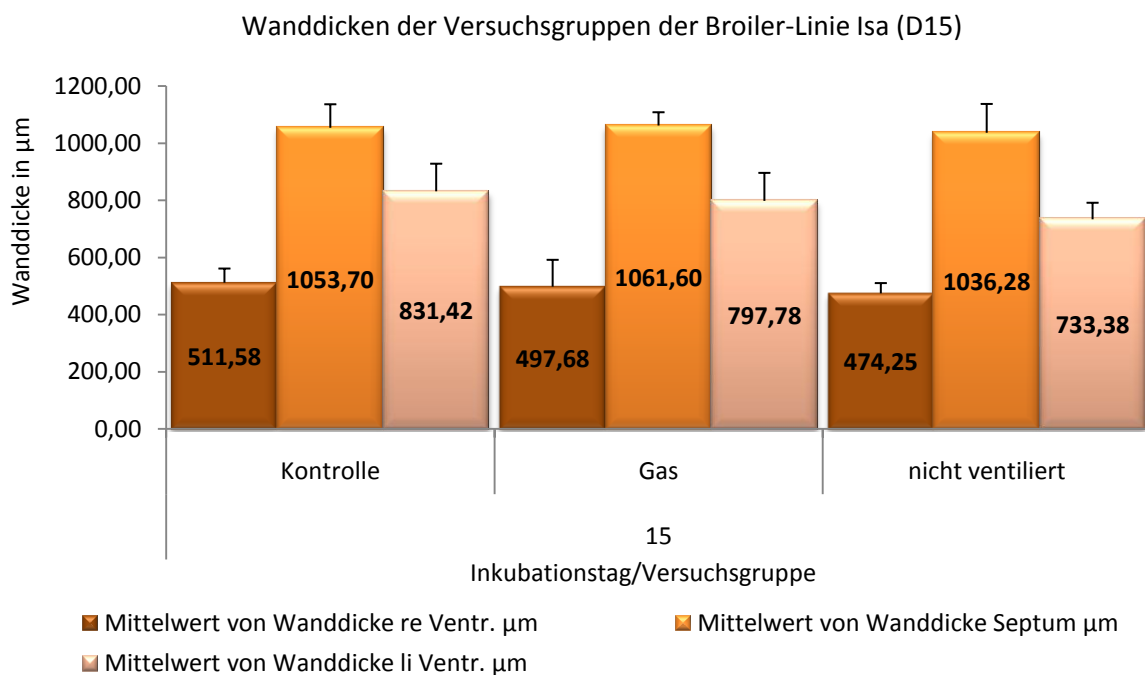
Diag. 61: Darstellung der Wanddicken (Mittelwerte (im Balken dargestellt) mit Standardabweichung) aller Versuchsgruppen am 10. Inkubationstag. (N=15)



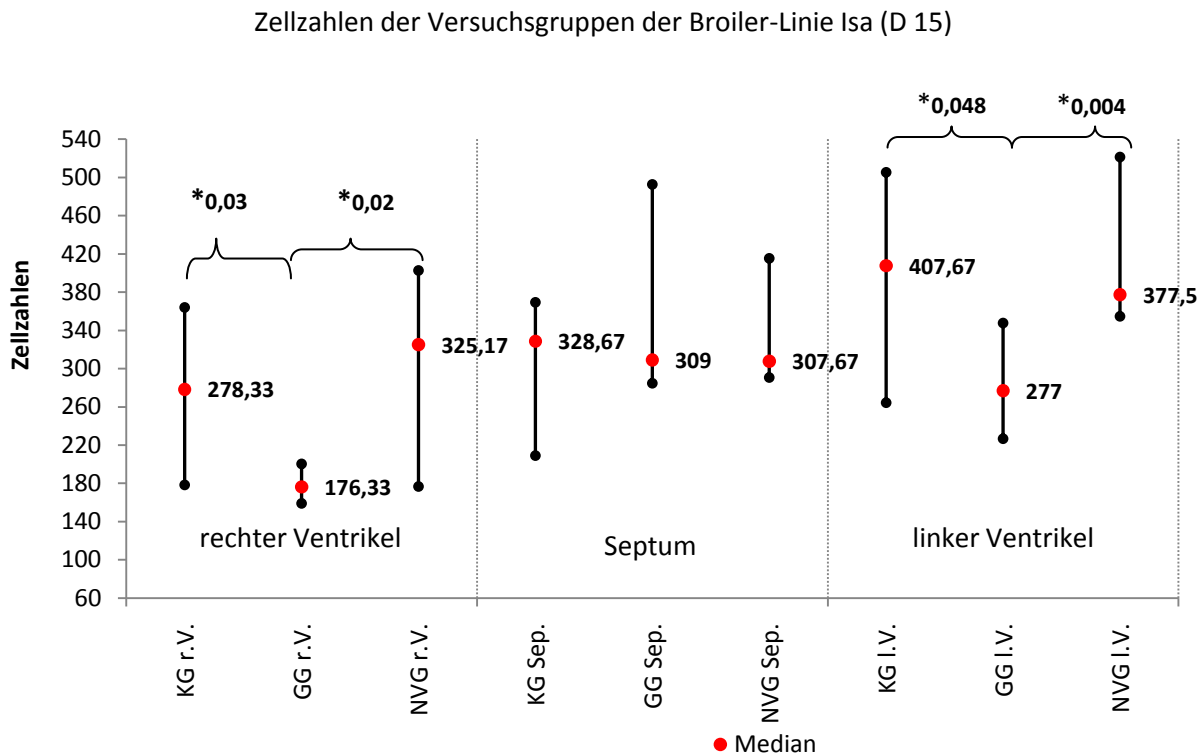
Diag. 62: Darstellung der Zellzahlen (Streuung um den Median) aller Versuchsgruppen am 15. Inkubationstag. (N=15)

Auch für die Broiler-Linie Isa sind die mittleren Wanddicken aller Versuchsgruppen in Diagramm 61 graphisch dargestellt. Das **Septum** stellt in allen Versuchsgruppen die Herzwand mit der **größten Ausdehnung** dar.

Bei beiden Versuchsgruppen ist die Dicke gegenüber der KG erhöht. In der GG zeigt sich zudem noch eine leichte Zunahme in der Ausdehnung der Wand des rechten Ventrikels. Keine dieser Unterschiede sind zu diesem Zeitpunkt signifikant. Die Breite der linken Ventrikelwand ist bei allen Gruppen der Broiler-Linie Isa annähernd gleich ausgeprägt. Die Zellzahlen der Versuchsgruppen dieser Altersstufe sind in Diagramm 62 dargestellt. Das Verteilungsmuster in den betrachteten Bereichen gleicht dem der oben betrachteten Broiler-Linie Ross. Auch hier weist in allen drei Gruppen die Wand des linken Ventrikels im Mittel die höchsten Zellzahlen auf.



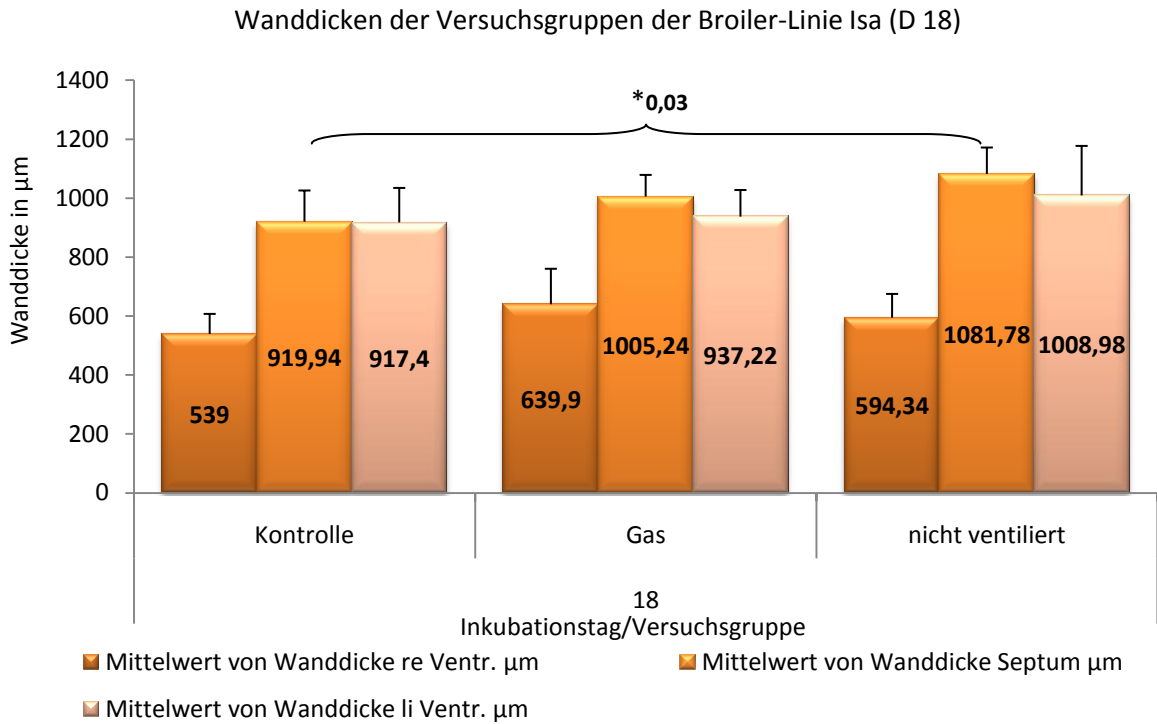
**Diag. 63:** Darstellung der Wanddicken (Mittelwerte (im Balken dargestellt) mit Standardabweichung) aller Versuchsgruppen am 15. Inkubationstag. (N=15)



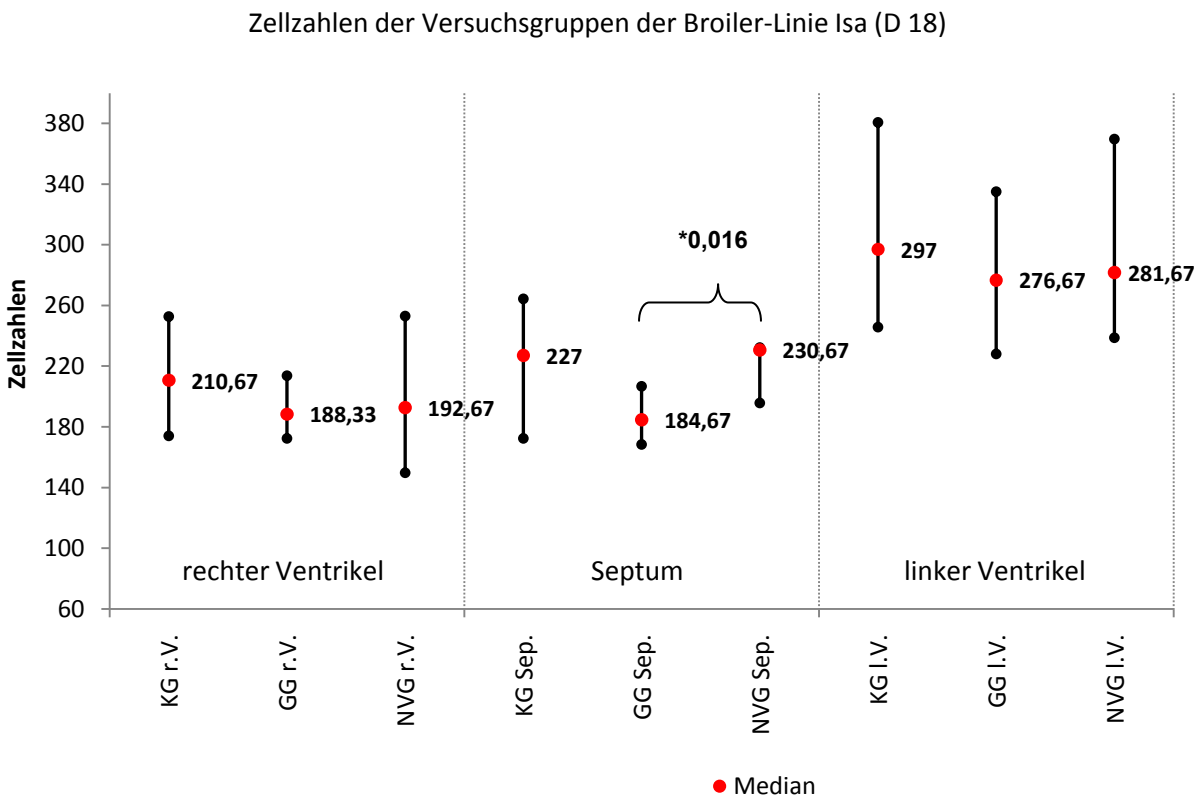
Diag. 64: Darstellung der Zellzahlen (Streuung um den Median) aller Versuchsgruppen am 15. Inkubationstag. Signifikante Unterschiede sind mit Sternchen gekennzeichnet (U-Test). (N=15)

Die Wanddicken am 15. Inkubationstag innerhalb der Broiler-Linie Isa sind in Diagramm 63 graphisch dargestellt. Auch hier bleiben die Wandverhältnisse des 10. Inkubationstages zunächst bestehen. In den 5 Inkubationstagen haben sich auch bei der Broiler-Linie Isa die **Wanddicken mehr als verdoppelt**. Im Unterschied zu der Entwicklung innerhalb der Broiler-Linie Ross liegen bei der Broiler-Linie Isa die mittleren Wanddicken des rechten und linken Ventrikels der Kontrolltiere leicht über dem Mittel der anderen beiden Versuchsgruppen. Signifikante Unterschiede bestehen jedoch in dieser Darstellung nicht. Auch die **Zellzahlen** - graphisch dargestellt in Diagramm 64 – haben sich in den betrachteten Bereichen in der Zeitspanne von 5 Inkubationstagen **nahezu verdoppelt**. Dennoch sind hier nicht in allen Gruppen die bisher beobachteten Verteilungsmuster zu finden. So weist die **GG in dieser Altersstufe im Rangvergleich geringere Zellzahlen im linken Ventrikel** als im Septum auf und besitzt somit auch weniger Zellzahlen in dieser Ventrikelwand verglichen mit den anderen beiden Gruppen. Die Zellzahlen des rechten Ventrikels unterscheiden sich zudem signifikant von den Zellzahlen der rechten Ventrikelwände der KG und der NVG.

#### 4. Ergebnisse



**Diag. 65:** Darstellung der Wanddicken (Mittelwerte (im Balken dargestellt) mit Standardabweichung) aller Versuchsgruppen am 18. Inkubationstag. Signifikante Unterschiede sind mit Sternchen gekennzeichnet (t-Test). (N=15)



**Diag. 66:** Darstellung der Zellzahlen (Streuung um den Median) aller Versuchsgruppen am 18. Inkubationstag. Signifikante Unterschiede sind mit Sternchen gekennzeichnet (U-Test). (N=15)

Allgemein haben sich die Wanddicken – graphisch dargestellt in Diagramm 65 – im Vergleich zum 15. Inkubationstag nur wenig verändert. Die Wanddicken der Versuchsgruppen innerhalb der Broiler-Linie Isa zeigen – wie die KG – eine rückläufige Tendenz in der Ausdehnung des Septums. So nehmen die **Wand des linken Ventrikels und das Septum ungefähr die gleiche Breite** ein. Unterschiede zeigen sich in dieser Altersstufe vor allem in der **NVG, die v.a. im Septum eine signifikant erhöhte Breite** aufweist. Auch die Ausdehnung der linken Ventrikelwand ist im Mittel verglichen mit den Herzen der KG und GG leicht erhöht. Herzen der GG zeigen hingegen eine leichte Erhöhung in der Breitenausdehnung der rechten Ventrikelwand gegenüber den beiden anderen Gruppen. Letztgenannte Unterschiede sind jedoch nicht signifikant. Die Zellzahlen dieser Altersgruppe innerhalb der Broiler-Linie Isa haben sich, verglichen mit dem 15. Inkubationstag, nur leicht erhöht. Auch das Verteilungsmuster entspricht in allen untersuchten Bereichen des Herzens dem der anderen Inkubationstage. Die Herzen der GG weisen im Rangvergleich die geringsten Zellzahlen in allen untersuchten Abschnitten auf. Signifikant ist dieser Unterschied im Septum im Vergleich mit den Tieren aus der NVG. Sie zeigen gegenüber den Tieren aus der GG signifikant erhöhte Zellzahlen im Septum.

#### 4.6. Zusammenfassende Betrachtung der signifikanten Unterschiede

In der folgenden Tabelle 21 werden alle aufgetretenen signifikanten Unterschiede nach Art und Zeitpunkt für alle Versuchsgruppen beider Broiler-Linien zusammenfassend dargestellt. Es ergibt sich eine unterschiedliche Häufung der Signifikanzen für beide Broiler-Linien. So zeigen die Tiere der Broiler-Linie Isa insgesamt eine geringere Anzahl signifikanter Unterschiede im beobachteten Zeitraum als die Tiere der Broiler-Linie Ross. Es fällt auf, dass die meisten Signifikanzen der Broiler-Linie Ross zwischen den Versuchsgruppen und der KG am 12. Inkubationstag auftreten. Die meisten Unterschiede zwischen NVG und GG sind jedoch am 18. Inkubationstag präsent. Innerhalb der Broiler-Linie Isa treten zwischen den Versuchsgruppen und der KG schon am 11. Inkubationstag die meisten signifikanten Unterschiede auf. Zwischen den Tieren der NVG und GG zeigen sich jedoch am 10. Inkubationstag die meisten signifikanten Unterschiede. Es wird deutlich, dass beide Broiler-Linien zu einem unterschiedlichen Zeitpunkt der Entwicklung und auch in unterschiedlichem Ausmaß durch die veränderten Inkubationsbedingungen beeinflusst werden.

#### 4. Ergebnisse

Parameter	Inkubationstag								
	Stressor	Standartinkubation							
	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Größe	-	↓↓	↑	-	↓	↑	↑	↑↑	↑
abs. EM	-	↓↓	↑↑↑	↓	-	-	-	↑	↑
rel. EM	-	↓↓	↑↑↓	-	↑	↑	↑	-	↑↑
We	↓	-	↓↓	-	↑	↑	-	-	-
abs. HM	↑	↑	↑↑	-	↓	↑	↑	-	↑
rel. HM	↑↑	↑↑	-	↓	-	-	↑↑	↓↓	-
Hd	↑↓↑↓	↑↓	↑↑↑↑	↑↓↑↓	↑	↑	↑↑↑	↑	-
HI	↑↑↓	-	↑↑↓↑↑	-	↑↑	↑↑	-	↑	-
Herzgröße	↓	↓	↑↑	↓	↑	-	-	-	↓
Herzindex	-	↓	↓	-	-	↓	-	-	-
r.V. Masse	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	↓	n.g.
Breite r.V.	-	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	-	n.g.	n.g.	↑↑
Breite Sep.	-	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	-	n.g.	n.g.	↑
Breite I.V.	-	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	-	n.g.	n.g.	-
ZZ r.V.	↑	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	↓↓	n.g.	n.g.	↓↑
ZZ Sep.	-	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	-	n.g.	n.g.	↓↑↓
ZZ I.V.	-	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	↑↓	n.g.	n.g.	↓↑
Hkt	n.m.	n.m.	n.m.	↑↑	↑↑↑	-	-	-	-
Anzahl Ro	2/3/3	1/1/3	8/7/3	0/1/2	1/4/1	3/3/1	1/2/1	1/5/0	4/6/4
Anzahl Isa	0/2/3	3/3/2	2/3/0	1/1/2	0/2/2	3/0/2	2/1/1	0/1/0	0/1/1

Tab. 19: Darstellung aller signifikanten Veränderungen

Legende:

↑/↓	<b>Ross GG &gt;/&lt; KG</b>	↑/↓	<b>Isa GG &gt;/&lt; KG</b>
↑/↓	<b>Ross NVG &gt;/&lt; KG</b>	↑/↓	<b>Isa NVG &gt;/&lt; KG</b>
↑/↓	<b>Ross GG &gt;/&lt; NVG</b>	↑/↓	<b>Isa GG &gt;/&lt; NVG</b>
n.g.	nicht getestet	n.m.	aufgrund geringer Probenanzahl nicht darstellbar

## 5. Diskussion

In zahlreichen Forschungsarbeiten konnte ein Einfluss durch nicht-ventilierte Inkubation auf die embryonale Entwicklung von Hühnern und auf deren Entwicklung nach dem Schlupf – insbesondere bei schnell wachsenden Masttieren - gezeigt werden (HOGG, 1997; BUYS, DEWIL, & DECUYPERE, 1997; BUYS, DEWIL, GONZALES, & DECUYPERE, 1998; DE SMIT, et al., 2006; DECUYPERE, et al., 2006; DE SMIT, et al., 2008). Bisher wird als Auslöser der beobachteten Effekte die erhöhte CO<sub>2</sub>-Konzentration diskutiert, die durch das Aussetzen der Ventilation im Inkubator entsteht. Sie scheint unter anderem - abhängig von Konzentration und Zeitpunkt des Einsatzes – Elektrolytzusammensetzung, Hormonkonzentrationen, Gewichtsentwicklung, Schlupf und sogar die postnatale Entwicklung der Hühnerembryonen zu beeinflussen. Ebenso wird bei einer nicht-ventilierten Inkubation in der ersten Entwicklungshälfte ein Einfluss auf die postnatale Ausprägung des bei Hühnern der Mastlinien häufig vorkommenden Aszites-Syndroms diskutiert.

In der bisherigen Literatur wird jedoch die Betrachtung des Sauerstoff-Gehaltes während der nicht-ventilierten Inkubation eher vernachlässigt. So konnte in der Arbeit von De Smit, et al., (2006) zwar auch ein Absinken der O<sub>2</sub>-Konzentration auf 19,7% während der nicht-ventilierten Inkubation für 10 Tage festgestellt werden, es wird bisher jedoch davon ausgegangen, dass ein Absinken des O<sub>2</sub>-Gehaltes in diesem geringen Maße keinen Einfluss auf die embryonale Entwicklung hat. Ein wichtiges Ziel dieser Arbeit war daher, die Konzentrationsverläufe von Sauerstoff und Kohlenstoffdioxid während der nicht-ventilierten Inkubation genauer zu untersuchen und bessere Kenntnis über den Einfluss auf die embryonale Entwicklung zu gewinnen.

### 5.1. Konzentrationsverläufe von Sauerstoff und Kohlenstoffdioxid während der nicht ventilierten Inkubation

Sauerstoff ist für das Leben und die Entwicklung der meisten Organismen absolut lebensnotwendig. Auch während der Inkubation beginnt der Verbrauch von Sauerstoff schon am Einlegetag, an dem 0-9 µl/min (FREEMAN & VINCE, 1974) von den sich entwickelnden/teilenden Zellen im Ei verbraucht werden. Dieser Sauerstoffbedarf steigt in den ersten 14 Tagen der Inkubation exponentiell an. Am 10. Inkubationstag wird in der Literatur der Verbrauch mit 53 oder sogar 80 µl/min (FREEMAN & VINCE, 1974)

angegeben. Ebenso ist seit langer Zeit bekannt, dass die sich entwickelnden Embryonen Kohlenstoffdioxid produzieren. So werden am Einlegetag ca. 4  $\mu\text{l}/\text{min}$  und am 10. Inkubationstag zwischen 46  $\mu\text{l}/\text{min}$  Kohlenstoffdioxid produziert (FREEMAN & VINCE, 1974). Es ist somit deutlich, dass während der nicht-ventilierten Inkubation der Kohlenstoffdioxid-Gehalt steigt und zeitgleich der Sauerstoff-Gehalt abnimmt.

Wie unter anderem auch schon in den Versuchen von De Smit, et al. (2006) gezeigt werden konnte, erhöhte sich die Konzentration von Kohlenstoffdioxid im Inkubator während der nicht-ventilierten Phase, also in der ersten Hälfte der Inkubation. Übereinstimmend mit den von De Smit et al. (2006) gemachten Erfahrungen, erreicht die  $\text{CO}_2$ -Konzentration ab ca. 96 Stunden Inkubation eine Plateauphase, die ungefähr bis zur 150. Stunde der Inkubation andauert. Danach stieg die Konzentration des  $\text{CO}_2$  im Inkubator wieder stärker an, bis am 10. Tag die nicht-ventilierte Inkubation gestoppt wurde. In den Versuchen der Autorin stieg der Gehalt an Kohlenstoffdioxid im Inkubator auf 1,5% (Abb. 15). Der charakteristische Verlauf des Konzentrationsanstiegs von  $\text{CO}_2$  kann dadurch erklärt werden, dass der Gasaustausch zunächst ausschließlich über die Area Vasculosa stattfindet. Die Kapazität zum Gasaustausch dieser primären und sekundären Kreisläufe ist begrenzt. Ab dem 4. Inkubationstag (ca. 96 h) beginnt sich die CAM zu entwickeln, die am ca. 6. Inkubationstag (ca. 150 h) mit der Eischalen-Membran in Kontakt tritt. Die CAM übernimmt dann aktiv den Gasaustausch. Die CAM besitzt eine höhere Kapazität zum Gasaustausch. Das wird reflektiert in dem Anstieg des  $\text{CO}_2$  (DE SMIT, et al., 2006). Wie stark sich der Sauerstoffgehalt in der nicht-ventilierten Phase im Inkubator verändert, blieb in der Literatur bisher nur selten erwähnt (DE SMIT, et al., 2006; EVERAERT, et al., 2007). In dem Versuch der Autorin zeigte sich, wie auch von De Smit et al. (2006) beschrieben, eine milde Sauerstoffabnahme von 21% auf 19,3%. Diese milde Hypoxie begann sich zwischen dem 3. und 4. nicht-ventilierten Tag im Inkubator langsam einzustellen (Abb. 16). Ungefähr ab dem 6. Inkubationstag sank der  $\text{O}_2$ -Gehalt stärker und erreichte am 10. Inkubationstag 19,3% (Abb. 16). Die Embryonen waren in der nicht-ventilierten Inkubation somit vom 4. bis zum 10. Inkubationstag einer milden Hypoxie ausgesetzt. Der Verlauf der Sauerstoff-Abnahme erfolgt also nach dem gleichen Muster wie die  $\text{CO}_2$ -Zunahme. Sie belegt somit die Theorie, dass die Gasverläufe in der nicht-ventilierten Inkubation abhängig von der Ausbildung der CAM verlaufen. Es stellt sich also nun die Frage, inwieweit die unter nicht-ventilierter Inkubation beobachteten Effekte auf die gesteigerte Kohlenstoffdioxid-Konzentration zurückzuführen sind und/oder welchen Einfluss die milde Hypoxie auf die embryonale Entwicklung hat. Dass die Veränderung der Inkubationsbedingungen auch nach dem Absetzen des Einflusses noch einen Effekt auf die Entwicklung erzielt, ist in der Literatur beschrieben und bestätigt worden (BUYS, DEWIL & DECUYPERE, 1997; BUYS, DEWIL, GONZALES & DECUYPERE, 1998;



DE SMIT, et al., 2006, DE SMIT, et al., 2008). Es ist davon auszugehen, dass die beobachteten unterschiedlichen Entwicklungswege auch in der vorliegenden Forschungsarbeit durch den Inkubationseinfluss der ersten 10 Inkubationstage entstanden sind. Schon bei der Versuchsplanung wurde darauf geachtet, Bruteier jeweils gleicher Herkunft und gleicher Voraussetzungen (Alter der Legehennen, Futter und Haltung der Legehennen etc.) für die Versuchsgruppen der Broiler-Linien zu nutzen. Sie wurden bis auf die ersten 10 Inkubationstage unter identischen Bedingungen bebrütet. Die Untersuchungen fanden dann an zufällig gezogenen Stichproben statt.

## **5.2. Einfluss der veränderten Inkubationsbedingungen auf die allgemeine embryonale Entwicklung**

### **5.2.1. Entwicklung der Körpergröße, Körpermasse und Wachstumseffizienz**

Im Laufe der Entwicklung sowohl vor als auch nach dem Einfluss des Stressors ist erkennbar, dass beide Broiler-Linien unterschiedlich auf die veränderten Inkubationsbedingungen reagieren. Diese Abweichungen werden auf die genetischen Unterschiede beider Broiler-Linien zurückgeführt. Diese führen neben einer veränderten Herzfrequenz und  $T_3$  Konzentration auch zu einem veränderten Metabolismus und einem dadurch bedingt unterschiedlichen  $O_2$ -Bedarf während der embryonalen Entwicklung beider Broiler-Linien. Diese wurden in der Literatur auch schon zwischen den Tieren der Linie Cobb und Ross von Druyan (2009) beschrieben. Erstaunlicherweise sind im beobachteten Zeitraum die Ergebnisse der KG-Tiere der langsam wachsenden Broiler-Linie Isa in den untersuchten Parametern ähnlich denen bzw. sogar leicht über denen der Tiere der schnell wachsenden Broiler-Linie Ross. Diese Unterschiede sind jedoch nicht signifikant. Auch in den Versuchen von De Smit et al. (2008) wiesen die Tiere der schnell wachsenden Broiler-Linie in der Körpermasse keinen Unterschied zu den Tieren der langsam wachsenden Broiler-Linie am Tage des Schlupfes auf.

Innerhalb der Broiler-Linien scheint **bis zum 10. Inkubationstag** vor allem die NVG der Broiler-Linie Ross von den veränderten Inkubationsbedingungen zu profitieren. Die Tiere aus der GG sind zu dieser Zeit kleiner und leichter als die Tiere aus der KG und nehmen unter den veränderten Inkubationsbedingungen scheinbar langsamer an Größe und Masse zu. Auch die Ressourcen im Ei werden schlechter bzw. langsamer in Körpermasse umgesetzt. Jedoch sind diese Unterschiede **nicht signifikant** und können möglicherweise

vernachlässigt werden. Ein Grund könnte jedoch sein, dass die Hypothalamus-Hypophysen-Schilddrüsen-Achse und damit ein Regelmechanismus zur Steuerung des Metabolismus und Wachstums ab D 10 funktionsfähig (THOMMES, CLARK, MOK, & MALONE, 1984; THOMMES, 1987) wird. Möglicherweise führt eine leichte Hypoxie in diesem Zeitraum zu einer schnelleren Ausreifung dieses Regelsystems und daher zunächst zu einem leichten Vorsprung im Wachstum der NVG. Ein signifikanter Unterschied zwischen den Versuchsgruppen dieser Altersstufe besteht jedoch nur in der Wachstumseffizienz, die bei den Tieren aus der NVG zu diesem Zeitpunkt signifikant größer ist als bei den Tieren der GG.

Bei der Broiler-Linie Isa wirkt die Gas-Inkubation scheinbar hemmend auf die Größen- und Massenentwicklung bis zum 10. Inkubationstag. In der NVG ist die Entwicklung der abs. und rel. Körpermassen bis zum 10. Inkubationstag verstärkt.

Nachdem ab D 11 bis D 18 wieder unter Standardbedingungen inkubiert wurde, konnten weiterhin unterschiedliche allgemeine embryonale Entwicklungen in den einzelnen Versuchsgruppen der Broiler-Linien beobachtet werden. Diese Beobachtungen bestätigen die Ergebnisse anderer Arbeitsgruppen, die auch eine nachhaltige Veränderung der Entwicklung beschreiben, nachdem der Stressor schon nicht mehr anwesend ist (TZSCHENTKE & BASTA, 2002; DE SMIT, et al., 2006; DE SMIT, et al., 2008). Beide Versuchsgruppen der **Broiler-Linie Ross** zeigen im weiteren Inkubationsverlauf eine stärkere Massen- und Größenzunahme als die KG, wobei die Wachstumseffizienz bei den Tieren der GG durchschnittlich besser ist.

Die positive Entwicklung der NVG der Broiler-Linie Ross wurde erwartet und stimmt mit den Angaben in der Literatur überein. So konnten schon Hogg (1997) an Bruteiern der Broiler-Linie Ross und Gildersleeve und Boeschen (1983) an Bruteiern von Truthühnern einen positiven Effekt auf die Entwicklung, v.a. der Körpermasse der Embryonen durch erhöhte CO<sub>2</sub>-Konzentrationen im Inkubator nachweisen. Diese positive Entwicklung konnte auch bei den Tieren aus der GG beobachtet werden, allerdings erst in der zweiten Hälfte der Inkubation, nachdem der Stressor nicht mehr vorhanden war. Besonders interessant ist die Tatsache, dass die Broiler-Linie Ross in der **GG an D18 höhere abs. und signifikant höhere rel. Körpermassen aufwiesen als die Tiere der NVG**. Auch das spiegelt sich in der Wachstumseffizienz wider, die bei den Tieren der GG mit 90,73% höher ist als die der NVG.

Die erhöhte CO<sub>2</sub>-Konzentration scheint in beiden Versuchsgruppen im Verlauf der Inkubation dazu zu führen, dass bestimmte physiologische Systeme, die das Wachstum beeinflussen, früher als bei den Tieren der KG ausreifen.

Mögliche Mechanismen könnten nach Sadler et al. (1954) in der Reduktion des pH-Wertes des Albumins liegen. Es ist noch nicht genau bekannt, in welchem Zusammenhang die Reduktion des Albumin-pH mit der embryonalen Entwicklung steht. Bruggeman et al. (2007) vermuten ebenso einen Zusammenhang zwischen der verstärkten Ansäuerung des Albumins und der beschleunigten Entwicklung der Embryonen und schlussfolgern aus ihren Ergebnissen einer 10-tägigen nicht-ventilierten Inkubation von Hühnereiern ebenfalls, dass ein erhöhter CO<sub>2</sub>-Gehalt im Inkubator die physiologische Ansäuerung des Albumins durch seine chemische Reaktion mit Wasser zusätzlich beschleunigt. Das ist möglich durch die sehr gute Löslichkeit von CO<sub>2</sub> im Ei, die auch schon von Visschedijk (1968) beschrieben worden ist. Besonders in den ersten 96 Inkubationsstunden, bevor die CAM den primären Kreislauf ablöst, halten Bruggeman et al. (2007) eine direkte Diffusion des CO<sub>2</sub> in das Albumin für möglich.

Von De Smit et al. (2006) wird die beschleunigte Entwicklung der pH-abhängigen Enzyme (z.B. Carboanhydrase) durch die nicht-ventilierte Inkubation diskutiert. Diese Enzyme spielen eine wichtige Rolle in der frühen embryonalen Entwicklung und sind für die Bildung von SEF (subembryonaler Flüssigkeit) von großer Bedeutung. Die SEF-Produktion ist ein lebenswichtiger Vorgang für die Entwicklung der Embryonen (DEEMING, 1989). Carboanhydrasen katalysieren die Hydratisierung von Kohlenstoffdioxid zu Kohlensäure. Dabei entstehen Protonen und Bikarbonat-Ionen. CO<sub>2</sub> spielt bekanntermaßen eine wichtige Rolle beim Wassertransport in sowohl embryonalen als auch adulten Epithelien (BOERJAN, 2001). Es ist somit möglich, dass die Konzentration von CO<sub>2</sub> im Inkubator wichtig für die SEF-Produktion ist (LATTER & BAGGOTT, 2002).

Eine weitere Folge einer früheren Aktivierung der Carboanhydrase könnte eine verbesserte Ca<sup>2+</sup>-Resorption aus der Schale und somit ein schnelleres Wachstum bzw. eine frühere Kalzifizierung des embryonalen Skeletts sein. Die Carboanhydrase kommt beispielsweise in der CAM vor. Durch ihre Aktivität entstehen Protonen, die das Herauslösen von Kalzium aus der Eischale vereinfachen. Kalzium wird dann mit Hilfe aktiver Transportmechanismen ins Blut und damit zum Embryo transportiert. Denkbar ist auch eine direkte Beeinflussung der Gen-Expression (WICKSTRÖM, HÖKFELT, & LAGERCRANTZ, 2002). Diese Mechanismen könnten erklären, warum die Ross-Embryonen der NVG sich zunächst besser entwickelten als die Tiere der GG. So könnte die leichte Hypoxie zusätzlich den Effekt des externen CO<sub>2</sub>

verstärken und eine damit einhergehende weitere Absenkung des pH-Wertes zur Folge haben und die daraus folgenden Effekte verstärken. Dass die GG am Ende signifikant erhöhte rel. Körpermassen und eine bessere Wachstumseffizienz aufweisen, könnte demnach auf die zur NVG erhöhte O<sub>2</sub>-Konzentration während der ersten Hälfte der Inkubation zurückzuführen sein. So konnte in Versuchen von Christensen und Bagley (1988) gezeigt werden, dass Truthühner unter O<sub>2</sub> –Supplementierung in der zweiten Hälfte der Inkubation bei Bebrütung in großer Höhe metabolisch besser auf den Schlupf vorbereitet waren. Es ist also denkbar, dass die Tiere der GG in der zweiten Hälfte der Inkubation, in der der Metabolismus deutlich gegenüber der ersten Inkubationshälfte gesteigert ist, einen Vorteil durch den kontinuierlich vorhandenen Sauerstoff hatten. So ist denkbar, dass die embryonalen Flüssigkeiten bis zum Eintritt der physiologischen Hypoxie weniger stark angesäuert waren und deshalb in der Phase der eintretenden Sauerstoff-Knappheit durch den verstärkten Metabolismus und limitierten O<sub>2</sub>-Zufluss metabolisch weniger stark beansprucht waren als in den Tieren aus der NVG. Diese Theorie wird bestärkt durch die von Nau (2010) im Rahmen des gleichen Experiments ermittelten Blutwerte. Dort zeigen die Tiere aus der begasteten Inkubation an D 11-16 und D 18 eine höhere Sauerstoffsättigung des Blutes als die Tiere aus der NVG und einen geringeren CO<sub>2</sub> Partialdruck ab D 15. Die Tiere aus der GG scheinen metabolisch also weniger beansprucht zu sein als die Tiere aus der nicht-ventilierten Inkubation.

Innerhalb der **Broiler-Linie Isa** wird eher eine gegensätzliche Entwicklung wahrgenommen. Eine, die nicht mit den bisherigen Angaben in der Literatur übereinstimmt. Dort wird bisher angegeben, dass sich auch die embryonale Entwicklung der langsam wachsenden Broiler-Linien unter der nicht-ventilierten Inkubation beschleunigte. Die Tiere der Versuchsgruppen sind z.T. signifikant kleiner und leichter als die Tiere der KG. Am Ende der Beobachtungsperiode bestehen zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede, in der Tendenz sind die Tiere der KG schwerer und größer als die Embryonen der Versuchsgruppen. Ein möglicher Erklärungsversuch könnte in den genetischen Unterschieden beider Broiler-Linien liegen. So könnten die physiologischen Systeme, die das Wachstum beeinflussen, bei den Embryonen der langsam wachsenden Broiler-Linie Isa generell später ausreifen. Damit verschiebt sich möglicherweise das kritische Fenster für eine Beeinflussung dieser Regulationsmechanismen.

Dass CO<sub>2</sub> abhängig von kritischen Phasen positive als auch negative Effekte auf die Entwicklung haben kann, wurde schon von Taylor et. al (1956) gezeigt. Sie fanden heraus, dass sich die Schlupfrate bei einer CO<sub>2</sub>-Konzentration ab 1 % in den ersten vier Tagen der Inkubation reduzierte. Bei Embryonen im Alter von 9 bis 12 Inkubationstagen wurde die

Schlupfrate erst ab einer CO<sub>2</sub>-Konzentration von 5 % negativ beeinflusst (TAYLOR & KREUTZIGER, 1966). Hogg (1997) hat herausgefunden, dass die Schlupfrate von Tieren der Ross-Linie sich um 2% verbesserte, nachdem sie bis zum 10. Inkubationstag einer steigenden Konzentration von CO<sub>2</sub> bis 1,5% ausgesetzt waren. Das heißt, CO<sub>2</sub> hat je nach Konzentration und Zeitpunkt der Anwendung unterschiedliche Effekte auf die Entwicklung der Embryonen. Es wäre also möglich, dass neben der Permeabilität der Eischale, Wachstumsrate (TAZAWA, MIKAMI, & YOSHIMOTO, 1971 b) und dem Metabolismus (DRUYAN, 2009) auch die kritischen Phasen bei den Linien unterschiedlicher genetischer Herkunft versetzt sind oder der Gehalt der optimalen CO<sub>2</sub>-Konzentration sich zwischen den Broiler-Linien verschiedener genetischer Herkunft unterscheidet. Die von der bisherigen Literatur abweichenden Ergebnisse bezüglich der Entwicklung der langsam wachsenden Broiler-Linie in dem vorliegenden Projekt, könnte somit auch mit der Nutzung einer anderen langsam wachsenden Broiler-Linie im Zusammenhang stehen.

Nachgewiesener Maßen gibt es Unterschiede im Metabolismus genetisch unterschiedlicher Tiere (DRUYAN, 2009). Der Metabolismus ist bei den langsam wachsenden Embryonen niedriger als bei den schnell wachsenden Tieren, folglich produzieren Tiere aus langsamer wachsenden Broiler-Linien weniger CO<sub>2</sub> und benötigen weniger O<sub>2</sub> während der embryonalen Entwicklung. Die Ansäuerung des Blutes durch den Metabolismus könnte daher weniger stark sein, als bei den Tieren der schnell wachsenden Broiler-Linie Ross. Es ist daher möglich, dass den erhöhten CO<sub>2</sub>-Konzentrationen während der ersten Hälfte der Inkubation nicht der gleiche ansäuernde Effekt folgte, die oben genannten Mechanismen folglich nicht wirksam wurden und die positiven Effekte auf die Entwicklungen in Körpermasse und Größe ausblieben.

### 5.2.2. Allgemeine Entwicklung der Herzen

In allen untersuchten Gruppen bestand annähernd eine Verzehnfachung des Ausgangswertes der absoluten Herzmasse. Die Wachstumsrate des Organs kann in Abhängigkeit der absoluten Körpermasse mit Hilfe der allosterischen Formel  $y=b \cdot x^a$  betrachtet werden. Zak (1984) beschrieb eine enge Abhängigkeit zwischen der absoluten Herzmasse und der Körpermasse, da das Herz den gesamten Körper mit Blut versorgt und seine Pumpleistung resp. die Leistungsfähigkeit des Muskels an die Anforderungen des Körpers angepasst werden muss. Die Verwendung der allosterischen Formel zur Berechnung der Herzwachstumsrate zeigte nach Jones (1995), dass eine erhöhte Inzidenz

für das Auftreten des Aszites-Syndroms mit einer verminderten Wachstumsrate der Herzen einherging. Beim Vergleich der Wachstumsrate  $\alpha$  in der vorliegenden Untersuchung ergaben sich im Vergleich der Versuchsgruppen beider Broiler-Linien nur geringe Unterschiede zwischen den Gruppen (Abb. 20 und 21). Die GG der Broiler-Linie Ross zeigte mit 0,77 den geringsten, die KG der Broiler-Linie Ross mit 0,90 den höchsten  $\alpha$ -Wert. Die Bedeutung des Exponenten wird von Rakusan (1984) folgendermaßen erläutert:

Bewegt sich  $\alpha$  nahe 1, so entspricht das Wachstum des Herzens weitgehend dem des ganzen Körpers, während ein  $\alpha$ -Wert, der sehr viel kleiner als 1 ist, eine Wachstumsrate widerspiegelt, die kleiner ist als die der Körpermasse. Die Tiere der GG der Ross-Linie sind am Ende der Beobachtungsperiode größer und schwerer als die Tiere aus den anderen Versuchsgruppen. Scheinbar nimmt die absolute Embryonenmasse stärker zu als die Masse des Herzens. Daher ist die Wachstumsrate in dieser Gruppe deutlich geringer als bei den anderen Gruppen. Die absolute Herzmasse ist jedoch am Ende der Beobachtungsperiode mit 0,23 g auch deutlich größer als in den anderen Gruppen. Um den steigenden Anforderungen eines wachsenden Organismus gerecht zu werden, muss das Herz bei zunehmender Körpermasse auch an Masse bzw. Größe zunehmen. Bei der Selektion auf hohen Fleischansatz und schnelles Wachstum konnte in den vergangenen Jahren beobachtet werden, dass die absoluten und relativen Herzgewichte der Broiler eine eher rückläufige Tendenz haben (GAYA, et al., 2007). Das ist eine mögliche Erklärung für ein häufiges Auftreten des Aszites-Syndroms. Ein ähnliches Phänomen kann auch bei Mastschweinen beobachtet werden. Seifert et al. (1986) ermittelten bei ihren Untersuchungen bei Schweinen verschiedener Rassepopulationen bei fleischwüchsigen Rassen signifikant kleinere Herzen. Bei hohen Anforderungen führen diese kleineren Herzen schnell zu einer Insuffizienz des Herz-Kreislauf-Systems.

Neben der absoluten Herzmasse ist auch die Beurteilung der relativen Herzmasse ein wichtiges Kriterium für die Leistungsfähigkeit des Herzens. Sie zeigt den prozentualen Anteil der Herzmasse an der Körpermasse der Embryonen und stellt so einen Indikator für die Beurteilung einer disproportionalen Entwicklung zwischen Körpermasse und Herzmasse dar. Ein Anstieg in der relativen Herzmasse wird von Scheele et al. (2003b) als ein Anzeichen für Aszites-Anfälligkeit gesehen. Owen et al. (1995) erklären den Anstieg des relativen Herzgewichtes bei Tieren, die an Aszites erkrankt sind, mit der möglichen Stauung und Ödemen des Herzens. Andere Autoren sehen hingegen in der verminderten relativen Herzmasse einen Vorboten für eine Herz-Kreislauf-Insuffizienz. So bringen Gaya et al. (2007) eine durch Züchtung reduzierte abs. und rel. Herzmasse mit dem häufigen Auftreten des Aszites-Syndroms in Verbindung. Auch Stephan (1993) stellte bei Masttieren gegenüber Legehybriden einen signifikant verringerten Herzanteil im Verhältnis zur Körpermasse fest

und interpretierte dies als einen Grund für eine nicht ausreichende Kreislaufleistung in Verbindung mit einer mangelhaften Sauerstoffversorgung des gesamten Organismus. Bei allen Versuchsgruppen beider Broiler-Linien sank die relative Herzmasse im Verlauf der Inkubation mit steigendem Alter. Dabei sanken die Werte der Versuchsgruppen innerhalb der Broiler-Linie Ross stärker als bei den Tieren der KG. Dieser Unterschied war an D 17 sogar signifikant. Die geringste rel. Herzmasse an D 18 im Vergleich aller Gruppen zeigen abermals die Versuchsgruppen der Broiler-Linie Ross mit 0,78% (GG) und 0,76 % (NVG) der Körpermasse. Laut Salomon (1993 b) beträgt die rel. Herzmasse bei adulten Tieren im Durchschnitt zwischen 0,5 und 1,42 % der Körpermasse. Somit liegen alle Herzen der getesteten Gruppen in der für die adulten Tiere beschriebenen physiologischen Norm. Da die getesteten Tiere noch nicht ausgewachsen sind und somit das prozentuale Verhältnis der Herzmassen relativ zur Körpermasse noch Schwankungen unterliegt, kann eine konkrete Aussage über die Aszites-Anfälligkeit aufgrund der relativen Herzmasse noch nicht getroffen werden. Es kann lediglich von einer Tendenz der Versuchstiere zu einer im Durchschnitt geringeren rel. HM am Ende des untersuchten Zeitraums gesprochen werden. Man kann jedoch vermuten, dass das Verhältnis von abs. HM zu abs. EM scheinbar während der gesamten Entwicklung in dem für die adulten Tiere ermittelten Normbereich liegt. Das Verhältnis von Körpermasse und Herzmasse verändert sich somit immer in gleichmäßiger Relation zu einander. Folgt man den Ausführungen von Gaya et al. (2007) so wären die Tiere mit der geringsten rel. Herzmasse (in diesem Fall die NVG der Broiler-Linie Ross) am stärksten gefährdet eine Kreislaufinsuffizienz zu erleiden, da diese Herzen für die erwarteten Leistungen die ungünstigsten Voraussetzungen mitbringen.

Neben der allgemeinen Betrachtung der Herzmassen muss gleichermaßen die Ausgewogenheit der Herzbestandteile zueinander berücksichtigt werden. Vier Tage vor dem zu erwartenden Schlupf wurde daher das rV/tV-Verhältnis bestimmt. Das auch als arterieller Druckindex bezeichnete Verhältnis reflektiert die anteilige Masse der rechten, freien Ventrikelwand an der Gesamtventrikelmasse. Julian et al. (1989b) ermittelten für gesunde Tiere der Mastriechung einen arteriellen Druckindex von 0,22-0,26. Beim Auftreten des Aszites-Syndroms erhöht sich das rV/tV-Verhältnis auf Werte größer 0,3 (FEDDE & WIDEMANN, 1996; CAWTHON, IQBAL, BRAND, MC NEW, & BOTTJE, 2004). In den eigenen Versuchen betragen die Werte der Broiler-Linie Isa im Mittel 0,25-0,27, wobei die Tiere der KG mit im Mittel 0,27 den höchsten Wert in dieser Broiler-Linie aufwiesen. Wurden die Einzelwerte der getesteten Tiere betrachtet, so traten bei 20 % Tiere aus der NVG Werte >0,3 auf. Weder in der KG noch in der GG überstiegen die Werte das Verhältnis von 0,3. Innerhalb der Broiler-Linie Ross schwankten die Werte im Mittel zwischen 0,23 (GG) - 0,3 (NVG). In dieser Broiler-Linie traten nur in der KG und der NVG rV/tV-Verhältnisse >0,3 auf.

So zeigten in der KG 20% und in der NVG 40% der Tiere einen erhöhten Wert. Daraus lässt sich schließen, dass es innerhalb der NVG zu einer besonderen Belastung des rechten Ventrikels kommt, die zu einer stärkeren Massezunahme und somit zu einem erhöhten rV/tV-Verhältnis führt. Durch die geringen Tierzahlen muss von einer verallgemeinernden Aussage abgesehen werden. Jedoch ist bei den untersuchten Tieren eine Tendenz zu einem erhöhten Masseverhältnis des rechten Ventrikels gegenüber der Gesamtventrikelmasse besonders unter den nicht-ventilierten Bedingungen zu erkennen. Da diese Veränderung ausschließlich die Tiere der NVG betrifft, scheint eine erhöhte Masseentwicklung des rechten Ventrikels im Zusammenhang mit der im Inkubator vorherrschenden milden Hypoxie zu stehen.

Neben der absoluten und relativen Masse des Herzens und der Herzbestandteile wurden sowohl die Herzlängen als auch der Herzdurchmesser bestimmt. In allen Gruppen beider Broiler-Linien stiegen im Laufe der Beobachtung die Werte der Herzlängen und Herzdurchmesser deutlich an. Dabei kam es zu einer Vervielfachung des Ausgangswertes. Besonders die Ross-Embryonen der NVG zeigten eine signifikante Vergrößerung sowohl des Herzdurchmessers als auch der Herzlänge an der überwiegenden Anzahl der Inkubationstage gegenüber der KG. Die Herzen zeigten somit eine stärkere absolute Ausdehnung. Da aber diese Embryonen auch eine größere Kopf-Steiß-Länge aufwiesen, wurde die Herzlänge mit der Größe der Tiere ins Verhältnis gesetzt (Diagramme 40 und 42), um zu sehen, ob es sich bei der Vergrößerung des Herzens auch um eine relative Größenzunahme handelt. So stellte sich heraus, dass es sich vor allem zu Beginn der Beobachtungsperiode (D11-D14) auch um eine relative Vergrößerung des Herzens handelte, die sich am dem 15. Inkubationstag nicht mehr nachweisen lässt. Auch die absolute Vergrößerung der Herzausdehnung gleicht sich am Ende der Inkubationszeit wieder den Werten der KG an. Die Tiere der GG zeigen gegenüber der KG auch erhöhte Herzdurchmesser und Herzlängen an einigen Tagen, und weisen an 4 Inkubationstagen ein in Relation zur Körpergröße vergrößertes Herz auf. Jedoch zeigen sie nur an D 10 ein größeres Herz als die Tiere der NVG. Das bedeutet also, dass die nicht-ventilierte Inkubation in den ersten 10 Inkubationstagen einen Einfluss auf die absolute und zur Körpergröße relative Herzgröße hat. Die nicht-ventilierte Inkubation führte zu einer reversiblen Größenzunahme des Herzens, die nicht nur CO<sub>2</sub>-abhängig (denn ähnliche Effekte wurden in der GG deutlich), sondern auch O<sub>2</sub>-abhängig sein muss und sich nur einige Tage nach dem Einfluss nachweisen lässt.

Bei beiden Gruppen mit erhöhten CO<sub>2</sub>-Werten im Inkubator scheinen die Herzen größer zu sein als bei den Tieren der KG. In Relation zur Körpergröße weisen innerhalb der Broiler-Linie Ross die Tiere der NVG jedoch die größten Herzen auf. Da sich zwischen den Gruppen



der O<sub>2</sub>-Gehalt unterscheidet, beeinflusst eine milde Hypoxie scheinbar indirekt oder direkt die Größe des Herzens zusätzlich. Die relative Herzmasse der Herzen der NVG ist jedoch zu diesem Zeitpunkt vergleichsweise klein und liegt nur an D 12 und 13 (Diagramm 23) über den Werten der KG und GG. So scheint also eine hypertrophe Herzveränderung mit Massezunahme nur an diesen beiden Tagen zu bestehen. Die Herzmuskelhypertrophie ist das Resultat einer Leistungssteigerung des Herzens. Ursache kann unter Umständen ein chronischer Sauerstoffmangel sein. Die Hypertrophie kann funktionell eine Kompensation darstellen oder gleichzeitig mit einer Dilatation bestehen (DAHME & WEISS, 2007). Wahrscheinlich wäre auch eine reversible dilatative Veränderung, die zunächst nicht mit einer Massezunahme einhergeht. Dilatationen können primär entstehen oder sich sekundär aus einer Hypertrophie entwickeln. Die kompensatorisch-tonogene Dilatation stellt eine Anpassungsreaktion an die Bewältigung großer Blutmengen dar und kann sich daher rasch einstellen. Über längere Zeit bestehende Dilatationen des Herzens ziehen chronische, in der Regel irreversible Stauungsfolgen nach sich (DAHME & WEISS, 2007).

Aus dem Verhältnis von Herzdurchmesser und Herzlänge wird der Herzindex bestimmt. Er spiegelt die Veränderung der Formgestalt des Herzens wider (STEPHAN, 1993). In allen Gruppen der Broiler-Linien Ross und Isa zeigten sich im Verlauf der Inkubation sinkende Indexwerte. Das ist mit der physiologischen Veränderung der Herzform in der Embryonalentwicklung von einer eher kugeligen Form zu einer ovalen Form zu erklären. Die untersuchten Tiere der Broiler-Linie Isa wiesen einen gegenüber den Tieren der Broiler-Linie Ross leicht erhöhten Herzindex auf. Dieser Unterschied ist jedoch nicht signifikant. Von allen getesteten Tieren am 18. Inkubationstag wies die NVG der Broiler-Linie Ross im Rangvergleich den höchsten Herzindex auf. Damit zeigten die Tiere dieser Gruppe ein Herz mit einer eher kugeligen Herzform. Eine kugelige Herzform kann ein Zeichen für eine Dilatation des Herzens sein. So zeigt sich bei einer Herzdilatation ein Kugelherz mit weiten Innenräumen und dünnen Wandungen, wobei das absolute Herzgewicht durchaus erhöht sein kann (DAHME & WEISS, 2007). Dilatative Veränderungen im kardiovaskulären System von Hühnern nach einer nicht-ventilierten Inkubation in den ersten 10 Tagen konnten durch Decuypere et al. (2006) bisher an der Aorta festgestellt werden, die nach dem Schlupf ein gegenüber der Kontrollgruppe vermindertes Wand-Lumen-Verhältnis aufwies.

### 5.2.3. Spezielle Betrachtung der Herzentwicklung - Zellzahlen

Mit der speziellen morphometrischen Untersuchung der Herzen wurde versucht, Erkenntnisse über strukturellen Veränderungen am Herzen zu gewinnen, welche die Variationen zwischen den Herzmassen (abs. und rel.) und der Herzgröße zwischen den Versuchs- und Kontrollgruppen näher erläutern und möglicherweise durch die veränderten Inkubationsbedingungen ausgelöst wurden. Als Arbeitshypothese wurde davon ausgegangen, dass sich dilatative oder hypertrophe Veränderungen oder Masseveränderungen am Herzen im lichtmikroskopischen Bild in Form von Dickenveränderungen des Wandmyokards darstellen lassen.

Während der embryonalen Entwicklung gewinnt der Herzmuskel an Masse und Volumen, um den Ansprüchen des wachsenden Embryos mit einer gesteigerten Effektivität und Funktionsfähigkeit gerecht zu werden. Dieser Massezuwachs ist physiologisch und laut Sedmera et al. (1997) in dieser Phase der Entwicklung die Folge einer Hyperplasie, bei der die Zellzahl bei gleichbleibender Zellgröße zunimmt. Eine deutliche Zunahme konnte in der vorliegenden Forschungsarbeit vor allem zu Beginn des Versuchszeitraumes (D 10- D15) beobachtet werden. In dieser Zeit verdoppelten sich die Zellen in den getesteten Lokalisationen (r.V., Sep., l.V.) nahezu. Jedoch ist laut Armstrong et al. (2000) die Anzahl der erforderlichen Zellteilungen des Herzmuskelgewebes begrenzt. So konnte in dem Versuch der Autorin eine annähernd konstante Zellzahl bei den Tieren der KG im Alter von 15 bzw. 18 Inkubationstagen festgestellt werden. In der Broiler-Linie Isa zeigt sich sogar eine leichte Reduktion der Zellzahlen pro Gesichtsfeld. Somit scheint die Proliferationsfähigkeit des embryonalen Myokards schon vor dem Ende der embryonalen Entwicklung ausgeschöpft zu sein. Es war in der vorliegenden Forschungsarbeit demnach zu ergründen, ob die Veränderung der Gaszusammensetzung in der Inkubationsluft eine vermehrte, über das genetisch festgelegte Maß hinaus stattfindende Zellproliferation bedingen könnte, da das embryonale Myokard sich an funktionelle Anforderungen anpasst, indem proliferative Prozesse modifiziert werden (SEDMERA, D., PEXIEDER, RYCHTEROVA, HU, & CLARK, 1999). Hypertrophe Veränderungen, also die Zunahme der Zellgröße ohne eine Veränderung der Zellzahl sind vor allem postnatale Kompensationsmechanismen des Herzens.

Die Bestimmung der Zellzahlen im Myokard ergab abhängig vom Alter der getesteten Embryonen an unterschiedlichen Lokalisationen vor allem für die NVG signifikante Unterschiede gegenüber der KG. Es kann damit also belegt werden, dass es

Wechselwirkungen zwischen der Zusammensetzung der Inkubationsluft und der Zellzahl im embryonalen Myokard gibt.

#### **5.2.3.1. Rechter Ventrikel**

Die Myokardwand des rechten Ventrikels stellt beim adulten Tier, angepasst an die Arbeitsanforderungen (der Aufrechterhaltung des pulmonalen Kreislaufs), im Vergleich zur Myokardwand des linken Ventrikels die dünnere Muskelwand dar. Damit ergibt sich für die adulten Tiere vermutlich auch die geringere Anzahl der Zellen in diesem Bereich. In der morphometrischen Untersuchung ergeben sich geringere Zellzahlen gegenüber dem linken Ventrikel während der gesamten Beobachtungszeit in allen Gruppen. Gegenüber dem Septum ergeben sich altersabhängig vor allem in der Broiler-Linie Ross, im Gegensatz zu den von Lange (2005) ermittelten Verhältnissen der Zellzahlen, Abweichungen. Nur in den KG der langsam wachsenden Broiler-Linie Isa befinden sich im rechten Ventrikel über die gesamte Beobachtungsperiode hinweg die geringste Zelldichte pro Gesichtsfeld im rechten Ventrikel und bestätigen damit, die von Lange (2005) an Hühnern der Legerasse White Leghorn ermittelten Zellzahlen-Verhältnisse.

Am 10. Inkubationstag ergibt sich im rechten Ventrikel der Broiler-Linie Ross innerhalb der NVG ein signifikanter Unterschied gegenüber der KG. Die Tiere weisen zu diesem Zeitpunkt signifikant erhöhte Zellzahlen pro Gesichtsfeld auf. Diese Beobachtung könnte die Folge der in der Literatur (DZIALOWSKI, VON PLETTENBERG, ELMONOUFY, & BURGGREN, 2002) beschriebenen „sensiblen Phase“ zwischen D 6 und D 12 in der Entwicklung des Embryos sein. So kommt es in der NVG zu diesem Zeitpunkt zu einer ansteigenden milden Hypoxie, die das Zellwachstum nicht beeinträchtigt, sondern „reaktiv“ auf die milde Hypoxie zu einer gesteigerten Proliferation führt, um die Leistungsfähigkeit des Myokards zu stärken und die Auswurfleistung und damit die Sauerstoffversorgung des Embryos und seiner Organe zu verbessern. Diese Reaktion des rechten Ventrikels ist während der embryonalen Entwicklung denkbar, da sich der rechte Ventrikel über den Ductus venosus embryonal am Körperkreislauf beteiligt. Erhöhte Zellzahlen pro Gesichtsfeld verglichen mit der KG und GG bleiben bis zum 15. Entwicklungstag bestehen und gehen einher mit der absoluten und im Verhältnis zur Kopf-Steiß-Länge erhöhten Größe des Herzens und der gegenüber der KG in diesem Zeitraum erhöhten rel. und abs. Herzmasse. An D 15 ist der Unterschied in den Zellzahlen pro Gesichtsfeld jedoch nicht mehr signifikant. Das ist ein Zeichen für die hohe Anpassungsfähigkeit des Embryos, der zu diesem Zeitpunkt sehr gut in der Lage ist,

strukturelle Anpassungen an einen Stressor nach der Wiederherstellung der Normalbedingungen wieder auszugleichen.

Zwischen dem 15. bis zum 18. Inkubationstag kommt es in der NVG der Broiler-Linie Ross allerdings zu einer starken Abnahme der Zellzahlen pro Gesichtsfeld im rechten Ventrikel, die wiederum signifikant gegenüber der KG und der GG ist. Die Reduktion von Zellen in jungen Herzen wurde auch schon von Asson-Batres et al. (1989) beschrieben. Sie ermittelten ein zur Sauerstoffversorgung proportionales Wachstum des Organgewebes. Es ist bekannt, dass der Metabolismus im letzten Drittel der Inkubation deutlich ansteigt und die Zufuhr von Sauerstoff ab dem 13. Inkubationstag durch die begrenzte Kapazität der CAM limitiert ist. Es entsteht also eine physiologische Hypoxie im Ei, die letztendlich auch zur Ausreifung des Surfactant-Systems notwendig ist und einen wichtigen Auslöser für den Schlupf darstellt (DE SMIT, et al., 2006). Wie sich in den von Nau (2010) ermittelten Blutgaswerten zeigte, sind die Tiere aus der NVG besonders metabolisch belastet. Es ist also denkbar, dass die Tiere aus dieser Inkubationsform eine relativ stärkere Hypoxie durchleben, die letztlich auch den früheren Schlupfzeitpunkt gegenüber den Tieren aus der Standardinkubation bedingt. Dass Tiere aus nicht-ventilierter Inkubation ungefähr ab D 11 eine geringere O<sub>2</sub>-Sättigung im Blut aufweisen als Tiere aus der Standardinkubation, wurde auch schon von Bruggeman et al. (2007) ermittelt. Es ist denkbar, dass die physiologisch entstehende Hypoxie in dieser Versuchsgruppe, gerade bei den metabolisch aktiveren Tieren der schnell wachsenden Broiler Linie Ross, stärker ist als der im Inkubator während der nicht-ventilierten Inkubation entstandene milde Sauerstoffmangel von 19,3 %. Der Sauerstoffverbrauch setzt sich innerhalb des Embryos nach Mortola und Cooney (2008) nämlich aus folgenden Punkten zusammen:

1. Erhaltung der Gewebe durch Zellreparaturen, exkretorische Prozesse, Zellatmung
2. Biosynthese neuer Gewebe und Organogenese
3. regulatorische Funktionen, Bewegung und Temperaturerhaltung.

Der Schlupf in der NVG ist beschleunigt. Regulatorische und exkretorische Prozesse sind beschleunigt. Die Biosynthese der Organe und Gewebe ist beschleunigt. Auch erhöhte Zellzahlen wie beispielsweise in den Herzen der NVG zu Beginn der Inkubation vorhanden sind, erfordern eine vermehrte Zellatmung und eine verbesserte Versorgung mit Sauerstoff. Sein Zugang ist jedoch in der letzten Phase der Inkubation limitiert. Eine gegenüber der KG und GG verstärkte „physiologische Hypoxie“ und eine daraus folgende Beeinflussung der Zellproliferation kann demnach nicht ausgeschlossen werden. Die Reduktion der Zellzahlen könnte eine Erklärung für die in dieser Gruppe beobachtete Reduktion der abs. und rel.

Herzgröße und der Reduktion der rel. Herzmasse in der NVG der Broiler-Linie Ross zum Ende der Inkubation darstellen.

Da am 18. Inkubationstag -3 Tage vor dem Schlupf des Tieres- in der NVG der Broiler-Linie Ross signifikant geringere Zellzahlen pro Gesichtsfeld gegenüber der KG und der GG zu finden sind, geht die Autorin hier von einem deutlichen Einfluss der nicht-ventilierten Inkubation auf die Strukturierung des rechten Ventrikels bei der schnell-wachsenden Broiler-Linie aus.

Innerhalb der Broiler-Linie Isa gibt es nur an D 15 signifikante Unterschiede zwischen den Zellzahlen pro Gesichtsfeld im rechten Ventrikel. Zu diesem Zeitpunkt weisen die Tiere der GG den anderen Gruppen gegenüber geringere Zellzahlen auf. Am 18. Inkubationstag besteht dieser Unterschied weiterhin, ist jedoch nicht mehr signifikant. In dieser Broiler-Linie wirkten sich die veränderten Inkubationsbedingungen bisher nur im geringen Maße aus, was die Autorin sich mit der unterschiedlichen genetischen Herkunft und dem damit einhergehenden veränderten Metabolismus erklären konnte. Die Auswirkungen auf die Zellzahlen des Herzens sprechen dafür, dass es für den Einfluss des CO<sub>2</sub> wie auch schon für die allgemeine embryonale Entwicklung vermutet, veränderte sensible Phasen gibt. So scheint hier eine CO<sub>2</sub>-Konzentration von 1,5% am 10. Inkubationstag ohne Hypoxie indirekt oder direkt auf die Proliferationsrate des Herzens Einfluss zu nehmen. Nur in dieser Gruppe verändern sich die Zellzahlen pro Gesichtsfeld in der Zeit von D10 bis D 18 nahezu nicht.

### **5.2.3.2. Septum interventriculare**

Das Septum interventriculare ist in beiden Broiler-Linien und allen Versuchsgruppen der jeweils breiteste Anteil des Myokards. Jedoch stellt es in allen Gruppen den Anteil dar, der vom Gehalt der Zellzahlen pro Gesichtsfeld zwischen der Anzahl der Zellen im rechten und linken Ventrikel liegt. Damit liegen die Ergebnisse der Autorin erneut nicht im Einklang mit den von Lange (2005) für die Legerasse White Leghorn ermittelten Ergebnissen. In ihren Untersuchungen von hypoxisch beeinflussten Hühnerherzen stellte sich in allen Gruppen das Septum als der breiteste und zellreichste Anteil dar. Wie auch schon innerhalb der Broiler-Linie Ross für die NVG am rechten Ventrikel ermittelt, liegen die Zellzahlen pro Gesichtsfeld von D 10 bis D 15 in dieser Gruppe über den Zellzahlen der KG und GG. Ebenso wie im rechten Ventrikel beobachtet, kommt es zu einem starken Abfall der Zellzahlen von D 15 bis D 18 mit signifikanten Unterschieden zur KG und zur GG, für die die oben genannten Mechanismen verantwortlich gemacht werden (Pkt. 5.2.3.1.).

Ein anderes Bild ergibt sich hier erneut für die Entwicklung innerhalb der Broiler-Linie Isa. Auch in der Ausprägung der Zellzahlen im Septum interventriculare wird erneut ausschließlich die GG beeinflusst. Der Einfluss im Septum äußert sich jedoch auf eine andere Art. So ergibt sich zunächst von D 10 bis D 15 eine Proliferation der Zellen, wie sie auch in den anderen Gruppen beobachtet werden kann, die dann jedoch ab D 15 stark rückläufig ist und zu einer geringen Zellzahl pro Gesichtsfeld an D 18 führt. Eine mögliche Erklärung ist die unterschiedliche Differenzierungsrichtung im Myokard. So zeigen Untersuchungen von Tokuyasu et al. (1987), dass Myokardzellen in weniger stark proliferierenden Myokardtrabekeln einen höheren Differenzierungsgrad aufweisen, als die des kompakten Myokards, welches mit seiner hohen Proliferationsrate als Quelle für die Kardiomyozyten zum Aufbau des trabekulären Myokards bestimmt wurde. Es könnte also im Septum zu einer im Gegensatz zum rechten Ventrikel zeitlich verzögerten Reaktion auf den erhöhten CO<sub>2</sub>-Gehalt kommen. Die Zellzahlen wurden erst an D 10 bestimmt. Möglicherweise folgte eine Reduktion und Stagnation der Zellzahlen, die innerhalb der GG der Broiler-Linie Isa im rechten Ventrikel beobachtet wurden, einer starken Proliferation, die im Septum erst zu einem späteren Zeitpunkt beobachtet werden konnte. Dafür spricht, dass der gleiche signifikante Unterschied gleichzeitig in rechtem und linkem Ventrikel beobachtet werden kann, was sich durch die unterschiedlich schnelle Ausreifung von Myokard und Septum erklären ließe. Es ist also möglich, dass die Reduktion der Zellen schon vor D 10 stattfand. Des Weiteren wurden keine Herzen nach D 18 untersucht. Dieser Zeitraum könnte jedoch wichtige Aufschlüsse über die weitere Zellzahl-Entwicklung im Septum der GG geben. Da das Septum interventriculare in der Literatur als der am wenigsten von Umbau- bzw. Umformungsprozessen beeinflusste Anteil des Herzens gilt (JETER & CAMERON, 1971; TOKUYASU, 1990; FRANCO, LAMERS, BUCKINGHAM, & MOORMAN, 1997) und sämtliche anderen untersuchten Parameter der allgemeinen embryonalen und der allgemeinen Herzentwicklung innerhalb der Broiler-Linie Isa nur wenig beeinflusst worden sind, könnte man hier einen direkten Effekt der hohen CO<sub>2</sub>-Konzentration vermuten. Ein Einfluss der nicht-ventilierten Inkubation und der damit verbundenen leichten Hypoxie auf die Zellzahlen im Septum war nicht zu beobachten. Dieses Ergebnis könnte damit erklärt werden, dass das Septum ohnehin weniger sensibel auf eine schlechtere Versorgung mit Sauerstoff in der ersten Phase der embryonalen Herzentwicklung reagiert. Da ihm die trabekulären Strukturen, die für die ausreichende Versorgung mit Sauerstoff und nutritiven Substanzen in beiden Ventrikelwänden vorhanden sind, fehlen, wird ein verminderter Sauerstoffgehalt im Septum aufgrund anderer Voraussetzungen demnach höchstwahrscheinlich auch anders registriert und kompensiert.

### 5.2.3.3. Linker Ventrikel

Der linke Ventrikel zeigt in allen untersuchten Altersstufen und Versuchsgruppen der Broiler-Linie Ross die höchsten Zellzahlen der getesteten Herzlokalisationen. Die Entwicklung der Zellzahlen pro Gesichtsfeld verhält sich auch im linken Ventrikel nach den für den rechten Ventrikel und das Septum beschriebenen Mustern. So zeigt die NVG gegenüber der GG und KG erhöhte Zellzahlen im linken Ventrikel bis zum 15. Inkubationstag. Wobei ein signifikanter Unterschied in dieser Lokalisation erst an D 15 beobachtet wird. Dennoch wird auch hier von einem „reaktiven“, die Versorgung mit Sauerstoff verbessernden Prozess ausgegangen, da auch schon an D 10 gegenüber den anderen Versuchsgruppen deutlich erhöhte Zellzahlen vorliegen. Zwischen D 15 und 18 kommt es, wie in den anderen untersuchten Lokalisationen der Herzen der NVG der Ross-Linie, zu einer Reduktion der Zellzahlen. Diese führt zu einem gegenüber der KG und der GG signifikant geringeren Zellgehalt pro Gesichtsfeld im linken Ventrikel. In allen drei untersuchten Lokalisationen der Herzen wurde demnach in der NVG der Ross-Linie also zunächst eine starke Zunahme der Zellzahlen pro Gesichtsfeld gefolgt von einer ebenso starken Reduktion der Zellzahlen pro Gesichtsfeld beobachtet, die zu signifikanten Unterschieden zu sowohl der GG als auch der KG führten. Dieses Verhalten konnte innerhalb der Broiler-Linie Ross in diesem Ausmaß ausschließlich in der NVG beobachtet werden. Ein Einfluss der nicht-ventilierten Inkubation auf die Zellzahlen im Arbeitsmyokard durch die nicht-ventilierte Inkubation und somit durch den milden Abfall der Sauerstoff-Konzentration kann also nicht ausgeschlossen werden.

Innerhalb der Broiler-Linie Isa gibt es für den linken Ventrikel an D 15 signifikante Unterschiede zwischen den Zellzahlen pro Gesichtsfeld. Dieser Unterschied konnte auch schon im rechten Ventrikel beobachtet werden. Zu diesem Zeitpunkt weisen die Tiere der GG den anderen Gruppen gegenüber geringere Zellzahlen auf. Am 18. Inkubationstag besteht dieser Unterschied weiterhin, ist jedoch nicht mehr signifikant. Auch in diesem Bereich des Herzen scheint eine CO<sub>2</sub>-Konzentration von 1,5% am 10. Inkubationstag ohne Hypoxie indirekt oder direkt auf die Proliferationsrate bzw. den genetisch festgelegten Zeitraum der Zellproliferation im embryonalen Myokard Auswirkungen zu haben. Denn auch im linken Ventrikel verändern sich die Zellzahlen pro Gesichtsfeld in der GG im gesamten Beobachtungszeitraum nur marginal. Erst am 18 Tag ist wieder eine leichte, aber nicht signifikante Zunahme der Zellzahlen pro Gesichtsfeld zu erkennen.

Ein Effekt auf die Zellproliferation von CO<sub>2</sub> ist in der Humanmedizin bisher in in-vitro Kulturen verschiedener Zell-Linien beobachtet und diskutiert worden. So beschrieben Schmidt et al. (2006) einen reversiblen negativen Effekt auf die Proliferationsrate von pädiatrischen Neuroblastom-, Lymphom-, Hepatoblastom-, hepatozellulären Karzinom-Zell-Linien in vitro

nach einer zweistündigen CO<sub>2</sub>-Inkubation, der noch 4 Tage nach der Inkubation anhielt. Auch Hao et al. (2008) haben in ihren Versuchen mit MKH-45 Zellen nach einer Inkubation mit 15mmHg CO<sub>2</sub> einen negativen Effekt auf die Proliferationsfähigkeit der MKH-45 Zellen beobachten können, der für zwei Stunden nach dem Versuch anhielt. Yu et al. (2010) stellten in Versuchen mit mesothelialen Zellen sogar fest, dass CO<sub>2</sub> in der Lage ist, die Morphologie und die Funktion dieser Zellen zu verändern. Auch eine geringe Abnahme der Mitochondrienaktivität während der CO<sub>2</sub>-Inkubation konnte beobachtet werden.

Es ist daher denkbar, dass CO<sub>2</sub> in Abhängigkeit von Konzentration und Zeitpunkt des Einsatzes auch in-vivo auf die Proliferation der Zellen und die Zell-Physiologie Einfluss nehmen kann.

### **5.2.4. Spezielle Betrachtung der Herzentwicklung - Wanddicken**

Um die Veränderungen der Myokardwandbreite näher zu beleuchten, wurden morphometrische Messungen der Wanddicke angefertigt. Die Veränderung der Herzmasse geht meist mit einer Veränderung der Wanddicken einher. Um die Zellzahl in einen physiologischen Zusammenhang mit der Leistungsfähigkeit oder Adaptationsfähigkeit des embryologischen Myokards zu bringen, ist es für diese Studie wichtig, auch die Ausdehnung der Ventrikelwände bzw. des Septums zu berücksichtigen. Eine Hypertrophie der Kardiomyozyten, die meist postnatal in Folge veränderter Druckverhältnisse im Herzen entsteht, kann sich pathologisch in einer Verdickung des Arbeitsmyokards äußern. Pränatal werden veränderte Druckverhältnisse eher durch einer Hyperplasie kompensiert. Welche Veränderung in der vorliegenden Studie beobachtet werden konnten, soll mit Hilfe der ermittelten Wanddicken von rechtem und linkem Ventrikel sowie des Septums unter Berücksichtigung der Zellzahlen pro Gesichtsfeld nachfolgend diskutiert werden.

#### **5.2.4.1. Rechter Ventrikel**

In allen Versuchsgruppen beider Broiler-Linien kann eine altersabhängige Zunahme der Wanddicke des rechten Ventrikels beobachtet werden. Die stärksten Zunahmen finden in dem Zeitraum von D 10 bis D 15 statt. In der KG der Broiler-Linie Ross zeigt sich zwischen D 15 und D 18 eine rückläufige Tendenz in der Myokardbreite. Die ermittelten Wanddicken für die einzelnen Versuchsgruppen spiegeln, betrachtet man die Zellzahlen pro Gesichtsfeld, besonders in der NVG nicht die erwarteten Werte wider. So weisen die Embryonen aus der NVG an D 18 signifikant verringerte Zellzahlen pro Gesichtsfeld, aber eine der KG gegenüber signifikant verbreiterte Myokardwand auf. Eine dickere Wand mit einer geringeren



Anzahl von Myozyten würde für eine hypertrophe Veränderung in diesem Bereich sprechen. Diese Aussage könnte gestützt werden durch das an D 17 ermittelte rV/tV-Verhältnis, das in der Gesamtmasse des Herzens eine deutliche Rechtsbetonung zeigte. Auch die absoluten Herzmassen und der Herzindex waren in der NVG zu diesem Zeitpunkt höher als in der KG. Einzig die relative Herzmasse war geringer als in den anderen Versuchsgruppen. Eine vorübergehende postnatal symptomatisch oder asymptomatisch verlaufende fetale kardiale Hypertrophie des rechten Herzens und auch des Septums kann laut Literatur in der Humanmedizin während und nach Schwangerschaften beobachtet werden, in denen die Mütter unter einer Hyperglykämie leiden (GANDHI, ZHANG, & MAIDMAN, 1995). Dabei geht die Hypertrophie des rechten Herzens mit einer Hyperkontraktilität einher. Die genaue Pathogenese bleibt unbekannt und die Symptome verschwinden meist spontan während der ersten Lebensmonate (LITINOVA, 1996). Auch in der Studie von Nau (2010) wurden die Glukosewerte in den Versuchsgruppen bestimmt. Sie lagen dabei in der NVG deutlich über denen der anderen Gruppen. So konnte auch in Versuchen von Tona et al. (2007) gezeigt werden, dass die nicht-ventilierte Inkubation eine Erhöhung der Glukokortikoide zur Folge hatte. Nachweislich führen diese zu einer erhöhten Glukoneogenese, die mit einer Erhöhung des Blutzuckerspiegels einhergeht.

Die Interpretation der ermittelten Ergebnisse bezüglich der Wanddicken erfolgt jedoch mit Vorsicht, da man die morphometrische Untersuchung der Myokardbreite am rechten Ventrikel besonders kritisch betrachten muss. So können bei der Bemessung des kompakten Myokards durch die im rechten Ventrikel länger bestehende trabekuläre Strukturierung Ungenauigkeiten entstehen. Den Grund für die länger als im linken Ventrikel erhalten bleibende Struktur sehen Blausen et al. (1990) in der Beteiligung des rechten Ventrikelmyokards an der direkten nutritiven Versorgung des Herzmuskels. Eine frühere Kompaktierung des Muskels könnte somit auch zu einer Verschlechterung der nutritiven Versorgung des Myokards führen.

In der Broiler-Linie Isa gibt es keine signifikanten Veränderungen der Wanddicke innerhalb der Versuchsgruppen. Die verringerte Proliferation der Zellzahlen, die beobachtet werden konnte, geht in der GG auch mit einer verminderten Zunahme der Wanddicke an D 15, verglichen mit den anderen Versuchsgruppen einher.

#### **5.2.4.2. Septum interventriculare**

Das Septum interventriculare stellt sich in allen Versuchsgruppen beider Broiler-Linien als der breiteste Anteil des Myokards dar. Diese Entwicklung konnte auch schon von Lange (2005) bei Hühnerherzen der Lege-Linie White Leghorn ermittelt werden. Mit zunehmendem Alter gleichen sich die Wanddicken des linken Ventrikels und des Septums an. So zeigen sich beispielweise an D 18 nur noch geringe Unterschiede in der Ausdehnung beider Myokardwandanteile. Auch diese Erkenntnis gleicht den in Untersuchungen an der Lege-Linie White Leghorn gewonnenen Ergebnissen. Unterschiede ergeben sich jedoch im Zellgehalt und der daraus folgenden Interpretation der Ergebnisse. So zeigt sich in allen Entwicklungsstufen der KG ein Zellgehalt pro Gesichtsfeld, der zwischen dem des rechten und linken Ventrikels liegt. Innerhalb der Broiler-Linie Ross zeigt sich bis zu D 15 eine Wanddicken-Entwicklung, die mit derjenigen der Zellgehalt-Entwicklung konform geht. Vor allem der erhöhte Zellgehalt pro Gesichtsfeld in der NVG spiegelt sich in einer, den anderen Gruppen gegenüber, erhöhten Wanddicke wider. An D 18 ergibt sich jedoch die gleiche Entwicklung, die auch schon im rechten Ventrikel beobachtet werden konnte. An diesem Tag weist das Septum die geringsten Zellzahlen auf, besitzt aber die größte Dickenausdehnung. Dieser Unterschied kann ein Zeichen für eine Hypertrophie der Kardiomyozyten sein. Wie oben beschrieben betrifft die fetale Hypertrophie in hyperglykämischen schwangeren Frauen beim Menschen neben dem rechten Ventrikel auch immer das Septum. Diese Entwicklung würde also mit den an der NVG der Broiler-Linie Ross gewonnenen Erkenntnissen konform gehen. Jedoch ist auch hier die Interpretation kritisch zu betrachten, da besonders die für das Septum gewonnenen Wanddicken-Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen nicht signifikant waren.

Innerhalb der Broiler-Linie Isa zeigt sich nur an D 18 in der NVG ein signifikant breiteres Septum als in den Herzen der KG, obwohl es bei den ermittelten Zellzahlen pro Gesichtsfeld in diesen Gruppen keine signifikanten Unterschiede gibt. Der in den Zellzahlen an D 18 aufgefallene signifikante Unterschied zwischen der NVG und der GG spiegelt sich in einer zur NVG geringeren Ausdehnung des Septums wider.

#### **5.2.4.3. Linker Ventrikel**

Im Zuge der embryonalen Entwicklung und Reifung des Herzmuskelgewebes konnte eine physiologische Zunahme der Dicke des linken Ventrikels in allen Versuchsgruppen beider Broiler-Linien beobachtet werden. In der Broiler-Linie Ross gibt es eine gegensätzliche

Entwicklung zwischen D 15 und D 18. So weisen die linken Ventrikel der NVG an D 15 die größte Zelldichte aber eine geringere Ausdehnung der Myokardwand als die GG auf. An D 18 hingegen ist die NVG die Gruppe mit den geringsten Zellzahlen pro Gesichtsfeld und der größten Ausdehnung der Myokardwand. Dieser Befund geht also mit den für die anderen Herzanteile gemachten Untersuchungen einher, stellt sich aber bezogen auf die Wanddicke als nicht signifikant dar.

Innerhalb der Broiler-Linie Isa spiegelt sich die Entwicklung der Zelldichte pro Gesichtsfeld auch in den Ausdehnungsverhältnissen der Ventrikelwand zwischen den einzelnen Versuchsgruppen wider.

Die spezielle Betrachtung der Herzentwicklung führt in dieser Studie gleichsam wie die Betrachtung der Parameter der allgemeinen embryonalen Entwicklung zu der Erkenntnis, dass durch die veränderten Inkubationsbedingungen die Broiler-Linie Ross stärker beeinflusst ist als die Broiler-Linie Isa. Geänderte Inkubationsverhältnisse können also, abhängig vom genetischen Hintergrund der verwendeten Broiler-Linien, sowohl positive als auch negative oder eventuell gar keine Auswirkungen haben. Jedoch müssen diese in der vorliegenden Studie gewonnenen Erkenntnisse anhand anderer genetisch unterschiedlicher Linien und mit höheren Tierzahlen weiterhin verifiziert werden. Dies sollte Bestand zukünftiger Forschung bleiben, da sich besonders im Zuge des neu gewonnenen Verhältnisses der Gesellschaft zum ökologischen bzw. biologischem Landbau (VAN DER LINDE, 2010) eine hohe Wahrscheinlichkeit zur Änderung der bisher kommerziell genutzten Broiler-Linien wie Ross 308 hin zu langsam wachsenden Tieren wie die Isa JA 757 ergibt.

Durch die vor allem in der NVG beobachteten signifikanten Veränderungen (Tab. 19) ist ein Einfluss auch einer milden Hypoxie von 19,3% weiterhin also nicht auszuschließen.

Bezüglich einer möglichen Entwicklung der Prädisposition für das postnatal entstehende Aszites-Syndrom kommt die Autorin zu dem Schluss, dass besonders die NVG der Broiler-Linie Ross gefährdet ist. Innerhalb dieser Gruppe finden stärkere Umstrukturierungsprozesse im Myokard statt, die scheinbar abhängig vom Sauerstoff-Gehalt im Inkubator entstehen. Zusammen mit dem geringen rel. Herzgewicht an D 18, dem erhöhten absoluten Herzgewicht, der zeitweise auftretenden absoluten Vergrößerung des Herzens in Relation zur Körpergröße, dem erhöhten rV/tV-Verhältnis an D 17 und dem verstärkten Metabolismus sowie der stärkeren Ansäuerung der Körperflüssigkeiten vor dem Schlupf der Tiere führt das zu einem zumindest stärker beanspruchten Gesamtorganismus. Der könnte demnach

anfälliger sein als die Tiere aus der Standard- oder Gas-Inkubation eine Erkrankung des kardiovaskulären Systems zu erleiden.

### 5.3. Epigentischer Aspekt dieser Studie

Epigenetik (Pkt. 2.5) beschreibt eine Interaktion der Gene mit ihrer Umwelt, die dann den Phänotyp beeinflussen. Bereits pränatal in der frühen Ontogenese erfolgt die Determinierung physiologischer Regelsysteme, d.h. die Festlegung des späteren Funktions- und Toleranzbereiches des Regelsystems. Umwelteinflüsse während der Prä- und Neonatalperiode können zu Beeinträchtigungen und Krankheitsdispositionen führen. Schon in den 80er Jahren stellte Dörner die Hypothese auf, dass während kritischer Entwicklungsphasen Hormone, Metabolite und Neurotransmitter konzentrationsabhängig die Differenzierung und Reifung sowie die funktionelle „Programmierung“ ihrer eigenen, lebenslangen, zentralnervösen Regler determinieren. In unphysiologisch auftretenden Konzentrationen können sie als „funktionelle Teratogene“ zu Fehlorganisation und subsequenter Fehlfunktion neuroendokriner Regelsysteme führen, was die Disposition zu Krankheiten mit sich trägt (DÖRNER, 1976).

Es ist aus früheren Untersuchungen bekannt, dass besonders in Embryonen aus der nicht-ventilierten Inkubation die Glukokortikoid- und Schilddrüsenhormon-Konzentrationen beeinflusst werden und höhere Werte zeigen als in den Tieren gleicher Altersstufe aus der Standard-Inkubation (TONA, ONAGBESAN, BRUGGEMAN, DE SMIT, FIGUEIREDO, & DECUYPERE, 2007). Damit einhergehend wird der Metabolismus und auch die Glukose-Konzentration, wie sich in den Untersuchungen von Nau (2010) zeigte, beeinflusst. Schon Plageman stellte in Untersuchungen bei schwangeren Frauen mit einer gestörten Glukosetoleranz einen von den Embryonen intrauterin erworbenen Hyperinsulinismus fest, der häufig lebenslang erhalten bleibt und postnatal das Auftreten von Übergewicht und des metabolischen Syndroms sowie Diabetes Mellitus begünstigt (PLAGEMANN, 2003). In der vorliegenden Studie wurden jedoch weder die Glukokortikoid- noch die Schilddrüsenhormon-Konzentrationen bestimmt. Es ist aber aufgrund früherer Ergebnisse und dem beobachteten Entwicklungsverlauf der NVG dieser Studie, der mit den Beschreibungen in der Literatur übereinstimmt, davon auszugehen, dass ebenfalls eine Erhöhung dieser Hormonkonzentrationen stattfand. Das würde auch den von Nau (2010) ermittelten erhöhten Blutzucker Gehalt erklären und diese These weiter stützen. Es ist demnach möglich, dass die

von der Autorin ermittelten Ergebnisse durch epigenetische Einflüsse entstanden sind, die möglicherweise auch postnatal erhalten bleiben (DE SMIT, et al., 2006) und denen ursächlich eine Erhöhung der Konzentrationen von Hormonen bzw. Stoffwechselmetaboliten zu Grunde liegt.

Auffällig in der vorliegenden Studie war die Häufung der signifikanten Unterschiede vor allem für die Broiler-Linie Ross an einem bestimmten Entwicklungstag (Tab. 19). An D 12 ergaben sich die meisten Unterschiede für die Broiler-Linie Ross, was für eine starke Auswirkung der veränderten Inkubationsbedingungen auf die Entwicklung der an diesem Tag oder in diesem Zeitraum liegenden physiologischen Regelsysteme spricht. Zwischen D 10 und D 12 wird beispielsweise die funktionelle Achse zwischen Hypophyse, Hypothalamus und Schilddrüse funktionsfähig. Eine Beeinflussung dieses Regelsystems ist vorstellbar. Diese Vermutung wird gestützt durch die beschleunigte allgemeine embryonale Entwicklung in den Versuchsgruppen. Da sich in beiden Versuchsgruppen bezüglich des Wachstums und der Masseentwicklung gleichwertige Ergebnisse ergeben, geht die Autorin hier vornehmlich von einem Einfluss der CO<sub>2</sub>-Konzentration aus, wohingegen besonders in der Herzentwicklung der Ross-Linie ein Sauerstoff-vermittelter Effekt vermutet wird. Nicht auszuschließen bleibt weiterhin ein direkter Effekt der CO<sub>2</sub>-Konzentration in der Inkubationsluft auf die Proliferationsfähigkeit myokardialer Zellen, der ausschließlich in der GG der Broiler-Linie Isa beobachtet wurde und scheinbar nur einige Tage nach dem Einfluss anhielt. Es ist daher von einem -wenn überhaupt- reversiblen Effekt auszugehen. Obwohl die Untersuchungen an D 18 beendet waren und somit eine weitere Beurteilung der Entwicklung des Myokards nicht stattfinden konnte, soll dieser Effekt hier nicht unerwähnt bleiben.

Dennoch müssen die ermittelten Ergebnisse kritisch betrachtet werden, da Untersuchungen zu epigenetischen Einflüssen genau genommen nur an genetisch vollkommen identischen Tieren vorgenommen und verglichen werden können, also von den selben spezifisch-pathogenfreien Elterntieren stammen müssten. Des Weiteren wären molekularbiologische Untersuchungen zu den Methylierungsmustern der DNA in den Organen bzw. Geweben zur definitiven Beurteilung einer epigenetischen Beeinflussung und eine längere Beobachtung der Tiere postnatal hilfreich. Das hätte jedoch den Rahmen der vorliegenden Studie gesprengt und bleibt daher späteren wissenschaftlichen Untersuchungen vorbehalten. Die vorliegenden Ergebnisse wurden daher nur unter Vorbehalt als Ergebnisse „epigenetischer Einflüsse“ diskutiert.

#### 5.4. Schlussfolgerung und Ausblick

Im Rahmen dieser Studie konnten Erkenntnisse zum Einsatz nicht-ventilierter Inkubation gewonnen werden. So zeigte sich deutlich eine unterschiedliche Reaktion auf die veränderten Inkubationsbedingungen innerhalb der Broiler-Linien mit anderem genetischen Hintergrund. Innerhalb der Broiler-Linie Isa war die allgemeine embryonale Entwicklung durch die Stressoren nur wenig beeinflusst. Einzig die morphometrische Untersuchung führte zu dem Eindruck, dass CO<sub>2</sub> hier hemmende direkte oder indirekte Einflüsse auf die Proliferationsrate der Myokardzellen besaß. Das bestätigte Vermutungen, dass CO<sub>2</sub> abhängig von Konzentration und Zeitpunkt des Einsatzes, bezogen auf die Ausprägung kritischer Phasen, unterschiedliche Wirkungen haben kann.

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass vor allem Tiere der NVG der schnell-wachsenden Broiler-Linie Ross neben der allgemeinen embryonalen Entwicklung auch in der Herzentwicklung beeinflusst werden, was postnatal durchaus eine Prädisposition zu einer Erkrankung des kardiovaskulären Systems führen könnte, aber noch weitere Untersuchungen vor allem der Morphologie des Myokards postnatal erfordert. Es wird aufgrund der Ergebnisse in der GG vermutet, dass vor allem die am Herzen beobachteten Resultate eine Folge der milden Hypoxie sind, die während der nicht-ventilierten Inkubation entstehen. In beiden Versuchsgruppen konnte eine positive Entwicklung in der Größe und Masse der Embryonen beobachtet werden, weshalb auch hier vermutlich von einem CO<sub>2</sub>-induzierten Einfluss ausgegangen werden kann. Die Gruppe mit dem normalen O<sub>2</sub>-Gehalt in der Inkubationsluft während der ersten 10 Inkubationstage scheint metabolisch scheinbar besser auf das letzte Inkubationsdrittel vorbereitet zu sein.

Deshalb könnte die vorliegende Arbeit einen möglichen Ansatz für eine verbesserte Inkubation schnell wachsender Broiler-Linien wie die Ross 308 darstellen. So kommt es augenscheinlich auf die Konzentrationsverhältnisse der beiden Gase im Inkubator an, ob sich die CO<sub>2</sub>-vermittelten Reaktionen auf Wachstum und Masseentwicklung ohne eine Beeinflussung der Herzentwicklung voll entfalten können oder durch eine Hypoxie begrenzt werden.

Die vorliegende Studie hat gezeigt, dass Untersuchungen zur allgemeinen embryonalen Entwicklung und zur Struktur des Herzens sowie der Zusammenhang zwischen Morphologie und Struktur nach wie vor wichtig sind und weiterhin in Untersuchungen zu pränatalen Einflüssen Beachtung finden sollten. Es konnten so weitere Erkenntnisse zum Einfluss des CO<sub>2</sub>- und O<sub>2</sub>-Verhältnis im Inkubator auf die embryonale Entwicklung gewonnen werden.

## 6. Zusammenfassung

Einfluss nicht-ventilierter oder hyperkapnischer Inkubation auf die allgemeine embryonale Entwicklung und die embryonale Herzentwicklung von zwei Mastgeflügel-Linien  
(Isa JA 757 und Ross 308)

In einer Vielzahl von Studien konnte eine hohe Adaptationsfähigkeit des embryonalen Organismus gegenüber verschiedenen Einflüssen während der Inkubation belegt werden. Die Fähigkeit zur Anpassung hat Effekte zur Folge, die temporär oder permanent die Entwicklungsbahn des Hühnerembryos beeinflussen und verändern können. Anpassungs- bzw. kompensatorische Reaktionen beispielsweise auf einen hypoxischen Einfluss können zum einen im Blut- (HÜHNKE & TÖNHARDT, 2004) und in der Amnionflüssigkeit (NAU, 2010) nachgewiesen werden und zum anderen Einfluss auf physiologische Regelsysteme und Organe haben. So konnte in verschiedenen Studien ein positiver Einfluss einer nicht-ventilierten Inkubation und folglich einem erhöhten CO<sub>2</sub>-Gehalt in der Inkubationsluft auf die allgemeine embryonale Entwicklung beobachtet werden. Mit der vorliegenden Forschungsarbeit wurde neben der nicht-ventilierten Inkubation erstmals ein Inkubationsmedium erzeugt, das einen gesteigerten CO<sub>2</sub>-Gehalt bei gleichbleibendem O<sub>2</sub>-Gehalt simulierte. Damit war es möglich, die eigentlichen Effekte des CO<sub>2</sub>-Gehaltes ohne einen milden Sauerstoffmangel, der während der nicht-ventilierten Inkubation entsteht, näher zu charakterisieren. Da ein Einfluss der nicht-ventilierten Inkubation auf das Aszites-Syndrom diskutiert wird, wurde besonders die Entwicklung des Herzens betrachtet. In beiden Gruppen mit erhöhten CO<sub>2</sub>-Werten kam es zu einem gesteigerten Metabolismus, der sich in einer stärkeren Zunahme von Größe und Masse in der Broiler-Linie Ross zeigte.

In der nicht-ventilierten Gruppe der Broiler-Linie Ross zeigten sich zusätzlich auch Effekte am Herzen. So kam es zu einer reaktiven Hyperplasie, die vermutlich als Folge der milden Hypoxie in der sensiblen Phase des Hühnerembryos zwischen D 6 und D 12 auftrat. Anschließend schien sich eine fetale Hypertrophie vor allem in der rechten Ventrikelwand und im Septum zu entwickeln, die an D 18 beobachtet werden konnte. Sie könnte ähnlich der fetalen Hypertrophie beim Menschen eine Folge des erhöhten Blutzuckerspiegels sein. Denkbar ist auch eine physiologische Reaktion durch den im Ei entstehenden Sauerstoffmangel vor allem im letzten Inkubationsdrittel, denn das Organwachstum und damit das Zellwachstum erfolgt proportional zur Sauerstoffversorgung (ASSON-BATRES, STOCK, HARE, & METCALFE, 1989), die vor allem in den Ross-Tieren der NVG relativ schlechter ist als in den anderen Versuchsgruppen. Es ist nicht auszuschließen, dass diese Reaktion eine Prädisposition, postnatal am Aszites-Syndrom zu erkranken, nach sich ziehen

kann. Die Inkubation unter erhöhten CO<sub>2</sub>-Konzentrationen aber gleichbleibenden Sauerstoffgehalten könnte somit einen Ansatz für die Verbesserung der Herzgesundheit bei schnell wachsenden Mastleistungstieren wie die Tiere der Linie Ross 308 darstellen.

Die Beurteilung der postnatalen Herzentwicklung und Herzmorphologie könnte ein weiterer wichtiger Bestandteil fächerübergreifender Forschung sein, um die Inkubationsbedingungen vor allem für die Hochleistungstiere weiter zu verbessern.

Es konnte außerdem gezeigt werden, dass die Anpassungsreaktionen und der Grad der Beeinflussung durch die nicht-ventilierte oder hyperkapnische Inkubation abhängig von dem genetischen Hintergrund der Broiler-Linien ist und nicht bei allen Linien als Standard durchgeführt werden kann, sondern individuell entwickelt werden muss.



## 7. Summary

The Effect of non-ventilated or hypercapnic incubation on embryonic development and embryonic heart development of two broiler-lines (Ross 308 and Isa JA 757)

It is well established that the embryonic organism is capable to adapt to various stressors during incubation. It's ability for adaptation can permanently or temporary affect the embryonic developmental plasticity and trajectories. Hypoxia during incubation for example causes compensatory reactions in the embryonic blood (HÜHNKE & TÖNHARDT, 2004) and amniotic fluid (NAU, 2010) and may as well influence the cardiovascular development. Recent studies show that increased CO<sub>2</sub>-concentrations during the first 10 days of non-ventilated incubation may be beneficial for the embryonic development. It has also been determined that the O<sub>2</sub>-concentration decreases during non-ventilated conditions to a mild hypoxia of 19% O<sub>2</sub>.

Therefore an artificial incubational environment with increasing CO<sub>2</sub>-concentrations and constant O<sub>2</sub> -concentrations was generated. Hence it was possible to compare the effects of CO<sub>2</sub> during hypoxic and normoxic conditions, which helped to differentiate and determine the CO<sub>2</sub>- and O<sub>2</sub>-mediated effects on the embryo.

In recent studies an influence of the non-ventilated incubation on the predisposition of the postnatal development of the Ascites-Syndrome in broiler-lines has been discussed. Therefore the development of the heart and it's morphological and histological properties were investigated in the experiments of the present thesis.

Both treatment groups, the non-ventilated as well as the hypercapnic group, displayed an enhanced metabolism which was reflected in an increase in size and bodymass within the fast growing broiler-line. An effect on the heart development could only be observed in the non-ventilated group of the fast growing broiler-line Ross 308. The hearts of this group showed signs of a reactive hyperplasia at the beginning of the investigations. This finding might be the result of an increasing mild hypoxia during a period (D6-D12) which is known to be sensitive to oxygen deficiency in chicken embryos. The reactive hyperplasia was followed by a fetal hypertrophy which became apparent at D 18. The right ventricular wall and the interventricular septum were especially affected. Similar effects are seen in the infants of diabetic pregnancies in humans. In the non-ventilated group the blood glucose level was

higher than in any other group. That might have a direct or indirect affect on the heart development.

The hypertrophic reaction of the ventricular myocardium could also be a consequence of the physiological decrease of the oxygen-concentration in the egg during the last third of incubation. During this period of embryonic development an increasing metabolism and the limited oxygen supply provoke hypoxic conditions within the egg. Since the growth of the organism, thus the growth of organs and cells are O<sub>2</sub>-dependent (ASSON-BATRES, STOCK, HARE & METCALFE, 1989) an oxygen deficiency may lead to reduced cell-growth. This might be applicable especially for the fast growing broiler-line Ross under non-ventilated conditions, where the already fast metabolism of this broiler-line was additionally enhanced, thus requiring even more oxygen for sufficient saturation.

It is possible that the observed effects on the heart might lead to a higher predisposition for the postnatal development of the Ascites-Syndrome in fast growing broiler-lines. I therefore come to the conclusion that a hypercapnic, normoxic incubation could be beneficial for the embryonic development as well as the heart development especially of fast growing broiler-lines.

This study was also able to present new insights on the effects of CO<sub>2</sub> during incubation and showed that the adaptational reactions of the embryo are not only depending on the concentration and timing of the CO<sub>2</sub>-application but might also be depending on the genetic backgrounds of the broiler-lines and should therefore be developed individually for each broiler-line to achieve the best results. As for the Ross 308, the increase of the CO<sub>2</sub> – concentration according to the NVG of this experiment achieved good results in growth and bodymass without having permanent effects on the heart in the tested period.

The evaluation of pre- and postnatal heart development as well as the morphological and histological properties of the myocardium should still be subject to further studies to continue the improvement of the incubation conditions.

## 8. Literaturverzeichnis

- ABDEL-ALEEM, S., ST LOUIS, J., HUGHES, G., & LOWE, J. (1999).  
Metabolic changes in the normal and hypoxic neonatal myocardium. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* , 874, S. 254-261.
- ABEL, H., & BARTLING, H. (1978).  
Narkose mit Kohlendioxyd für kurz dauernde Eingriffe bei kleineren Versuchstieren. *Zeitschrift für Versuchstierkunde* , 20 (3), S. 132-136.
- AGUDELO, L. (1983).  
Possible causes of avian oedema. *Poult. Int.* (Juli), S. 8-14.
- ALBERS, G., & FRANKENHUIS, M. (1990).  
Ascites, a high altitude disease in the lowlands. *Poult. Misset* , 6, S. 24-25.
- ALLEN, J. (1919).  
Glycogen in the chick embryo. *Jour. Comp. Neur.* , 27, S. 63-71.
- ANDERSON, R., HO, S., REDMANN, K., SANCHEZ-QUINTANA, D., & LUNKENHEIMER, P. (2005).  
The anatomical arrangement of the myocardial cells making up the ventricular mass. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* , 28 (4), S. 517-525.
- ARMSTRONG, M., LEE, D., & ARMSTRONG, P. (2000).  
Regulation of proliferation of the fetal myocardium. *Dev. Dyn.* , 219, 226-236.
- ASHIKAWA, I. (2001).  
Gene-associated CpG islands in plants as revealed by analyses of genomic sequences. *Plant J.* , 26, S. 617-625.
- ASSON-BATRES, M., STOCK, M., HARE, J., & METCALFE, J. (1989).  
O<sub>2</sub> effect on composition of chick embryonic heart and brain. *Resp. Physiol.* , 77, 101-110.
- AVIFORUM. (Dezember 1999).  
Züchtung und Leistungsmerkmale der Hybridtiere. (AVIFORUM, Hrsg.) *Merkblätter Geflügelhaltung* , 4 (3), S. 1-8.
- AVRAMOVA, Z. (2002).  
Heterochromatin in animals and plants. Similarities and Differences. *Plant Physiology* , 129, S. 40-49.
- BAUMANN, R., & MEURER, H. (1992).  
Blood oxygen transport in the early avian embryo. *Physiol. Rev.* , 72 (4), S. 941-965.

- BAUMANN, R., PADEKEN, S., HALLER, E., & BRILMAYER, T. (1983).  
Effects of hypoxia on oxygen affinity, haemoglobin pattern, and blood volume of early chicken embryos. *Am. J. Physiol.* , 244 (5), S. 733-741.
- BELLAIRS, R., & OSMOND, M. (1998).  
*The atlas of chick development*. San Diego, London: Academic Press.
- BEN-SACHAR, G., ARCILLA, R., LUCAS, R., & MANASEK, F. (1985).  
Ventricular trabeculations in the chick embryo heart and their contribution to ventricular and muscular septal development. *Circ. Res.* , 57, S. 759-766.
- BERGMANN, V. (1995).  
Aszites-Syndrom. In E. Wiesene (Hrsg.), *Handlexikon der tierärztlichen Praxis*. Stuttgart, Jena, New York: Gustav Fischer Verlag.
- BERGMANN, V., MÜLLER-MOLENAR, K., & BIRNBAUM, H. (1979).  
Zum Auftreten eines Hydroperikard-Aszites-Syndroms (Ödemkrankheit) in Broilerbeständen. *Mh. Vet. Med.* (34), S. 626-628.
- BESSEI, W. (1999).  
*Bäuerliche Hühnerhaltung*. Eugen Ulmer Verlag.
- BIRD, A. (2002).  
DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes Dev.* , 16 (1), S. 6-21.
- BLAUSEN, B., JOHANNES, R., & HUTCHINS, G. (1990).  
Computer based reconstruction of the cardiac ventricles of human embryos. *AM. Cardiovasc. Path.* , 3, 37-43.
- BLOMQUIST, S. (1957).  
Die CO<sub>2</sub>-Methode zur Betaübung von Schlachtschweinen. *Fleischwirtsch.* , 9, S. 750-752.
- BOERJAN, M. (2001).  
CO<sub>2</sub> controlled setting and hatching: benefits and drawbacks. *World Poultry* , 17 (2.'01), 18-19.
- BOLUKBASI, C., SINAN AKTAS, M., & GUZED, M. (2005).  
The effect of feed regimen on ascites induced by cold temperatures and growth performance in male broilers. *Poult. Sci.* , 4 (5), 326-329.
- BRUGGEMAN, V., WITTERS, A., DE SMIT, L., DEBONNE, M., EVERAERT, N., KAMERS, B., et al. (2007).  
Acid-base-balance in chicken embryos (*Gallus domesticus*) incubated under high CO<sub>2</sub> concentrations during the first 10 days of incubation. *Respiratory Physiology & Neurobiology* , 159, 147-154.

- BRUNS, G., & INGRAM, V. (1973).  
The erythroid cells and haemoglobins of the chick embryo. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* , 266 (877), S. 225-305.
- BÜCHERL, E. (1960).  
Säure-, Basen- und Elektrolytstoffwechsel. Kreislauf und Ventilation während der "Kohlensäureatmung". *Der Anästhesist* , 9, S. 67-70.
- BURTON, F., & TULLET, S. (1985).  
Respiration of avian embryos. *Comp. Biochem. Physiol.* , 82, S. 735-744.
- BUYS, N., DEWIL, E., & DECUYPERE, E. (1997).  
Embryonic characteristics and incubation conditions influence susceptibility to the ascites syndrome. *XIth International Congress of the World Veterinary Poultry Association* , S. 135.
- BUYS, N., DEWIL, E., GONZALES, E., & DECUYPERE, E. (1998).  
Different CO<sub>2</sub> levels during incubation interact with hatching time and ascites susceptibility in two broiler lines selected for a different growth rate. *Avian Pathology* , 27 (6), S. 605-612.
- CANTIENI, J. (1977).  
Ein Beitrag zur CO<sub>2</sub>-Betäubung von Schlachtschweinen. *Arch. Tierheilk.* , 119, S. 355-375.
- CAWTHON, D., IQBAL, M., BRAND, J., MC NEW, R., & BOTTJE, W. (2004).  
Investigation of proton conductance in liver mitochondria of broilers with pulmonary hypertension syndrome. *Poultry Science* , 83, 259-265.
- CHALLICE, C., & VIRAGH, S. (1973).  
The architectural development of the early mammalian heart. *Tissue Cell* , 6, S. 447-462.
- CHRISTENSEN, V., & BAGLEY, L. (1988).  
Improved hatchability of turkey eggs in high altitudes due to added oxygen and increased incubation temperature. *Poult. Sci.* , 67 (6), 956-960.
- CHRISTOFFELS, V., HABETS, P., FRANCO, D., CAMPIONE, F., DE JONG, F., LAMERS, F., et al. (2000).  
Chamber formation and morphogenesis in the developing heart. *Dev. Biol.* , 223, S. 266-278.
- CIROTTA, C., & ARANGI, I. (1989).  
How do avian embryos breathe? Oxygen transport in the blood of early chick embryos. *Comp. Biochem. Physiol.* , 94, S. 604-613.
- COLEMAN, M. (1991).  
Ascites control through proper hatchery management. *Misset World Poultry* , 7, 33-35.

- CRESPO, R., & SHIVAPRASAD, H. (2003).  
Developmental, metabolic and other noninfectious disorders. In Y. SAIF, *Disease of poultry* (11th Edition Ausg., S. 1055-1102). Iowa State Press.
- CUEVA, S., SILLAU, H., VALENZUELA, A., & PLOOG, H. (1974).  
High altitude induced pulmonary hypertension in right heartfailure in broiler chickens. *Res. Vet. Sci.* , 16, S. 370-374.
- DAHIYA, J., MISHRA, S., MUNISH, B., GITA, B., MAHAJAN, N., BATRA, M., et al. (2003).  
Pathology of ascites syndrome in broiler chickens. *Indian J. of Animal Sci.* (73), S. 235-238.
- DAHME, E., & WEISS, E. (2007).  
*Grundriss der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere.* (6. Edition). Stuttgart: Enke Verlag.
- DANNEMANN, P., STEIN, S., & WALSHAW, S. (1997).  
Humane and practical implications of using carbon dioxide mixed with oxygen for anesthesia or euthanasia of rats. *Laboratory Animal Science* , 47 (4), S. 376-385.
- DE JONG, F., VIRÁGH, S., & MOORMAN, A. (1997).  
Cardiac development: A morphologically integrated molecular approach. *Carngdiol. You* , 7, S. 131-146.
- DE SMIT, L., BRUGGEMAN, V., TONA, J., DEBONNE, M., ONAGBESAN, O., ARCKENS, L., et al. (2006).  
Embryonic developmental plasticity of the chick: increased CO(2) during early stages of incubation changes the developmental trajectories during prenatal and postnatal growth. *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* , 145 (2), S. 166-175.
- DE SMIT, L., BRUGGEMAN, V., TONA, J., KAMERS, B., EVERAERT, N., WITTERS, A., et al. (2008).  
The effect of nonventilation during early incubation on the embryonic development of chicks of two commercial broiler strains differing in ascites susceptibility. *Poult. Sci.* , 87 (3), S. 551-560.
- DECUYPERE, E., BUYSE, J., & BUYS, N. (2000).  
Ascites in broiler chickens: exogenous and endogenous structural and functional causal factors. *World's Poult. Sci.* , 56, S. 367-377.
- DECUYPERE, E., ONAGBESAN, O., DE SMIT, L., TONA, K., EVERAERT, N., WITTERS, A., et al. (Oktober 2006).  
*Hypoxia and hypercapnia during incubation of chicken eggs: effects on development and subsequent performance.* (lba.zwans.com, Herausgeber) Abgerufen am 2009 von <http://lba.zwans.com/fullpapers/10850.pdf>.
- DECUYPERE, E., VEGA, C., BARTHA, T., BUYSE, J., ZOONS, J., & ALBERS, A. (1994).  
Increased sensitivity for triiodthyronine (T3) of broiler lines with a high susceptibility for ascites. *Poult. Sci.* , 35, 287-297.

- DEEMING, D. (1989).  
Importance of subembryonic fluid and albumen in the embryos response to turning of the egg during incubation. *Br. Poult. Sci.* , 30, 591-606.
- DÖRNER, G. (1976).  
*Hormones and brain differentiation*. Amsterdam: Elsevier Science Ltd .
- DRAGON, S., GLOMBITZA, S., GOTZ, R., BAUMANN, & R. (1996).  
Norepinephrine mediated hypoxic stimulation of embryonic cell carbonic anhydrase and 2,3-DPG-synthesis. *Am. J. Physiol.* , 271, S. 982-989.
- DRUYAN, S. (2009).  
The effect of genetic line and parent flock age on embryonic development. *The 4th Workshop on Fundamental Physiology and Perinatal Development in Poultry (Program & Abstracts)* (S. 16). Bratislava: Universitas Comeniana Bratislava.
- DUNNINGTON, E., & SIEGEL, P. (1996).  
Long-term divergent selection for eight week body weight in White Plymouth Rock chickens. *Poult. Sci.* , 75, 1168-1179.
- DUVAL, M. (1889).  
*Atlas d'Embryologie*. Paris: G Masson.
- DZIALOWSKI, E., VON PLETTENBERG, D., ELMONOUFY, N., & BURGGREN, W. (2002).  
Chronic hypoxia alters the physiological and morphological trajectories of developing chicken embryos. *Comp. Biochem. Physiol. A.* , 131, 713-724.
- ENGELHARDT, W., & BREVES, G. (2000).  
*Physiologie der Haustiere*. Stuttgart: Enke im Hippokrates Verlag.
- ENGELMANN, C. (1984).  
*Leben und Verhalten unseres Nutzgeflügels*. Leipzig: Neumann Verlag.
- EVERAERT, N., KAMERS, B., WITTERS, A., DE SMIT, L., DEBONNE, M., DECUYPERE, E., et al. (2007).  
Effect of four percent carbon dioxide during the second half of incubation on embryonic development, hatching parameters and posthatch growth. *Poultry Science* , 86, 1372-1379.
- FEDDE, M., & WIDEMANN, R. (1996).  
Blood viscosity in broilers: influence on pulmonary hypertension syndrome. *Poult. Sci.* , 75, S. 1261-1267.
- FEDDE, M., WEIGLE, G., WIDEMAN, & R. (1998).  
Influence of feed deprivation on ventilation and gas exchange in broilers, relationship to pulmonary hypertension syndrome. *Poult. Sci.* , 77, 1704-1710.

- FEIL, R. (2006).  
Environmental and nutritional effects on the epigenetic regulation of genes. *Mutation Research* , 600, S. 46-57.
- FENWICK, D., & BLACKSHAW, J. (1989).  
Carbon dioxide as a shortterm restraint anaesthetic in rats with subclinical respiratory disease. *Laboratory Animals* , 23, S. 220-228.
- FESKE, D. (2009).  
*Einfluss von Sauerstoff und Temperatur auf die Zusammensetzung embryonaler Flüssigkeiten bei Gallus gallus domesticus*. Diss., Veterinär-Physiologie, Berlin, Freie Universität.
- FITZ-COY, S., & HARTE-DENNIS, J. (1988).  
Incidence on ascites in broiler and roaster chickens. *Poult. Sci.* , 67, S. 87.
- FOMBY, L., WHEAT, T., HATTER, D., TUTTLE, R., & BLACK, C. (2004).  
Use of CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub> anesthesia in the collection of samples for serum corticosterone analysis from Fischer 344 rats. *Acta Physiologica Scandinavica* , 127, S. 281-287.
- FORSLID, A., INGWAR, M., ROSEN, I., & INGWAR, H. (1986).  
Carbon dioxide narcosis: influence of short term high concentration carbon dioxide inhalation on EEG and cortical evoked responses in the rat. *Acta Physiologica Scandinavica* , 127, S. 281-287.
- FOWLER, J., BROWN, J., & FLOWER, E. (1980).  
Comparison between ether and carbon dioxide anaesthesia for removal of small blood samples from rats. *Laboratory Animals* , 14 (3), S. 275-278.
- FRANCO, D., LAMERS, W., BUCKINGHAM, M., & MOORMAN, A. (1997).  
The trabecular component of the embryonic ventricle. In B. Ostadal, M. Nagano, N. Takeda, & N. Dhalla, *The developing heart* (S. 51-60). Philadelphia: Lippincott-Raven.
- FREEMAN, B., & VINCE, M. (1974).  
*Development of the avian embryo: Behavioural and Physiological Study*. Kluwer Academic Publishers.
- GANDHI, J., ZHANG, X., & MAIDMAN, J. (1995).  
Fetal cardiac hypertrophy and cardiac function in diabetic pregnancies. *American Journal of Obstetrics & Gynecology* , 173 (4), 1132-1136.
- GAYA, L., COSTA, A., FERRAZ, J., REZENDE, F., MATTOS, E., ELER, J., et al. (2007).  
Genetic trends of absolute and relative heart weight in a male broiler line. *Genetics and Molecular Research* , 6 (4), 1091-1096.
- GELLHORN, E., & SPIESMAN, I. (1935).  
The influence of hypercapnia and variations of O<sub>2</sub>- and CO<sub>2</sub>-tension in the inspired air upon hearing. *American Journal of Physiology* , 112, S. 519-528.



- GILDERSLEEVE, R., BOESCHEN, & P. (1983).  
The effects of incubator carbon dioxide level on turkey hatchability. *Poult. Sci.* , 62, S. 779-784.
- GIUSSANI, D. e. (2007).  
The role of oxygen in prenatal growth: studies in the chick embryo. *J. Physiol.* , 585 (3), S. 911-917.
- GRAHAM, G., HILL, D., & NUNN, J. (1960).  
Die Wirkung hoher CO<sub>2</sub>- Konzentrationen auf Kreislauf und Atmung, Toleranz und "Supercarbi". *Der Anästhesist* , 9, S. 70-73.
- GRÖNROOS, M., & PERTROVAARA, A. (1994).  
A selective suppression of human pain sensitivity by carbon dioxide: central mechanisms implicated. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology* , 68 (1), S. 74-79.
- HAO, Y., ZHONG, H., ZHANG, C., ZENG, D., SHI, Y., TANG, B., et al. (2008).  
Effects of stimulated carbon dioxide and helium pneumoperitoneum on proliferation and apoptosis on gastric cancer cells. *World J. Gastroenterology* , 14 (14), 2241-2245.
- HASSANPOUR, H., TESHFAM, M., MODIRSANEI, M., & EMADI, L. (2005).  
Comparative studies of the electrocardiographic parameters, mean electrical axis (MEA) and cardiac index (RV/TV) in normal and experimentally ascites (using cold) groups of broilers. *ISAH* , 2, S. 17-20.
- HERRE, W., & RÖHRS, M. (1990).  
*Haustiere- zoologisch gesehen* (2. Auflage). Stuttgart, New York: Gustav Fischer Verlag.
- HIROTA, A., KAMINO, K., KOMURO, H., & SAKAI, T. (1987).  
Mapping of early development of electrical activity in the embryonic chick heart using multiple-site optical recording. *J. Physiol.* , 383, S. 711-728.
- HOGG, A. (1997).  
Single stage incubation trails. *Poult. Avian Biol. Rev.* , 8, S. 168.
- HOPPE, W., LOHMANN, W., MARKL, H., & ZIEGLER, H. (1982).  
*Biophysik*. Berlin: Springer Verlag.
- HU, N., & CLARK, E. (1989).  
Hemodynamics of the stage 12 to stage 29 chick embryo. *Circ. Res.* , 65 (6), S. 1665-1670.
- HUCHZERMEYER, F., & DE RUYCK, A. (1986).  
Pulmonary hypertension associated with ascites in broilers. *Vet. Rec.* , 119, S. 94.

- HÜHNKE, A., & TÖNHARDT, H. (2004).  
Oxygen deficiency and blood-gase-state in the chorio-allantoic vein in the chicken embryo. *Avian Poult. Biol. Rev.* , 15 (3/4), 132-136.
- HYDE, J. (1962).  
The use of solid carbon dioxide for producing short periods of anesthesia in guinea pigs. *American Journal of Veterinary Research* , 23, S. 684-685.
- HYLKA, V., & DONEEN, B. (1982).  
Lung phospholipids in the embryonic and immature chicken: changes in lipid composition and biosynthesis during maturation of the surfactant system. *J. Exp. Zool.* , 220, S. 71-80.
- ICARDO, J., & FERNANDEZ-TERAN, A. (1987).  
Morphologic study of ventricular trabeculation in the embryonic chick heart. *Acta Anat.* , 130, S. 267-274.
- ISAACKS, R., HARKNESS, D., ADLER, J., & GOLDMANN, P. (1976).  
Studies on avian erythrocyte metabolism. Effect of organic phosphates on oxygen affinity of embryonic and adult-type hemoglobins of the chick embryo. *Arch. Biochem. Biophys.* , 173, S. 114-120.
- JENSEN, A., & BERGER, R. (1999).  
Dynamics in fetal circulatory responses to hypoxia and asphyxia. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* , 84 (2), S. 155-172.
- JETER, J., & CAMERON, I. (1971).  
Cell proliferation patterns during cytodifferentiation in embryonic chick tissue: liver, heart and erythrocytes. *J. Embryol. Exp. Morph.* , 23, 405-422.
- JONES, G. (1995).  
Manipulation of organ growth by early-life food restriction: it's influence on the development of ascites in broiler chickens. *British Poultry Science* , 36, 135-142.
- JULIAN, R. (1993).  
Review Article: Ascites in poultry. *Avian Pathol.* , 22, S. 419-454.
- JULIAN, R. (1986).  
The effect of increased mineral levels in the feed on leg weakness and sudden death syndrome in broiler chickens. *Can. Vet. J.* , 27, 157-160.
- JULIAN, R., MC MILLAN, J., & QUINTON, M. (1989b).  
The effects of cold and dietary energy on right ventricular hypertrophy, right ventricular failure and ascites in meat-type chickens. *Avian Pathology* , 18, 657-684.
- KAMINO, K. (1991).  
Optical approaches to ontogeny of electrical activity and related functional organization during early heart development. *Physiol. Rev.* , 71, S. 53-91.

- KANEDA, R., TAKADA, S., YAMASHITA, Y., CHOI, Y., NONAKA-SARUKAWA, M., SODA, M., et al. (2009).  
Genome-wide histone methylation profile for heart failure. *Genes to Cells* , 14, S. 69-77.
- KOHLER, I., MEIER, R., BUSATO, A., NEIGER-AESCHBACHER, G., & SCHATZMANN, U. (1999).  
Is carbon dioxide a useful short acting anaesthetic for small laboratory animals? *Laboratory Animals* , 33, S. 155-161.
- KRÄUßLICH, H., & BREHM, G. (1997).  
*Tierzucht und allgemeine Landwirtschaftslehre für Tiermediziner*. Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag.
- KROHN, T., KORNERUP, H., & DRAGSTED, N. (2002).  
The impact of low levels of carbon dioxide on rats. *Laboratory Animals* , 37, S. 94-99.
- KUTRYK, M., & STEWART, D. (2003).  
Angiogenesis of the heart. *Mic. Res. and Techn.* , 60, S. 138-158.
- LAIRD, P. (1999).  
DNA-Methylation. In C. Russo, & J. S. Edgar (Hrsg.), *Epigenetics and environmental regulation*. (S. 395-405). Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag.
- LAMBSON, R., & COHN, J. (1968).  
Ultrastructure of the lung of the goose and its lining of surface material. *Am. J. Anat.* , 122, S. 631-649.
- LANGE, S. (2005).  
Morphometrische Untersuchungen zur Entwicklung des Arbeitsmyokards von Hühnerembryonen unter normaler und sauerstoffreduzierter Bebrütungsluft. In *Dissertation, Veterinär-Physiologie* (S. 54-55). Berlin.
- LANGE, S., TÖNHARDT, H., & BRAGULLA, H. (2006).  
Effect of a reduced environmental oxygen content on the development of the myocardium in chick embryos. In B. Tzschentke, *New insights into fundamental physiology and perinatal adaptation of domestic fowl* (S. 43-55). Nottingham University Press.
- LANGLEY, L., & KILGORE, W. (1955).  
Carbon dioxide as a protecting and stressing agent. *American Journal of Physiology* , 180, S. 277-278.
- LATTER, B., & BAGGOTT, G. (2002).  
Role of carbon dioxide and ion transport in the formation of subembryonic fluid by the blastoderm of the Japanese quail. *Br. Poult. Sci.* , 43, 104-116.

- LIEBICH, H.-G. (1999).  
*Funktionelle Histologie der Haussäugetiere, Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis*. Stuttgart, New York: Schattauer Verlag.
- LILLIE, F. (1951).  
*Lillie's development of the chick*. New York: Rinehart and Winston .
- LITINOVA, M. (1996).  
Pathogenesis of fetal hypertrophic cardiomyopathy in Insulin-dependent Diabetes Mellitus. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* , 121, 698-701.
- LOHR, J. (1975).  
Congestive heart failure in broilers resembling toxic heart degeneration and chick oedema disease. *N. Z. Vet. J.* (23), S. 200-206.
- LOPASCHUK, G., SPAFFORD, M., & MARSH, D. (1991).  
Glycolysis is predominant source of myocardial ATP-produktion immediately after birth. *Am. J. Physiol.* , 261 (6 Pt 2), S. 1698-1705.
- LÓPEZ-BARNEO, J., PARDAL, R., & ORTEGA-SÁENZ, P. (2001).  
Cellular mechanisms of oxygen sensing. *Annu. Rev. Physiol.* , 63, S. 259-287.
- LORENTE DE NÓ, R. (1937).  
A study of nerve physiology. *Studies of the Rockefeller Institute* , 131.
- LUGER, D., SHINDER, D., & YAHAV, S. (2002).  
Hyper- or hypothyroidism: in association with the development of ascites syndrome in fast growing chicken. *General and Comperative Endocrinology* , 127, 293-299.
- LUMB, A. (2000).  
*Nunn's applied respiratory physiology*. Oxford: Butterworth-Heinemann Verlag.
- MANO, H. (2008).  
Epigenetic abnormalities in cardiac hypertrophy and heart failure. *Environ. Health. Prev. Med.* , 13 (1), S. 25-29.
- MARTOFT, L., LOMHOLT, L., KOLTHOFF, C., RODRGUEZ, E., JENSEN, E., JORGENSEN, P., et al. (2002).  
Effects of CO<sub>2</sub> anaesthesia on central nervous system activity in swine. *Laboratory Animals* , 36, S. 115-126.
- MAXWELL, M., ROBERTSON, G., & MITCHELL, M. (1993).  
Ultrastructural demonstration of mitochondrial calcium overload in myocardial cells from broiler chickens with ascites and induced hypoxia. *Res. Vet. Sci.* , 54, S. 267-277.
- MAXWELL, M., ROBERTSON, G., & SPENCE, S. (1986 a).  
Studies on ascites syndrome in young broilers: 1. Haematology and pathology. *Avian Pathol.* , 15, S. 511-524.

- MAXWELL, M., ROBERTSON, G., & SPENCE, S. (1986 b).  
Studies on ascites syndrome in young broilers: 2. Ultrastructure. *Avian Pathol.* , 15, S. 525-538.
- MAXWELL, M., TULLET, S., & BURON, F. (1987).  
Haematology and morphological changes in young broiler chicks with experimentally induced hypoxia. *Res. Vet. Sci.* , 43, S. 331-338.
- MEHNER, A., & HARTFIEL, W. (1983).  
*Handbuch der Geflügelphysiologie*. Jena: VEB Gustav Fischer Verlag.
- MISCHLER, S., ALEXANDER, M., BATTLES, A., RAUCCI, J., NALWALK, J., & HOUGH, L. (1994).  
Prolonged Antinociception following carbon dioxide anesthesia in the laboratory rat. *Brain Research* , 640 (1-2), S. 322-327.
- MIYAMOTO, O., & al., e. (2005).  
Vascular changes in the rat brain during chronic hypoxia in the presence and absence of hypercapnia. *Acta. Med. Okayama* , 59, S. 135-143.
- MOHAMMADPOUR, A. (2005).  
Short communication: Comparative histomorphological study of the heart in healthy and ascites broiler chickens in Sharekord District, Iran. *Veterinary Research Communications* , 31 (2007), S. 462-465.
- MOORMANN, A., VAN DEN HOFF, M., DE JONG, F., FRANCO, D., LAMERS, W., WESSELS, A., et al. (2000b).  
Myocardialization: A novel mechanism of cardiac septation. In E. Clark, M. Nakazawa, & A. Takao, *Etiology and morphogenesis of congenital heart disease: Twenty years of progress in genetics and developmental biology*. (S. 131-135). New York: Futura Publishing Company.
- MORTOLA, J., & COONEY, E. (2008).  
Cost of growth and maintenance in chicken embryos during normoxic and hypoxic conditions. *Respiratory Physiology & Neurobiology* , 162, 223-229.
- MUHLENBERG COLLEGE, P. S. (2009).  
*student outline*. Von Developmental and physiological aspects of the chicken embryonic heart: <http://www.lv.psu.edu/jxm57/chicklab/outline.html> abgerufen
- MULLENAX, C., & DOUGHERTY, R. (1963).  
Physiologic responses of swine to high concentrations of inhaled carbon dioxide. *Am. J. Vet. Res.* , 24, S. 329-332.
- MUNOZ-CHAPULI, R., MACIAS, D., GONZALES-IRIARTE, M., CARMONA, R., & ATENCIA, G. (2002).  
The epicardium and epicardial derived cells: multiple functions in cardiac development. *Rev. Esp. Cardiol.* , 55 (10), S. 1070-1082.

- NAFEE, T., CARROLL, W., FRYER, A., & ISMAIL, K. (2008).  
Epigenetic control of fetal gene expression. *Bjog.* , 115, S. 158-168.
- NAIN, S., ALCORN, J., WOJNAROWICZ, C., LAARVELD, B., & OLKOWSKI, A. (2007).  
Biochemical factors limiting myocardial energy in a chicken genotype selected for rapid growth. *Comp. Biochem. Physiol.* , 149 (2008), 36-43.
- NAU, E. (2010).  
*Einfluss hyperkapnischer Inkubation auf ausgewählte Parameter in Blut und Amnionflüssigkeit von zwei Mastgeflügelrassen (Ross 301 und Isa JA 757).* (F. Universität, Hrsg.) Berlin: Dissertation, Veterinär-Physiologie.
- NICKEL, R., SCHUMMER, A., & SEIFERLE, E. (1992).  
Anatomie der Vögel. In *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere* (S. 283-288). Berlin: Parey Verlag.
- OSTADAL, B., OSTADALOVA, I., & DHALLA, N. (1999).  
Development of cardiac sensitivity to oxygen deficiency: comparative and ontogenetic aspects. *Physiol. Rev.* , 79 (3), 635-659.
- OWEN, J. (1991).  
Principles and problems of incubator design. In *Avian Incubation* (S. 205-224). London: Butterworth-Heinemann Verlag.
- OWEN, R., WIDEMAN, R., LEACH, R., COWEN, B., DUNN, P., et al. (1995).  
Physiologic and electrocardiographic changes occurring in broilers reared at stimulated high altitude. *Avian Diseases* , 39, 108-115.
- PAFF, G. e. (1958).  
Effects of different oxygen and carbon dioxide concentrations on the activity of the embryonic chick heart. *Circ. Res.* , 6, S. 88-91.
- PATON, W. (1983).  
Is CO<sub>2</sub> euthanasia humane? *Nature* , 305, S. 268.
- PEACOCK, A., PICKETT, C., MORRIS, K., & REEVES, J. (1989).  
The relationship between rapid growth and pulmonary haemodynamics in fast growing broiler chickens. *Am. Rev. Respir. Dis.* , 139, 1524-1530.
- PEREZ-POMARES, J., MACIAS, D., GARCIA-GARRIDO, L., & MUNOZ-CHAPULI, R. (1997).  
Contribution of the primitive epicardium to the subcardial mesenchyme in hamsters and chick embryos. *Dev. Dyn.* , 210, S. 96-105.
- PETRIK, P., & RIEDEL, B. (1968 b).  
A continuous osmophilic noncellular membrane at the respiratory surface of the lungs of fetal chickens and of young chicks. *Lab. Invest.* , 18, S. 54-62.

- PETRIK, P., & RIEDEL, B. (1968 a).  
An osmiophilic bilaminar lining film at the respiratory surfaces of avian lungs. *Z. Zellforsch. Mikrok. Anat.* , 88, S. 204-219.
- PETTY, W., & SULKOWSKI, T. (1971 a).  
CO<sub>2</sub> narcosis in the rat: 1. Effects on respiration and blood parameters. *Aerospace Medicine* , 42 (5), S. 547-552.
- PETTY, W., & SULKOWSKI, T. (1971 b).  
CO<sub>2</sub> narcosis in the rat: 2. Effects on the ECG. *Aerospace Medicine* , 42 (5), S. 553-558.
- PLAGEMANN, A. (2003).  
Schwangere bleibt schlank! : Normgemäße Gewichtszunahme schützt Kinder vor Metabolischem Syndrom. *Aid-Press-Info* , 31 (03).
- PLENDL, J., HIRSCHBERG, R., & HÜNIGEN, H. (2002).  
Mechanismen der vaskulären Entwicklung und Regression. *Tierärztl. Praxis* , 30, S. 243-253.
- PLUNKETT, M., HENDRY, P., ANSTADT, M., CAMPORESI, E., AMATO, M., ST LOUIS, J., et al. (1996).  
Chronic hypoxia induces adaptive metabolic changes in neonatal myocardium. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* , 112 (1), S. 8-13.
- PRICE, H. (1960).  
Effects of CO<sub>2</sub> on the vascular system. *Anaesthesiology* , 21, S. 652.
- RADDATZ, E., & KUCERA, P. (1992).  
Oxygen uptake during early cardiogenesis of the chick. *Am. J. Physiol.* , 262 (4 Pt 2), S. 1224-1230.
- RAKUSAN, K. (1984).  
Cardiac growth, maturation and aging. In R. ZAK, *Growth of the heart in health and disease*. (1. Edition Ausg., S. 131-164). New York: Raven Press.
- RECKOVA, M., ROSENGARTEN, C., DE ALMEIDA, A., STANLEY, C., WESSELS, A., GOURDI, R., et al. (2003).  
Hemodynamics is a key factor in development of the cardiac conduction system. *Circ. Res.* , 93, S. 1-9.
- REECE, R. (1991).  
Ascites syndrome in SPF Light Sussex chickens. *J. Comp. Pathol.* , 105 (4), S. 445-453.
- RIBATTI, D. (2006).  
Genetic and epigenetic mechanisms in the early development of the vascular system. *J. Anat.* , 208, S. 139-152.

- RICHARDS, J., & STEIN, S. (1957).  
Effect of CO<sub>2</sub> exposure and respiratory acidosis on adrenal 17-Hydrocorticosteroid secretion in anesthetized dogs. *American Journal of Physiology* , 188, S. 1-6.
- RODRICKS, C., MILLER, S., JENKIN, G., & GIBBS, M. (2006).  
The role of corticosterone in prehatch-induced memory deficits in chicks. *Brain Research* , 1123 (1), 34-41.
- ROMANO, R., KUCERA, P., RIBAUPIERRE, Y., & RADDATZ, E. (2001).  
Oxidative and glykogenolytic capacities within the developing chick heart. *Pediatr. Res.* , 49, S. 363-372.
- ROMANOFF, A. (1960).  
*The avian embryo*. New York: The MacMullan Company.
- ROMIJN, C. (1951).  
Foetal respiration in the hen. *J. Comp. Physiol. Ecol.* , 2, S. 187-197.
- ROMIJN, C. (1948).  
Respiratory movements of chicken during the parafoetal period. *Physiol. Comp. Oecol.* , 1, S. 24-28.
- ROUWET, E., TINTU, A., RAMSAY, G., & LE NOBLE, F. (2002).  
Hypoxia induces aortic hypertrophic growth, left ventricular dysfunction and sympathetic hyperinnervation of peripheral arteries in the chick embryo. *Circulation* , 105 (23), S. 2791-2796.
- RUBERTE, J., KÖNIG, H., & LIEBICH, H. (2001).  
Organe des Herz-Kreislauf-Systems. In H. König, & H. Liebich, *Anatomie und Propädeutik des Geflügels, Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis* (S. 143-160). Stuttgart, New York: Schattauer Verlag.
- RUIJTENBEEK, K., KESSELS, C., JANSSEN, B., BITSCH, N., FAZZI, G., JANSSEN, G., et al. (2003).  
Chronic moderate hypoxia during in ovo development alters arterial reactivity in chickens. *Pflugers Arch* , 447 (2), S. 158-167.
- RYCHTER, Z., & RYCHEROVA, V. (1981).  
Angio- and myoarchitecture of the heart wall under normal and experimental changed conditions. In T. (. Pexieder, *Perspectives in Cardiovascular Research, mechanism of cardiac morphogenesis and teratogenesis*. (Bd. 5, S. 431-452). New York: Raven Press.
- SÄCHSISCHES LANDESAMT FÜR UMWELT, L. U. (2006).  
*Hähnchen, Boiler, Masthühner-Was ist der Unterschied?* Dresden.
- SADLER, W., WILGUS, H., & BUSS, E. (1954).  
Incubation factors affecting hatchability of poultry eggs. *Poult. Sci.* , 33, 1108-1115.



- SALOMON, F. (1993 b).  
Herz-Kreislauf-System. In *Lehrbuch der Geflügelanatomie* (S. 265-306). Jena, Stuttgart: Gustav Fischer Verlag.
- SBONG, S., & DZIALOWSKI, E. (2007).  
Respiratory and cardiovascular responses to acute hypoxia and hyperoxia in internally pipped chicken embryos. *Comp. Biochem. Physiol. Part A* , 148 (4), S. 761-768.
- SCHEELE, C., VAN DER KLIS, J., KWAKERNAAK, C., BUYS, N., & DECUYPERE, E. (2003b).  
Haematological characteristics predicting susceptibility for ascites. 2. High haematological values in juvenile chickens. *British Poultry Science* , 44, 484-489.
- SCHMIDT, A., REISMANN, M., KÜBLER, J., VIETEN, G., BANGEN, C., SHIMOTAKAHARA, A., et al. (2006).  
Exposure to carbon dioxide and helium reduces in vitro proliferation of pediatric tumor cells. *Pediatr. Surg. Int.* , 22 (1), 72-77.
- SCHUBELER, D., MACALPINE, D., SCALZO, D., WIRBELAUER, C., KOOPERBERG, C., VAN LEEUWEN, F., et al. (2004).  
The histone modification pattern of active genes revealed through genome-wide chromatin analysis of a higher eukaryote. *Genes Dev.* , 18, S. 1263-1271.
- SCHWARK, H.-J., PETER, V., & MAZANOWSKI, A. (1987).  
*Internationales Handbuch der Tierproduktion, Geflügel*. Berlin: VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag.
- SEDMERA, D. (2000).  
Developmental Patterning of the Myocardium. *The Anatomical Record* , 258, S. 319-337.
- SEDMERA, D., & CLARK, E. (1997).  
Developmental changes in the myocardial architecture of the chick. *Anat. Rec.* , 248, S. 421-432.
- SEDMERA, D., PEXIEDER, T., RYCHTEROVA, V., HU, N., & CLARK, E. (1999).  
Remodeling of chick embryonic ventricular myoarchitecture under experimentally changed loading conditions. *Anat. Rec.* , 254, 238-252.
- SEIFERT, H., BERGMANN, V., BERG, R., GRÄFE, A., & FRANK, V. (1986).  
Untersuchungen zur Herz-Kreislauf-Labilität beim Fleischschwein unter besonderer Berücksichtigung der Herzmasse. *Wiss. Zschr. der HU Berlin, Reihe Math.-Nat.* , 35, 372-381.
- SHIRAISHI, I., TAKAMATSU, T., & FUJITA, S. (1995).  
3-D Observation with a confocal scanning laser microscope of fibronectin immunolabeling during cardiac looping in the chick embryo. *Anat. Embryol.* , 191, S. 183-189.

- SILBERNAGL, S., & DERSPOPOULOS, A. (2001).  
*Taschenatlas der Physiologie*. (5. Auflage). Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag.
- SMOLLICH, A., & MICHEL, G. (1992).  
*Mikroskopische Anatomie der Haustiere*. (2. Auflage). Gustav Fischer Verlag.
- SNYDER, G., BYERS, R., & KAYAR, S. (1984).  
Effects of hypoxia on tissue capillarity in geese. *Respir. Physiol.* , 58, S. 151-160.
- SQUIRES, E., & SUMMERS, J. (1993).  
A consideration of comparative metabolic aspects of the aetiology of sudden death syndrome and ascites in broiler. *Br. Vet. J.* , 149, S. 258-294.
- STEDING, G., & RAHLF, G. (1982).  
Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen zur Entwicklung des endocardialen Reliefs der Herzkammern. *Verh. Anat. Ges.* , 76, S. 199-201.
- STEPHAN, E. (1993).  
*Untersuchungen zum Wachstum beim Huhn unter besonderer Berücksichtigung der Ca<sup>2+</sup> Regulation des Energiestoffwechsels myokardialer Mitochondrien sowie histometrischer Parameter*. (Bd. Agr. Diss.). Gießen: Justus Liebig Universität.
- STEVENS, L. (1996).  
*Avian biochemistry and molecular biology*. Cambridge: University Press.
- STUHRBERG, V.-U. (2006).  
*Metabolische Antworten von Vogelembryonen auf vermindertes Sauerstoffangebot während der Inkubation*. Diss., Veterinär-Physiologie, Berlin, Freie Universität.
- STURKIE, P. (1996 a).  
Heart and Circulation: Anatomy, Haemodynamic, Blood Pressure, Blood Flow. In *Avian Physiology* (4th Ausg., S. 130-166). New York, Berlin, Heidelberg, Tokyo: Springer Verlag.
- STURKIE, P. (1996 b). Heart:  
Contraction, Conduction and Electrocardiography. In *Avian Physiology* (4th Ausg., S. 167-188). New York, Berlin, Heidelberg, Tokyo: Springer Verlag.
- TAYLOR, L., & KREUTZIGER, G. (1966).  
The gaseous environment of the chick embryo in relation to its development and hatchability. 3. Effect of carbon dioxide and oxygen levels during the period of the ninth through the twelfth day of incubation. *Poult. Sci.* , 45, 867-884.
- TAYLOR, L., SJODIN, R., & GUNNS, C. (1956).  
The gaseous environment of the chick embryo in relation to its development and hatchability. 1. Effekt of carbon dioxide and oxygen levels during the first four days of incubation upon hatchability. *Poult. Sci.* , 35, 1206-1215.

- TAZAWA, H., & PIPER, J. (1983).  
Blood-gases and acid-base status in chicken embryos with naturally varying egg she conductance. *Respir. Physiol.* , 54 (2), S. 137-144.
- TAZAWA, H., MIKAMI, T., & YOSHIMOTO, C. (1971 b).  
Respiratory properties of chicken embryonic blood during development. *Respir. Physiol.* , 13 (2), S. 160-170.
- THOMMES, R. (1987).  
Ontogenesis of thyroid function and regulation in the developing chick embryo. *J. Exp. Zool. Suppl.* , 1, 273-279.
- THOMMES, R., CLARK, N., MOK, L., & MALONE, S. (1984).  
Hypothalamo-adenohypophyseal-thyroid interrelationships in the chick embryo. V. The effects of thyroidectomy on T4 levels in blood plasma. *Gen. Comp. Endocrinol.* , 54, 324-327.
- TITU, A., ROUWET, E., VERLOHREN, S., BRINKMANN, J., AHMAD, S., & al., e. (2009).  
Hypoxia induces dilated cardiomyopathy in the chick embryo: mechanism, intervention, and long term consequences. *PLoS ONE* , 4 (4), S. e5155.
- TOKUYASU, K. (1990).  
Co- development of embryonic myocardium and myocardial circulation. In E. Clark, *Developmental Cardiology: Morphogenesis and Function* (S. 205-218). New York: Futura.
- TOKUYASU, K., & MAHER, P. (1987).  
Immunocytochemical studies of cardiac myofibrillogenesis in early chicken embryos. Presence of immunofluorescent titin spots in premyofibril stages. *J. Cell. Biol.* , 105, S. 2781-2791.
- TONA, K., ONAGBESAN, O., BRUGGEMAN, V., DE SMIT, L., FIGUEIREDO, D., & DECUYPERE, E. (2007).  
Non-ventilation during early incubation in combination with dexamethasone administration during late incubation: 1. Effects on physiological hormone levels, incubation duration and hatching events. *Domestic Animal Endocrinology* , 33 (1), 32-46.
- TULLETT, S., & BURTON, F. (1985).  
The effects of eggshell porosity on blood-gas and acid-base status of domestic fowl embryos within eggs of the same weight. *Comp. Biochem. Physiol. A* , 81, S. 137-142.
- TZSCHENTKE, B. (2007).  
Attainment of thermoregulation as affected by environmental factors. *Poult. Sci.* , 86, S. 1025-1036.

TZSCHENTKE, B., & BASTA, D. (2002).

Early development of neuronal hypothalamic thermosensitivity in birds: influence epigenetic temperatur adaptation. *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* , 131 (4), S. 825-832.

URBAITYTE, R. (2008 ).

The use of acidifiers to alleviate ascites in poultry. *International Poultry Production* , 16, S. 15-19.

VAN DEN HOFF, M., KRUIHOF, B., MOORMANN, A., MARKWALD, R., & WESSELS, A. (2001).

Formation of the myocardium after the initial development of the linear heart tube. *Dev. Biol.* , 240, S. 61-76.

VAN DEN HOFF, M., MOORMANN, A., RUIJTER, J., LAMERS, W., BENNINGTON, R., MARKWALD, R., et al. (1999).

Myocardialization of the cardiac outflow tract. *Dev. Biol.* , 212, S. 477-490.

VAN DER LINDE, J. (2010).

Erzeugung von Biohähnchen - Ein Biobetrieb im Wandel. *DGS Magazin* , 9, 10-13.

VAUGHAN-JONES, R., & SPITZER, K. S. (2006).

Spatial aspects of intracellular pH regulation in heart muscle. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* , 90 (1-3), S. 204-224.

VINCE, M., & TOLHURST, B. (1975).

The stablishment of lung ventilation in the avian embryo: the rate at wich lungs become aerated. *Comp. Biochem. Physiol. A* , 52, S. 331-337.

VISSCHEDIJK, A. (1968).

The air space and embryonic respiration. 3. The balance between oxygen and carbon dioxide in the air space of the incubating chicken egg and its role in stimulating pipping. *Br. Poultr. Sci.* , 9, 197-210.

VOET, D., VOET, J., & PRATT, C. (2002).

*Lehrbuch der Biochemie*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag und GmbH & Co. KGaA.

VOLLMERSHAUS, B. (1992).

Anatomie der Vögel. In R. Nickel, A. Schummer, & E. Seiferle, *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere* (Bd. 5, S. 123-134). Berlin, Hamburg: Parey Verlag.

WATERS, E. (2006).

*DNA is not Destiny*. Abgerufen am 2009 von <http://discovermagazine.com>: [http://discovermagazine.com/2006/nov/cover/article\\_view?b\\_start:int=0&-C=](http://discovermagazine.com/2006/nov/cover/article_view?b_start:int=0&-C=)

WERNBERG, N. (1979).

Humane Betäubung von Schweinen vor dem Schlachten. *Fleischwirtsch.* , 59, S. 1804-1807.

- WESSELS, A., & PEREZ-POMARES, M. (2004).  
The epicardium and epicardially derived cells (EPDCs) as cardiac stem cells. *Anat. Rec. , Part A* (246 a), S. 43-57.
- WEST, N., LOWELL-LANGILLE, B., & JONES, D. (1981).  
Cardiovascular System. In S. King, & J. (. Lelland, *Form and funtion in birds*. (Bd. 2, S. 237-251).
- WICKSTRÖM, R., HÖKFELT, T., & LAGERCRANTZ, H. (2002).  
Development of CO<sub>2</sub> response in the early newborn period in rat. *Repsir. Physiol. Neurobiol. , 132*, 145-158.
- YAHAV, S., COLLIN, A., & SHINDER, D. P. (2004).  
Thermal manipulations during broiler chick embryogenesis: effects of timing and temperature. *Poultry Science , 83*, 1959-1963.
- YU, Y., KUEBLER, J., GROOS, S., METZELDER, M., KURPANIK, S., URE, B., et al. (2010).  
Carbon dioxide modifies the morphology and function of mesothelial cells and facilitates transepithelial neuroblastoma cell migration. *Pediatr. Surg. Int. , 26*, 29-36.
- ZAK, R. (1984).  
*Growth of the heart in health and disease*. (1. Edition). New York: Raven Press.

## 9. Anhang - 1 - Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Rasse-Grundtypen der Hühner .....	5
Abb. 2:	Organisation der Hybridzucht und der Vermehrung .....	7
Abb. 3:	Transsudat in der Leibeshöhle .....	9
Abb. 4:	Darstellung der dynamischen Verbindung zwischen Genotyp, Epigenom und Phänotyp .....	12
Abb. 5:	Mäuse mit identischem Genom .....	12
Abb. 6:	Induktion von epigenetische Adaptation/Fehladaptation.....	15
Abb. 7:	Herz eines Huhnes .....	18
Abb. 8:	Herz eines Hühnerembryos.....	19
Abb. 9:	Herzmuskelgewebe.....	22
Abb. 10:	Dottersack und Dottersack-Kreislauf .....	27
Abb. 11:	Schematische Darstellung des primären Dottersackkreislaufs .....	28
Abb. 12:	Sauerstoff-Dissoziationskurve des Blutes .....	31
Abb. 13:	O <sub>2</sub> -Gehalt in KG und GG.....	45
Abb. 14:	CO <sub>2</sub> -Gehalt in KG und GG .....	45
Abb. 15:	CO <sub>2</sub> -Gehalt in KG und NVG .....	46
Abb. 16:	O <sub>2</sub> -Gehalt in KG und NVG.....	46
Abb. 17:	Standardisierte Auswahl der Gesichtsfelder für die Zellzahlbestimmung.....	52
Abb. 18:	Myokardstrecken A-C zur Ermittlung der Wanddicken.....	53
Abb. 19:	Darstellung des Zusammenhangs zwischen Körpergröße und Masse .....	72
Abb. 20:	Darstellung des Zusammenhangs zwischen der Masseentwicklung des Embryos und des embryonalen Herzens von D 10 bis D 18.....	76
Abb. 21:	Darstellung des Zusammenhangs zwischen der Masseentwicklung des Embryo und des embryonalen Herzens in der Broiler-Linie Isa von D 10 bis D 18. ....	79
Abb. 22:	Herz am 10. Inkubationstag (HE-Färbung).....	105
Abb. 23:	Myokard des rechten Ventrikels am 10. Inkubationstag (HE-Färbung).....	107
Abb. 24:	Myokard des linken Ventrikels am 10. Inkubationstag (HE-Färbung).....	107
Abb. 25:	PAS-Reaktion des Myokards (D 10) des rechten Ventrikels .....	109
Abb. 26:	Myokard des linken Ventrikels an D 10 (Trichromfärbung) .....	110
Abb. 27:	Myokard des rechten Ventrikels an D 10 (Trichromfärbung).....	110
Abb. 28:	Herz am 15. Inkubationstag (HE-Färbung).....	111
Abb. 29:	Strukturierung des Myokards am 15. Inkubationstag (HE-Färbung) .....	112
Abb. 30:	Herz am 18. Inkubationstag (HE-Färbung).....	114
Abb. 31:	Übersicht über die Myokardstruktur am 18. Inkubationstag (HE-Färbung).....	115
Abb. 32:	Strukturierung des Myokards am 18. Inkubationstag .....	115

Abb. 33:	Ventrikelspitze (PAS-Reaktion) .....	117
Abb. 34:	Vergrößerung des Myokards des linken Ventrikels an D 18 (Trichrom- Färbung... .....	118
Abb. 35:	Myokard des linken Ventrikels D 18 (Trichrom-Färbung).....	118
Abb. 36:	Myokards im Bereich der Herzspitze D 18 (HE-Färbung).....	119
Abb. 37:	Vergrößerung des Myokards (Herzspitze, PAS-Reaktion).....	120
Abb. 38:	Vergrößerung des Myokards (Herzspitze, Sudanrot-Färbung) .....	120

## 10. Anhang 2- Tabellenverzeichnis

Tab. 1:	Ausschnitt über die Abstammung der Geflügelarten.....	4
Tab. 2:	Entwicklung der Mastleistung .....	8
Tab. 3:	Übersicht über die schnellen und langsamen Antworten eines Organismus auf Hypoxie .....	35
Tab. 4:	aufsteigende Alkoholreihe .....	49
Tab. 5:	absteigende Alkoholreihe .....	49
Tab. 6:	Färbeprotokoll der HE-Färbung.....	50
Tab. 7:	Dehydratation in der aufsteigenden Alkoholreihe .....	50
Tab. 8:	Darstellung der maximalen, minimalen Werte und der Mediane der rel. Embryonenmasse der Versuchs- und Kontrollgruppen.....	64
Tab. 9:	Darstellung der maximalen, minimalen Werte und der Mediane der rel. Embryonenmasse der Versuchs- und Kontrollgruppen.....	66
Tab. 10:	Darstellung der maximalen, minimalen Werte und der Mediane der Wachstumseffizienz der Versuchsgruppen und der KG. ....	68
Tab. 11:	Darstellung der maximalen, minimalen Werte und der Mediane der rel. Embryonenmasse der Versuchs- und Kontrollgruppen.....	70
Tab. 12:	Übersicht über die allgemeine embryonale Entwicklung am 10. Inkubationstag im Vergleich zur KG .....	70
Tab. 13:	Übersicht über die durchschnittliche allgemeine embryonale Entwicklung vom 11.-18. Inkubationstag im Vergleich zur KG .....	71
Tab. 14:	Darstellung der maximalen, minimalen Werte und der Mediane der rel. Herzmasse der Versuchs- und Kontrollgruppen. ....	81
Tab. 15:	Darstellung der maximalen, minimalen Werte und der Mediane der rel. Herzmasse der Versuchs- und Kontrollgruppen. ....	83
Tab. 16:	Übersicht über die allgemeine Herzentwicklung am 10. Inkubationstag im Vergleich zur KG .....	92
Tab. 17:	Übersicht über die durchschnittliche allgemeine Herzentwicklung vom 11.-18. Inkubationstag im Vergleich zur KG .....	92
Tab. 18:	Darstellung der Verteilung prozentualen Verteilung der rV/tV-Verhältnisse der einzelnen Versuchsgruppen und Broiler-Linien. ....	96
Tab. 19:	Darstellung aller signifikanten Veränderungen .....	132



## 11. Anhang 3- Diagrammverzeichnis

Diag. 1:	Darstellung der Größe der Embryonen der GG und KG. (Ro, N=170).....	55
Diag. 2:	Darstellung der Größe der Embryonen aus der NVG und der KG. (Ro,N=161) .....	55
Diag. 3:	Darstellung der Größe der Embryonen beider Versuchsgruppen (Ro, N=167)...	56
Diag. 4:	Darstellung der Größe der Embryonen aus der GG und KG.(Isa, N=191). .....	57
Diag. 5:	Darstellung der Größe der Embryonen aus NVG und KG.(Isa, N=187).....	57
Diag. 6:	Darstellung der Größe der Embryonen beider Versuchsgruppen (Isa, N=162)...	58
Diag. 7:	Darstellung der Masseentwicklung der Embryonen aus GG und KG.(Ro, N=170). .....	59
Diag. 8:	Darstellung der Masseentwicklung der Embryonen aus NVG und KG. (Ro, N=161).....	59
Diag. 9:	Darstellung der Entwicklung der Körpermassen beider Versuchsgruppen (Ro,N=167). .....	60
Diag. 10:	Darstellung der Masseentwicklung der Embryonen der GG und KG.(Isa, N=191). .....	61
Diag. 11:	Darstellung der Masseentwicklung der Embryonen der NVG und der KG.(Isa, N=187).....	61
Diag. 12:	Darstellung der Masseentwicklung der Embryonen beider Versuchsgruppen (Isa, N=162).....	62
Diag. 13:	Darstellung der relativen Embryonenmassen der Versuchs- und Kontrollgruppen.(Ro, N=249) .....	63
Diag. 14:	Darstellung der relativen Embryonenmassen der Versuchs- und Kontrollgruppen.(Isa, N=270) .....	65
Diag. 15:	Darstellung der Wachstumseffizienz der Versuchs- und Kontrollgruppen. (Ro, N=249).....	67
Diag. 16:	Darstellung der Wachstumseffizienz der Versuchs- und Kontrollgruppen.(Isa, N=270).....	69
Diag. 17:	Darstellung der absoluten Herzmassen der Embryonen aus der GG und KG.(Ro, N=170).....	74
Diag. 18:	Darstellung der absoluten Herzmassender Embryonen aus NVG und KG. (Ro, N=161).....	74

Diag. 19:	Darstellung der absoluten Herzmassen der beiden Versuchsgruppen. Ro, N=167).....	75
Diag. 20:	Darstellung der absoluten Herzmassen der Embryonen aus der GG und KG. (Isa, N=191).....	77
Diag. 21:	Darstellung der absoluten Herzmassen der Embryonen aus NVG und KG.(Isa, N=187).....	77
Diag. 22:	Darstellung der absoluten Herzmassen der Embryonen aus der NVG und GG (Isa, N=167). ....	78
Diag. 23:	Darstellung der relativen Herzmassen der Versuchsgruppen und der Kontrollgruppe.(Ro, N=249) .....	80
Diag. 24:	Darstellung der relativen Herzmassen der Versuchsgruppen und der Kontrollgruppe. (Isa, N=270) .....	82
Diag. 25:	Entwicklung des Herzdurchmessers in der GG und KG.(Ro, N=170).....	84
Diag. 26:	Entwicklung des Herzdurchmessers in NVG und KG.(Ro, N=161). ....	84
Diag. 27:	Entwicklung des Herzdurchmessers beider Versuchsgruppen.(Ro, N=167). ....	85
Diag. 28:	Entwicklung der Herzdurchmesser zwischen GG und KG.(Isa, N=191).....	86
Diag. 29:	Entwicklung der Herzdurchmesser der NVG und KG. (Isa, N=187).....	86
Diag. 30:	Entwicklung der Herzdurchmesser der beiden Versuchsgruppen.(Isa, N=162). ....	87
Diag. 31:	Entwicklung der Herzlänge in GG und KG. (Ro, N=170). ....	88
Diag. 32:	Entwicklung der Herzlänge in NVG und KG. (Ro, N=161). ....	88
Diag. 33:	Entwicklung der Herzlängen beider Versuchsgruppen.(Ro, N=167). ....	89
Diag. 34:	Entwicklung der Herzlängen in GG und KG (Isa, N=191). ....	90
Diag. 35:	Entwicklung der Herzlängen in der NVG und KG.(Isa, N=187).....	90
Diag. 36:	Entwicklung der Herzdurchmesser beider Versuchsgruppen.(Isa, N=162). ....	91
Diag. 37:	Entwicklung der Masse der rechten Ventrikel aus den KG beider Broiler-Linien (N=56).....	94
Diag. 38:	Masse der rechten Ventrikel beider Broiler-Linien am 17. Inkubationstag. (N=30). ....	95
Diag. 39:	Darstellung des rV/tV-Verhältnisses beider Broiler-Linien am 17. Inkubationstag. (N=30).....	96
Diag. 40:	Darstellung der Herzlänge relativ zur Rückenlänge der Embryonen. (Ro, N= 249) .....	97
Diag. 41:	Darstellung des Herzdurchmessers relativ zur Herzlänge.(Ro, N=249).....	98

Diag. 42:	Darstellung der Herzlänge relativ zur Rückenlänge. (Isa, N=270) .....	100
Diag. 43:	Darstellung des Herzdurchmessers relativ zur Herzlänge.(Isa, N=270).....	101
Diag. 44:	Hämatokrit-Werte aller Versuchsgruppen (Ro, N=116). .....	103
Diag. 45:	Hämatokrit-Werte aller Versuchsgruppen (Isa, N=122). .....	104
Diag. 46:	Herzdurchmesser, Herzlänge und absolute Herzmasse der Broiler-Linien Isa und Ross am 10. Inkubationstag im Vergleich.....	106
Diag. 47:	Darstellung der Wanddicken der KG der Broiler-Linien Isa und Ross (N=15)...	108
Diag. 48:	Darstellung der Zellzahlen (Ro und Isa, N=15).....	108
Diag. 49:	Herzdurchmesser, Herzlänge und absolute Herzmasse der Broiler-Linien Isa und Ross am 15. Inkubationstag.....	111
Diag. 50:	Darstellung der Wanddicken der KG der Broiler-Linien Isa und Ross. (N=15)..	112
Diag. 51:	Darstellung der Zellzahlen (Isa und Ro, N=15).....	113
Diag. 52:	Mittelwerte der Herzdurchmesser, Herzlängen und der abs. Herzmassen am 18. Inkubationstag.....	114
Diag. 53:	Darstellung der Wanddicken der KG der Broiler-Linien Isa und Ross. (N=16)..	116
Diag. 54:	Darstellung der Zellzahlen (Ro und Isa, N=16).....	116
Diag. 55:	Darstellung der Wanddicken aller Versuchsgruppen am 10. Inkubationstag. (Ro, N=15).....	121
Diag. 56:	Darstellung der Zellzahlen (Ro, N=15) .....	122
Diag. 57:	Darstellung der Wanddicken am 15. Inkubationstag. (Ro, N=15) .....	123
Diag. 58:	Darstellung der Zellzahlen (Ro, N=15) .....	124
Diag. 59:	Darstellung der Wanddicken am 18. Inkubationstag. (Ro, N=15) .....	125
Diag. 60:	Darstellung der Zellzahlen (Ro, N=15) .....	125
Diag. 61:	Darstellung der Wanddicken am 10. Inkubationstag. (Isa, N=15).....	127
Diag. 62:	Darstellung der Zellzahlen (Isa, N=15) .....	127
Diag. 63:	Darstellung der Wanddicken am 15. Inkubationstag. (Isa, N=15) .....	128
Diag. 64:	Darstellung der Zellzahlen (Isa, N=15) .....	129
Diag. 65:	Darstellung der Wanddicken am 18. Inkubationstag. (Isa, N=15) .....	130
Diag. 66:	Darstellung der Zellzahlen (Isa, N=15) .....	130

## **Danksagung**

Ein besonderer Dank gilt meiner Doktormutter Frau Prof. Dr. Heike Tönhardt für die Überlassung des Themas der Dissertation und die wissenschaftliche, freundliche und motivierende Unterstützung, die sich sehr positiv auf den Fortgang der Arbeit auswirkte.

Herrn Prof. Dr. Achim Gruber und Frau Dr. Olivia Kershaw aus dem Institut für Tierpathologie der FU Berlin danke ich ganz besonders für die Unterstützung in den histo-pathologischen Fragestellungen und die Bereitstellung der Technik zur Bearbeitung und Auswertung meiner Präparate. Vielen Dank für die freundliche Betreuung, die Geduld und Hilfestellung bei den verschiedenen Untersuchungen und den sich daraus ergebenden Fragen.

Dr. Dana Feske und Michael Feske möchte ich für die bereitwillige Unterstützung bei technischen Schwierigkeiten und für die aufmunternden Gespräche ganz herzlich danken.

Weiterhin bedanke ich mich bei der Firma Labotec für die Leihgabe des Incontrol 1050 und dem Bruteiler der Wiesenhof-Geflügel Möckern GmbH, Herrn Wundersitz für die freundliche Unterstützung und die Bereitstellung der Bruteier.

Meiner lieben Gabi danke ich für die fachliche Unterstützung und für die nunmehr 13 Jahre bestehende Freundschaft. Unsere gemeinsamen Abende enden immer in einem Lachen – Thank you so much ...

Ein ganz besonderer Dank gilt natürlich meiner Familie. Danke, dass Ihr immer für mich da seid und mich zu neuen Träumen und Taten ermutigt. Ohne Euch wäre ich nicht, wo ich jetzt bin.

Ich möchte auch meinem lieben Wolf danken, der immer an mich geglaubt hat und mich aufgefangen hat in Zeiten, in denen ich Halt brauchte. Du warst und bist mein „Fels in der Brandung“. Danke, dass es Dich gibt!

## **Selbständigkeitserklärung**

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Berlin, den 05.07.2010

.....

Diana Dorn