

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

**Der Einfluss von unterschiedlichen Inkubationstemperaturen
und Sauerstoffmangel auf die Konzentration von zyklischem
Adenosinmonophosphat in embryonalen Herzzellen
von Hühnern (*Gallus gallus f. domestica*)**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Norbert Brauch
Tierarzt aus Lindow/Mark

Berlin 2002

Journal-Nr. 2682

gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Der Dekan:	Prof. M.F.G. Schmidt
Erster Gutachter:	Prof. H. Tönhardt
Zweiter Gutachter:	Prof. K.D. Weyrauch
Dritter Gutachter:	Prof. M.H.A. Hafez

Tag der Promotion:	6.12.2002
--------------------	-----------

*Unsere Weisheit stammt
aus unseren Erfahrungen
und unsere Erfahrungen stammen
aus unseren Dummheiten*

Sasha Guitry

Inhaltsverzeichnis

	Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen	7
I.	Einleitung und Zielstellung	8
II.	Literaturübersicht	10
1.	Die Entwicklung der Atmung	10
2.	Die Entwicklung des Herzens	14
2.1.	Die morphologische Entwicklung	14
2.2.	Die funktionelle Entwicklung	15
2.3.	Die vegetative Beeinflussung des Herzens	16
2.3.1.	Der neuronale Anteil	17
2.3.2.	Die Catecholamine – der humorale Anteil	19
2.4.	Die Zellebene	22
2.4.1.	Die Signalübertragung am β_1 -Rezeptor der Herzmuskelzelle	22
2.4.2.	Die Embryogenese und beeinflussende Faktoren der Signalübertragung in der embryonalen Hühnerherzzelle	25
3.	Die Auswirkungen von Umwelteinflüssen auf den Hühnerembryo	30
3.1.	Der Einfluss des Sauerstoffangebotes	30
3.1.1.	Die Auswirkungen kurzzeitiger Hypoxie	30
3.1.2.	Die Auswirkungen langzeitiger Hypoxie	31
3.2.	Der Einfluss der Inkubationstemperatur	32
4.	Zusammenfassung der Literatur und die sich daraus ergebenden Fragestellungen	34
III.	Material und Methode	36
1.	Herkunft der Eier	36
2.	Verwendetes Material	36
3.	Inkubationsbedingungen	37
3.1.	Temperaturversuch	37
3.2.	Sauerstoffmangelversuch	37
3.3.	Entnahme der Eier	37

4.	Gewinnung und Aufbereitung der Proben	38
4.1.	Präparation der Hühnerembryonen	38
4.2.	Gewinnung der Zellsuspension	38
4.3.	Aufbereitung der Proben	39
4.4.	Zellzahlbestimmung	40
5.	cAMP-Bestimmung	40
6.	Bestimmung der Embryonen- und der Herzmasse sowie des Schlupfzustandes und der Lage des Embryos	41
7.	Statistische Analyse	42
IV.	Ergebnisse	43
1.	Ergebnisse des Temperaturversuches	43
1.1.	Einfluss der Inkubationstemperatur auf den basalen cAMP-Gehalt in embryonalen Herzzellen	43
1.2.	Einfluss der Inkubationstemperatur auf die Stimulierbarkeit des cAMP-Gehaltes in embryonalen Herzzellen durch Isoproterenol	44
1.3.	Ergebnisse der morphologischen Untersuchungen	45
1.3.1.	Einfluss der Inkubationstemperatur auf die Embryonenmasse	45
1.3.2.	Einfluss der Inkubationstemperatur auf die Herzmasse	46
1.3.3.	Einfluss der Inkubationstemperatur auf die relative Herzmasse	47
2.	Ergebnisse des Versuches unter verringertem Sauerstoffangebot	48
2.1.	Einfluss eines verringerten Sauerstoffangebotes auf den basalen cAMP-Gehalt in embryonalen Herzzellen	48
2.2.	Einfluss eines verringerten Sauerstoffangebotes auf die Stimulierbarkeit des cAMP-Gehaltes in embryonalen Herzzellen durch Isoproterenol	49
2.3.	Ergebnisse der morphologischen Untersuchungen	50
2.3.1.	Einfluss eines verringerten Sauerstoffangebotes auf die Embryonenmasse	50
2.3.2.	Einfluss eines verringerten Sauerstoffangebotes auf die Herzmasse	51
2.3.3.	Einfluss eines verringerten Sauerstoffangebotes auf die relative Herzmasse	52

3.	Weitere Ergebnisse	53
3.1.	Aufgetretene embryonale Fehllagen	53
3.2.	Auftreten des <i>internal pipping</i> am D20 im Temperaturversuch und im Versuch unter verringertem Sauerstoffangebot	53
V.	Diskussion	54
1.	Morphologische Aspekte	54
1.1.	Die Embryonenmasse	54
1.2.	Die Herzmasse	56
2.	Funktionelle Aspekte	59
2.1.	Der basale cAMP-Spiegel embryonaler Herzzellen	59
2.2.	Die Stimulierbarkeit der cAMP-Konzentration in embryonalen Herzzellen durch Isoproterenol	59
3.	Die funktionelle Entwicklung des Herz-Kreislauf-Systems im letzten Viertel der embryonalen Entwicklung des Haushuhnes	63
3.1.	Die Catecholamine	65
3.2.	Die cardiale Regulation	65
3.3.	Die vaskuläre Regulation	67
4.	Das bebrütete Hühnerei – vom Tiermodell zur Zellkultur	69
VI.	Zusammenfassung	70
VII.	Summary	72
VIII.	Literaturverzeichnis	74
IX.	Anhang	92

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

2,3-DPG	-	2,3-Diphosphoglyzerat
amol	-	attomol = 10^{-18} mol
AMP	-	Adenosinmonophosphat
ATP	-	Adenosintriphosphat
CAM	-	Chorioallantoismembran
cAMP	-	zyklisches Adenosinmonophosphat
D	-	Inkubationstag, day of incubation
EP	-	external pipping (Durchstoßen der äußeren Kalkschale mit dem Schnabel)
HR	-	Herzfrequenz, heart rate
IP	-	internal pipping (Durchstoßen der inneren Eihaut mit dem Schnabel)
ISO	-	Isoproterenol
p	-	Signifikanzniveau
pCO ₂	-	Kohlendioxidpartialdruck
pO ₂	-	Sauerstoffpartialdruck
T _a	-	Inkubationstemperatur, ambient temperature

<u>Curriculum vitae</u>	Norbert Brauch	
Geburtsdatum	07.02.1975	
Geburtsort	Neuruppin	
Schulbildung	1981-1990	Gesamtschule Lindow
	1990-1993	Gesamtschule mit gymnasialer Oberstufe Rheinsberg
Wehrdienst	1993-1994	
Studium	1994-2000	Studium der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin
	2.2.2000	Approbation als Tierarzt
Wissenschaftliche Tätigkeit	04/2000	Eröffnung des Promotionsverfahrens am Institut für Veterinär-Physiologie der Freien Universität Berlin unter Leitung von Frau Prof. Dr. Heike Tönhardt
	2000-2002	Stipendiat der H.W. Schaumannstiftung
	10/2000	Organisationskomitee des 6. Internationaler Workshop „Perinatal Development in Birds“ in Berlin
Publikationen	2 Poster	

Berlin, den 4.10.2002

Danksagung

Zunächst möchte ich Frau **Prof. Heike Tönhardt** für die Überlassung des Themas, ihre engagierte Betreuung und ihre Hilfe bei der Überwindung von finanziellen Hindernissen danken. Ohne ihre vielfältigen Anregungen und ihre ständige Diskussionsbereitschaft wäre diese Arbeit nicht in der vorliegenden Form entstanden.

Ein besonderer Dank gilt meinen Eltern, **Dieter und Lotte Brauch**, die immer für mich da waren und mir diesen, meinen Weg erst ermöglicht haben.

Weiterhin gilt mein Dank allen **Mitarbeitern des Institutes für Veterinärphysiologie der FU Berlin** für die freundliche und angenehme Zusammenarbeit in den vergangenen Jahren. Im besonderen gilt dieses für **Frau Dorothee Plaumann** für die kritische Durchsicht meiner Manuskripte und meinen Mitdoktoranden **Ekkehart Stamnitz, Sonja Decker** und **Eva Wedel**.

Für die Hilfe bei der statistischen Auswertung der Daten möchte ich mich bei Frau **Rose Schmitz** bedanken.

Der **H. W. SCHAUMANN STIFTUNG** danke ich für die finanzielle Unterstützung meiner Forschungsarbeiten.

Selbstständigkeitsversicherung zur Dissertation

Hiermit versichere ich, die vorliegende Arbeit selbstständig und nur auf Grundlage der angegebenen Hilfsmittel und Hilfen verfasst zu haben.

Ferner erkläre ich, dass die Arbeit bisher in keinem anderen Promotionsverfahren angenommen oder abgelehnt wurde.

Norbert Brauch

Berlin, den 4.10.2002