

3. Ergebnisse

3.1. Auswertbarkeit der vierzig embryonalen Hühnerherzen

Alle vierzig zu untersuchenden Herzen wurden in gleicher Ausrichtung eingebettet, so dass die angefertigten Transversalschnitte miteinander vergleichbar waren. Von den vierzig entnommenen embryonalen Hühnerherzen musste eines aufgrund starker anatomischer Abweichungen von der Norm von der Studie ausgeschlossen werden. Die Betrachtung aller Serienschnitte ergab, dass alle weiteren Herzen frei von Fehlbildungen oder pathologischen Veränderungen waren. So wurden diese den einzelnen Altersgruppen zugeordnet und vergleichend betrachtet. Die Herzen enthielten auch nach mehrmaligem Spülen, im Anschluss an die Präparation, noch unterschiedliche Mengen an Blut in den Ventrikeln. Die großen Gefäßstämme, Aorta und Truncus pulmonalis, waren bei einigen Herzen an der Herzbasis noch in unterschiedlicher Länge erhalten oder fehlten bei anderen vollständig. Bei zwei Herzen waren im Zuge der Präparation auch die Atrien entfernt worden. Bei drei anderen Herzen konnten tiefe, ebenfalls bei der Präparation entstandene Einschnitte am Myokard festgestellt werden, die sich jedoch auf Regionen des embryonalen Herzen beschränkten, die keine Beeinträchtigung der Auswertbarkeit zur Folge hatten. In der nachfolgenden Beschreibung und für die statistische Auswertung wurden aufgrund des Probenumfangs zunächst Altersgruppen gebildet. Hierbei wurden die Altersgruppen neun, zehn und zwölf Tage; vierzehn und sechzehn Tage sowie achtzehn und zwanzig Tage Bebrütungsdauer, zusammengefasst. Die eigentliche Auswertung bzw. Betrachtung der Herzen erfolgte ausschließlich an Transversalschnitten, in denen alle vier Kammern angeschnitten waren und somit die räumliche Orientierung am Herzen und eine Vergleichbarkeit der Herzwandverhältnisse gegeben waren.

3.2. Lichtmikroskopische Betrachtung der embryonalen Herzen

3.2.1. Allgemeine Betrachtung des embryonalen Herzens in den unterschiedlichen Altersstufen

3.2.1.1. Neun bis zwölf Tage (D 9 bis D 12)

Die meisten Herzen dieser Altersstufe weisen in der lichtmikroskopischen Übersichtsvergrößerung eine abgerundete, kugelige Form auf. Bei anderen lässt sich eine spitz zulaufende Herzform erkennen (s. Abb. 3.1. A und B, Abb. 3.2.).

A

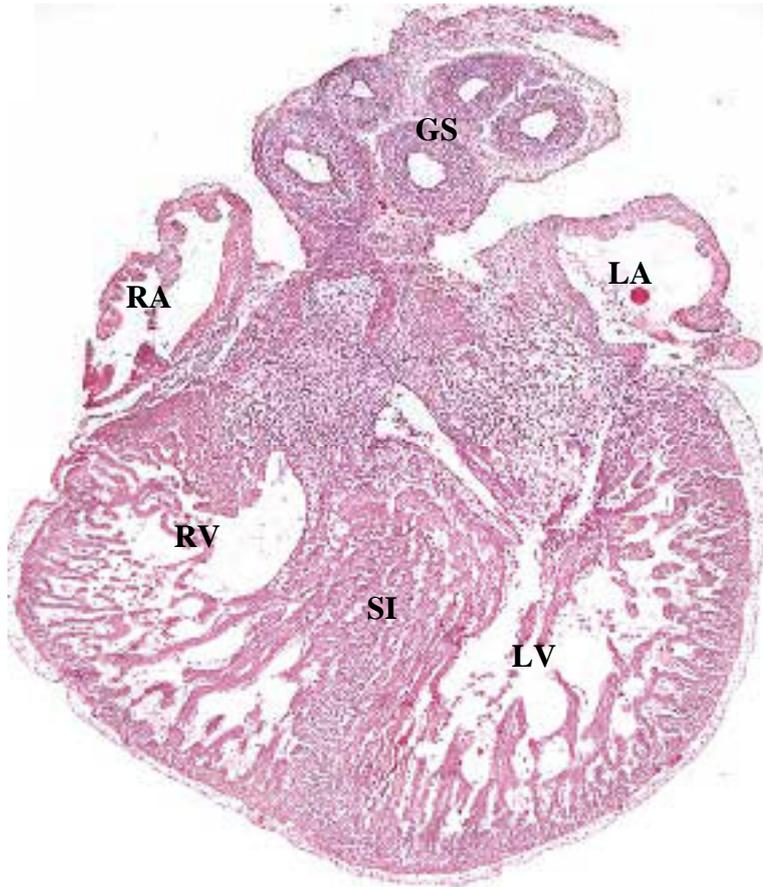


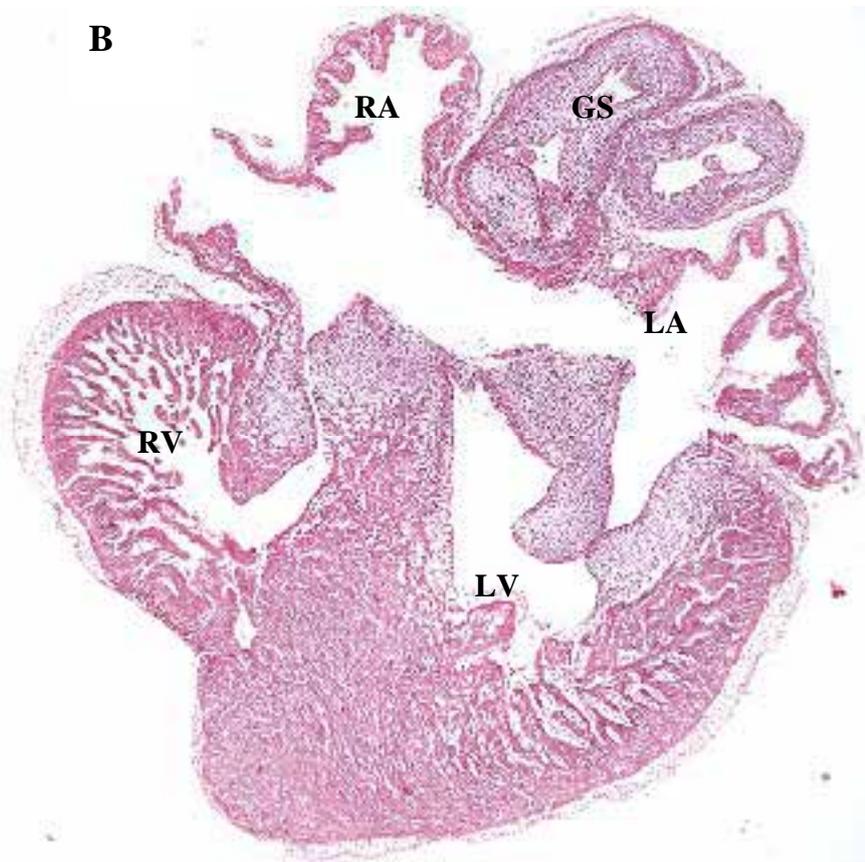
Abb. 3.1:

Vergleich von zwei Herzen aus der Altersgruppe D 9 (A) und D 12 (B) im Transversalschnitt: Das Organ in Abb. A weist im Gegensatz zu dem in Abb. B eine runde Form auf, die beiden Ventrikel sind noch nahezu gleich groß und weisen keine wesentlichen Unterschiede in der Myokardbreite auf. Originalvergrößerung 50fach.

Legende:

LV = linker Ventrikel,
 RV = rechter Ventrikel,
 SI = Septum
 interventriculare,
 RA = rechtes Atrium,
 LA = linkes Atrium,
 GS = Gefäßstämme
 (Aorta und Truncus
 pulmonalis).

B



Die Literaturangaben zum zeitlichen Ablauf der Entwicklung des Herzen kann bestätigt werden. So liegt bereits am neunten Tag der Bebrütung ein vollständig septiertes Herz vor, bei dem sich alle vier Herzkammern klar voneinander abgrenzen lassen und identifizierbar sind. Bei allen untersuchten Herzen wird die Herzspitze ausschließlich vom linken Ventrikel gebildet. Bei einigen Herzen zeigt sich deutlich, dass die beiden Atrien vor dem Schlupf über Öffnungen im Septum interatriale miteinander in Verbindung stehen (s. Kap. 1, S. 18). Das subepikardiale Mesenchym zwischen Epikard und Myokard tritt bei diesen Herzen aus der jüngsten untersuchten Altersgruppe deutlich in Erscheinung. Es besitzt an der Herzbasis seine größte Ausdehnung und verliert herzsipitzenwärts sowie in Richtung der Atrien an Breite, überzieht jedoch die gesamte Myokardoberfläche.

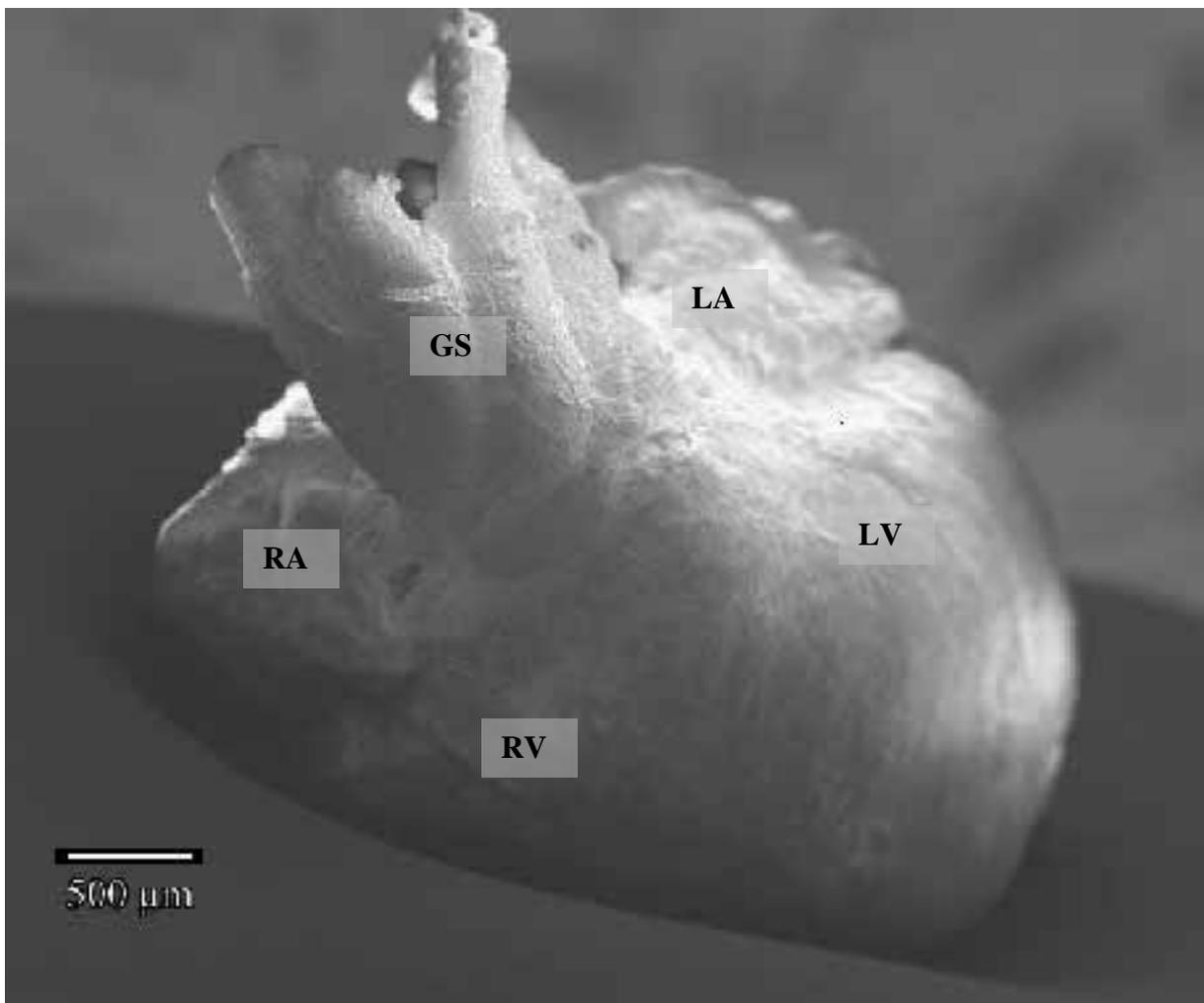


Abb. 3.2.:

Rasterelektronenmikroskopische, mesoskopische Aufnahme eines embryonalen Hühnerherzens nach zehn Bebrütungstagen (D 10). Die einzelnen Herzanteile sind deutlich zu erkennen. Legende: LV = linker Ventrikel, RV = rechter Ventrikel, LA = linkes Atrium, RA = rechtes Atrium, GS = arterielle Gefäßstämme.

Das subepikardiale Mesenchym zeigt bei den Altersstufen D 9 und D 10 einen geringen Zellgehalt, die Zellen sind überwiegend Fibroblasten. Ab D 12 weisen einige Herzen vor allem auf der Ebene der Ventile einen erhöhten Zellgehalt im subepikardialen Mesenchym auf. An einigen Stellen sind gehäuft Erythrozyten in sinusoidalen Kapillaren zu finden.

3.2.1.2. Vierzehn bis sechzehn Tage (D 14 bis D 16)

In der mittleren Altersstufe nimmt das Herz bereits deutlich an Größe zu. Die beiden Kammern lassen sich eindeutig voneinander unterscheiden, da die Kammerwandverhältnisse zugunsten des linken Ventrikels ausgeprägt sind. Bei allen Herzen dieser Altersgruppe tritt eine spitze Herzform in Erscheinung.

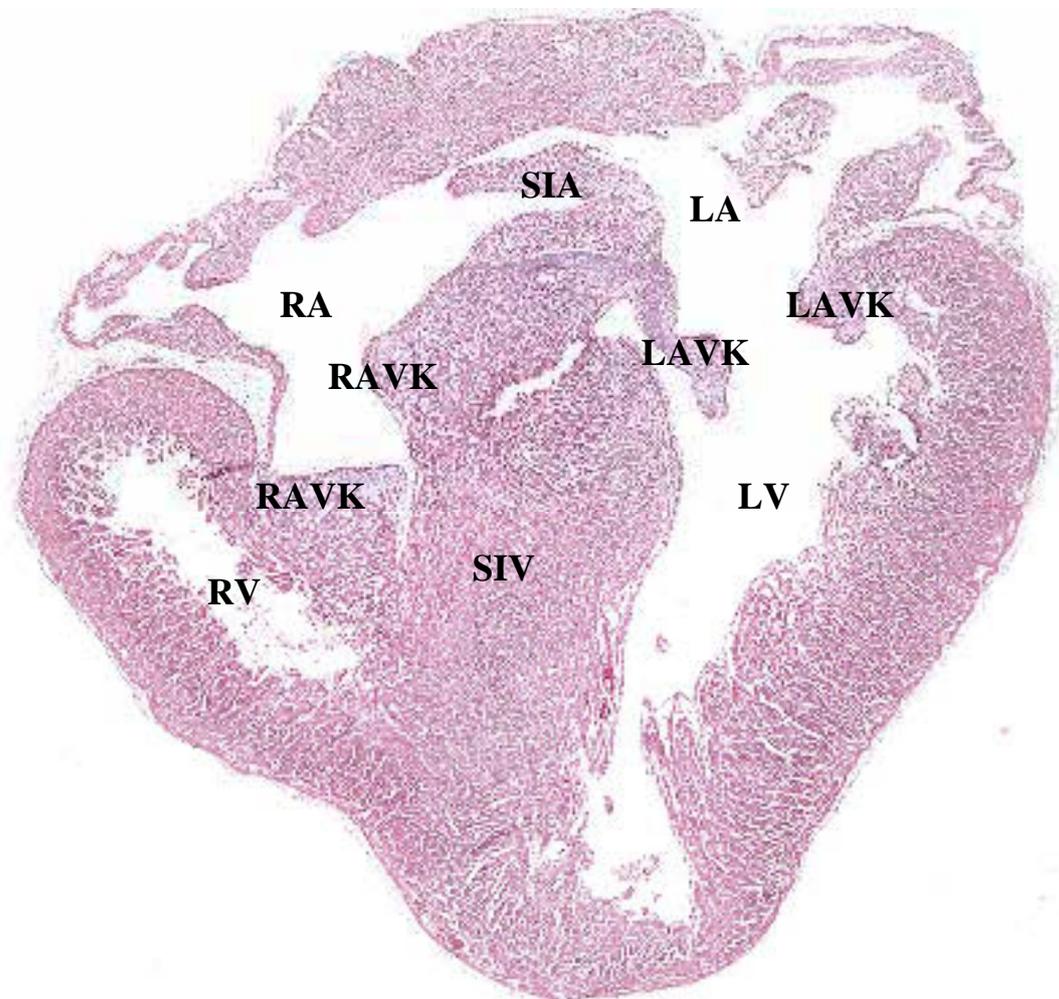


Abb. 3.3:

Übersicht über ein embryonales Hühnerherz am sechzehnten Bebrütungstag. Originalvergrößerung 25fach. Der linke Ventrikel ist im Gegensatz zu denen der Herzen in Abb. 3.1. A und B deutlich größer als der rechte Ventrikel.

Legende:

LV = linker Ventrikel, RV = rechter Ventrikel, LA = linkes Atrium, RA = rechtes Atrium, LAVK = linke Atrioventrikularklappe, RAVK = rechte Atrioventrikularklappe, SIA = Septum interatriale, SIV = Septum interventriculare.

Das subepikardiale Mesenchym verliert im Verhältnis zu dem der jüngeren Herzen zunehmend an Breite. Nur bei einigen Herzen kann ein vermehrter Zellgehalt (vornehmlich Fibroblasten) in dieser mesenchymalen Schicht festgestellt werden. Sowohl die Atrioventrikularklappen als auch die Aortenklappe und die des Truncus pulmonalis, reagieren in der H/E-Färbung und in der Trichrom-Färbung stärker basophil als das Myokard (s. Abb. 3.3.)

3.2.1.3. Achtzehn bis zwanzig Tage (D 18 bis D 20)

Nach achtzehn bis zwanzig Tagen Bebrütungsdauer hat das Herz seine endgültige Form und Größe, die es auch beim Schlupf des Kükens hat, erreicht. Die Herzen in dieser Altersgruppe sind alle ungefähr gleich groß und weisen eine spitze Herzform auf. Ein subepikardiales Mesenchym ist kaum noch vorhanden. Die linke Herzkammer ist jetzt deutlich größer als die rechte und wird von einem kräftigeren Myokard gebildet als der rechte Ventrikel.

3.2.2. Betrachtung des Myokards in den unterschiedlichen Altersstufen

3.2.2.1. Neun bis zwölf Tage (D 9 bis D 12)

Das Herzmuskelgewebe in dieser Alterstufe ist bei den neun und zehn Tage alten Herzen noch deutlich trabekulär strukturiert und weist dabei kein geordnetes Strukturprinzip auf, welches mit dem in der Literatur beschriebenen dreischichtigen Wandaufbau des Myokards zu vergleichen wäre, wie er in den Herzen älterer Entwicklungsstufen auftritt (s. Abb. 3.4. A und B). Aufgrund der Vielzahl von trabekulären Ausläufern des Myokards erscheinen die kompakten Anteile der Ventrikelwände dieser jungen Herzen sehr dünn. Weder von den Größenverhältnissen noch von den Kammerwandverhältnissen lassen sich der rechte und der linke Ventrikel bei diesen embryonalen Herzen deutlich voneinander unterscheiden, wobei aber der rechte Ventrikel stärker trabekulär strukturiert ist und diese Eigenschaft auch in der Entwicklung länger behält als der linke Ventrikel (s. Abb. 3.4.).

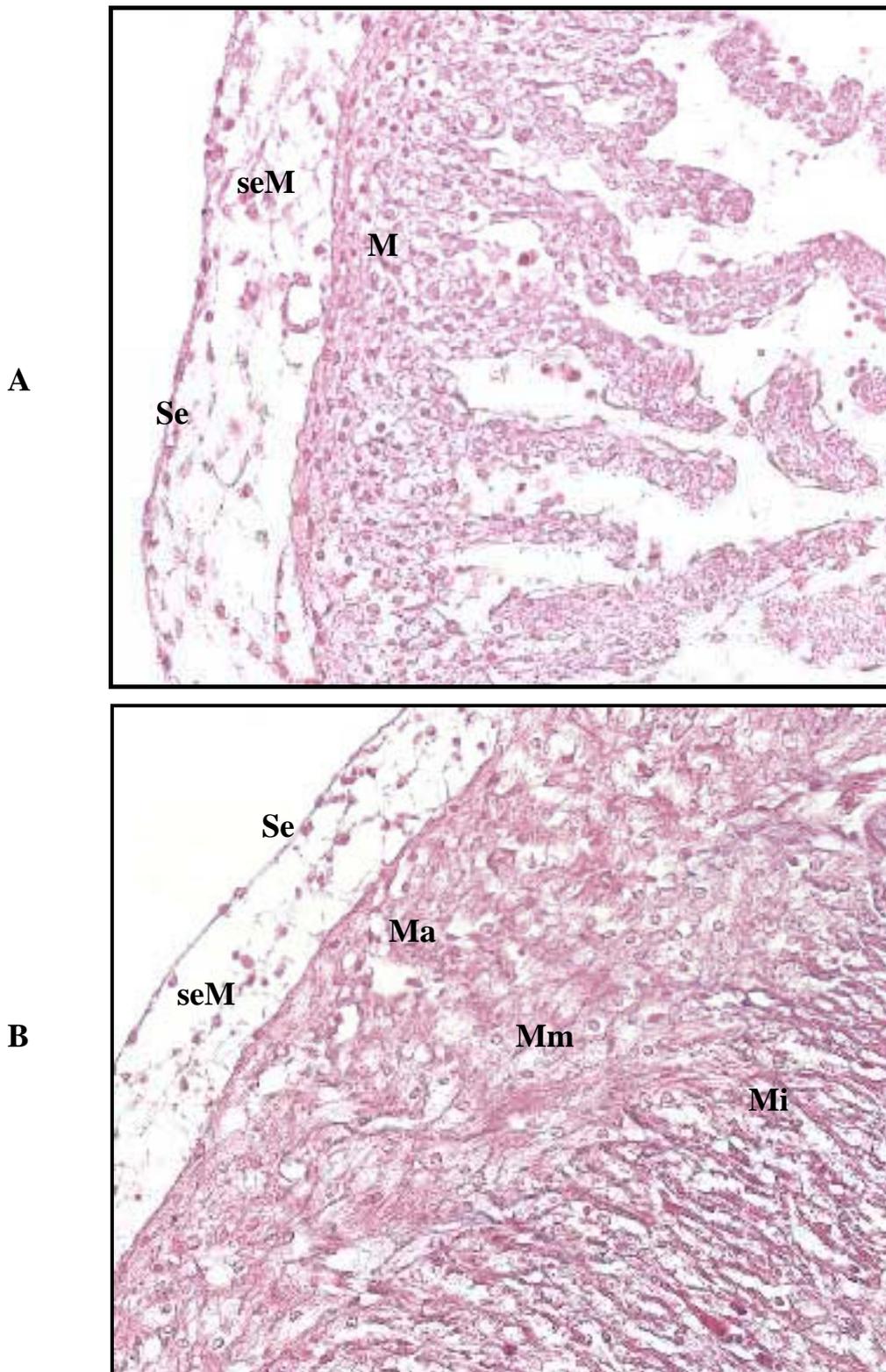


Abb. 3.4.:
Herzmuskelgewebe nach neun (A) und sechzehn (B) Bebrütungstagen. Originalvergrößerung 200fach. Während das Myokard des linken Ventrikels in Abb. A deutlich trabekulär strukturiert ist, ohne dass eine geordnete Ausrichtung der Zellen vorliegt, weist das Myokard in Abb. B einen dreischichtigen Wandaufbau auf. Legende: Se = Serosaepithel des Epikards, seM = subepikardiales Mesenchym, M = Myokard, Ma = äußere Myokardschicht, Mm = mittlere Myokardschicht, Mi = innere Myokardschicht.

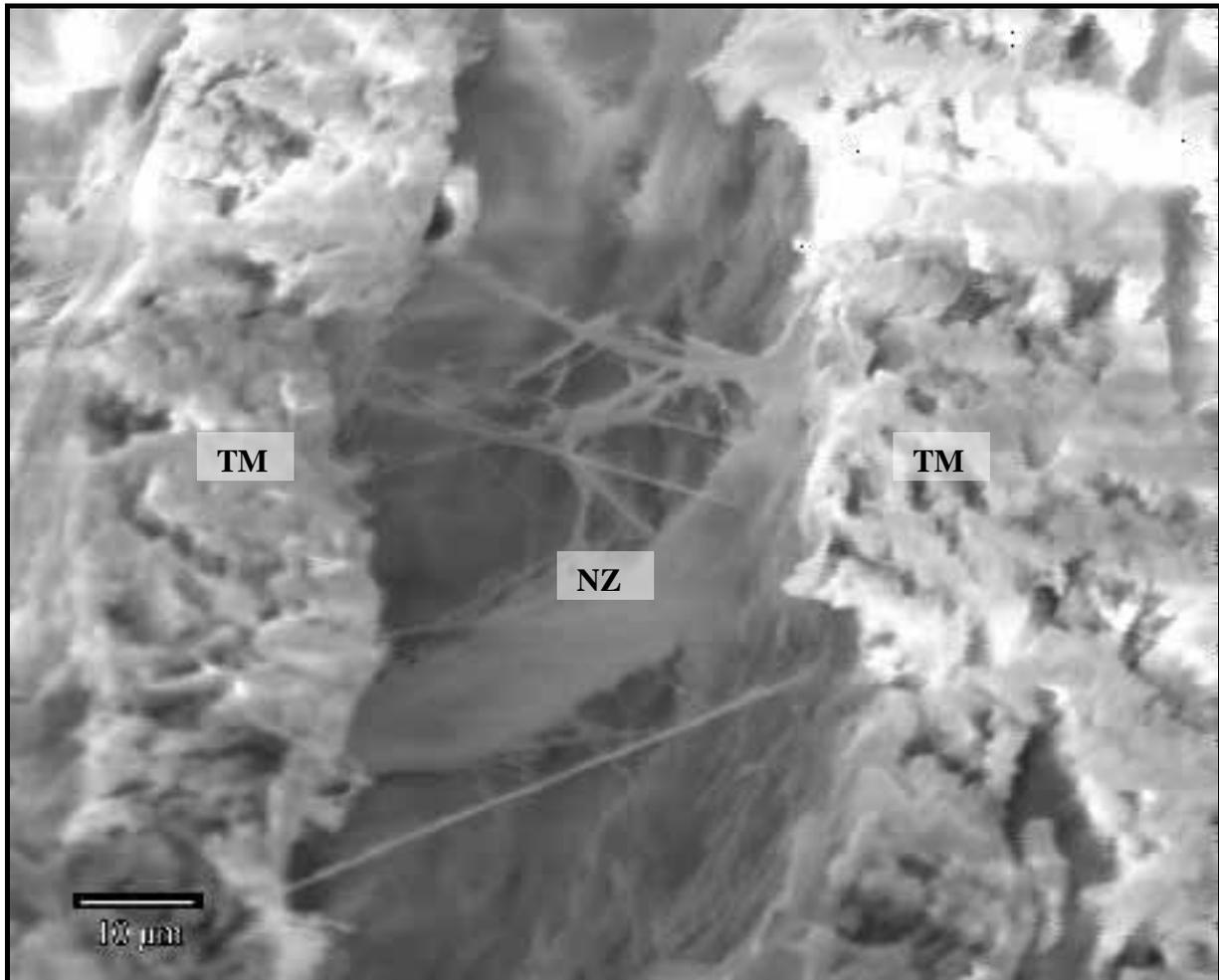


Abb. 3.5.:

Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines Spaltes zwischen myokardialen Trabekeln eines zehn Tage bebrüteten embryonalen Hühnerherzen. Der Spalt ist nicht mit Endothel ausgekleidet und wird von einem feinen Netzwerk „überbrückt“.

Legende: TM = trabekuläres Myokard, NZ = Netzwerk aus feinen kollagenen Fasern.

Die durch die „Trabekel“ entstandenen Zwischenräume sind nur zum Teil mit Endothel ausgekleidet und lassen sich deutlich vom Lumen der eigentlichen, mit Endothel (Endokardepithel) ausgekleideten Herzkammern abgrenzen. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen zeigen, dass diese nicht mit endothelialen Zellen ausgekleideten Zwischenräume im trabekulär strukturierten Myokard embryonaler Herzen durch ein feines, vermutlich kollagenes Netzwerk verbunden werden (s. Abb. 3.5.).

Die einzelnen Kardiomyozyten sind in den Trabekeln ungeordnet ausgerichtet, ihre Zellkerne sind offensichtlich den einzelnen Zellen zuzuordnen (s. Abb. 3.6.). Die Zellkerne sind deutlich basophil.

A

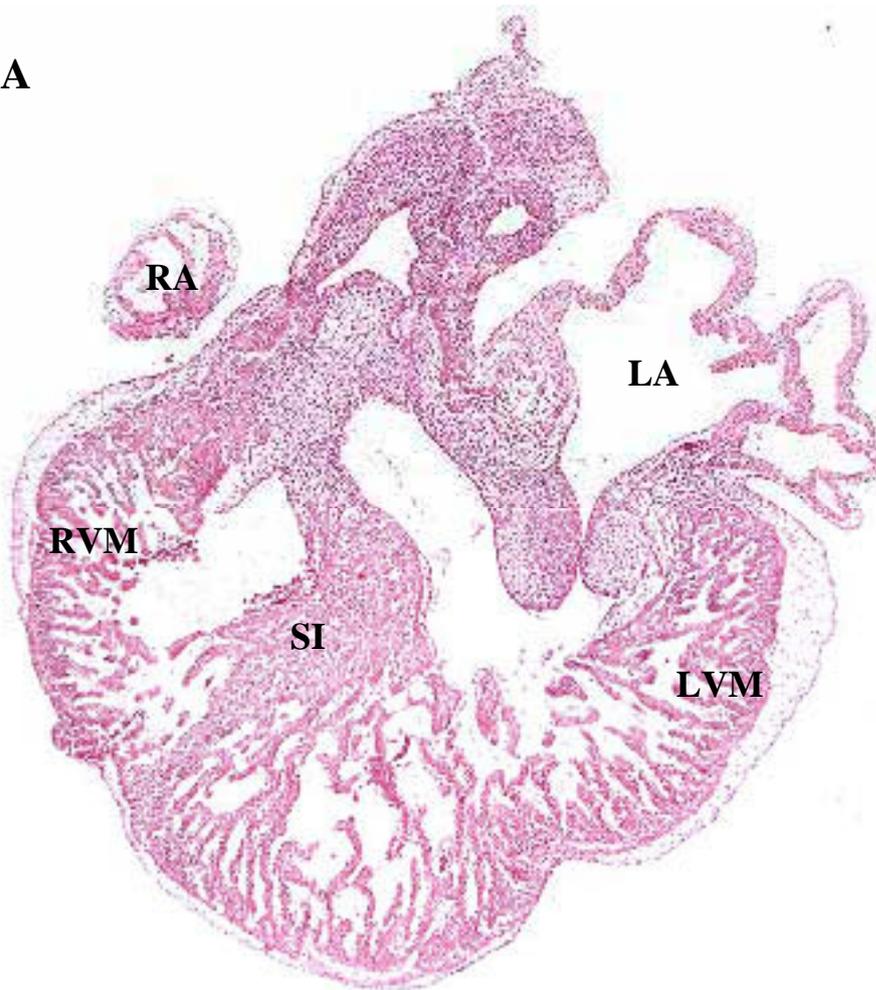


Abb. 3.6.:

Legende:

RA = rechtes Atrium

LA = linkes Atrium

SI = Septum

interventriculare

RVM = rechtes

Ventrikelmyokard

LVM = linkes

Ventrikelmyokard

Abb. 3.6.:

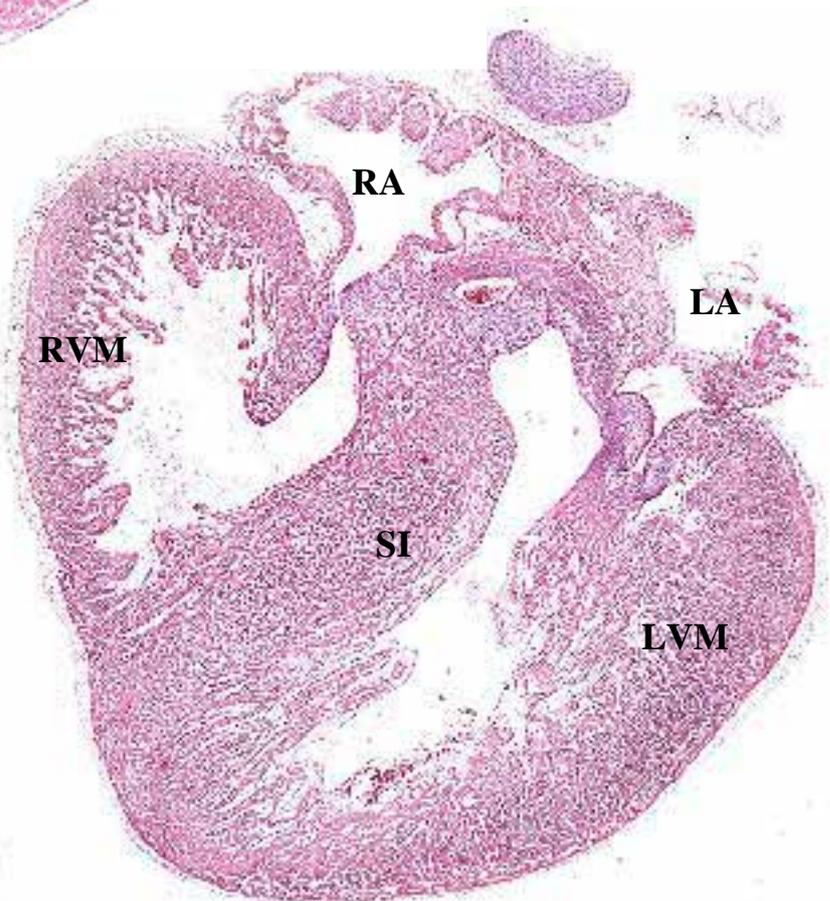
Drei embryonale Hühnerherzen verschiedener Altersklassen. Die Abbildungen zeigen im Vergleich besonders deutlich die Veränderung der Myokardstruktur und der Kammerwandverhältnisse mit dem zunehmenden Alter; Färbung: Trichrom Originalvergrößerungen: 50fach

A = Bebrütungsdauer 9 Tage

B = Bebrütungsdauer 12 Tage

C = Bebrütungsdauer 16 Tage

B



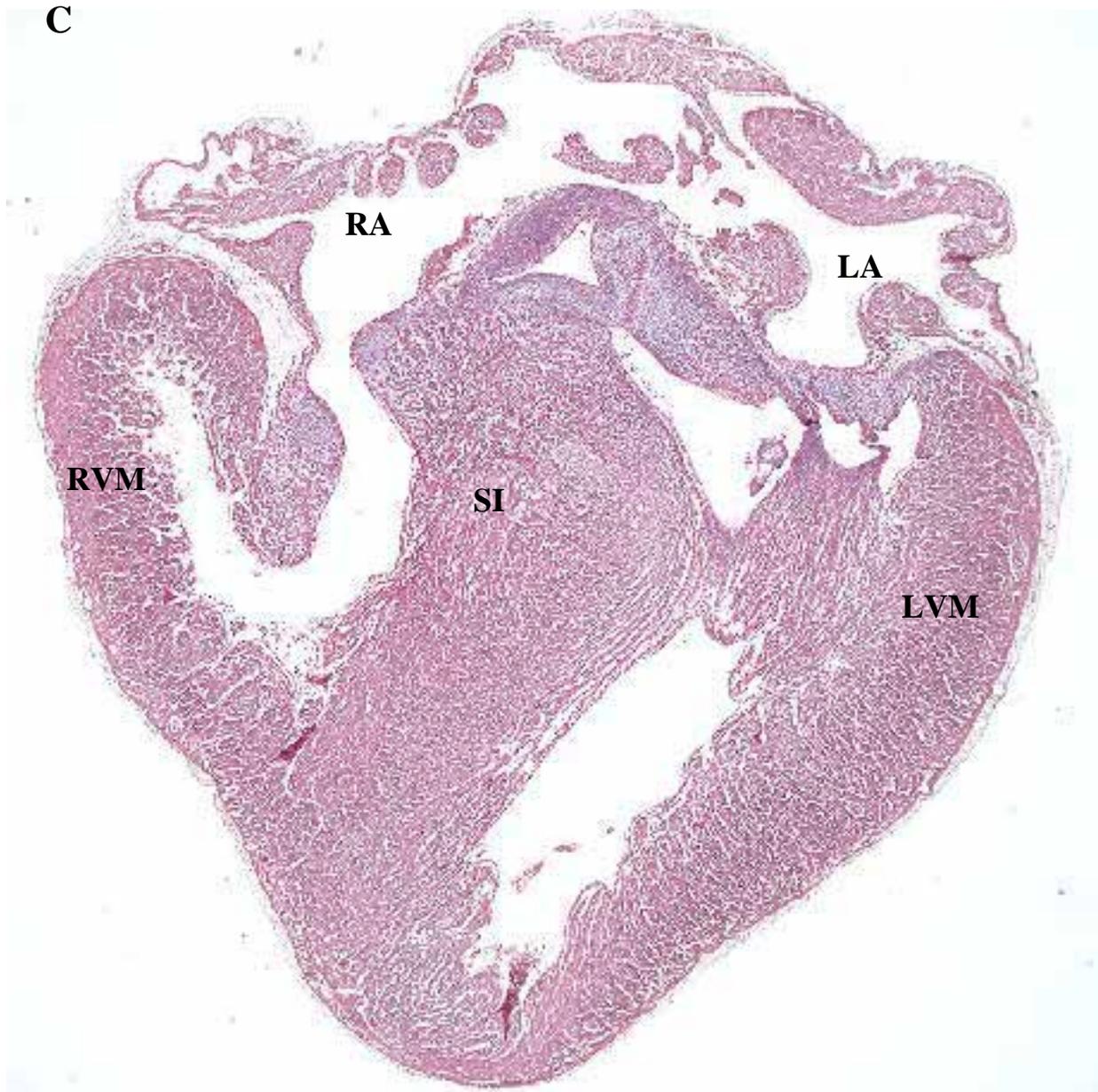


Abb. 3.6. (C): (Legende s. vorherige Seite)

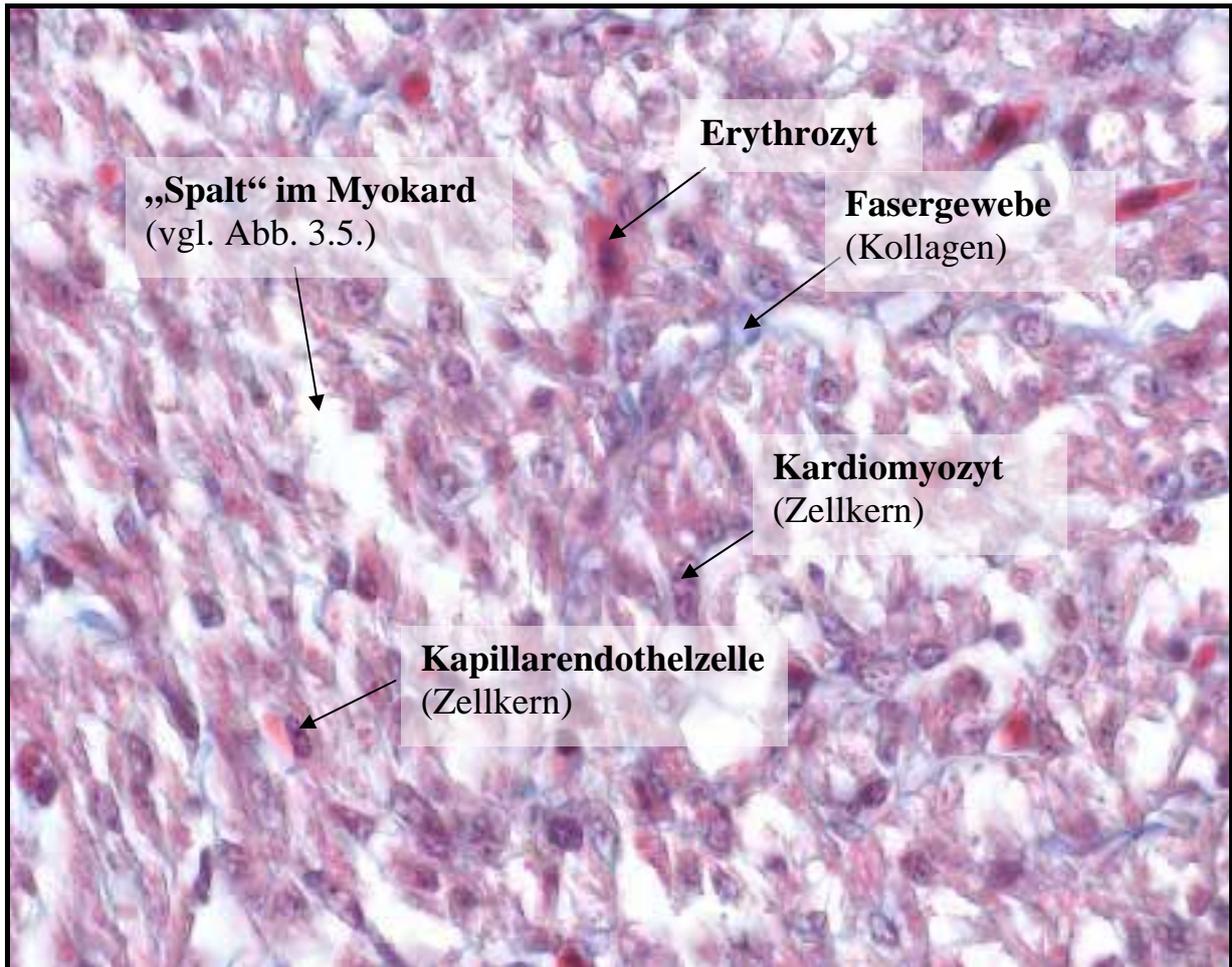


Abb. 3.7.:

Kardiomyozyten im linken Ventrikel eines embryonalen Hühnerherzen nach zwölf Tagen Bebrütung. Die Herzmuskelzellen weisen noch kein geordnetes Gefüge auf. Zwischen diesen liegen Kapillaren und Zonen lockeren kollagenfaserigen Bindegewebes; wie im rasterelektronenmikroskopischen Bild in Abb. 3.5. gezeigt stellen sich die „Spalten“ im trabekulären Myokard auch im lichtmikroskopischen Bild dar; Färbung: Hämatoxylin/Eosin, Originalvergrößerung: 1000fach.

Mit zunehmendem Alter der embryonalen Herzen ist lichtmikroskopisch eine Veränderung der Struktur des Myokard und der Gesamtgröße des Herzens zu beobachten. Die Abb. 3.6. (A, B und C) zeigen drei embryonale Herzen unterschiedlichen Alters in der vergleichenden Übersicht. Bei einem Teil der Herzen lässt sich mit den unterschiedlichen Färbetechniken in der Hämatoxylin/Eosin-Färbung aber auch in der Trichrom-Färbung innerhalb der Trabekel eine höhere Anfärbbarkeit bzw. Azidophilie der lumennahen, also subendokardial gelegenen Herzmuskelzellen feststellen (Abb. 3.8.).

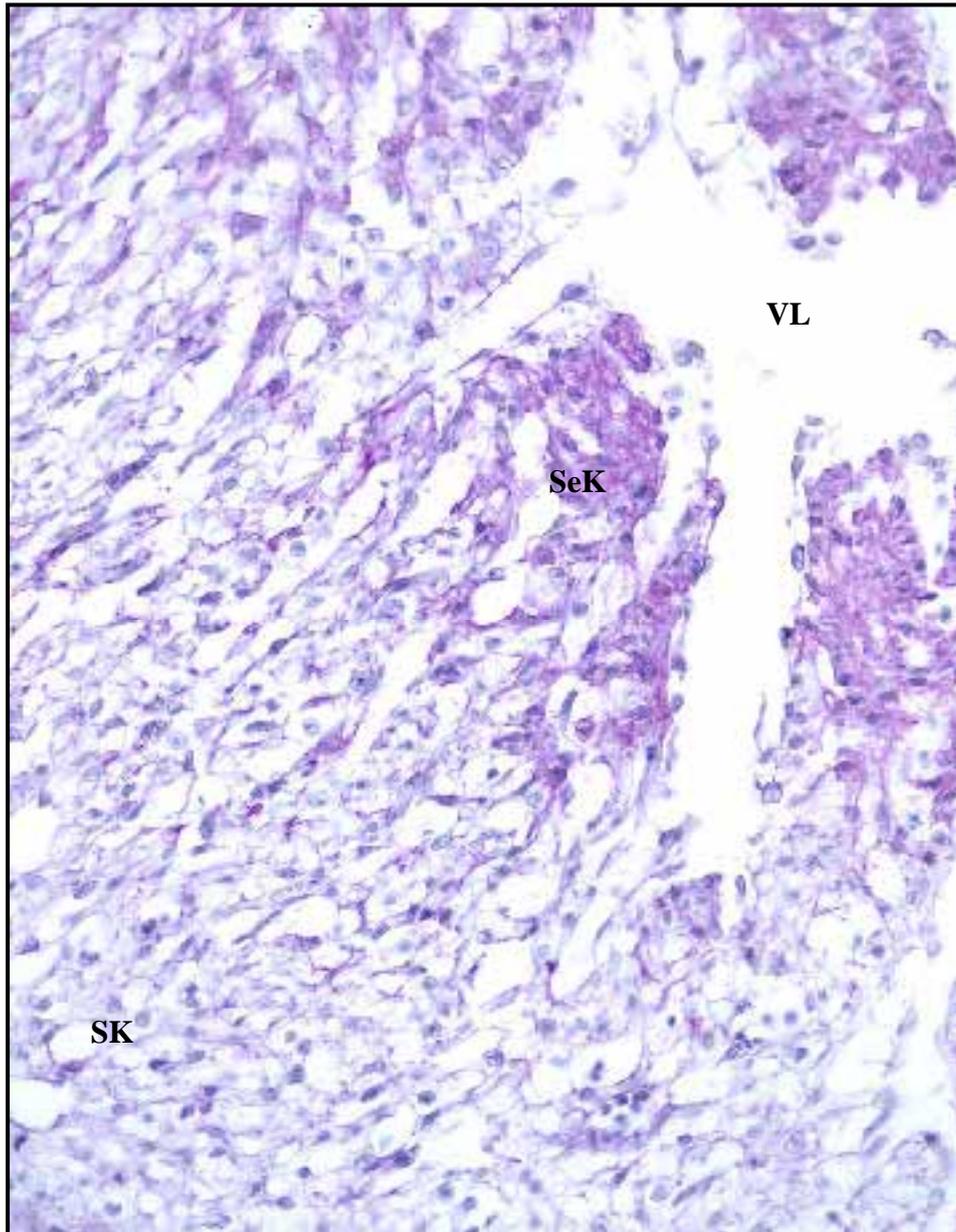


Abb. 3.8.:

Lumennahes Herzmuskelgewebe des linken Ventrikels eines embryonalen Herzen nach zwölf Bebrütungstagen; die subendokardial (SeK) gelegenen Kardiomyozyten weisen eine deutlich höhere Azidophilie als die subepikardial (SK) gelegenen auf. Färbung: Hämatoxylin/Eosin; Originalvergrößerung 200fach.

Legende: VL =Ventrικellumen, SeK = subendokardiale Kardiomyozyten, SK = subepikardiale Kardiomyozyten

Auch der Glykogengehalt dieser subendokardialen Herzmuskelzellen ist bei einigen Herzen erhöht. Vor allem die den Klappen nahe gelegenen Myokardanteile der Ventrikel zeigen einen höheren Gehalt an Glykogen gegenüber den anderen Zellen. In dieser Alterstufe tritt noch keine typische Querstreifung des Herzmuskelgewebes in Erscheinung.

Ab D 12 weisen einige Herzen vor allem am linken Ventrikelmyokard ein kompakteres, weniger trabekulär strukturiertes Myokard auf. Das Myokard des linken Ventrikels ist gegenüber dem des rechten Ventrikels sichtlich breiter und kräftiger. Die Kardiomyozyten liegen in dem Myokard des linken Ventrikels enger zusammen und sind klar voneinander abgegrenzt. In diesem Entwicklungsstadium sind verschiedene Muskellagen bzw. Herzwandschichten im kompakten Myokard der Ventrikel angelegt, da die Kardiomyozyten subepikardial eine andere Ausrichtung aufweisen als subendokardial (s. Abb. 3.4.).

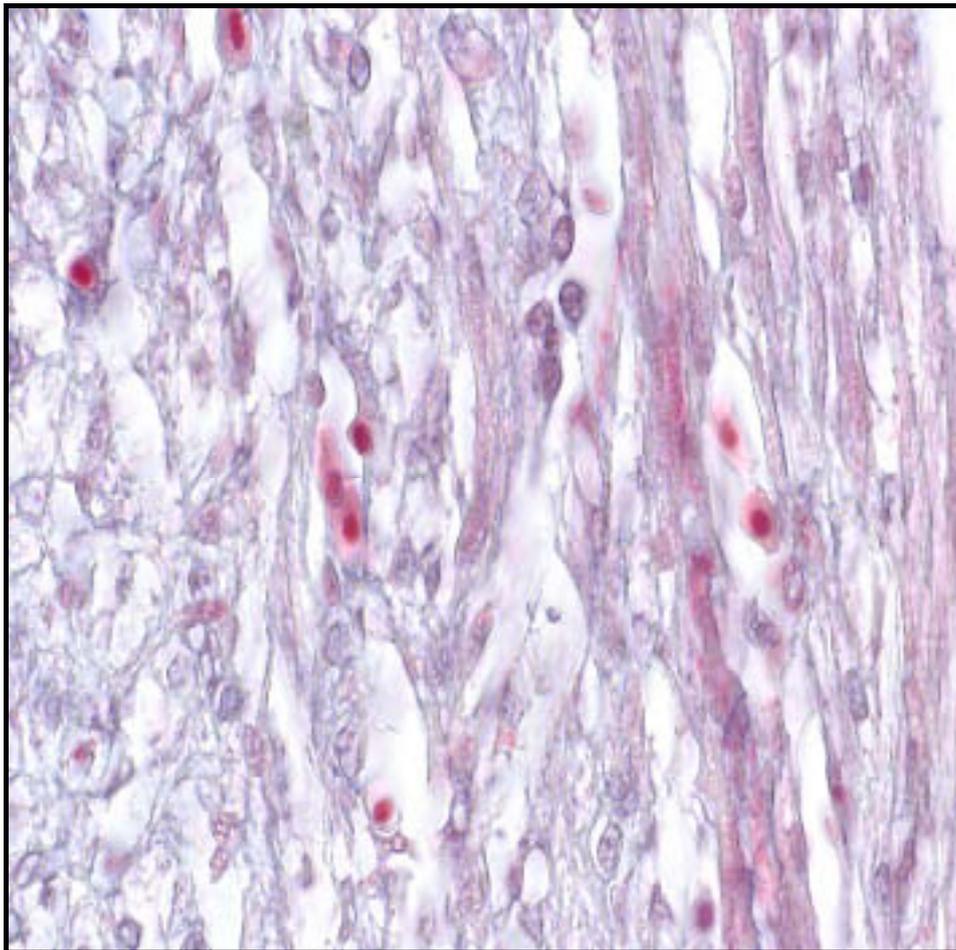


Abb. 3.9. (A):

Herzmuskelgewebe eines embryonalen Hühnerherzen nach zwölf Tagen Bebrütungsdauer. Das Myokard weist noch nicht die für Herzmuskelgewebe typische Querstreifung auf wie in Abb. 3.9. (B und C).

Färbung: Hämatoxylin/Eosin, Originalvergrößerung 1000fach.

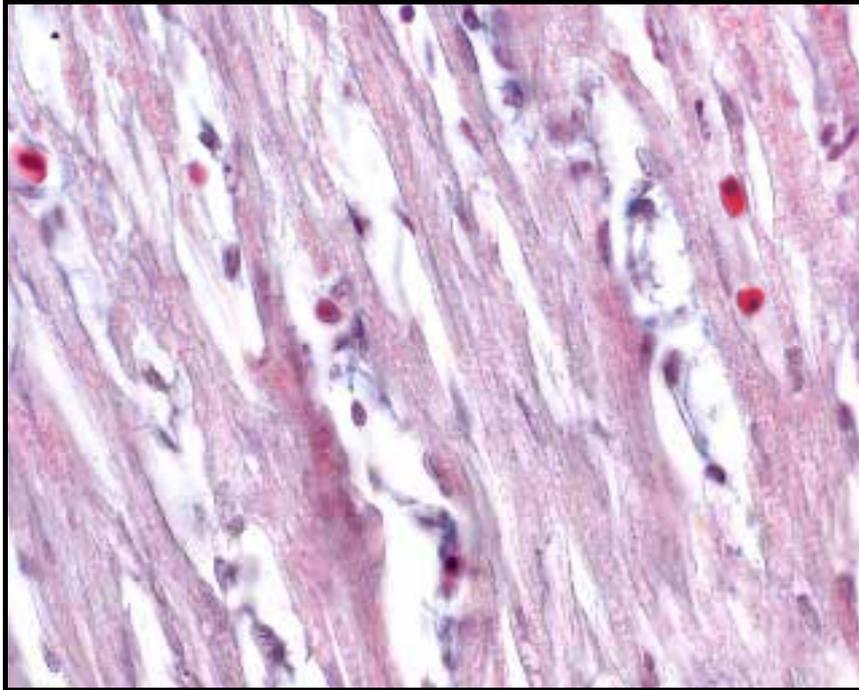


Abb. 3.9. (B):

Herzmuskelgewebe eines foetalen Hühnerherzen nach achtzehn Tagen Bebrütungsdauer. Im Gegensatz zur Abb. 3.9. (A), lässt sich vor dem Schlupf eine typische Querstreifung im Herzmuskelgewebe erkennen.

Färbung: Hämatoxylin/Eosin, Originalvergrößerung 1000fach.

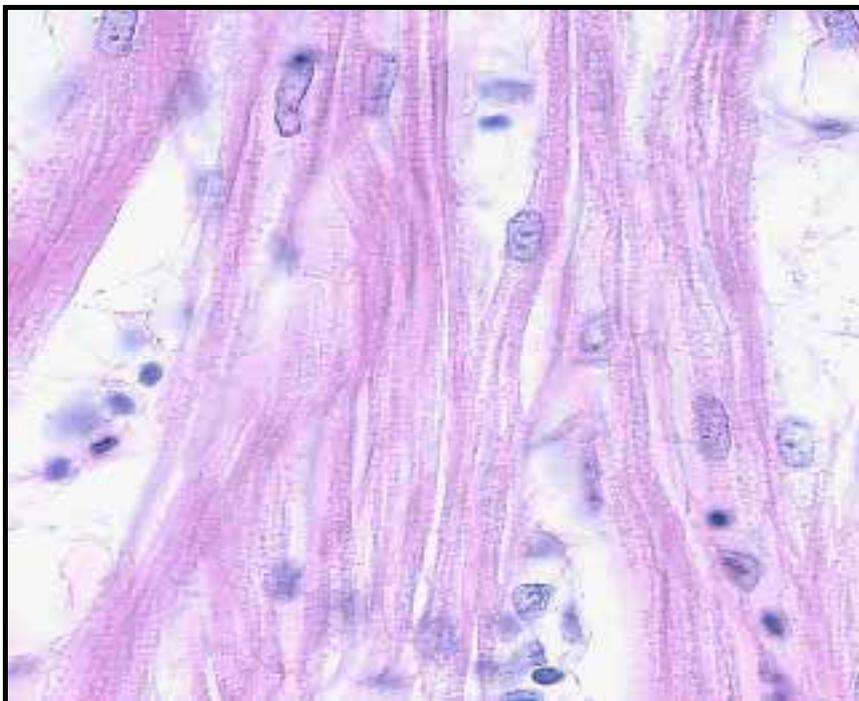


Abb. 3.9. (C):

Myokardgewebe eines adulten Huhnes mit deutlich sichtbarer Querstreifung der einzelnen Muskelfaseranteile. Am embryonalen Myokard (A) ist im Vergleich zum foetalen (B) und zum adulten Gewebe (C) eine geringere eosinophile Färbung der Myofibrillen zu erkennen.

Färbung: Hämatoxylin/Eosin, Originalvergrößerung 1000fach.

Den Herzen dieser Alterstufe fehlt eine höhere Azidophilie der subendokardial gelegenen Zellen. Das gesamte Myokard ist deutlich und gleichmäßig kräftig anfärbbar. Der Glykogengehalt variiert bei den unterschiedlichen Herzen stark und es ist kein einheitliches, sich wiederholendes Verteilungsmuster der Glykogen enthaltenden Zellen wie bei den Herzen in den Altersstufen D 9 und D 10 erkennbar. Im Alter von zwölf Bebrütungstagen sind innerhalb des Myokards kleine Arteriolen zu finden, die bei den jüngeren Herzen fehlen. Mit der weitergehenden Entwicklung des Herzen sind vermehrt Kapillaren bzw. einzelne Endothelzellen dieser zwischen den Herzmuskelzellen nachweisbar.

3.2.2.2. Vierzehn bis sechzehn Tage (D 14 bis D 16)

Das Herzmuskelgewebe der Herzen dieser mittleren Alterstufe lässt schon deutlicher als die Herzen von neun bis zwölf Tage lang bebrüteten Hühnerembryonen einen Wandaufbau des Myokard mit verschiedenen Faserverlaufsrichtungen erkennen.

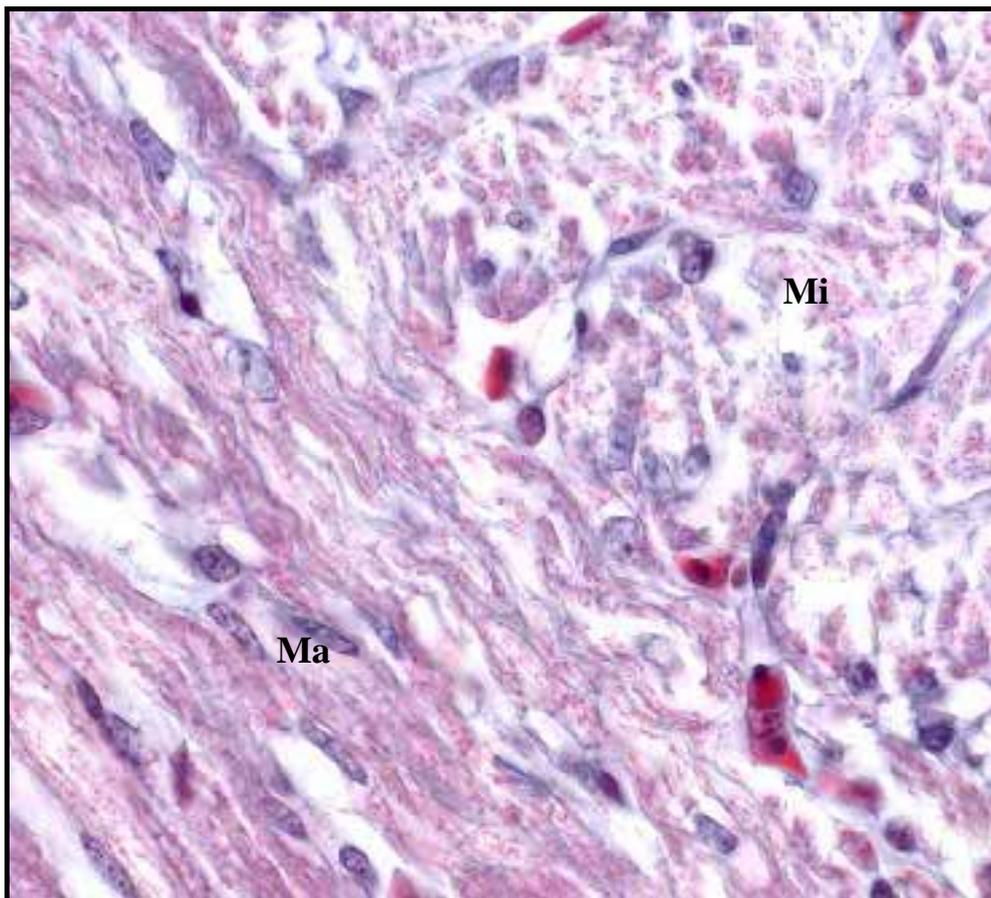


Abb. 3.10.:
Herzmuskelgewebe eines embryonalen Hühnerherzen nach sechzehn Bebrütungstagen. Im Myokard ist deutlich eine Ausrichtung der Zellen zu Muskelfaserbündeln in einer äußeren längs verlaufende (Ma) und einer inneren quer verlaufenden (Mi) Myokardschicht zu erkennen. Färbung: Trichrom; Originalvergrößerung: 1000fach.

Der Ordnungsgrad in der Ausrichtung der Kardiomyozyten nimmt zu. Der Großteil der Herzen weist in dieser Altersstufe (D 14 bis D 16) ein kompaktes Myokard mit deutlicher Aussparung der Ventrikellumina auf. Lediglich bei einigen Herzen ist noch eine geringgradige trabekuläre Struktur im rechten Ventrikelmyokard zu finden. Im Vergleich der einzelnen Herzen fallen größere Variationen in der Breite der Myokardwand auf. So zeigen einige der Herzen dieses Alters sowohl im rechten als auch im linken Ventrikel eine Verdickung der Myokardwand, die mit dem Verlust von Ventrikellumen einhergeht (s. Abb. 3.11. A). Die in der Altersgruppe D 12 beschriebene Verteilung von Glykogengranula in den Kardiomyozyten bleibt erhalten, generell variieren die Glykogengehalte auch in den Herzen der Altersstufe D 14 bis D16 stark. Anzahl und Größe der das Myokard versorgenden Arteriolen und Venolen nehmen zu. Diese Blutgefäße weisen an den einzelnen Herzen ein sich wiederholendes Verteilungsmuster auf. Sie sind in regelmäßigen Abständen in den epikardnahen Myokardanteilen zu finden und treten in der linken Ventrikelwand und im Septum interventriculare deutlicher in Erscheinung als im rechten Ventrikelmyokard.

A

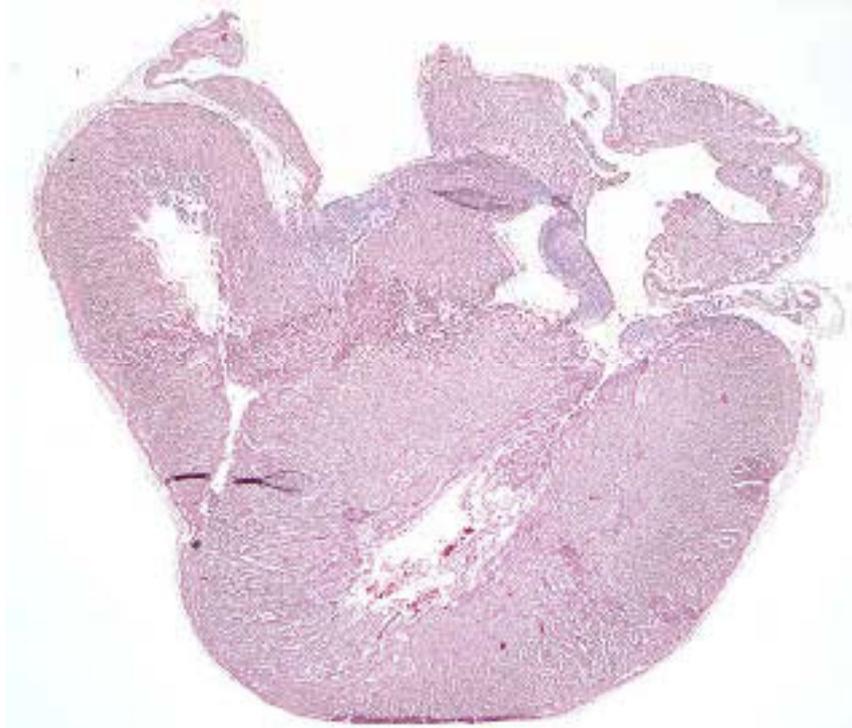


Abb. 3.11. (A):
Embryonales Herz (D 14) mit deutlicher Verdickung des Myokards beider Herzkammern und eingengtem Kammerlumen. Vergl. Abb 3.11. (B); Färbung: Trichrom; Originalvergrößerung: 25fach.

B

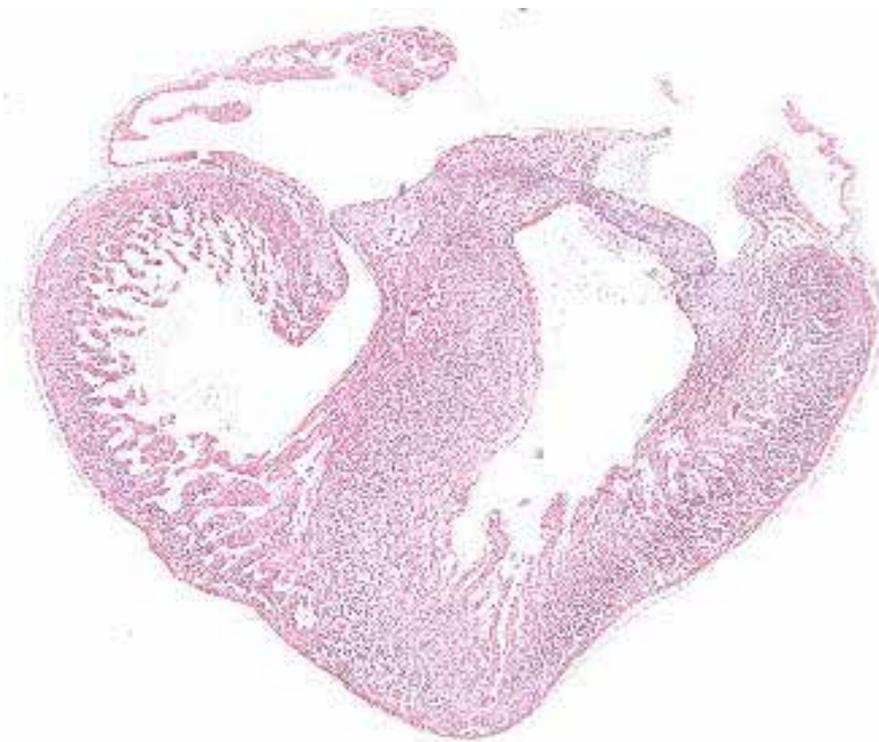


Abb. 3.11. (B):
Embryonales Herz (D12). Im Vergleich zur Abb. 3.11 (A) fällt ein dünneres Arbeitsmyokard sowie das beidseitig größere Kammerlumen auf.
Färbung: Trichrom; Originalvergrößerung: 25fach

3.2.2.3. Achtzehn bis zwanzig Tage (D 18 bis D 20)

Das Myokard der Herzen weist in dieser Alterstufe eine weitgehend ausgereifte Struktur auf. Das Muskelgewebe ist dicht gepackt, weder am linken noch am rechten Ventrikelmyokard lässt sich subendokardial noch eine trabekuläre Struktur finden. In den Standardfärbungen weist das Myokard aller Organe dieser Altersgruppe eine hohe Affinität zu den histologischen Farbstoffen auf. Die Myokardbreite des linken Ventrikels ist auch in dieser Altersstufe größer als die des rechten Ventrikels, wobei die Kompaktierung der Herzmuskelzellen diesen Unterschied weniger deutlich als bei den jüngeren Altersstufen in Erscheinung treten lässt. Zudem sind die Lumina des rechten und linken Ventrikels aufgrund der Myokarddicke und der Myokardstruktur unterschiedlich groß. Ab dem Alter von achtzehn Bebrütungstagen kann eine typische Querstreifung des Herzmuskelgewebes beobachtet werden (s. Abb. 3.9. B). Ein mehrschichtiger Wandaufbau des Myokards ist bei allen Herzen deutlich sichtbar und zeigt in gleicher Weise wie in dem der mittleren Entwicklungsstufe subepikardial und subendokardial längsverlaufende Muskelfasern, zwischen denen eine Schicht mit Muskelfasern im Querschnitt zu finden ist (Abb. 3.10.).

3.2.3. Auswirkung einer Reduktion des Sauerstoffgehaltes in der Bebrütungsluft der Embryonen auf die lichtmikroskopische Struktur der Herzen

Die lichtmikroskopische Betrachtung aller embryonalen Hühnerherzen ergibt keine sichtbaren strukturellen Veränderungen bei den unter Sauerstoffreduktion bebrüteten Organen. Zwar weist das Myokard der Herzen deutliche Veränderungen in seiner Struktur auf, diese sind jedoch ausschließlich altersabhängig und geben keinen Hinweis auf eine Korrelation zur Reduktion des Sauerstoffgehaltes in der Bebrütungsluft. Merkmale, die als Folge einer Sauerstoffunterversorgung im Herzgewebe zu werten gewesen wären, wie z. B. die drastische Verdickung des Myokards bei einigen Herzen oder die unterschiedliche Azidophilie verschiedener Myokardanteile, treten bei Herzen von Embryonen der Versuchsgruppe und bei denen aus der Kontrollgruppe gleichermaßen auf.

3.3. Immunhistochemische Untersuchung der embryonalen Hühnerherzen in den unterschiedlichen Altersgruppen

3.3.1. Anti smooth-muscle Myosin

3.3.1.1. Neun bis zwölf Tage (D 9 bis D 12)

Die Herzen dieser Altersgruppe reagieren unterschiedlich intensiv und relativ einheitlich mit dem gewählten Antikörper. So kann jeweils das gesamte Myokard der Herzen in unterschiedlicher Stärke markiert werden (s. Abb.3.12.). Die Tabelle 3.1. fasst die Reaktionen der einzelnen Anteile des Herzen mit dem Antikörper zusammen.

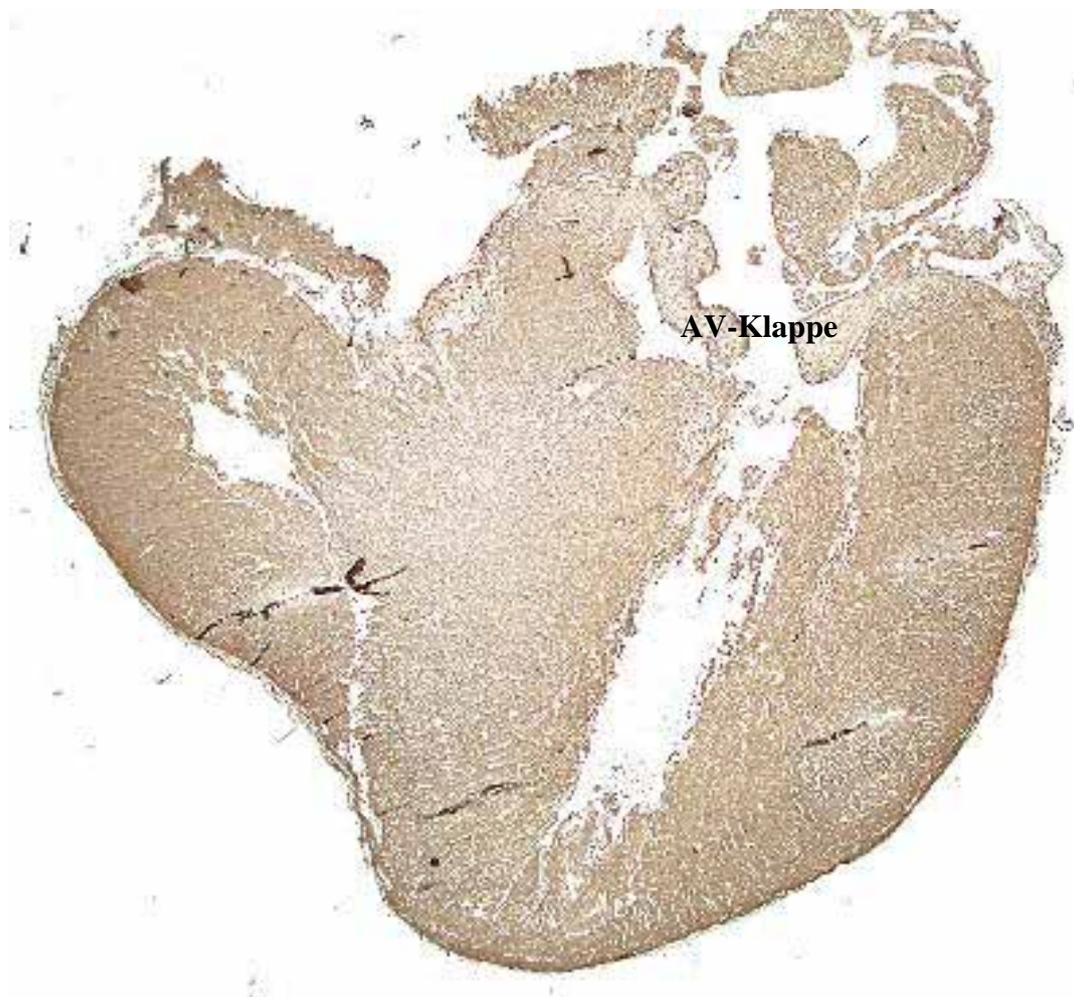


Abb. 3.12.:

Übersicht über ein embryonales Hühnerherz nach vierzehn Bebrütungstagen. Das gesamte Myokard ist mit dem Anti smooth-muscle Myosin spezifisch markiert, während die AV-Klappen keine Affinität zu dem Antikörper aufweisen (s. auch Abb. 3.13.) Originalvergrößerung: 50fach.

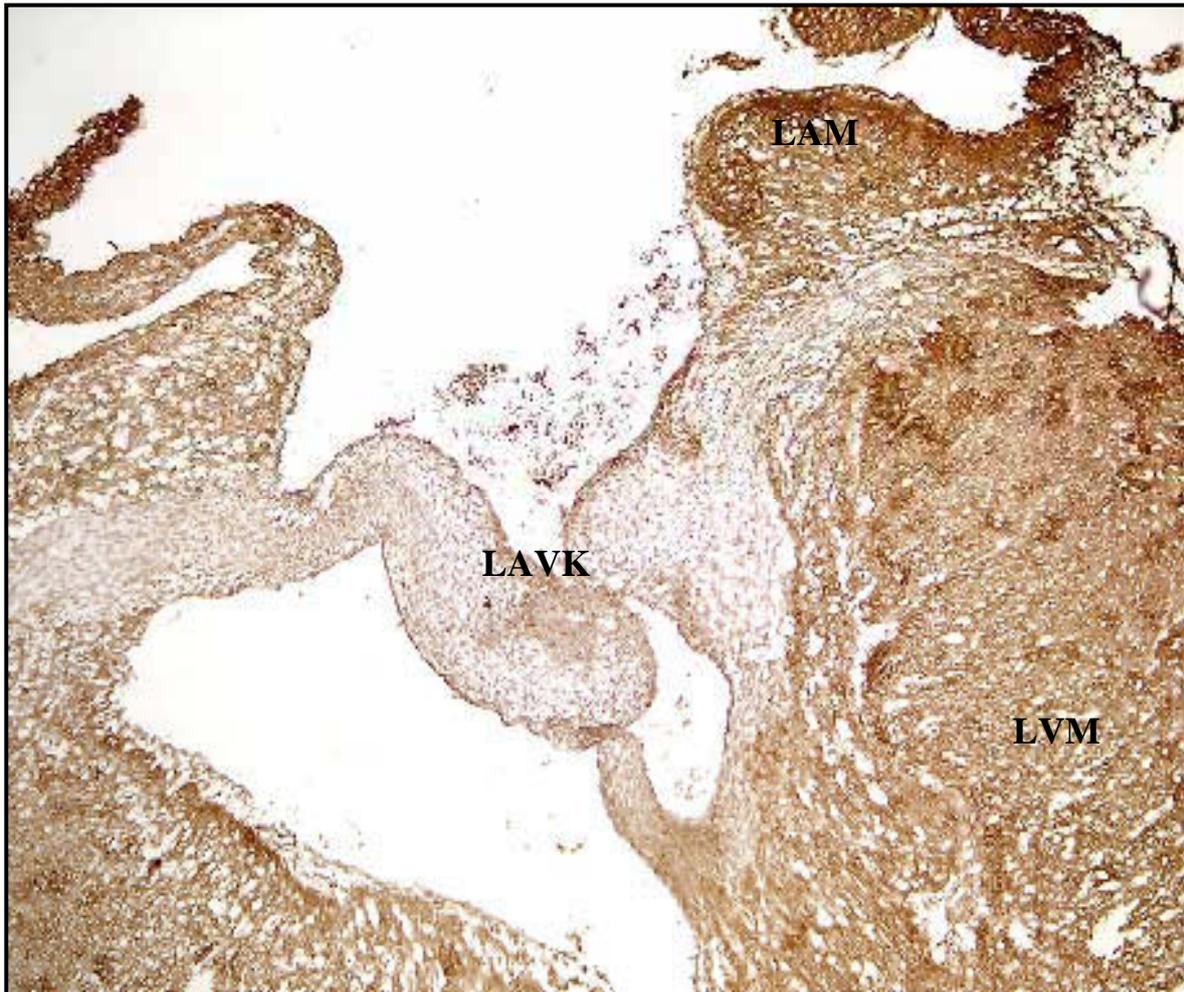


Abb. 3.13.:
Linke Atrioventrikularklappe (LAVK) eines Herzens von einem zwölf Tage lang bebrüteten Hühnerembryo. Das Klappengewebe kann im Vergleich zum Herzmuskelgewebe des Ventrikels (LVM) und insbesondere zu dem des Atriums (LAM) nicht mit dem Anti smooth-muscle Myosin markiert werden. Originalvergrößerung: 200fach.

Besonders die glatte Muskulatur der z. T. angeschnittenen großen arteriellen Gefäßstämme von Truncus pulmonalis und Aorta reagiert mit dem Antikörper (s. Abb. 3.14.). Bei einigen Herzen zeigt auch das Epikard eine spezifische Reaktion. Bei den Herzen, an denen das Myokard mit dem Antikörper markiert werden kann, zeigen die Atrioventrikularklappen keine Reaktion (s. Abb. 3.13.), so dass eine verfälschende (falsch positive) Hintergrundfärbung ausgeschlossen werden kann. Zudem ist die Negativkontrolle bei allen Herzen negativ und die Positivkontrolle am Katzendarm zeigt eine deutlich spezifische Reaktion in der Lamina muscularis mucosae sowie in der Tunica muscularis.

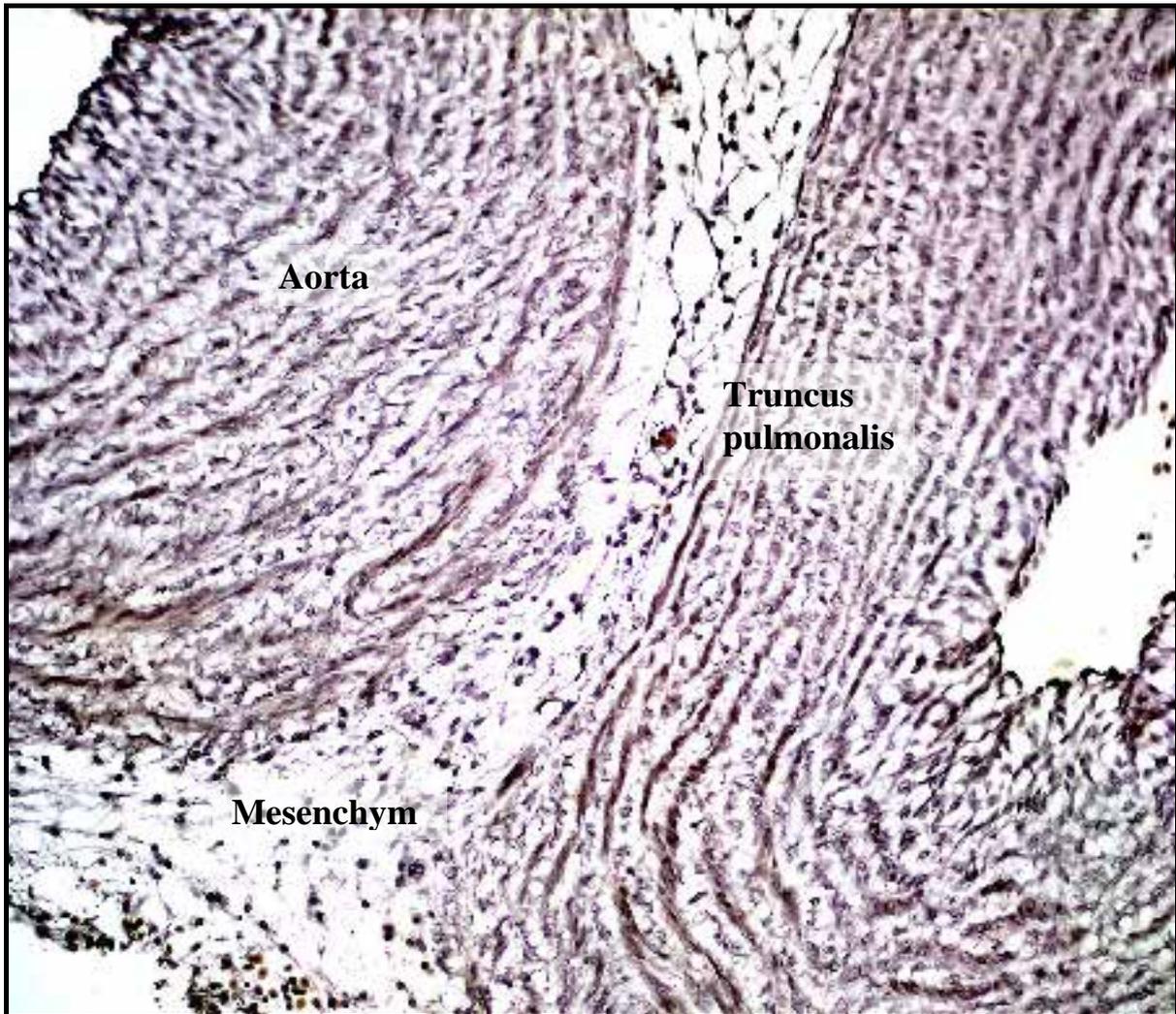


Abb. 3.14.:

Glattes Muskelgewebe der großen Gefäße (Aorta und Truncus pulmonalis) am vierzehnten Tag der Bebrütung im histologischen Querschnitt; die Tunica media der arteriellen Gefäße ist mit dem Antikörper gegen das smooth-muscle Myosin markiert. Originalvergrößerung: 200fach.

3.3.1.2. Vierzehn bis sechzehn Tage (D 14 bis D 16)

Das Myokard reagiert mit dem Antikörper in gleicher Weise wie in der jüngeren Altersgruppe. Bei einem Teil der Herzen treten jedoch deutliche Unterschiede in der Markierung des Vorkammermyokards gegenüber dem des Ventrikelmyokards auf (s. Abb. 3.16.). Das Myokard der Atrien zeigt eine stärkere Reaktion mit dem Antikörper. Die Muskulatur der großen Gefäßstämme reagiert auch in dieser Altersgruppe deutlich, wohingegen diejenige der ab diesem Alter in Erscheinung tretenden Arteriolen im Myokard keine Affinität zu dem Antikörper zeigt. Die negativen und positiven Kontrollen verhalten sich wie oben beschrieben.

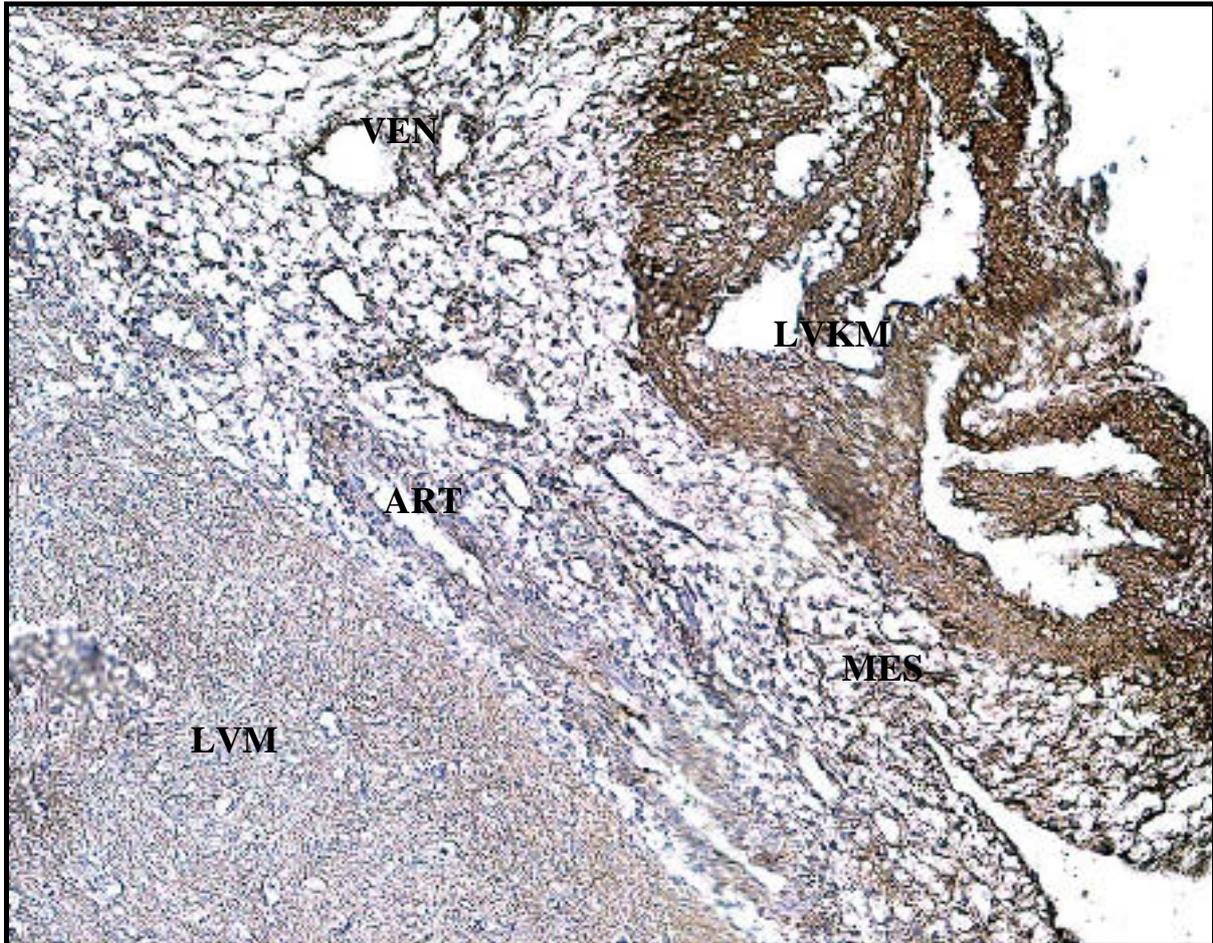


Abb. 3.15.:

Querschnitt durch das Herzmuskelgewebe des linken Herzens eines sechzehn Tage lang bebrüteten Hühnerembryos am Übergang zwischen linkem Ventrikelmyokard (LVM) und linkem Vorkammermyokard (LVKM). Das Vorkammermyokard ist wesentlich deutlicher mit dem Antikörper gegen das smooth-muscle Myosin markiert als das Muskelgewebe des Ventrikels. Im dazwischen liegenden Mesenchym (MES) sind Venolen (VEN) markiert, die Tunica media der Arteriolen (ART) hingegen nicht. Originalvergrößerung: 200fach.

3.3.1.3. Achtzehn bis zwanzig Tage (D 18 bis D 20)

Auch im Myokard dieser Altersgruppe besteht grundsätzlich eine unterschiedlich starke Reaktion mit dem verwendeten Antikörper. Eine deutlich intensivere Reaktion der Atrien ist im Vergleich zum Myokard der Ventrikel z. T. auch bei den achtzehn und zwanzig Tage alten Herzen zu erkennen. Eine Affinität der Arteriolen im Myokard sowie der Atrioventrikularklappen für diesen Antikörper ist nicht vorhanden. Die durchgeführten Kontrollen reagierten in der erwarteten Weise.

Tab. 3.1.1.4. Tabellarische Übersicht über die Affinität des Anti smooth-muscle Myosin mit den verschiedenen Zellen resp. Geweben der Herzwand in den verschiedenen Altersgruppen

Altersgruppe	D 10-12	D 14-16	D 18-20
Zellart resp. Gewebe			
Kardiomyozyten im Ventrikel bzw. Atrium	XX(X)/XXX (starke Variation)	XX/XXX (starke Variation)	XX/XXX (starke Variation)
Glatte Muskelzellen (Tunica media) der Arteriolen	---	---	---
Glatte Muskulatur (Tunica media) der großen Gefäßstämme	XXX	XXX	XXX
Endothelzellen der Arteriolen, Venolen und großen Gefäße	---/XX/---	---/XX/---	(X)/XX/---
Fibrozyten und Fibroblasten	---/---	---/---	---/---
Erythrozyten	XXX	XXX	XXX
Mesenchymale Bindegewebszellen	---	---	---
Endokard	XX	XX	XX
Epikard	XX	X	
Herzklappengerüst (Kollagenfasern)	---	---	---

Erläuterung zu der Tabelle (Einteilung des Scores):

X = schwache Reaktion (blass braune Färbung durch das Chromogen Diaminobenzidin), XX = starke Reaktion (braune Färbung), XXX = sehr starke Reaktion (dunkelbraune Färbung); die Kreuze in Klammern sind jeweils als halbe Punkte im jeweiligen Score zu verstehen. Die Anmerkung „starke Variation“ bezieht sich auf Variationen des Ergebnisses zwischen den verschiedenen Herzen einer Altersstufe, wobei jeweils das repräsentative Ergebnis in die Tabelle aufgenommen wurde.

3.3.2. Anti smooth-muscle Actin

3.3.2.1. Neun bis zwölf Tage (D 9 bis D 12)

Der Antikörper gegen das dünne filamentäre Strukturprotein Actin im Muskelgewebe zeigt keine Affinität zu den Herzen von neun und zehn Tage alten Hühnerembryonen. Bei einigen wenigen Präparaten werden Zellen im subepikardialen Mesenchym markiert. Das Myokard der Ventrikel weist keine spezifische Reaktion auf. Auch die Negativkontrolle bestätigt eine fehlende Affinität des Herzmuskelgewebes.

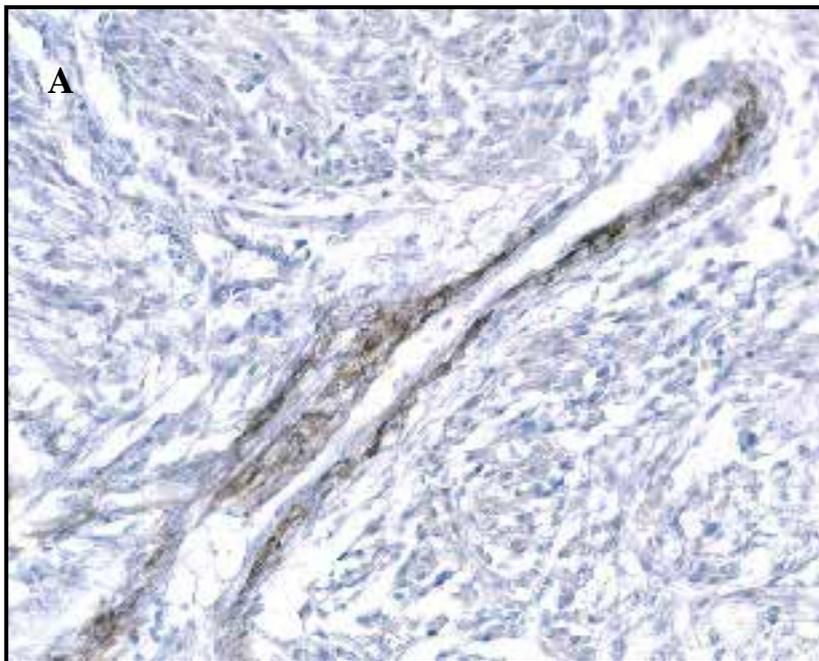
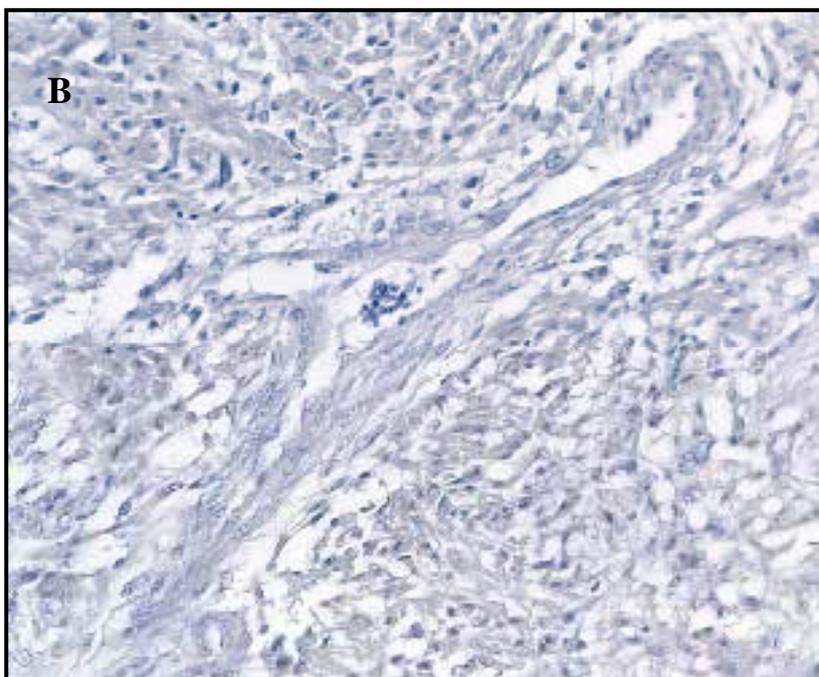


Abb. 3.16.:

Spezifische Reaktion der Tunica media einer Arteriole im Myokard des Septum interventriculare mit dem Anti-Actin (Abb. A). Abb. B zeigt den korrespondierenden Bildausschnitt in der Negativkontrolle. Originalvergrößerung: 200fach.



Bei den zwölf Tage alten Herzen reagieren kleine Arteriolen im Myokard spezifisch mit dem Antikörper. Diese Gefäße setzen sich deutlich gegen das Myokard ab (s. Abb. 3.16. A und B). Zudem ist die Positivkontrolle, die Tunica muscularis und die Lamina muscularis mucosae im Darm der Katze, eindeutig positiv.

3.3.2.2. Vierzehn bis sechzehn Tage (D 14 bis D 16)

Im Zuge der stärker in Erscheinung tretenden Arteriolen, die der Versorgung des Myokard dienen, lassen sich in der mittleren Altersstufe immer mehr Arteriolen mit dem Antikörper markieren, wobei die Reaktion sich deutlich auf die glatten Muskelzellen in der Wand der Gefäße beschränkt, da eine Reaktion an benachbarten Venolen fehlt. Auch in den großen Gefäßstämmen von Aorta und Truncus pulmonalis lassen sich spezifische Reaktionen, vor allem in der Wand nachweisen.

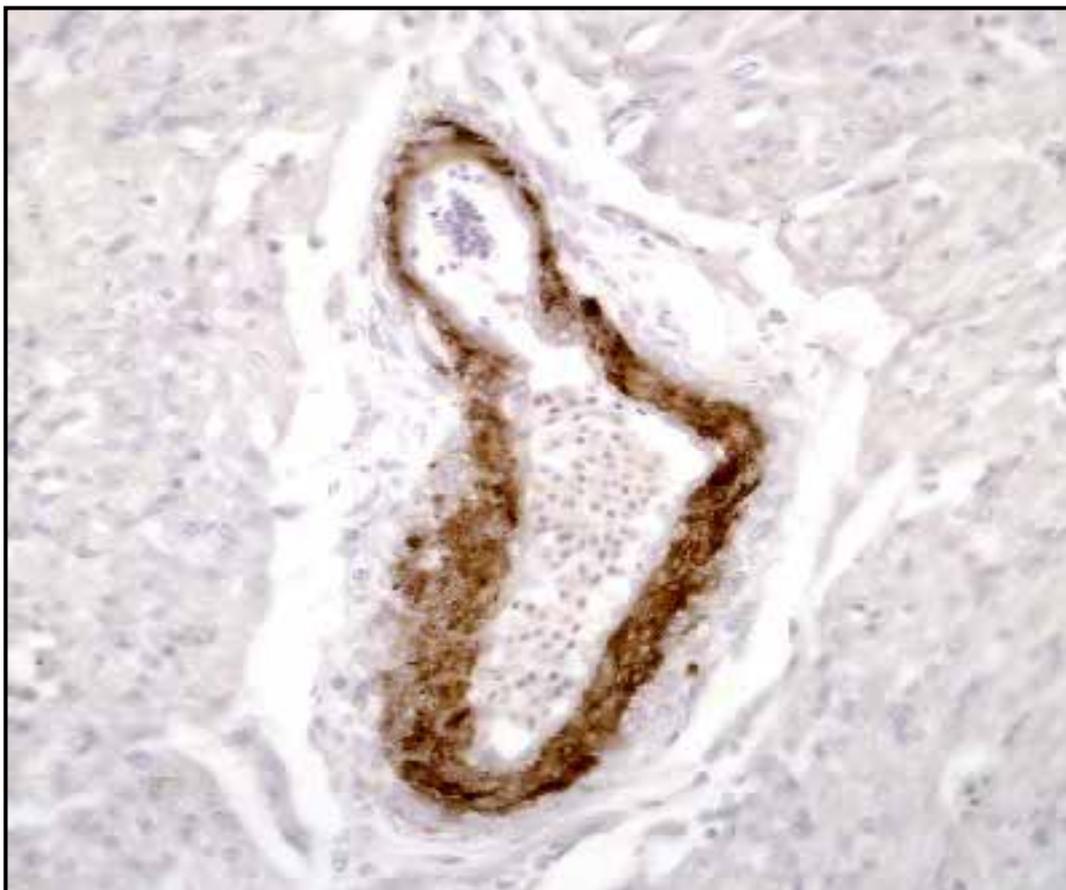


Abb. 3.17.:
Spezifische Reaktion mit dem Anti-Actin in der Tunica media einer Arteriole im linken Ventrikelmuskulatur.
Originalvergrößerung: 400fach.

3.3.2.3. Achtzehn bis zwanzig Tage (D 18 bis D 20)

Auch kurz vor dem Schlupf lassen sich in allen Herzen dieser Altersgruppe die Arteriolen in den Ventrikelwänden der Herzen deutlich markieren. Andererseits bleibt auch an diesem „reiferen“ Stadium des Herzmuskelgewebes eine Reaktion der Actinfilamente der Kardiomyozyten im Herzmuskelgewebe aus.

Tab. 3.3.2.4. Tabellarische Übersicht über die Affinität des Anti smooth-muscle Actin mit den verschiedenen Zellen resp. Geweben der Herzwand in den verschiedenen Altersgruppen

Altersgruppe	D 10-12	D 14-16	D 18-20
Zellart			
Kardiomyozyten im Ventrikel bzw. Atrium	---/---	---/---	---/---
Glatte Muskelzellen (Tunica media) der Arteriolen	(X)	XXX	XXX
Glatte Muskulatur der großen Gefäßstämme	---	XX	XX
Endothelzellen Arteriolen/Venolen/große Gefäße	---/---/---	---/---/---	(X)/(X)/---
Fibrozyten/Fibroblasten	(X)/(X)	(X)/X	(X)/X
Erythrozyten	---	---	---
Mesenchymale Bindegewebszellen	X	X	X
Endokard	---	---	---
Epikard	---	---	---
Herzklappengerüst (Kollagenfasern)	---	---	---

Erläuterung zu der Tabelle (Einteilung des Scores):

X = schwache Reaktion, XX = starke Reaktion, XXX = sehr starke Reaktion, Kreuze in Klammern sind jeweils als halbe Punkte im jeweiligen Score zu verstehen. Die Anmerkung „starke Variation“ bezieht sich auf Variationen des Ergebnisses zwischen den verschiedenen Herzen einer Altersstufe, wobei jeweils das repräsentativste Ergebnis in die Tabelle aufgenommen wurde.

3.3.3. Anti-Desmin

3.3.3.1. Neun bis zwölf Tage (D 9 bis D 12)

Aufgrund starker altersabhängiger Unterschiede in der Reaktion dieses Antikörpers ist eine weitergehende Unterteilung der Altersgruppen in verschiedenen Altersstufen notwendig. So ist bei den neun Tage alten Herzen keine spezifische Reaktion des Antikörpers zu finden. Ab dem Alter von zehn Tagen zeigen verschiedene Anteile des Myokards eine positive Reaktion. Bei einigen Herzen lässt sich eine stärkere Reaktion der lumennahen, also subendokardial gelegenen Myokardanteile nachweisen (s. Abb. 3.18.).

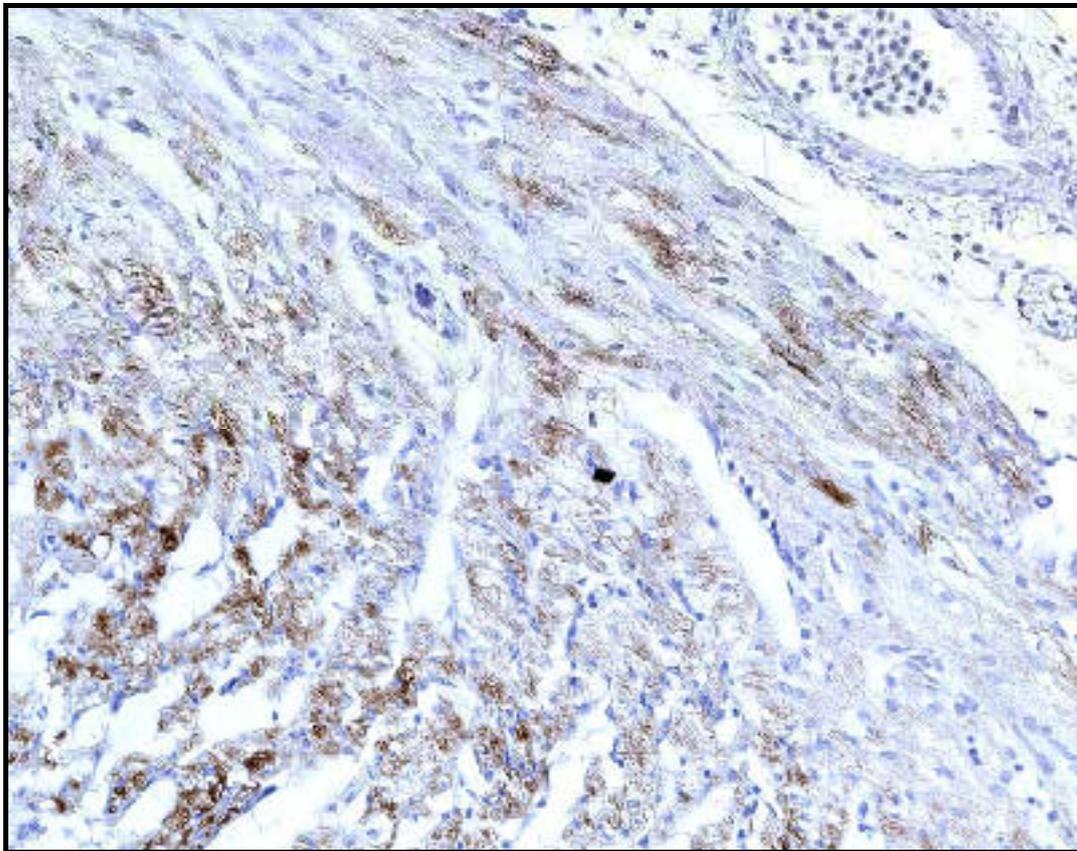


Abb. 3.18.:

Anteile des linken Ventrikelmyokards eines zwölf Tage bebrüteten embryonalen Hühnerherzens, die mit dem Anti-Desmin markiert sind. In dem sich nach außen anschließenden subepikardialen Mesenchym ist eine Arteriole mit enthaltenen Erythrozyten sichtbar, deren Wand keinerlei Affinität zum Anti-Desmin aufweist. Originalvergrößerung: 400fach.

Bei allen Herzen setzen sich die nicht markierten Atrioventrikularklappen gegen das spezifisch reagierende Myokard ab (s. Abb. 3.19. und 3.22. A und B.). Andererseits sind starke Variationen im Grad der Affinität des Myokards bei den verschiedenen Herzen

auffallend. Bei den meisten Herzen ist die Reaktion am linken Ventrikel deutlicher als am rechten (s. Abb. 3.19.).

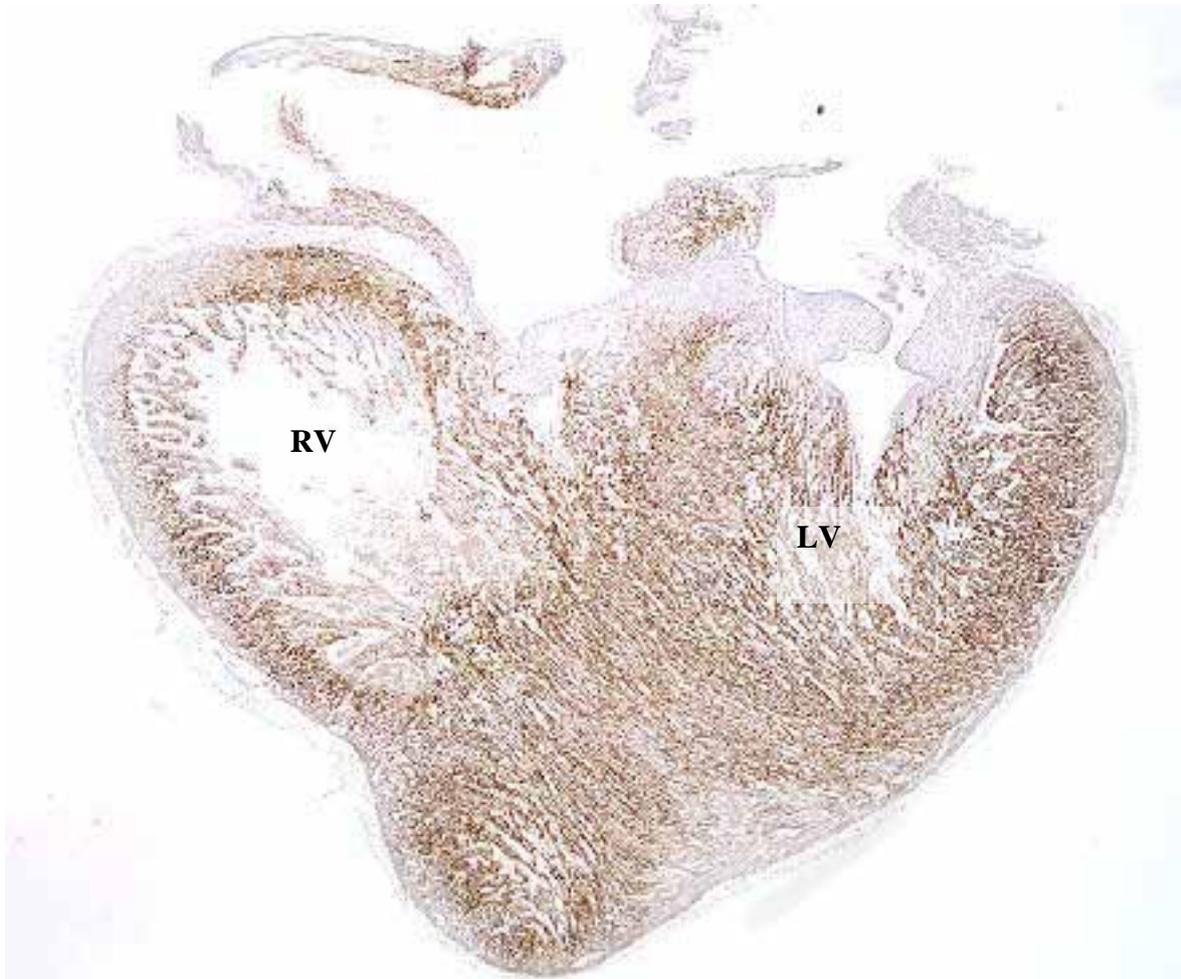


Abb. 3.19.:

Embryonales Hühnerherz am zwölften Bebrütungstag, markiert mit einem Antikörper gegen Desmin. Der linke Ventrikel (LV) hat eine stärkere Affinität als der rechte (RV). Originalvergrößerung: 50fach.

Bei allen mit diesem Antikörper untersuchten Herzen war die Negativkontrolle eindeutig negativ. Die Positivkontrollen wurden am Dünndarm der Katze durchgeführt. In diesem Organabschnitt reagierten die muskulären Anteile des Darmes, Tunica muscularis, Lamina muscularis mucosae (s. Abb. 3.23.).

3.3.3.2. Vierzehn bis sechzehn Tage (D 14 bis D 16)

Wie bei den jüngeren Herzen, so ist auch in der mittleren Altersgruppe eine unterschiedliche starke, aber spezifische Affinität des Ventrikelmyokards zum Anti-Desmin, vor allem im linken Ventrikel, nachzuweisen (s. Abb. 3.20. und 3.21.). Die Arteriolen im Herzmuskelgewebe und die Atrioventrikularklappen zeigen keine spezifische Reaktion und

setzen sich somit klar gegen das Myokard ab (s. Abb. 3.20., 3.21., 3.22.). Bei allen Herzen beschränkt sich die Reaktion des Myokards auf jenes der Ventrikel. Das Muskelgewebe der Atrien kann nicht markiert werden.

Abb. 3.20.:

Arteriolo im linken Ventrikelmyokard eines mit dem Anti-Desmin markierten embryonalen Herzen am vierzehnten Bebrütungstag. Die glatte Muskulatur der Arteriolo zeigt im Gegensatz zum Myokard keine spezifische Reaktion mit dem Antikörper. Originalvergrößerung: 1000fach.

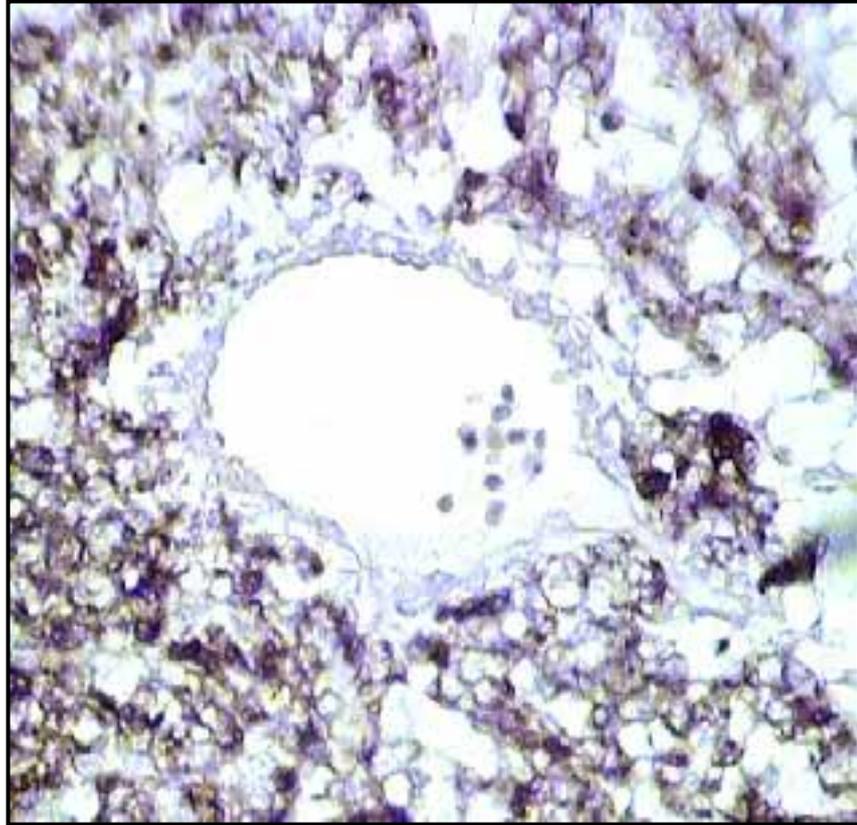
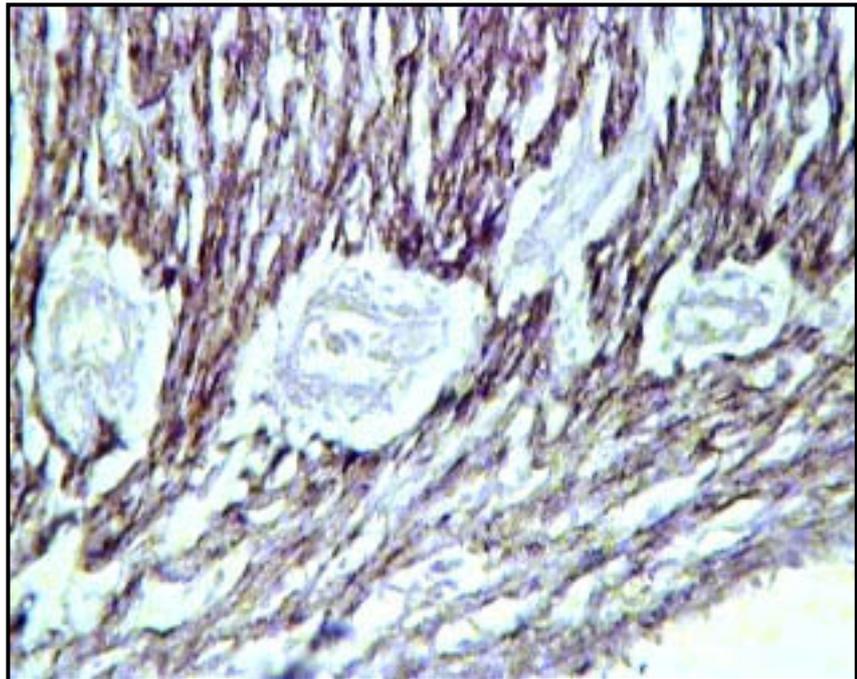


Abb. 3.21.:

Vier Arteriolen im Myokard eines sechzehn Tage lang bebrüteten Herzen. Gegenüber dem mit dem Anti-Desmin markierten Myokard zeigt die Muskulatur der Arteriolen wie auch in Abb. 3.22. keine spezifische Reaktion mit dem Antikörper. Vergrößerung: 1000fach.



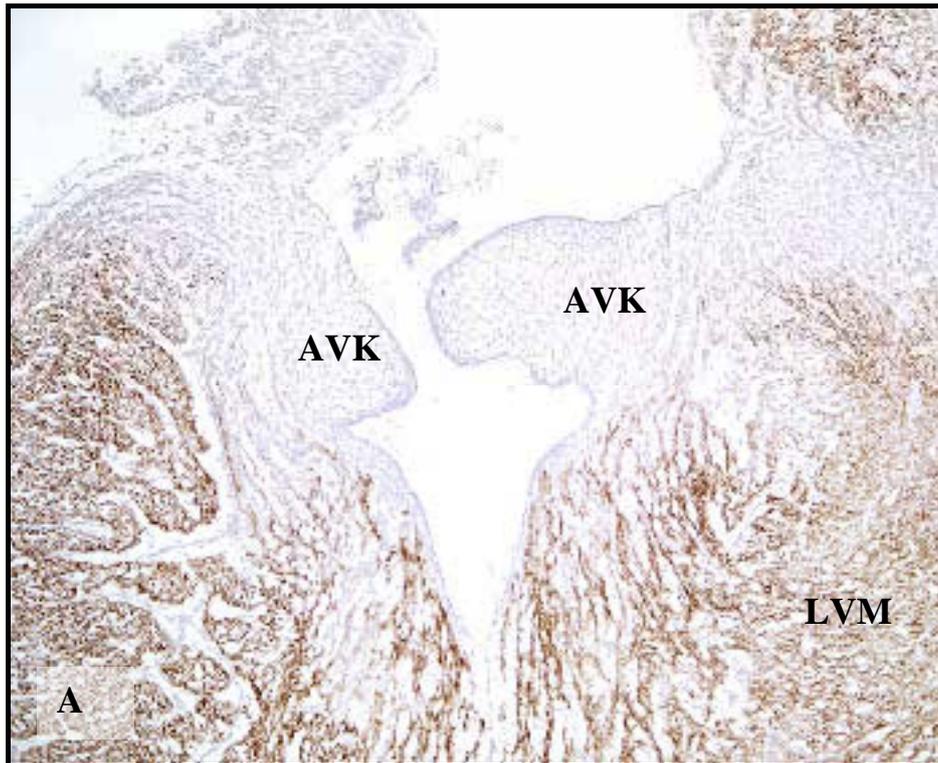


Abb. 3.22. A:

Spezifische Reaktion des linken Ventrikelmyokards eines sechzehn Tage bebrüteten embryonalen Herzen mit dem Anti-Desmin (A). Die linke Atrioventrikularklappe (AVK) setzt sich deutlich gegen das markierte Myokard (LVM) ab. Originalvergrößerung: 100fach.

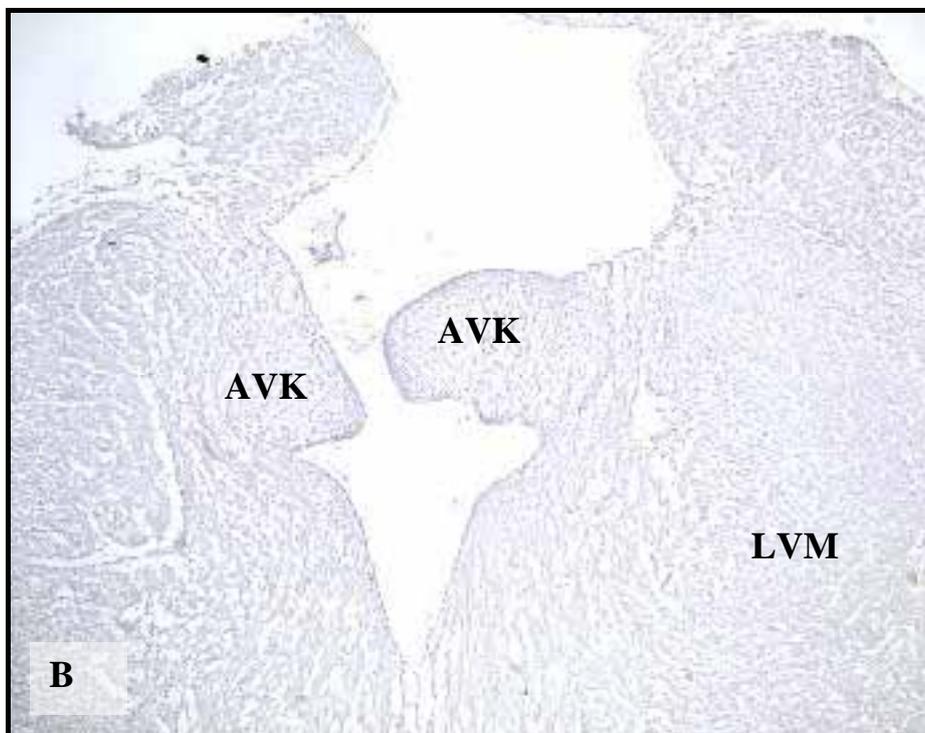


Abb. 3.22. B:

Negativkontrolle zu der immunhistochemischen Reaktion in Abb. 3.22. A

3.3.3.3. Achtzehn bis zwanzig Tage (D 18 bis D 20)

Bei den achtzehn und zwanzig Tage bebrüteten embryonalen Herzen kann keine spezifische Reaktion des Antikörpers mit dem Herzmuskelgewebe festgestellt werden. Die Positivkontrolle am Dünndarm der Katze zeigt dagegen eine deutlich spezifische Reaktion (s. Abb. 3.23.).

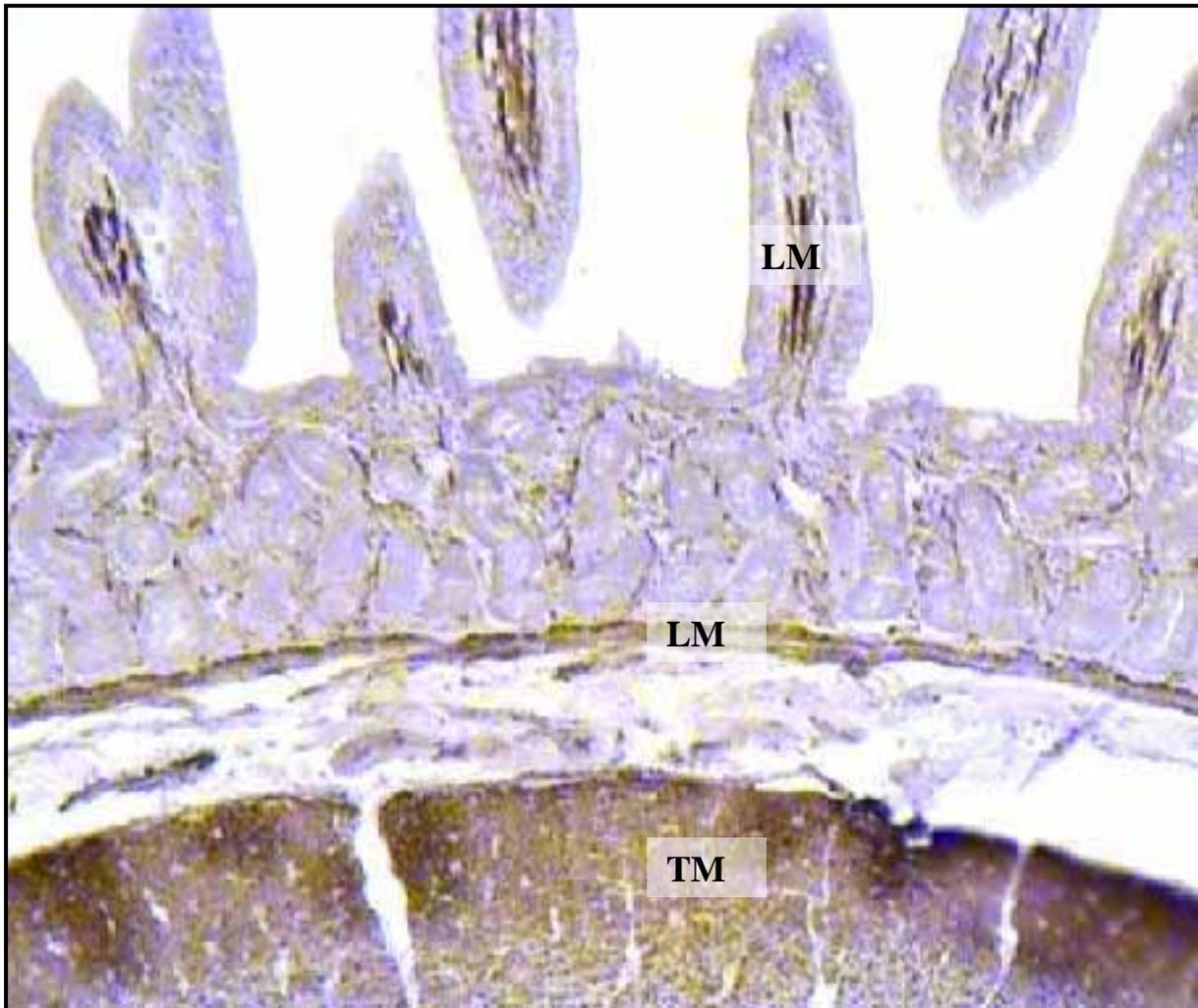


Abb. 3.23.:

Positivkontrolle an der glatten Muskulatur im Dünndarm der Katze mit deutlich spezifischer Reaktion der muskulären Anteile des Darmes, Tunica muscularis (TM) (mit Stratum circulare und Stratum longitudinale) und der Lamina muscularis mucosae (LM), die auch im Stroma der Darmzotten noch zu finden ist. Originalvergrößerung: 100fach.

Tab. 3.3.3.4. Tabellarische Übersicht über die Affinität des Anti-Desmin mit den verschiedenen Zellen resp. Geweben der Herzwand in den verschiedenen Altersgruppen

Altersgruppe	D 10-12	D 14-16	D 18-20
Zellart			
Kardiomyozyten Ventrikel / Atrium	XX/--- (altersabhängige Variationen)	XXX/(X) (altersabhängige Variationen)	XXX/(X) (altersabhängige Variationen)
Glatte Muskelzellen (Tunica media) der Arteriolen	---	---	---
Glatte Muskulatur der großen Gefäßstämme	---	---	---
Endothelzellen der Arteriolen/Venolen/ große Gefäße	---/---/---	---/---/---	---/---/---
Fibrozyten/Fibroblasten	---/---	---/---	---/---
Erythrozyten	(X)	(X)	(X)
Mesenchymale Bindegewebszellen	---	---	---
Endokard	---	---	---
Epikard	---	---	---
Herzklappengerüst (Kollagenfasern)	---	---	---

Erläuterung zu der Tabelle (Einteilung des Scores):

X = schwache Reaktion, XX = starke Reaktion, XXX = sehr starke Reaktion, Kreuze in Klammern sind jeweils als halbe Punkte im jeweiligen Score zu verstehen. Die Anmerkung „starke Variation“ bezieht sich auf Variationen des Ergebnisses zwischen den verschiedenen Herzen einer Altersstufe, wobei jeweils das repräsentative Ergebnis in die Tabelle aufgenommen wurde.

3.3.4. Anti-Vimentin

Dieser Antikörper sowie der nachfolgend beschriebene Antikörper gegen N-Cadherin wurden nur exemplarisch bei einzelnen Herzen der unterschiedlichen Altersstufen angewendet, so dass auf eine Unterteilung in die Altersgruppen bei der Beschreibung der Ergebnisse

verzichtet wird. Darüber hinaus ist auch die tabellarische Darstellung der Ergebnisse aufgrund des geringen Probenumfangs mit diesen Antikörpern nicht repräsentativ.

Bei den untersuchten Herzen ist eine unspezifische Reaktion am Myokard feststellbar, wobei bei den Organen, an denen ein positives Ergebnis zu finden ist, sich deutlich die Zwischenzellräume am Myokard markieren lassen. Bei den mit diesem Antikörper untersuchten Herzen, die noch über Anteile von Aorta und Truncus pulmonalis verfügen, zeigt sich eine eindeutig spezifische Reaktion in der Wand dieser Gefäße (s. Abb. 3.25.).

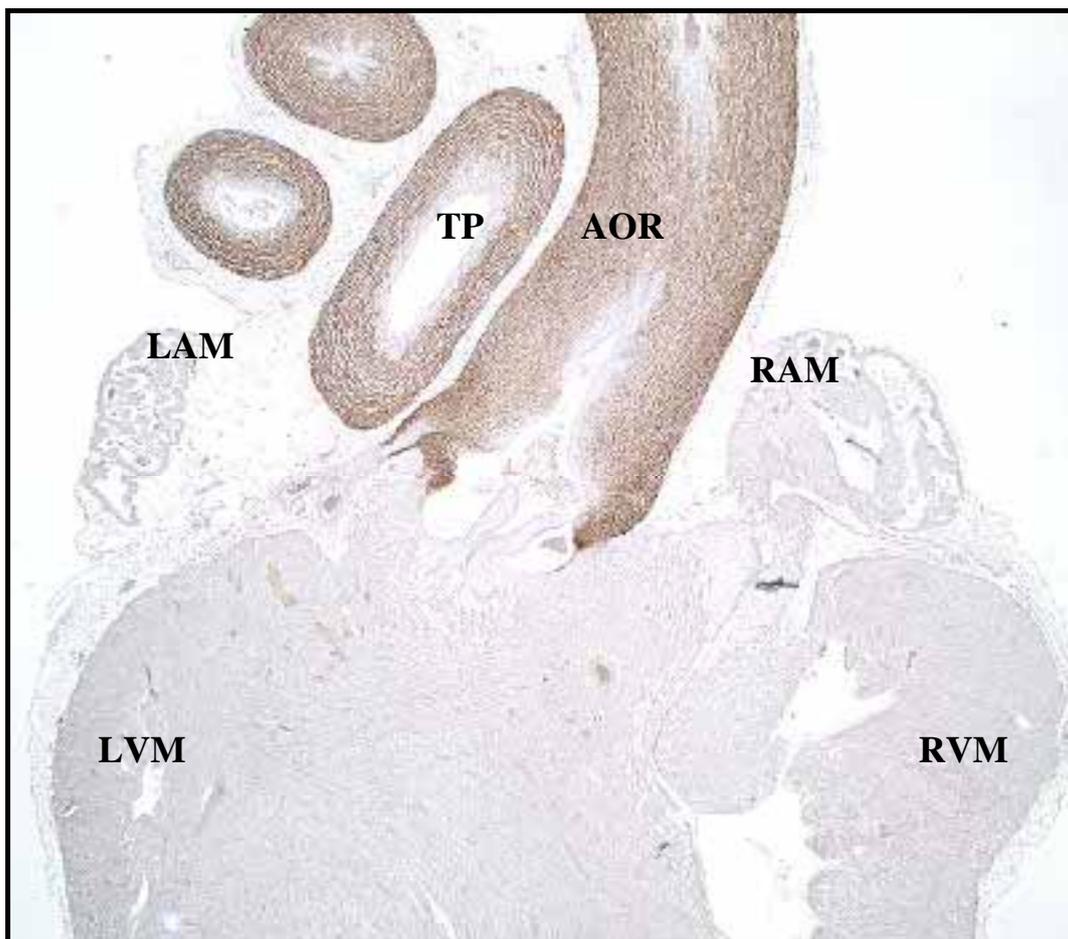


Abb. 3.24.:

Spezifische Reaktion der Gefäßwände der großen Gefäßstämme [Aorta (AOR) und Truncus pulmonalis (TP)] mit dem Antikörper gegen Vimentin. Das Myokard der Ventrikel (LVM und RVM) und das der Atrien (LAM und RAM) zeigt keine Reaktion.

Originalvergrößerung: 50fach.

3.3.5. Anti-N-Cadherin

Entgegen den Literaturangaben und trotz genauer Befolgung der Vorgaben des Herstellers für die Vorbehandlung der Präparate für die immunhistochemischen Untersuchungen, kann mit

diesem Antikörper bei den untersuchten Herzen keine spezifische Reaktion nachgewiesen werden.

3.3.6. Korrelation der Sauerstoffreduktion in der Bebrütungsluft mit den Ergebnissen der immunhistochemischen Untersuchungen der Herzen

Durch die Untersuchung der Herzen mit den oben beschriebenen Antikörpern kann keine Korrelation zwischen der Reaktion der Herzgewebe auf die verschiedenen Antikörper und der Sauerstoffversorgung des Hühnerembryos festgestellt werden. Spezifische Reaktionen unterscheiden sich z. T. bei den Herzen innerhalb einer einzelnen Altersgruppe, traten jedoch bei den Herzen einer Altersstufe sowohl in der Versuchsgruppe als auch bei denen der Kontrollgruppe gleichermaßen auf und sind somit nicht mit der Herabsetzung des Sauerstoffpartialdruckes in der Bebrütungsluft in Beziehung zu bringen.

3.4. Lektin histochemische Untersuchungen der embryonalen Hühnerherzen in den unterschiedlichen Altersgruppen

3.4.1. Peanut-Agglutinin

3.4.1.1. Neun bis zwölf Tage (D 9 bis D 12)

Sowohl das Myokard und das Endokard der Herzen als auch das Endothel der großen Gefäßstämme kann mit diesem Lektin markiert werden. Zwischen den einzelnen Herzen bestehen Variationen im Grad der Stärke der Reaktion. Die Atrioventrikularklappen und das subepikardiale Mesenchym zeigen keine Affinität zu diesem Lektin.

3.4.1.2. Vierzehn bis sechzehn Tage (D 14 bis D 16)

Auch in der mittleren Altersgruppe lassen sich das Myokard der Ventrikel, und das Endothel der großen Gefäßstämme mit dem Peanut-Agglutinin markieren, wobei auch hier Unterschiede im Grad der Reaktionsintensität bei den verschiedenen Herzen feststellbar sind. Die meisten Herzen zeigen im Bereich der Atrioventrikularklappen und der Arteriolen im Myokard keine Reaktion (s. Abb. 3.25.).



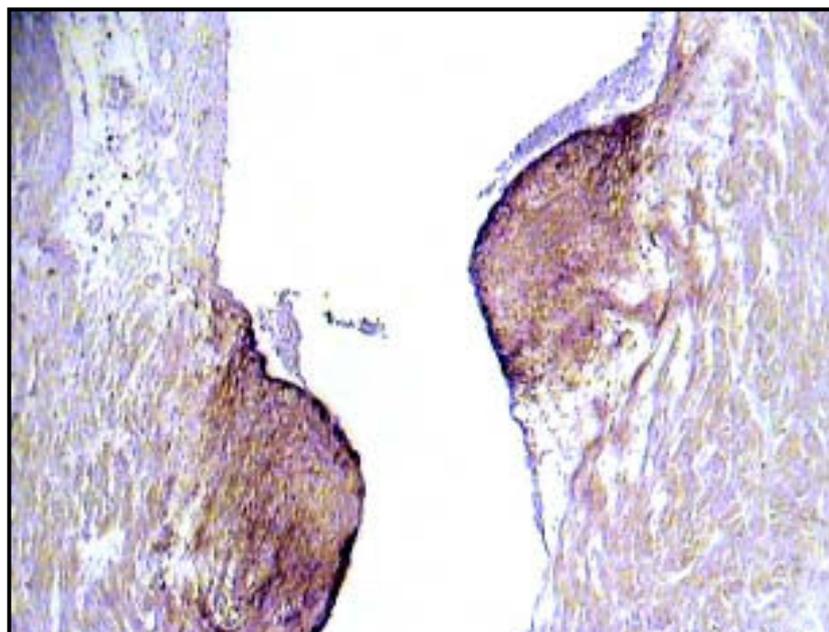
Abb. 3.25.:

Mit dem Peanut-Agglutinin markiertes Herzmuskelgewebe eines sechzehn Tage lang bebrüteten embryonalen Herzen. Die Arteriole (ART) zeigt keine spezifische Reaktion mit dem Lektin. Originalvergrößerung: 400fach.

Ab dem Alter von vierzehn Tagen ist an fünf verschiedenen Herzen jedoch eine starke spezifische Reaktion an der rechten Atrioventrikularklappe nachweisbar (s. Abb.3.26.).

Abb. 3.26.:

Deutlich spezifische Reaktion der beiden Anteile der rechten Atrioventrikularklappe (AVK) auf das Peanut-Agglutinin bei einem embryonalen Herzen nach vierzehn Tagen Bebrütung. Originalvergrößerung: 200fach.



Dieses Ergebnis ist für das einzelne Herz reproduzierbar, bleibt jedoch auf insgesamt fünf der Herzen beschränkt, von denen drei dieser Altersgruppe angehören.

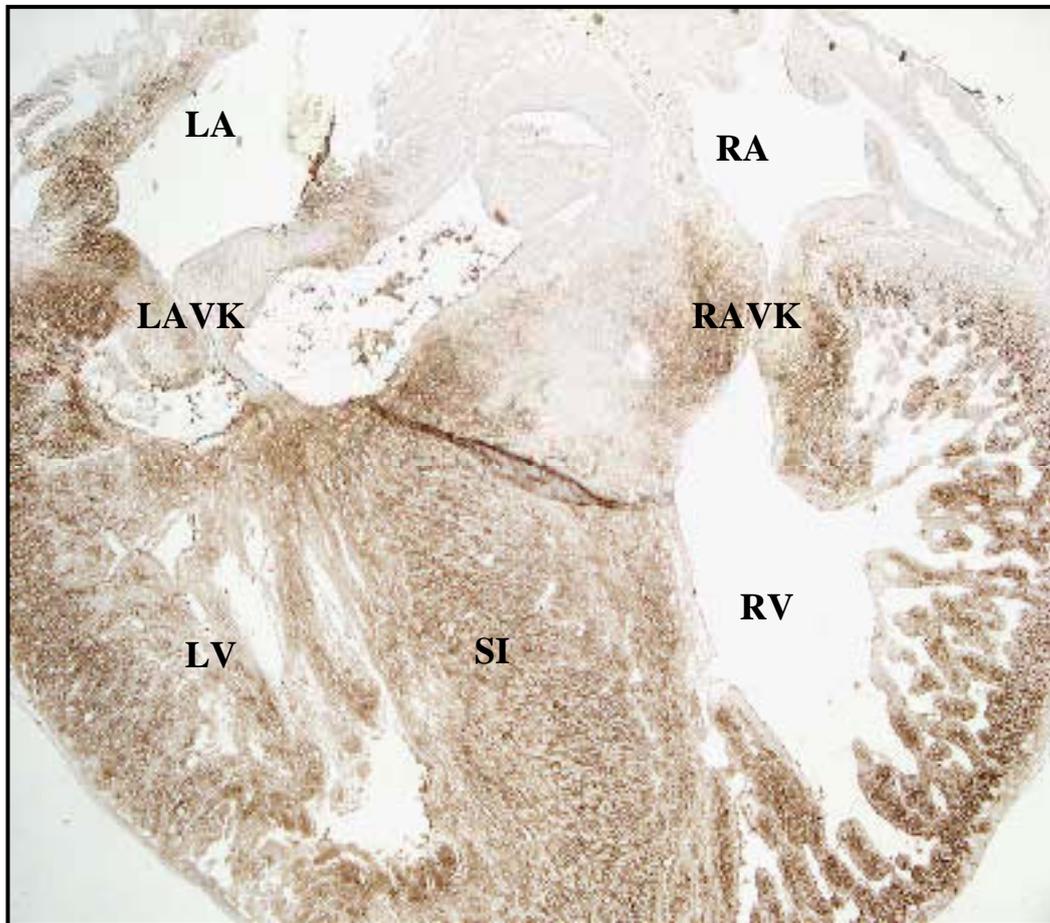


Abb. 3.27.:

Übersicht über ein mit dem Peanut-Agglutinin markiertes Hühnerherz am vierzehnten Bebrütungstag.

Legende: RV = rechter ventrikel, LV = linker Ventrikel, SI = Septum interventrikulare, RAVK = rechte AV-Klappe, LAVK = linke AV-Klappe Originalvergrößerung: 50fach.

3.4.1.3. Achtzehn bis zwanzig Tage (D 18 bis D 20)

In dieser Altersgruppe ist das Myokard nur schwach mit dem Peanut-Agglutinin zu markieren, bei zwei dieser älteren Herzen weist die rechte Atrioventrikularklappe eine deutliche spezifische Reaktion auf. Das bei einigen Herzen erhaltene Mesenchym der großen Gefäßstämme lässt sich ebenfalls markieren. Im Gegensatz zu den jüngeren Herzen zeigt sich bei den achtzehn bis zwanzig Tage alten Herzen keine Reaktion am Endothel der Gefäße bzw. am Endokard der Herzkammern.

Tab. 3.3.1.4. Tabellarische Übersicht über die Affinität des Peanut-Agglutinin mit den verschiedenen Zellen resp. Geweben der Herzwand in den verschiedenen Altersgruppen

Altersgruppe	D 10-12	D 14-16	D 18-20
Zellart			
Kardiomyozyten im Ventrikel bzw. Atrium	XXX/(X) (starke Variation)	XXX/(X) (starke Variation)	(X)/--- (starke Variation)
Glatte Muskelzellen (Tunica media) der Arteriolen	---	---	---
Glatte Muskulatur der großen Gefäßstämme	---	---	---
Endothelzellen der Arteriolen, Venolen und großen Gefäße	---/---/XX	---/---/XX	---/---/---
Fibrozyten/Fibroblasten	---/---	---/---	(X)/(X)
Erythrozyten	X(X)	X(X)	X(X)
Mesenchymale Bindegewebszellen	---	---	X(X)
Endokard	XX	---	---
Epikard	---	---	---
Herzklappengerüst (Kollagenfasern)	---	XX(X) (Variationen)	XX(X) (Variationen)

Erläuterung zu der Tabelle (Einteilung des Scores):

X = schwache Reaktion, XX = starke Reaktion, XXX = sehr starke Reaktion, Kreuze in Klammern sind jeweils als halbe Punkte im jeweiligen Score zu verstehen. Die Anmerkung „starke Variation“ bezieht sich auf Variationen des Ergebnisses zwischen den unterschiedlichen Herzen einer Altersgruppe, wobei jeweils das repräsentativste Ergebnis in die Tabelle aufgenommen wurde.

3.4.2. Wheat Germ-Agglutinin (WGA)

3.4.2.1. Neun bis zwölf Tage (D 9 bis D 12)

In dieser Altersgruppe ist eine Bindung des Lektins am Endothel der Gefäße, dem Endokard, dem subepikardialen Mesenchym sowie im Bereich des Myokards festzustellen. Bei einem Großteil der Herzen zeigen die Atrien eine deutlichere Reaktion als die Ventrikel. Das Gewebe der Atrioventrikularklappen zeigt keine Markierung. Auch bei diesem Lektin können, besonders im Bereich des Myokards, große Unterschiede bezüglich der Reaktion festgestellt werden. Durchgehend spezifische Reaktionen zeigen jedoch nur das Endothel und das Endokard (s. Abb. 3.28.).

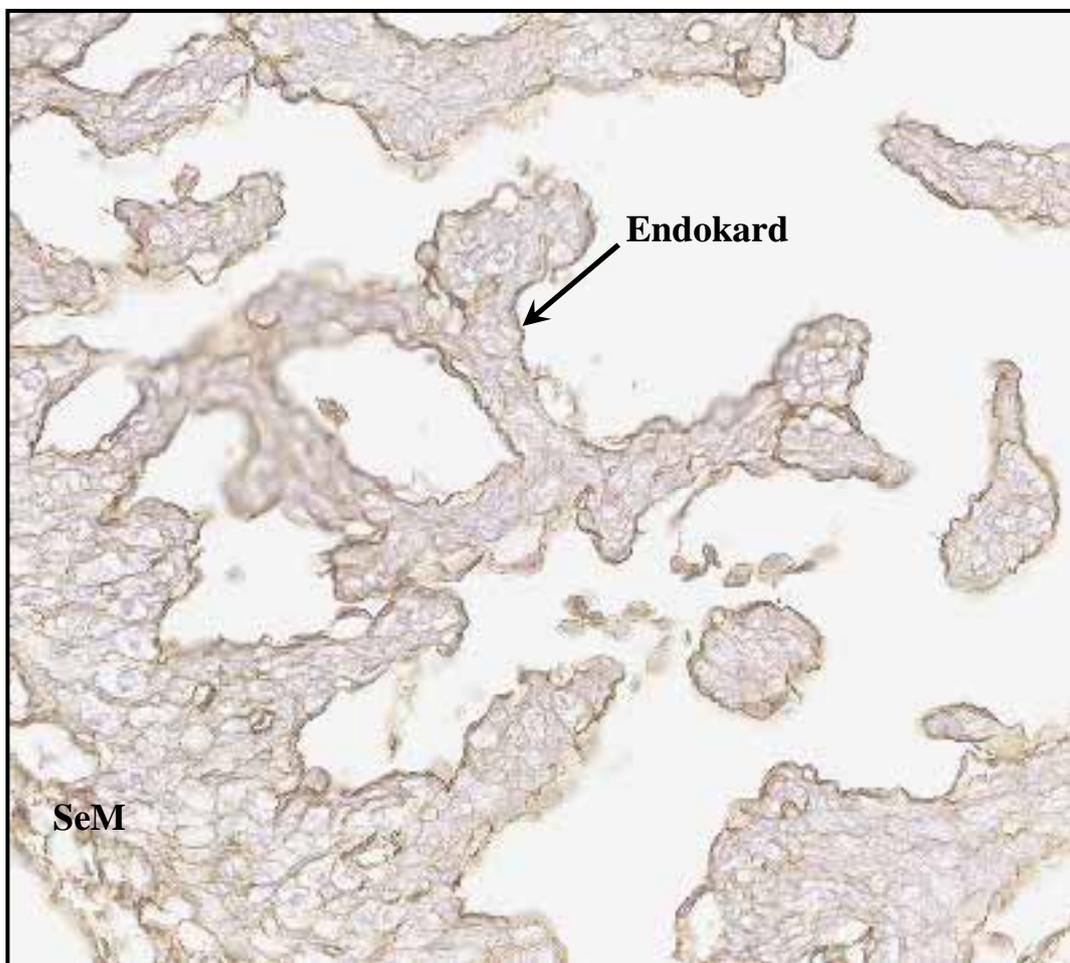


Abb. 3.28.

Herzmuskelgewebe eines embryonalen Herzen am neunten Bebrütungstag. Das Wheat Germ-Agglutinin bindet spezifisch am Endokard (s. Pfeil) des rechten Ventrikel, so dass die trabekulären Ausläufer von „braunen Linien“ umfasst werden. SeM=subepikardiales Mesenchym;

Originalvergrößerung: 400fach

3.4.2.2. Vierzehn bis sechzehn Tage (D 14 bis D 16)

Auch im Alter von vierzehn bis sechzehn Bebrütungstagen ist eine deutlich spezifische Reaktion des Endothels von Arteriolen im Myokard, sowie des Endokard der Herzkammern auf das Lektin sichtbar (s. Abb. 3.29.).

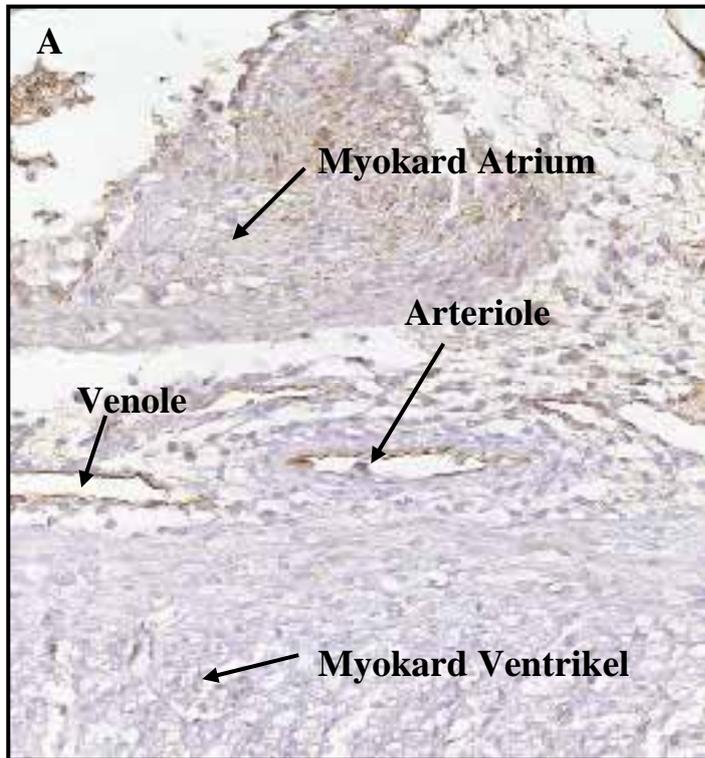
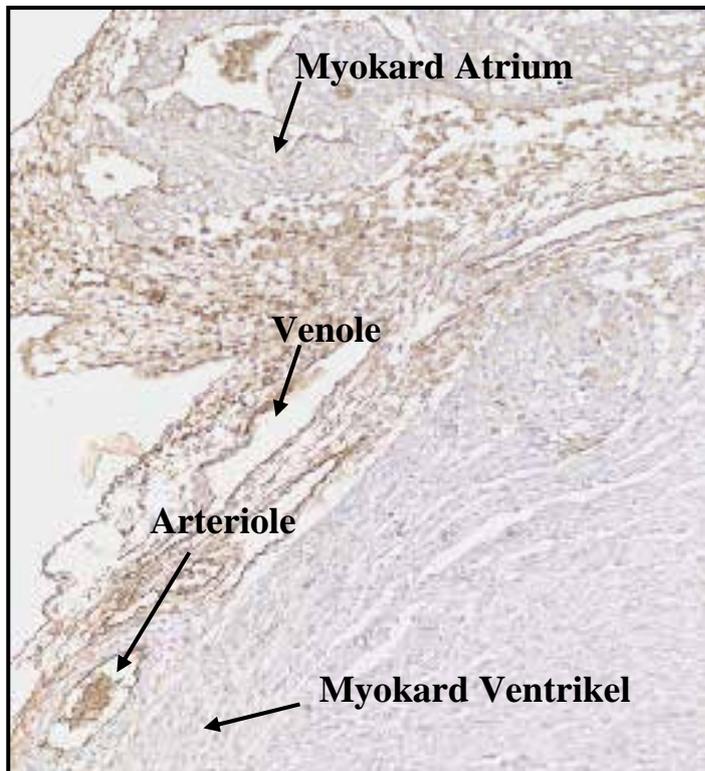


Abb. 3.29.

Mit dem Wheat Germ-Agglutinin markiertes Endothel von Arteriolen und Venolen im Mesenchym am Übergang vom Ventrikel zum Atrium eines vierzehn (A) und eines sechzehn (B) Tage lang bebrüteten Hühnerembryo. Auch das Mesenchym in Abb. B zeigt eine spezifische Reaktion mit dem Lektin, wohingegen das Myokard der Ventrikel und das der Atrien nicht markiert werden konnten.



3.4.2.3. Achtzehn bis zwanzig Tage (D 18 bis D 20)

Wie auch im Alter von neun bis zwölf Tagen sind Markierungen anderer Strukturen am Herzen nicht für jedes Herz nachweisbar, jedoch für das einzelne reproduzierbar. Auch in dieser Altersgruppe ist bei einigen Herzen das Myokard der Vorkammern stärker gefärbt als jenes der Ventrikel.

Bei den achtzehn und zwanzig Tage bebrüteten Organen kann eine schwächere Bindung des Lektins an den verschiedenen Geweben des Herzens beobachtet werden. So ist das Myokard nur undeutlich gefärbt, wobei auch hier das Myokard der Atrien stärker reagiert als jenes der Ventrikel. Weder das Endokard, noch das Endothel der großen Gefäße zeigt eine spezifische Reaktion mit dem Lektin. Im subepikardialen Mesenchym lassen sich die Venolen, nicht aber die Arteriolen markieren. Dieses Ergebnis trifft nicht auf alle Herzen zu, ist jedoch für das einzelne Herz reproduzierbar.

Tab. 3.4.2.4. Tabellarische Übersicht über die Affinität des Wheat Germ-Agglutinin mit den verschiedenen Zellen resp. Geweben der Herzwand in den verschiedenen Altersgruppen

Altersgruppe	D 10-12	D 14-16	D 18-20
Zellart bzw. Gewebe			
Kardiomyozyten im Ventrikel bzw. im Atrium	X/X(X)	(X)/X	(X)/X
Glatte Muskelzellen (Tunica media) der Arteriolen	X(X)	(X)	(X)
Glatte Muskulatur der großen Gefäßstämme	---	---	---
Endothelzellen der Arteriolen bzw. Venolen u. der großen Gefäße	XXX/XXX/XXX	XXX/XXX/XXX	XXX/XXX/XXX
Fibrozyten/Fibroblasten	XX/XX	XX/XXX	XX/XXX
Erythrozyten	XXX	XXX	XXX
Mesenchymale Bindegewebszellen	XXX	XXX	XXX
Endokard	XXX	XXX	XXX
Epikard	XX	XX	XX
Herzklappengerüst (Kollagenfasern)	---	---	---

Erläuterung zu der Tabelle (Einteilung des Scores):

X = schwache Reaktion, XX = starke Reaktion, XXX = sehr starke Reaktion, Kreuze in Klammern sind jeweils als halbe Punkte im jeweiligen Score zu verstehen. Die Anmerkung „starke Variation“ bezieht sich auf Variationen des Ergebnisses zwischen den unterschiedlichen Herzen einer Altersstufe, wobei jeweils das repräsentativste Ergebnis in die Tabelle aufgenommen wurde.

3.4.3. Griffonia (Bandeireaea) simplicifolia Lektin I (GSL I sive BSL I)

Die Untersuchungen mit diesem Lektin wurden nur exemplarisch bei einigen Herzen in verschiedenen Alterstufen durchgeführt. In keiner der Alterstufen ist eine spezifische Reaktion am embryonalen Hühnerherzen nachweisbar. Auf die tabellarische Übersicht wurde daher für dieses und die folgenden Lektine verzichtet.

3.4.4. Ulex europaeus Agglutinin (UEA)

Auch das Ulex europaeus-Agglutinin zeigt bei der lektinhistochemischen Untersuchung einiger Herzen verschiedener Altersstufen keine Bindung an Anteilen bzw. Strukturen des embryonalen Hühnerherzen.

3.4.5. Aleuria aurantia-Agglutinin (AAL)

Mit diesem Lektin wurde nur eine exemplarische Untersuchung einiger Herzen aus den verschiedenen Altersgruppen durchgeführt. Hierbei zeigt das subepikardiale Mesenchym sowie das die großen Gefäßstämme umgebende Bindegewebe eine spezifische Reaktion. Auch das Endokard der Herzkammern konnte mit diesem Lektin markiert werden, wohingegen das Endothel der kleineren Arteriolen und Venolen ohne Reaktion blieb.

3.4.6. Korrelation der Sauerstoffreduktion in der Bebrütungsluft mit den Ergebnissen der lektinhistochemischen Untersuchungen

Die lektinhistochemische Untersuchung der embryonalen Herzen ergab keine Unterschiede zwischen der Versuchsgruppe (Hypoxie) und der Kontrollgruppe (Normoxie). Die oben beschriebenen Befunde zeigten keine Korrelation zu einer Unterversorgung des Hühnerembryos mit Sauerstoff.

3.5. Morphometrische Untersuchung der embryonalen Hühnerherzen

3.5.1. Bestimmung der Zellzahl im Myokard

Die morphometrische Auszählung verschiedener Myokardausschnitte an drei verschiedenen Lokalisationen (rechter Ventrikel, linker Ventrikel und Septum interventriculare) am Herzen ergab, dass neben der altersabhängigen Zunahme der Zellzahl zum Teil auch Unterschiede zwischen den verschiedenen Gruppen (Versuchsgruppe / Kontrollgruppe) im Zusammenhang mit einer Reduktion des Sauerstoff in der Bebrütungsluft verzeichnet werden konnte. Tabelle 3.1. gibt eine Übersicht über den verwendeten Probenumfang (N) pro Altersgruppe (Gruppe 1: D 10–D 12; Gruppe 2: D 14–D 16; Gruppe 3: D 18–D 20) und Lokalisation in den verschiedenen Versuchsgruppen.

Tab. 3.1.

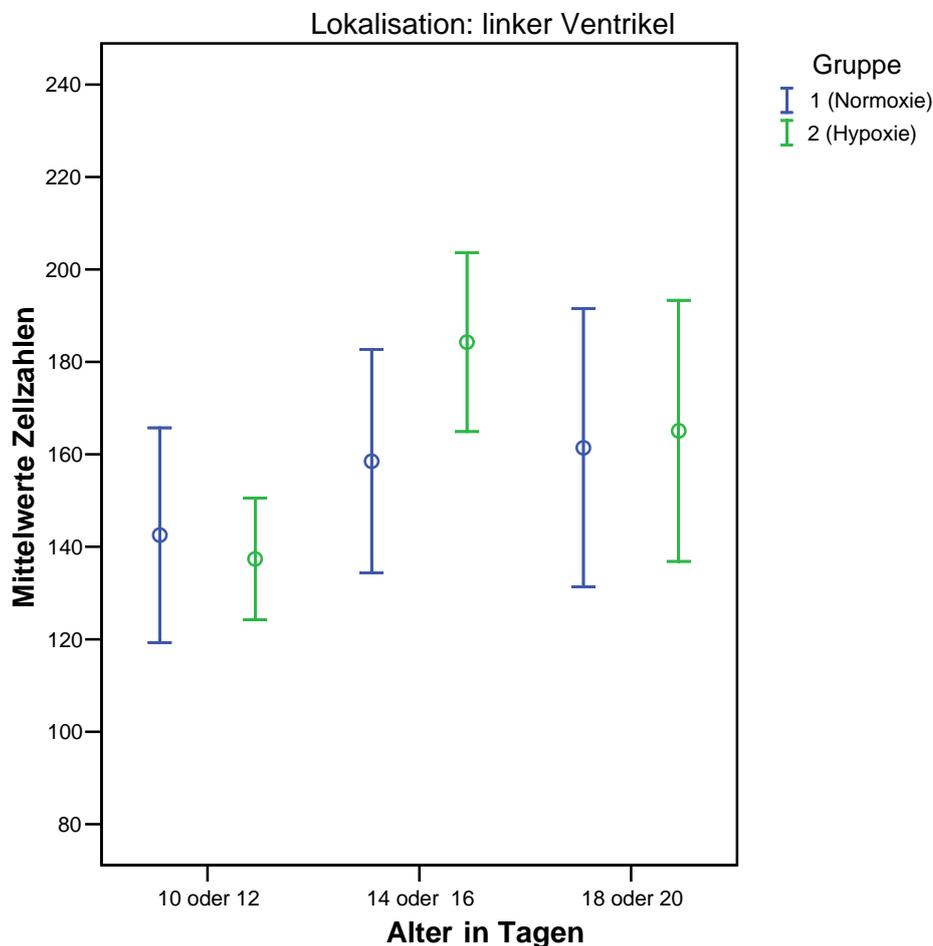
Lokalisation			Alter in Tagen	N
linker Ventrikel	Alter	1,00	10 oder 12	16
		2,00	14 oder 16	9
		3,00	18 oder 20	8
	Gruppe	1 (Normoxie)		15
		2 (Hypoxie)		18
Septum interventriculare	Alter	1,00	10 oder 12	16
		2,00	14 oder 16	9
		3,00	18 oder 20	8
	Gruppe	1 (Normoxie)		15
		2 (Hypoxie)		18
rechter Ventrikel	Alter	1,00	10 oder 12	16
		2,00	14 oder 16	9
		3,00	18 oder 20	8
	Gruppe	1 (Normoxie)		15
		2 (Hypoxie)		18

Für die graphische Darstellung wurden Fehlerbalkendiagramme erstellt. Die jeweiligen statistischen Darstellungen zeigen die Graphen für die Kontrollgruppe 1 (Normoxie) in blau und die der Versuchsgruppe 2 (Hypoxie) in grün. Die Fehlerbalkendiagramme stellen den Mittelwert plus / minus der Standardabweichung dar. Die Graphen der Versuchs- und Kontrollgruppe wurden für die Altersgruppen zehn und zwölf Tage, vierzehn und sechzehn Tage und achtzehn und zwanzig Tage Bebrütungsdauer erstellt. Bei der graphischen

Darstellung unterschiedlicher statistischer Merkmale der embryonalen Herzen wurde die Alterstufe von neun Bebrütungstagen nicht berücksichtigt, da nach Auflösung der Blindstudie durch den „Bebrütungsschlüssel“ (s. Anhang S. 200) festgestellt wurde, dass in dieser Altersstufe keine embryonalen Herzen unter Sauerstoffreduktion bebrütet wurden, so dass ein Vergleich der Gruppe 1 (Normoxie) mit der Gruppe 2 (Hypoxie), nur bei den älteren Altersstufen hergestellt werden konnte. Für die verbliebenen drei Altersgruppen erfolgte die Auswertung an den drei genannten Lokalisationen am Herzen.

3.5.1.1. linker Ventrikel

Graph. 3.1.1.

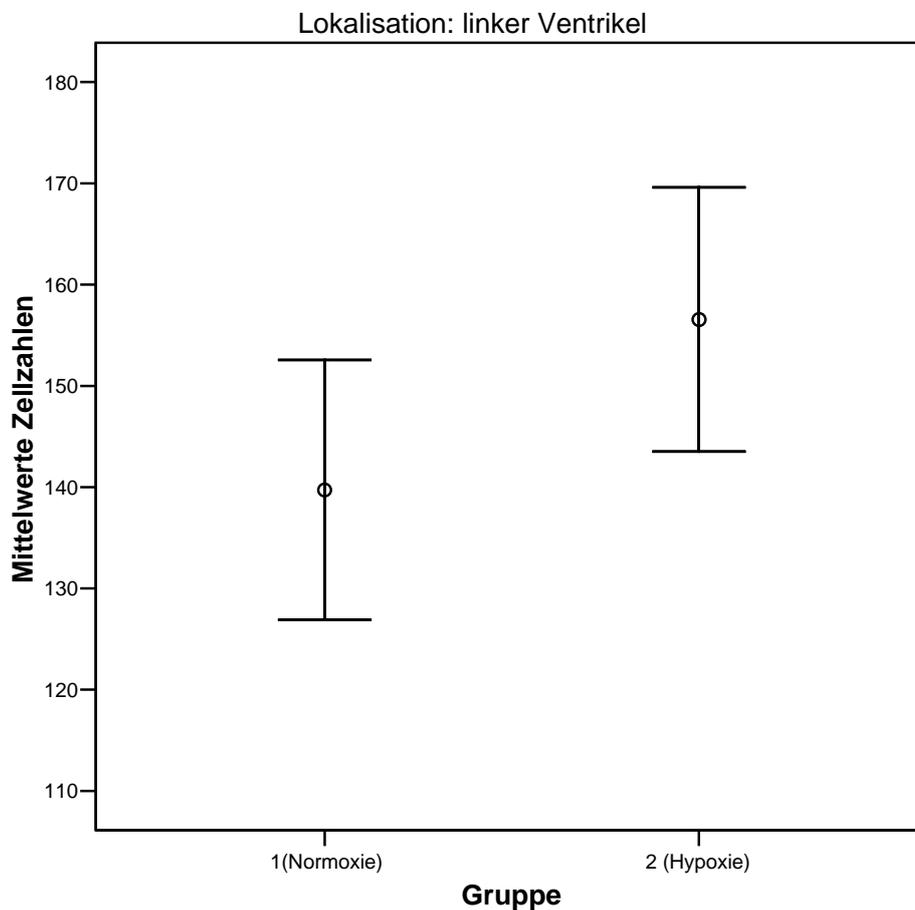


Graphische Darstellung der erhobenen Mittelwerte der Zellzahlen im linken Ventrikelmyokard embryonaler Herzen in der Kontrollgruppe 1 = Normoxie (blau) und der Versuchsgruppe 2 = Hypoxie (grün) in den jeweiligen Altersgruppen

Die statistische Auswertung (s. Graph. 3.1.1.) zeigt, dass es im linken Ventrikelmyokard der embryonalen Hühnerherzen in der Altersgruppe von zehn bis zwölf Bebrütungstagen zunächst

zu einer leichten Abnahme der mittleren Zellzahl in der Versuchsgruppe (grün) gegenüber der Kontrollgruppe (blau) kam. Nach längerem Einwirken der Sauerstoffreduktion auf die vierzehn bis sechzehn Tage bebrüteten Hühnerembryonen kommt es zu einer Zunahme der Zellzahl im Myokard des linken Ventrikels der Versuchsgruppe. Kurz vor dem Schlupf, nach achtzehn bis zwanzig Bebrütungstagen bestehen kaum noch Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Zellzahlen des linken Ventrikels der Versuchsgruppe gegenüber jener der Kontrollgruppe. Dennoch liegt die Zellzahl bei dieser Altersgruppe in der Versuchsgruppe noch leicht über der Anzahl der Zellen in der Kontrollgruppe.

Graph. 3.1.2.



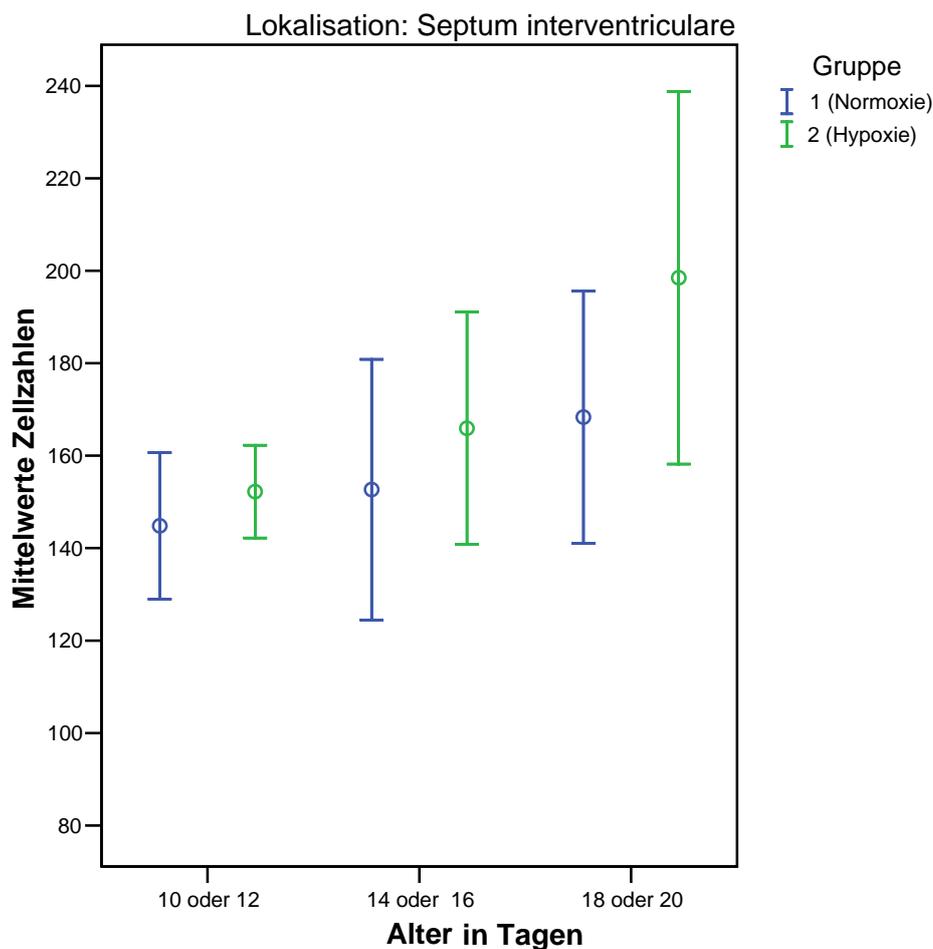
Graphische Darstellung des Gruppenvergleiches der Mittelwerte der Zellzahlen aller Altersgruppen für den linken Ventrikel

Die Darstellung des Gruppenvergleiches (s. Graph. 3.1.2.) zeigt eine höhere mittlere Zellzahl in der Versuchsgruppe 2 (Hypoxie) als in der Kontrollgruppe 1 (Normoxie). Obwohl es wachstumsbedingt im Zuge der Entwicklung zu Unterschieden zwischen der Zellzahl und den Altersgruppenunterschieden gibt, sind die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen nicht als signifikant zu werten, wenn als Beurteilungskriterium für die Signifikanz einen p-Wert

kleiner 0,05 festgelegt wurde. Entsprechende Tabellen für die Zwischensubjektfaktoren bzw. die p-Werte für die einzelnen Faktoren (s. Anhang, Tab. a, S. 195). Der p-Wert für den Gruppenvergleich des linken Ventrikels ist in der entsprechenden Tabelle fett markiert, er liegt mit 0,256 über 0,05.

3.5.1.2. Septum interventriculare

Graph. 3.1.3.

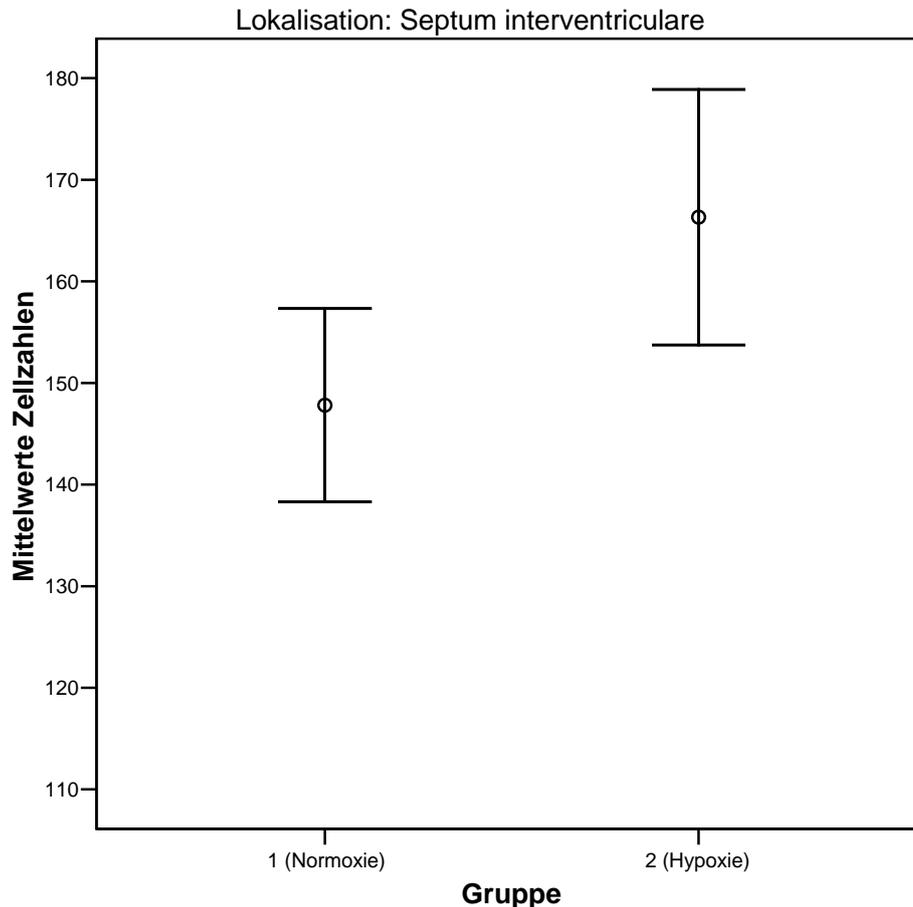


Graphische Darstellung der erhobenen Mittelwerte der Zellzahlen im Myokard des Septum interventriculare embryonaler Herzen in der Versuchs- und Kontrollgruppe der jeweiligen Altersstufen

Im Gegensatz zu der Auswertung am linken Ventrikel sind in der für das Septum interventriculare erstellten Graphik in allen Altersgruppen höhere Zellzahlen in der Versuchsgruppe 2 (Hypoxie) als in der Kontrollgruppe 1 (Normoxie) zu verzeichnen. Der Unterschied zwischen beiden Gruppen ist bei den achtzehn bis zwanzig Tage bebrüteten embryonalen Herzen am größten, wobei auch die Streuung der Werte in dieser Altersgruppe am weitesten ist. Neben dem erwarteten altersabhängigen Anstieg der Zellzahlen in der

Kontrollgruppe (blau) zeigt die Graphik eine in gleichem Maße ansteigende Zellzahl in der Versuchsgruppe. Im Gruppenvergleich zeigt das Septum interventriculare von den drei Lokalisationen am Herzen den höchsten Zellgehalt (s. Graph. 3.1.4.).

Graph. 3.1.4.



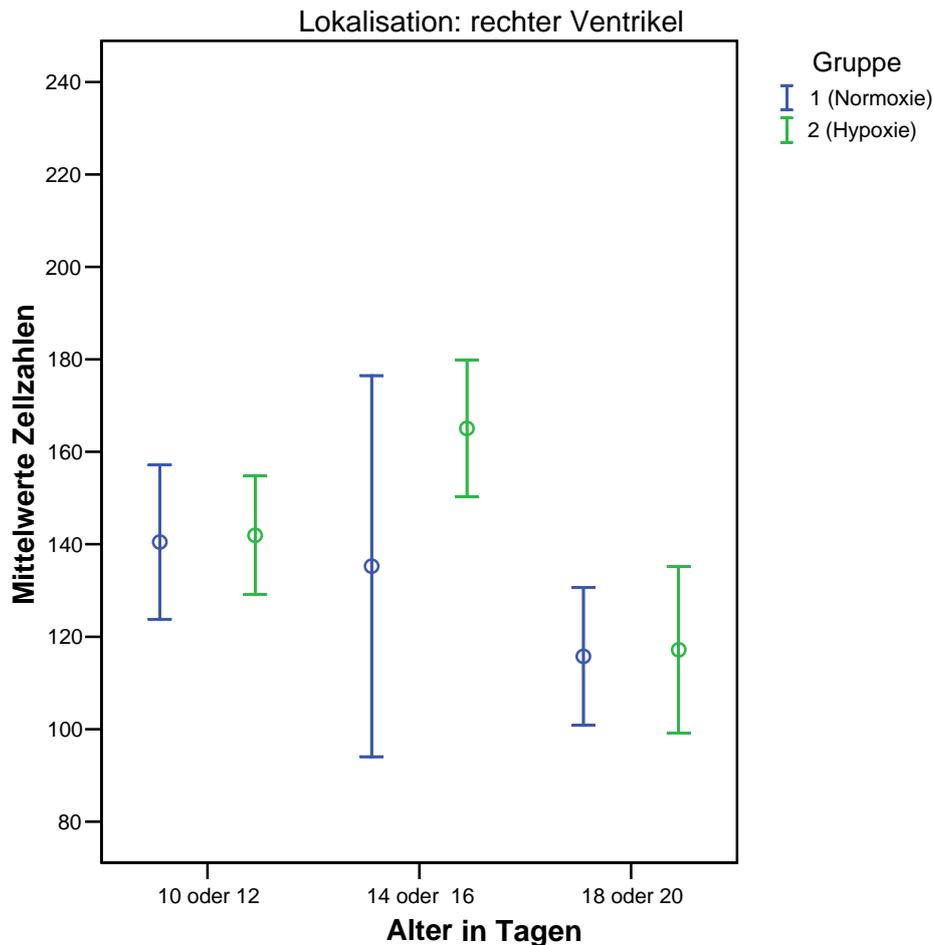
Graphische Darstellung des Gruppenvergleiches der Mittelwerte der Zellzahlen aller Altersgruppen für das Septum interventriculare

Der Gruppenvergleich für das Septum interventriculare zeigt ebenfalls einen Anstieg der Mittelwerte der Zellzahl in der Versuchsgruppe 2 (Hypoxie) gegenüber der Kontrollgruppe 1 (Normoxie). Neben der entwicklungsbedingten Wechselwirkung zwischen den Altersgruppen bzw. einer altersabhängigen Zunahme der Zellzahl kann für das Septum interventriculare ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen (Versuchs- und Kontrollgruppe) festgestellt werden. Auch für diese Lokalisation ist die Tabelle für die Zwischensubjekteffekte und die p – Werte im Anhang zu finden. Die Signifikanz für den Faktor „Gruppe“ ist fett markiert (s. Anhang, Tab. a, S. 195). Der p-Wert liegt mit 0,015 unter dem als Beurteilungskriterium angenommenen Wert 0,05, so dass ein signifikanter Unterschied in der

Zellzahl zwischen der Versuchs- und der Kontrollgruppe zu verzeichnen ist (s. Anhang, Tab. a, S. 195). So ist der Zellgehalt im Septum interventriculare eines embryonalen Hühnerherzen unter dem Einfluss einer Sauerstoffreduktion in der Bebrütungsluft erhöht.

3.5.1.3. rechter Ventrikel

Graph. 3.1.5.

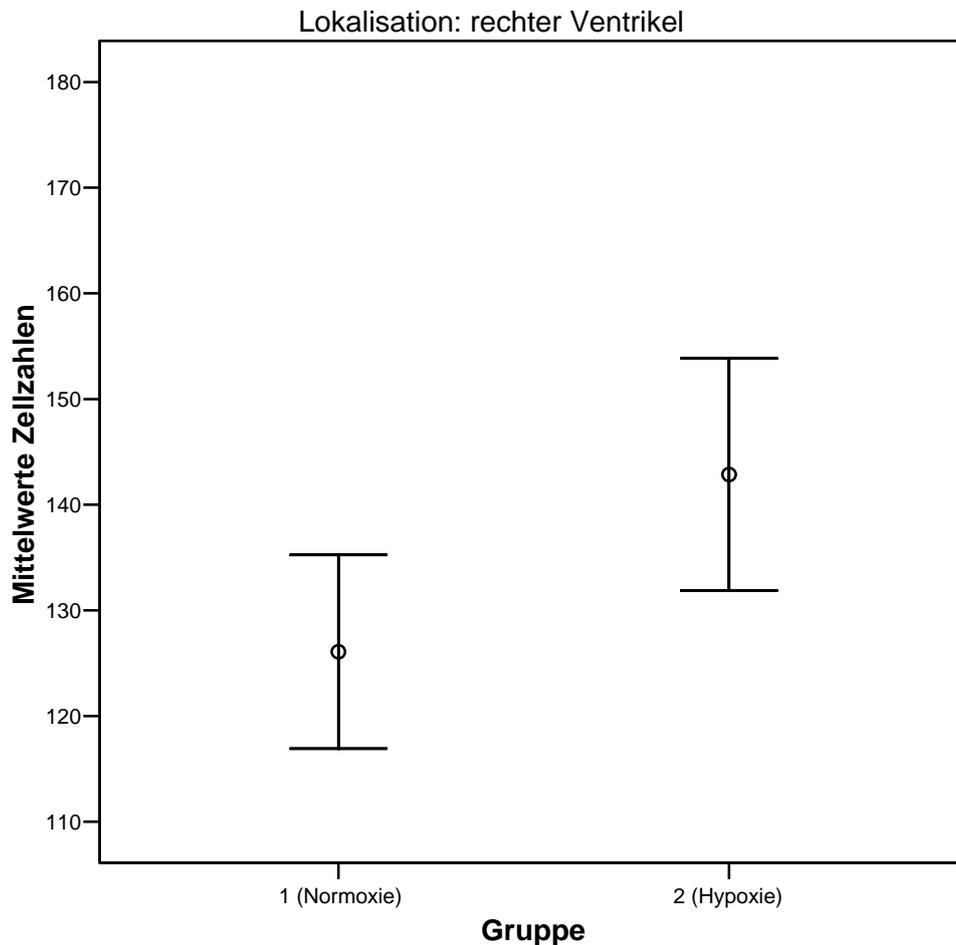


Fehlerbalken für die ermittelten Zellzahlen im rechten Ventrikelmyokard embryonaler Herzen in der Versuchs- und Kontrollgruppe der jeweiligen Altersstufen

Die Graphik für den rechten Ventrikel (s. Graph. 3.1.5.) zeigt in der Kontrollgruppe 1 (Normoxie) eine Abnahme der Zellzahl mit zunehmendem Alter. Sowohl in der Versuchsgruppe als auch in der Kontrollgruppe zeigen sich annähernd gleiche Ausgangswerte im Alter von zehn bis zwölf Bebrütungstagen. In der Altersgruppe von vierzehn bis sechzehn Tagen ist zwischen den Gruppen ein Unterschied feststellbar. So kommt es besonders in der Versuchsgruppe zu einem Anstieg der Zellzahl im rechten Ventrikelmyokard. In der Kontrollgruppe dieser Altersgruppe tritt die größte Streuung der einzelnen Mittelwerte der

Zellzahlen auf. Im Alter von achtzehn bis zwanzig Tagen der Bebrütung ist die Anzahl der Zellen am niedrigsten. Die Mittelwerte der Zellzahlen unterscheiden sich in der Versuchsgruppe 2 (Hypoxie) kaum von denen der Kontrollgruppe 1 (Normoxie).

Graph. 3.1.6.



Graphische Darstellung des Gruppenvergleiches der Mittelwerte der Zellzahlen aller Altersgruppen für das Septum interventriculare

Bei der Darstellung des Gruppenvergleiches ist in gleicher Weise wie auch bei den anderen Lokalisationen ein Anstieg der Mittelwerte der Zellzahlen in der Versuchsgruppe 2 (Hypoxie) zu verzeichnen. Im Allgemeinen sind die Mittelwerte insgesamt am rechten Ventrikel jedoch kleiner als an den anderen Lokalisationen. Im Gegensatz zu den Ergebnissen des linken Ventrikels und des Septum interventriculare nimmt die mittlere Gesamtzellzahl zum Ende der Bebrütung ab. Wenn auch mit unterschiedlichen Auswirkungen bzw. Resultaten, so ist auch am Myokard des rechten Ventrikels eine Wechselwirkung zwischen den Faktoren Zellzahl und Alter zu verzeichnen. Die Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen (Versuchs- und

Kontrollgruppe) sind mit einem p-Wert von 0,083 (s. Tab. a im Anhang, S. 195) wie auch schon im linken Ventrikel der Definition nach nicht signifikant.

3.5.2. Korrelation zwischen den Mittelwerten der Zellzahlen und der Reduktion des Sauerstoffgehaltes in der Versuchsgruppe

Bei einer Reduktion des Sauerstoffgehaltes in der Bebrütungsluft von Hühnerembryonen mit einem Sauerstoffpartialdruck (pO_2) = 15 % statt 21 % innerhalb der frühen Entwicklungsstadien kommt es als Reaktion des Herzmuskelgewebes zu einer Erhöhung der Zellzahlen im Arbeitsmyokard, wobei lokale Unterschiede festzuhalten sind. Am linken sowie am rechten Ventrikelmyokard nähern sich die Mittelwerte kurz vor dem Schlupf wieder einander an, wobei die Gesamtzellzahl des rechten Ventrikels im Zuge der Kompaktierung des zunächst trabekulär strukturierten Myokards abnimmt. Auch am Myokard des Septum interventriculare ist ein höherer Mittelwert der Zellzahl in der Versuchsgruppe 2 (Hypoxie) zu verzeichnen, wobei diese Mittelwerte der Zellzahlen in der Versuchsgruppe kurz vor dem Schlupf über denen der Kontrollgruppe 1 (Normoxie) liegen.

Eine Reduktion des Sauerstoffpartialdruckes in der Bebrütungsluft bewirkt an allen drei gewählten Lokalisationen im Arbeitsmyokard des Hühnerembryos einen Anstieg der Mittelwerte der Zellzahlen. Besonders im Alter zwischen vierzehn und sechzehn Bebrütungstagen ist eine „reaktive“ Zunahme der Zellen zu beobachten.

3.5.3. Bestimmung der Myokardbreite

Wie die morphometrische Bestimmung der Zellzahl, so wurde auch die Ventrikelbreite an den gleichen drei Lokalisationen des embryonalen Herzen bestimmt. An allen drei Lokalisationen ist eine altersbedingte Zunahme der Ventrikelbreite in der Kontrollgruppe 1 (Normoxie) feststellbar. In der Versuchsgruppe 2 (Hypoxie) konnten an den unterschiedlichen Lokalisationen Wechselwirkungen im Rahmen der Reduktion des Sauerstoffs in der Bebrütungsluft nachgewiesen werden. Die Tabelle 3.5. gibt eine Übersicht über den Probenumfang (N) in den verschiedenen Altersgruppen (Gruppe 1: D 10–D 12; Gruppe 2: D 14–D 16; Gruppe 3: D 18–D 20) an den drei Lokalisationen (linker Ventrikel, Septum interventriculare und rechter Ventrikel).

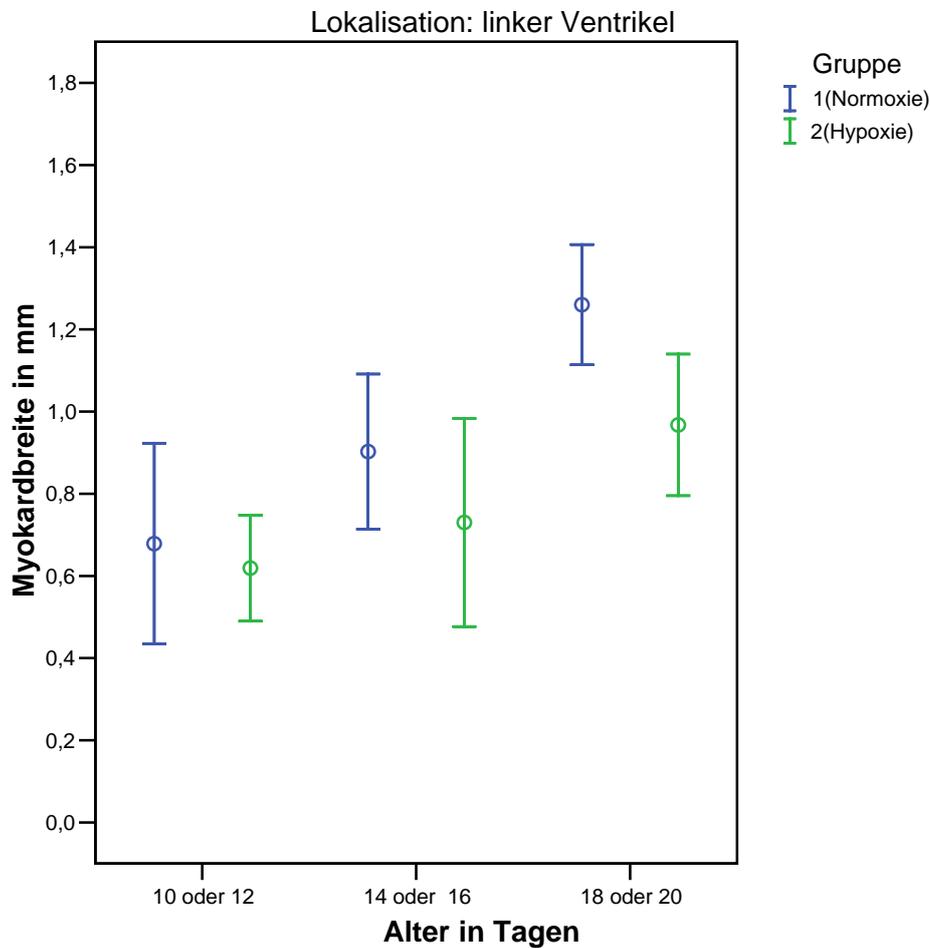
Tab. 3.5.

Lokalisation			Wertelabel	N
linker Ventrikel	Alter	1,00	10 oder 12	16
		2,00	14 oder 16	9
		3,00	18 oder 20	8
	Lokalisation	1	linker Ventrikel	33
	Gruppe	1		15
		2		18
Septum	Alter	1,00	10 oder 12	16
		2,00	14 oder 16	9
		3,00	18 oder 20	8
	Lokalisation	2	Septum	33
	Gruppe	1		15
		2		18
rechter Ventrikel	Alter	1,00	10 oder 12	16
		2,00	14 oder 16	9
		3,00	18 oder 20	8
	Lokalisation	3	rechter Ventrikel	33
	Gruppe	1		15
		2		18

Bei der morphometrischen Erfassung der Myokardbreite und der anschließenden statistischen Auswertung wurde wie auch schon bei der Bestimmung der Zellzahl auf die Berücksichtigung der Altersstufe von neun Tagen verzichtet, da in dieser Altersstufe nur normoxisch bebrütete Hühnerembryonen eingeordnet waren und somit der Vergleich mit der Versuchsgruppe nicht durchführbar war. Bei der Bemessung der jüngeren, trabekulär strukturierten Herzen wurde sowohl die Myokardbreite des eigentlichen „Wandmyokard“, als auch die Myokardbreite mit einem trabekulärem Fortsatz bemessen (s. Anhang, Tab. b, S. 196). Um eine größere Genauigkeit zu erzielen, wurden jedoch für die statistische Darstellung ausschließlich die Messwerte ohne die trabekulären Fortsätze zu Grunde gelegt.

3.5.3.1. linker Ventrikel

Graph. 3.1.6.

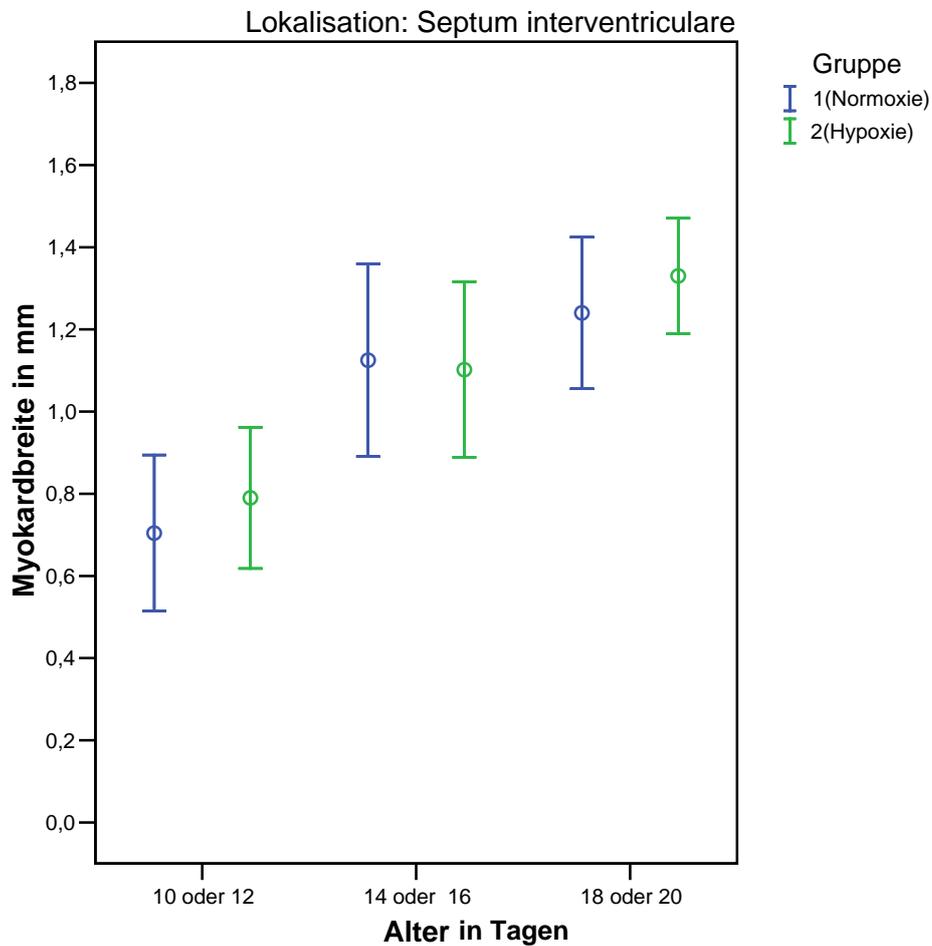


Graphische Darstellung der Myokardbreite des linken Ventrikels embryonaler Herzen in der Versuchs- und Kontrollgruppe der jeweiligen Altersgruppen. Kontrollgruppe 1= Normoxie (blau), Versuchsgruppe 2= Hypoxie (grün)

Die Graphik 3.1.6. zeigt in der Kontrollgruppe 1 (Normoxie) eine entwicklungsbedingte Zunahme der Myokardbreite. Dieses altersabhängige Wachstum ist am linken Ventrikel auch in der Versuchsgruppe 2 (Hypoxie) festzustellen. Dennoch liegen am linken Ventrikel die Mittelwerte für die Myokardbreite in allen drei Altersgruppen der Versuchsgruppe unter denen der Kontrollgruppe. Eine Reduktion des Sauerstoffgehaltes in der Bebrütungsluft führt zu einer Abnahme der Myokardbreite am linken Ventrikel. Wie einleitend beschrieben wird auch bei dieser Auswertung ein p-Wert kleiner als 0,05 als Signifikanzniveau festgelegt. Der p-Wert für die „Gruppe“ liegt mit 0,396 (fett markiert) über diesem Niveau, so dass zwar Unterschiede zu verzeichnen sind, diese jedoch der Definition nach nicht signifikant sind. Zu der Tabelle der Zwischensubjekteffekte bzw. der p-Werte für die einzelnen Faktoren (s. Tab. b., Anhang S. 196).

3.5.3.2. Septum interventriculare

Graph. 3.1.7.

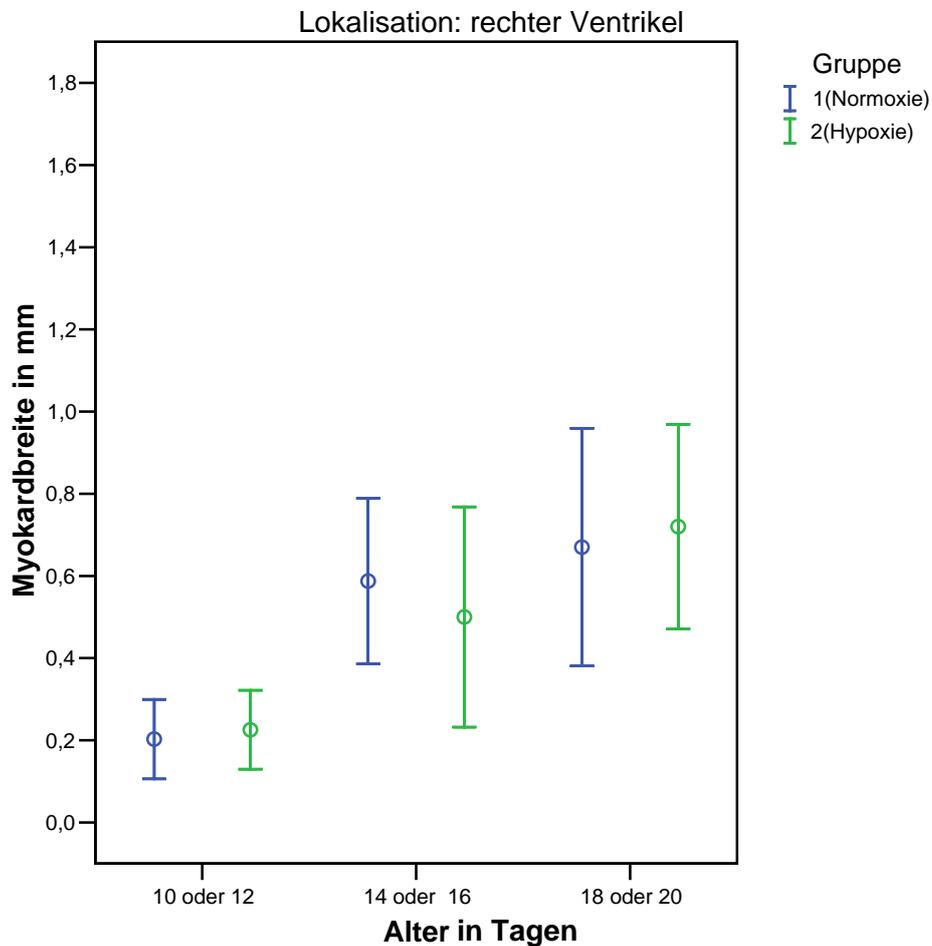


Graphische Darstellung der Myokardbreite des Septum interventriculare für die Kontrollgruppe 1 = Normoxie (blau) und die Versuchsgruppe 2 = Hypoxie (grün) in den verschiedenen Altersgruppen

Die Myokardbreite des Septum interventriculare erreicht im Zuge der Entwicklung des embryonalen Herzen ähnliche Werte wie der linke Ventrikel (s. Graph. 3.1.7.). Im Gegensatz dazu liegen die Mittelwerte der Myokardbreite in der Versuchsgruppe 2 (Hypoxie) jedoch in der jüngsten Altersgruppe (zehn bis zwölf Tage) und bei den Herzen, die achtzehn bis zwanzig Tage bebrütet wurden, über denen der Kontrollgruppe 1 (Normoxie). Lediglich in der mittleren Alterstufe (vierzehn bis sechzehn Tage) ist die Myokardbreite in der Versuchsgruppe geringer als in der Kontrollgruppe. Grundsätzlich liegen die einzelnen Werte jedoch bei dieser Lokalisation enger zusammen als am linken Ventrikel, so dass die Unterschiede der Definition nach auch für das Septum interventriculare nicht als signifikant zu betrachten sind. Der p – Wert für den Faktor Gruppe liegt mit 0,664 über 0,05 (s. Tab. b, Anhang S. 196).

3.5.3.3. rechter Ventrikel

Graph. 3.1.8.



Graphische Darstellung der Myokardbreite des rechten Ventrikels embryonaler Herzen in der Versuchs- und Kontrollgruppe der jeweiligen Altersgruppen. Kontrollgruppe 1= Normoxie (blau), Versuchsgruppe 2= Hypoxie (grün)

Im Vergleich zur Myokardbreite des linken Ventrikels und der des Septum interventriculare ist das Myokard des rechten Ventrikels am dünnsten. Darüber hinaus wurde, wie bereits oben erwähnt, bei den jungen Herzen nicht die Breite inklusive der trabekulären Ausläufer ermittelt, sondern lediglich die eigentliche Wandschicht des Myokard gemessen. Wie in der Graphik 3.1.8. zu sehen ist, ist auch bei dieser Lokalisation mit zunehmendem Alter eine Zunahme der Myokardbreite in beiden Gruppen zu verzeichnen. In gleicher Weise wie am Septum interventriculare sind in der jüngsten und in der ältesten Altersgruppe die Mittelwerte der Myokardbreite in der Versuchsgruppe 2 (Hypoxie) höher als in der Kontrollgruppe 1 (Normoxie). Dennoch sind auch bei dieser Lokalisation die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen nicht signifikant. Der p-Wert für den Faktor „Gruppe“ liegt mit 0,778 (s. Tab b, Anhang, S. 196) ebenfalls über dem als Bewertungskriterium angenommenen Wert von

0,05. Die morphometrischen Untersuchungen zur Zellzahl und zur Myokardbreite zeigen insgesamt entwicklungs- bzw. wachstumsbedingte Unterschiede in den drei Altersgruppen und im Vergleich zwischen den beiden Gruppen, der Versuchs- (= Hypoxie) und der Kontrollgruppe (= Normoxie), die jedoch nur für die Ermittlung der Zellzahl am Septum interventriculare signifikant sind.