Aus dem Institut für Veterinär-Physiologie

des Fachbereichs Veterinärmedizin

der Freien Universität Berlin

Einfluss hyperkapnischer Inkubation auf ausgewählte Parameter in Blut und Amnionflüssigkeit von zwei Mastgeflügelrassen (ROSS 308 und ISA JA 757)

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Grades eines

Doktors der Veterinärmedizin

an der

Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Eve Nau

Tierärztin

aus Berlin

Berlin 2010

Journal-Nr.: 3393

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin

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

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

poultry, fowls, broilers, embryonic development, amniotic fluid, blood, electrolytes, blood gases, hypercapnia

Tag der Promotion: 19.08.2010

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: 978-3-86664-825-8 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.

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved © Mensch und Buch Verlag 2010 Choriner Str. 85 - 10119 Berlin verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

I. Inhaltsverzeichnis

I. Inhaltsverzeichnis	3
II. Abkürzungsverzeichnis	9
1. Einleitung und Zielstellung	11
2. Literaturübersicht	13
2.1. Zur Embryogenese	13
2.1.1. Kurzer Überblick zur Entwicklung des Hühnerembryos	13
2.1.2. Die Entwicklung der Embryonalhüllen	14
2.1.3. Die Chorioallantoismembran (CAM)	16
2.1.4. Die Entwicklung des Blutgefäßsystems	
2.2. Funktionen des Amnions	21
2.2.1. Membranen als Barrieren: Blut-Amnion-Barriere	21
2.2.2. Transportmechanismen im Amnionepithel und Kapillarendothel	23
2.3. Elektrolyte und Wasser im Ei	24
2.3.1. Elektrolyte	24
2.3.2. Wasser	25
2.4. Zur Entwicklung der Sauerstoffversorgung	
2.5. Hämoglobin und die Sauerstoffbindungskurve	
2.6. CO ₂ als Inkubationsparameter	
2.6.1. CO ₂ Inkubation während D1 bis D10	
2.6.2. CO ₂ Inkubation während D11 bis D20	
2.6.3. Einfluss von CO ₂ , Sauerstoffmangel und/oder Hyperthermie Prädisposition von Aszites	auf die
2.7. Zusammenfassung Literaturübersicht	
3. Material und Methoden	

	3.1. Herkunft und Inkubation der Hühnerembryonen	35
	3.1.1. Eier	35
	3.1.2. Inkubatoren	35
	3.1.3. Inkubation	35
	3.2. Incontrol 1050	37
	3.3. Versuchsablauf	37
	3.4. Gewinnung der Blut- und Amnionflüssigkeit	38
	3.4.1. Blutentnahme	38
	3.4.2. Entnahme der Amnionflüssigkeit	38
	3.5. Blut und Amnionflüssigkeitsanalyse	38
	3.5.1. Radiometer Copenhagen ABL 605®	38
	3.5.2. Radiometer Copenhagen ABLTM 500® Gasanalyse	39
	3.5.3. Radiometer Copenhagen EML 100TM Electrolyte Metabolite Laboratory®	39
	3.5.4. Radiometer Copenhagen OSM TM 3 Hämoximetrie	40
	3.6. Messung morphologischer Parameter	40
	3.7. Datenerfassung, Datenaufarbeitung, Statistik	40
4.	Ergebnisse	42
	4.1. Ergebnisse zum pH	43
	4.1.1. Vergleich der pH-Werte zwischen Isa und Ross im Blut	43
	4.1.2. Vergleich der pH-Werte zwischen Isa und Ross in der Amnionflüssigkeit	44
	4.1.3. Vergleich der pH-Werte innerhalb der Rasse Isa	45
	4.1.4. Vergleich der pH-Werte innerhalb der Rasse Ross	46
	4.2. Ergebnisse zum pO ₂	47
	4.2.1. Vergleich der pO ₂ -Werte zwischen Isa und Ross im Blut	47
	4.2.2. Vergleich der pO ₂ -Werte zwischen Isa und Ross in der Amnionflüssigkeit	48

4.2.3. Vergleich der p O_2 -Werte innerhalb der Rasse Isa	49
4.2.4. Vergleich der pO ₂ -Werte innerhalb der Rasse Ross	51
4.3. Ergebnisse zum pCO ₂	52
4.3.1. Vergleich der pCO ₂ -Werte zwischen Isa und Ross im Blut	52
4.3.2. Vergleich der pCO ₂ -Werte zwischen Isa und Ross in der Amnionflüssigkeit	53
4.3.3. Vergleich der pCO ₂ -Werte innerhalb der Rasse Isa	54
4.3.4. Vergleich der pCO ₂ -Werte innerhalb der Rasse Ross	55
4.4. Ergebnisse zum HCO ₃ ⁻	56
4.4.1. Vergleich der HCO ₃ ⁻ -Werte zwischen Isa und Ross im Blut	56
4.4.2. Vergleich der HCO ₃ ⁻ -Werte zwischen Isa und Ross in der Amnionflüssigkeit.	57
4.4.3. Vergleich der HCO ₃ ⁻ -Werte innerhalb der Rasse Isa	58
4.4.4. Vergleich der HCO ₃ ⁻ -Werte innerhalb der Rasse Ross	59
4.5. Ergebnisse zum Hämoglobin	60
4.5.1. Vergleich der Hb-Werte zwischen Isa und Ross	60
4.5.2. Vergleich der Hb-Werte innerhalb der Rasse Isa	61
4.5.3. Vergleich der Hb-Werte innerhalb der Rasse Ross	62
4.6. Ergebnisse zum Hämatokrit	63
4.6.1. Vergleich der Hkt-Werte zwischen Isa und Ross	63
4.6.2. Vergleich der Hkt-Werte innerhalb der Rasse Isa	64
4.6.3. Vergleich der Hkt-Werte innerhalb der Rasse Ross	65
4.7. Ergebnisse zur Glukosekonzentration	66
4.7.1. Vergleich der Glukosekonzentration zwischen Isa und Ross	66
4.7.2. Vergleich der Glukosekonzentration innerhalb der Rasse Isa	67
4.7.3. Vergleich der Glukosekonzentration innerhalb der Rasse Ross	68
4.8. Ergebnisse zur Lactatkonzentration	69

4.8.1. Vergleich der Lactatkonzentration zwischen Isa und Ross	69
4.8.2. Vergleich der Lactatkonzentration innerhalb der Rasse Isa	70
4.8.3. Vergleich der Lactatkonzentration innerhalb der Rasse Ross	71
4.9. Ergebnisse zu den Kaliumwerten	72
4.9.1. Vergleich der K ⁺ -Werte zwischen Isa und Ross im Blut	72
4.9.2. Vergleich der K ⁺ -Werte zwischen Isa und Ross in der Amnionflüssigkeit	73
4.9.3. Vergleich der K ⁺ -Werte innerhalb der Rasse Isa	74
4.9.4. Vergleich der K ⁺ -Werte innerhalb der Rasse Ross	75
4.10. Ergebnisse zu den Natriumwerten	76
4.10.1. Vergleich der Na ⁺ -Werte zwischen Isa und Ross im Blut	76
4.10.2. Vergleich der Na ⁺ -Werte zwischen Isa und Ross in der Amnionflüssigkeit	77
4.10.3. Vergleich der Na ⁺ -Werte innerhalb der Rasse Isa	79
4.10.4. Vergleich der Na ⁺ -Werte innerhalb der Rasse Ross	80
4.11. Ergebnisse zu den Kalziumwerten	81
4.11.1. Vergleich der Ca ²⁺ -Werte zwischen Isa und Ross im Blut	81
4.11.2. Vergleich der Ca ²⁺ -Werte zwischen Isa und Ross in der Amnionflüssigkeit	82
4.11.3. Vergleich der Ca ²⁺ -Werte innerhalb der Rasse Isa	83
4.11.4. Vergleich der Ca ²⁺ -Werte innerhalb der Rasse Ross	84
4.12. Ergebnisse zu den Chloridwerten	85
4.12.1. Vergleich der Cl ⁻ -Werte zwischen Isa und Ross im Blut	85
4.12.2. Vergleich der Cl ⁻ -Werte zwischen Isa und Ross in der Amnionflüssigkeit	86
4.12.3. Vergleich der Cl ⁻ -Werte innerhalb der Rasse Isa	87
4.12.4. Vergleich der Cl ⁻ -Werte innerhalb der Rasse Ross	88
4.13. Übersicht zu ausgewählten Korrelationseffizienten	90
4.14. Ergebnisse zur Körpermasseentwicklung	91

4.14.1. Vergleich der Körpermasse zwischen Isa und Ross	91
4.14.2. Vergleich der Körpermasse innerhalb der Rasse Isa	92
4.14.3. Vergleich der Körpermasse innerhalb der Rasse Ross	93
4.15. Ergebnisse zur Herzmasseentwicklung	94
4.15.1. Vergleich der Herzmasse zwischen Isa und Ross	94
4.15.2. Vergleich der Herzmasse innerhalb der Rasse Isa	95
4.15.3. Vergleich der Herzmasse innerhalb der Rasse Ross	96
4.16. Ergänzende Morphologie	97
4.16.1. Differenz der Körpermassen in g	97
4.16.2. Differenz der reziproken relativen Herzmassen	97
4.17. Wasserverluste	98
4.17.1. Vergleich der Wasserverluste im Ei zwischen Isa und Ross	98
4.17.2. Vergleich des Wasserverlustes im Ei innerhalb der Rasse Isa	99
4.17.3. Vergleich des Wasserverlustes im Ei innerhalb der Rasse Ross	100
4.18. Verlauf der CO ₂ - und O ₂ -Konzentration unter NV-Bedingungen	100
4.19. Zusammenfassung der Ergebnisse	101
4.19.1. Gasparameter und Metabolite	101
4.19.2. Elektrolyte, Morphologie und Wasserverlust	102
4.19.3. Signifikanzhäufigkeiten und Zusammenfassung	103
5. Diskussion	106
5.1. Umweltparameter	106
5.2. Eiatmung	107
5.3. Relative Luftfeuchtigkeit	108
5.4. Auswirkungen der Inkubationsbedingungen auf die Gasparameter (pH, pO_2 , pCO_2 , HCO_3^- , Hb und Hkt)	109

Inhaltsverzeichnis

5.5. Auswirkungen der Inkubationsbedingungen auf die Elektrolyte Na ⁺ , K ⁺ und Cl ⁻ 112
5.6. Einfluss der veränderten Inkubationsbedingungen auf Ca ²⁺ 115
5.7. Einfluss der veränderten Inkubationsbedingungen auf Glukose und Lactat 116
5.8. Auswirkungen der Inkubationsbedingungen auf Körper- und Herzmasse 117
6. Zusammenfassung 119
7. Summary 121
8. Literaturverzeichnis
9. Tabellenverzeichnis
10. Abbildungsverzeichnis
11. Danksagung
12. Selbstständigkeitserklärung142

II. Abkürzungsverzeichnis

ACTH	Adreno-Corticotrophes-Hormon
ADH	Antidiuretisches Hormon
ANP	Atriales natriuretisches Peptid
ATP	Adenosintriphosphat
Ca ²⁺	Kalzium-Ion
CAM	Chorioallantoismembran
Cl	Chlorid-Ion
D	Inkubationstag
EP	External pipping – Zeitpunkt, an dem der Embryo die äußere Eihaut und die Schale mit dem Schnabel durchstößt
EZR	Extrazellularraum
g	Gramm
H^+	Protonen
Hb	Hämoglobin
HCO ₃ -	Bikarbonat
IP	Internal pipping - Zeitpunkt, an dem der Embryo die innere Eischalenmembran zur Luftkammer durchstößt
IP ₅	Inositolpentaphosphat
K^+	Kalium-Ion
kPa	Kilopascal
mmol/l	Millimol pro Liter
N ₂	Stickstoff
Na ⁺	Natrium-Ion
NV	Nicht-Ventilation

Abkürzungsverzeichnis

Р	Phosphor
pCO ₂	Kohlendioxidpartialdruck
pO ₂	Sauerstoffpartialdruck
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
Т3	Thyroxin3
VC-Zellen	Villus Cavity Zellen

<u>1. Einleitung und Zielstellung</u>

Die Wechselwirkung von Umweltparametern, ganz speziell von CO_2 auf lebende Organismen wird in diesem Jahrhundert eine der wichtigsten Untersuchungsgegenstände in der Wissenschaft sein. Insbesondere sind pränatale und prägende Einflüsse in ihrer Komplexität noch weitgehend unbekannt.

Um zur Aufklärung dieser überaus komplexen Einflüsse und Wechselwirkungen beitragen zu können, ist es erforderlich sowohl die Umweltparameter (Stressoren) exakt zu bestimmen, als auch die biologischen Reaktionen des beeinflussten Organismus schrittweise und nachvollziehbar darzustellen.

Die Entwicklung von Vogelembryonen eignet sich besonders gut zum Studium des Einflusses von Stressoren. Der Vogelembryo ist nach dem Legen des Eies durch die Henne unabhängig vom maternalen Organismus. Die Antwort auf Stressoren stellt somit eine direkte Reaktion des Embryos dar. Ausserdem wird das Muttertier nicht durch tierexperimentelles Arbeiten geschädigt.

CO₂ als Stressor wurde bereits in einigen Studien mit Vogelembryonen verwendet. De Smit *et al.* (2008) messen erhöhten CO₂-Werten sogar positive Effekte bei. So soll der Schlupf früher eintreten und die Tiere können ein höheres Schlupfgewicht erreichen. Außerdem soll die Hyperkapnie, eingesetzt während der ersten zehn Inkubationstage, der Entstehung von Aszites bei aszites-sensitiven Mastbroilern entgegenwirken.

Bisher wurden im wissenschaftlichen Schrifttum die Einflüsse verschiedener, erhöhter CO_2 -Konzentration an unterschiedlichen Inkubationstagen beschrieben, ohne dass dabei detailliert auf die zugehörige Sauerstoffkonzentration und Luftfeuchtigkeit eingegangen wurde. Die Reaktion auf eine erhöhte CO_2 -Konzentration kann durch unterschiedliche Sauerstoffangebote und Luftfeuchten stark variiert werden (French, 2009).

Aus diesen Aussagen abgeleitet, wurden in den vorliegenden Untersuchungen zwei Broilerrassen eingesetzt, die sich in ihrer Ausprägung von Aszites unterscheiden. Die industrielle, aszites-sensitive Broilerrasse Ross wurde mit der Biobroilerrasse Isa, die nicht aszites-sensitiv ist, unter verschiedenen Inkubationsbedingungen verglichen.

Ziel dieser Arbeit ist die Untersuchung des Einflusses erhöhter CO₂-Konzentrationen in Kombination mit Normoxie und Nicht-Ventilation (NV) während der ersten zehn Inkubationstage auf die Gas-, Elektrolyt- und Metabolitzusammensetzung von Blut- und Amnionflüssigkeit der beiden Rassen. Außerdem werden morpholgische Parameter bestimmt, die ebenfalls durch die gewählten Inkubationsbedingungen beeinflusst werden können.

Weiterhin soll die Bedeutung des CO_2 für die Bildung und Zusammensetzung der Amnionflüssigkeit und des Blutes - und damit für die Entwicklung des Embryos - geklärt werden.

Einleitung und Zielstellung

Für die Brutindustrie sind daraus Vorschläge für Änderungen in der Standardisierung der Zusammensetzung der Inkubationsluft bei Hühnerembryonen abzuleiten.

2. Literaturübersicht

2.1. Zur Embryogenese

2.1.1. Kurzer Überblick zur Entwicklung des Hühnerembryos

Das Huhn (Gallus gallus f. domestica) gehört zu den nestflüchtenden Vogelarten. In 21 Tagen entwickelt sich der Embryo zum schlupffähigen Küken. Der Vogelembryo entwickelt sich unabhängig vom mütterlichen Organismus. Er befindet sich in einem Ei. Dort sind alle notwendigen Stoffe wie Wasser, Nährstoffe und Energie enthalten (Schnorr und Kressin, 2001). Entwicklungsinformationen werden mittels Mediatoren aus dem Eidotter übermittelt.

Die vorliegende Arbeit untersucht den Einfluss von CO₂ während der Inkubationstage D1 bis D10 im Vergleich zu Normalbedingungen und der Nicht-Ventilation (NV). Die Parameter werden bis zum D18 geprüft. Im Folgenden soll daher ein kurzer Überblick über die Entwicklung ausgewählter Organe des Vogelembryos bis zum Schlupf gegeben werden, um so die gewonnenen Messergebnisse zeitlich einordnen und interpretieren zu können.

In den ersten 24 Stunden reift der Embryonalstreifen und die Kopfanlage formt sich. In den folgenden 26 bis 53 Stunden entwickeln sich die Somiten und die Nierentubuli. Bereits nach 33 Stunden beginnt die Hämoglobinsynthese. Außerdem formen sich u.a. die Schilddrüse und die Pronephros. Nach 48 Stunden entwickelt sich das Zirkulationssystem und die Amnionfaltung beginnt. Zur gleichen Zeit beginnen sich auch erste Teile der Allantois auszubilden. Nach ca. 69 Stunden ist die Amnionfaltung beendet und das Amnion ist geschlossen. Die erste kleine Allantoisbeule ist vorhanden. Nach dreieinhalb Tagen differenzieren sich die Nebennieren, man sieht die ersten Amnionkontraktionen und die Erythropoese im Dottersack beginnt. Nach viereinhalb Tagen fusionieren das Chorion und die Allantois. Die Metanephros formen sich, nachdem sich die Pronephros zurückgebildet haben. Nach fünf Tagen gibt es die ersten definitiven Erythrozyten, die adultes Hämoglobin produzieren und ein vierkammriges Herz. Auch die Corticosteroidsynthese startet. Nach sieben Tagen beginnt die ACTH-Sekretion. Ab dem D12 stoppt die Bildung der Amnionflüssigkeit und Kalzium wird von der Schale absorbiert. Etwa um den D13 reißt die seroamniotische Platte. Am D16 sind erste respiratorische Bewegungen zu sehen. Bereits am D18 liegt der Schnabel unter dem rechten Flügel. In den letzten Tagen bis zum Schlupf wird die Allantoisflüssigkeit absorbiert und der Dottersack wird in den Körper zurückgezogen. Der Vogel beginnt mit der Lungenatmung und die Chorioallantoiszirkulation verschwindet. Am Ende wird das Ei vom Schnabel durchstoßen. Mit der Lungenatmung schließen sich der Ductus arteriosus und die interatrialen Foramina. Das Küken schlüpft letztendlich nach 21 Tagen (Bellairs und Osmond, 2005).

2.1.2. Die Entwicklung der Embryonalhüllen

Die Entwicklung des Dottersacks

Der Embryo ist von einer inneren und äußeren Eischalenmembran und von weiteren embryonalen Hüllen umgeben. Es gibt vier extraembryonale Hüllen: die Dottersackmembran, das Amnion, das Chorion und die Allantois (Patten, 1957).

Als erste Keimhülle entsteht beim Vogelembryo die Dottersackmembran. Diese epitheliale Hülle entsteht aus Entoblastzellen, die sich dann sekundär durch Proliferation des viszeralen Blattes des lateralen Mesoderms zur Dottersackmembran entwickelt. Aus dieser Hülle entwickeln sich später, in Verbindung mit dem parietalen Blatt des lateralen Mesoderms, die äußeren Keimhüllen, das Chorion und das Amnion (Bragulla, 2004).

Im Gegensatz zum Säugetier ist beim Vogel der Dottersack groß angelegt und dient der Versorgung des Vogelembryos mit Nährstoffen.

Der Dottersack bildet sich durch Umwachsung des Dotters (Schnorr und Kessin, 2001). Er wird von der *Area opaca* (Abbildung 1) gebildet und besteht anfangs aus dünnem epithelialem Ectoderm und großen entodermalen Zellen, die unter dem Ectoderm liegen. Die entodermalen Zellen enthalten Dotterkügelchen. Nach zwölf Stunden der Bebrütung ist der Randbereich der *Area opaca* verbunden mit der Vitellinmembran. Nachdem die Vitellinmembran ihre Aufgabe als Substratspender erledigt hat, löst sie sich am D3 auf (Bellairs und Osmond, 2005).

Am D2 kolonisieren mesodermale Zellen die *Area opaca* und es bilden sich Blutinseln. Es bildet sich sie *Area vasculosa* (der proximale Part der *Area opaca* nach Vaskularisierung). Der distale Part der *Area opaca* bleibt frei von Mesoderm und Gefäßen. Dieser Bereich wird *Area vitellina* genannt (Bellairs und Osmond, 2005). Vor der Vaskularisierung wird der Embryo durch intrazelluläre Dotterkügelchen ernährt, die am D2 verbraucht sind.

Die Area opaca ist die periphere Region des Blastoderms, welche die Area pellucida umschließt. Die Area opaca enthält viele Dotterkügelchen und erscheint opal unter Licht. Die



Area Pellucida ist der zentrale Teil des Blastoderms und enthält keine Dotterkügelchen. Sie ist durchscheinend. Das Zentrum (Abbildung 1) wird der Embryo. Die peripheren Zellen (*Area pellucida*) umwachsen den Dotter und bilden die extraembryonalen Membranen. Wenn das Ei gelegt ist, hat die Furchung bereits stattgefunden und das Blastoderm liegt als Keimscheibe auf dem Dotter. Aus dem Blastoderm gehen das Entoderm und das Ectoderm hervor (Bellairs und Osmond, 2005).

Abbildung 1: Zonengliederung der Hühnerkeimscheibe (Waddington, 1975)

Die Entwicklung von Amnion und Chorion

Das Amnion und das Chorion sind aufgrund ihrer Herkunft eng miteinander verwandt. Sie entwickeln sich gleichzeitig (Abbildung 2). Die Entwicklung des Amnions ist bereits am D3 abgeschlossen (Freeman und Vince, 1974; Romanoff, 1960a).

Das Amnion entwickelt sich beim Vogel als Faltamnion (Schnorr und Kressin, 2001). Anfangs kommt es am Kopfbereich des Vogelembryos zur Zellproliferation und es bildet sich eine Verdickung, das Ectamnion oder die Grenzfalte. Aus diesem Ectamnion bilden sich vier Amnionfalten: eine kraniale, zwei laterale und eine kaudale Falte. Nach Vereinigung der kranialen Amnionfalte mit den beiden lateralen Amnionfalten kommt es zur Einwanderung von avaskulärem Mesoderm (Romanoff, 1960a). Die Amnionfalte besteht nun aus vier Schichten: einer inneren und einer äußeren Schicht Ektoderm und zwei mittleren Schichten aus dem parietalen Blatt des Mesoderm (Somatopleura). Das Amnion wird schließlich gebildet durch eine innere Schicht Ektoderm und eine äußere Schicht Mesoderm. Beim Chorion hingegen wird die innere Schicht das Mesoderm und die äußere Schicht das Ektoderm (Abbildung 2). Durch Vereinigung der Amnionfalten entsteht über dem Embryo der Amnionnabel und die seroamniotische Verbindung (Overton, 1989; Romanoff, 1960a). Die seroamniotische Verbindung stellt eine Verbindung zwischen Eiweiß und Amnionflüssigkeit her und erlaubt den Übertritt von Eiweiß in die Amnionflüssigkeit (Baggot, 2009).

Die Abbildung 2 zeigt die gemeinsame Entstehung von Chorion und Amnion. Das Ektoderm ist blau dargestellt und das Mesoderm rot. Das Amnion besteht innen aus Ektoderm und außen aus Mesoderm. Das Chorion hat durch die Faltung bedingt außen das Ektoderm und



innen das Mesoderm. Grün dargestellt ist das Entoderm, aus dem sich Dotter und Allantois entwickeln. Auch das Entoderm ist von Mesoderm bedeckt.

Durch die Fusion von Allantois und Chorion vereinigen sich die zwei Blätter, mesodermalen in denen sich die Blutgefäße für den Gasaustausch über die Eischale entwickeln.

Abbildung 2: Entstehung Amnion und Chorion (Schnorr und Kressin, 2001)

Die seroamniotische Verbindung, die aus Ektoderm besteht, beginnt sich gleich nach Bildung wieder aufzulösen. Das Ektoderm ist bis D6 verschwunden. Sie wird bis D10 durch das

Mesoderm ersetzt. Da diese sekundäre mesodermale seroamniotische Verbindung breit ist, wird sie nun seroamniotische Platte genannt. Ab dem D11 entstehen Perforationen in der seroamniotischen Platte. Am D12 rupturiert die Platte und das Eiweiß vermischt sich mit der Amnionflüssigkeit (Baggot, 2009; Romanoff, 1960a).

Am D3 wird die Amnionflüssigkeit gebildet, kurz nach dem Schluss der Amnionfalte. Der Ort der Bildung ist noch nicht genau bekannt. Sehr wahrscheinlich wird die Amnionflüssigkeit extraembryonal gebildet, da sie auch nach Entfernung des Embryo vorhanden ist (Faber *et al.*, 1973). Am D14 sind bis zu 4 ml Amnionflüssigkeit vorhanden. Durch die Ingestion der Amnionflüssigkeit durch den Vogelembryo sind am D18 nur noch 0,5 ml nachweisbar (Abramovici, 1966; Romanoff 1960a). Für die Bildung der Flüssigkeit ist das Chloridion wichtig. Durch den erhöhten Chloridgehalt in der Amnionflüssigkeit kommt es zum Wassereinstrom (Baggot, 2009; Faber *et al.*, 1973).

Zwischen Amnion und Chorion entsteht das extraembryonale Coelom (Abbildung 2; Overton, 1989).

Die Entwicklung der Allantois

Die Allantois entwickelt sich aus dem Entoderm als Diverticulum des hinteren Darmabschnittes. Die Entwicklung findet zwischen dem 20. und 28. Somitenstadium statt, was dem D3 entspricht. Der Ursprung der Allantois ist intraembyonal, und er verbleibt dort während der gesamten Entwicklung. Der distale Anteil wächst über den Nabel hinaus ins Exocoelom. Mit der Entwicklung der Nieren wächst auch die Allantoisblase sehr schnell, so dass sie sich zwischen Chorion und Amnion ausbreitet. Die Allantois umschließt letztendlich das Amnion und den Dottersack. Ab dem D4 bis D5 vereinigt sich die Allantoismembran mit den anderen extraembryonalen Hüllen, insbesondere mit dem Chorion (Romanoff, 1960a). Es verbindet sich die mesodermale Schicht der Allantoismembran, die Splanchnopleura, mit der mesodermalen Schicht des Chorion, die Somatopleura. Somit entsteht ein doppeltes Mesoderm in der Chorioallantoismembran, in der sich ein verzweigtes Kapillarnetz bildet (Patten, 1957).

2.1.3. Die Chorioallantoismembran (CAM)

Physiologische Bedeutung der CAM

Die CAM dient dem Hühnerembryo vor allem als Gasaustauschfläche (Bellairs und Osmond, 2005), ähnlich der Säugerplazenta oder den adulten Lungen (Van Golde *et al.*, 1996).

Außerdem ist die CAM verantwortlich für den Kalziumtransport von der Schale zum Embryo (Bellairs und Osmond, 2005; Freeman und Vince, 1974). In den ersten zehn Entwicklungstagen wird die Kalziumversorgung über den Dottersack gewährleistet. Während der letzten elf Tage steigt der Kalziumbedarf durch die Ossifizierung der Knochen stark an. Der Kalziumbedarf wird dann durch die Schale gedeckt. Die CAM hat Kontakt zur Schale, die bis zu 50 % ihres Gewichtes verliert.

Die CAM puffert die mit dem Alter entstehende respiratorische Azidose über entsprechende Zellen, die über die Carboanhydrase verfügen (Gabriela Gabrielli *et al.*, 2000; Narbaitz *et al.*, 1994).

Die CAM ist Sammelbecken für stickstoffhaltige Endabbauprodukte, welche von den embryonalen Nieren produziert werden (Bellairs und Osmond, 2005).

Entstehung der CAM

Die CAM entsteht durch Fusion von Chorion und Allantois.

Die Allantois bildet sich aus dem Darm des Embryos. Somit besteht die Allantois aus Entoderm, bedeckt mit Mesoderm. Bereits am D4 ist die Bildung vollendet und es liegt eine ballonartige Struktur außerhalb des Körpers vor. Die Fusion mit dem Chorion beginnt ab dem D6 bis D7. Das Chorion ist in Kontakt mit der inneren Schalenhaut. Der Allantoissack nimmt immer mehr an Größe zu bis er mit dem Chorion fusioniert.

Ab dem D7 bis D8 beginnt die Verschmelzung der CAM mit dem Amnion. Dadurch sprießen Blutgefäße ins Amnion ein. Ab dem D14 ist eine Trennung der CAM vom Amnion unmöglich (Ten Busch *et al.*, 1997a; Romanoff, 1960a).

Die CAM besteht aus drei verschiedenen Schichten (Abbildung 2), dem Ektoderm (vom Chorion), dem Mesoderm (vom Chorion und von der Allantois) und dem Entoderm (von der Allantois). Sie ist sehr gut vaskularisiert. Die Gefäße bilden sich im Mesoderm und werden von den paarigen Allantois- (oder Nabel-) arterien und Venen versorgt. Am D16 bedeckt die CAM fast den gesamten Dottersack (Bellairs und Osmond, 2005; Fuchs und Lindenbaum, 1988; Romanoff, 1960b).

Zu ausgewählten Zellen der CAM

Der Hühnerembryo, eingeschlossen in seiner Schale, muss die physiologisch entstehende Azidose puffern und Kalzium für sein Wachstum aus der Schale lösen.

Die Villus Cavity Zellen (VC-Zellen) liegen im Chorionepithel mit nahem Kontakt zur Schale und zu Kapillaren. Sie besitzen apical Microvilli und Microplicae für die Endozytose. Apical befindet sich die H⁺-ATPase, die Protonen Richtung Schale sekretiert. Die VC-Zellen sind reich an Carboanhydrase. Die Carboanhydrase bildet aus H_2O und CO_2 Kohlensäure $(H_2CO_3^-)$, die dann zu Protonen (H⁺) und Bikarbonat (HCO_3^-) zerfällt. Die Protonen werden durch die H⁺-ATPase apikal aus der Zelle geschafft und das Bikarbonat als Austausch gegen Cl^- (Anionenaustauscher) basolateral ins Blut abgegeben. Die Protonen werden durch Kalziumkarbonat aus der Schale gepuffert. So werden Kalzium und Bikarbonat aus der Schale herausgelöst und vom Embryo zur Pufferung der respiratorischen Azidose bzw. zur Knochenmineralisierung verwendet. Dieser Prozess wird durch Vitamin D3 reguliert (Narbaitz *et al.*, 1994). Die VC-Zellen sind reich an Mitochondrien, da die H⁺-ATPase sehr viel Energie benötigt (Madsen *et al.*, 1988; Madsen und Tisher, 1985).

Im endodermalen, allantoiden Epithel liegen mitochondrienreiche Zellen (MR-Zellen). Die MR Zellen sezernieren über die H⁺-ATPase Protonen in die Allantois und sorgen für eine fortschreitende Ansäuerung des embryonalen Urins (Narbaitz *et al.*, 1994).

Die Mikrozirkulation der CAM

Nach Fuchs und Lindenbaum (1988) besteht die äußerste Ebene der CAM aus Epithelzellen, die mittlere, mesodermale Ebene besteht aus mesenchymalem Bindegewebe. Die innerste Ebene geht aus allantoidem Entoderm hervor und besteht aus Epithelzellen.

Die oberflächliche äußerste Ebene besteht aus einem feinen kapillären Netzwerk. Die innerste, tiefe Ebene führt größere Gefäße bis zur fünften und sechsten Ordnung. In der mittleren Ebene liegen die prä- und postkapillären Gefäße, welche in schräger oder senkrechter Lage zum oberflächlichen kapillären Netzwerk aufsteigen. Sie sind für die arterielle Versorgung sowie die venöse Drainage desselben verantwortlich.

Aus den allantoiden Blutgefäßen entsteht das kapilläre Netzwerk. Es breitet sich über das Mesoderm bis hin zum Epithel des Chorion aus. Das kapilläre Netz liegt der inneren Schalenhaut an.

Die präkapillären Gefäße durchqueren das Mesoderm und verbinden die tiefer gelegenen größeren Gefäße mit den oberflächlichen Kapillaren im ektodermalen Chorion. Die oberflächennahe Schicht ist in die CAM eingebettet, während die tiefer liegenden größeren Gefäße frei beweglich sind (Fuchs und Lindenbaum, 1988).

Die Mikrozirkulation in der CAM ist ähnlich der beim Säugerfetus. Das Schlagvolumen des Herzens im Hühnerembryo beträgt 500 ml/kg/min, wovon 50 % in den Chorioallantois-Blutfluß gehen. Dieser Wert ist vergleichbar mit der Auswurffraktionen beim Säugerfetus (Dawes *et al.*, 1954). Interessant ist, daß die Säugerplazenta das extraembryonale Gefäßsystem der CAM nicht innerviert (Kunzi-Rapp *et al.*, 1999).

Van Golde *et al.* (1996) studierten den Chorioallantois-Blutfluss und die Herzfrequenz. Der Blutfluss stieg in der CAM von D9 mit $0,35 \pm 0,18$ ml/min auf $3,13 \pm 1,49$ ml/min an D16 an. Dieser Anstieg korreliert mit der Körpermassenzunahme und der steigenden metabolischen Rate.

2.1.4. Die Entwicklung des Blutgefäßsystems

Vaskulogenese und Angiogenese

Der Kreislaufapparat besteht aus zwei voneinander unabhängigen Teilen, dem extra- und dem intraembryonalen Gefäßsystem (PLENDL *et al.*, 2002). Das extraembryonale Gefäßsystem entwickelt sich durch Vaskulogenese. Es findet eine Neubildung von Blutgefäßen aus den

Blutinseln in der mesodermalen Schicht der Dottersackwand statt. Aus der Splanchnopleura des Mesoderms werden Hämoblasten gebildet. Diese Hämoblasten differenzieren sich weiter zu Hämozytoblasten und Hämangioblasten. Die Hämangioblasten bilden einen einschichtigen Epithelzellverband und das spätere Gefäßendothel. Die Hämozytoblasten sind die Vorläufer der Blutzellen. Es entstehen Blutinseln, die zusammenfließen und sich verbinden (Kutryk und Stewart, 2003). So entstehen Kapillaren und schließlich die Dottersackgefäße (*Aa. et Vv. Vitellinnae sive omphalomesentericae*).

Das intraembryonale Gefäßsystem entsteht anfangs ebenfalls durch Vaskulogenese aus dem Mesoderm.

Die Angiogenese ist das Sprossen von Kapillaren aus bereits bestehenden, durch Vaskulogenese entstandenen Blutgefäßen (Risau, 1997). Mittels dieser Gefäßsprossung entsteht die Kommunikation des extraembryonalen mit dem intraembryonalen Gefäßsystem (PLENDL *et al.*, 2002).

Beim Hühnerembryo sind drei Kreisläufe zu unterscheiden. Zwei extraembryonale und ein embryonaler Kreislauf. Extraembryonal sind der Chorioallantoiskreislauf und der Dottersackkreislauf zu nennen (Patten, 1953). Die ersten Blutgefäße, die sich bilden sind die extraembryonalen Gefäße. Zuerst werden Blutinseln in der *Area vasculosa* der Dottersackmembran sichtbar. Sie entwickeln sich aus Zellen im viszeralen Mesoderm (Bellairs und Osmond, 2005).

Chorioallantoiskreislauf

Die Nabelarterien bringen CO_2 und Stoffwechselendprodukte in die Allantois und nach Verschmelzung von Allantois und Chorion in die CAM. Die Nabelvenen versorgen den Embryo mit oxygeniertem Blut. Es gibt zwei Chorioallantoisarterien und nur eine Chorioallantoisvene (DeFouw, 1988). Die Arterien bringen das desoxygenierte Blut in die CAM, wo der Gasaustausch durch die Schale geschieht. Die Vene bringt das oxygenierte Blut zum Embryo. Diese Gefäße sind äquivalent zu den Nabelgefäßen beim Säuger (Van Golde *et al.*, 1996).

Dottersackkreislauf

Im viszeralen Mesoderm der Dottersackmembran treten frühzeitig Blutinseln und dann Blutgefäße auf. Diese Blutgefäße finden Anschluß an das intraembryonale System, und der gut entwickelte Dottersackkreislauf entsteht an D5. Dieser bildet am Umwachsungsrand der dreiblättrigen Keimhaut ein Randgefäß, den *Sinus terminalis* (Abbildung 3). Zwei Dottervenen treten durch den Darmnabel in den Embryo ein und verbinden sich mit dem *Sinus venosus* des Herzschlauches. Zweige der *Aorta descendens*, die sich zur Dotterarterie vereinen, laufen durch den Nabel zurück zum Kapillargebiet des Dottersackes (Schnorr und Kressin, 2001). Der Embryo erhält seine Nährstoffe aus dem Eidotter über die Dottervene, während das Blut über die Dotterarterie wieder zurück in das Eidotter fließt (Schüller, 2005).

Literaturübersicht



Die Kapillaren, welche sich nah am Körper bilden, werden relativ groß und bilden die linke und rechte Arteria vitellina. Blut fließt von der Aorta in die rechte und linke Dotterarterie und dann in die Area vasculosa. Die Kapillaren der Area vasculosa verzweigen sich und reichen bis zum Entoderm des Dottersackes. Von den Kapillaren sammelt sich das Blut in der anterioren und posterioren Vena vitellina, entweder direkt oder über den Sinus terminalis. Von diesen Venen fließt das Blut zurück zum Herzen (Bellairs und Osmond, 2005).

Abbildung 3: Dottersackkreislauf des Huhnes, Ventralansicht, 100 Stunden bebrütet (Zietzschmann und Krölling, 1955)

Embryonaler Kreislauf und Anforderungen an die Herzfrequenz

Der embryonale Kreislauf zeigt zwei Besonderheiten (Abbildung 4). Der *Ductus arteriosus* verbindet die Pulmonalarterien mit der Aorta, und somit umgehen 80 % des Blutes die Lunge. Das ist sinnvoll, denn die Lunge funktioniert erst zum Zeitpunkt des IP als Gasaustauschorgan.

Weiterhin existiert ein Shunt zwischen dem linken und rechten Atrium. Von der CAM fließt oxygeniertes Blut von der Nabelvene über die hintere Hohlvene zum rechten Atrium. Die hintere Hohlvene liefert außerdem deoxygeniertes Blut vom hinteren Körperabschnitt und nährstoffreiches Blut aus der Dottervene. Die hintere Hohlvene mündet in die interarteriellen Foramina und die vordere Hohlvene führt in das rechte Atrium. Somit fließt der größte Teil des oxygenierten Blutes über die hintere Hohlvene in den linken Ventrikel und das deoxygenierte Blut aus dem vorderen Körperabschnitt in den rechten Ventrikel.

Nährstoffreiches und oxygeniertes Blut aus dem linken Ventrikel versorgt den embryonalen Körper. Sauerstoffarmes Blut aus dem rechten Ventrikel führt über die Pulmonalarterien zu den Lungen bzw. umgeht die Lunge über den *Ductus arteriosus*.

Anschließend fließt das deoxygenierte Blut über die Nabelarterie wieder zur CAM, wo der Gasaustausch stattfindet. Das nährstoffarme Blut fließt über die *Arteriae vitellinae* zur *Area vasculosa* im Dottersack (Tazawa und Hou, 1997).



Van Golde *et al.* (1996) untersuchten die Herzfrequenzen von Hühnerembryonen am D9 und D16. Es wurde eine Steigerung der Herzfrequenz in Korrelation mit dem Alter des Embryos festgestellt. Am D16 wurden 288 ± 14 Herzschläge pro Minute gemessen. Tazawa *et al.* (1977) fanden ähnliche Herzfrequenzen von 278 Schlägen pro Minute.

Abbildung 4: embryonaler Kreislauf mit intra- und extrakardialen Shunts (Tazawa und Takaneka, 1985)

Eine Erklärung für die Steigerung der Herzfrequenz ist die schnelle Entwicklung des Embryo, der erhöhte Metabolismus und die rapide Körpermassenzunahme (Rahn *et al.*, 1974). Das Schlagvolumen des Herzens wird hauptsächlich über eine Steigerung der Herzfrequenz erhöht. Mit Anstieg der Herzfrequenz verkürzt sich jedoch die Diastole, in der das Herz durch die Koronararterien durchblutet wird (Smith *et al.*, 2000). Somit wird das Herz schon in der Embryonalphase sehr stark belastet, was zu Gewebeschäden führen kann. Zum Teil wird das Schlagvolumen auch über den Frank-Starling-Mechanismus erhöht. Vor dem D17 erfolgt keine ausreichende vagale Kontrolle. Die sympathischen und parasympathischen Feedback-Mechanismen sind erst an D17 in Funktion (Higgens und Pappano, 1981).

2.2. Funktionen des Amnions

2.2.1. Membranen als Barrieren: Blut-Amnion-Barriere

Die Eischale ist eine Barriere, die jedoch die Diffusion von Sauerstoff in das Ei und von CO₂ sowie Wasserdampf aus dem Ei über die Poren ermöglicht. Für die CO₂-Abgabe bildet die Schale zum größten Teil eine Barriere und für die Wasserabgabe die einzige Diffusionsbarriere. Für die Sauerstoffdiffusion stellt vorrangig die CAM den limitierenden Faktor dar (Rahn *et al.*, 1979).

Im Hühnerei existieren verschiedene, voneinander abgegrenzte Flüssigkeitskompartimente. Blut ist als embryonales Kompartiment zu betrachten. Amnionflüssigkeit, Allantoisflüssigkeit und subembryonale Flüssigkeit gehören zum extraembyonalen Kompartiment (Baggot, 2009).

Zur Aufrechterhaltung der verschiedenen Flüssigkeitskompartimente bestehen drei Barrieren: die Blut-Amnion-Barriere, die Blut-Allantois-Barriere und die Allantois-Amnion-Barriere. Sie trennen die Blutflüssigkeit, die Amnionflüssigkeit und die Allantoisflüssigkeit

Literaturübersicht

voneinander (Schmidek *et al.*, 2001; Hohlweg *et al.*, 1999; Piechotta *et al.*, 1998; Ten Busch *et al.*, 1997a; Tomaschek, 1997; Abramovici, 1966). Das Vorhandensein dieser Barrieren wurde oft durch die unterschiedliche substantielle Zusammensetzung von Plasma, Amnionund Allantoisflüssigkeit nachgewiesen (Feske, 2009; Tönhardt *et al.*, 1995; Gill *et al.*, 1994; Faber *et al.*, 1973). Die Ionenkonzentrationen müssen durch die Barrieren erhalten bleiben, um Belastungen des Stoffwechsels bis hin zu Vergiftungen zu vermeiden (Ten Busch *et al.*, 1997a).

Die Blut-Amnion-Barriere setzt sich zusammen aus dem Kapillarendothel, seiner Basallamina und dem Amnionepithel mit seiner Basalmembran (siehe Abbildung 5).

Das Amnion stellt ein abgegrenztes und geschütztes Kompartiment dar und schafft so ideale Umweltbedingungen für den sich entwickelnden Vogelembryo (Ten Busch *et al.*, 1997a).

Der Vogelembryo schwimmt in der Amnionflüssigkeit. Sie verhindert Verwachsungen der Amnionmembran mit dem Embryo (Bautzmann und Schröder, 1953). Die Amnionflüssigkeit vermindert die Einwirkung von Stößen bzw. Erschütterungen auf den Embryo. Weiterhin dient sie als Isolationsschicht und schützt den Vogelembryo vor Temperaturschwankungen (Romanoff, 1960a).

Die Zusammensetzung der Amnionflüssigkeit muss streng reguliert sein, weil die Flüssigkeit direkten Kontakt zur Oberfläche des Vogelembryos hat.

Die Blut-Amnion-Barriere bewirkt das hyporegulierte Milieu in der Amnionflüssigkeit. So können viele Aminometabolite und Glukose nicht aus dem Plasma in die Amnionflüssigkeit übertreten. Ten Busch *et al.* (1997a) fanden heraus, dass GABA, Homocarnosin etc., bestimmte Aminosäuren und Glukose zwar in großer Menge im Plasma enthalten sind, jedoch nicht in der Amnionflüssigkeit. Piechotta *et al.* (1998) zeigten, dass die Blut-Amnion-Barriere kein Tryptophan vom Plasma zur Amnionflüssigkeit durchtreten lässt. Die Amnionflüssigkeit ist frei von Tryptophan.

Das Amnion dient als Flüssigkeitsspeicher für den Embryo (Baggot, 2009; Simkiss, 1980). Außerdem ernährt sich der Embryo ab dem D12 von der Amnionflüssigkeit. Am D11 reißt die seroamniotische Platte und es kommt zum Einstrom von Eiweiß in das Amnion. Der Embryo schluckt Amnionflüssigkeit und verdaut sie (Freeman und Vince, 1974; Romanoff, 1960a).

Epple *et al.* (1992) berichteten von unterschiedlichen Konzentrationen der Katecholamine (Dopamin, Noradrenalin und Adrenalin) in den drei Kompartimenten (Amnion, Blut und Allantois). Dabei waren die Katecholaminkonzentrationen im Amnion am niedrigsten (Gill *et al.*, 1994). Dies beweist die effektive amniotische Barriere und eine Hyporegulation in Bezug auf Katecholamine. Faber *et al.* (1973) zeigten, dass der Chloridgehalt in der Amnionflüssigkeit signifikant über dem des Blutplasmas liegt.



Abbildung 5: Die Blut-Amnion-Barriere nach Feske et al. (2007)

Das Amnion ist nicht innerviert. Epple *et al.* (1997) stellten die These einer rein endokrinen Regulation der Barrieren von Amnion und Allantois auf. Nach Ten Busch *et al.* (1997b) ist die Amnionflüssigkeit dem Plasma und der Allantoisflüssigkeit gegenüber hyporeguliert und hypoosmotisch.

Boutilier et al. (1977) zeigten, dass der pH-Wert der Amnionflüssigkeit während der gesamten Inkubation konstant ist, obwohl der CO₂-Partialdruck während der Entwicklung steigt. Die respiratorische Azidose wird durch einen Anstieg ständig der Bikarbonatkonzentration in der Amnionflüssigkeit kompensiert. Sie berichteten, dass die Bikarbonatkonzentration in dem Maße ansteigt, wie sie in der Allantois abfällt. Das Bikarbonat wird entweder direkt über die Allantois-Amnion-Barriere oder über die Blut-Amnion-Barriere transportiert. Das zeigt den Status des Amnion als abgegrenztes, geschütztes Kompartiment.

2.2.2. Transportmechanismen im Amnionepithel und Kapillarendothel

Das Amnion besteht innen aus dem Ektoderm und außen aus dem Mesoderm. Das Ektoderm ist ein einschichtiges Plattenepithel (Liebich, 1999). Das mesodermale Blatt besteht aus glatten Muskelzellen (Romanoff, 1960a). Ab D7 bis D8 beginnt die Verschmelzung der CAM mit dem Amnion. Dadurch sprießen Blutgefäße ins Amnion ein (Ten Busch *et al.*, 1997a). Blut und Amnion sind durch die Blut-Amnion-Barriere voneinander getrennt. Die Barriere setzt sich aus dem Kapillarendothel mit seiner Basallamina und dem Amnionepithel mit seiner Basalmembran zusammen.

Stofftransport über das Kapillarendothel: CO₂ und O₂ sind gut lipidlöslich und diffundieren problemlos über das Endothel ins Gewebe. Austauschvorgänge durch die Gefäßwand geschehen überwiegend passiv. Wasser und gelöste Stoffe werden durch Diffusion

transportiert und folgen dem Fick´schen Diffusionsgesetz. Die Permeabilität der Kapillarmembran für Natrium und Chlorid ist sehr gut. Sie nimmt über Glukose bis hin zum Eiweiß immer mehr ab. Dies ist der steigenden Molekülgröße geschuldet. Die Filtration von Wasser wird von hydrostatischen, osmotischen und kolloidosmotischen Druckdifferenzen bestimmt.

Austauschvorgänge über ein Epithel erfolgen überwiegend aktiv, d.h. unter Verbrauch von ATP. Gase, wie O₂ und CO₂ können auch durch die Lipidschicht der Basalmembran diffundieren. Sonst gibt es Ionenkanäle, Carrier und Pumpen. Ionenkanäle erlauben den transmembranalen Transport von Ionen, wobei eine elektrische Potenzialdifferenz oder eine Konzentrationsdifferenz vorliegen muss. Carrier transportieren Substrate unter Ausnutzung des elektrochemischen Gradienten von einer Membranseite auf die andere. Eine Vielzahl von Carriern funktioniert, da sie den Gradienten für Natrium nutzen, um ein anderes Substrat in die Zelle hinein oder aus der Zelle herauszutransportieren. Carriersysteme funktionieren dabei sekundär aktiv weil der Natriumgradient primär unter ATP-Verbrauch erzeugt wird und sekundär ein Stoff unter Ausnutzung des Gradienten bergauf transportiert wird.

Ionenpumpen wie die Na⁺/K⁺-Pumpe verbrauchen direkt ATP. Hier sind weiterhin die H⁺-ATPasen, die H⁺/K⁺-ATPasen und die Ca²⁺-ATPasen zu nennen (Klinke und Silbernagel, 2001).

Blasius und Tönhardt (2006) haben versucht die Amnionmembran in der Ussing-Kammer elektrophysiologisch zu charakterisieren. Es bleibt aber offen, welche der o.g. aktiven Transportmechanismen in der Amnionmembran vorherrschen. Das humane Amnionepithel hingegen ist ein leckes Epithel mit breiten Interzellularräumen, dass den parazellulären Ionentransport zulässt (Bautzmann und Schmidt, 1998).

2.3. Elektrolyte und Wasser im Ei

2.3.1. Elektrolyte

Elektrolyte, z.B. Na⁺, K⁺ und Ca²⁺, sind sowohl intrazellulär als auch in den embryonalen Flüssigkeiten in bestimmten Konzentrationen enthalten. Diese werden durch Ionenpumpen in den Zellmembranen kontrolliert (Simkiss, 1991). Natrium und Kalium werden zur Bildung eines elektrochemischen und osmotischen Gradienten benötigt. Dieser ist wichtig für Wasserbewegungen über Membranen hinaus (Simkiss, 1980). Ca²⁺ und P sind wichtig für die Ossifikation des embryonalen Skelettes und Ca²⁺ wird darüber hinaus für die intrazelluläre Signaltransduktion benötigt. Imbalancen im Elektrolythaushalt führen zu einem reduzierten Wachstum, Abnormalitäten oder zum Tod (Richards und Steele, 1987a).

Die für die Entwicklung des Embryos benötigten Elektrolyte werden von der Henne ins Ei mitgegeben. Durch die extraembryonalen Membranen kann der Embryo die für seine Entwicklung benötigten Mengen an Elektrolyten steuern und eine Homöostase erreichen (Richards und Packard, 1996). Die meisten Elektrolyte befinden sich im Dotter, Kalzium dagegen zu 90 % in der Eischale. Die enthaltenen Mengen an Elektrolyten im Ei hängen von der Fütterung der Henne ab. Die Henne gibt die Elektrolyte über das Ovar ins Dotter ab bzw. über den Oviduct ins Eiweiß und die Schale. Dort erfolgt auch die Schalenbildung.

Dottersack und die CAM sind in direktem Kontakt mit Dotter, Eiweiß und Eischale und für die Mobilisation und den Transfer der Elektrolyte innerhalb des Eis zuständig. Die Amnionmembran hat diese Funktion nicht inne (Romanoff, 1967). Dennoch wurde die Amnionflüssigkeit schon als Quelle für Elektrolyte diskutiert. Die Amnionflüssigkeit hat in der zweiten Inkubationshälfte, nach der Vermischung mit Eiweiß, eine maximale Elektrolytkonzentration erreicht. Der Embryo nimmt über Schluckbewegungen Flüssigkeit auf.

2.3.2. Wasser

Das Ei besteht, wie das schlüpfende Küken, zu 73 % aus Wasser. Sowohl Eiwasser als auch Stoffwechselwasser diffundieren durch die Schale nach außen. Bei hoher Luftfeuchtigkeit verringert sich durch den äußeren hohen Wasserdampfdruck die Eischalendurchlässigkeit. Wasserabgabe und der respiratorische Gasaustausch werden behindert.

Zwischen den Kompartimenten des Eies kommt es dadurch zu unphysiologischen Konzentrationen an Elektrolyten (Baggot, 2009). Bei ungenügender Evaporation des Wassers folgen Störungen in der Homöostase des Stoffwechsels und damit auch Entwicklungsstörungen.

Der Embryo ist vom Wasser, welches hauptsächlich im Eiweiß enthalten ist, durch die extraembryonalen Membranen getrennt. Während der Inkubation verliert das Eiweiß 28,6 g Wasser und das Dotter 7,2 g. An D10 sind bereits 76 % des Wassers vom Eiweiß in die extraembryonalen Flüssigkeiten abgegeben worden.

Das Wasser wird in der ersten Hälfte der Inkubation für die Bildung der extraembryonalen Flüssigkeiten verwendet. Das Wasser gelangt also nicht direkt vom Eiweiß zum Embryo (Baggot, 2009). Anfangs befinden sich 75 % bis 78 % des Eiwassers im Eiweiß. Die Tendenz ist fallend, da Wasser in andere Kompartimente übertritt und auch verdunstet. Das Wasser aus dem Eiweiß folgt durch Osmose zunächst den Natriumionen aus dem Dotter. Dadurch wird subembryonale Flüssigkeit gebildet. Im zweiten Drittel der Inkubation fließt das Wasser in zwei weitere Kompartimente: den Allantoissack (18 % bis 20 %) und den Amnionsack (10 % bis 20 %). Nach der Hälfte der Inkubation hält der Embryo 13 % bis 14 % Wasser im Ei.

In der zweiten Hälfte der Inkubation kommt es im Embryo zu einer weiteren Erhöhung des Wassergehaltes zu Lasten der anderen Kompartimente. Vom embryonalen Gewebe werden 24,7 g Wasser aufgenommen.

Die Wasserbewegungen erfolgen sowohl passiv, gemeinsam mit osmotischen Druckveränderungen, als auch aktiv (Romanoff, 1967; Simkiss, 1980).

Literaturübersicht

Für den Wasser- und Natriumtransport vom Eiweiß zum Dottersack sind die Endodermzellen der *Area vasculosa* zuständig (Babiker und Baggot, 1995). Das Dotter wird leichter als das Eiweiß und schwimmt immer oben. Die *Area vasculosa*, als respiratorisches Organ, liegt genau unter der Schale (Babiker und Baggot, 1992).

Die Allantoishöhle erreicht ihr Maximum an D13 (Romanoff, 1960b). Die Allantois dient als Wasserreservoir. Hier sammeln sich Urin und andere Abfallprodukte. Elektrolyte und Wasser werden über die Allantoismembran aktiv ins Blut transportiert (Natrium, Kalium und Chlorid). Wasser folgt osmotisch bedingt. Diese Prozesse werden hormonell gesteuert (Vleck, 1991).

Vogelembryonen sind der Gefahr der Austrocknung ausgesetzt. Die Temperaturdifferenz zwischen dem wärmeren Ei und der kühleren Umwelt verstärkt die Abgabe von Kondenswasser an die mit Wasser ungesättigte Umwelt. Das passiert auch, wenn die kühlere Umgebung mit Wasser gesättigt ist, weil die höhere Eiinnentemperatur für höheren Wasserdampfdruck im Ei sorgt. In hoher Umgebungstemperatur verlieren Eier nur Wasser, wenn die umgebende Luftfeuchtigkeit niedrig ist (Ar, 1991).

Die Eischalendurchlässigkeit für Wasser hängt von der Henne ab. Ältere Hennen legen größere Eier und diese Eier haben eine höhere Evaporationsrate. Eier älterer Hennen müssen folglich in höheren Luftfeuchten inkubieren, um einen zu hohen Wasserverlust zu vermeiden (Ar und Deeming, 2009).

Die Eischale ist wasserdurchlässig. Der Embryo tauscht respiratorische Gase mit der Umwelt aus (Wangensteen *et al.*, 1970/71; Needham, 1932). Dies geschieht durch Poren in der Schale. Genau durch diese Poren diffundiert auch das Wasser (Ar und Rahn, 1985). Der Wasserflux ist unidirektional von innen nach außen. Die respiratorischen Gase müssen daran vorbei diffundieren.

Auf der Aussenseite des Eies befindet sich eine Schicht, die Cuticula. Die Cuticula stellt eine Barriere für Flüssigkeiten und Schmutz dar, die die Gasdiffusion aber nicht behindert (Deeming, 1987). Wasserdampf, Sauerstoff und CO_2 werden per Diffusion durch Poren in der Eischale abgegeben. Die Diffusion ist abhängig von dem Partialdruck, der im und außerhalb des Eies herrscht. Da die Poren lang und eng sind, wird die Diffusion kaum durch Luftströmung beeinflusst.

Gas tritt durch die Poren in der Schale mittels Diffusion. Die Diffusionsrate wird bestimmt durch die Anzahl der Poren, der Länge des Diffusionsweges (Eidicke, Länge des Porenkanals, Eibedeckung) und den Partialdruckdifferenzen zwischen Eiinnerem und Umgebung (Sparks, 2009). Es gibt offenbar keine Korrelation zwischen der Gasaustauschrate und der Bewegung von Flüssigkeit durch die Schale, obwohl das Ei bis zum Schlupf des Kükens 10 % bis 20 % seiner Eimasse durch Wasserverlust verliert (Berrang *et al.*, 1999; Sparks und Board, 1984).

Der Gasaustausch durch die Eischale wird durch das Fick'sche Gesetz bestimmt.

$Gasaustauschrate_x = Gx * (Pe_x - Pi_x)$

Das x bezieht sich auf das entsprechende Gas (H_2O , O_2 oder CO_2), G ist der Wert für die Konduktion der Schale (die Eischalendurchlässigkeit, Muttertierabhängigkeit), Pe ist der Partialdruck des Gases außerhalb und Pi ist der Partialdruck im Ei (Ar und Deeming, 2009).

Die Wasserdampfverlustrate des Eies hängt von der Eischalenkonduktion (Eischalendurchlässigkeit) für Wasser und der Luftfeuchtigkeit außerhalb des Eies ab. Bei gleichbleibender Temperatur wird die Wasserdampfverlustrate ausschließlich durch Veränderungen der relativen Luftfeuchtigkeit der Umgebung moduliert.

Der Wasserverlust nimmt mit der Inkubationszeit zu, weil die Eiinnentemperatur mit dem Alter des Embryos steigt. Mit dem Wachstum des Embryos steigt der Stoffwechsel und damit auch die Wärmeproduktion (Ackermann und Seagrave, 1984). Durch die Wasserverdunstung geben die Eier zusätzlich Wärmeenergie ab (Meir und Ar, 1990; Ar und Rahn, 1985). Der Dampfdruck des Wassers korreliert positiv mit der Wachstumsrate des Embryos (Rahn und Ar, 1980).

Die Wasserverdunstung des Eies ist sehr wichtig für die Entfaltung der Lungen. Die Umstellung der Respiration von der CAM zur Lungenatmung verläuft langsam (ungleich zu Säugern). Erst bei funktionstüchtiger Lungenatmung schlüpfen die Embryonen (Green und Vince, 1970). Die Größe der Luftkammer hängt ab von der Wasserverdunstung im Ei (Ar und Rahn, 1980). Deren Größe ist wichtig nach dem IP, da das Luftvolumen den ersten Atemzügen dient.

Zu beachten ist, dass sich bei 10 % Wasserabgabe und weniger, die Eiblase nicht genügend ausbilden kann, was zu Problemen bei der Lungenbelüftung während des IP führen würde. Ein Wasserverlust dagegen von mehr als 20 % kann zur Austrocknung des Eies führen (Ar und Deeming, 2009).

2.4. Zur Entwicklung der Sauerstoffversorgung

Während der Entwicklung erfolgt die Versorgung mit Sauerstoff durch verschiedene gasaustauschende Organe. Es gibt vier Phasen in der Entwicklung der sauerstoffversorgenden Organe:

- 1. der primäre Kreislauf an D1,5
- 2. der sekundäre Kreislauf an D3
- 3. die CAM an D6
- 4. das IP an D19

Der primäre Kreislauf

Der primäre Kreislauf des Embryo wird nach 36 bis 48 Stunden der Bebrütung in Verbindung mit Beginn der Herzaktion und somit der Zirkulation des Blutes funktionstüchtig. Er setzt sich aus den Gefäßen im Embryo selbst und den Dottersackgefäßen zusammen (Romanoff, 1960a). Die extraembryonalen Gefäße liegen im primären Kreislauf in einer Ebene vor (Lillie, 1951). In dieser Phase erreicht der Sauerstoff den Embryo per Diffusion durch die Eischale und ihre Membranen (Cirotto und Arangi, 1989). Die Sauerstoffsättigung des arteriellen Blutes liegt bei 18 % und die des venösen Blutes bei 45 %.

Der sekundäre Kreislauf

Am D3 beginnt mit dem hämoglobingebundenem Sauerstofftransport der sekundäre Kreislauf. Mit dem Heranwachsen des Embryos erhöht sich auch das Blutvolumen, so dass sich durch hämodynamische Veränderungen und Wachstums- und Differenzierungsfaktoren ein Kapillarbett bildet (Kutryk und Stewart, 2003; Romanoff, 1960a). Die Dottersackgefäße liegen bereits in zwei Ebenen vor. Die *Arteriae omphalomesentericae* sind tief in den Dottersack eingebettet und die *Vena omphalomesenterica* liegt auf der Oberfläche. Die Sauerstoffsättigung liegt im arteriellen Blut bei 40 % und im venösen Blut bei 60 % (Cirotto und Arangi, 1989).

Die CAM

Am D6 bildet sich die CAM. Sie löst als gasaustauschendes Organ den sekundären Kreislauf ab (Bellairs und Osmond, 2005). Bereits in diesem Stadium ist das arterielle Blut zu 35 % mit Sauerstoff gesättigt und das venöse zu 85 %. Am D12 bedeckt die CAM die innere Schalenmembran fast vollständig und eine weitere Ausdehnung ihrer Oberfläche ist nicht möglich (Ackerman und Rahn, 1981; Freeman und Vince, 1974). Mit zunehmendem Wachstum steigt jedoch auch der Sauerstoffbedarf des Embryos weiter. Es kommt ab dem D13 zur Sauerstoffmangelsituation (Freeman und Vince, 1974; Wangensteen und Rahn, 1970-1971). Der arterielle Sauerstoffpartialdruck sinkt von 11,1 kPa an D10 auf 7,6 kPa an D18 (Tazawa *et al.*, 1971a).

Das IP

Infolge des zunehmenden Sauerstoffbedarfs wird um den D19 das Anpicken der inneren Eischalenmembran provoziert, um diese anschließend mit dem Schnabel zu durchstoßen. Die Lungenatmung beginnt erst, wenn die innere Membran mit dem Schnabel durchstoßen ist. Mit dem Einsetzen der Lungenatmung erfolgt der Übergang vom diffusen Gasaustausch über die CAM zum konvektiven Gasaustausch über die Lunge (Tullet und Burton, 1985; Duncker, 1972; Romanoff, 1960a). Der Schnabel befindet sich dann in der Luftkammer. Die Luftkammer bildet sich unmittelbar nachdem das Ei gelegt wurde. Durch das Abkühlen entfernen sich die beiden Membranen am stumpfen Eipol. Durch den Wasserverlust im Laufe der Entwicklung wird die Luftkammer immer größer (Tullet und Burton, 1985). Das Küken atmet also erst die Luft aus der Luftkammer und verbessert damit seine Sauerstoffversorgung,

da die erste Diffusionsbarriere (CAM und innere Eihaut) überwunden ist. Innerhalb einiger Stunden nach dem IP wird die zweite Diffusionsbarriere (äußere Eihaut und die Schale) durch das EP überwunden.

2.5. Hämoglobin und die Sauerstoffbindungskurve

Hämoglobin

Im Laufe der Embryonalentwicklung gibt es zwei verschiedene Erytrozytenformen, die primitiven und die definitiven Erytrozyten. Die primitiven Erytrozyten bilden die spezifisch embryonalen Hämoglobine. Die embryonalen Hämoglobine weisen eine höhere Sauerstoffaffinität auf als die adulten Formen. Ab D6 treten die definitiven Erytrozyten im Blut auf. Sie produzieren die adulten Hb-Typen HbA, HbD und HbH mit deutlicherem Bohr-Effekt (Cirotto und Arangi, 1989). Ab D9 sind bereits 65 % der adulten Hämoglobine vorhanden (Cirotto und Geraci, 1975). HbD hat eine höhere Sauerstoffaffinität als HbA. Im Laufe der Entwicklung fällt das Mengenverhältnis zugunsten des HbA aus, so dass im adulten Huhn ein Verhältnis von drei zu eins herrscht und die Sauerstoffaffinität des Hämoglobins abnimmt. HbH tritt nur um den Schlupfzeitpunkt auf (Bruns und Ingram, 1973). Das Vorhandensein zweier Hämoglobinformen mit unterschiedlicher O₂-Affinität ermöglicht es den Erytrozyten über einen breiten Bereich von Sauerstoffpartialdrücken Sauerstoff zu binden und abzugeben (Faraci, 1991). Das ist gerade notwendig, da bestimmte Vögel in erheblichen Lufthöhen fliegen und gleichzeitig auf Meeresspiegel-Niveau leben.

Die Sauerstoffbindungskurve

Sauerstoff benötigt als Transporter das Hämoglobin (Hb). Die Bindung an Hb ist reversibel und mittels Sauerstoffbindungskurve zu erklären.

Hohe Sauerstoffpartialdrücke sorgen für eine optimale Sättigung des Hb mit O_2 . Die Bindung eines O_2 Moleküls begünstigt die Bindung weiterer Moleküle, wodurch die sigmoide Form der Kurve zustande kommt. Im Gewebe, wo niedrigere Sauerstoffpartialdrücke herrschen, verläuft die Dissoziationskurve steiler und O_2 wird leichter abgegeben (Stevens, 1996).

Eine Rechtsverschiebung der Kurve bedeutet eine Abnahme der Sauerstoffaffinität des Hb. Der Sauerstoff wird leichter vom Hb ans Gewebe abgegeben. Eine Linksverschiebung bedeutet eine Zunahme der Sauerstoffaffinität des Hb. Sauerstoff wird leichter vom Hb aufgenommen. Eine Rechtsverschiebung der Kurve beim Vogel tritt ein bei Abnahme des pH-Wertes, einem Anstieg des pCO₂ bzw. Abfall des pO₂, einer Temperaturerhöhung und einer Erhöhung der allosterischen Effektoren 2,3 DPG, IP5 und ATP. Eine Linksverschiebung verläuft entsprechend umgekehrt. 2,3 DPG entsteht im Erythrozyt bei Sauerstoffbedarf über den Nebenweg der Glykolyse. Ab D14 steigt 2,3 DPG bis zum IP im Blut von Hühnerembryonen proportional mit Sinken des pO₂ an (Tazawa, 1977). Es stabilisiert das Hb in seiner desoxygenierten Form (Stryer, 2003). Dieses Phänomen wird als Bohr-Effekt bezeichnet. CO₂ ist 20mal besser löslich als O₂. 80 % werden als HCO₃⁻ im Blutplasma

transportiert, 10 % an Hämoglobin gebunden und 10 % sind direkt im Blut gelöst (Horn *et al.*, 2003).

Eine Erhöhung von pCO_2 und ein Absinken des pH führen zu einer Rechtsverschiebung der Sauerstoffbindungskurve, bei umgekehrten Verhältnissen kommt es zur Linksverschiebung. Dies erleichtert die Sauerstoffabgabe im Gewebe und die Sauerstoffaufnahme in der Lunge.

Weiterhin ist die Sauerstoffaffinität von der chemischen Struktur des Globins abhängig. Das Hb des Huhnes hat im Vergleich zum Säuger eine geringere O₂-Affinität. Der Nachteil wird über die Vogellunge mit dem günstigen Ventilationsverhältnis ausgeglichen. Die Vogellunge verfügt über ein Kreuzstromsystem und Parabronchien. Der O₂-Verbrauch ist in den Geweben der Vögel größer als bei den Säugern. Dank dem höheren O₂-Abgabevermögen des Vogel-Hb kann diesem hohen O₂-Bedarf entsprochen werden (Scheunert und Trautmann, 1976).

2.6. CO₂ als Inkubationsparameter

2.6.1. CO₂ Inkubation während D1 bis D10

Die embryonale Entwicklung wird von Genen, aber auch von der Umwelt bestimmt. Damit kommt der Umwelt ein großer Einfluss auf die embryonale Entwicklung im Ei zu, mit Auswirkungen auf das postnatale Leben. Verschiedene Studien haben gezeigt, dass sich die Inkubation von Hühnereiern unter hyperkapnischen Bedingungen (über 0,5 % CO₂) positiv auf die Entwicklung und den Schlupf auswirken (Decuypere *et al.*, 2006; De Smit *et al.*, 2006/2008).

Unter der brütenden Henne herrschen chronische hyperkapnische Bedingungen. Walsberg (1980) hat bis zu 1 % CO₂ im Luftraum unter der Henne gemessen. In der Luft beträgt die CO₂-Konzentration 0,03 %. Die Eier werden, entgegen den natürlichen Gegebenheiten, unter 21 % Sauerstoff und weniger als 0,5 % CO₂ inkubiert.

Der Effekt der hyperkapnischen Inkubation variiert in Abhängigkeit vom Zeitfenster, in dem vermehrt CO₂ eingesetzt wird und von der Konzentration. Hogg (1997) inkubierte Ross-Eier bis zum D10 in einem unventilierten, nicht belüfteten Inkubator. Die CO₂-Konzentration stieg bis D10 kontinuierlich auf 1,5 % an. Danach folgten normale Bedingungen. Es wurde eine verbesserte Schlupffähigkeit um 2 % erzielt. Die Embryosterblichkeit verringerte sich (Gildersleeve und Boeschen, 1983). Wurden die Eier jedoch nur in den ersten fünf Tagen hyperkapnisch inkubiert, so verringerte sich die Schlupffähigkeit.

De Smit *et al.* (2006), konnten diese Ergebnisse bestätigen. Hyperkapnische Bedingungen während der ersten zehn Tage der Inkubation wirkten sich positiv auf den Schlupfzeitpunkt aus. Er lag früher und die Schlupfzeitpunkte der einzelnen Küken lagen dichter beisammen. Außerdem war ein höheres Körpergewicht der Küken nach dem Schlupf gemessen worden.

Dies zeigt den epigenetischen Effekt, den ein höherer CO₂-Level in den ersten zehn Inkubationstagen hat.

Molenaar (2007) untersuchte 42 Tage alte Broiler nach dem Schlupf, von denen ein Teil ventiliert und der andere Teil nicht-ventiliert (hyperkapnisch) inkubiert wurde. Ihre Ergebnisse zeigen, dass bei der nicht-ventilierten Gruppe bis zu 10 % weniger Hydropericardia und weniger Aszites auftraten. Während der Embryonalentwicklung wuchsen die nicht-ventilierten Embryonen schneller. Zum Zeitpunkt des IP wurden höhere T3- und Corticosteronwerte gemessen. Auch sie beobachtete den früheren Schlupf, den engeren Schlupfzeitraum und das erhöhte Körpergewicht. Am siebten und 28. Tag nach dem Schlupf wurden verschiedene Hämatokritwerte zwischen den Gruppen festgestellt. Daraus kann auf einen epigenetischen Einfluss der Inkubationsbedingungen geschlossen werden.

Der frühere Schlupf ist günstig für den Hühnerembryo, da der Embryo kürzer den hypoxischen Bedingungen am Ende der Inkubation ausgesetzt ist (Buys *et al.*, 1998).

Sowohl das Zeitfenster als auch die CO_2 -Konzentration haben Einfluss auf die Entwicklung. Bei einem kontinuierlichen Anstieg von CO_2 bis D10 kommt es zu einem beschleunigten embryonalen Wachstum und zu einem früheren Schlupf. Im Gegensatz dazu zeigten Bruggemann *et al.* (2007), dass die CO₂-Konzentration den Maximalwert von 1,5 % bereits am D4 erreichte und bis D10 bestehen blieb. Dies sorgte für ein weniger schnelles Wachstum der Embryonen und keine Vorverlegung des Schlupfes.

De Smit *et al.* (2008) haben den pCO_2 und den pO_2 in der Luftkammer gemessen. Der pCO_2 von hyperkapnisch inkubierten Embryonen war größer als der von normal inkubierten Embryonen. Die Autoren führten das auf die erhöhte metabolische Aktivität der hyperkapnisch inkubierten Embryonen zurück. Die Folge sind das erhöhte Körpergewicht und die schnellere Entwicklung sowie das verfrühte Schlüpfen (Visschedijk, 1968).

Durch züchterische Selektion gibt es zwei verschiedene Hühnertypen, die Legehühner und die Mastbroiler (Sato *et al.*, 2006), die sich in Bezug auf Wachstum und Entwicklung stark unterscheiden. Bisher gibt es keine einheitlichen Ergebnisse und Erklärungen dafür wie die Umwelt, speziell Gasparameter, das Wachstum und die Entwicklung der Embryonen beeinflussen.

2.6.2. CO₂ Inkubation während D11 bis D20

Der Hühnerembryo reagiert auf verschiedene CO₂-Konzentrationen in Abhängigkeit von seinem Entwicklungsstadium. In Abhängigkeit von der CO₂-Inkubation in der ersten oder zweiten Hälfte der Inkubation variieren die Puffermechanismen.

In der ersten Hälfte der Inkubation puffern das Eiweiß und die subembryonale Flüssigkeit die induzierte respiratorische Azidose. Der pH-Wert des Eiweiß sinkt. Der pH-Wert im Blut verändert sich nicht, obwohl das Bikarbonat und der CO₂-Partialdruck ansteigen (Bruggemann *et al.*, 2007).

In der zweiten Hälfte hat der Embryo verschiedene Puffermöglichkeiten. So kann die Expression der Carboanhydrase in den Erythrozyten gesteigert werden. Auf der zellulären

Literaturübersicht

Ebene kann er K⁺ gegen H⁺ austauschen und die K⁺-Konzentration im Blut steigern. Die Niere kann vermehrt Bikarbonat liefern. Über die CAM kann Ca²⁺ aus der Eischale resorbiert werden. Alle diese Mechanismen tragen dazu bei, dass der Embryo in der zweiten Hälfte der Inkubation viel höhere CO₂- Konzentrationen kompensieren kann (Everaert *et al.*, 2008).

2.6.3. Einfluss von CO₂, Sauerstoffmangel und/oder Hyperthermie auf die Prädisposition von Aszites

Die modernen Broilerlinien wurden über Jahre auf immer schnelleren und größeren Wuchs gezüchtet (Havenstein *et al.*, 2003). Das brachte das vermehrte Auftreten von Aszites mit sich. Diese Krankheit entsteht durch die Imbalance zwischen dem großen Bedarf an Sauerstoff für das Wachstum und dem ungenügenden Sauerstoffangebot, dass durch das proportional unterentwickelte Herz-Kreislauf-System entsteht (Decuypere *et al.*, 2000; Julian, 2000). Im Vergleich mit Legehennen hat der moderne Broiler ein kleines Herz im Verhältnis zu seiner Körpergröße (Hassanzadeh *et al.*, 2005; Julian, 2000).

Obwohl die Anzeichen für Aszites erst einige Wochen nach dem Schlupf auftreten, liegt die Ätiologie dieser Krankheit möglicherweise in der embryonalen Phase (Coleman und Coleman, 1991). Verschiedene Studien haben gezeigt, dass Veränderungen der Inkubationsparameter noch Auswirkungen auf das Küken bis nach dem Schlupf haben:

Aszites-resistente Broiler schlüpfen warscheinlich wegen einer aktiveren Schilddrüse früher als die Sensitiven (Dewil *et al.*, 1996).

Buys *et al.* (1997) zeigten ebenfalls, dass eine hohe CO₂-Konzentration zu einem früheren Schlupf führt. Außerdem hatten die Tiere, die unter erhöhten CO₂-Konzentrationen inkubiert wurden, eine geringere Tendenz, Aszites auszubilden. Das wird mit der verkürzten hypoxischen Situation des Embryo am Ende der Inkubation durch den verfrühten Schlupf erklärt.

Buys *et al.* (1998) zeigten in weiteren Untersuchungen, dass das IP und EP und der Schlupfzeitpunkt bei den später schlüpfenden, aszites-sensitiven Rassen beeinflusst werden konnte. Er setzte signifikant früher ein bei Erhöhung der CO₂-Konzentration in der dritten Brutwoche. Bei normalen CO₂-Konzentrationen schlüpfen die aszites-resistenten Embryonen früher als die aszites-sensitiven Embryonen. Unter hyperkapnischen Bedingungen verringerte sich dieser Unterschied, weil die Schlupfzeit der aszites-sensitiven Embryonen verkürzt war, verbunden mit einer geringeren Aszites-Mortalität. Embryonen beider Linien, die hyperkapnisch bebrütet wurden, hatten höhere Werte der Schilddrüsenhormone. Man kann davon ausgehen, dass unterschiedliche Ventilationsgrade während der Bebrütung Auswirkung auf die Gesamtbrutdauer haben und dadurch auf die Aszites-Ausprägung (Buys *et al.*, 1998).

Feske und Tönhardt (2007) zeigten, dass Sauerstoff und Temperatur Einfluss auf die Zusammensetzung embryonaler Flüssigkeiten haben und damit Folgen für die Homöostase in den Körperflüssigkeiten. Sie schlussfolgerten, dass infolge dessen auch die Entwicklung der Embryonen beeinflusst wird.

Bei Sauerstoffmangel und/oder Hyperthermie wurden in Abhängigkeit vom Alter verschiedene Konzentrationen an Elektrolyten und Metaboliten im Blut und in der Amnionflüssigkeit gemessen. Das deutet auf einen Stoffaustausch zwischen beiden Flüssigkeiten hin. Es sind aktive und passive Transportmechanismen zwischen Blut und Amnion anzunehmen. Dysfunktionen der Blut-Amnion-Barriere haben veränderte homöostatische Bedingungen in den embryonalen Kompartimenten zur Folge. Damit können metabolische Funktionsstörungen nach dem Schlupf auftreten (Feske, 2009).

Es kann angenommen werden, dass die Amnionflüssigkeit nicht nur ein Speicher für Abfallprodukte ist, sondern auch Speicher und Lieferant für Gase, Elektrolyte und Metabolite. Bei Beeinflussung mittels CO_2 ist für weitere Untersuchungen allen Kompartimenten im Embryo Bedeutung beizumessen.

2.7. Zusammenfassung Literaturübersicht

Das Huhn (*Gallus gallus f. domestica*) gehört zu den nestflüchtenden Vogelarten. In 21 Tagen entwickelt sich der Embryo unabhängig vom mütterlichen Organismus zum schlupffähigen Küken. Im Eidotter und Eiweiß sind alle notwendigen Stoffe wie Wasser, Nährstoffe, Metabolite und vor allem auch die Mediatoren für den Entwicklungsablauf enthalten (Schnorr und Kressin, 2001).

Die Antwort auf Stressoren stellt somit eine direkte Reaktion des Embryos dar. Außerdem wird das Muttertier nicht durch tierexperimentelles Arbeiten geschädigt.

Die modernen Broilerlinien wurden über Jahre auf immer schnelleren und größeren Wuchs gezüchtet (Havenstein *et al.*, 2003). Das brachte das vermehrte Auftreten von Aszites mit sich. Durch den hohen Brustanteil der Mastrassen verenden viele Broiler vor der Schlachtung am Aszites-Syndrom (Pulmonary Hypertension-Syndrom).

Diese Krankheit entsteht durch die Imbalance zwischen dem hohen Bedarf an Sauerstoff für das Wachstum und dem ungenügenden Sauerstoffangebot, dass durch das proportional unterentwickelte Herz-Kreislauf-System entsteht (Decuypere *et al.*, 2000; Julian, 2000). Im Vergleich mit Legehennen hat der moderne Broiler ein kleines Herz im Verhältnis zu seiner Körpergröße (Hassanzadeh *et al.*, 2005; Julian, 2000).

Obwohl die Anzeichen für Aszites erst einige Wochen nach dem Schlupf auftreten, liegt die Ätiologie dieser Krankheit möglicherweise in der embryonalen Phase (Coleman und Coleman, 1991). Verschiedene Studien haben gezeigt, dass Veränderungen der Inkubationsparameter Auswirkungen auf das Küken bis nach dem Schlupf haben.

Die Eier werden, entgegen den natürlichen Gegebenheiten, unter 21 % Sauerstoff und weniger als 0,5 % CO_2 inkubiert.

Bei Einsatz von CO_2 als Stressor - erhöhter CO_2 -Konzentration in der Inkubationsluft - erzielten De Smit *et al.* (2006) früheren Schlupf bei höherem Schlupfgewicht. Außerdem soll

die Hyperkapnie während der ersten zehn Inkubationstage der Entstehung von Aszites bei aszites-sensitiven Mastbroilern entgegenwirken.

Im Hühnerei existieren verschiedene, voneinander abgegrenzte Flüssigkeitskompartimente. Blut ist als embryonales Kompartiment zu betrachten. Amnionflüssigkeit, Allantoisflüssigkeit, und subembryonale Flüssigkeit gehören zum extraembyonalen Kompartiment (Baggot, 2009).

Zur Aufrechterhaltung der verschiedenen Flüssigkeitskompartimente bestehen drei Barrieren:

Sie trennen die Blutflüssigkeit, die Amnionflüssigkeit und die Allantoisflüssigkeit voneinander (Schmidek *et al.*, 2001; Hohlweg *et al.*, 1999; Piechotta *et al.* 1998; Ten Busch *et al.*, 1997a; Tomaschek, 1997; Abramovici, 1966). Damit verbunden sind unterschiedliche substantielle Zusammensetzungen von Plasma, Amnion- und Allantoisflüssigkeit nachgewiesen (Feske, 2009; Tönhardt *et al.*, 1995; Gill *et al.*, 1994; Faber *et al.*, 1973).

Feske und Tönhardt (2007) wiesen nach, dass Sauerstoff und Temperatur Einfluss auf die Zusammensetzung embryonaler Flüssigkeiten beim Kükenembryo und damit Folgen für die Homöostase in den Körperflüssigkeiten haben. Es wurden verschiedene Konzentrationen an Elektrolyten und Metaboliten im Blut und in der Amnionflüssigkeit gemessen, hervorgerufen durch Sauerstoffmangel und/oder Hyperthermie und Alter.

Das deutet auf einen aktiven Transportmechanismus zwischen Blut und Amnion hin. Die Blut-Amnion-Barriere ist verantwortlich für die gemessenen Konzentrationsunterschiede. Dysfunktion dieser Barriere und damit unphysiologische Zusammensetzung der embryonalen Flüssigkeiten ebnet den Weg für metabolische Funktionsstörungen nach dem Schlupf.

Aus diesen Aussagen leitet sich die Fragestellung dieser Dissertation ab.

Ziel dieser Arbeit ist die Untersuchung des Einflusses einer erhöhten CO₂-Konzentration in Kombination mit Normoxie und Nicht-Ventilation während der ersten zehn Inkubationstage auf die Gas-, Elektrolyt- und Metabolitzusammensetzung von Blut- und Amnionflüssigkeit von zwei Fleischrassen. Außerdem werden morphologische Parameter bestimmt, die ebenfalls durch die gewählten Inkubationsdingungen beeinflusst werden können.

Die Bedeutung des CO₂ für die Bildung und Zusammensetzung der Amnionflüssigkeit und des Blutes – und damit für die Entwicklung des Embryos – soll weiter geklärt werden.

Weiterhin sollen die Ergebnisse die Verantwortlichen in der Brutindustrie auf die Bedeutung des CO₂ in der Inkubationsluft hinweisen und damit auf die Chance, Prädispositionen für krankhafte Veränderungen (z.B. Aszites) zu verhindern.

3. Material und Methoden

3.1. Herkunft und Inkubation der Hühnerembryonen

3.1.1. Eier

Für die Untersuchungen wurden Mastbroiler der Herkunft "Ross 308" als Vertreter einer schnell wachsenden, industriellen Rasse sowie Biotiere der Herkunft "ISA JA 757" mit geringeren Wachstumsraten eingesetzt. "Ross 308" stammt von der Firma "Wiesenhof" aus Möckern. Diese Rasse entwickelt ein hohes Brustmuskelgewicht, ist bekannt für schnelles Wachstum und hat eine verstärkte Tendenz Aszites auszubilden. "ISA JA 757" wächst langsamer, besitzt eine weniger kräftige Brustmuskulatur und hat eine geringere Tendenz Aszites auszubilden. Die Eier der Rasse "ISA JA 757" wurden vom "Geflügelhof Overmeyer" aus Hopsten-Halverde bezogen. Dieser Geflügelhof arbeitet nach den Richtlinien von "Bioland ökologischer Landbau" und trägt auch dieses Siegel.

3.1.2. Inkubatoren

Es wurden in den Versuchen drei BRUJA Brutmaschinen, ein Flächenbrüter Modell 3000 analog, mit vollautomatischer Wendung verwendet. Das Wenden erfolgte kontinuierlich, langsam und vollautomatisch (12 Wendungen in 24 Stunden). Es war möglich die Wendung durch einen separaten Stromanschluss zu unterbrechen. Gewendet wurden die Eier vom ersten Inkubationstag an. Das Gehäuse bestand aus isolierendem Thermalschaumplastik mit zwei großen Sichtfenstern. Die Temperatursteuerung erfolgte durch ein elektronisches Analog-Thermostat. Im Inkubator lag ein spezielles Brutthermometer. Zur Feuchtigkeitsregulierung konnten sechs Wasserrinnen befüllt werden. Für die Schlupfphase war es möglich das Wendesystem zu entnehmen und Drahtrost einzulegen. Geheizt wurde der Inkubator mit einer Teflon ummantelten 46 Watt High-Tech-Heizung.

3.1.3. Inkubation

Inkubiert wurde bei 37,3 °C \pm 0,5 °C. Der Inkubator hat keinen Ventilator, so dass die Wärme nicht gleichmäßig verteilt war. Die Kontrollgruppe wurde ab dem dritten Inkubationstag einmal am Tag für zehn Minuten gelüftet. Die O₂- und CO₂-Gehalte entsprachen somit der Raumluft.

Bei der ersten Versuchsgruppe, der sogenannten Gas-Gruppe, wurde bis zum zehnten Inkubationstag der CO₂-Gehalt im Inkubator kontinuierlich auf 1,5 % gesteigert. Dazu kamen spezielle Gasgemische der Firma Praxair zum Einsatz. Der erhöhte CO₂-Gehalt gegenüber Normalbedingungen ging hierbei nicht auf Kosten des O₂-Gehaltes, sondern wurde durch einen verringerten N₂-Gehalt realisiert.

Da bei den Vorversuchen an den Tagen eins bis drei der Inkubation bereits bis zu $0.3 \% CO_2$ im Inkubator vorherrschten, wurde erst ab D4 begast. Somit entsprach die Begasung einer Hyperkapnie in Kombination mit einer Normoxie.

Zusammenfassung der Inkubationsparameter					
	Inkubationstag	Temperatur in °C	CO ₂ in %	O ₂ in %	rel. Luftfeuchte in %
	3	37,3	0,3	21,0	30-31
)e	4	37,3	0,3	21,0	30-31
ldn	5	37,3	0,3	21,0	24-20
lgr	6	37,3	0,3	21,0	27-28
trol	7	37,3	0,3	21,0	29-30
ON	8	37,3	0,3	21,0	30,0
X	9	37,3	0,3	21,0	27-30
	10	37,3	0,3	21,0	28-30
	11 - 18	37,3	0,3	21,0	46-50
	3	37,3	0,3	21,0	59,0
	4	37,3	0,4	20,7	59,0
e	5	37,3	0,5	20,6	60,0
ddn	6	37,3	0,5	20,1	60-76
Gr	7	37,3	0,6	20,0	61-76
	8	37,3	0,9	19,7	59-76
	9	37,3	1,4	19,3	61-76
	10	37,3	1,5	19,0	68-75
	11 - 18	37,3	0,3	21,0	42-48
	3	37,3	0,3	21,0	31-33
	4	37,3	0,4	21,0	27-33
)e	5	37,3	0,6	21,0	28-32
ldn	6	37,3	0,8	21,0	25-30
Ģ	7	37,3	1,0	21,0	25-28
as-	8	37,3	1,2	21,0	25-28
9	9	37,3	1,4	21,0	25-28
	10	37,3	1,5	21,0	28-29
	11 - 18	37,3	0,3	21,0	38-43

Tabelle 1: Zusammenfassung der Inkubationsparameter

Bei der zweiten Versuchsgruppe, der sogenannten NV-Gruppe, wurden die Luftschlitze des Inkubators während der ersten zehn Inkubationstage verschlossen. Auch hier stieg der CO₂-Gehalt kontinuierlich auf 1,5 % an. Der O₂-Gehalt sank jedoch auf 19 %. Somit handelt es sich hier um eine Hyperkapnie in Kombination mit einer moderaten Hypoxie.

Ab dem elften Inkubationstag wurden die zwei Versuchsgruppen, genau wie die Kontrollgruppe, einmal am Tag gelüftet. Die Luftschlitze der zweiten Versuchsgruppe wurden wieder geöffnet. Die Luftfeuchtigkeit betrug dann ab D10 ca. 45 % und ab D18 ca. 55 %.
3.2. Incontrol 1050

Die genaue Gaskonzentration im Inkubator wurde mit dem Incontrol 1050 von der Firma



Abbildung 6: Incontrol 1050

3.3. Versuchsablauf

Labotect gemessen. Dieses Gerät misst die CO₂- und O₂-Konzentration im Inkubator und die Temperatur. Die Spannweite der CO₂- Messung reicht von 0 % bis 10 %. Die Messgenauigkeit beträgt \pm 0,2 %. Es handelt sich um ein Handmessgerät, das außerhalb des Inkubators verbleibt und über einen Schlauch das Gas aus dem Inkubator mit 0,4 Litern pro Minute ansaugt. Die Dauer der Messung beträgt ca. 2 Minuten. Das Intervall der Messung kann zwischen 2 und 60 Minuten gewählt werden. Die gemessenen Daten werden alle 0.25 h / 0.5 h / 0.75 h oder 1 h gespeichert. Das Incontrol 1050 kann bis zu 1000 Messungen speichern.

Nach Anlieferung der Eier wurden diese gewogen und markiert. Danach wurden die Eier beider Rassen unsortiert auf drei Inkubatoren verteilt, so dass die drei Gruppen gleichzeitig inkubiert werden konnten.

Ab dem zehnten Inkubationstag wurde Amnionflüssigkeit entnommen. Die Blutentnahme war aus technischen Gründen zu diesem Zeitpunkt nicht möglich. Vom elften bis zum 18. Inkubationstag konnten Blut und Amnionflüssigkeit entnommen werden. Nach dem 18. Tag war keine Amnionflüssigkeit mehr vorhanden und die Blutgefässe waren bereits stark zurückgebildet.

3.4. Gewinnung der Blut- und Amnionflüssigkeit

3.4.1. Blutentnahme

Erst wurde das Ei durchleuchtet und der ungefähre Verlauf der Chorioallantoisvene angezeichnet. Dann wurde die Schale am stumpfen Pol des Eies entfernt, so dass die innere Schalenhaut zu sehen war. Mit einer Pinzette wurde die innere Membran vorsichtig abgezogen, um Blutungen zu vermeiden. Nun war die Chorioallantoisvene zu sehen (Abbildung 7). Diese wurde mit einem Haken vorgelagert und mit einer Kanüle punktiert. Das



Blut wurde in heparinisierten Glaskapillaren (Clinitubes, Firma Radiometer Copenhagen) aufgefangen. Die Kapillare wurde sofort mit den dafür vorgesehenen Kappen verschlossen. Das Blut und das Antikoagulanz wurden vermischt, indem man das Mischstäbchen mit Hilfe eines Magneten in voller Röhrchenlänge hin und her bewegte. Die Untersuchung der Blutgasparameter sowie der Blutelektrolyte erfolgte unmittelbar nach der Entnahme.

Abbildung 7: Die Chorioallantoisvene am 14. Tag der Inkubation (Nau 2009)

3.4.2. Entnahme der Amnionflüssigkeit

Nachdem das Ei am stumpfen Pol eröffnet wurde und die Chorioallantoismembran durchstoßen wurde, konnte der Inhalt des Eies vorsichtig in eine Petrischale geschüttet werden, ohne dabei die Amnionblase zu zerstören. Mittels einer kleinen anatomischen Pinzette wurde die Amnionhaut über dem Embryo gegriffen und nach oben gezogen, so dass sich die Amnionhaut vom Embryo ablöste. An dieser Stelle wurde ein kleiner Schnitt in die Amnionmembran gemacht, so dass die Glaskapillare hindurch passte. Die angelegte Glaskapillare füllte sich aufgrund der Kapillarwirkung. Die Amnionflüssigkeit wurde unmittelbar mittels ABL 605® analysiert. Nach der Probenentnahme wurde der Embryo dekapitiert.

3.5. Blut und Amnionflüssigkeitsanalyse

3.5.1. Radiometer Copenhagen ABL 605®

Vor jedem Untersuchungstag wurde eine Qualitätskontrolle des Gerätes Radiometer Copenhagen ABL605® durchgeführt, um die Zuverlässigkeit der gewonnenen Daten zu sichern. Das Analysegerät "ABL 605" setzt sich aus den beiden Einzelgeräten "ABL 500" und "EML 100" zusammen.

3.5.2. Radiometer Copenhagen ABLTM 500® Gasanalyse

Der "ABL 500" misst den pH-Wert, den Kohlendioxidpartialdruck pCO₂, den Sauerstoffpartialdruck pO₂, Bicarbonat HCO_3^- , den aktuellen Basenüberschuss ABE und den Standart Basenüberschuss SBE. Im Folgenden werden die hier ausgewerteten Parameter beschrieben. Die Angaben basieren auf den Informationen der CD-Rom von Radiometer Training und Wissen.

<u>pH</u>

Der pH-Wert ist der negative, dekadische Logarithmus der Konzentration an H⁺-Ionen in einer Lösung. Er ist ein Maß für eine Azidämie oder Alkalämie.

<u>pO</u>₂

Der pO_2 ist der Sauerstoffpartialdruck im Blut. Er ist der Teildruck, unter dem Sauerstoff im Blut gelöst ist und stellt ein Maß für die O_2 -Aufnahme in der Lunge bzw. den gasaustauschenden Organen dar.

$\underline{pCO_2}$

Der pCO_2 ist der Kohlendioxidpartialdruck im Blut. CO_2 liegt im Blut als physikalisch gelöstes Gas vor. Mit pH-sensitiven Elektroden wird die Ionenaktivität des physikalisch gelösten CO_2 in Plasma gemessen.

<u>HCO3</u>⁻

Es wird die Bicarbonat-Konzentration im Plasma der Blutprobe gemessen. Der aktuelle HCO_3^- -Wert ist abhängig vom aktuellen pCO_2 .

Das Blutgasmessgerät besteht aus einer Nasssektion, einer Basiseinheit, einer Computereinheit, einer numerischen Tastatur und einer Kontrollstation. In der Nasssektion befindet sich die thermostatisierte Messkammer mit pH-, pCO₂- und der pO₂-Elektrode sowie einer Bezugselektrode. In dieser Messkammer werden die während der Messungen oder Kalibrierungen benutzten Flüssigkeiten und Gase auf eine Temperatur von 37 °C +/- 0,1 °C eingestellt, um die korrekten Messbedingungen einzuhalten. Die Nasssektion ist von der Basiseinheit getrennt. Dort findet der Lösungs- und Probentransport statt. Über die Basiseinheit mit Gasmischer wird die Nasssektion elektronisch gesteuert. Die Kommunikation zwischen Benutzer und dem Messgerät "ABL 500" erfolgt über eine Kontrollstation.

3.5.3. Radiometer Copenhagen EML 100TM Electrolyte Metabolite Laboratory®

Das "ABL 100" misst die Kaliumionen-Konzentration [K⁺], die Natriumionen-Konzentration [Na⁺], die Konzentration von ionisiertem Calcium [Ca²⁺], die Chloridionen-Konzentration [Cl⁻], Lactat und Glukose.

Das Gerät besteht aus Messstation mit Nasssektion, Basisstation und der Tastatur mit Display. In der Nasssektion befinden sich die Lösungen, die Pumpen sowie die thermostatisierte Einheit mit den K⁺-, Na⁺-, Ca²⁺-, Cl⁻-, Lactat- und Glukose-Elektroden. Die Basiseinheit enthält die Elektronik zur Steuerung der Nasssektion.

3.5.4. Radiometer Copenhagen OSM TM 3 Hämoximetrie

Mit dem OSM TM 3 wurde das Gesamthämoglobin (tHb), ermittelt. Das tHb in g/l ist die Gesamthämoglobin-Konzentration im Blut. Es schließt alle Dyshämoglobine mit ein. Das tHb stellt die potentielle Kapazität dar Sauerstoff zu transportieren.

<u>Hämatokrit</u>

Der Hämatokrit ist der Anteil der Erythrozyten am Blutvolumen. In einer heparinisierten Glaskapillare wurde Blut aufgesogen und anschließend zentrifugiert. Die Höhe der Blutkörperchensäule wurde abgelesen und in Prozent zum Gesamtvolumen angegeben.

3.6. Messung morphologischer Parameter

Bestimmung der Körper- und Herzmasse

Nach der Blut- und Amnionentnahme wurde der Embryo dekapitiert und der Dottersack entfernt. Anschließend wurde der Embryo mit Zellstoff abgetrocknet. Die Bestimmug der Körpermasse erfolgte mittels einer digitalen Feinwaage.

Nach Bestimmung der Körperfeuchtmasse wurde das Herz des Embryos entfernt und seine Masse wieder mittels digitaler Feinwaage bestimmt.

Bestimmung der Wasserverluste im Ei

Um die Wasserverluste zu messen, wurde die Differenz des Eigewichtes am Einlegetag und am jeweiligen Untersuchungstag gebildet.

3.7. Datenerfassung, Datenaufarbeitung, Statistik

Insgesamt wurden 522 Eier inkubiert, wovon jeweils die Hälfte Isa- bzw. Ross-Eier waren. Aufgrund von anatomischen Unterschieden im Ei, war es nicht möglich von jedem Ei Blut und Amnionflüssigkeit zu entnehmen. Pro Gruppe und Tag wurden Blut und Amnionflüssigkeit von fünf bis zehn Tieren gewonnen und untersucht. Die gewonnenen Daten wurden in Microsoft_® Excel 2003 erfasst, ausgewertet und grafisch aufbereitet. Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Add-In WinSTAT_® für Microsoft_® Excel in der Version 2009.1.

Zunächst wurden aus den erfassten Datenbanken die Mediane mit dem Add-In DigDB für Microsoft_® Excel (Version 7.1.3.3 von digdb.com) ermittelt, um anschließend die statistische

Signifikanz mit dem U-Test nach Mann-Whitney durchzuführen. Es wurde die strengere zweiseitige Fragestellung gewählt (p < 0.05).

Beim U-Test werden die Werte einer abhängigen Variable durch eine zweite, unabhängige Variable in zwei Gruppen unterteilt. Dadurch entstehen wieder zwei Reihen, von denen ausgegangen werden kann, dass sie unkorreliert sind. Es handelt sich hier um ein parameterfreies Verfahren, das daher keine bestimmte Verteilungsform (Normalverteilung der Variablen im t-Test) voraussetzt und auch für kleine Stichproben ($n \le 10$) geeignet ist (Sachs und Hedderich, 2009).

Zudem braucht die abhängige Variable nur ordinalskaliert zu sein, da nicht die Meßwerte selbst, sondern ihre Rangplätze verwendet werden. Für die Bestimmung der Prüfgröße U werden alle Beobachtungswerte zunächst in einer Folge aufsteigend sortiert und ihre Plätze (Ränge) durchnummeriert, um danach jeweils die Rangmittel der einzelnen Gruppen zu erhalten. Der U-Wert ergibt sich dann als die Anzahl der Inversionen (Umordnungen) der einzelnen Gruppenelemente die von der Extremverteilung zu der Beobachteten führt. Als Prüfgröße verwendet man den kleineren der beiden Werte.

Korrelationskoeffizienten

Um Zusammenhänge zwischen den Konzentrationsverläufen in Amnionflüssigkeit und Blut über das Alter der Embryonen besser erkennen zu können, wurden verschiedene lineare Korrelationskoeffizienten nach Bravais-Pearson (Excel-Funktion "KORREL" bzw. "Pearson") aus Tabelle 87 und Tabelle 9 der Zusammenfassung berechnet (siehe Tabelle 2).

Der Korrelationskoeffizient ist ein dimensionsloses Maß für den Grad des linearen Zusammenhangs zwischen zwei mindestens intervallskalierten Merkmalen. Er kann Werte zwischen –1 und +1 annehmen. Bei einem Wert von +1 (bzw. –1) besteht ein vollständig positiver (bzw. negativer) linearer Zusammenhang zwischen den betrachteten Merkmalen. Wenn der Korrelationskoeffizient den Wert 0 aufweist, hängen die beiden Merkmale überhaupt nicht linear voneinander ab. Allerdings ist die Aussage einer signifikanten Korrelation nur berechtigt, wenn der Korrelationskoeffizient eine "nennenswerte Höhe hat" bzw. auf einem hohen Niveau liegt.

4. Ergebnisse

Die nachfolgende Auswertung der Ergebnisse erfolgte nach dem Schema der Abbildung 8:

- 1. Parametervergleich zwischen Isa und Ross im Blut
- 2. Parametervergleich zwischen Isa und Ross in der Amnionflüssigkeit
- 3. Parametervergleich innerhalb der Rasse Isa
- 4. Parametervergleich innerhalb der Rasse Ross



Abbildung 8: Schema zur Auswertung der Ergebnisse

Nur bei den Parametern Hämoglobin, Glukose, Lactat und selbstverständlich bei den morphologischen Werten musste von diesem Schema abgewichen werden. Hämoglobin, Glukose und Lactat waren in der Amnionflüssigkeit nicht nachweisbar.

Im Anschluß an die Ergebnisbeschreibung der Elektrolyte nach dem Schema der Abbildung 8, folgt die Darstellung der Korrelationskoeffizienten als Einschub. Auch folgen Ergänzungen zur Morphologie (Differenz der Körpermassen und Differenz der reziproken relativen Herzmasse) und zur Eiatmung unter NV, die von oben genanntem Schema abweichen.

Die folgenden Abbildungen zeigen Medianwerte.

4.1. Ergebnisse zum pH



4.1.1. Vergleich der pH-Werte zwischen Isa und Ross im Blut

Abbildung 9: pH-Werte im Blut unter verschiedenen Inkubationen. Die nebeneinander gezeichneten farbigen Sterne zeigen die Signifikanz zwischen den gleichfarbig gezeichneten Linien des Diagramms am entsprechenden Tag.

Im Blut - allgemeiner Verlauf

Bei beiden Rassen sinkt der pH-Wert von D11 (max. 7,73) bis D18 (min. 7,47) kontinuierlich. Nur der pH-Wert von NV-Isa wird alkalischer an D16 und D18 (7,68 bzw. 7,65). Tendenziell hat Isa einen alkalischeren pH als Ross.

Vergleich Isa-Kontrolle und Ross-Kontrolle

Von D11 bis D18 unterscheiden sich die Werte der beiden Kontrollgruppen nur geringfügig. An D12 zeigt Isa jedoch einen signifikant alkalischeren pH als Ross (p = 0,01).

Vergleich Isa begast und Ross begast

Diese Gruppendaten zeigen bis D14 einen ähnlichen Verlauf. Ab D15 bis D17 gehen die pH-Werte der beiden Rassen auseinander, wobei Isa stets den höheren pH hat als Ross (z.B. D16 pH von Isa = 7,56 und pH von Ross = 7,48). Dieser Unterschied ist an D17 signifikant (p = 0,006).

Vergleich Isa nicht-ventiliert und Ross nicht-ventiliert

Unter NV zeigt Isa während des Untersuchungszeitraumes einen eindeutig alkalischeren pH als Ross. Signifikant ist dies an den letzten drei Untersuchungstagen (D16 p = 0,02, D17 p = 0,004 und D18 p= 0,01). Die pH-Medianwerte an diesen Tagen betragen im Einzelnen:

1. von Isa: D16 = 7,68; D17 = 7,6; D18 = 7,65 und

2. von Ross: D16 = 7,52; D17 = 7,49; D18 = 7,52.

4.1.2. Vergleich der pH-Werte zwischen Isa und Ross in der Amnionflüssigkeit



Abbildung 10: pH-Werte in der Amnionflüssigkeit unter verschiedenen Inkubationen

In der Amnionflüssigkeit – allgemeiner Verlauf

Von D10 (max. 6,87) bis D12 bzw. D13 (min. 6,47) sinkt der pH. Anschließend ist, unabhängig von den Inkubationsbedingungen, ein Anstieg des pH Wertes bis D18 (max. 6,87) zu erkennen. Die gemessenen pH-Werte an D18 entsprechen den Messwerten von D10.

Vergleich Isa-Kontrolle und Ross-Kontrolle

Bei beiden Rassen ist ein pH-Abfall jeweils an D12 (Isa) bzw. D13 (Ross) festzustellen. Im Vergleich zu den Gruppen "begast" und "nicht-ventiliert" ist der Abfall sehr moderat. Auch ein rapider Anstieg ab D13 ist nicht zu sehen, vielmehr stellt sich bis D15 bzw. D17 ein Plateau ein.

Vergleich Isa begast und Ross begast

Ross hat den tiefsten pH-Wert bereits an D12 erreicht (6,59), und er steigt zu D13 (6,75) rapide an. Isa hingegen hat den tiefsten pH erst an D13 (6,47) erreicht, um dann zu D14 (6,71) steil anzusteigen. Somit hat Ross an D13 einen signifikant alkalischeren pH als Isa (p = 0,0002).

Vergleich Isa nicht-ventiliert und Ross nicht-ventiliert (NV)

Ähnlich wie bei der begasten Gruppe sinkt bei Ross der pH bis D12 (6,54) und steigt zu D13 (6,61) an. Bei Isa hingegen sinkt der pH bis D13 (6,53) und steigt zu D14 (6,59) an. Folglich hat Ross an D13 wieder den alkalischeren pH gegenüber Isa, was auch für D14 und D15 zutrifft.



4.1.3. Vergleich der pH-Werte innerhalb der Rasse Isa

Abbildung 11: pH-Werte in Blut und Amnionflüssigkeit der Rasse Isa

Vergleich Blut und Amnionflüssigkeit

Während der pH-Wert im Blut von 7,73 bis 7,47 reicht, liegt der Bereich in der Amnionflüssigkeit wesentlich niedriger (pH von 6,87 bis 6,42).

Vergleich pH im Blut innerhalb der Rasse Isa unter verschiedenen Inkubationen

NV beeinflusst den pH-Wert im Blut von Isa. Die NV-Gruppe hat von D16 (7,68) bis D18 (7,65) einen alkalischeren pH als die Gas- und Kontrollgruppe (D16: 7,54; D18: 7,55). An D18 besteht eine Signifikanz der NV-Gruppe zur Kontrollgruppe (p = 0,04).

Ergebnisse

Vergleich pH in der Amnionflüssigkeit innerhalb der Rasse Isa unter verschiedenen Inkubationen

Wie bereits dargelegt, sinkt der pH-Wert bei beiden Versuchsgruppen bis D13, wohingegen die Kontrollgruppe eher einem Plateau folgt. Somit ist an D13 der pH-Wert der begasten Gruppe (6,47) signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe (6,7; p = 0,009).

Auch die NV-Gruppe hat einen niedrigeren pH-Wert an D13 (6,53). An D11 hat die NV-Gruppe einen signifikant höheren pH als die Kontrollgruppe (p = 0,03).



4.1.4. Vergleich der pH-Werte innerhalb der Rasse Ross

Abbildung 12: pH-Werte in Blut und Amnionflüssigkeit der Rasse Ross

Vergleich Blut und Amnionflüssigkeit

Auch bei Ross ist der pH-Wert der Amnionflüssigkeit (6,87 bis 6,54) wesentlich niedriger als der vom Blut (7,72 bis 7,5).

Vergleich pH im Blut innerhalb der Rasse Ross unter verschiedenen Inkubationen

Im Gegensatz zu Isa hat die NV-Gruppe mit Ausnahme von D10 und D15 durchgängig einen azidotischeren pH als die Kontrollgruppe. Auch die Gasgruppe zeigt von D14 bis D18 geringere pH-Werte als die Kontrolle.

Vergleich pH in der Amnionflüssigkeit innerhalb der Rasse Ross unter verschiedenen Inkubationen

Beide Versuchsgruppen haben an D12 einen niedrigeren pH als die Kontrollgruppe (Versuchsgruppen:6,54 bzw. 6,59 und Kontrollgruppe 6,79). Das gleiche Bild zeigt sich bei Isa (Versuchsgruppen: 6,47 bzw. 6,53 und Kontrollgruppe 6,7), jedoch einen Inkubationstag später an D13. Die Kontrollgruppe zeigt einen konstanten Verlauf, wohingegen die pH-Werte der Versuchsgruppen bis D17 ansteigen. An D17 hat die Gasgruppe mit p = 0,01 einen signifikant alkalischeren pH-Wert als die Kontrollgruppe (Gasgruppe: 6,8 und Kontrollgruppe: 6,67).

4.2. Ergebnisse zum pO₂



4.2.1. Vergleich der pO₂-Werte zwischen Isa und Ross im Blut

Abbildung 13: pO₂-Werte im Blut unter verschiedenen Inkubationen. Die nebeneinander gezeichneten farbigen Sterne zeigen die Signifikanz zwischen den gleichfarbig gezeichneten Linien des Diagramms am entsprechenden Tag.

Im Blut - allgemeiner Verlauf

Bei beiden Rassen sinkt der Sauerstoffpartialdruck im Allgemeinen von D11 bis D17 (10,89 kPa bis 5,67 kPa) bzw. D18 im Blut kontinuierlich. Eine Ausnahme bildet der pO₂ von NV-Isa. Er steigt von D14 (7,26 kPa) bis D16 (8,38 kPa) an. An den ersten beiden Untersuchungstagen hat Isa geringere Sauerstoffpartialdrücke als Ross. Das ändert sich an den letzten drei Untersuchungstagen, wenn Isa höhere Sauerstoffpartialdrücke zeigt als Ross.

Vergleich Isa-Kontrolle und Ross-Kontrolle

An D11 (p = 0,03) und D12 hat Ross einen höheren pO_2 als Isa. Zum Ende der Inkubation, von D16 bis D18, hat Isa den eindeutig höheren pO_2 gegenüber Ross. Beide Kontrollgruppen zeigen von D17 zu D18 einen leichten Anstieg im Sauerstoffpartialdruck.

Vergleich Isa begast und Ross begast

Auch unter Begasung hat Ross an D11 und D12 einen höheren pO_2 als Isa. An D17 hat die begaste Ross-Gruppe (5,67 kPa) einen signifikant geringeren pO_2 im Blut als die begaste Isa-Gruppe (6,4 kPa). Auch der pO_2 der begasten Ross-Gruppe steigt von D17 zu D18 an.

Vergleich Isa nicht-ventiliert und Ross nicht-ventiliert (NV)

Von D11 bis D14 sinkt der pO₂ im Blut der NV-Gruppen, wobei Isa den geringeren pO₂ zeigt als Ross. Ab D15 beginnt der pO₂ bei NV-Isa zu steigen und der pO₂ bei NV-Ross rapide zu sinken. Somit hat NV-Ross von D16 (6,05 kPa) bis D18 (5,94 kPa) einen signifikant geringeren pO₂ im Blut als Isa (8,38 kPa bzw. 7,38 kPa) unter NV-Bedingungen (D16 p = 0,002; D17 p = 0,02; D18 p = 0,02).

4.2.2. Vergleich der pO₂-Werte zwischen Isa und Ross in der Amnionflüssigkeit



Abbildung 14: pO2-Werte in der Amnionflüssigkeit unter verschiedenen Inkubationen

In der Amnionflüssigkeit – allgemeiner Verlauf

Von D10 (max. 8,27 kPa) bis D14 (min. 5,26 kPa) bzw. D15 (min. 4,73 kPa) ist ein Abfall des pO_2 in der Amnionflüssigkeit zu sehen. Von D15 bis D17 (max. 7,29 kPa) steigen die

Sauerstoffpartialdrücke an. Nur NV-Isa sticht an D14 (8,12 kPa) durch einen pO_2 -Peak hervor.

Vergleich Isa-Kontrolle und Ross-Kontrolle

Von D10 bis D14 fällt der pO_2 in beiden Gruppen ohne signifikante Unterschiede. Zu D15 steigt der pO_2 in der Amnionflüssigkeit von Ross (5,97 kPa), wohingegen der pO_2 in der Isa-Gruppe (4,95 kPa) weiter sinkt. Somit hat Ross an D15 einen signifikant höheren pO_2 als Isa (p = 0,01). In der Isa-Gruppe steigt der pO_2 erst zu D17 an. An D17 hat Isa (6,68 kPa) einen signifikant höheren pO_2 als Ross (5,28 kPa; p = 0,02). Bei Isa sinkt der pO_2 zu D18.

Vergleich Isa begast und Ross begast

Während des gemessenen Zeitraums unterscheiden sich die Rassen unter Begasung nicht signifikant.

Vergleich Isa nicht-ventiliert und Ross nicht-ventiliert (NV)

An D10 hat NV-Ross (7,72 kPa) einen signifikant höheren pO_2 in der Amnionflüssigkeit als NV-Isa (6,89 kPa; p = 0,03). An D14 steigt der pO_2 bei NV-Isa und fällt zu D15 gleich wieder. Somit hat NV-Isa (8,12 kPa) an D14 einen signifikant höheren pO_2 als Ross (5,34 kPa; p = 0,02).



4.2.3. Vergleich der pO2-Werte innerhalb der Rasse Isa

Abbildung 15: pO2-Werte in Blut und Amnionflüssigkeit der Rasse Isa

Vergleich Blut und Amnionflüssigkeit

An D11, D12 und D13 werden pO₂-Werte von 10,29 kPa bis 9,06 kPa im Blut gemessen. Im Vergleich dazu zeigt die Amnionflüssigkeit niedrigere Werte von 7,64 kPa bis 5,52 kPa. Ab D14 nähern sich die Sauerstoffpartialdrücke zwischen beiden Flüssigkeiten stetig an.

Vergleich des pO2 im Blut innerhalb der Rasse Isa unter verschiedenen Inkubationen

Von D11 bis D13 unterscheidet sich der pO_2 im Blut der Inkubationsgruppen kaum. An D14 sinkt der pO_2 in der NV-Gruppe rapide ab (7,26 kPa), so dass ein signifikant geringerer pO_2 im Blut der NV-Gruppe gegenüber der Kontrollgruppe herrscht (8,85 kPa; p = 0,01). Nachfolgend ist ein Anstieg im pO_2 der NV-Gruppe (D16: 8,38 kPa) zu erkennen, während der pO_2 der Kontrollgruppe (D16: 7,37 kPa) fällt.

Die Gasgruppe zeigt von D15 bis D18 geringere Sauerstoffpartialdrücke als die Kontrollgruppe.

Vergleich pO₂ in der Amnionflüssigkeit innerhalb der Rasse Isa unter verschiedenen Inkubationen

Wie im Blut unterscheidet sich der pO_2 in der Amnionflüssigkeit von D11 bis D13 kaum zwischen den Gruppen. An D14 steigt der pO_2 der NV-Gruppe in der Amnionflüssigkeit rapide an, so dass die NV-Gruppe (8,12 kPa) einen signifikant höheren pO_2 besitzt als die Kontrollgruppe (5,97 kPa; p = 0,03). Auch an den folgenden vier Untersuchungstagen zeigt sich in der Amnionflüssigkeit der NV-Gruppe ein höherer pO_2 als bei der Kontrollgruppe. Dieser ist an D15 und D18 statistisch signifikant (p = 0,03 bzw. 0,004).

Auch die begaste Gruppe zeigt in den letzten Untersuchungstagen einen höheren pO_2 gegenüber der Kontrollgruppe. Dieser ist dann schließlich an D18 signifikant (p = 0,02).



4.2.4. Vergleich der pO₂-Werte innerhalb der Rasse Ross

Abbildung 16: pO₂-Werte in Blut und Amnionflüssigkeit der Rasse Ross

Vergleich Blut und Amnionflüssigkeit

Von D11 bis D16 nähern sich die Sauerstoffpartialdrücke immer stärker an, so dass an D17 und D18 gleiche pO_2 -Werte in Blut und Amnionflüssigkeit von ca. 5 kPa bis 7 kPa herrschen.

Vergleich des pO2 im Blut innerhalb der Rasse Ross unter verschiedenen Inkubationen

Weder Begasung noch NV haben signifikanten Einfluss auf den pO₂ im Blut der Rasse Ross.

Vergleich pO₂ in der Amnionflüssigkeit innerhalb der Rasse Ross unter verschiedenen Inkubationen

Weder Begasung noch NV haben signifikanten Einfluss auf den pO_2 in der Amnionflüssigkeit von Ross.

4.3. Ergebnisse zum pCO₂



4.3.1. Vergleich der pCO₂-Werte zwischen Isa und Ross im Blut

Abbildung 17: pCO₂-Wert im Blut unter verschiedenen Inkubationen. Die nebeneinander gezeichneten farbigen Sterne zeigen die Signifikanz zwischen den gleichfarbig gezeichneten Linien des Diagramms am entsprechenden Tag.

Im Blut - allgemeiner Verlauf

Der pCO₂ steigt bei beiden Rassen, unabhängig von den Inkubationsbedingungen, mit dem Alter rapide an (D11 min. 1,6 kPa und D18 max. 5,41 kPa). Ab D15 hat Ross tendenziell höhere pCO₂-Werte als Isa.

Vergleich Isa-Kontrolle und Ross-Kontrolle

Die Rasse Ross zeigt ab D14 einen höheren pCO₂ gegenüber der Rasse Isa. An D18 hat Ross einen Median von 5,41 kPa und Isa von 4,49 kPa.

Vergleich Isa begast und Ross begast

Mit Ausnahme von D11 und D18 kann bei Ross ein höherer CO_2 - Partialdruck nachgewiesen werden als bei Isa. An D16 unterscheiden sich die Werte um 0,76 kPa.

Vergleich Isa nicht-ventiliert und Ross nicht-ventiliert

Unter NV treten signifikante Unterschiede im pCO_2 zwischen den Rassen auf. Von D11 bis D18 hat Ross einen höheren pCO_2 im Blut als Isa, der in den letzten drei Untersuchungstagen statistisch signifikant ist (D16 = 0,004, D17 = 0,03, D18 = 0,003). Die Zahlen unterscheiden sich an D16 um 2,56 kPa, an D17 um 1,17 kPa und an D18 um 1,91 kPa.



4.3.2. Vergleich der pCO₂-Werte zwischen Isa und Ross in der Amnionflüssigkeit

Abbildung 18: pCO₂-Werte in der Amnionflüssigkeit unter verschiedenen Inkubationen

In der Amnionflüssigkeit – allgemeiner Verlauf

Der pCO_2 steigt von D10 (min. 2,34 kPa) bis D15 (max. 6,82 kPa) in allen Gruppen kontinuierlich. Von D15 bis D18 (max. 6,8 kPa) stellt sich ein Plateau ein. In der zweiten Hälfte der Inkubation zeigt Ross eindeutig höhere CO₂-Partialdrücke in der Amnionflüssigkeit als Isa.

Vergleich Isa-Kontrolle und Ross-Kontrolle

Ab D14 ist der pCO_2 in der Amnionflüssigkeit von Ross höher als bei Isa. Signifikant höhere pCO_2 -Werte konnten bei Ross an D14, D17 und D18 nachgewiesen werden (p = 0,04; 0,0006 und 0,04). Die Absolutwerte unterscheiden sich an D14 um 0,97 kPa, an D17 um 1 kPa und an D18 um 0,76 kPa.

Vergleich Isa begast und Ross begast

Ab D13 liegen die Medianwerte des pCO_2 der Amnionflüssigkeit von Ross über denen von Isa.

Vergleich Isa nicht-ventiliert und Ross nicht-ventiliert

Ab D14 ist der pCO_2 in der Amnionflüssigkeit von Ross im Allgemeinen höher als bei Isa. Signifikant höhere Werte des pCO_2 von Ross konnten an D14 und D16 statistisch sicher nachgewiesen werden (p = 0,001 und 0,01). Die Werte unterscheiden sich an D14 um 1,7 kPa und an D16 um 1,2 kPa.





4.3.3. Vergleich der pCO₂-Werte innerhalb der Rasse Isa

Abbildung 19: pCO₂-Werte in Blut und Amnionflüssigkeit der Rasse Isa

Vergleich Blut und Amnionflüssigkeit

Während die CO_2 -Partialdrücke in der Amnionflüssigkeit von min. 2,34 kPa bis max. 6,82 kPa reichen, liegen sie im Blut bei min. 1,6 kPa bis max. 4,85 kPa.

Vergleich des pCO2 im Blut innerhalb der Rasse Isa unter verschiedenen Inkubationen

Die Gasgruppe hat in der Tendenz einen höheren pCO_2 als die Kontrollgruppe. An D12 ist dies signifikant (p = 0,03). An D12 beträgt der Medianwert der Kontrollgruppe 1,92 kPa und der von der Gasgruppe 2,5 kPa.

Die NV-Gruppe zeigt von D16 (2,85 kPa) bis D18 (3,16 kPa) einen geringeren p CO_2 im Blut als die Kontrollgruppe (3,84 kPa bzw. 4,49 kPa).

Vergleich pCO₂ in der Amnionflüssigkeit innerhalb der Rasse Isa unter verschiedenen Inkubationen

An D10 haben beide Versuchsgruppen einen höheren pCO_2 als die Kontrollgruppe. Ansonsten liegen die CO₂-Partialdrücke in der Amnionflüssigkeit der drei Gruppen dicht beieinander. Lediglich an D18 hat die Gasgruppe (6,82 kPa) einen signifikant höheren pCO_2 -Wert als die Kontrollgruppe (6,04 kPa; p = 0,02).



4.3.4. Vergleich der pCO₂-Werte innerhalb der Rasse Ross

Abbildung 20: pCO2-Werte in Blut und Amnionflüssigkeit der Rasse Ross

Vergleich Blut und Amnionflüssigkeit

Die CO₂-Partialdrücke in Blut und Amnionflüssigkeit liegen am Anfang und am Ende des Untersuchungszeitraumes nah beieinander und differieren zur Mitte. Sie unterscheiden sich an D12 um 0,21 kPa, an D15 um 2,99 kPa und an D18 um 0,91 kPa.

Vergleich des pCO₂ im Blut innerhalb der Rasse Ross unter verschiedenen Inkubationen

Beide Versuchsgruppen haben tendenziell höhere CO₂-Partialdrücke als die Kontrollgruppe.

Vergleich pCO₂ in der Amnionflüssigkeit innerhalb der Rasse Ross unter verschiedenen Inkubationen

An D10 hat die Gasgruppe (3,64 kPa) einen signifikant höheren pCO₂ als die Kontrollgruppe (2,44 kPa; p = 0,01). Auch an D12 haben beide Versuchsgruppen einen signifikant höheren pCO₂ als die Kontrollgruppe (p für NV = 0,01 und p für Gas = 0,003). Die Werte unterscheiden sich um 1,43 kPa bzw. um 1,14 kPa. An D16 ist der pCO₂ in der NV-Gruppe (7,1 kPa) signifikant erhöht gegenüber der Kontrollgruppe (6,58 kPa; p = 0,03).

4.4. Ergebnisse zum HCO₃⁻



4.4.1. Vergleich der HCO₃⁻-Werte zwischen Isa und Ross im Blut

Abbildung 21: HCO₃-Werte im Blut unter verschiedenen Inkubationen. Die nebeneinander gezeichneten farbigen Sterne zeigen die Signifikanz zwischen den gleichfarbig gezeichneten Linien des Diagramms am entsprechenden Tag.

Im Blut - allgemeiner Verlauf

HCO₃⁻ steigt mit zunehmender Inkubationszeit von 17 mmol/l bis 31,1 mmol/l an.

Vergleich Isa-Kontrolle und Ross-Kontrolle

Unter Kontrollbedingungen ist der Gehalt an HCO_3^- von D11 bis D17 im Blut beider Rassen ähnlich. Nur an D18 ist der HCO_3^- -Gehalt der Rasse Isa (26,3 mmol/l) signifikant geringer als der von Ross (29,9 mmol/l; p = 0,01).

Vergleich Isa begast und Ross begast

Unter der Begasung konnten zwischen beiden Rassen keine bedeutsamen Unterschiede (keine Signifikanzen) festgestellt werden.

Vergleich Isa nicht-ventiliert und Ross nicht-ventiliert (NV)

Unter der NV driften die HCO_3^- -Werte zwischen Isa und Ross mit zunehmendem Alter auseinander. An D12, D14 und D16 hat Ross einen signifikant höheren Gehalt an HCO_3^- im Blut als Isa (p = 0,04; 0,001 und 0,004). Die absoluten Medianwerte von Isa betragen an D12

= 18,1 mmol/l, an D14 = 22,8 mmol/l und an D16 = 26,1 mmol/l. Die Medianwerte von Ross zeigen an D12 = 22,2 mmol/l, an D14 = 27,7 mmol/l und an D16 = 31,6 mmol/l.



4.4.2. Vergleich der HCO₃⁻-Werte zwischen Isa und Ross in der Amnionflüssigkeit

Abbildung 22: HCO3 -Werte in der Amnionflüssigkeit unter verschiedenen Inkubationen

In der Amnionflüssigkeit - allgemeiner Verlauf

Von D10 bis D12 bzw. D13 sinkt der HCO₃-Gehalt leicht von max. 4,2 mmol/l bis min. 2,1 mmol/l. Anschließend steigt Bikarbonat mit zunehmender Inkubationszeit stetig bis max. 8,6 mmol/l an.

Vergleich Isa-Kontrolle und Ross-Kontrolle

Unter Kontrollbedingungen unterscheidet sich der HCO₃⁻-Gehalt in der Amnionflüssigkeit zwischen Ross und Isa nicht signifikant. Ross zeigt jedoch tendenziell mehr HCO₃⁻ in der Amnionflüssigkeit.

Vergleich Isa begast und Ross begast

Von D12 zu D13 steigt HCO_3^- in der Amnionflüssigkeit von Ross stark an. Bei Isa sinkt HCO_3^- bis D13 und steigt erst danach an, so dass Ross an D13 einen signifikant höheren HCO_3^- -Gehalt in der Amnionflüssigkeit hat als Isa (p = 0,0001). Auch an D17 ist HCO_3^- bei der Rasse Ross signifikant gegenüber Isa erhöht (p= 0,01). Die Medianwerte von Ross sind an D13 um 3 mmol/l und an D17 um 1,75 mmol/l gegenüber Isa erhöht.

Vergleich Isa nicht-ventiliert und Ross nicht-ventiliert

Von D10 bis D13 liegen die HCO_3 -Gehalte in der Amnionflüssigkeit beider Rassen dicht beieinander. An D14 steigt HCO_3 bei Ross rapide an, so dass Ross an D14 einen signifikant höheren HCO_3 -Gehalt in der Amnionflüssigkeit besitzt als Isa (p = 0,002). Die Medianwerte von Ross sind an D14 um 2,3 mmol/l an D16 um 1,5 mmol/l und an D17 um 1,75 mmol/l gegenüber Isa erhöht.



4.4.3. Vergleich der HCO₃⁻-Werte innerhalb der Rasse Isa

Abbildung 23: HCO₃⁻-Werte in Blut und Amnionflüssigkeit der Rasse Isa

Vergleich Blut und Amnionflüssigkeit

Während die HCO₃⁻-Gehalte im Blut von 17 mmol/l bis 31,21 mmol/l reichen, liegen sie in der Amnionflüssigkeit mit 3 mmol/l bis 6,8 mmol/l wesentlich niedriger als im Blut.

Vergleich HCO3⁻ im Blut innerhalb der Rasse Isa unter verschiedenen Inkubationen

Die HCO_3^- -Gehalte der beiden Versuchsgruppen und der Kontrollgruppe unterscheiden sich geringfügig. Nur an D11 ist ein signifikant höherer Gehalt an HCO_3^- in der Gasgruppe gegenüber der Kontrollgruppe zu sehen (p = 0,04).

Vergleich HCO₃⁻ in der Amnionflüssigkeit innerhalb der Rasse Isa unter verschiedenen Inkubationen

Während der ersten Untersuchungstage zeigen sich signifikante Unterschiede zwischen Versuchs- und Kontrollgruppen.

An D10 und D11 haben sowohl die Gas- als auch die NV-Gruppe signifikant höhere HCO_3^- Gehalte als die Kontrollgruppe (p von NV = 0,03 an D10 und 0,001 an D11; p von Gas = 0,007 an D10 und 0,02 an D11). An D13 zeigt die Gasgruppe jedoch einen signifikant geringeren HCO_3^- -Gehalt in der Amnionflüssigkeit als die Kontrollgruppe (p = 0,01).



4.4.4. Vergleich der HCO₃-Werte innerhalb der Rasse Ross

Abbildung 24: HCO3 - Werte in Blut und Amnionflüssigkeit der Rasse Ross

Vergleich Blut und Amnionflüssigkeit

Während die HCO₃⁻Werte im Blut von 18 mmol/l bis 31,6 mmol/l reichen, fallen sie in der Amnionflüssigkeit mit 2,95 mmol/l bis 8,6 mmol/l deutlich niedriger aus.

Vergleich HCO3⁻ im Blut innerhalb der Rasse Ross unter verschiedenen Inkubationen

Die NV-Gruppe zeigt tendenziell höhere HCO_3^- -Gehalte im Blut als die Kontrollgruppe. An D16 hat die NV-Gruppe (31,6 mmol/l) einen signifikant höheren Gehalt an HCO_3^- im Blut als die Kontrollgruppe (27,5 mmol/l; p = 0,03).

Gas- und Kontrollgruppe unterscheiden sich kaum.

Vergleich HCO₃⁻ in der Amnionflüssigkeit innerhalb der Rasse Ross unter verschiedenen Inkubationen

An D12 ist der HCO_3^- -Gehalt der Gasgruppe signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe (p = 0,01). Die absoluten Medianwerte der verschiedenen Gruppen weisen allerdings eine geringe Differenz auf.

4.5. Ergebnisse zum Hämoglobin



4.5.1. Vergleich der Hb-Werte zwischen Isa und Ross

Abbildung 25: Hämoglobingehalte im Blut unter verschiedenen Inkubationen. Die nebeneinander gezeichneten farbigen Sterne zeigen die Signifikanz zwischen den gleichfarbig gezeichneten Linien des Diagramms am entsprechenden Tag.

Im Blut - allgemeiner Verlauf

Der Gehalt an Hb im Blut steigt kontinuierlich von D11 (min. 3,28 mmol/l) bis D18 (max. 6,67 mmol/l). Ross hat höhere Hämoglobingehalte als Isa.

Vergleich Isa-Kontrolle und Ross-Kontrolle

Ross hat einen signifikant höheren Gehalt an Hb im Blut als Isa (D11 p = 0,01, D16 p = 0,03 und D18 p = 0,03). Die Mediane von Ross liegen um ca. 1 mmol/l höher als die von Isa.

Vergleich Isa begast und Ross begast

Auch unter Begasung hat Ross einen signifikant höheren Gehalt an Hb. Die Signifikanzen sind stärker als in den Kontrollgruppen (D11 p = 0,02, D12 p = 0,02, D14 p = 0,04, D17 p = 0,006 und D18 p = 0,0004). Die Mediane von Ross liegen zum Teil um ca. 1,3 mmol/l bis 1,5 mmol/l höher als bei Isa.

Vergleich Isa nicht-ventiliert und Ross nicht-ventiliert

Unter NV hat Ross einen signifikant höheren Hb-Gehalt (D11 p = 0,002, D12 p = 0,01, D15 p = 0,003, D16 p = 0,005 und D17 p = 0,03). Die Medianwerte von Ross sind um ca. 1,10 mmol/l erhöht gegenüber Isa.



4.5.2. Vergleich der Hb-Werte innerhalb der Rasse Isa

Vergleich Hb im Blut innerhalb der Rasse Isa unter verschiedenen Inkubationen

Es gibt keine deutlichen Unterschiede zwischen den Gruppen. Die NV-Gruppe hat einen gering erhöhten Hb-Gehalt gegenüber der Kontrollgruppe.

Abbildung 26: Hämoglobingehalte im Blut der Rasse Isa





4.5.3. Vergleich der Hb-Werte innerhalb der Rasse Ross

Abbildung 27: Hämoglobingehalte im Blut der Rasse Ross

Vergleich Hb im Blut innerhalb der Rasse Ross unter verschiedenen Inkubationen

Von D11 bis D17 hat die NV-Gruppe 0,2 mmol/l bis 0,4 mmol/l höhere Hb-Gehalte als die Kontrolle. Dasselbe gilt für die Gasgruppe, jedoch mit Ausnahme von D11 und D16.

4.6. Ergebnisse zum Hämatokrit



4.6.1. Vergleich der Hkt-Werte zwischen Isa und Ross

Abbildung 28: Hämatokrit im Blut unter verschiedenen Inkubationen. Die nebeneinander gezeichneten farbigen Sterne zeigen die Signifikanz zwischen den gleichfarbig gezeichneten Linien des Diagramms am entsprechenden Tag.

Im Blut - allgemeiner Verlauf

Der Hkt steigt von durchschnittlich 28 % an D12 auf ca. 32 % bei Isa und ca. 36 % bei Ross. Ab D16 existiert eine Differenz zwischen den Rassen in der Abbildung.

Vergleich Isa-Kontrolle und Ross-Kontrolle

Ab D15 hat Ross einen höheren Hkt als Isa. Im Gegensatz zu Ross steigt der Hkt von Isa ab D16 nicht mehr, so dass an D18 eine deutliche Signifikanz zwischen den Rassen auftritt (p = 0,0007). Ross hat von D15 bis zum Ende der Inkubation einen um 2 % bis 5 % höheren Hkt als Isa.

Vergleich Isa begast und Ross begast

Auch unter Begasung hat Ross einen höheren Hkt als Isa. Im Gegensatz zu Ross steigt der Hkt von Isa ab D14 nicht mehr, so dass an D17 ein signifikanter Unterschied auftritt (p = 0.02). Der Unterschied zwischen den Rassen von D15 bis D18 beträgt 2 % bis 8 %.

Vergleich Isa nicht-ventiliert und Ross nicht-ventiliert

Ab D15 hat Ross signifikant höhere Hkt-Werte als Isa (D16 p = 0,01, D17 p = 0,02 und D18 p = 0,02). Der Hkt von Ross liegt um 3 % bis 6 % höher als bei Isa.



4.6.2. Vergleich der Hkt-Werte innerhalb der Rasse Isa

Vergleich vom Hkt im Blut innerhalb der Rasse Isa unter verschiedenen Inkubationen

Bis D15 zeigt die Gasgruppe einen um 1 % bis 4 % höheren Hkt als die Kontrollgruppe. An D12 hat die NV-Gruppe (29 %) einen signifikant höheren Hkt als die Kontrollgruppe (25 %; p = 0,04).

Abbildung 29: Hämatokrit im Blut der Rasse Isa



4.6.3. Vergleich der Hkt-Werte innerhalb der Rasse Ross

Abbildung 30: Hämatokrit im Blut der Rasse Ross

Vergleich vom Hkt im Blut innerhalb der Rasse Ross unter verschiedenen Inkubationen

Die Gasgruppe hat einen 2 bis 4 % igen höheren Hämatokrit als die Kontrollgruppe. Signifikanzen treten auf an D14 mit p = 0,02 und an D17 mit p = 0,03. Auch die NV-Gruppe ist bis D16 um 1 % bis 5 % höher im Hkt als die Kontrolle (D14 p = 0,02).

4.7. Ergebnisse zur Glukosekonzentration



4.7.1. Vergleich der Glukosekonzentration zwischen Isa und Ross

Abbildung 31: Glukosegehalte im Blut unter verschiedenen Inkubationen. Die nebeneinander gezeichneten farbigen Sterne zeigen die Signifikanz zwischen den gleichfarbig gezeichneten Linien des Diagramms am entsprechenden Tag.

Im Blut - allgemeiner Verlauf

Der Glukosegehalt steigt von D11 (min. 6,32 mmol/l) bis D16 bzw. D17 (max. 10,35 mmol/l). Von D17 zu D18 sinkt er jedoch (min. 7,49 mmol/l).

Vergleich Isa-Kontrolle und Ross-Kontrolle

Während des Untersuchungszeitraumes ist der Glukosegehalt im Blut von Isa höher als der von Ross. An D11 ist dieser Unterschied signifikant (p = 0,04). Isa hat an D11, D12, D15 und D18 einen um ca. 1 mmol/l bis 1,5 mmol/l höheren Glukosegehalt im Blut als Ross.

Vergleich Isa begast und Ross begast

Bis D17 hat Isa einen um 0,3 mmol/l bis 0,5 mmol/l höheren Glukosegehalt als Ross. Jedoch sinkt der Glukosegehalt im Blut von Isa von D17 zu D18 rapide ab, so dass Ross an D18 einen signifikant höheren Glukosegehalt gegenüber Isa aufweist (p = 0,01).

Vergleich Isa nicht-ventiliert und Ross nicht-ventiliert

An D12, D13, D17 und D18 hat Isa signifikant höhere Glukosegehalte im Blut als Ross (D12 p = 0.01, D13 p = 0.006, D17 p = 0.03 und D18 p = 0.01). Diese unterscheiden sich an D12 und D13 um ca. 0.6 mmol/l und an D17 und D18 um ca. 1 mmol/l.



4.7.2. Vergleich der Glukosekonzentration innerhalb der Rasse Isa

Abbildung 32: Glukosegehalte im Blut der Rasse Isa

Vergleich Glukose im Blut innerhalb der Rasse Isa unter verschiedenen Inkubationen

An D12, D13, D14, D17 und D18 hat die NV-Gruppe höhere Glukosegehalte als die Kontrollgruppe. Dieser Unterschied ist an D12 und an D17 signifikant (D12 p = 0,007 und D17 p = 0,01). Die NV-Gruppe hat mit 0,3 mmol/l bis 0,7 mmol/l mehr Glukose im Blut als die Kontrolle.

Von D13 bis D18 weist die begaste Gruppe geringere Glukosegehalte im Blut auf als die Kontrolle (D13 p = 0,0005 und D18 p = 0,01). Die Unterschiede reichen von 1 mmol/l an D13 und 0,3 mmol/l an D14 bis ca. 2 mmol/l an D18.





4.7.3. Vergleich der Glukosekonzentration innerhalb der Rasse Ross

Abbildung 33: Glukosegehalte im Blut der Rasse Ross

Vergleich Glukose im Blut innerhalb der Rasse Ross unter verschiedenen Inkubationen

Die NV-Gruppe hat höhere Glukosewerte als die Kontollgruppe. Dieser Unterschied ist an D11, D12 und D15 signifikant (D11 p = 0,01, D12 p = 0,03 und D15 p = 0,01). Die NV-Gruppe hat an D11 einen um 2 mmol/l höheren, an D12 einen um 1,5 mmol/l höheren und an D15 einen um 1,1 mmol/l höheren Glukosegehalt als die Kontrollgruppe.

Die Gasgruppe zeigt an D11 und D12 ca. 1,2 mmol/l mehr Glukose im Blut als die Kontrollgruppe. Ab D13 übertrifft die Kontrolle den Glukosegehalt der Gasgruppe um bis zu 0,7 mmol/l.

4.8. Ergebnisse zur Lactatkonzentration



4.8.1. Vergleich der Lactatkonzentration zwischen Isa und Ross

Abbildung 34: Lactatgehalte im Blut unter verschiedenen Inkubationen. Die nebeneinander gezeichneten farbigen Sterne zeigen die Signifikanz zwischen den gleichfarbig gezeichneten Linien des Diagramms am entsprechenden Tag

Im Blut – allgemeiner Verlauf

Der Lactatgehalt im Blut sinkt von max. 2,35 mmol/l auf min. 0,9 mmol/l zum Ende des Untersuchungszeitraumes

Vergleich Isa-Kontrolle und Ross-Kontrolle

Von D11 bis D15 hat Ross einen um 0,15 mmol/l bis 0,75 mmol/l höheren Lactatgehalt im Blut. Zu D16 sinkt die Lactatkonzentration bei Ross und steigt bei Isa, so dass dann umgekehrte Verhältnisse herrschen und Ross an D18 einen mit 0,8 mmol/l signifikant niedrigeren Lactatspiegel aufweist als Isa (p = 0,004).

Vergleich Isa begast und Ross begast

An D11 und D12 hat Ross ca. 0,3 mmol/l bis 0,5 mmol/l weniger Lactat als Isa. An D13 gibt es einen Lactatpeak (2,1 mmol/l) bei Ross, der zu D14 (1,4 mmol/l) wieder abfällt, so dass Ross ab D15 0,3 mmol/l weniger Lactat hat als Isa. An D17 zeigen beide Rassen unter der Begasung einen Lactatpeak, der zu D18 bei beiden wieder absinkt.

Vergleich Isa nicht-ventiliert und Ross nicht-ventiliert

An D12 und D14 zeigt Ross einen um 0,2 mmol/l bis 0,3 mmol/l geringeren Lactatspiegel im Blut als Isa. Sonst sind keine Unterschiede.





Vergleich Lactat im Blut innerhalb der Rasse Isa unter verschiedenen Inkubationen

An D13, D14 und D18 hat die NV-Gruppe mehr Lactat im Blut als die Kontrollgruppe.

Die Gasgruppe zeigt bis D16 einen ähnlichen Verlauf wie die Kontrollgruppe. An D17 zeigt die Gasgruppe einen Lactatpeak (2,55 mmol/l). Zu D18 gibt es einen rapiden Lactatabfall und die begaste Gruppe hat einen signifikant niedrigeren Lactatspiegel als die Kontrolle (p = 0,03).

Abbildung 35: Lactatgehalte im Blut der Rasse Isa



4.8.3. Vergleich der Lactatkonzentration innerhalb der Rasse Ross

Abbildung 36: Lactatgehalte im Blut der Rasse Ross

Vergleich Lactat im Blut innerhalb der Rasse Ross unter verschiedenen Inkubationen

Die Lactatkonzentration der Kontrollgruppe ist an D11, D12, D14 und D15 höher als in der Gasgruppe. An den letzten drei Untersuchungstagen kehrt sich das Verhältnis um und die Gasgruppe zeigt höhere Lactatspiegel.

Von D11 bis D17 gibt es keine Unterschiede zwischen der NV-Gruppe und der Gasgruppe. An D18 fällt der Lactatgehalt der Kontrollgruppe rapide ab, so dass die NV-Gruppe mit p = 0,003 einen signifikant höheren Lactatgehalt hat als die Kontrolle.

4.9. Ergebnisse zu den Kaliumwerten



4.9.1. Vergleich der K⁺-Werte zwischen Isa und Ross im Blut

Abbildung 37: K⁺-Gehalt im Blut unter verschiedenen Inkubationen. Die nebeneinander gezeichneten farbigen Sterne zeigen die Signifikanz zwischen den gleichfarbig gezeichneten Linien des Diagramms am entsprechenden Tag.

Im Blut - allgemeiner Verlauf

Der K⁺-Gehalt im Blut steigt mit der Inkubationszeit (von min. 3,55 mmol/l bis max. 4,65 mmol/l). An D13 hat Ross, unabhängig von der Inkubation, signifikant höhere K⁺-Gehalte als Isa.

Vergleich Isa-Kontrolle und Ross-Kontrolle

Von D11 bis D13 hat Ross einen um bis zu 0,75 mmol/l höheren K⁺-Spiegel als Isa, der an D13 mit p = 0,04 signifikant ist. Anschließend steigt der K⁺-Gehalt bei Isa stark an, so dass Isa Werte von 4,3 mmol/l bis 4,65 mmol/l und Ross Werte von 4,1 mmol/l bis 4,4 mmol/l von D15 bis D18 zeigt. An D18 hat Isa signifikant (p = 0,04) mehr K⁺ im Blut.

Vergleich Isa begast und Ross begast

Auch unter Begasung hat Ross von D11 bis D14 einen um bis zu 0,5 mmol/l höheren K⁺-Spiegel als Isa, der an D13 mit p = 0,01 signifikant ist. Auch diesmal steigt der K⁺-Gehalt bei Isa zu D15 stark an, so dass Isa an D16 einen um 0,8 mmol/l signifikant höheren K⁺-Gehalt hat als Ross (p = 0,02). Zu D18 sinkt K⁺ im Blut von Isa wieder, so dass nun Ross signifikant mehr K⁺ im Blut aufweist als Isa (p = 0,009).
Vergleich Isa nicht-ventiliert und Ross nicht-ventiliert

Wiederum hat Ross an D12 und D13, mit einer Signifikanz von p = 0,01 an D13, einen um bis zu 0,8 mmol/l höheren K⁺-Gehalt im Blut als Isa. Diesmal steigt K⁺ jedoch in beiden Rassen an, so dass Ross von D15 bis D18 mehr K⁺ hat als Isa. Die Unterschiede betragen bis zu 0,7 mmol/l. Auffällig ist, dass in beiden Rassen K⁺ an D15 steigt und zu D16 sinkt.



4.9.2. Vergleich der K⁺-Werte zwischen Isa und Ross in der Amnionflüssigkeit

Abbildung 38: K⁺-Gehalte in der Amnionflüssigkeit unter verschiedenen Inkubationen

In der Amnionflüssigkeit – allgemeiner Verlauf

Die K⁺-Werte der ersten Untersuchungstage gleichen denen im Blut (3,7 mmol/l bis 3,9 mmol/l). An D13 bzw. D14 findet in allen Gruppen ein drastischer K⁺-Anstieg von bis zu 38,4 mmol/l in der Amnionflüssigkeit statt. Von D15 zu D18 sinkt der K⁺-Gehalt wieder auf ca. 20 mmol/l.

Die obige Abbildung zeigt deutlich, dass Isa an D13 und D14 geringere K⁺-Werte hat als Ross.

Vergleich Isa-Kontrolle und Ross-Kontrolle

Beide Rassen zeigen einen K⁺-Anstieg (Ross = 38,4 mmol/l; Isa = 21,55) an D14, der bei Ross jedoch zu einem Drittel höher ausfällt als bei Isa, so dass eine Signifikanz mit p = 0,01eintritt. Auch an D17 zeigt Ross (28,9 mmol/l) signifikant erhöhte K⁺-Werte als Isa (23,6 mmol/l; p = 0,01).

Vergleich Isa begast und Ross begast

Der K⁺-Anstieg von Ross findet unter der Begasung bereits an D13 statt, so dass ein signifikanter Unterschied von 29,1 mmol/l zwischen den Rassen in der Amnionflüssigkeit herrscht. Der K⁺-Anstieg bei Isa erfolgt an D14 auf 31,2 mmol/l. An D17 zeigt diesmal Isa einen um 5,5 mmol/l signifikant höheren K⁺-Wert als Ross (p = 0,003).

Vergleich Isa nicht-ventiliert und Ross nicht-ventiliert

Unter NV findet der drastische K⁺-Anstieg bei Isa erst an D15 (30,2 mmol/l) statt. Bei Ross beginnt er bereits an D12 und hat seinen Höhepunkt an D15 (38 mmol/l). Somit hat Ross von D12 bis D15 signifikant höhere K⁺-Werte als Isa (D12 p = 0,01, D13 p = 0,04, D14 p = 0,01 und D15 p = 0,02).



4.9.3. Vergleich der K⁺-Werte innerhalb der Rasse Isa

Abbildung 39: K⁺-Gehalte in Blut und Amnionflüssigkeit der Rasse Isa

Vergleich Blut und Amnionflüssigkeit

An D10 und D11 weisen Blut- und Amnionflüssigkeit ungefähr den gleichen K⁺-Spiegel von ca 3,7 mmol/l auf. An D14 bzw. D15 steigt der K⁺-Gehalt in der Amnionflüssigkeit um das zehnfache auf max. 33,1 mmol/l.

Vergleich K⁺-Werte im Blut innerhalb der Rasse Isa unter verschiedenen Inkubationen

An D16 und D17 sinkt der K⁺-Spiegel in der NV-Gruppe signifikant gegenüber der Kontrollgruppe (D17 p = 0,007) um 0,6 mmol/l bis 0,8 mmol/l. Die begaste Gruppe zeigt an

D18 um 0,65 mmol/l signifikant geringere K⁺-Werte als die Kontrolle (p = 0,02), nachdem zuvor keine Unterschiede aufgetreten sind.

Vergleich K⁺-Werte in der Amnionflüssigkeit innerhalb der Rasse Isa unter verschiedenen Inkubationen

Die Gasgruppe zeigt bereits an D14 einen rapiden K⁺-Anstieg auf 31,2 mmol/l, wohingegen die Kontrollgruppe 21,55 mmol/l und die Gasgruppe nur 6,7 mmol/l vorweisen. Die Begasung bewirkt also einen früheren und NV einen verzögerten K⁺-Anstieg.

Die Gasgruppe hat an D17 einen um 5,8 mmol/l signifikant höheren K^+ -Gehalt in der Amnionflüssigkeit als die Kontrolle (p = 0,03).



4.9.4. Vergleich der K⁺-Werte innerhalb der Rasse Ross

Abbildung 40: K⁺-Gehalte in Blut und Amnionflüssigkeit der Rasse Ross

Vergleich Blut und Amnionflüssigkeit

An den ersten drei Untersuchungstagen zeigen Blut und Amnionflüssigkeit gleiche K⁺-Werte (ca. 3,7 mmol/l). Zu D13 (35,5 mmol) bzw. zu D14 (38,4 mmol/l) steigen die K⁺-Werte um das zehnfache in der Amnionflüssigkeit an.

Vergleich K⁺-Werte im Blut innerhalb der Rasse Ross unter verschiedenen Inkubationen

Die begaste Gruppe (3,7 mmol/l) zeigt an D16 einen Abfall des K⁺-Spiegels im Blut, so dass die Kontrollgruppe (4,3 mmol/l) an diesem Tag signifikant mehr K⁺ aufweist (p = 0,03).

Ergebnisse

Die NV-Gruppe hat an D15 einen K^+ -Peak (4,9 mmol/l), den die Kontrollgruppe nicht aufweist.

Vergleich K⁺-Werte in der Amnionflüssigkeit innerhalb der Rasse Ross unter verschiedenen Inkubationen

Die Begasung bewirkt auch bei Ross einen früheren K⁺-Anstieg. Der Anstieg findet sogar einen Tag früher statt als bei Isa, nämlich an D13. Folgende Absolutwerte treten an D13 in der Gasgruppe: 35,5 mmol/l, in der Kontrollgruppe: 10,3 mmol/l und in der NV-Gruppe: 14 mmol/l auf. An D13 hat die Gasgruppe einen signifikant höheren K⁺-Spiegel als die Kontrolle (p = 0,01).

An D14, D15 und D17 zeigt die Kontrollgruppe ca. 5 mmol/l bis 8 mmol/l höhere K⁺-Werte als die Gasgruppe (D15 p = 0.02; D17 p = 0.003).

Bei der NV-Gruppe beginnt der K⁺-Spiegel an D12 mit einer Signifikanz von p = 0,001 zu steigen (9,7 mmol/l versus 3,7 mmol/l). Ab D15 sinkt der K⁺-Gehalt unter der NV stärker ab als bei der Kontrolle, so dass die Kontrollgruppe um 8 mmol/l mehr K⁺ aufweist als die NV-Gruppe (D17 p = 0,02).

4.10. Ergebnisse zu den Natriumwerten



4.10.1. Vergleich der Na⁺-Werte zwischen Isa und Ross im Blut

Abbildung 41: Na⁺-Gehalte im Blut unter verschiedenen Inkubationen. Die nebeneinander gezeichneten farbigen Sterne zeigen die Signifikanz zwischen den gleichfarbig gezeichneten Linien des Diagramms am entsprechenden Tag

Im Blut - allgemeiner Verlauf

Die Na⁺-Werte streuen zu Versuchsbeginn (von min. 123,5 mmol/l bis max. 130,5 mmol/l) und nähern sich zum Ende an (von min. 125 mmol/l bis max. 128,5 mmol/l).

Vergleich Isa-Kontrolle und Ross-Kontrolle

An D11 und D14 hat Isa um 3,5 bis 6,5 mmol/l signifikant höhere Na⁺-Gehalte als Ross (D11 p = 0,01 und D12 p = 0,002). Anschließend steigt Na⁺ bei Ross an, so dass Ross an D17 (128 mmol/l) signifikant höhere Na⁺-Werte zeigt als Isa (126 mmol/l; p = 0,03).

Vergleich Isa begast und Ross begast

Beide Rassen zeigen unter Begasung einen annähernd gleichen Verlauf. An D18 hat Isa jedoch einen um 2,5 mmol/l signifikant höheren Na⁺-Gehalt im Blut als Ross (p = 0,007).

Vergleich Isa nicht-ventiliert und Ross nicht-ventiliert

Auch unter NV verlaufen die Na⁺-Gehalte im Blut der beiden Rassen ähnlich. Auch hier tritt eine Signifikanz an D18 auf, wobei Ross mit p = 0,03 einen um 3,5 mmol/l höheren Na⁺-Gehalt zeigt als Isa.



4.10.2. Vergleich der Na⁺-Werte zwischen Isa und Ross in der Amnionflüssigkeit

Abbildung 42: Na⁺-Gehalte in der Amnionflüssigkeit unter verschiedenen Inkubationen

In der Amnionflüssigkeit – allgemeiner Verlauf

Von D10 bis D12 liegt der Na⁺-Gehalt bei ca. 132 mmol/l. Ab D13 bzw. D14 kommt es zu einem rapiden Abfall des Na⁺ auf ca. 103 mmol/l. Zum Ende des Untersuchungszeitraumes steigt Na⁺ wieder auf 124 mmol/l an. In obiger Abbildung ist deutlich zu sehen, dass Isa von D13 bis D15 mehr Na⁺ in der Amnionflüssigkeit hat als Ross.

Vergleich Isa-Kontrolle und Ross-Kontrolle

Von D10 bis D13 hat Isa ca. 3 mmol/l mehr Na⁺ in der Amnionflüssigkeit als Ross (D11 p = 0,03). An D14 fällt der Na⁺-Spiegel von Ross auf 103 mmol/l ab, so dass Isa an D14 und D15 ca. 11 mmol/l bis 18 mmol/l mehr Na⁺ aufweist als Ross (D14 p = 0,002).

Vergleich Isa begast und Ross begast

Die begaste Ross-Gruppe zeigt bereits an D13 einen rapiden Na⁺-Abfall auf 108 mmol/l und Isa erst an D14 auf 109 mmol/l, wodurch Isa an D13 einen um 24 mmol/l signifikant höheren Na⁺-Gehalt hat als Ross (p = 0,001). An D17 zeigt Isa nochmals einen Na⁺-Abfall auf 105 mmol/l, so dass nun Ross mit p = 0,008 einen um 15,5 mmol/l signifikant höheren Na⁺-Gehalt aufweist.

Vergleich Isa nicht-ventiliert und Ross nicht-ventiliert

Na⁺ von Ross sinkt an D14 und D15 auf 112 mmol/l bzw. 103 mmol/l. Die Na⁺-Werte von Isa liegen an D14 und D15 bei 131 mmol/l bzw. 111,5 mmol/l. Somit hat Isa an D14 ca.19 mmol/l und an D15 ca. 8,5 mmol/l signifikant höhere Na⁺-Werte als Ross (D14 p = 0,01 und D15 p = 0,05).



4.10.3. Vergleich der Na⁺-Werte innerhalb der Rasse Isa

Abbildung 43: Na⁺-Gehalte in Blut und Amnionflüssigkeit der Rasse Isa

Vergleich Blut und Amnionflüssigkeit

Von D10 bis D13 weist die Amnionflüssigkeit ca. 3 mmol/l bis 5 mmol/l mehr Na⁺ auf als das Blut. Ab D14 sinkt der Na⁺-Spiegel in der Amnionflüssigkeit mit 14 mmol/l unter den vom Blut. Ab D17 nähern sich Blut und Amnionflüssigkeit wieder an.

Vergleich Na⁺-Werte im Blut innerhalb der Rasse Isa unter verschiedenen Inkubationen

An D14 weist die Kontrollgruppe (127,5 mmol/l) einen signifikant höheren Na⁺-Spiegel auf als die Gasgruppe (124 mmol/l). Sonst gibt es wenig Unterschiede zwischen der Versuchsund Kontrollgruppe.

Vergleich Na⁺-Werte in der Amnionflüssigkeit innerhalb der Rasse Isa unter verschiedenen Inkubationen

Die Absolutwerte der Gruppen sind an D14 sehr verschieden: Den niedrigsten Wert mit 109 mmol/l zeigt die Gasgruppe, gefolgt von der Kontrollgruppe mit 121,5 mmol/l und der NV-Gruppe mit 131 mmol/l. Der Na⁺-Abfall erfolgt bei der Gasgruppe also früher.

Die Gasgruppe hat an D17 nochmals einen plötzlichen Na⁺-Abfall auf 105 mmol/l, so dass die Kontrollgruppe einen signifikant höheren Na⁺ -Wert zeigt (122 mmol/l; p = 0,009).



4.10.4. Vergleich der Na⁺-Werte innerhalb der Rasse Ross

Abbildung 44: Na⁺-Gehalte in Blut und Amnionflüssigkeit der Rasse Ross

Vergleich Blut und Amnionflüssigkeit

Von D10 bis D12 übertrifft der Na⁺-Gehalt in der Amnionflüssigkeit den des Blutes um ca. 3 mmol/l. Ab D13 sinkt der Na⁺-Spiegel der Amnionflüssigkeit, und die Amnionflüssigkeit hat ca. 20 mmol/l weniger Na⁺ als das Blut. Ab D16 nähern sich Blut und Amnionflüssigkeit wieder an.

Vergleich Na⁺-Werte im Blut innerhalb der Rasse Ross unter verschiedenen Inkubationen

An D11 zeigt das Blut der begasten Gruppe (126,5 mmol/l) mit p = 0,02 signifikant mehr Na⁺ als die Kontrollgruppe (123,5 mmol/l). Zum Ende des Untersuchungszeitraumes sinkt der Na⁺-Gehalt der Gasgruppe (125,5 mmol/l) jedoch so stark, dass die Kontrollgruppe (128 mmol/l) an D18 signifikant mehr Na⁺ aufweist (p = 0,01).

Von D11 bis D14 hat die NV-Gruppe ca. 4 mmol/l bis 7 mmol/l signifikant höhere Na⁺-Werte als die Kontrollgruppe (D11 p = 0,008, D13 p = 0,01 und D14 p = 0,008). Anschließend sinkt der Na⁺-Gehalt der NV Gruppe (126 mmol/l) unter den der Kontrollgruppe (128 mmol/l), so dass an D17 die Kontrollgruppe signifikant höhere Werte zeigt (p = 0,03).

Vergleich Na⁺-Werte in der Amnionflüssigkeit innerhalb der Rasse Ross unter verschiedenen Inkubationen

Wieder zeigt die Gasgruppe den früheren Na⁺-Abfall. Er findet bei der begasten Gruppe an D13 statt und sinkt auf 108 mmol/l., während die NV- und Kontrollgruppe noch 127 mmol/l

 Na^+ haben. Somit weist die Kontrollgruppe an D13 einen signifikant höheren Na^+ -Spiegel (p = 0,04) auf.

Während der ersten Untersuchungstage hat die NV-Gruppe signifikant höhere Na⁺-Spiegel als die Kontrolle (D10 p = 0,04 und D11 p = 0,01). Die NV-Gruppe zeigt absolute Na⁺-Werte von ca. 133 mmol/l und die Kontrollgruppe von ca. 128 mmol/l. Zu D18 steigt Na⁺ in der Kontrollgruppe (123 mmol/l) stärker an, so dass die Kontrollgruppe an D18 einen signifikant höheren Na⁺-Gehalt gegenüber der NV-Gruppe hat (120 mmol/l; p = 0,04).

4.11. Ergebnisse zu den Kalziumwerten



4.11.1. Vergleich der Ca²⁺-Werte zwischen Isa und Ross im Blut

Abbildung 45: Ca²⁺-Gehalte im Blut unter verschiedenen Inkubationen. Die nebeneinander gezeichneten farbigen Sterne zeigen die Signifikanz zwischen den gleichfarbig gezeichneten Linien des Diagramms am entsprechenden Tag

Im Blut - allgemeiner Verlauf

Von D11 (min. 1,47 mmol/l) zu D15 (max. 1,85 mmol/l) steigt der Ca^{2+} -Gehalt im Blut. Anschließend beginnt er zu sinken, so dass an D18 ca. 1,7 mmol/l erreicht werden.

Vergleich Isa-Kontrolle und Ross-Kontrolle

Ross hat an D14, D15 und D16 bis zu 0,1 mmol/l höhere Ca^{2+} -Werte als Isa. An D15 ist dieser Unterschied mit p = 0,01 signifikant.

Vergleich Isa begast und Ross begast

Es treten keine Unterschiede zwischen der Gas- und der Kontrollgruppe auf.

Vergleich Isa nicht-ventiliert und Ross nicht-ventiliert

An D13 hat Isa einen um 0,06 mmol/l signifikant höheren Ca^{2+} -Wert als Ross (p = 0,01). Von D13 zu D14 steigt der Ca^{2+} -Wert von Ross rapide an, so dass Ross dann signifikant höhere Ca^{2+} -Gehalte gegenüber Isa aufweist (D14 p = 0,004, D15 p = 0,02, D17 p = 0,02). An D14, D15 und D17 betragen die Absolutwerte von Isa 1,7 mmol/l und 1,53 mmol/l. Ross zeigt an den genannten Tagen ca.1,8 mmol/l und 1,85 mmol/l.



4.11.2. Vergleich der Ca²⁺-Werte zwischen Isa und Ross in der Amnionflüssigkeit

Abbildung 46: Ca²⁺-Gehalte in der Amnionflüssigkeit unter verschiedenen Inkubationen

In der Amnionflüssigkeit – allgemeiner Verlauf

Der Ca²⁺-Gehalt in der Amnionflüssigkeit steigt mit der Inkubationszeit von 0,79 mmol/l bis 2,23 mmol/l.

Vergleich Isa-Kontrolle und Ross-Kontrolle

Von D11 bis D13 hat Isa höhere Ca^{2+} -Gehalte in der Amnionflüssigkeit als Ross (D12 p = 0,008, D13 p = 0,01). An genannten Tagen betragen die Absolutwerte von Isa ca. 1 mmol/l und 1,46 mmol/l, die von Ross 0,89 mmol/l und 1,28 mmol/l. Anschließend steigt Ca^{2+} von D13 bis D17 bei Ross um das 1,7 fache und bei Isa um das 1,3 fache, so dass Ross mehr Ca^{2+} aufweist als Isa.

Vergleich Isa begast und Ross begast

Von D10 bis D15 gibt es keine Unterschiede zwischen Isa und Ross. An D17 sinkt der Ca^{2+} -Gehalt bei Isa auf 1,62 mmol/l, wohingegen der von Ross weiter auf 2,16 mmol/l steigt (p = 0,02).

Vergleich Isa nicht-ventiliert und Ross nicht-ventiliert

Es gibt keine Unterschiede zwischen Isa und Ross von D10 bis D16. An D17 sinkt der Ca^{2+} -Gehalt von Ross auf 1,58 mmol/l und der von Isa beträgt 1,81 mmol/l (p = 0,03).



4.11.3. Vergleich der Ca²⁺ -Werte innerhalb der Rasse Isa

Abbildung 47: Ca²⁺-Gehalte in Blut und Amnionflüssigkeit der Rasse Isa

Vergleich Blut und Amnionflüssigeit

Während sich die Ca^{2+} -Werte von Blut und Amnionflüssigkeit an D11 um über 0,5 mmol/l unterscheiden, nähern sie sich bis D14 immer stärker an. Ab D14 haben Blut und Amnionflüssigkeit dieselben Ca^{2+} -Werte.

Vergleich Ca²⁺-Werte im Blut innerhalb der Rasse Isa unter verschiedenen Inkubationen

Beide Versuchsgruppen unterscheiden sich im Ca^{2+} -Gehalt nur geringfügig von der Kontrollgruppe. An D17 und D18 sinkt der Ca^{2+} -Gehalt der NV-Gruppe deutlich unter den der Kontrollgruppe (p = 0,01).

Ergebnisse

Vergleich Ca²⁺-Werte in der Amnionflüssigkeit innerhalb der Rasse Isa unter verschiedenen Inkubationen

An D12, D14, D15 und D16 hat die NV-Gruppe ca. 0,2 mmol/l mehr Ca^{2+} in der Amnionflüssigkeit als die Kontrollgruppe. Dies ist an D12 und D15 mit p = 0,01 bzw. p = 0,03 statistisch abgesichert.

Die Gasgruppe hat geringfügig höhere Ca^{2+} -Gehalte in der Amnionflüssigkeit, die nicht statistisch gesichert sind. An D17 zeigt die Kontrollgruppe einen um ca. 0,4 mmol/l signifikant höheren Ca^{2+} -Gehalt als die Gasgruppe (p = 0,03).





Abbildung 48: Ca²⁺-Gehalte in Blut und Amnionflüssigkeit der Rasse Ross

Vergleich Blut und Amnionflüssigkeit

Auch bei Ross nähern sich die Ca^{2+} -Werte von Blut und Amnionflüssigkeit von D11 bis D14 immer mehr an. Ab D15 übersteigt der Ca^{2+} -Gehalt in der Amnionflüssigkeit sogar den im Blut um über 0,4 mmol/l.

Vergleich Ca²⁺-Werte im Blut innerhalb der Rasse Ross unter verschiedenen Inkubationen

An D12 hat die NV-Gruppe einen signifikant höheren Ca^{2+} -Gehalt im Blut als die Kontrolle (p = 0,02). Sonst treten keine Unterschiede zwischen NV- und Kontrollgruppe auf.

Die Gasgruppe hat einen tendenziell geringeren Ca²⁺-Gehalt als die Kontrolle.

Vergleich Ca²⁺-Werte in der Amnionflüssigkeit innerhalb der Rasse Ross unter verschiedenen Inkubationen

An D12 und D13 hat die begaste Gruppe einen um 0,2 mmol/l signifikant höheren Ca^{2+} -Gehalt in der Amnionflüssigkeit als die Kontrollgruppe (D12 p = 0,0007 und D13 p = 0,02). An D17 zeigt die Gasgruppe einen um 0,3 mmol/l höheren Ca^{2+} -Gehalt.

Auch die NV-Gruppe weist mit p = 0,001 an D12 signifikant höhere Ca²⁺-Werte auf als die Kontrolle, die sich um 0,3 mmol/l unterscheiden. An D18 zeigt die NV-Gruppe 0,2 mmol/l signifikant mehr Ca²⁺ in der Amnionflüssigkeit als die Kontrolle (p = 0,04).

4.12. Ergebnisse zu den Chloridwerten



4.12.1. Vergleich der Cl⁻-Werte zwischen Isa und Ross im Blut

Abbildung 49: Cl⁻-Gehalte im Blut unter verschiedenen Inkubationen. Die nebeneinander gezeichneten farbigen Sterne zeigen die Signifikanz zwischen den gleichfarbig gezeichneten Linien des Diagramms am entsprechenden Tag

Im Blut - allgemeiner Verlauf

Im Laufe der Inkubation sinkt der Cl⁻-Gehalt im Blut von 103 mmol/ auf 90 mmol/l.

Vergleich Isa-Kontrolle und Ross-Kontrolle

An D11, D13, D14, D16, D17 und D18 zeigt Isa ca. 1 bis 3 mmol/l mehr Cl⁻ im Blut als Ross. Nur an D15 hat Ross einen Cl⁻Peak von 97 mmol/l.

Vergleich Isa begast und Ross begast

Unter der Begasung gibt es keinen tendenziellen Unterschied zwischen den Rassen. Es ergeben sich differente Cl⁻-Gehalte.

Vergleich Isa nicht-ventiliert und Ross nicht-ventiliert

NV bringt ein homogeneres Bild. Von D11 bis D16 hat Isa einen höheren Cl⁻-Gehalt als Ross. An D16 ist dieser Unterschied mit p = 0,004 sogar signifikant. Die Absolutwerte an D16 unterscheiden sich um 5 mmol/l. An D18 sinkt Cl⁻ bei Isa auf 90 mmol/l ab, so dass Ross (94 mmol/l) einen signifikant höheren Cl⁻-Wert zeigt als Isa (p = 0,006).



4.12.2. Vergleich der Cl⁻-Werte zwischen Isa und Ross in der Amnionflüssigkeit

Abbildung 50: Cl - Gehalte in der Amnionflüssigkeit unter verschiedenen Inkubationen

In der Amnionflüssigkeit – allgemeiner Verlauf

Zur Mitte der Untersuchungszeit sinkt der Cl⁻-Gehalt von 139 mmol/l auf 97 mmol/l ab und steigt zum Ende hin wieder leicht auf max. 118 mmol/l an. Der Cl⁻-Gehalt von Ross sinkt unter allen Inkubationsformen früher als bei Isa.

Vergleich Isa-Kontrolle und Ross-Kontrolle

Isa zeigt höhere CI⁻-Gehalte in der Amnionflüssigkeit als Ross. Isa hat an D11 ca. 2 mmol/l, an D12 ca. 4 mmol/l, an D13 ca. 9 mmol/l, an D14 ca. 23,5 mmol/l, an D15 ca. 6,5 mmol/l und an D17 ca. 9 mmol/l mehr Cl⁻ in der Amnionflüssigkeit als Ross. Der immense Unterschied von 23,5 mmol/l an D14 ist signifikant (p = 0,003).

Vergleich Isa begast und Ross begast

Unter der Begasung fällt der Cl⁻-Spiegel von Ross bereits an D13 von 133 mmol/l auf 108 mmol/l ab, wohingegen der Cl⁻-Spiegel von Isa noch bei 133,5 mmol/l liegt (p = 0,001). Im späteren Verlauf gleichen sich beide Rassen an.

Vergleich Isa nicht-ventiliert und Ross nicht-ventiliert

Ross hat an D13, D14, D15 und D18 weniger Cl⁻ in der Amnionflüssigkeit als Isa. (Signifikanz an D15 und D18 mit p = 0,04 bzw. p = 0,02). Ross hat an D13 einen Cl⁻Gehalt von 122 mmol/l; an D14 sinkt er auf 103 mmol/l bis hin zu 97,5 mmol/l an D15 ab. Isa hingegen hat an D13 noch immer 137 mmol/l, gefolgt von einem leichten Absinken auf 134 mmol/l an D14 bis hin zu 103,5 mmol/l an D15.

Auch an D18 zeigt Isa einen signifikant höheren Cl⁻-Spiegel (p = 0.02).



4.12.3. Vergleich der Cl⁻-Werte innerhalb der Rasse Isa

Abbildung 51: Cl⁻Gehalte in Blut und Amnionflüssigkeit der Rasse Isa

Vergleich Blut und Amnionflüssigkeit

Von D11 bis D13 bzw. D14 liegt der Cl⁻-Gehalt in der Amnionflüssigkeit mit ca. 30 mmol/l über dem von Blut. Der Cl⁻-Gehalt in der Amnionflüssigkeit sinkt an D15 auf ca.103 mmol/l ab und nähert sich dem vom Blut an (ca. 95 mmol/l). Durch den folgenden Cl⁻-Anstieg bis D18 wird der Unterschied zwischen Blut und Amnionflüssigkeit mit ca. 20 mmol/l wieder größer.

Ergebnisse

Vergleich Cl⁻ im Blut innerhalb der Rasse Isa unter verschiedenen Inkubationen

An D12 und D15 liegt der Cl⁻-Gehalt der NV-Gruppe mit 2,5 mmol/l bis 4 mmol/l höher als in der Kontrollgruppe (D15 p = 0,04). An D18 sinkt Cl⁻ der NV-Gruppe (90 mmol/l) stark ab, so dass nun die Kontrollgruppe (97 mmol/l) mit p = 0,004 einen signifikant höheren Cl⁻-Spiegel hat.

Die Gas- und Kontrollgruppen haben ähnliche Cl⁻-Werte im Blut.

Vergleich Cl⁻ in der Amnionflüssigkeit innerhalb der Rasse Isa unter verschiedenen Inkubationen

Die NV-Gruppe zeigt einen höheren CI⁻Spiegel in der Amnionflüssigkeit als die Kontrollgruppe. Von D10 bis D13 hat die NV-Gruppe einen um 1 mmol/l bis 5 mmol/l höheren CI⁻Gehalt als die Kontrollgruppe. An D14 beträgt der Unterschied 13,5 mmol/l und bis D18 bis zu 7 mmol/l. An D10 und D18 ist dieser Unterschied mit p = 0,01 und p = 0,008 signifikant.

Die Gasgruppe hat an D14 einen um 13,5 mmol/l und an D17 einen um 11 mmol/l (p = 0,006) geringeren Cl⁻-Gehalt als die Kontrolle. An D16 und D18 übersteigt der Chloridspiegel der Gasgruppe den von der Kontrollgruppe um 12 mmol/l bzw. 4 mmol/l (D16 p = 0,04 und D18 p = 0,01).



4.12.4. Vergleich der Cl⁻-Werte innerhalb der Rasse Ross

Abbildung 52: Cl⁻-Gehalte in Blut und Amnionflüssigkeit der Rasse Ross

Vergleich Blut und Amnionflüssigkeit

Wie bei Isa übersteigt der Cl⁻-Gehalt der Amnionflüssigkeit den vom Blut in den ersten Untersuchungstagen um über 30 mmol/l. An D14 und D15 sinkt der Cl⁻-Spiegel in der Amnionflüssigkeit auf ca. 96 mmol/l, was dem Cl⁻-Spiegel im Blut entspricht. Durch den sich anschließenden Anstieg von Cl⁻ in der Amnionflüssigkeit werden an D18 Unterschiede von ca. 10 mmol/l zum Blut gemessen.

Vergleich Cl⁻ im Blut innerhalb der Rasse Ross unter verschiedenen Inkubationen

An D11, D12 und D16 zeigt die begaste Gruppe 3 mmol/l mehr Cl⁻ im Blut als die Kontrollgruppe.

Auch die NV-Gruppe hat an D11 und D12 einen um 3 mmol/l höheren CI-Gehalt als die Kontrollgruppe (D12 p = 0,001).

Vergleich Cl⁻ in der Amnionflüssigkeit innerhalb der Rasse Ross unter verschiedenen Inkubationen

An den untersuchten Tagen hat die NV-Gruppe ca. 5 mmol/l bis 13 mmol/l mehr Cl⁻ in der Amnionflüssigkeit als die Kontrolle (D11 p = 0,01 und D14 p = 0,04).

Die Gasgruppe hat an den ersten drei Inkubationstagen ca. 3 mmol/l bis 5 mmol/l mehr Cl⁻ in der Amnionflüssigkeit als die Kontrolle. Jedoch erfolgt der Cl⁻Abfall unter der Begasung schon an D13 auf 108 mmol/l, wohingegen die NV- und Kontrollgruppe Werte von 123 mmol/l inne haben.

Von D14 bis zum Ende der Untersuchung hat die Gasgruppe einen um ca. 10 mmol/l höheren Chloridspiegel als die Kontrolle (D14 p = 0,04 und D15 p = 0,0006).

Korrelatior zwis	skoeffizienten der I chen Amnion und E	K⁺-Werte 3lut	Korrelations zwise	skoeffizienten der N chen Amnion und B	la ⁺ -Werte Ilut
Gruppe	lsa Ro	SS	Gruppe	Isa Ro	ss
Kontrolle	0,76	0,23	Kontrolle	0,22	-0,09
Gas	0,79	0,02	Gas	0,57	0,29
NV	0,68	0,58	NV	0,79	0,86
	k Gri Ko Ga	Korrelationskoef zwischen / uppe Isa ntrolle	fizienten der Cl ⁻ -Werte Amnion und Blut Ross 0,81 0,55 0,77 0,8	9	
Runelations	KUemzienten der K	- unu Na -	Noneiations	KUEIIIZIEIIILEII UEI K	- unu na -
Gruppe	Werte im Amnion	SS	Gruppe	Werte im Blut	SS
Gruppe Kontrolle	Werte im Amnion Isa Ro -0,98	-0,92	Gruppe Kontrolle	Werte im Blut Isa Ro: -0,13	ss0,40
Gruppe Kontrolle Gas	Werte im Amnion Isa Ro -0,98 -0,93	-0,92 -0,99	Gruppe Kontrolle Gas	Werte im Blut Isa Ro: -0,13 -0,08	ss 0,40 -0,31
Gruppe Kontrolle Gas NV	Werte im Amnion Isa Ro -0,98 -0,93 -0,98	-0,92 -0,99 -0,98	Gruppe Kontrolle Gas NV	Werte im Blut Isa Ro: -0,13 -0,08 -0,79	ss 0,40 -0,31 -0,67
Gruppe Kontrolle Gas NV Korrelations	Werte im Amnion Isa Ro -0,98 -0,93 -0,98 skoeffizienten der K Werte im Amnion	-0,92 -0,99 -0,98 ⁺ - und Cl ⁻ -	Gruppe Kontrolle Gas NV Korrelations	Werte im Blut Isa -0,13 -0,08 -0,79 skoeffizienten der K Werte im Blut	ss 0,40 -0,31 -0,67 *- und Cl ⁻ -
Gruppe Kontrolle Gas NV Korrelations Gruppe	Werte im Amnion Isa Ro -0,98 -0,93 -0,98 skoeffizienten der K Werte im Amnion Isa Ro	-0,92 -0,99 -0,98 ⁺ - und Cl ⁻ -	Gruppe Kontrolle Gas NV Korrelations Gruppe	Werte im Blut Isa -0,13 -0,08 -0,79 -0,79 -0,79 -0,79 -0,79 -0,79 -0,79 -0,79 -0,13 -0,08 -0,79 -0,13 -0,08 -0,79 -0,13 -0,08 -0,79 -0,13 -0,08 -0,79 -0,13 -0,08 -0,79 -0,13 -0,08 -0,79 -0,13 -0,08 -0,79 -0,13 -0,08 -0,79 -0,13 -0,08 -0,79 -0,13 -0,08 -0,79 -0,13 -0,08 -0,79 -0,13 -0,08 -0,79 -0,13 -0,08 -0,79 -0,13 -0,08 -0,79 -0,13 -0,08 -0,79 -0,13 -0,08 -0,79 -0,13 -0,08 -0,79 -0,13 -0,08 -0,79 -0,79 -0,13 -0,08 -0,79 -0,13 -0,08 -0,79 -0,13 -0,08 -0,79 -0,13 -0,08 -0,79 -0,13 -0,13 -0,08 -0,79 -0,13 -0,13 -0,08 -0,79 -0,13 -0,13 -0,13 -0,13 -0,13 -0,13 -0,13 -0,13 -0,13 -0,13 -0,13 -0,13 -0,14 -0,15 -0,1	ss 0,40 -0,31 -0,67 *- und Cl ⁻ ss
Gruppe Kontrolle Gas NV Korrelations Gruppe Kontrolle	Werte im Amnion Isa Rc -0,98 -0,93 -0,98 Skoeffizienten der K Werte im Amnion Isa Ro -0,97	-0,92 -0,99 -0,98 *- und CI ⁻ -	Gruppe Kontrolle Gas NV Korrelations Gruppe Kontrolle	Werte im Blut Isa Roi -0,13 -0,08 -0,79 Skoeffizienten der K Werte im Blut Isa Roi -0,64	ss 0,40 -0,31 -0,67 ⁺ - und Cl ⁻ - ss -0,61
Gruppe Kontrolle Gas NV Korrelations Gruppe Kontrolle Gas	Werte im Amnion Isa Rc -0,98 -0,93 -0,98 -0,98 skoeffizienten der K Werte im Amnion Isa Ro -0,97 -0,97 -0,97	-0,92 -0,99 -0,98 ⁺ - und Cl ⁻ - -0,99 -0,99	Gruppe Kontrolle Gas NV Korrelations Gruppe Kontrolle Gas	Werte im Blut Isa Roi -0,13 -0,08 -0,79 -0,79 -0,64 -0,88 -0,88	ss 0,40 -0,31 -0,67 *- und Cl ⁻ - ss -0,61 -0,54
Gruppe Kontrolle Gas NV Korrelations Gruppe Kontrolle Gas NV	Werte im Amnion Isa Ro -0,98 -0,93 -0,98 Skoeffizienten der K Werte im Amnion Isa Ro -0,97 -0,97 -0,99	-0,92 -0,99 -0,98 ⁺ - und Cl ⁻ - ss -0,99 -0,99 -0,98	Gruppe Kontrolle Gas NV Korrelations Gruppe Kontrolle Gas NV	Werte im Blut Isa Roi -0,13 -0,08 -0,79 -0,79 skoeffizienten der K Werte im Blut Isa Roi -0,64 -0,88 -0,86 -0,86	ss 0,40 -0,31 -0,67 *- und Cl ⁻ - ss -0,61 -0,54 -0,54
Gruppe Kontrolle Gas NV Korrelations Gruppe Kontrolle Gas NV Korrelations	Werte im Amnion Isa Rc -0,98 -0,93 -0,98 -0,98 skoeffizienten der K Werte im Amnion Isa Ro -0,97 -0,97 -0,97 -0,99 koeffizienten der Na Werte im Amnion	-0,92 -0,99 -0,98 ⁺ - und Cl ⁻ -0,99 -0,99 -0,98 a ⁺ - und Cl ⁻	Gruppe Kontrolle Gas NV Korrelations Gruppe Kontrolle Gas NV	Werte im Blut Isa Rot -0,13 -0,08 -0,79 -0,79 skoeffizienten der K Werte im Blut Isa Rot -0,64 -0,88 -0,86 -0,86 koeffizienten der Na Werte im Blut	ss 0,40 -0,31 -0,67 *- und Cl ⁻ - ss -0,61 -0,54 -0,79 -0,79
Gruppe Kontrolle Gas NV Korrelations Gruppe Kontrolle Gas NV Korrelations Gruppe	Werte im Amnion Isa Ro -0,98 -0,93 -0,98 Skoeffizienten der K Werte im Amnion Isa Ro -0,97 -0,97 -0,97 -0,99 koeffizienten der Na Werte im Amnion Isa Ro	-0,92 -0,99 -0,98 -1,98 -0,98 -0,99 -0,99 -0,99 -0,98	Gruppe Kontrolle Gas NV Korrelations Gruppe Kontrolle Gas NV Korrelations Gruppe	Werte im Blut Isa Rot -0,13 -0,08 -0,79 -0,79 skoeffizienten der K Werte im Blut Isa Rot -0,64 -0,88 -0,86 -0,86 koeffizienten der Na Werte im Blut Isa Rot Isa Rot Werte im Blut Isa	ss 0,40 -0,31 -0,67
Gruppe Kontrolle Gas NV Korrelations Gruppe Kontrolle Gas NV Korrelations Gruppe Kontrolle	Werte im Amnion Isa Ro -0,98 -0,93 -0,98 Skoeffizienten der K Werte im Amnion Isa Ro -0,97 -0,97 -0,97 -0,99 koeffizienten der Na Werte im Amnion Isa Ro 0,97	-0,92 -0,99 -0,98 -,98 	Gruppe Kontrolle Gas NV Korrelations Gruppe Kontrolle Gas NV Korrelations Gruppe Kontrolle	Werte im Blut Isa Rot -0,13 -0,08 -0,79 -0,79 skoeffizienten der K Werte im Blut Isa Rot -0,64 -0,88 -0,86 -0,86 werte im Blut Isa Isa Rot -0,64 -0,88 -0,86 -0,86 -0,86 -0,86 -0,86 -0,86	ss 0,40 -0,31 -0,67 *- und Cl ⁻ - ss -0,61 -0,54 -0,79 -0,79 -0,60 -0,60
Gruppe Kontrolle Gas NV Korrelations Gruppe Kontrolle Gas NV Korrelations Gruppe Kontrolle Gas	Werte im Amnion Isa Ro -0,98 -0,93 -0,98 Skoeffizienten der K Werte im Amnion Isa Ro -0,97 -0,97 -0,97 -0,99 koeffizienten der Na Werte im Amnion Isa Ro 0,97 0,96	-0,92 -0,99 -0,98 -,98 -0,98 -0,99 -0,99 -0,98 a ⁺ - und Cl ⁻ - ss 0,93 0,97	Gruppe Kontrolle Gas NV Korrelations Gruppe Kontrolle Gas NV Korrelations Gruppe Kontrolle Gas	Werte im Blut Isa Rot -0,13 -0,08 -0,79 -0,79 skoeffizienten der K Werte im Blut Isa Rot -0,64 -0,88 -0,86 -0,86 koeffizienten der Na Werte im Blut Isa Rot 0,66 0,29	ss 0,40 -0,31 -0,67 -0,67 -0,61 -0,54 -0,54 -0,54 -0,54 -0,54 -0,54 -0,60 0,36

4.13. Übersicht zu ausgewählten Korrelationseffizienten

Tabelle 2: Korrelationen von Na⁺, K⁺ und Cl⁻ in Blut und Amnionflüssigkeit

Der untere linke Abschnitt der Tabelle 2 zeigt die Korrelationskoeffizienten zwischen den Elektrolyten Na⁺, K⁺ und Cl⁻ innerhalb der Amnionflüssigkeit im Zwischenrassenvergleich unter verschiedenen Inkubationen. Während Na⁺ in der Amnionflüssigkeit mit der Inkubationszeit ansteigt, fällt K⁺ ab (negative Korrelation). Gleiches gilt für die Korrelation von K⁺ und Cl⁻. Der Korrelationskoeffizient von Na⁺ und Cl⁻ ist positiv, da beide Elektrolyte in der Amnionflüssigkeit ansteigen. Es gibt keine Unterschiede im Zwischenrassenvergleich und bei den Inkubationsgruppen.

Der untere rechte Abschnitt der Tabelle 2 zeigt die Korrelationskoeffizienten zwischen den Elektrolyten Na⁺, K⁺ und Cl⁻ im Blut im Zwischenrassenvergleich unter verschiedenen Inkubationen. Hier ergibt sich kein so klares Bild wie bei den Korrelationskoeffizienten in der Amnionflüssigkeit.

Der obere Abschnitt zeigt die Korrelationskoeffizienten der Na⁺-, K⁺- und Cl⁻-Werte zwischen Amnionflüssigkeit und Blut. Hier fällt auf, dass besonders die Rasse Ross unter NV die höchsten Korrelationen (0,86) für Na⁺ und Cl⁻ zwischen Blut und Amnionflüssigkeit erreicht.

4.14. Ergebnisse zur Körpermasseentwicklung



4.14.1. Vergleich der Körpermasse zwischen Isa und Ross

Abbildung 53: Körpermasse unter verschiedenen Inkubationen. Die nebeneinander gezeichneten farbigen Sterne zeigen die Signifikanz zwischen den gleichfarbig gezeichneten Linien des Diagramms am entsprechenden Tag.

Allgemeiner Verlauf

Die Körpermasse steigt mit der Inkubationszeit von 2,32 g an D10 auf max. 31 g an D18.

Vergleich Isa-Kontrolle und Ross-Kontrolle

Die Körpermassen der beiden Kontrollgruppen unterscheiden sich kaum voneinander. Lediglich an D11 hat Isa eine signifikant höhere Körpermasse als Ross (p = 0,04).

Vergleich Isa begast und Ross begast

Unter der Begasung hat Ross eine ersichtlich höhere Körpermasse als Isa. Während sich die Unterschiede von D13 bis D15 auf ca. 2,6 g bis 3,1 g belaufen, hat Ross an D17 einen um 7,61 g und an D18 einen um 8,83 g schwereren Körper als Isa (D18 p = 0,009).

Vergleich Isa nicht-ventiliert und Ross nicht-ventiliert

Auch unter NV zeigt Ross stets eine höhere Körpermasse als Isa. Von D12 bis D18 reichen die Unterschiede von min. 2,33 g bis max. 4,74 g. Dieser Massenunterschied zwischen den Rassen ist an D12 (p = 0,04), D14 (p = 0,01), D16 (p = 0,007) und D17 (p = 0,03) signifikant.



4.14.2. Vergleich der Körpermasse innerhalb der Rasse Isa

Abbildung 54: Körpermassen der Rasse Isa

Vergleich der Körpermasse innerhalb der Rasse Isa unter verschiedenen Inkubationen

Es gibt keine klaren Unterschiede zwischen den beiden Versuchsgruppen und der Kontrollgruppe. An D11 jedoch hat die Kontrollgruppe eine signifikant höhere Körpermasse als die beiden Versuchsgruppen (p = 0,004).



4.14.3. Vergleich der Körpermasse innerhalb der Rasse Ross

Abbildung 55: Körpermasse der Rasse Ross

Vergleich der Körpermasse innerhalb der Rasse Ross unter verschiedenen Inkubationen

Die Begasung führt zu einer höheren Körpermasse bei Ross. Von D12 bis D18 hat die begaste Gruppe eine um 1,57 g bis 7,05 g höhere Körpermasse als die Kontrollgruppe. Die Unterschiede steigen mit der Inkubationszeit und sind an D12 (p = 0,02), D15 (p = 0,05) und D18 (p = 0,01) signifikant.

NV führt zu einer höheren Körpermasse bei Ross. Von D12 bis D18 treten Unterschiede zwischen NV- und Kontrollgruppe von 2,25 g bis 5,71 g auf. Statistisch gesichert sind die Unterschiede an D12 (p = 0,003) und D17 (p = 0,01).

4.15. Ergebnisse zur Herzmasseentwicklung



4.15.1. Vergleich der Herzmasse zwischen Isa und Ross

Abbildung 56: Herzmassen unter verschiedenen Inkubationen. Die nebeneinander gezeichneten farbigen Sterne zeigen die Signifikanz zwischen den gleichfarbig gezeichneten Linien des Diagramms am entsprechenden Tag.

Allgemeiner Verlauf

Die Herzmasse steigt mit der Inkubationszeit von 0,023 g bis 0,23 g.

Vergleich Isa-Kontrolle und Ross-Kontrolle

Im letzten Drittel der Untersuchung hat Ross ein um 0,018 g bis 0,034 g schwereres Herz als Isa. An D16 ist diese Beobachtung mit p = 0,003 signifikant.

Vergleich Isa begast und Ross begast

Ross hat eine höhere Herzmasse als Isa. Die Differenzen in der Herzmasse vergrößern sich im Laufe der Inkubationszeit, so dass Ross an D18 (p = 0,009) ein um 0,046 g schwereres Herz zeigt als Isa.

Vergleich Isa nicht-ventiliert und Ross nicht-ventiliert

Die Herzmasse von Ross ist an D12 (p = 0.03), D14 (p = 0.007) und D16 (p = 0.04) signifikant höher als die von Isa. Die Unterschiede an besagten Tagen reichen von 0.019 g bis 0.033 g.



4.15.2. Vergleich der Herzmasse innerhalb der Rasse Isa

Abbildung 57: Herzmassen der Rasse Isa

Vergleich der Herzmassen innerhalb der Rasse Isa unter verschiedenen Inkubationen

Die begaste Gruppe hat tendenziell höhere Herzmassen als die Kontrollgruppe (D12 p = 0,05 und D16 p = 0,01). Die Absolutwerte zwischen besagten Gruppen unterscheiden sich an D12 um 0,013 g und an D16 um 0,039 g. Auffällig ist der Einbruch der Herzmasse an D17.

Die Herzmasse der NV-Gruppe ähnelt der der Kontrollgruppe. Nur an D14 hat die NV-Gruppe eine um 0,022 g signifikant geringere Herzmasse (p = 0,05).

Ergebnisse



4.15.3. Vergleich der Herzmasse innerhalb der Rasse Ross

Vergleich der Herzmassen innerhalb der Rasse Ross unter verschiedenen Inkubationen

Die Gasgruppe hat, mit Ausnahme von D17, durchgängig höhere Herzmassen als die Kontrollgruppe. Von D10 bis D18 unterscheiden sich die absoluten Herzmassen um 0,01 g an D10 bis 0,034 g an D18. Dies ist an D12 signifikant (p = 0,02).

Die Herzmasse der NV-Gruppe ähnelt, mit Ausnahme von D12, dem der Kontrollgruppe. An D12 zeigt die NV-Gruppe ein um 0,035 g schwereres Herz als die Kontrollgruppe (p = 0,002).

Abbildung 58: Herzmassen der Rasse Ross

4.16. Ergänzende Morphologie

4.16.1. Differenz der Körpermassen in g

Differenz der Körpermassen in g (Ross minus Isa)														
Tag	Kontrolle	S-R	Gas	S-R	NV	S-R								
10	-0,06		0,14		-0,33									
11	-0,42	Х	-0,13		0,94									
12	-0,43		-0,76		2,33	Х								
13	-1,07		2,64		-0,21									
14	-0,66		3,09		4,75	Х								
15	0,38		2,74		3,22									
16	1,86		-1,66		3,75	х								
17	0,01		7,61		4,2	х								
18	0,47		8,83	Х	3,59									
Summe der Differenzen	0,08		22,5		22,24									
	X - S	ignifik	cante Differe	enzen										
				_										

Tabelle 3: Differenz der Körpermassen zwischen Ross und Isa

Wie der Tabelle 3 zu entnehmen ist, sind die Körpergewichte von NV-Ross gegenüber NV-Isa an den meisten Inkubationstagen erhöht. An vier Tagen sind die Werte statistisch gesichert. Die Herzgewichte aus Tabelle 8 sind ebenfalls bei NV-Ross überwiegend größer als bei NV-Isa, wobei an drei Tagen (identische Tage wie bei den Körpermassen) eine statistische Sicherung erfolgen konnte.

4.16.2. Differenz der reziproken relativen Herzmassen

Aufgrund der kleinen Herzmassen im Verhältnis zu den Körpermassen der Embryonen würden die relativen Herzmassen sehr klein ausfallen. Es wurden deshalb die reziproken relativen Herzmassen zum Vergleich herangezogen, also

	_		1	K										
	-	- <u> </u>												
Differenz der Proportionen zwischen Körper- und Herzmasse in % (Formelsiehe Text)														
Тад	Kontrolle	S - R	Gas	S - R	NV	S - R								
10 11 12	-2,61 1,96 6,91		-27,42 -9,93		9,99 12,22 934	x								
13	-28,29		12,47		0,79	Ŷ								
14	1,32		21,07 8,98		9,81									
16 17 18	-13,61 -12,19 -1115		-17,06 22,60 14,69	x	3,31 18,06 4 98	X								
18 -11,15 14,69 X 4,98 Summeder Differenzen -55,33 24,27 85,02														
	X - S	ig nifik	ante Differe	enzen										

Tabelle 4: Differenz der Proportionen zwischen Körpermasse zu Herzmasse der Rassen Ross und Isa

Ergebnisse

Die Berechnung der Differenzen der Proportionen (**Diff.d.Prop.**) in Tabelle 4 erfolgte nach der Gleichung:

Diff.d.Prop = (Körpermasse Ross/Herzgewicht Ross) – (Körpermasse Isa/Herzgewicht Isa).

Unter der NV hat Ross gegenüber Isa höhere Körpermassen. Im Verhältnis zur Körpermasse ist die Herzmasse von NV-Ross kleiner als bei NV-Isa. Nach obiger Formel, dem kleinen Nenner (Herzgewicht Ross) geschuldet, ergeben sich durchgehend positive Werte bei NV (Summe der Differenzen = 85,02).

4.17. Wasserverluste



4.17.1. Vergleich der Wasserverluste im Ei zwischen Isa und Ross

Abbildung 59: Wasserverluste unter verschiedenen Inkubationen. Die nebeneinander gezeichneten farbigen Sterne zeigen die Signifikanz zwischen den gleichfarbig gezeichneten Linien des Diagramms am entsprechenden Tag.

Allgemeiner Verlauf

Der Wasserverlust im Ei nimmt mit der Inkubationszeit von D10 bis D18 zu (min. 2,49 g bis max. 8,78 g).

Vergleich Isa-Kontrolle und Ross-Kontrolle

In der zweiten Inkubationshälfte zeigt Isa einen bis zu 1,72 g höheren Wasserverlust als Ross.

Vergleich Isa begast und Ross begast

Auch unter der Begasung hat Isa einen größeren Wasserverlust im Ei als Ross, der während der gesamten Inkubation auftritt (D10: 2,14 g und D17: 2,335 g).

Vergleich Isa nicht-ventiliert und Ross nicht-ventiliert

Unter NV-Bedingungen gleichen sich die Wasserverluste im Ei von Isa und Ross an.

4.17.2. Vergleich des Wasserverlustes im Ei innerhalb der Rasse Isa



Abbildung 60: Wasserverlust innerhalb der Rasse Isa unter verschiedenen Inkubationen

Vergleich des Wasserverlustes innerhalb der Rasse Isa unter verschiedenen Inkubationen

Die Rasse Isa zeigt unter NV an allen Inkubationstagen signifikant geringere Wasserverluste im Ei gegenüber der Kontrollgruppe (max. 2,605 g). Der Wasserverlust der Kontroll- und Gasgruppe verläuft ähnlich. Eine Annäherung von NV-Isa und der Kontrollgruppe am Ende der Inkubationszeit bleibt hier, im Gegensatz zu Ross, aus.



4.17.3. Vergleich des Wasserverlustes im Ei innerhalb der Rasse Ross

Abbildung 61: Wasserverlust innerhalb der Rasse Ross unter verschiedenen Inkubationen

Vergleich des Wasserverlustes innerhalb der Rasse Ross unter verschiedenen Inkubationen

Auch bei Ross zeigt die NV-Gruppe signifikant niedrigere Wasserverluste im Ei gegenüber der Kontrollgruppe (max. 1,705 g). Zu D17 bzw. D18 hin gleichen sich die Wasserverluste von NV- und Kontrollgruppe auf ca. 6 g an. Die Wasserverluste der Gas- und Kontrollgruppe verlaufen ähnlich.

4.18. Verlauf der CO₂- und O₂-Konzentration unter NV-Bedingungen

Tag	CO2	O ₂
D0	100,00%	100,00%
D1	100,00%	100,00%
D2	100,00%	100,00%
D3	100,00%	100,00%
D4	133,33%	98,57%
D5	166,67%	98,10%
D6	166,67%	95,71%
D7	200,00%	95,24%
D8	300,00%	93,81%
D9	466,67%	91,90%
D10	500,00%	90,48%
D11-D18	100,00%	100,00%

Erläuterungen siehe Diskussion / Inhaltsverzeichnis / Gliederungspunkt 5.2.

Tabelle 5: Entwicklung der CO₂- und O₂-Werte im Inkubator über die Zeit (Normalbedingungen gleich 100 %)

4.19. Zusammenfassung der Ergebnisse

Die folgenden zusammenfassenden Aussagen wurden aus den Verlaufskurven der Abbildung 9 bis Abbildung 61 und der Tabelle 6 bis Tabelle 9 abgeleitet.

4.19.1. Gasparameter und Metabolite

<u>pH:</u>

Die Kontrollgruppen weisen zwischen den Rassen keine Unterschiede auf. Die Reaktionen auf Begasung und NV sind rassenunterschiedlich.

Die NV führt ab D16 zu einem signifikant alkalischem pH im Blut von Isa und zu einem mehr azidotischem bei Ross. Begasung führt zu vergleichbaren Ergebnissen (Tabelle 6 und Abbildung 9).

<u>pO</u>₂

Auch im Sauerstoffpartialdruck treten Rassenunterschiede mit unterschiedlichen Reaktionen bei den Rassen im Blut bzw. in der Amnionflüssigkeit auf.

Während Isa im Blut an D11 und D12, unabhängig von den Inkubationsbedingungen, einen tendenziell geringeren Sauerstoffpartialdruck hat als Ross, übersteigt er an den letzten drei Inkubationstagen den von Ross. Dieser Unterschied zwischen den Rassen verstärkt sich bei der NV, was sich in den Signifikanzen von D16 bis D18 niederschlägt (Tabelle 6 und Abbildung 13).

$\underline{pCO_2}$

Auch für den CO₂-Partialdruck ist ein Rassenunterschied nachweisbar. Unabhängig von der Inkubationsform hat Ross teilweise signifikant höhere pCO₂-Werte in Blut und Amnionflüssigkeit als Isa. Dieser Unterschied verstärkt sich im letzten Inkubationsdrittel bei der NV signifikant (Tabelle 6 und Tabelle 8; Abbildung 17, Abbildung 18 und Abbildung 20).

<u>HCO3</u>⁻

Ein Rassenunterschied kann bei NV für HCO₃⁻ festgestellt werden. Ross hat eindeutig höhere Bikarbonatgehalte im Blut als Isa. Auch in der Amnionflüssigkeit sind die Bikarbonatwerte von Ross tendenziell erhöht (Abbildung 21 und Abbildung 22; Tabelle 6 und Tabelle 8).

<u>Hämoglobin</u>

Einen Rassenunterschied zeigen die signifikant höheren Hb-Werte im Blut von Ross im Vergleich zu Isa (Tabelle 6 und Abbildung 25). Begasung und NV verstärken signifikant diesen Unterschied.

Ergebnisse

<u>Hämatokrit</u>

Der Rassenunterschied ist auch beim Hämatokrit vorhanden. Begasung und NV verstärken die Hämatokritdifferenzen zwischen den Rassen an ausgewählten Tagen zugunsten höherer Hämatokritwerte bei Ross (Tabelle 6; Abbildung 28 und 30).

Glukose

Ein Rassenunterschied kann auch für den Glukosegehalt im Blut nachgewiesen werden. Im Vergleich zu Ross hat Isa insgesamt höhere Glukosewerte im Blut, die bei der NV an ausgewählten Tagen sicherbar sind (Tabelle 7 und Abbildung 31).

Bei beiden Rassen bewirkt die NV eine Glukoseerhöhung gegenüber der Kontrolle (Tabelle 7, Abbildung 32 und Abbildung 33).

4.19.2. Elektrolyte, Morphologie und Wasserverlust

 \underline{K}^+

Der Rassenunterschied spiegelt sich auch in den differenten K⁺-Gehalten wieder. Zum einen zeigt Ross an D13, unabhängig von der Inkubation, signifikant höhere K⁺-Werte im Blut als Isa (Abbildung 37 und Tabelle 7).

Zum anderen steigt der K⁺-Spiegel in der Amnionflüssigkeit bei Ross früher als bei Isa. Ross hat dann höhere K⁺-Werte als Isa. Dieser Rassenunterschied wird durch die NV erheblich verstärkt (Tabelle 9 und Abbildung 38).

Ross reagiert stärker auf die Inkubationen als Isa, was sich durch die häufig auftretenden Signifikanzen innerhalb der Rasse Ross niederschlägt (Tabelle 9 und Abbildung 40).

<u>Na</u>+

Zwischen den Rassen gibt es Unterschiede in den Na⁺-Werten. Von D13 bis D15 fällt der Na⁺-Spiegel in der Amnionflüssigkeit. In dieser Zeit hat Isa höhere Na⁺-Werte als Ross (Tabelle 9 und Abbildung 42).

Während Isa weniger stark auf die Inkubation reagiert, sind bei Ross deutliche Reaktionen zu sehen: In der ersten Hälfte des Untersuchungszeitraumes sind die Na⁺-Werte in Blut und Amnionflüssigkeit von Ross bei der NV gegenüber der Kontrollgruppe erhöht (Abbildung 44).

$\underline{Ca^{2+}}$

Der Rassenunterschied kann auch für den Ca^{2+} -Gehalt im Blut nachgewiesen werden. So zeigt Ross unter der NV höhere Ca^{2+} -Gehalte im Blut als Isa. Die Begasung sorgt für eine Annäherung der beiden Rassen (Abbildung 45 und Tabelle 7).

<u>Cl</u>⁻

Auch in den Cl⁻-Werten ist der Rassenunterschied offensichtlich. Unter Kontrollbedingungen zeigt Isa höhere Cl⁻-Gehalte im Blut als Ross. Unter der NV verstärkt sich dieser Unterschied (Tabelle 7 und Abbildung 49). Die NV sorgt für einen erhöhten Cl⁻-Spiegel in der Amnionflüssigkeit (Tabelle 9 und Abbildung 50).

<u>Körpermasse</u>

Die Reaktion der Körpermassen auf die NV unterscheidet sich zwischen den Rassen. Die NV führt bei Ross zu höheren Körpermassen als bei Isa (Tabelle 8 und Abbildung 53).

Herzmasse

Auch bei den Herzmassen gibt es Rassenunterschiede. Ross hat unter der NV eine höhere Herzmasse als Isa (Tabelle 8 und Abbildung 56).

Wasserverlust

Im Zwischenrassenvergleich hat Isa unter Kontroll- und Gasbedingungen höhere Wasserverluste im Ei als Ross. Unter NV gleichen sich die Wasserverluste der beiden Rassen an. Beide Rassen zeigen unter NV signifikant geringere Wasserverluste gegenüber der Kontrollgruppe (Abbildung 59, Abbildung 60 und Abbildung 61).

4.19.3. Signifikanzhäufigkeiten und Zusammenfassung

Die Betrachtung der Signifikanzhäufigkeiten ergibt folgendes Bild:

- 1. Beim Zwischenrassenvergleich im Blut für das Hb treten bei allen Gruppen Signifikanzen auf (Tabelle 6). Die anderen Blutgasparameter weisen dagegen hauptsächlich bei der NV-Gruppe Signifikanzen auf.
- 2. Innerhalb der Rassen treten bei den Blutgasparametern nur vereinzelt Signifikanzen auf (Tabelle 6).
- 3. In der Amnionflüssigkeit sind die Blutgasparameter statistisch eher unauffällig. Es kann keine eindeutige Signifikanzhäufung festgestellt werden (Tabelle 8).
- 4. In der Amnionflüssigkeit weisen die Elektrolyte K⁺ und Na⁺ zwischen den Rassen die meisten Signifikanzen auf (Tabelle 9).
- 5. Im Blut ist eine Häufung der Signifikanzen zwischen den Rassen der NV-Gruppen bei Ca²⁺ und Glukose auffällig (Tabelle 7).
- 6. K⁺ und Na⁺ weisen in der Amnionflüssigkeit innerhalb der Rasse Ross gegenüber der Rasse Isa relativ viele Signifikanzen auf (Tabelle 9).
- 7. Bei Ca²⁺ und Cl⁻ sind die Signifikanzen in der Amnionflüssigkeit innerhalb der Rassen in ihrer Häufigkeit relativ ausgeglichen (Tabelle 9).
- 8. Im Zwischenrassevergleich der Körpermassen und der Herzmassen zeigt sich eine eindeutige Häufung der Signifikanzen bei den NV-Gruppen (Tabelle 8).
- 9. Innerhalb der Rasse Ross treten gegenüber der Rasse Isa deutlich mehr Signifikanzen bei den Körpermassen auf (Tabelle 8).

Die Betrachtung der Signifikanzhäufigkeiten leitet sich aus den Tabellen 6 bis 9 ab.

	pH-Wert pO ₂ (kPa)					pCO ₂ (kPa)					HC	O3 ⁻ (mmol/l)	1	Hb (mmol/l)		Hkt (%)					
Inkub.	Tag	ISA	ROSS		ISA	ROSS		IS	6A	ROSS			ISA	ROSS		ISA	ROSS			ISA	ROS	s
		S-Ink	S-Ink	S-R	S-Ink	S-Ink	S-R	S-Ink		S-Ink	S-R	S-Ir	nk	S-Ink	S-R	S-Ink	S-Ink	S-R	S-Ir	ık	S-Ink	S-R
	11	7,69	7,70		10,29	10,89	X		2,21	2,38		+	19,80	20,55		5,90	7,00					
ø	12	7,70	7,65	х	10,01	10,37		+	1,92	2,26			18,70	17,80		5,00	6,60		+	25,00	25,0	0
ddr	13	7,60	7,63		9,49	9,33			3,10	2,71			22,15	21,85		7,10	6,85			28,00		
lgn	14	7,61	7,60		+ 8,85	8,29			3,07	3,41			24,85	25,35		7,30	7,65		+	27,00	27,0	0
2	15	7,59	7,56		7,91	8,21			3,74	4,08			28,80	27,20		7,30	7,65			26,00	29,0	0
ont	16	7,54	7,55		7,37	6,39			3,84	4,44			24,40	+ 27,50		7,70	9,40	х		32,00	34,0	0
×	17	7,56	7,55		6,75	6,15			4,24	4,89			28,80	28,90		8,20	9,50			30,00	+ 34,0	0
	18	+ 7,55	7,53		7,20	6,56			4,49	5,41			26,30	29,90	x	8,60	10,10	х		32,00	37,0	x o
					<u> </u>		<u></u>								<u> </u>			<u></u> +−-	1			
	11	7,70	7,72		9,90	10,77			2,68	2,53			22,00	26,25		5,30	6,20	х				
	12	7,65	7,63		9,35	9,95		+	2,50	2,57			19,80	19,90		5,60	7,80	х		26,00	27,0	10
dd	13	7,64	7,63		9,49	9,47			3,09	3,42			22,30	23,60		7,25	7,60			28,50	30,0	10
2g	14	7,56	7,57		9,11	8,77			3,57	3,78			24,90	26,85		7,00	8,00	х	+	30,00	30,0	10
s S	15	7,58	7,55		6,87	7,90			4,04	4,51			27,50	27,50		7,85	8,15			30,00	32,0	0
Ğ	16	7,56	7,49		6,41	7,09			4,09	4,85			27,20	26,20		8,60	8,15			30,00	34,0	0
	17	7,58	7,53	х	6,40	5,67	X		4,18	4,77			31,21	28,45		7,45	9,90	х		29,00	+ 38,0	0 X
	18	7,48	7,51		6,33	7,02			4,85	4,58			29,50	28,70		9,00	10,75	х		30,00	35,5	iO
	11	7 7/	7 72	 -	0.9	10.42	Γ-	[1 60	1 74		+	17.00	18.00	[5.45	7 20	v				
	12	7,66	7.62		9.07	0.85			2 12	2 00			10 10	22.20	v	5,90	7 10	Ŷ	+	20 00	20.0	0
e	12	7,00	7,02		0,12	0.00			2,12	2,30			21 60	22,20	^	7,50	7,10	L^	l •	23,00	00,0	
dd	14	7,01	7,00		5,13	3,23			2,00	2,11			21,00	21,90	•	7,50	0,00		+	20,00	20,0	0
2g	14	7,59	7,57		T 7,27	7,80			3,10	3,92			22,80	27,70	^	7,60	8,20	v	-	30,00	30,0	
Ž	15	7,60	7,57	v	8,12	7,59	l.		3,49	4,10	v		25,60	27,00		7,30	8,20	Ŷ		26,00	30,0	
-	10	7,68	7,52	X	8,39	6,05			2,85	5,41	X		20,10	- 31,60	^	7,90	9,80	, X		29,00	35,0	
		7,60	7,50	X	7,48	6,04	۱.		3,88	5,00	X		28,20	28,70		8,60	9,80	X		31,00	34,0	X
	18	+ 7,65	7,52	<u> </u>	7,38	5,94	LX.	L	3,16	5,07	X	L_	29,70	31,10	L	9,90	9,70	L	J	32,00	36,5	<u>.</u> .

Zusammenfassung der Ergebnisse ISA - Ross Blut

Tabelle 6: Zusammenfassung Gasparameter Blut; + S-Ink = Signifikanz innerhalb der Inkubationsart, X S-R = Signifikanz zwischen den Rassen

		Kaliu	um (mmol/l)		Natriu	im (r	nmol/l)		Kalzi	um (mi	mol/l)			Chlori	id (mmol/l			Gluko	se (r	nmol/l)			Lakta	at (mn	nol/l)	
Inkub.	Tag	ISA	ROSS		ISA		ROSS		ISA	F	ROSS			ISA	ROS	S		ISA		ROSS		18	SA	F	ROSS	
		S-Ink	S-Ink	S-R	S-Ink	S-In	ık	S-R	S-Ink	S-Ink		S-R	S-Inl	(S-Ink	S-F	S-In	k	S-In	k	S-R	S-Ink		S-Ink		S-R
	11	3,90	4,25	5	129	+	123,5	X	1,57		1,47			100	g	8		7,82	+	6,32	X		1,60		2,35	
a	12	3,50	4,00		125		125		1,75	+	1,67			98	+ 9	8	+	8,15	+	6,57			2,10	+	2,25	
dn	13	3,15	3,90	X	128	+	126		1,80		1,75			100	9	7	+	8,65		8,15			1,55		1,70	
llgr	14	3,65	4,00)	+ 127,5	+	124	х	1,73		1,84			96	9	5		8,54		8,43			1,40		1,70	
tz	15	4,30	4,10)	125		127,5		1,77		1,79	х	+	93	9	7		9,32	+	8,26			1,80		2,00	
ou	16	4,50	+ 4,30)	127		127		1,77		1,82			96	92,	5		9,54		9,43			1,90		1,60	
×	17	+ 4,60	4,40)	126	+	128	х	1,80		1,81			94	9	3	+	9,65		9,65			1,80		1,80	
	18	+ 4,65	4,20	X	128	+	128,5		+ 1,70		1,68		+	97	g	4	+	9,60		8,15		+	1,90	+	1,00	х
	11	3.55	4.05	5	128	+	126.5		1.66		1.64	[103	10	1		7.93		7.60			2.10		1.80	
	12	3.50	3.70		125		127		1.72		1.72			98	10	1		8.15		7.82			2.10	+	1.60	
a	13	3.50	3.80	x	127		126		1.73		1.71			98	97.	5	+	7.71		7.82			1.75		2.10	
dn	14	3.70	4.10		+ 124		123.5		1.69		1.75			98	g	5		8.26		7.71			1.60		1.40	
ģ	15	4.60	4.10		124		125		1.82		1.77			92.5	93	5		8.57		8.29			1.75		1.40	
gas	16	4.50	+ 3.70	x	128		128		1.79		1.79			94.5	95.	5		9.49		9.18			1.70		1.80	
Ŭ	17	4.65	4.75		126		126.5		1.71		1.65			91.5	93	5		9.60		9.32			2.55		2.20	
	18	+ 4.00	4.45	x	128	+	125.5	x	1.74		1.75			96	95.	5	+	7.49		8.74	x	+	0.90		1.55	
				┝-	<u> </u>												<u> </u>								,	
	11		3,70			+	130,5				1,63				102,	5			+	8,21					2,10	
	12	3,40	3,70		128		129		1,73	+	1,76			102	+ 10	1	+	8,71	+	8,10	х		2,00		1,80	
be	13	3,20	3,80	X	127	+	129,5		1,76		1,70	х		99	98,	5		8,88		8,26	х		2,00		1,95	
1 n	14	3,85	3,70		127,5	+	127		1,72		1,80	х		97,5	9	6		8,82		8,88			1,95		1,60	
á	15	4,30	4,90		124		125		1,72		1,85	х	+	95,5	9	3		9,32	+	9,37			1,95		2,00	
Ē	16	3,70	4,40		127		126,5		1,78		1,80			96	9	1 X		9,37		10,04			1,80		1, 6 0	
	17	+ 4,00	4,30		125	+	126		1,53		1,78	х		93	94,	5	+	10,35		9,40	х		1,55		1,75	
L	18	4,60	4,65	L_	125		128,5	X	+ 1,64		1,73	l	+	90	9	4 X	L_	10,04		9,07	х	+	2,10	+	1,80	<u> </u>

Zusammenfassung der Ergebnisse (Elektrolyte/Metabolite) ISA - Ross Blut

Tabelle 7: Zusammenfassung Elektrolyte/Metabolite Blut, **+** S-Ink = Signifikanz innerhalb der Inkubationsart, **X** S-R = Signifikanz zwischen den Rassen

	pH-Wert						pO ₂	(kPa)		pCO ₂ (kPa)			HCO ₃ (mmol/l)					Körpe	Herzgewicht (g)									
Inkub.	Tag	1	SA	ROS	SS		ISA		ROSS		IS	6A		ROSS			ISA	RO	s		ISA	ROS	5		ISA		ROSS	
	10	S-Inl	k	S-Ink		S-R	S-Ink	S-In	nk	S-R	S-Ink		S-Inl	<	S-R	S-Ink		S-Ink	S	S-R	S-Ink	S-lnk	S-R	l S-Ir	ık	S-Inl	<u> </u>	S-R
	10		6,83		6,82		7,	44	6,74			2,34	+	2,44		+	3,00	2,	95		2,26	2,2	0		0,023		0,023	
e	11	+	6,69		6,77		6,	04	7,88			3,14		3,38		+	2,70	3,	00		+ 4,37	3,9	5 X	Ι.	0,044		0,039	
d	12		6,65	+ (6,79		6,	90	6,57			3,50	+	3,05			2,50	+ 3,	30		4,37	+ 3,9	4	+	0,049	+	0,041	
ц	13	+	6,70		6,67		5,	52	6,34			4,37		4,73		+	3,60	3,	30 1 0		9,00	7,9	3		0,072		0,082	
2	14		6,64		6,74		- 5,	97	5,26	~		5,67		6,64	X		4,70	6,	10		11,84	11,1	8		0,117		0,108	
ō	15		6,70		6,69		+ 4,	95	5,71	X		5,87		6,44			6,20	5,	55		13,44	+ 13,8	2	Ι.	0,137		0,139	
¥	16		6,80		6,66		4,	96	5,37	v		5,58	Ŧ	6,58	v		5,90	5,	40		15,82	17,6	8	T	0,131		0,165	X
	17		6,76	T (6,67			68	5,28	x		5,83		6,92	X		5,60	6,	5		19,15	- 19,1	6		0,159		0,177	
L	18		6,69		6,87		τ 5,	05	5,70			6,04		6,80	X		5,60		50		23,46	- 23,9	3		0,181		0,202	<u></u>
	10		6.87		6.82		7.	64	8.27			3.20	+	3.64		+	3.70	4.	20		2.09	2.2	3		0.022		0.033	
	11		6.74	(6.78		6	94	7.17			3.92		3.47		+	3.50	3.	50		+ 3.55	3.4	2		0.050		0.056	
ø	12		6.54	+ (6.59		6	04	6.49			4.22	+	4.19			2.90	+ 2	75		6.27	+ 5.5	1	+	0.063	+	0.056	
đđ	13	+	6.42		6.75	х	6	42	5.28			4.41		5.37		+	2.10	5.	10	х	6.94	9.5	8		0.072		0.088	
E.	14		6,71		6,67		5.	88	5,32			5,33		5,96			4,80	5.	35		10,78	13,8	7		0,132		0,135	
as-	15		6,67		6,65		4	73	5,39			6,48		6,82			5,20	5.	05		14,73	+ 17,4	7		0,146		0,159	
G	16		6,71	(6,72		6	14	5,63			5,64		6,92			5,15	5,	95		20,48	18,8	2	+	0,170		0,182	
	17		6,79	+ (6,80		6	93	6,34			6,08		6,78			6,20	7,	95	х	16,69	24,3	0		0,131		0,162	
	18		6,73				+ 6,	22			+	6,82					6,20				22,15	+ 30,9	8 X		0,190		0,236	х
																			-+-									
	10		6,83		6,83		6,	89	7,72	х		3,08		2,72		+	3,70	3,	55		2,65	2,3	2		0,032		0,025	
	11	+	6,83		6,77		6,	45	7,38			2,89		3,22		+	3,40	3,	10		+ 3,16	4,1	0		0,036		0,041	
ø	12		6,70		6,54		6,	48	5,72			3,79	+	4,48			3,40	2,	90		4,86	+ 7,1	9 X		0,057	+	0,076	X
đ	13		6,53		6,61		5,	80	6,57			4,70		4,74			2,80	3,	30		7,68	7,4	7		0,084		0,081	
ģ	14		6,59		6,66		+ 8,	12	5,34	х		4,98		6,69	X		3,10	5,	40	х	8,81	13,5	6 X		0,094		0,123	X
Ę	15		6,66		6,70		+ 5,	86	5,43			6,18		6,60			4,95	5,	00		12,85	16,0	7	1	0,133		0,151	1
	16		6,72		6,67		5,	36	5,61			5,90	+	7,10	X		4,70	6,	20		14,93	18,6	8 X	1	0,135		0,164	X
	17		6,83		6,82		7,	29	6,57			5,58		6,58			6,05	7,	30		20,67	+ 24,8	7 X		0,171		0,179	
L	18	L	6,84		6,80	L	+ 6,	66	7,01		L	5,76		6,17	l	L	6,80	6,	30		23,09	26,6	8	l	0,177		0,197	L

Zusammenfassung der Ergebnisse ISA - Ross Amnion und Morphologie

Tabelle 8: Zusammenfassung Gasparameter Amnion/Morphologie, + S-Ink = Signifikanz innerhalb der Inkubationsart, **X** S-R = Signifikanz zwischen den Rassen

Kalium (mmol/l)					1	Natriu	m (r	nmol/l)		Kalzium (mmol/l)						Chlorid (mmol/l)			
Inkub.	Тад	ISA	ROSS			ISA	.	ROSS		15	SA	F	ROSS	0.0	.	ISA	<u>.</u>	ROSS	
	10	5-INK	S-INK	5-1	1 5-1	160.0	5-In		3-R	S-INK	0.00	S-INK	0.04	5-R	5-in	к 100 0	3-Ir	IK	5-R
	10	3,20	3,	55		130,0	Ξ.	128,5			0,83		0,84		-	130,0		130,0	
		3,60	+ 4,	10		131,0	+	128,0	×		1,01		0,89			131,0	+	129,0	
8	12	3,60	+ 3,	70		131,5	_	128,0		+	1,08	+	0,89	X		132,0		128,0	
ž	13	6,20	+ 10,	30		130,0	+	127,0			1,46	+	1,28	x		132,0		123,0	
	14	21,55	38,	40 X		121,5		103,0	X		1,53		1,73			120,5	+	97,0	X
ž	15	29,40	+ 38,	80		116,0		105,0		+	1,63		1,68			103,0	+	96,5	
2	16	33,10	33,	15		111,0		113,5			1,69		2,07		+	102,0		101,0	
_	17	+ 23,40	+ 28,	90 X	+	122,0		121,0		+	2,01		2,23		+	113,0		104,0	
	18	24,50	22,	60		120,0	+	123,0		+	2,03	+	1,83		+	110,0		118,0	
	10																		i – – .
	10	3,30	3,	50		132,5		132,0			0,88		0,86			132,0		132,5	
	11	3,60	4,	05 X		133,0		130,0			0,99		0,96			130,5		132,0	
8	12	5,60	4,	45		128,0		129,5			1,19	+	1,09			131,5		133,0	
ž	13	6,40	+ 35,	50 X		132,0	+	108,0	×		1,30	+	1,46			133,5	_	108,0	×
ů,	14	31,20	33,	50		109,0		111,5			1,67		1,65			107,0	+	107,5	
ð	15	32,80	+ 29,	70		110,0		113,0			1,89		1,97			103,0	+	107,0	
-	16	27,10	34,	95		118,0		109,5			1,82		1,96		+	114,0		103,0	
	17	+ 29,10	+ 23,	60 X	+	105,0		120,5	X	+	1,62		2,16	x	+	102,0		113,5	
	18	23,00				124,0					1,82				+	114,0			
																400.0			<u> </u>
	10	3,20	3,	90		132,0	Τ.	133,0			0,90		0,79		-	133,0		134,5	
	11	3,60	+ 3,	~		132,0	+	134,0			1,03		0,96			132,0	+	139,0	
8	12	4,85	+ 9,			132,0		131,0		+	1,29	+	1,22			133,5		133,0	
5	13	3,70	14,	X 00		133,0		127,0			1,31		1,35			137,0		122,0	
ģ	14	6,70	35,	90 X		131,0		112,0	X		1,68		1,75			134,0	+	103,0	X
2	15	30,20	38,	x oc		111,5		103,0	X	+	1,90		1,84			103,5		97,5	
	16	26,70	25,	00	1	117,5		118,0			1,89		1,87			108,0		109,0	l l
	17	23,30	+ 20,	30		122,0		122,0			1,81		1,58	x		115,0		117,0	
L	18	20,50	23,	20	.L_	120,0	+	120,0	L	+	1,47	- <u>+</u> _	2,03	L	<u>+</u> _	117,0		113,0	X

Zusammenfassung der Ergebnisse (Elektrolyte) ISA - Ross Amnion

Tabelle 9: Zusammenfassung Elektrolyte Amnion, + S-Ink = Signifikanz innerhalb der Inkubationsart, X S-R = Signifikanz zwischen den Rassen

In der folgenden Diskussion wird auf ausgewählte Signifikanzen eingegangen. Dazu dienen die o.g. Tabellen 6 bis 9.

5. Diskussion

5.1. Umweltparameter

Ab D3 produziert das Ei CO_2 und nimmt O_2 aus der Umgebung auf (Tabelle 5). Der Transport von CO_2 und O_2 erfolgt ab diesem Zeitpunkt einerseits durch Hämoglobin und andererseits durch überwiegend passive Diffusion durch die Eischale und die inneren Membranen. Die Diffusion wird durch verschiedene Umweltparameter wie

- die Luftfeuchtigkeit
- die Umgebungstemperatur
- den O₂–Gehalt der Inkubationsluft
- und den CO₂–Gehalt der Inkubationsluft beeinflusst.

In industriellen Inkubatoren werden insbesondere die ersten beiden Faktoren konstant gehalten. Insgesamt aber sollen moderat höhere CO_2 -Konzentrationen zu schnellerem Wachstum, früherem Schlupf, zu einer geringeren postnatalen Mortalität sowie bei aszitesanfälligen Rassen zu geringeren Fallzahlen führen (De Smit *et al.*, 2008; Everaert *et al.*, 2008; Molenaar, 2007; Bruggemann *et al.*, 2007; Decuypere *et al.*, 2006). Dabei ist es durchaus üblich die Inkubatoren vorübergehend nicht, oder zumindest weniger zu ventilieren. Allerdings steigen damit nicht nur der CO_2 -Gehalt und die Luftfeuchtigkeit, sondern es verringert sich auch der O_2 -Gehalt der Umgebungsluft.

Nach French (2009) muss berücksichtigt werden, dass die erhöhte Luftfeuchtigkeit unter NV-Bedingungen mit zu o.g. beschriebenen positiven Effekten im Ei beiträgt. Diese ergeben sich also aus der CO₂-Konzentration, aus dem O₂/CO₂-Verhältnis und der relativen Luftfeuchtigkeit. Im Innern des befruchteten Eies spielen sich bis zum Schlupf intensive Stoffwechsel- und Wachstumsprozesse ab, die durch die äußeren Umweltfaktoren beeinflusst werden. Die ursächliche Erklärung für diese Prozesse und deren Beeinflussung müsste sich in den physikalisch-chemischen sowie biologischen Interaktionen auf Zellebene, in den Geweben, in den Organen, in den Eihüllen und in den Flüssigkeiten des embryonalen Eies finden.

In der vorliegenden Dissertation werden in Fortführung der Untersuchungen von Feske und Tönhardt (2009 und 2007) die Auswirkungen verschieden definierter CO₂–Konzentrationen bei gleichzeitiger Konstanthaltung der übrigen Luftparameter im ersten Inkubationsdrittel beschrieben. Diese Ergebnisse werden mit den Werten der NV-Gruppe sowie der Kontrollgruppe (praxisübliche Inkubationsbedingungen) verglichen.

5.2. Eiatmung

Die Eiatmung führte, entsprechend Tabelle 5, zu prozentualen Abweichungen von den Normalwerten in der Inkubationsluft der NV-Gruppe. Auffällig ist, dass am D8 eine Verdopplung der CO₂-Werte gegenüber den Werten am D7 auftrat. Damit waren die CO₂-Werte an diesem Tag auf das Dreifache der Normalwerte gestiegen. Der größte Anstieg fand von D8 auf D9 um das ca. 1,7fache statt. An D10 waren die CO₂-Werte fünfmal so hoch wie die Normalwerte. Die O₂-Konzentration sank bis dahin um ca. 10 %, was zu einer moderaten, normobaren Hypoxie führte, da der Luftdruck weitestgehend konstant blieb.

Diese drastischen CO₂-Anstiege lassen sich durch den großen Sauerstoffbedarf in dieser Wachstumsphase und der damit verbundenen hohen CO₂-Abgabe erklären. Ab etwa D6 beginnt der Gasaustausch über die CAM, der an D10 wahrscheinlich sein Optimum erreicht hat. Er wird ab D13 begrenzt, da die CAM ihr Wachstumsmaximum erreicht hat (Everaert *et al.*, 2008; Freeman und Vince, 1974).

Unter NV stieg der CO₂-Gehalt der Inkubationsluft bis auf 1,5 % an D10. Aus diesem Grund wurde die CO₂-Konzentration, bei konstantem O₂, bei der Gas-Gruppe bis auf 1,5 % gesteigert, um so nahezu vergleichbare sowie praxisrelevante CO₂-Bedingungen zu schaffen. Beide Gruppen blieben noch im physiologisch sicher tolerierbaren Bereich. Ob sich zum Zeitpunkt D10 bereits ein vollständiges Gleichgewicht zwischen Innen- und Aussendruck an CO₂ eingestellt hat und kein weiteres CO₂ mehr vom Ei abgegeben wird, darf bezweifelt werden. Eine weitere Steigerung der CO₂-Konzentration scheint möglich, da der Embryo die CO₂-Abgabe bis zum Zeitpunkt der Mortalität weiter steigert, wenn er ausreichend mit Sauerstoff versorgt wird.

Im Blut gelöstes CO_2 aktiviert in physiologischer und leicht gesteigerter Konzentration das Atemzentrum des Gehirns. In deutlich höherer Konzentration führt es jedoch zur Verminderung oder sogar Aufhebung des reflektorischen Atemanreizes (Atemdepression, Atemstillstand). Diese Wirkungen treten viel rascher ein als eine Erstickung durch O_2 -Mangel. CO_2 -Konzentrationen von 8 % und mehr führen beim Menschen innerhalb von 30 bis 60 Minuten zum Tod (Marquaß, 2003).

Beim Embryo ohne Lungenatmung hat CO_2 zunächst eine indirekte Wirkung auf den Sauerstoffhaushalt des Blutes. Befindet sich vermehrt CO_2 in der Luft bzw. im Blut, so wird über das Dissoziationsgleichgewicht der Kohlensäure der pH-Wert vermindert. Bei niedrigerem pH-Wert verringert sich die O₂-Bindungskapazität. Bei gleichem O₂-Gehalt der Luft, wie das bei der Gasgruppe der Fall war, kann vom Hämoglobin weniger Sauerstoff gebunden und transportiert werden (Bohr-Effekt).

Pfaff und Boucek (1958) setzten das 72 Stunden alte embryonale Hühnerherz einer Anoxie für 30 Minuten aus. Zum einen geschah dies in Kombination mit CO_2 und zum anderen ohne CO_2 . Interessanterweise erholten sich nur die Herzen, die einer Anoxie in Kombination mit 4 % CO_2 ausgesetzt waren. CO_2 scheint das Herz zu schützen, was durch die Bildung von HCO_3^- als Puffer bedingt sein kann. Der pH im Blut stieg in der CO_2 -Gruppe von 6,8 auf 7 an. Die Herzen überstanden die 30 minütige Anoxie in Kombination mit 4 % CO_2 ohne irreperable Schäden (Pfaff und Boucek, 1958).

5.3. Relative Luftfeuchtigkeit

Die relative Luftfeuchtigkeit stieg bei den NV-Gruppen bis auf ca. 76 % an (Tabelle 1). Empfohlen wird in der Praxis aber eine Luftfeuchtigkeit von 45 % bis zu D17 und ab D18 eine relative Luftfeuchte von max. 55 % (Bruja Bedienungsanleitung). Wasserdampf wird, ebenso wie Sauerstoff und CO_2 , per Diffusion durch die Poren in der Eischale abgegeben. Die Diffusion ist nach dem Fick'schen Diffusionsgesetz u.a. abhängig von der Partialdruckdifferenz im und außerhalb des Eies. Da die Poren lang und eng sind, wird die Diffusion kaum durch Luftströmung beeinflusst.

Wie aus dem Verlauf des Wasserverlustes von D10 bis D18 (Abbildung 60 und Abbildung 61) ersichtlich wird, verlief die Evaporation bei beiden Rassen ähnlich. Am D10 war der Wasserverlust der NV-Gruppen bei beiden Rassen signifikant niedriger als bei der Kontrollgruppe. Am D18 näherten sich die Werte der Ross Rasse unter allen Bedingungen einem Wert von ca. 6 g an. Die Rasse Ross zeigte insgesamt niedrigere Werte in der Wasserverdunstung, und die Begasung hatte kaum einen Einfluss auf die Evaporation bei beiden Rassen. Es kann aus dem Verlauf der Graphen geschlussfolgert werden, dass der "Wasserstau" im Ei bis zum D10 (hohe Luftfeuchtigkeit im Inkubator) bis zum Tag des Schlupfes wieder ausgeglichen werden kann. Der Embryo ist unter NV–Bedingungen bis D10 einem Stressor ausgesetzt, der die verschiedenen aktiven und passiven Regelmechanismen im Embryo stark beanspruchte. Möglicherweise trägt dies zur Konditionierung der Wasser- bzw. Elektrolytregulation des Embryos bei. Mit diesem Training kann nach dem Schlupf eine bessere Adaptation an die neuen Umweltbedingungen erwartet werden.

Die Wasserverdunstung im Ei ist sehr wichtig für die Entfaltung der Lungen. Die Umstellung der Respiration von der Chorioallantoismembran zur Lungenatmung verläuft schrittweise (ungleich zu Säugern). Erst nach funktionierender Lungenatmung kann der Embryo schlüpfen (Green und Vince, 1970). Der Embryo belüftet seine Lunge in der Luftkammer. Die Größe der Luftkammer wiederum hängt von der Höhe der Wasserverdunstung ab (Ar und Rahn, 1980). Das Erreichen der optimalen Wassermenge im Ei bis etwa D18 ist deshalb so wichtig, weil danach das IP einsetzt. Gelingt es bis zu diesem Zeitpunkt nicht, das Optimum zu erreichen, ist die zur Verfügung stehende Sauerstoffmenge suboptimal und ein früherer Schlupf wird provoziert. Dies deutete sich tendenziell (nicht signifikant) bei der Rasse Isa in der Abbildung 60 an.
Auch die Innentemperatur im Ei hängt von der Wasserverdunstung ab. Die Temperaturregulation des Eis kann über

- Konduktion (Wärmeleitung)
- Konvektion (Wärmeabgabe durch Luftbewegung)
- Radiation (Wärmestrahlung) und
- Evaporation (Wasserverdunstung) erfolgen.

Insbesondere die Evaporation ist unter den Inkubationsbedingungen die wichtigste Art der Temperaturregulation. Unter NV-Bedingungen wurde am D10 eine relative Luftfeuchtigkeit von bis zu 76 % gemessen. Bei hoher Umgebungstemperatur verlieren Eier aber nur Wasser, wenn die umgebende Luftfeuchtigkeit relativ niedrig ist (Ar, 1991). Man kann also von einer Verschlechterung der thermischen Bedingungen innerhalb des Eies unter NV-Bedingungen gegenüber den anderen Gruppen ausgehen. Zur O₂/CO₂-Belastung wirkt damit ein zusätzlicher Stressor – die Temperatur. Außerdem reduzieren ungenügende Eimassenverluste den Gasaustausch durch die Eischalenmembranen, was zu einer verringerten Schlupffähigkeit führt (Romanoff, 1930).

5.4. Auswirkungen der Inkubationsbedingungen auf die Gasparameter (pH, pO₂, pCO₂, HCO₃⁻, Hb und Hkt)

In Übereinstimmung mit den Untersuchungen anderer Autoren (Feske, 2009; Romanoff, 1967) sanken die pH-Werte im Blut bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes (Tabelle 6 und Abbildung 9). Die Schwankungsbreite war allerdings relativ gering, sie lag bei allen Versuchsgruppen zwischen 7,48 und 7,74. Dieser enge Bereich des pH-Wertes ist von physiologischer Bedeutung, da Abweichungen z.B. zu veränderten Enzymaktivitäten führen. Diese pH-Regulation erfolgt sehr empfindlich und genau.

Die Inkubationsbedingungen vom D1 bis zum D10 hatten folglich keine eindeutig nachweisbaren Auswirkungen auf den pH an D11 bis D18. Offensichtlich haben die Puffersysteme die anfänglich hohe CO₂-Konzentration und die relativ niedrigen O₂-Werte der Kontrolle gut geregelt. Nach Bruggemann *et al.* (2007) ist das Eiweiß maßgeblich an der Pufferung in den ersten zehn Inkubationstagen beteiligt. Zwischen den Rassen Ross und Isa gab es von D16 bis D18 bei den NV-Gruppen im Blut deutlich signifikante Unterschiede im pH. Ross hatte pH-Werte um 0,1 bis 0,16 niedriger als Isa (Abbildung 9). Es kann angenommen werden, dass die genetisch bedingten höheren metabolischen Raten (niedrigere pO₂-Werte im Blut) zusammen mit den hohen CO₂-Werten der Inkubationsluft, die sich in den eindeutig höheren pCO₂-Werten in Blut und Amnionflüssigkeit wiederspiegeln, zu einer anfänglich hohen Beanspruchung des Puffersystems führten. Dies manifestiert sich auch an den höheren HCO₃⁻-Werten (Tabelle 6).

Die Beanspruchung könnte postnatal zu einem leistungsfähigeren Puffersystem sowie einer effizienteren Blutversorgung führen und somit die von De Smit *et al.* (2006) beschriebene positive Wirkung auf den Stoffwechsel herbeiführen. Allerdings ist auch nicht

auszuschließen, dass eine chronische Überbeanspruchung epigenetisch zu einer verminderten Stressoranpassung mit den damit verbundenen negativen Folgen führen kann (De Smit *et al.*, unpublished results). Entscheidend sind die Dosierung und die Dauer der Stressoreinwirkung (Decuypere *et al.*, 2006).

In der Amnionflüssigkeit wurden die pH-Werte ebenfalls in engen Grenzen gehalten. Sie lagen zwischen 6,42 und 6,87 (Abbildung 10). Damit sind sie niedriger als die Blut-pH-Werte. Die Amnionflüssigkeit scheint selbst Pufferaufgaben zu übernehmen, wenn auch in weit geringerem Maße als das Blut. Die Amnionflüssigkeit ist frei von Erythrozyten, die mit ihrem Hämoglobin die wesentliche Pufferfunktion ausüben. Auch eine Säure-Base-Regulation über die Nieren ist in diesem Kompartiment auszuschließen. Es ist anzunehmen, dass über die H⁺-ATPase Protonen (H⁺)aus dem Blut in die Amnionflüssigkeit gelangen können. Damit wäre der niedrigere pH-Wert in der Amnionflüssigkeit im Vergleich zum Blut erklärbar.

Rassenunterschiede zwischen den pH-Werten waren in der Amnionflüssigkeit praktisch nicht nachweisbar (Tabelle 8 und Abbildung 10). Die Inkubationsbedingungen vom D1 bis D10 wirkten sich auf die pH-Werte erst im zweiten Drittel der Inkubation aus, allerdings ohne eindeutige Tendenzen. Die HCO₃⁻-Werte wiesen mehr Signifikanzen zwischen den Rassen auf. Die höheren Werte traten bei der Rasse Ross auf (Abbildung 22 und Tabelle 8).

Der pO_2 in der Amnionflüssigkeit sank eindeutig mit zunehmendem Alter der Kontrollgruppen, allerdings ohne erkennbare Tendenzen zwischen den Rassen. Bei NV und Begasung änderte sich das Bild. Der pO_2 blieb relativ konstant. Bei NV-Isa lagen die pO_2 -Werte über denen der Kontrollgruppe (teilweise signifikant). Der pCO_2 stieg bei allen Gruppen altersabhängig an, wobei die Rasse Ross höhere Werte aufwies (teilweise signifikant). Bei NV und Begasung lagen die Werte der Rasse Ross signifikant über denen der Kontrollgruppe (Tabelle 8).

Der steigende pCO₂ in Blut und Amnionflüssigkeit ab D11 kann auf die limitierte Aufnahmeund Abgabefähigkeit der CAM zurückgeführt werden. Sie hat an etwa D12/D13 ihre maximale Ausdehnung und damit ihre Kapazitätsgrenze für den Gastransport erreicht (Ackerman und Rahn, 1981). Der ständig wachsende Embryo führt zu steigendem pCO₂ bzw sinkendem pO₂. Dem entgegen wirken regulatorische Mechanismen in der Amnionflüssigkeit, um einer Azidose zu begegnen. Das wichtigste Puffersystem im Organismus und in der Amnionflüssigkeit ist die schwache Säure der Kohlensäure (H₂CO₃), die schnell in Wasserstoffprotonen (H⁺) und Bikarbonationen (HCO₃⁻) dissoziiert. Zwischen der undissoziierten Kohlensäure und den dissoziierten Bestandteilen dieses Puffersystems besteht ein Gleichgewicht, welches durch die Dissoziationskonstante K bestimmt ist. Steigt infolge einer Azidose die Protonenkonzentration an, so wird vermehrt CO₂ gebildet. Über die Blutgefäße erfolgt der Abtransport des anfallenden CO₂.

Es ist anzunehmen, dass das überschüssige CO_2 des Embryos in der Amnionflüssigkeit gespeichert wird und dort ebenfalls, wenn auch nicht so effizient wie im Blut gepuffert wird. Der höhere p CO_2 und die wesentlich geringeren HCO_3 -Werte in der Amnionflüssigkeit, gegenüber den Blutwerten, unterstützen diesen Gedanken.

Der Sauerstofftransport zum Embryo und seinen sich ausbildenden Organen erfolgt durch die Bindung des O₂ an das Hämoglobin des Blutes. Sowohl die Menge an O₂ als auch der Hb-Gehalt beeinflussen die Sauerstoffversorgung der Zellen. Die Rasse Isa hatte tendenziell niedrigere Hb-Werte als die Rasse Ross. Eindeutig signifikant waren diese niedrigeren Hb-Werte bei den Gas- und NV-Gruppen (Tabelle 6 und Abbildung 25). Dafür sprechen auch die niedrigeren pO₂-Werte bei Ross. Die signifikant niedrigeren pH-Werte der Rasse Ross gegenüber der Rasse Isa von D16 bis D18 führen wahrscheinlich zu einer Rechtsverschiebung der Sauerstoff-Bindungskurve, die durch höhere Hb- und Hkt-Werte ausgeglichen werden kann. Insgesamt hatte die Rasse Ross tendenziell höhere Hkt-Werte, die jedoch nur teilweise statistisch gesichert werden konnten (Tabelle 6 und Abbildung 28). Signifikante Unterschiede im Hb zwischen den Inkubationsgruppen (Kontrolle, Gas, NV) konnten nicht festgestellt werden. Interessant sind jedoch die bis D14 teilweise signifikant höheren Hämatokritwerte in Abhängigkeit von der Inkubation. Es wird angenommen, dass der O₂-Mangel bzw. der CO₂-Überschuss in den ersten zehn Tagen zu einer Anpassung des Embryos in Richtung vermehrter Erythrozytenbildung führte.

Der Rassenvergleich von Isa und Ross zeigt, dass die aszites-sensitive Ross-Rasse besonders unter der NV einen geringeren Sauerstoffpartialdruck im Blut hatte und dass der CO₂-Partialdruck bei Ross in Blut und Amnionflüssigkeit signifikant erhöht war. Druyan (2009) fand das gleiche Phänomen im Blut der CAM beim Vergleich der Rassen Cobb und Ross und machte eine erhöhte Stoffwechselrate bei Ross dafür verantwortlich (Druyan, 2009). Die Autorin konnte auch eine erhöhte Herzfrequenz bei Ross gegenüber Cobb nachweisen. Daher wird auch beim Rassenvergleich zwischen Isa und Ross von einer höheren Herzfrequenz bei Ross gegenüber Isa ausgegangen. Der erhöhte Hämoglobin- und Hämatokritgehalt bei Ross kann aus dem geringeren Sauerstoffpartialdruck bzw. dem höheren CO₂-Partialdruck bei Ross erklärt werden.

All diese Ergebnisse führen zu einer stärkeren Herzbelastung der Rasse Ross und schaffen damit Bedingungen (erhöhte Druckarbeit des Herzens), die eine Prädisposition für Aszites provozieren.

Bei Aszites kommt es zu einer Imbalance zwischen Sauerstoffbedarf und tatsächlicher Sauerstoffaufnahme der Gewebe. Der moderne Broiler wächst schnell, und das kardiovasculäre bzw. pulmonare System sind proportional zum Körper unterentwickelt (Decuypere *et al.*, 2000; Julian, 2000). Bei dieser erhöhten Stoffwechselrate kommt es zum Sauerstoffmangel im Broiler. Bei Sauerstoffmangel steigt die Herzfrequenz, um mehr Sauerstoff in den Körper zu transportieren. Die Anzahl der Erythrozyten wächst, was die Blutviskosität erhöht (Sturkie, 1986). Wenn die linke Herzkammer es nicht schafft, eine den Bedürfnissen angepasste Blutmenge in den Körperkreislauf zu pumpen, entsteht ein Rückstau in der Lunge zum rechten Herzen. Durch die pulmonare Hypertension kommt es zur Hypertrophie des rechten Herzen. Die AV-Klappen schließen nicht mehr richtig und das Blut staut sich in der Vena Cava und schließlich in der Leber. Transsudat diffundiert aus der Leber in die Bauchhöhle. Die Flüssigkeit in der Bauchhöhle drückt auf die Luftsäcke und behindert die Atmung, was letztendlich zum Erstickungstod führt (Julian *et al.*, 1989). Auch wenn der

Tod durch Aszites erst am Ende der Aufzuchtperiode auftritt, liegt die Ätiologie dieser Krankheit laut Coleman in der embryonalen Entwicklung begründet (Coleman und Coleman, 1991). Die unterschiedlichen Befunde der eigenen Versuche, die Gasparameter betreffend, sind ein sicherer Beweis für die Richtigkeit dieser Aussage.

Insgesamt muß an dieser Stelle nochmals betont werden, dass unterschiedliche Reaktionen der beiden Rassen unter dem Einfluss verschiedener Gasparameter auftraten.

Den größten Einfluss zeigte die NV (erhöhte CO_2 -Werte, Hypoxie und erhöhte relative Luftfeuchte) bis D10. Die Rasse Ross hatte, bedingt durch die gesteigerte Stoffwechselrate, von D16 bis D18 niedrigere pH- und pO₂-Werte im Blut als Isa. Die HCO₃⁻ - und pCO₂-Werte waren bei Ross sowohl im Blut als auch in der Amnionflüssigkeit gegenüber Isa erhöht. Um den Sauerstoffbedarf des gesteigerten Stoffwechsels von Ross zu sichern, bildete Ross mehr Hb und wies einen höheren Hkt auf als Isa. All diese Ergebnisse führen zu einer stärkeren Herzbelastung der Rasse Ross und damit zur Schaffung von Bedingungen (erhöhte Druckarbeit des Herzens), die eine Prädisposition für Aszites bilden.

5.5. Auswirkungen der Inkubationsbedingungen auf die Elektrolyte Na⁺, K⁺

und Cl

Na⁺ ist das wichtigste extrazelluläre Kation. Es ist an vielen Transportsystemen beteiligt. Natriumionen sind für die Entstehung des Aktionspotentials verantwortlich. Die Na⁺-Konzentration wurde im Blut in engen Grenzen gehalten (Abbildung 41). Die Werte lagen im Blut über alle Gruppen betrachtet zwischen 123,5 mmol/l und 130,5 mmol/l, wobei eine Altersabhängigkeit nur bei der Kontrollgruppe festgestellt werden konnte. Smoczkiewiczowa (1959) veröffentlichte Werte zwischen 107 mmol/l und 134 mmol/l. Obwohl zwischen den Rassen an einigen Tagen signifikante Unterschiede gemessen wurden, ist eine eindeutige Tendenz nicht erkennbar.

Die Inkubationsbedingungen hatten nur bei der Rasse Ross einen signifikanten Einfluss auf die Na⁺-Konzentration im Blut. Sowohl die Gas-, als auch die NV-Gruppe dieser Rasse hatten an D11 höhere Na⁺-Werte, die NV-Gruppe sogar bis D14 (Tabelle 7 und Abbildung 44). Die Rasse Ross reagierte also wesentlich sensitiver auf den O₂/CO₂-Komplex sowie die verminderte Wasserabgabe des Eies unter NV-Bedingungen. Das Wasser scheint hierbei stärker zu wirken als das CO₂. Ein Anstieg des Na⁺ im EZR führt dort zu einem Anstieg des osmotischen Drucks. Da im Verhältnis dazu der osmotische Druck in den Zellen kleiner ist, strömt Wasser zum Druckausgleich aus der Zelle. Diese Vorgänge sind für den Embryo lebensnotwendig, denn durch das Wachstum des Embryos sowie die im Verhältnis dazu unter NV-Bedingungen verminderte Wasserverdunstung steigen der relative Wassergehalt und Wasserdruck im Ei an. Da die Werte der Kontrollgruppe zum D18 hin bis auf 128,5 mmol/l anstiegen und die der anderen beiden Gruppen nahezu konstant blieben, waren die Werte an D17 bzw. D18 signifikant niedriger.

Es kann angenommen werden, dass die NV-Bedingungen zu einer frühzeitigen Konditionierung der Hormonsysteme führen, die die Wasserbewegung und Ausscheidung regulieren (ADH, RAAS, ANP) und sich so teilweise die positiven Wirkungen hinsichtlich der Aszitesanfälligkeit erklären lassen.

Die Na⁺-Werte in der Amnionflüssigkeit hatten eine weitaus größere Schwankungsbreite (103 mmol/l bis 134 mmol/l, Abbildung 42). Die Erklärung hierfür liegt möglicherweise darin, dass die Amnionflüssigkeit weder unmittelbar durch die Nieren noch durch Zellen (z.B. Erythrozyten) reguliert wird. Außerdem kommt es in der zweiten Inkubationshälfte zur Vermischung der Amnionflüssigkeit mit dem Eiweiß. Durch die große Schwankungsbreite der Na⁺-Werte kann die Amnionflüssigkeit als Reservoir für das Blut zur Aufrechterhaltung der Homöostase dienen. Die Werte zeigten nach D18 hin eine fallende Tendenz. Auffällig ist, dass hier an D13/D14 signifikante Rasseunterschiede auftraten. Isa hatte an diesen Tagen deutlich höhere Na⁺-Werte (Tabelle 9).

Diese Feststellung korrespondiert mit dem altersabhängigen Verlauf der K⁺-Konzentration in der Amnionflüssigkeit. Die Werte lagen über alle Gruppen zwischen 3,2 mmol/l und 38,8 mmol/l (Tabelle 9 und Abbildung 38). Dagegen wiesen die Blutwerte bei K⁺ nur eine Schwankungsbreite zwischen 3,15 mmol/l und 4,9 mmol/l auf. Von D12 nach D14 kam es bei der Kontrollgruppe und der Gasgruppe der Rasse Isa zu einem enormen Anstieg der K⁺-Werte um ca. 560 % bzw. ca. 600 % in der Amnionflüssigkeit. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch Harsch und Green. Den Abbildung 39,Abbildung 40, Abbildung 43 undAbbildung 44 ist zu entnehmen, dass die Konzentrationen für K⁺ und Na⁺ an D12 in beiden Flüssigkeiten ähnlich hoch waren. Ab D14 unterschieden sie sich wie oben beschrieben. Zu diesem Ergebnis kamen auch Harsch und Green (1963). Die Rasse Ross zeigte Anstiege von über 1000 %, die sich über einen längeren Zeitraum entwickelten. Die Ross-Rasse hatte dadurch signifikant höhere K⁺-Werte. Die K⁺-Konzentration im Blut von Ross zeigten dagegen nur Anstiege zwischen 4 % und 34 % in den genannten Zeiträumen.

Der Grund für den drastischen Anstieg der Konzentrationen an K⁺ in der Amnionflüssigkeit ist darin begründet, dass die inneren Organe bis etwa D12 von der Amnionflüssigkeit umspült werden. Die Diffusion über die großen Flächen führt zum Konzentrationsausgleich. Danach schließen sich die Körper- und Membranhöhlen, und neben den passiven Prozessen erhalten aktive Transportmechanismen den Konzentrationsunterschied aufrecht. In diesem Zeitraum reißt zudem die seroamniotische Platte der Amnionhöhle und es strömen Proteine und Elektrolyte ein. Noch stärkere Anstiege um ca. 820 % waren bei der Isa-NV-Gruppe zu verzeichnen, allerdings einen Tag später. Es liegt auf der Hand, dass auch hier wieder die mangelhafte Wasserverdunstung unter NV-Bedingungen in den ersten zehn Tagen eine Rolle spielt und sich die Körper- und Membranhöhlen später schließen bzw. die seroamniotische Platte später reißt.

 K^+ stieg im Laufe der Inkubation im Blut leicht. Dies könnte durch den intrazellulären K^+ - H^+ Austausch bedingt sein. An D13 hatte Ross, unabhängig der Inkubationsform, signifikant höhere K^+ -Werte im Blut als Isa. Ross hat eine höhere Stoffwechselrate und dadurch muss

Diskussion

sich folglich eine größere Pufferleistung entwickeln. H^+ wurde im Austausch mit K^+ in die Zelle transportiert. Dieser Mechanismus ist bei respiratorischer Azidose beschrieben (Graf und Gürkov, 2006).

Auffällig sind die einheitlich hohen Korrelationen in der Amnionflüssigkeit. Na⁺ und Cl⁻ sind primär für den osmotischen Druck in den extrazellulären Flüssigkeiten verantwortlich. Na⁺ und Cl⁻ als wichtigste extrazelluläre Elektrolyte korrelierten in der Amnionflüssigkeit eng mit dem K⁺. Das K⁺ stieg altersbedingt in der Amnionflüssigkeit stark an, bei gleichzeitigem leichtem Abfall von Na⁺ und Cl⁻. Im Blut waren diese Korrelationen nicht bzw. weniger stark vorhanden (Tabelle 2).

 Na^+ und Cl⁻ korrelierten in der Amnionflüssigkeit unter allen Inkubationsbedingungen eng miteinander, was im Blut nicht der Fall war. Dies kommt vor allem dadurch zustande, dass diese beiden Elektrolyte im Blut keine eindeutig erkennbare altersbedingte Tendenzen zeigen also auf einem einheitlichen Niveau reguliert werden. Die NV-Gruppe scheint hier allerdings einer stärkeren Belastung ausgesetzt zu sein, denn die Korrelationen waren enger (Tabelle 2). Möglicherweise kommt es durch die erhöhten CO₂-Werte und die geringere Wasserverdunstung zu einer Veränderung der Austauschvorgänge am Kapillarendothel: Hier findet ein intensiver Stoffaustausch statt, da sich durch die kapillären Verzweigungen eine große Austauschfläche ergibt. CO₂ und O₂ sind gut lipidlöslich und werden transzellulär ins Gewebe transportiert. Austauschvorgänge durch die Gefäßwand geschehen überwiegend passiv. Wasser und gelöste Stoffe werden durch Diffusion transportiert und folgen dem Fick'schen Diffusionsgesetz. Die Permeabilität der Kapillarmembran für Na⁺ und Cl⁻ ist sehr hoch. Sie nimmt gegenüber Glukose bis hin zu Eiweißmolekülen immer mehr ab. Dies ist der steigenden Molekülgröße geschuldet. Die Filtration von Wasser wird von hydrostatischen, osmotischen und kolloidosmotischen Druckdifferenzen bestimmt.

Zwischen den Blutwerten und den Werten in der Amnionflüssigkeit gab es teilweise höhere Korrelationen. Insbesondere die Na⁺ und Cl⁻ -Werte zeigten unter NV bei Ross eine Korrelation bis 0,86 (Tabelle 2). Nach Ten Busch et al. (1997b) ist die Amnionflüssigkeit hyporeguliert und hypoosmotisch gegenüber dem Plasma. Faber et al. (1973) injizierten Cl⁻ ins Plasma und wiesen anschließend mehr Wasser in der Amnionflüssigkeit nach. Cl⁻ muss also aus dem Plasma in die Amnionflüssigkeit diffundiert sein und osmotisch bedingt folgt das Wasser. Insofern wird die Auffassung von Feske (2009) über ein Zusammenwirken beider Flüssigkeiten bestätigt.

Auch die Prüfung der Elektrolytkonzentrationen zeigte unterschiedliche Antworten nach Inkubation bei beiden Rassen.

Ross reagierte im Zwischenrassenvergleich wesentlich sensitiver auf die NV als Isa. Bis D14 zeigte Ross unter NV höhere Na⁺-Werte in beiden Flüssigkeiten. Dies konditioniert die für die Wasserregulation zuständigen Hormonsysteme und könnte Einfluss auf die Ausprägung von Aszites haben. Beim Zwischenrassenvergleich der K⁺-Werte von Isa und Ross fällt auf, dass Ross zum Teil höhere K⁺-Werte in Blut und Amnionflüssigkeit hatte als Isa. Dies ist nötig für

die Pufferung der vermehrt anwachsenden Metabolite durch die höhere Stoffwechselrate von Ross.

5.6. Einfluss der veränderten Inkubationsbedingungen auf Ca²⁺

Der Hühnerembryo braucht Ca^{2+} vor allem für den Knochenaufbau. Ca^{2+} wird zum einen aus dem Dotter über den Nabel vom Embryo aufgenommen. Zum anderen erfolgt dies über das Blut aus der CAM. Dafür ist die CAM mit speziellen Zellen ausgestattetet. Diese Zellen gewinnen gleichzeitig Ca^{2+} und HCO_3^{-} aus der Schale. Die Eischale des Huhns liefert etwa 80 % des Ca^{2+} .

Unter Kontrollbedingungen stieg im Blut die Ca²⁺-Konzentration von 1,57 mmol/l an D11 auf 1,80 mmol/l an D13 und blieb bis zum Ende der Untersuchungen auf dieser Höhe. Bei der Rasse Ross zeigten sich unter NV-Bedingungen von D14 bis D18 höhere Werte als bei Isa, die teilweise statistisch gesichert werden konnten (Tabelle 7 und Abbildung 45). Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass NV-Ross nicht nur überwiegend signifikant höhere Ca²⁺-Werte, sondern auch signifikant höhere HCO₃⁻-Werte im Blut hatte als NV-Isa. Der Stoffwechsel wird bei NV-Ross durch die Hyperkapnie und Hypoxie gesteigert. Folglich muss Ross eine höhere Pufferleistung erbringen als Isa. Dies wird u.a. durch die Lösung des Ca²⁺ aus der Eischale mittels H⁺-ATPase erreicht.

Im ektodermalen Epithel der CAM sind die VC-Zellen (Villus Cavity Zellen) lokalisiert, die mit der H⁺-ATPase und der Carboanhydrase ausgestattet sind. Das durch die Carboanhydrase entstehende H⁺ wird durch die H⁺-ATPase in Richtung Schale sekretiert. Hierdurch werden Ca^{2+} und HCO_3^{-} aus der Schale herausgelöst (Narbaitz *et al.*, 1994). Die CC-Zellen (capillary covering cells) aus der CAM wiederum transportieren das Ca^{2+} von der Schale ins Blut durch Endozytose (Simkiss, 1980).

Hinzu kommt, dass beim adulten Tier der Knochen nicht nur als Speicher für Ca²⁺ fungiert, sondern insgesamt als Mineralstoffreserve dient. Die Menge schnell abbaufähiger Skelett-Mineralien ist bei jungen Tieren am größten (Scheunert und Trautmann, 1976). Im Embryo befindet sich der Knochen jedoch im Aufbau und kann daher seine Speicherfunktion noch nicht erfüllen. Entzug von Ca²⁺ aus dem Stoffwechsel würde die Entwicklung des Embryos behindern. In diesem Zusammenhang kommt der Amnionflüssigkeit große Bedeutung zu. Sie kann über die bekannten Funktionen hinaus als Reservoir/Auffangbecken für die Ca²⁺-Ionen dienen.

Die genannten Wirkmechanismen werden durch die vorliegenden Versuchsergebnisse bestätigt. Sowohl die Gas- als auch die NV-Gruppe hatten an bestimmten Tagen signifikant höhere Ca²⁺-Werte in der Amnionflüssigkeit gegenüber der Kontrolle (Tabelle 9).

Bei der Regulation vegetativ gesteuerter Organe spielt Ca²⁺ als Transmitter ebenfalls eine entscheidende Rolle (Scheunert und Trautmann, 1976). Es ist denkbar, dass das Küken unter NV- und Gas-Bedingungen eine robustere Kalziumausstattung nach dem Schlupf besitzt und

Diskussion

so weniger Aszites auftritt, da die Interaktion der vegetativen Organe gegenüber der Kontrollgruppe verbessert ist. Denn gerade die Störung dieser Interaktionen wird als Ursache für Aszites angesehen.

Hervorzuheben ist nochmals die rassenspezifische Reaktion auf die NV im Ca²⁺-Gehalt des Blutes. Bei der Rasse Ross zeigten sich unter NV-Bedingungen signifikant höhere Werte als bei Isa. Dies ist u.a. nötig für die Abpufferung des - durch den gesteigerten Stoffwechsel bedingt - azidotischen pH im Blut von Ross.

5.7. Einfluss der veränderten Inkubationsbedingungen auf Glukose und Lactat

Glukose lag an den untersuchten Tagen über alle Inkubationen bei der Rasse Isa zwischen 7,49 mmol/l und 10,35 mmol/l und bei der Rasse Ross zwischen 6,32 mmol/l und 10,04 mmol/l., wobei mit zunehmendem Alter die Tendenz leicht steigend war. Nach Gisecke (1976) und Neff (2000) ist der Glukosespiegel im venösen Blut beim adulten Huhn gegenüber anderen Haustierarten, wie Pferd, Schwein, Rind usw. am höchsten. Er liegt danach zwischen 10 mmol/l und 12 mmol/l, so dass der Embryo wahrscheinlich am Ende der Inkubation bereits seinen Endwert unter Ruhebedingungen erreicht hat und somit schon Abweichungen von unter 1 mmol/l in der Embryonalphase als kritisch angesehen werden können.

Sowohl die Begasung, als auch die NV hatten signifikante Einflüsse auf die Glukose im Blut der Gas- und NV-Gruppen. Allerdings zeigten sich bei der Gasgruppe keine eindeutigen Tendenzen. Der Einfluss der NV auf die Rasse Isa und Ross ist eindeutig. Es kam gegenüber der Kontrollgruppe zu signifikant höheren Glukose-Werten im Blut. Die bei der Rasse Ross nach NV gemessenen Werte lagen an 4 von 8 Untersuchungstagen signifikant unter denen der Rasse Isa, wobei Rassenunterschiede an D17 und D18 von bis zu 1 mmol/l nachgewiesen werden konnten. Bei der Kontrollgruppe zeigten sich keine eindeutigen Tendenzen zwischen den Rassen (Tabelle 7).

Dies lässt die Schlussfolgerung zu, dass die metabolische Rate der Rasse Ross unter NV-Bedingungen weit stärker erhöht wird als die der Rasse Isa. Das schlägt sich in niedrigeren glykämischen Rasse-Unterschieden nieder. In die gleiche Richtung weisen die pH-Werte, die pO_2 - und pCO_2 -Werte sowie die HCO_3^- -Werte.

Unter NV-Bedingungen stiegen die Glukosegehalte im Blut bei beiden Rassen signifikant gegenüber der Kontrollgruppe an, was sich durch erhöhte Corticosteron-Level erklären lässt. Besonders unter NV-Bedingungen hatte Isa signifikant höhere Glukosewerte im Blut als Ross. Die von De Smit *et al.* (2008) beschriebenen Beobachtungen decken sich mit unseren Ergebnissen.

De Smit *et al.* (2008) bestimmten die Corticosteron-Level aus der CAM. Auch sie inkubierten zwei verschiedene Broilerrassen bis D10 unter NV-Bedingungen, die sich in ihrer Prädisposition für Aszites unterschieden. Es zeigte sich, dass die NV-Gruppen einen höheren

Corticosteronspiegel im Blut hatten als die Kontrollgruppen. Auch die weniger Aszites anfällige Broilerrasse hatte mehr Corticosteron im Blut. Im Vogelembryo ist das Corticosteron wesentlich für den Glukosestoffwechsel verantwortlich (Greenman und Zarrow, 1961).

Dass dieser erhöhte Metabolismus bei Ross durch NV (Hypoxie) sich nicht in den Hb- und Hkt-Werten nachweisen ließ, könnte durch eine adaptive Modulation der Erythrozytendifferenzierung, durch die von D6 bis D10 gesetzte geringe Hypoxie, erklärbar sein (Decker, 2002). Danach soll es zu einer Verschiebung der beiden adulten Hämoglobine HbD und HbA, zugunsten des HbD mit höherer Sauerstoffaffinität kommen. Aus den Untersuchungen von Ackermann und Ramm (1971) wird abgeleitet, dass es bei Bebrütung unter 13 %iger Hypoxie von D6 bis D11 zu einer insgesamt gesteigerten Sauerstoffaffinität des Blutes kommen könnte. Begründbar werden dadurch auch die kaum beeinflussten Laktat-Werte bei den Gas- und den NV-Gruppen. Lactat ist das Endprodukt des anaeroben Abbaus von Glukose. Durch die erhöhte Sauerstoffaffinität des Hämoglobins wird genug Sauerstoff in die Zellen transportiert, so dass die Glukose bis zum Pyruvat verstoffwechselt werden kann. Somit entstand trotz eines gesteigerten Stoffwechsels der NV-Ross-Gruppe nicht mehr Lactat als bei der Kontrollgruppe. Außerdem stellt der Hühnerembryo seine Energiegewinnung erst an D19 auf anaeroben Glykolyse um (Hoiby et al., 1987).

Zusammenfassend wird hier nochmals der Rassenunterschied in Bezug auf Glukose erwähnt. Im Vergleich zu Ross hatte Isa insgesamt höhere Glukosewerte im Blut. Durch den erhöhten Metabolismus verbraucht Ross mehr Glukose als Isa. NV verstärkt diesen Rassenunterschied signifikant.

5.8. Auswirkungen der Inkubationsbedingungen auf Körper- und Herzmasse

Wie der Tabelle 3 zu entnehmen ist, waren die Körpermassen von NV-Ross gegenüber NV-Isa an den meisten Inkubationstagen erhöht. Die Herzmassen aus Tabelle 8 waren ebenfalls bei NV-Ross überwiegend größer als bei NV-Isa, wobei an drei Tagen (identische Tage wie bei den Körpermassen) eine statistische Sicherung erfolgen konnte.

Nach Julian (2000) und Hassanzadeh (2005) hat der moderne Broiler mit Aszitesneigung ein kleineres Herz im Verhältnis zum Körper (Hassanzadeh et al., 2005; Julian, R.J., 2000). Das konnte in den vorliegenden Untersuchungen bis D18 bei der Kontrollgruppe bestätigt werden. Die NV-Gruppe und die Gas-Gruppe zeitgen eindeutig eine solche Disproportion. Die Disproportionen zwischen Körpermasse und Herzmasse nahmen bei NV-Ross und Gas-Ross insgesamt stärker zu als bei Isa, wobei an mehreren Tagen die Unterschiede statistisch zu sichern waren (Tabelle 4).

In histologischen Untersuchungen von Herzmuskelgewebe fand Lange (2005) heraus, dass der Sauerstoffmangel in der Inkubationsluft Einfluss auf die strukturelle Entwicklung bzw. die Differenzierung der embryonalen Herzmuskulatur hat. So führte der Sauerstoffmangel im zweiten Inkubationsdrittel zu einer Zellzahlerhöhung der Herzmuskulatur (Septum) und somit zu einer Massenzunahme (Lange, 2005).

Wie auch von De Smit et al. (2008) beschrieben, stimulierte die NV in den eigenen Versuchen das Embryowachstum. In unseren Versuchen reagierte jedoch nur die Rasse Ross signifikant. Die NV steigerte den Stoffwechsel von Ross. Damit sind die erhöhten Körpergewichte erklärbar.

Aus den vorliegenden Ergebnissen kann die Schlussfolgerung gezogen werden, dass eine moderate Hypoxie im Zusammenspiel mit erhöhten CO₂-Werten, sowie einer moderat gesenkten Evaporation bis D10 das Herzwachstum im Verhältnis zum Körperwachstum bei Ross deutlich gegenüber Isa senkte. Dies ist vor allem darauf zurückzuführen, dass ein stärkeres embryonales Wachstum letztlich anatomisch bedingt zu einer kleineren Herzmasse gegenüber der gesamten Körpermasse führt, denn mit zunehmendem Alter des Embryos sinkt der Anteil der Herzmasse an der Körpermasse. Allerdings ist es denkbar, dass es durch die Begasung und NV zu strukturellen Veränderungen am Herzen kommt und so die Leistungsfähigkeit des Herz-Kreislaufsystems erhöht wird. Wiemann (2005) recherchierte im Schrifttum beim adulten Huhn ein relatives Herzgewicht von 0,5 % bis 0,6 %. Feske (2009) ermittelte an D20 Werte zwischen 0,64 % bis 0,86 %. Der Embryo hat an D18, in Abhängigkeit von Rasse und Inkubationsbedingungen, seinen adulten Endwert mit 0,74 % bis 0,86 % bald erreicht. Die Schwankungsbreite der relativen Herzmasse verringert sich mit dem Alter des Embryos.

Zusammenfassend unterschieden sich die beiden Rassen unter der NV in ihren Körper- und Herzmassen, wobei NV-Ross gegenüber NV-Isa die höheren Gewichte zeigte. Disproportionen zwischen Körper- und Herzgewicht nahmen bei NV-Ross insgesamt stärker zu als bei Isa, was durch die höhere metabolische Rate von Ross erklärbar ist. Aus den rassebedingten Reaktionen könnten sich Empfindlichkeiten für die Ausprägung von Aszites ableiten.

6. Zusammenfassung

Einfluss hyperkapnischer Inkubation auf ausgewählte Parameter in Blut und Amnionflüssigkeit von zwei Mastgeflügelrassen (ROSS 308 und ISA JA 757)

 CO_2 als Stressor wurde bereits in einigen Studien zur Inkubation von Hühnerembryonen eingesetzt, wobei es Hinweise auf einen früheren Schlupf und eine geringere Aszitesanfälligkeit bei Bebrütung mit erhöhten CO_2 -Werten gibt (De Smit *et al.*, 2008). Zur Vertiefung und weiteren Aufklärung der damit im Zusammenhang stehenden Wirkmechanismen wurden in den vorliegenden Untersuchungen zwei Mastgeflügelrassen (Ross und Isa) verglichen, die sich in ihrer Ausprägung von Aszites unterscheiden.

Dazu wurde untersucht, welchen Einfluss erhöhte CO₂-Werte in Kombination mit Normoxie oder erhöhter Luftfeuchtigkeit und moderater Hypoxie in den ersten zehn Tagen der Inkubation auf die embryonalen Flüssigkeiten haben. Sowohl im Blut als auch in der Amnionflüssigkeit wurden ausgewählte Gasparameter (pH, pO₂, pCO₂, HCO₃⁻ Hb, Hkt), Elektrolyte (K⁺, Na⁺, Ca^{2+,}, Cl⁻) und Metabolite (Glukose, Lactat), sowie morphologische Daten (Herz- und Körpermasse) erfasst.

Bei den geprüften <u>Gasparametern</u> konnten signifikante *Rassenunterschiede* durch die NV (erhöhte CO_2 -Werte, Hypoxie und erhöhte relative Luftfeuchte) bis D10 mit eindeutiger Tendenz provoziert werden. Die Rasse Ross hatte hierbei niedrigere pH- und pO₂-Werte im Blut sowie signifikant höhere pCO₂- und HCO₃⁻-Werte in Blut und Amnionflüssigkeit als Isa. Die Hb- und Hkt-Werte waren dagegen gegenüber Isa erhöht, was auf eine angepasste Sauerstoffversorgung schließen lässt.

Die Bedingungen bei NV aktivieren den Stoffwechsel von Ross stärker. Gleichzeitig wird das Kohlensäure-Bikarbonat-Puffersystem bereits pränatal beansprucht (höhere HCO₃⁻-Werte). Durch dieses embryonale Training kann die Leistungsfähigkeit des Puffersystems im adulten Tier verbessert sein.

Außerdem zeigten die Gasparameter eine enge *Beziehung zum Alter* der Embryonen. Die verschiedenen, altersabhängigen Konzentrationen zwischen den Kompartimenten (Blut und Amnionflüssigkeit) werden durch die Blut-Amnion-Barriere aufrechterhalten.

Die <u>Elektrolytkonzentrationen</u> zeigten ebenfalls signifikante *Rassenunterschiede*. Unter NV waren bei der Rasse Ross höhere Na⁺- und K⁺-Werte im Vergleich zur Kontrolle nachweisbar. Die Rasse Isa reagierte dagegen kaum. Es kann angenommen werden, dass die NV-Bedingungen zu einer frühzeitigen Konditionierung der für die Wasserregulation zuständigen Hormone führen und sich so teilweise die positiven Wirkungen hinsichtlich der Aszitesanfälligkeit erklären lassen.

Zusammenfassung

Bei der Rasse Ross zeigten sich unter NV-Bedingungen höhere Ca^{2+} -Werte im Blut als bei Isa. Mittels Eischalenresorption werden Ca^{2+} und HCO_3^- gewonnen, was u.a. nötig für die Pufferung im Stoffwechsel ist.

Die Bedingungen der NV führten zu einer erhöhten Korrelation der Konzentrationen von Na⁺ und Cl⁻ zwischen Blut und Amnionflüssigkeit. Damit wird das Zusammenwirken dieser beiden Kompartimente belegt. Die Amnionflüssigkeit dient als Reservoir für das Blut.

Die Untersuchung der <u>Metabolite</u> ergab unter der NV *Rassenunterschiede* in der Glukosekonzentrationen im Blut von Ross und Isa. Ross zeigte gegenüber Isa geringere Glukosewerte, die durch den erhöhten Stoffwechsel und den damit erhöhten Glukose-Verbrauch entstehen. Die Lactat-Werte zeigten keine Veränderungen.

Auch die <u>morphologischen Parameter</u> zeigten *Rassenunterschiede* unter NV. Die Körper- und Herzmassen von NV-Ross waren gegenüber NV-Isa an den meisten Inkubationstagen erhöht, was durch den Bedarf des erhöhten Stoffwechsels erklärbar ist. Die Disproportionen nahmen bei NV-Ross insgesamt stärker zu als bei NV-Isa. Mit *zunehmendem Alter* der Embryonen sank der Anteil der Herzmasse an der Körpermasse. Es sind strukturelle Veränderungen am Herzen denkbar, mit der sich die Leistungsfähigkeit des Herz-Kreislaufsystems erhöht.

Die Austauschmechanismen in der Blut-Amnion-Barriere wurden ebenfalls durch die NV beeinflusst (erhöhte Korrelation). Der durch NV erhöhte Stoffwechsel erklärt den von De Smit *et al.* (2008) beschriebenen früheren Schlupf bei Ross und auch die erhöhten Körpermassen und Disproportionen.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die NV (erhöhte CO₂-Werte, Hypoxie und erhöhte relative Luftfeuchte) bis D10 fast alle geprüften Parameter stark beeinflusst hat. Dabei zeigten sich deutliche *Rassen- und Altersunterschiede*. Ross reagierte wesentlich sensitiver auf die NV als Isa (erniedrigte pH- und pO₂-Werte bzw. erhöhte pCO₂-Werte). Der Stoffwechsel von Ross wurde gesteigert. Durch die NV wurden das Puffersystem und die für die Wasserregulation zuständigen Hormone pränatal geprägt (erhöhte HCO₃⁻, Ca²⁺- und K⁺- bzw. Na⁺-Werte). Dies könnte postnatal zu einem leistungsfähigeren Puffer- bzw. Hormonsystem führen und die Empfindlichkeit für Aszites senken.

7. Summary

Influence of Hypercapnic Incubation on Exclusive Parameters in Blood and Amniotic Fluid in Two Broiler-Strains (ROSS 308 and ISA JA 757)

 CO_2 as a stressor has been used in earlier studies with chicken embryos. De Smit *et al.* (2008) stated that higher CO_2 levels might even have beneficial effects in preventing ascites-syndrome in ascites-sensitive broilers. For a better understanding about the mechanisms triggered by CO_2 two broiler-strains (Ross and Isa), differing in ascites-susceptibility, were compared to each other.

The presented results show which influence higher CO_2 -levels in combination with normoxia or hypoxia and a higher relative humidity in the first ten days of incubation have on embryonic fluids (blood and amniotic fluid). We determined exclusive gas parameters (pH, pO_2 , pCO_2 , HCO_3^- , Hb, Hkt), electrolyte contents (K⁺, Na⁺, Ca^{2+,} Cl⁻) and metabolites (glucose, lactate) in blood and amniotic fluid and morphological parameters (heart- and bodyweights).

Significant *differences between the two strains* in the <u>gas parameters</u> were achieved by NV (higher amounts of CO_2 and a higher relative humidity) until D10. Ross showed lower pHand pO₂-levels in blood as well as significant higher pCO₂- and HCO₃⁻-concentrations in blood and amniotic fluid than Isa. However an appropriate oxygen supply in Ross was accomplished by higher amounts of Hb and Hkt compared with Isa.

NV stimulated Ross's metabolism. Thus the carbonic acid- bicarbonate- buffer system has already been trained prenatal (higher HCO_3 -level). Due to the embryonic training the efficiency of the buffer system can be improved in the adult animal.

Moreover the gas parameters showed a close *relation to the embryos' age*. The different, age dependent concentrations between the compartments (blood and amniotic fluid) were maintained by the blood-amnion-barrier.

The <u>electrolyte concentrations</u> also showed significant *differences between the two strains*. NV-Ross showed higher amounts of Na^+ and K^+ compared to the control group. Isa on the other hand did not reveal any differences between NV- and control group. It is assumed that NV conditions Ross's hormone system which regulates water movement and excretion. So the positive effect to ascites-susceptibility can be explained.

NV-Ross showed higher Ca^{2+} concentrations in blood than NV-Isa. This is due to eggshell resorption for generating HCO_3^- in order to buffer the lower pH in blood of NV-Ross.

NV led to higher correlations in Na⁺ and Cl⁻ between blood and amniotic fluid. This confirms the cooperation of these two compartments. The amniotic fluid serves as a reservoir for blood.

Summary

By the examination of the <u>metabolites</u> it stood out that NV led to differences between the two strains. NV-Ross showed lower glucose levels in blood than Isa. Hypoglycaemia develops due to Ross's higher metabolism and the higher demand for glucose. Lactate did not show any differences.

Even the <u>morphological parameters</u> demonstrated *differences between the two strains* under NV. The heart- and bodyweights, shown by NV-Ross, were higher than the ones shown by NV-Isa. NV accelerates Ross's metabolism and this explains the higher bodyweights. The disproportions between the body- and heartweights were more advanced in Ross than in Isa. With *increasing of age* the growth of the heart declines proportionally to the growth of the body. Structural, histological changes in the heart, which improve the efficiency of the cardiovascular system, are imaginable.

The exchanging mechanisms in the blood-amnion-barrier were also influenced by NV (higher correlation). The increased metabolism due to NV explains the earlier hatch, described by De Smit *et al.* (2008), and the higher bodyweights and disproportions.

Altogether NV (increasing CO₂ levels, hypoxia and a higher relative humidity) until D10 influenced the tested parameter strongly. Thereby significant *differences between* the *two strains* and *differences due to age* were seen. Ross reacted more sensitive to NV than Isa (lower pH- and pO₂-data resp. higher pCO₂ concentrations). Ross's metabolism was enhanced. Due to NV the buffer system and the hormones, which are responsible for water regulation in the egg, were influenced and stamped prenatal (higher HCO_3^- , Ca^{2+} and K^+ -resp. Na⁺ -data). This could lead to a more sufficient buffer- resp. hormone system postnatal and the susceptibility for ascites-syndrome could be lowered.

8. Literaturverzeichnis

ABRAMOVICI, A. (1966)

Refractometric study of the allantoic and amniotic fluids of the chicken embryo during normal development. C R Acad Sci Hebd Seances Acad Sci D **263**(4): S. 389-92

ACKERMAN, R. A. und RAHN, H. (1981)

In vivo O₂ and water vapor permeability of the hen's eggshell during early development. Respir Physiol **45**: S. 1-8

- ACKERMANN, N. R. und RAMM, G. M. (1971) Effects of 5 days of hypoxia on the blood of chick embryos. Teratology **4**: S. 445-52
- ACKERMANN, R. A. und SEAGRAVE, R. C., Eds. (1984) Parent-egg interactions: egg temperature and water loss. Seabird Energetics. New York, Plenum Publishing Co.
- AR, A. (1991)

Roles of water in avian eggs. Egg incubation: it's effects on embryonic development in birds and reptiles. Cambridge: Press Syndicate of the University of Cambridge: S.229-243

AR, A. und DEEMING, D. C. (2009)

Roles of water and gas exchange in determining hatchability success. Avian Biol Res **2**: S. 61-66

- AR, A. und RAHN, H. (1980) Water in the avian egg: overall budget of incubation. Am Zool **20**: S. 373-84
- AR, A. und RAHN, H. (1985)

Pores in avian eggshells: gas conductance, gas exchange and embryonic growth rate. Respir Physiol **61**: S. 1-20

BABIKER, E. M. und BAGGOT, G. K. (1992)

The effect of turning upon the sub-embryonic fluid and albumen of the Japanese quail. Br Poult Sci **33**: S. 973-991

BABIKER, E. M. und BAGGOT, G. K. (1995)

The role of ion transport in the formation of sub-embryonic fluid by the embryo of the Japanese quail. Br Poult Sci **36**: S. 371-383 BAGGOT, G. K. (2009)

Development of extra-embryonic membranes and fluid compartments. Avian Biol Res: Science Reviews 2000 LTD. 2: 21-26

BAUTZMANN, H., SCHMIDT, W. (1998)

Vergleichende elektromikroskopische Untersuchungen am Amnion von Sauropsiden und Mammaliern (Huhn, Katze, Mensch). Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. **51**: S. 571-588

BAUTZMANN, H. und SCHRÖDER, R. (1953)

Studien zur funktionellen Histologie und Histogenese des Amnions beim Hühnchen und beim Menschen.
Z Anat Entwicklungsgesch 117(3): S. 166-214

- BELLAIRS, R. und OSMOND, M. (2005) The Atlas of Chick Development London: Academic Press
- BERRANG, M. E.; COX, N. A.; FRANK, J. F. und BUHR, R. J. (1999)
 Bacterial penetration of the eggshell and shell membranes of the chicken hatching egg.
 J Appl Poult Res 8: S. 499-504
- BLASIUS, H. und TÖNHARDT, H. (2006)

Versuche zur elektrophysiologischen Charakterisierung des Amnions bei Hühnerembryonen Diss., Institut für Veterinär-Physiologie, Berlin, Freie Universität Berlin,

- BOUTILIER, R. G.; GIBSON, M. A.; TOEWS, D. P. und ANDERSON, W. (1977)
 Gas exchange and acid-base regulation in the blood and extraembryonic fluids of the developing chicken embryo.
 Respir Physiol **31**(1): S. 81-9
- BRAGULLA, H. (2004)

Skript zur Vorlesung Embryolgie für Studierende im 2. Semester an der FU-Berlin. Berlin

BRUGGEMANN, V.; WITTERS, A.; DE SMIT, L.; DEBONNE, M.; EVERAERT, N.;
KAMERS, B.; ONAGBESAN, O. M.; DEGRAEVE, P. U. und DECUYPERE, E.
(2007)
Acid-base balance in chicken embryos (Gallus domesticus) incubated under high CO₂

concentrations during the first 10 days of incubation. Resp Physiol & Neurobiol **159**: S. 147-154

BRUNS, G. A. und INGRAM, V. M. (1973)

The erythroid cells and haemoglobins of the chick embryo. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci **266**: S. 225-305

Literaturverzeichnis

BUYS, N.; DEWIL, E. und DECUYPERE, E. (1997)
Embryonic characteristics and incubation conditions influence susceptibility to the ascites syndrome.
in: XIth International Congress of the World Veterinary Poultry Association 18-22 August,
Budapest, Hungary
S. 139

 BUYS, N.; DEWIL, E.; GONZALES, E. und DECUYPERE, E. (1998)
 Different CO₂ levels during incubation interact with hatching time and ascites susceptibility in two broiler lines selected for different growth rate. Avian Pathol 27(6): S. 605-612

CIROTTO, C. und ARANGI, I. (1989)

How do avian embryos breathe? Oxygen transport in the blood of early chick embryos. Comp Biochem Physiol A **94**: S. 607-613

CIROTTO, C. und GERACI, G. (1975)

Embryonic chicken hemoglobins. Studies on the oxygen equilibrium of two pure components. Comp Biochem Physiol A **51**: S. 159-63

- COLEMAN, M. A. und COLEMAN, G. E. (1991) Ascites control through proper hatchery management. Misset World Poultry 7: S. 33-35
- DAWES, G. S.; MOTT, J. C. und WIDDICOMBE, J. G. (1954) The foetal circulation in the lamb. J Physiol **126**: S. 563-587
- DE SMIT, L.; BRUGGEMAN, V.; DEBONNE, M.; TONA, J. K.; KAMERS, B.; EVERAERT, N.; WITTERS, A.; ONAGBESAN, O.; ARCKENS, L.; DE BAERDEMAEKER, J. und DECUYPERE, E. (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. 551-60

DE SMIT, L.; BRUGGEMANN, V.; TONA, J. K.; DEBONNE, M.; ONAGBESAN, O.; ARCKENS, L.; DE BAERDEMAEKER, J. und DECUYPERE, E. (2006) Embryonic developmental plasticity of the chick: Increased CO₂ during early stages of incubation changes the developmental trajectories during prenatal and postnatal growth.

Comp Biochem Physiol Part A(145): S. 166-175

DECKER, S. (2002)

Der langfristige Einfluss eines verminderten O₂-Angebotes während der Inkubation auf Catecholamine, Stoffwechselmetabolite sowie Hämatokrit und Hämoglobin im Blut von Hühner- und Entenembryonen Diss., Institut für Veterinärphysiologie, Berlin, FU-Berlin, DECUYPERE, E.; BUYSE, J. und BUYS, N. (2000)

Ascites in broiler chickens: Exogenous and endogenous structural and functional causal factors.

World's Poult Sci J 56: S. 367-377

DECUYPERE, E.; ONAGBESAN, O.; DE SMIT, L.; TONA, K.; EVERAERT, N.; WITTERS, A.; DEBONNE, M.; VERHOELST, E.; BUYSE, J.; HASSANZADEH, M.; DE BAERDEMAEKER, J.; ARCKENS, L. und BRUGGEMAN, V. (2006) Hypoxia and hypercapnia during incubation of chicken eggs: effects on development and subsequent performance. in: EPC 2006 - XII European Poultry Conference, Verona, Italy,

DEEMING, D. C. (1987)

Effect of cuticle removal on the water vapour conductance of eggshells of several species of domestic bird. Br Poult Sci 28: S. 231-237

DEFOUW, D. O. (1988)

Structural heterogenety within the pulmonary microcirculation of the normal rat. Anat Rec 221(2): S. 645-54

DEWIL, E.; BUYS, N.; ALBERS, G. A. A. und DECUYPERE, E. (1996) Different characteristics in chick embryos of two broiler lines differing in susceptibility to ascites. Br Poult Sci 37: S. 1003-1013

DRUYAN, S. (2009)

The effect of genetic line (broiler vs. layers) and parent flock age on embryonic development.

in: The 4th Workshop on Fundamental Physiology and Perinatal Development in Poultry, Bratislava

DUNCKER, H. R. (1972)

The lung air sac system of birds. A constribution to the functional anatomy of the respiratory apparatus. Ergebn Anat Entwick Ges 45(6): S. 1-171

EPPLE, A.; GILL, T. S. und NIBBIO, B. (1992)

The avian allantois: a depot for stress-released catecholamines. Gen Comp Endocrinol 85(3): S. 462-76

EPPLE, A.; GOWER, B.; TEN BUSCH, M.; GILL, T.; MILAKOWSKY, L.; PIECHOTTA, R.; NIBBIO, B.; HARE, T. und STETSON, M. H. (1997) Stress responses in avian embryos. Am Zool 37(6): S. 536-545

EVERAERT, N.; DE SMIT, L.; DEBONNE, M.; WITTERS, A.; KAMERS, B.;
DECUYPERE, E. und BRUGGEMAN, V. (2008)
Changes in Acid- Base Balance and Related Physiological Responses as a Result of External Hypercapnia During the Second Half of Incubation in the Chicken Embryo. Poult Sci 87: S. 362-367

FABER, J. J.; GAULT, C. F.; GREEN, T. J.; LONG, L. R. und THORNBURG, K. L. (1973) Chloride and the generation of amniotic fluid in the early embryo. J Exp Zool 183(3): S. 343-52

FARACI, F. M. (1991)

Adaptions to hypoxia in birds: how to fly high. Annu Rev Physiol **53**: S. 59-70

FESKE, D. (2009)

Einfluss von Sauerstoff und Temperatur auf die Zusammensetzung embryonaler Flüssigkeiten bei Gallus gallus f. domestica Diss., Institut für Veterinär- Physiologie des Fachbereiches Veterinärmedizin, Berlin, Freie Universität Berlin,

FESKE, D.; SIEGLING-VLITAKIS, C.; GRUBER, A. und TÖNHARDT, H. (2007) Einfluss von Sauerstoff und Temperatur auf die Zusammensetzung embryonaler Flüssigkeiten bei Gallus gallus f. domestica. Barrieren für den Stoffaustausch: Epithel des Amnions und Endothel der Blutgefäße. Berlin: Poster

FESKE, D. und TÖNHARDT, H. (2007)

Gaseous and electrolyte concentration and the metabolite content in the blood compared with the amniotic fluid after reduced oxygen and high temperature. in: 3rd Combined Workshop on Fundamental Physiology and Perinatal Development in Poultry,

Department of Veterinary Medicine, Oertzenweg 19b, 14163 Berlin, Germany

FREEMAN, B. M. und VINCE, M. A. (1974)

Development of the Avian Embryo London: Chapman and Hall- ISBN:0-412-11520-4

FRENCH, N. (2009)

The Egg Takes Control-The Future of Turkey Incubation? British United Turkey Ltd.

FUCHS, A. und LINDENBAUM, E. S. (1988)

The two- and three-dimensional structure of the microcirculation of the chick chorioallantoic membrane. Acta Anat (Basel) **131**(4): S. 271-5

GABRIELA GABRIELLI, M.; MATERAZZI, G.; COX, J. V. und MENGHI, G. (2000) Specialized cell types in the chorioallantoic membrane express carbonic anhydrase during chick embryogenesis. J Anat 198: S. 229-238

Literaturverzeichnis

- GIESECKE, D. (1976) Stoffwechselphysiologie der Kohlenhydrate. Lehrbuch der Veterinärphysiologie **6**: S. 205-222
- GILDERSLEEVE, R. P. und BOESCHEN, D. P. (1983) The effects of incubator carbon dioxide level on turkey hatchability. Poult Sci **62**: S. 779-784
- GILL, T.-S.; PORTA, S.; NIBBIO, B. und EPPLE, A. (1994)Sulfate Conjugates of Catecholamines in the Allantoic Fluid of the Chicken Embryo.General and Comparative Endocrinology 96(2): S. 255-258
- GRAF, N. und GÜRKOV, R. (2006) Basics Klinische Chemie München: Elsevier
- GREEN, J. und VINCE, M. (1970)
 Investigation of the lung flotation technique for determing pulmonary respiration in the Japanese quail.
 Br Poult Sci 11: S. 403-6
- GREENMAN, D. L. und ZARROW, M. X. (1961) Steroids and carbohydrate metabolism in the domestic birds. Proc Soc Exp Biol Med **106**: S. 459-462
- HARSCH, M. und GREEN, J. W. (1963) Electrolyte Analyses of Chick Embryonic Fluids and Heart Tissues. J Cell Physiol **62**(3): S. 319-26
- HASSANZADEH, M.; GILANPOUR, H.; CHARKHKAR, S.; BUYSE, J. und DECUYPERE, E. (2005)
 Anatomical parameters of cardiopulmonary system in three different lines of chickens: further evidence for involvement in ascites syndrome. Avian Pathol 34(3): S. 188-93
- HAVENSTEIN, G. B.; FERKET, P. R. und QUERESHI, M. A. (2003)Growth, livability, and feed conversion of 1957 versus 2001 broilers when fed representative 1957 and 2001 broiler diets.Poult Sci 82: S. 1500-1508
- HIGGENS, D. und PAPPANO, A. J. (1981)
 Development of transmitter secretory mechanisms by adrenergic neurons in the embryonic chick heart ventricle.
 Dev Biol 87: S. 148-162

HOGG, A. (1997) Single stage incubation trails. Poult Avian Biol Rev **8**: S. 168 HOHLWEG, A.; HARE, T.; MILAKOFSKY, L.; NIBBIO, B.; TRAN, Q. und EPPLE, A. (1999)
Hormonal effects on amino acids and related compounds in plasma, amniotic fluid, and allantoic fluid of the chicken embryo.
Gen Comp Endocrinol 114(3): S. 378-86

HOIBY, M.; AULIE, A. und BJONNES, P. O. (1987) Anaerobic metabolism in fowl embryos during normal incubation. Comp Biochem Physiol A 86(1): S. 91-4
HORN, F.; LINDENMEIER, G.; MOC, I.; GRILLHÖSL, C.; BERGHOLD, S.; SCHNEIDER, N. und MÜNSTER, B. (2003) Biochemie des Menschen Stuttgart, New York: Georg Thieme- ISBN:3-13-130882-6

JULIAN, R. J. (2000)

Physiological, management and environmental triggers of the ascites syndrome: A review. Avian Pathol **29**: S. 519-527

JULIAN, R. J.; MCMILLAN, I. und QUINTON, M. (1989)

The effect of cold and dietary energy on right ventricular hypertrophy, right ventricular failure and ascites in meat-type chickens. Avian Pathol. **18**: S. 675-684

KLINKE, R. und SILBERNAGEL, S. (2001) Lehrbuch der Physiologie Stuttgart: Georg Thieme

KUNZI-RAPP, K.; RUCK, A. und KAUFMANN, R. (1999)

Characterization of the chick chorioallantoic membrane model as a short-term in vivo system for human skin. Arch Dermatol Res **291**(5): S. 290-5

KUTRYK, M. J. und STEWART, D. J. (2003) Angiogenesis of the heart. Microsc Res Tech **60**(2): S. 138-58

LANGE, S. (2005)

Auswirkung eines reduzierten Sauerstoffmangels in der Bebrütungsluft auf die Entwicklung des Herzmuskelgewebes im Hühnerembryo (Gallus gallus f. domestica) eine lichtmikroskopische, immunhistochemische und morphometrische Studie Diss., Institut für Veterinär-Anatomie des Fachbereiches Veterinärmedizin, Berlin, Freie Universität Berlin

LIEBICH, H.-G. (1999)

Funtionelle Histologie der Haussäugetiere Stuttgart, New York: Schattauer- ISBN:3-79451899-3 LILLIE, F. (1951)

Lillie's Development of the chick New York: Holt, Rinehart and Winston

MADSEN, K. M. und TISHER, C. C. (1985)

Structure-function relationships in H⁺ secreting epithelia. Fed Proc **44**(11): S. 2704-2709

MADSEN, K. M.; VERLANDER, J. W. und TISHER, C. C. (1988)

Relationship between structure and function in distal tubule and collecting duct. J Electron Microsc Tech 9(2): S. 187-208

MARQUAß, B. (2003)

Vergleich von drei Methoden zur Messung der CO₂-Atmungsantwort Diss., Physiologie, Bochum, Ruhr-Universität,

MEIR, M. und AR, A. (1990)

Gas pressures in the air cell of the ostrich egg prior to pipping as related to oxygen consumption, eggshell gas conductance and egg temperature. Condor **92**: S. 556-63

MOLENAAR, R. (2007)

in round table discussion: Constant versus varyable incubation conditions- advantages, disadvantages.

in: 3rd Combined Workshop on Fundamental Physiology and Perinatal Development in Poultry, Berlin

NARBAITZ, R.; BASTANI, B.; GALVIN, N. J.; KAPAL, V. K. und LEVINE, D. Z. (1994) Ultrastructural and immunocytochemical evidence for the presence of polarised plasma membrane H⁺-ATPase in two specialised cell types in the chick embryo chorioallantoic membrane. J Anat **186**: S. 245-252

J Anat 180: S. 245-252

NEEDHAM, J. (1932)

Chemical Embryology. Chambridge University Press **98**(15): S. 1325-1326

NEFF, C. (2000)

Die Belastung von Federfüßigen Zwerghühnern (Gallus gallus f. dom.), Sächsischen feldfarbentauben (Columbia livia f. dom.) und Zwergenten (Anas platyrhynchos f. dom.) durch unterschiedliche Beförderungsarten in einem speziellen Transportkarton Diss., Tierhygiene, Tierschutz und Klinik für Geflügel, Hannover, Tierärztliche Hochschule Hannover,

OVERTON, J. (1989)

Fusion of epithelial sheets as seen in formation of the chick amnion. Cell Tissue Res **257**(1): S. 141-7 PATTEN, B. M. (1953)

Embryological stages in the establishing of myeloschisis with spina bifida. Am J Anat **93**(3): S. 365-95

- PATTEN, B. M. (1957) Early Embryology of the Chick New York: McGraw-Hill Book Company
- PFAFF, G. H. und BOUCEK, R. J. (1958)
 Effects of Different Oxygen and Carbon Dioxide Concentrations on the Activity of the Embryonic Chick Heart.
 Circ Res 6: S. 88-91
- PIECHOTTA, R.; MILAKOFSKY, L.; NIBBIO, B.; HARE, T. und EPPLE, A. (1998)
 Impact of exogenous amino acids on endogenous amino compounds in the fluid compartments of the chicken embryo.
 Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol 120(2): S. 325-37
- PLENDL, J.; HIRSCHBERG, R. und HÜNIGEN, H. (2002) Mechanismen der vaskulären Entwicklung und Regression. Tierärztl Prax **30**: S. 243-253
- RAHN, H. und AR, A. (1980) Gas exchange of the avian egg: time structure, and function. Am Zool **20**: S. 477-84
- RAHN, H.; PAGANELLI, C. V. und AR, A. (1979) How bird eggs breathe. Sci Amer **240**: S. 46-55
- RAHN, H.; PAGNELLI, C. N. und AR, A. (1974)The avian egg: air cell gas tension, metabolism and incubation time.Respir Physiol 22: S. 297-309
- RICHARDS, M. P. und PACKARD, M. J. (1996) Mineral Metabolism in Avian Embryos. Poultry and Avian Biology Reviews 7: S. 143-161
- RICHARDS, M. P. und STEELE, N. C. (1987a) Trace element metabolism in the developing avian embryo. J. Exptl. Zool. Suppl. 1: S. 39-51
- RISAU, W. (1997) Mechanisms of angiogenesis. Nature **386**(6626): S. 671-4
- ROMANOFF (1930)

Biochemistry and biophysics of the development of hen's egg. Memoirs of Cornell University Agricultural Experimental Station **132**: S. 1-27 Literaturverzeichnis

- ROMANOFF, A. L. (1960a) The Avian Embryo - Structural and Functional Development New York: The Macimillan Company
- ROMANOFF, A. L. (1960b) The Avian Embryo. Structural and Functional Development New York: The Macmillan Company
- ROMANOFF, A. L. (1967) Biochemistry of the Avian Embryo New York: John Wiley and Sons
- SACHS, L. und HEDDERICH, J. (2009) Angewandte Statistik Berlin, Heidelberg, New York: Springer- ISBN:3-540-40555
- SATO, M.; TACHIBANA, T. und FURUSE, M. (2006)
 Heat production and lipid metabolism in broiler and layer chickens during embryonic development.
 Comp Biochem Physiol A 143: S. 382-388
- SCHEUNERT, A., TRAUTMANN, A. (1976) Lehrbuch der Veterinär-Physiologie Berlin, Hamburg: Paul Parey Verlag- ISBN:3-489-75316-X
- SCHMIDEK, A.; HARE, T.; MILAKOFSKY, L.; NIBBIO, B. und EPPLE, A. (2001)
 Insulin-like growth factor-I affects amino compounds in the fluids of the chicken embryo.
 Gen Comp Endocrinol 123(3): S. 235-43
- SCHNORR, B. und KRESSIN, M. (2001) Embryologie der Haustiere Stuttgart: Enke- ISBN:3-7773-1794-2

SCHÜLLER, M. (2005)

Entwicklung eines geeigneten Modells zur Untersuchung des selektinvermittelten Zellrollens- Das Chorioallantoismembran (CAM) -Modell Diss., Physiologische Chemie, Halle- Wittenberg, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg,

SIMKISS, K. (1980)

Water and ionic fluxes inside the egg. Amer Zool **20**: S. 385-393

SIMKISS, K. (1991)

Fluxes during embryogenesis. Egg Incubation: Its Effects on Embryonic Development in Birds and Reptiles. Cambridge: Cambridge University Press: 47-52 SMITH, F. M.; WEST, N. H. und JONES, D. R. (2000)
The cardiovascular system.
Sturkie's Avian Physiology. G. C. Whittow. San Diego: Academic Press. 5: 141-231

- SMOCZKIEWICZOWA, A. (1959)
 Sodium, potassium, calcium and chloride ion contents and protein fractions in the fluids of chick embryos.
 Nature 183(4670): S. 1260-1
- SPARKS, N. H. C. (2009) Shell formation and function and its role in incubation. Av Biol Res: Science Reviews 2000 Ltd. 7: 47-53
- SPARKS, N. H. C. und BOARD, R. G. (1984) Cuticle, shell porosity and water uptake through hens'egg shells.

Br Poult Sci **25**: S. 267-276

- STARCK, J. und RICKLLIFFS, R. (1989) Avian Growth and Development. Oxford Univ Press **8**: S. 42-46
- STEVENS, L. (1996) Avian Biochemistry and Molecular Biology Cambridge: Cambridge University Press- ISBN:0-521-45510-3
- STRYER, L. (2003) Biochemie Heidelberg, Berlin, Oxford: Spektrum Akademischer Verlag
- STURKIE, P. (1986) Sturkie's Avian Physiology New York, NY: Springer-Verlag
- TAZAWA, H. (1977) Oxygen analyses of chicken embryo blood. Respir Physiol **31**: S. 203-215
- TAZAWA, H. und HOU, P.-C. L. (1997) Avian cardiovascular development.
 Development of Cardiovascular Systems: Molecules to Organism. New York: W.W. Burggreen and B.Keller. Cambridge University Press: 193-210
- TAZAWA, H.; MIKAMI, T. und YOSHIMOTO, C. (1971a)Respiratory properties of chicken embryonic blood during development.Respir Physiol 13: S. 160-170

TAZAWA, H. und TAKANEKA (1985)
 The intra- and extracardiac shunts in relation to the four compartments.
 Development of Cardiovascular Systems: Molecules to Organism. New Yoork: W.W.
 Burggreen and B.Keller. Cambridge University Press: 193-210

- TEN BUSCH, M., L. MILAKOFSKY, T. HARE, B. NIBBO UND A.EPPLE (1997b)
 Impact of ethanol stress on components of the allantoic fluid of the chicken embryo.
 Comp. Biochem. Physiol. A. Physiol. 116(2): S. 125-129
- TEN BUSCH, M.; MILAKOFSKY, L.; HARE, T.; NIBBO, B. und EPPLE, A. (1997a) Regulation of substances in allantoic and amniotic fluid of the chicken embryo. Comp Biochem Physiol A Physiol 116(2): S. 131-136

TOMASCHEK, E. (1997)

Der Einfluß einer kurzzeitigen Hypothermie auf die Catecholaminkonzentrationen in Körperflüssigkeiten von Hühnerembryonen verschiedenen Alters Diss., Institut für Veterinär-Physiologie, Berlin, Freie Universität Berlin,

TÖNHARDT, H.; BOHNWAGNER, C.; GEILE, E. und TOMASCHEK, E. (1995)
Zur Funktion der Catecholamine und Glucocorticoide während der Entwicklung des Hühnerembryos.
in: Prae-, peri- and postnatal processes of adaptation, Frankfurt/Main

TULLET, S. G. und BURTON, F. G. (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

VAN GOLDE, J.; MULDER, T.; V STRAATEN, H. und BLANCO, C. E. (1996) The Chorioallantoic Artery Blood Flow of the Chick Embryo from Stage 34 to 43. Pediatric Research **40**(6): S. 867-871

VISSCHEDIJK, A. H. (1968)

The air space and embryonic respiration. 2. The times of pipping and hatching as influenced by an artificially changed permeability of the shell over the air space. Br Poult Sci 9(2): S. 185-96

VLECK, D. (1991)

Water economy and solute regulation of reptilian and avian embryos. Egg Incubation: Its Effects on Embryonic Development in Birds and Reptiles. Cambridge: Cambridge University Press: 245-259

WADDINGTON (1975)

Zonengliederung der Hühnerkeimscheibe. Embryologie der Haustiere. Stuttgart: Enke. 4: S. 56

WALSBERG, G. E. (1980)

The gaseous microclimate of the avian nest during incubation. Am Zool **20**: S. 363-372

WANGENSTEEN, O. D. und RAHN, H. (1970-1971) Respiratory gas exchange by the avian embryo. Respir Physiol **11**: S. 31-45 WANGENSTEEN, O. D.; WILSON, D. und RAHN, H. (1970-71) Diffusion of gases across the shell of the hen's egg. Respir Physiol **11**: S. 16-30

WIEMANN, K. (2005)

Beitrag zur Geschichte der Ernährungsforschung beim Haushuhn (bis 1950) Diss., Institut für Tierernährung, Hannover, Tierärztliche Hochschule Hannover,

ZIETZSCHMANN, O. und KRÖLLING, O. (1955)

Lehrbuch der Entwicklungsgeschichte der Haustiere Hamburg: Parey

9. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Zusammenfassung der Inkubationsparameter
Tabelle 2: Korrelationen von Na ⁺ , K ⁺ und Cl ⁻ in Blut und Amnionflüssigkeit
Tabelle 3: Differenz der Körpermassen zwischen Ross und Isa 97
Tabelle 4: Differenz der Proportionen zwischen Körpermasse zu Herzmasse der RassenRoss und Isa97
Tabelle 5: Entwicklung der CO2- und O2-Werte im Inkubator über die Zeit(Normalbedingungen gleich 100 %)100
Tabelle 6: Zusammenfassung Gasparameter Blut; + S-Ink = Signifikanz innerhalb der Inkubationsart, X S-R = Signifikanz zwischen den Rassen
Tabelle 7: Zusammenfassung Elektrolyte/Metabolite Blut, + S-Ink = Signifikanzinnerhalb der Inkubationsart, X S-R = Signifikanz zwischen den Rassen104
Tabelle 8: Zusammenfassung Gasparameter Amnion/Morphologie, + S-Ink = Signifikanz innerhalb der Inkubationsart, X S-R = Signifikanz zwischen den Rassen
Tabelle 9: Zusammenfassung Elektrolyte Amnion, + S-Ink = Signifikanz innerhalb derInkubationsart, X S-R = Signifikanz zwischen den Rassen105

10. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Zonengliederung der Hühnerkeimscheibe (Waddington, 1975)	14
Abbildung 2: Entstehung Amnion und Chorion (Schnorr und Kressin, 2001)	15
Abbildung 3: Dottersackkreislauf des Huhnes, Ventralansicht, 100 Stunden bebrütet (Zietzschmann und Krölling, 1955)	20
Abbildung 4: embryonaler Kreislauf mit intra- und extrakardialen Shunts (Tazawa und Takaneka, 1985)	21
Abbildung 5: Die Blut-Amnion-Barriere nach Feske et al. (2007)	23
Abbildung 6: Incontrol 1050	37
Abbildung 7: Die Chorioallantoisvene am 14. Tag der Inkubation (Nau 2009)	38
Abbildung 8: Schema zur Auswertung der Ergebnisse	42
Abbildung 9: pH-Werte im Blut unter verschiedenen Inkubationen. Die nebeneinander gezeichneten farbigen Sterne zeigen die Signifikanz zwischen den gleichfarbig gezeichneten Linien des Diagramms am entsprechenden Tag	43
Abbildung 10: pH-Werte in der Amnionflüssigkeit unter verschiedenen Inkubationen	44
Abbildung 11: pH-Werte in Blut und Amnionflüssigkeit der Rasse Isa	45
Abbildung 12: pH-Werte in Blut und Amnionflüssigkeit der Rasse Ross	46
Abbildung 13: pO ₂ -Werte im Blut unter verschiedenen Inkubationen. Die nebeneinander gezeichneten farbigen Sterne zeigen die Signifikanz zwischen den gleichfarbig gezeichneten Linien des Diagramms am entsprechenden Tag	47
Abbildung 14: pO ₂ -Werte in der Amnionflüssigkeit unter verschiedenen Inkubationen	48
Abbildung 15: pO ₂ -Werte in Blut und Amnionflüssigkeit der Rasse Isa	49
Abbildung 16: pO ₂ -Werte in Blut und Amnionflüssigkeit der Rasse Ross	51
Abbildung 17: pCO ₂ -Wert im Blut unter verschiedenen Inkubationen. Die nebeneinander gezeichneten farbigen Sterne zeigen die Signifikanz zwischen den gleichfarbig gezeichneten Linien des Diagramms am entsprechenden Tag	52
Abbildung 18: pCO ₂ -Werte in der Amnionflüssigkeit unter verschiedenen Inkubationen	53
Abbildung 19: pCO ₂ -Werte in Blut und Amnionflüssigkeit der Rasse Isa	54

Abbildung 20: pCO ₂ -Werte in Blut und Amnionflüssigkeit der Rasse Ross
Abbildung 21: HCO ₃ ⁻ -Werte im Blut unter verschiedenen Inkubationen. Die nebeneinander gezeichneten farbigen Sterne zeigen die Signifikanz zwischen den gleichfarbig gezeichneten Linien des Diagramms am entsprechenden Tag
Abbildung 22: HCO ₃ ⁻ -Werte in der Amnionflüssigkeit unter verschiedenen Inkubationen 57
Abbildung 23: HCO ₃ ⁻ -Werte in Blut und Amnionflüssigkeit der Rasse Isa
Abbildung 24: HCO ₃ ⁻ -Werte in Blut und Amnionflüssigkeit der Rasse Ross
Abbildung 25: Hämoglobingehalte im Blut unter verschiedenen Inkubationen. Die nebeneinander gezeichneten farbigen Sterne zeigen die Signifikanz zwischen den gleichfarbig gezeichneten Linien des Diagramms am entsprechenden Tag
Abbildung 26: Hämoglobingehalte im Blut der Rasse Isa
Abbildung 27: Hämoglobingehalte im Blut der Rasse Ross
Abbildung 28: Hämatokrit im Blut unter verschiedenen Inkubationen. Die nebeneinander gezeichneten farbigen Sterne zeigen die Signifikanz zwischen den gleichfarbig gezeichneten Linien des Diagramms am entsprechenden Tag
Abbildung 29: Hämatokrit im Blut der Rasse Isa
Abbildung 30: Hämatokrit im Blut der Rasse Ross
Abbildung 31: Glukosegehalte im Blut unter verschiedenen Inkubationen. Die nebeneinander gezeichneten farbigen Sterne zeigen die Signifikanz zwischen den gleichfarbig gezeichneten Linien des Diagramms am entsprechenden Tag
Abbildung 32: Glukosegehalte im Blut der Rasse Isa
Abbildung 33: Glukosegehalte im Blut der Rasse Ross
Abbildung 34: Lactatgehalte im Blut unter verschiedenen Inkubationen. Die nebeneinander gezeichneten farbigen Sterne zeigen die Signifikanz zwischen den gleichfarbig gezeichneten Linien des Diagramms am entsprechenden Tag
Abbildung 35: Lactatgehalte im Blut der Rasse Isa
Abbildung 36: Lactatgehalte im Blut der Rasse Ross
Abbildung 37: K ⁺ -Gehalt im Blut unter verschiedenen Inkubationen. Die nebeneinander gezeichneten farbigen Sterne zeigen die Signifikanz zwischen den gleichfarbig gezeichneten Linien des Diagramms am entsprechenden Tag

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 38: K ⁺ -Gehalte in der Amnionflüssigkeit unter verschiedenen Inkubationen 73
Abbildung 39: K ⁺ -Gehalte in Blut und Amnionflüssigkeit der Rasse Isa
Abbildung 40: K ⁺ -Gehalte in Blut und Amnionflüssigkeit der Rasse Ross
Abbildung 41: Na ⁺ -Gehalte im Blut unter verschiedenen Inkubationen. Die nebeneinander gezeichneten farbigen Sterne zeigen die Signifikanz zwischen den gleichfarbig gezeichneten Linien des Diagramms am entsprechenden Tag
Abbildung 42: Na ⁺ -Gehalte in der Amnionflüssigkeit unter verschiedenen Inkubationen77
Abbildung 43: Na ⁺ -Gehalte in Blut und Amnionflüssigkeit der Rasse Isa
Abbildung 44: Na ⁺ -Gehalte in Blut und Amnionflüssigkeit der Rasse Ross
Abbildung 45: Ca ²⁺ -Gehalte im Blut unter verschiedenen Inkubationen. Die nebeneinander gezeichneten farbigen Sterne zeigen die Signifikanz zwischen den gleichfarbig gezeichneten Linien des Diagramms am entsprechenden Tag
Abbildung 46: Ca ²⁺ -Gehalte in der Amnionflüssigkeit unter verschiedenen Inkubationen 82
Abbildung 47: Ca ²⁺ -Gehalte in Blut und Amnionflüssigkeit der Rasse Isa
Abbildung 48: Ca ²⁺ -Gehalte in Blut und Amnionflüssigkeit der Rasse Ross
Abbildung 49: Cl ⁻ -Gehalte im Blut unter verschiedenen Inkubationen. Die nebeneinander gezeichneten farbigen Sterne zeigen die Signifikanz zwischen den gleichfarbig gezeichneten Linien des Diagramms am entsprechenden Tag
Abbildung 50: Cl ⁻ - Gehalte in der Amnionflüssigkeit unter verschiedenen Inkubationen 86
Abbildung 51: Cl ⁻ -Gehalte in Blut und Amnionflüssigkeit der Rasse Isa
Abbildung 52: Cl ⁻ -Gehalte in Blut und Amnionflüssigkeit der Rasse Ross
Abbildung 53: Körpermasse unter verschiedenen Inkubationen. Die nebeneinander gezeichneten farbigen Sterne zeigen die Signifikanz zwischen den gleichfarbig gezeichneten Linien des Diagramms am entsprechenden Tag
Abbildung 54: Körpermassen der Rasse Isa
Abbildung 55: Körpermasse der Rasse Ross
Abbildung 56: Herzmassen unter verschiedenen Inkubationen. Die nebeneinander gezeichneten farbigen Sterne zeigen die Signifikanz zwischen den gleichfarbig gezeichneten Linien des Diagramms am entsprechenden Tag

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 57: Herzmassen der Rasse Isa	95
Abbildung 58: Herzmassen der Rasse Ross	.96
Abbildung 59: Wasserverluste unter verschiedenen Inkubationen. Die nebeneinander gezeichneten farbigen Sterne zeigen die Signifikanz zwischen den gleichfarbig gezeichneten Linien des Diagramms am entsprechenden Tag	. 98
Abbildung 60: Wasserverlust innerhalb der Rasse Isa unter verschiedenen Inkubationen	. 99
Abbildung 61: Wasserverlust innerhalb der Rasse Ross unter verschiedenen Inkubationen.	100

11. Danksagung

An allererster Stelle danke ich Frau Prof. Tönhardt für die Überlassung des Themas und die sehr gute Betreuung. Danke, dass ihr Büro immer offen stand für Fragen und Hilfe, trotz Ihres vollen Terminkalenders. Ihre positive und frische Einstellung zum Leben hat mich motiviert und mir Selbstvertrauen gegeben. Auch bedanke ich mich bei Ihnen dafür, dass Sie mich zur Teilnahme an internationalen Fachveranstaltungen motiviert haben, ich dort auftreten und Land und Leute kennen lernen durfte.

Ich danke den Mitarbeitern des Fachbereiches der Veterinär-Physiologie für die hohe soziale Kompetenz und die angenehme Zeit. Gerade die legendären Weihnachtsfeiern werde ich nicht vergessen. Der Familie Dr. Feske gilt mein Dank für die Einarbeitung in die praktischen Arbeiten zur Durchführung der Versuche.

Zu großem Dank bin ich Herrn Rohde von der Firma Radiometer verpflichtet, der auch während seines Urlaubes sich nicht scheute Hilfestellungen über das Telefon zu geben. Sie haben den ABL immer zum Laufen gebracht.

Weiterhin bedanke ich mich bei der Firma Labotect für die Leihgabe des Incontrol 1050 und bei dem Brutleiter der Wiesenhof-Geflügel Möckern GmbH, Herrn Wundersitz, für die unentgeltliche Überlassung der Eier.

Meinem lieben Großvater, Prof. Nau, danke ich außerordentlich für die finanzielle Unterstützung und die motivierenden Worte eine Promotion zu beginnen. Nun bin ich froh, dass ich mich dazu entschlossen habe.

Ich danke meinen Eltern sehr dafür, dass sie mir stets den Rücken freihielten und es mir so ermöglicht wurde zu studieren und die Dissertation anzufertigen.

Ohne Euch wäre ich heute nie da angelangt, wo ich heute stehe.

12. Selbstständigkeitserklärung

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 19. August 2010

Eve Nau