

Aus dem Institut für Anatomie und Embryologie
(Prof. Dr. med. C. Viebahn)
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

Untersuchungen zur Frage der bilateral asymmetrischen Morphologie des adulten Zebrafischherzens

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades

der Medizinischen Fakultät der

Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Kaja Jill Schäfer

aus

Flensburg

Göttingen 2021

Dekan:	Prof. Dr. med. W. Brück
Referent/in:	PD Dr. med. J. Männer
Ko-Referent/in:	Prof. Dr. med. Theodoros Tirilomis
Drittreferent/in:	Prof. Dr. hum. biol. Margarete Schön

Datum der mündlichen Prüfung: 31.05.2023

Hiermit erkläre ich, die Dissertation mit dem Titel "Untersuchungen zur Frage der bilateral asymmetrischen Morphologie des adulten Zebrafischherzens" eigenständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Göttingen, den

.....

Kaja Jill Schäfer

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	II
Abkürzungsverzeichnis.....	III
1 Einleitung	1
1.1 Bilaterale Asymmetrien im Körperbau von Wirbeltieren	1
1.2 Die asymmetrische Morphogenese des Wirbeltierherzens	2
1.3 Das Zebrafischherz als Modell für die Herzentwicklung höherer Wirbeltiere.....	3
1.3.1 Bau des adulten Zebrafischherzens	3
1.3.2 Morphogenese des embryonalen Zebrafischherzens	3
1.3.3 Postembryonale Topogenese und fragliche Asymmetrie des adulten Zebrafischherzens....	4
1.4 Fragestellung und Ziel der Arbeit	5
2 Material und Methoden	7
2.1 Zebrafische	7
2.2 Präparation	8
2.2.1 Herstellung von transversalen Körperscheibenpräparaten (1).....	8
2.2.2 Darstellung des Herzens und der Perikardhöhle von ventral (2)	9
2.3 Rasterelektronenmikroskopie	10
3 Befunde	12
3.1 Hauptbefunde	12
3.1.1 Makroskopische Aspekte des Ventrikels	12
3.1.2 Makroskopische Aspekte des Atriums und des AV-Kanals.....	13
3.1.3 Makroskopische Aspekte des <i>Sinus venosus</i> , des <i>Bulbus arteriosus</i> und der Ventrikelbinnenräume	15
3.1.4 Zusammenfassung der makroskopischen Aspekte.....	17
3.2 Nebenbefunde	17
4 Diskussion.....	18
4.1 Nutzung des Zebrafisches als Modellorganismus für die asymmetrische Morphogenese des Herzens höherer Wirbeltiere	18
4.1.1 Kann der asymmetrische Bau des adulten Zebrafischherzens als stellvertretend für den Bau des adulten Fischherzens angesehen werden?	20
4.2 Funktionelle Bedeutung der asymmetrischen Morphogenese des embryonalen Wirbeltier- herzens	21
4.2.1 Führt das Cardiac Looping zu einer Steigerung der Pumpeffizienz des embryonalen Herz- schlauches?	22
4.2.2 Resultiert das Cardiac Looping lediglich aus einem Packungsproblem?	22
4.2.3 Mögliche Gründe für spezies-spezifische Unterschiede in der gestaltlichen Symmetrie/ Asymmetrie des postembryonalen Fischherzens	22
5 Zusammenfassung.....	24
6 Literaturverzeichnis	26

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Schematische Darstellung der Form- und Lageentwicklung des Zebrafischherzens in der Embryonalphase und in frühen Larvenstadien (zweiter bis fünfter Entwicklungstag).....	5
Abb. 2:	Position des Herzens im adulten Zebrafisch. Links-Seitansicht	7
Abb. 3:	Position des Herzens im adulten Zebrafisch und erster Präparationsschritt. Ventralansicht	8
Abb. 4:	Lage der Schnittebenen für die Erstellung der transversalen Körperscheibenpräparate. Links-Seitansicht der kranialen Hälfte eines adulten Zebrafisches.....	9
Abb. 5:	Gestalt und Topografie des adulten Zebrafischherzens in der eröffneten Perikardhöhle. Ventrale Aspekte.....	13
Abb. 6:	Gestalt und Topografie eines isolierten adulten Zebrafischherzens. Dorsale Aspekte...	14
Abb. 7:	Gestalt und Topografie des adulten Zebrafischherzens in transversalen Körperscheiben	15
Abb. 8:	Gestalt und Topografie der Einstrombahn des adulten Zebrafischherzens	16
Abb. 9:	Gestalt und Topografie der Herzklappen und der Binnenräume des Ventrikels des adulten Zebrafischherzens	17
Abb. 10:	Modifizierte schematische Darstellung der Form- und Lageentwicklung des Zebrafischherzens in der Embryonalphase und in frühen Larvenstadien (zweiter bis fünfter Entwicklungstag)	20

Abkürzungsverzeichnis

A	Atrium
AB	<i>atrial body</i>
AC	<i>atrial canal</i>
AV	atrioventrikulär
AVC	<i>AV-canal</i>
BA	<i>Bulbus arteriosus</i>
CA	<i>Konus arteriosus</i>
DAA	<i>dorsal atrial auricle</i>
FE-SEM	<i>field-emission scanning electron microscope</i>
LAA	<i>left atrial auricle</i>
RAA	<i>right atrial auricle</i>
REM	Rasterelektronenmikroskop/-ie
SA	sinu-atrialer Kanal
SV	<i>Sinus venosus</i>
V	Ventrikel

1 Einleitung

Zebrafische werden aufgrund vielfältiger Eigenschaften in der biomedizinischen Forschung derzeit häufig als Modellorganismen genutzt. Auch in der kardiologischen Grundlagenforschung erfreut sich der Zebrafisch einer großen Beliebtheit (Stainier et al. 1993; Singleman und Holtzman 2012; Brown et al. 2016). Die vorliegende Arbeit befasst sich mit kardiologischen Aspekten des adulten Zebrafisches, indem die Frage, ob das adulte Zebrafischherz einen bilateral symmetrischen oder asymmetrischen Bau besitzt, beantwortet wird.

1.1 Bilaterale Asymmetrien im Körperbau von Wirbeltieren

Wirbeltiere gehören zu den sogenannten *Bilateria* oder auch Zweiseitentieren. Dies sind mehrzellige Lebewesen mit einem bilateral symmetrischen Körperbau entlang ihrer Körpermittellinie. Beim Menschen und den meisten anderen Wirbeltieren zeigt sich der bilateral symmetrische Bau vor allem äußerlich. So finden sich beim Menschen jeweils zwei obere und zwei untere Extremitäten in spiegelbildlich symmetrischem Bau. Innerlich hingegen besteht eine weitestgehende, artspezifische Asymmetrie, die sich vor allem in Bau und Lage der Organe widerspiegelt (Boorman und Shimeld 2002). Schon der Zoologe Wilhelm Ludwig (1932) schrieb in seiner grundlegenden Monografie über „Das Rechts-Links-Problem im Tierreich und beim Menschen“, dass: „Der grobe innere Bau ... bei allen Wirbeltieren asymmetrisch“ ist.

Die bilaterale Asymmetrie der inneren Organe ist in den großen Körperhöhlen adulter Wirbeltiere besonders gut zu erkennen. Bei bilateral paarigen Organen, wie den Lungen oder den Nieren, zeigen sich bilaterale Asymmetrien in Größen-, Form-, und Lageunterschieden. So besitzt z. B. die rechte Lunge beim Menschen normalerweise drei Lappen (Ober-, Mittel- und Unterlappen), während die linke Lunge normalerweise lediglich zwei Lappen (Ober- und Unterlappen) besitzt. Bei unpaaren Organen zeigen sich bilaterale Asymmetrien vor allem in Lageabweichungen von der Körpermittellinie (Lateralisation) oder in einer asymmetrischen Gestalt. So liegen Milz und Magen normalerweise links von der Körpermitte und der Magen hat eine asymmetrische Biegung, deren Konvexität nach links (große Krümmung) und deren Konkavität nach rechts (kleine Krümmung) gerichtet ist.

Die Grundlagen für die Ausbildung der bilateralen Asymmetrien der inneren Organe werden beim Menschen in der dritten Entwicklungswoche gelegt. Durch die Aktivität von Zilien im Bereich des Primitivknotens wird die ursprüngliche Symmetrie der embryonalen Keimscheibe

gebrochen (Larsen und Schoenwolf 2009). Infolgedessen werden seitenspezifische Signalkaskaden initiiert, die sich vom Primitivknoten ausgehend ins Seitenplattenmesoderm ausbreiten (z. B. Nodal, BMP4) und hier zur Spezifizierung von molekularen rechts- bzw. linksseitigen Identitäten führen (z. B. links-spezifische Expression des Transkriptionsfaktors Pitx2) (Chen et al. 1997; Lohr und Yost 2000; Boorman und Shimeld 2002; Chocron et al. 2007; Baker et al. 2008; Smith et al. 2008; Bakkers 2011). In einem abschließenden Schritt werden diese molekularen Rechts-Links-Identitäten in gestaltliche Asymmetrien übersetzt.

1.2 Die asymmetrische Morphogenese des Wirbeltierherzens

Die korrekte Spezifikation der Rechts-Links-Identitäten der Körperhälften ist eine entscheidende Voraussetzung für die normale Form- und Funktionsentwicklung des Wirbeltierherzens. Das embryonale Wirbeltierherz ist nicht nur das erste innere Organ, das seine Funktion aufnimmt (Kimmel et al. 1995; Glickman und Yelon 2002; Brown et al. 2016), es ist auch das erste Organ, das sich von einem initial symmetrischen Gebilde zu einem asymmetrischen Gebilde wandelt (Goette 1875; Meyer 1913; Boorman und Shimeld 2002; Männer 2004; Bartram et al. 2005).

Das frühembryonale Herz ist ein klappenloses, kontraktiles Blutgefäß, das zunächst entlang der Körpermittellinie ausgerichtet ist. Dieser gerade Herzschauch wird, in einem als Cardiac Looping bezeichneten Prozess, in eine asymmetrisch gewundene Herzschleife umgewandelt. Das Cardiac Looping ist ein phylogenetisch hochkonservierter Formbildungsprozess (Bischoff 1842; Santer 1985; Stainier et al. 1993; Lohr und Yost 2000; Sedmera 2011), durch den die Bauelemente des sich entwickelnden Wirbeltierherzens annähernd in ihre definitiven Lagebeziehungen zueinander gebracht werden (His 1885; Lohr und Yost 2000; Männer 2000; 2009; Bayraktar und Männer 2014). Hierdurch werden die Voraussetzungen für die korrekte Etablierung der intrakardialen Strombahnen im mehrkammerigen Herzen Lungen atmender Wirbeltiere geschaffen (Lohr und Yost 2000). Inkorrekte Spezifikationen der Rechts-Links-Identitäten (z. B. beidseitige Links- oder Rechts-Identität) können zu Abweichungen vom normalen Cardiac Looping führen, die wiederum zu abnormen Verbindungen zwischen den Herzkammern führen und damit einhergehende kongenitale Herzfehler bedingen können (Müther und Dähnert 2000; Bartram et al. 2005; Jacobs et al. 2007; Bakkers 2011; Brown et al. 2016).

1.3 Das Zebrafischherz als Modell für die Herzentwicklung höherer Wirbeltiere

Der Zebrafisch (*Danio rerio*) gehört zu den echten Knochenfischen (Teleostier) aus der Unterordnung der Karpfenartigen (*Cypriniformes*). Er ist aus vielen Gründen zu einem derzeit beliebten Modellorganismus in der biomedizinischen Forschung geworden. Vor allem für entwicklungsbiologische Studien bringen Eigenschaften wie der leichte Zugang zu extern entwickelnden Eiern, die schnelle Ontogenese der optisch transparenten Larvenstadien, die Möglichkeit große Mengen neuer Embryonen aus kostengünstig gehaltenen, fertilen adulten Fischen zu züchten und die vielfältigen Wege, verhältnismäßig einfach genetisch zu intervenieren und zu manipulieren entscheidende Vorteile mit sich (Stainier et al. 1993; Lohr und Yost 2000; Glickman und Yelon 2002; Schoenebeck und Yelon 2007; Bakkers 2011; Singleman und Holtzman 2012; Brown et al. 2016).

Insbesondere dienen sowohl der embryonale als auch der adulte Zebrafisch als gut etablierte Modellorganismen zur Untersuchung der kardialen Ontogenese (Stainier et al. 1993; Lee et al. 1994; Hu et al. 2000; Schoenebeck und Yelon 2007) und der Ätiologie von angeborenen Herzfehlern beim Menschen (Lohr und Yost 2000; Schoenebeck und Yelon 2007; Bakkers 2011; Brown et al. 2016).

1.3.1 Bau des adulten Zebrafischherzens

Das Herz des adulten Zebrafisches besteht, abweichend zum adulten Herzen Lungen atmender Wirbeltiere, aus lediglich zwei echten Kammern: einem Atrium und einem Ventrikel (Schoenebeck und Yelon 2007; Brown et al. 2016). Als venöses Zuflusselement dient der *Sinus venosus*, der das Blut aus den großen Venenstämmen sammelt und in das Atrium leitet. Über den sogenannten atrioventrikulären (AV) Kanal gelangt das Blut in den Ventrikel, der es über den *Bulbus arteriosus* in die ventrale Aorta pumpt und somit dem Körperkreislauf zuführt (Santer 1985; Stainier et al. 1993; Kimmel et al. 1995; Hu et al. 2000; 2001).

1.3.2 Morphogenese des embryonalen Zebrafischherzens

Korrespondierend zu höheren Wirbeltieren entsteht auch das Zebrafischherz durch die Vereinigung von bilateral paarigen Herzfeldern im Bereich der Körpermitte (erster Tag, etwa 17 – 22 Stunden nach Befruchtung) (Stainier et al. 1993; Lee et al. 1994; Lohr und Yost 2000; Glickman und Yelon 2002; Rohr et al. 2008). Der zunächst zapfenförmige Herzschlauch (in englischsprachiger Fachliteratur *heart/cardiac cone* genannt) ist ein bilateral symmetrisches Gebilde, das durch zwei aufeinander folgende Prozesse in ein asymmetrisches Herz umgewandelt wird (Vgl. Herz-

konus Abb. 1). Es sind dies der Prozess des sogenannten kardialen Joggings und der darauffolgende Prozess des Cardiac Loopings (Baker et al. 2008; Rohr et al. 2008; Singleman und Holtzman 2012).

Das kardiale Jogging findet kurz nach der Bildung des zapfenförmigen Herzschlauchs statt (22 – 30 Stunden nach Befruchtung) (Chen et al. 1997; Baker et al. 2008; Smith et al. 2008). Das venöse Ende des ursprünglich in der Körpermittellinie gelegenen Herzschlauches wird nach links verlagert und macht gleichzeitig eine gegen den Uhrzeigersinn gerichtete Rotation um die Seelenachse des Herzschlauches durch (bei Betrachtung vom venösen Herzpol aus) (Baker et al. 2008). Die ursprüngliche mediane Herzebene erhält hierdurch eine frontale Ausrichtung.

Im Anschluss an das kardiale Jogging erfolgt das Cardiac Looping (zweiter Tag, 30 – 48 Stunden nach Befruchtung) (Stainier et al. 1993; Chen et al. 1997; Lohr und Yost 2000; Glickman und Yelon 2002; Schindler et al. 2014). Hierbei wird der gerade Herzschlauch in eine *S*-förmig gebogene Herzschleife umgewandelt, deren *S*-förmige Strombahn in einer Frontalebene und damit in der ursprünglichen Medianebene des Herzschlauches liegt (His 1885). Der Ventrikel wird normalerweise aus der Körpermittellinie zur rechten Seite des Körpers verlagert und bildet die distale, rechtskonvexe Krümmung der *S*-förmigen Herzschleife aus. Das Atrium hingegen wird nach links verlagert und bildet die proximale, linkskonvexe Krümmung der *S*-förmigen Herzschleife aus (Stainier et al. 1993; Chen et al. 1997; Abb. 1).

1.3.3 Postembryonale Topogenese und fragliche Asymmetrie des adulten Zebrafischherzens

Bei den o. g. Lagebeziehungen der embryonalen Herzschleife handelt es sich keineswegs um die definitiven Zustände. Neuere Daten zeigen, dass sich das Atrium und der Ventrikel des sich entwickelnden Zebrafischherzens im frühen Larvenstadium, d. h. nach Ausbildung der Herzklappen (vierter bis fünfter Lebenstag, 96 – 120 Stunden nach Befruchtung) (Hu et al. 2000), aus ihren o. g. links- und rechtsseitigen Positionen heraus zur Körpermitte hin zurückverlagern (Singleman und Holtzman 2012). Hierdurch soll der Ventrikel eine definitiv ventral vom Atrium gelegene und das Atrium eine definitiv dorsal vom Ventrikel gelegene Position in der Perikardhöhle des adulten Fisches erhalten. Eine entsprechende, vollständige Rückverlagerung der Herzkammern zur Körpermitte wurde auch bei der Herzentwicklung anderer Teleostier, wie z.B. dem europäischen Karpfen (von Baer 1835) und bei Skalaren (Kunz 1964; Kunz-Ramsay 2013) sowie bei Lungenfischen (Robertson 1914) beschrieben.

In möglicher Übereinstimmung mit diesen Befunden wird in der Fachliteratur für gewöhnlich angegeben, dass das adulte Herz von Knochenfischen ein nach Form und Lage bilateral symmetrisches Gebilde sei, dessen S-förmig gewundene Strombahn in der Medianebene verläuft (Anthony et al. 1965; Van Mierop und Kutsche 1984; Sánchez-Quintana et al. 1996; Tota 1999; Victor et al. 1999). Dies lässt vermuten, dass die Ausbildung einer bilateralen Asymmetrie bei den Herzen von Knochenfischen, im Gegensatz zu anderen Wirbeltieren, lediglich ein vorübergehendes Phänomen sein könnte, das sich zeitlich auf die embryonalen Stadien beschränkt (zweiter bis vierter Tag der Zebrafiscentwicklung).

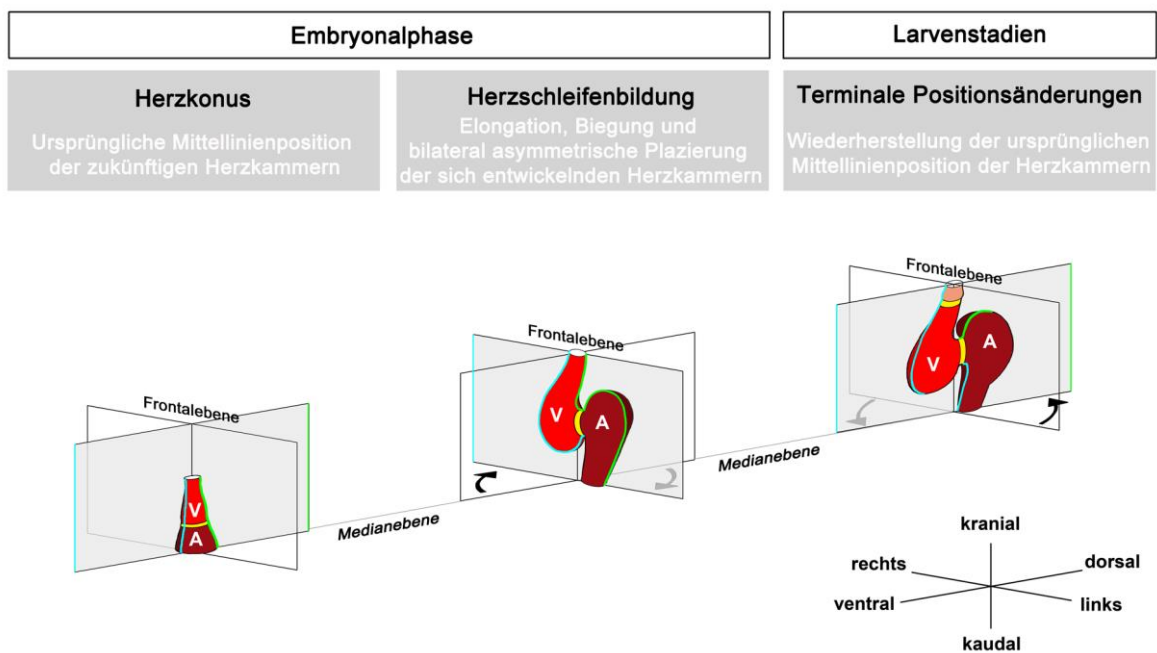


Abb. 1: Schematische Darstellung der Form- und Lageentwicklung des Zebrafischherzens in der Embryonalphase und in frühen Larvenstadien (zweiter bis fünfter Entwicklungstag). **Herzkonus:** Das durch die Vereinigung der paarigen Herzfelder gebildete Herz ist ein median gelegenes, bilateral symmetrisches, zapfenförmiges Gebilde (sogenannter Herzkonus). **Herzschleifenbildung:** Während des Cardiac Loopings rotiert der Herzschlauch um seine Seelenachse, wodurch die ursprüngliche Medianebene des Herzens in die Frontalebene verlagert wird (grau hinterlegt). Der Herzschlauch nimmt aufgrund entgegengesetzter Wachstumsdynamiken der Herzkammern eine bilateral asymmetrische Gestalt ein. Der Ventrikel wächst nach rechts (ursprünglich ventral) und das Atrium wächst nach links (ursprünglich dorsal). **Terminale Positionsänderungen:** Die S-förmige Herzschleife rotiert in frühen Larvenstadien zurück in die Medianebene, sodass der Ventrikel ventral und das Atrium dorsal gelegen sind. Gelb markiert sind die AV- und Aortenklappenebenen. Zur Verdeutlichung der Massenbewegungen wurden die ursprünglich ventrale Mittellinie des Herzens blau und die ursprünglich dorsale Mittellinie grün markiert. Die anatomische Lagebeschreibung entspricht den gängigen Achsen beim Menschen. Abkürzungen: A= Atrium; V= Ventrikel.

1.4 Fragestellung und Ziel der Arbeit

Wie bereits erwähnt, erfreuen sich Zebrafische in der entwicklungsbiologischen Forschung des Wirbeltierherzens einer großen Beliebtheit. Sollte die o. g. Vermutung zutreffen, dass es sich beim adulten Zebrafischherzen um ein bilateral symmetrisches Gebilde handelt, würde dies die Brauchbarkeit des Zebrafisches als Modell für die asymmetrische Morphogenese des Herzens höherer Wirbeltiere wesentlich einschränken.

Vor diesem Hintergrund war es das Ziel der vorliegenden Arbeit, die folgende Frage zu beantworten:

Handelt es sich beim adulten Zebrafischherzen um ein nach Lage und Form bilateral symmetrisches Gebilde oder um ein bilateral asymmetrisches Gebilde?

2 Material und Methoden

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der makroskopischen Anatomie adulter Zebrafischherzen. Da Zebrafische relativ klein sind (etwa 50 – 60 mm, Abb. 2), erfolgten die Präparation der Tiere sowie die Untersuchung und Dokumentation der Befunde mittels mikroskopischer Techniken, die eine räumliche Darstellung von kleinen Untersuchungsobjekten erlauben (Stereomikroskopie und Rasterelektronenmikroskopie (REM)).

Zur Darstellung der topografischen Beziehungen des Herzens wurden die Fische auf zwei Arten präpariert: (1.) Herstellung von transversalen Körperscheibenpräparaten mit Herzbeutel und Herz; (2.) von der ventralen Körperwand ausgehende, schrittweise fortschreitende Präparation von Perikardhöhle und Herz entsprechend einer aus dem Kursus der makroskopischen Anatomie bekannten Vorgehensweise.

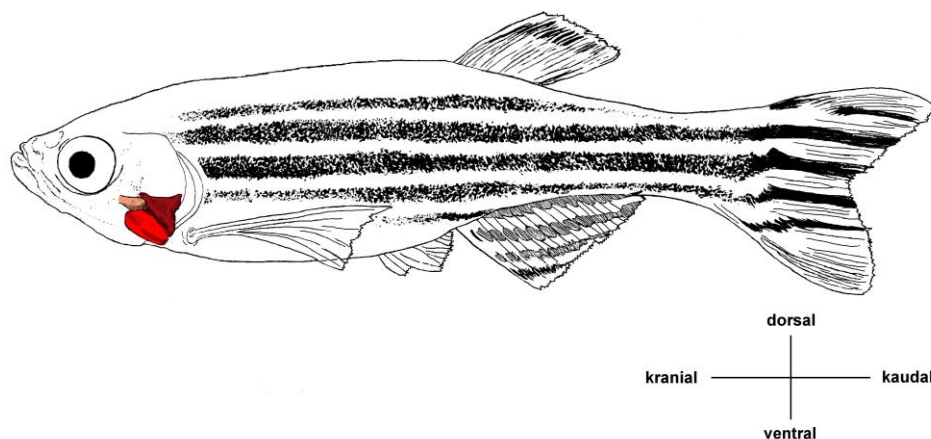


Abb. 2: Position des Herzens im adulten Zebrafisch. Links-Seitansicht. Das Herz ist entsprechend der in Abb. 1 verwendeten Farbwahl hervorgehoben. Länge des Fisches etwa 50 mm.

2.1 Zebrafische

Adulte Wildtyp Zebrafische ($n = 35$) wurden freundlicherweise aus dem Labor von PD Dr. Roland Dosch, Abteilung Entwicklungsbiochemie, GZMB, Georg-August-Universität Göttingen, zur Verfügung gestellt. Zum Zeitpunkt der Präparation hatten die Fische ein Alter von einem Jahr und drei Monaten.

Die Fische wurden anästhesiert und mittels Durchtrennung des Hirnstammes getötet. Die sich daran anschließende Präparation erfolgte bei noch erhaltener Herztätigkeit in einer mit eiskalter Locke'scher Lösung gefüllten Petrischale unter stereomikroskopischer Sichtkontrolle. Der

Boden der Petrischale war mit einer Wachsschicht überzogen, sodass die Fische, zur Erleichterung der Präparation, in Rückenlage mittels Insektennadeln festgesteckt werden konnten.

2.2 Präparation

In einem ersten Präparationsschritt wurde die Bauchhöhle bei allen Fischen durch einen medianen Bauchwandschnitt eröffnet (Abb. 3). Hierdurch wurde sichergestellt, dass die inneren Organe, einschließlich des Herzens, bei der nachfolgenden Immersionsfixierung schnell durchfixiert werden konnten.

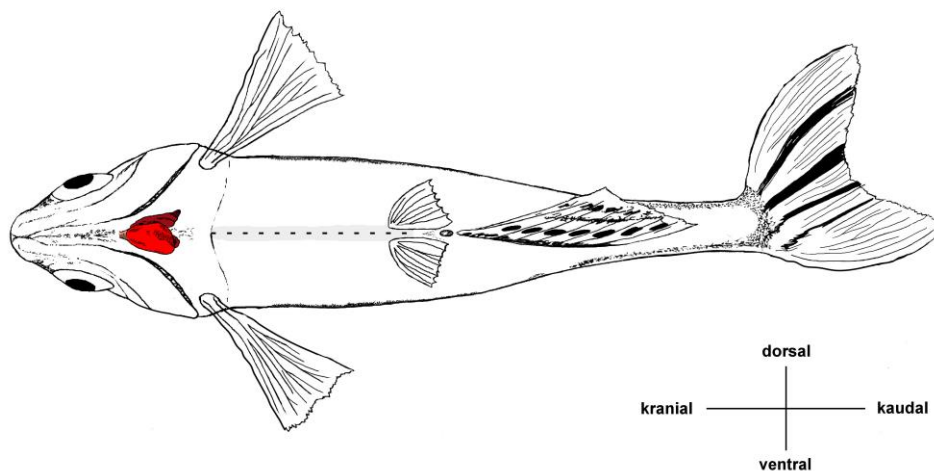


Abb. 3: Position des Herzens im adulten Zebrafisch und erster Präparationsschritt. Ventralansicht. Das Herz ist entsprechend der in Abb. 1 und 2 verwendeten Farbwahl hervorgehoben. Die Schnittlinie ist mit gestrichelter, horizontaler Linie markiert und grau hinterlegt. Als kraniale Begrenzung dient der superiore Leberrand, als kaudale Begrenzung dient die Afterflosse/der After.

2.2.1 Herstellung von transversalen Körperscheibenpräparaten (1)

Im Anschluss an die Eröffnung der Bauchhöhle wurden Fische, die für die Erzeugung von Körperscheibenpräparaten vorgesehen waren ($n = 13$), äußerlich und innerlich (eröffnete Bauchhöhle) über eine Glaskanüle mit einer wässrigen 25%igen Glutaraldehydlösung (*Serva Electrophoresis GmbH*) gespült. Hierdurch kam es zu einer schnellen chemischen Anfixierung der Präparate, was sicherstellte, dass die natürlichen Lagebeziehungen der Organe bei Herausnahme des Präparates aus dem Präparationsschälchen erhalten blieben. Die anschließende Immersionsfixierung von $n = 10$ anatomisch ansprechenden Präparaten erfolgte in einer 1,56%igen Glutaraldehydlösung (1 ml 25%ige Glutaraldehydlösung + 15 ml Locke'sche Lösung) in einem Kühlschrank bei 7°C für 24 Stunden (Männer et al. 1996). Danach wurde der kaudal des Herzens gelegene Rumpfteil mittels einer Rasierklinge abgetrennt und verworfen. Der, das Herz enthaltende, vordere Körperabschnitt wurde einem zweiten Fixierungsschritt in Bouin'scher Lösung (Formaldehyd 9%ig in wässrig gesättigter Pikrinsäure) bei Raumtemperatur unterworfen (Männer et al. 1996). Anschließend erfolgte die Herstellung von transversalen

Körperscheiben durch Schnitte mit einer Rasierklinge entlang der in Abb. 4 gezeigten Schnittebenen.

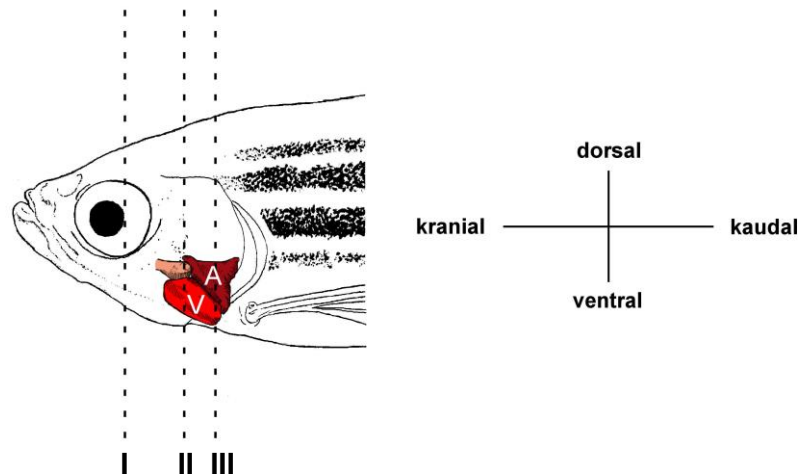


Abb. 4: Lage der Schnittebenen für die Erstellung der transversalen Körperscheibenpräparate. Links-Seitansicht der kranialen Hälfte eines adulten Zebrafisches. Die Lage der Schnittebenen ist mit gestrichelten, vertikalen Linien angedeutet. I befindet sich auf Höhe der Augen, II auf Herzmitte und III im Kiemenbereich. Somit gelang die Herstellung von jeweils zwei transversalen Körperscheibenpräparaten (I/ II, II/ III). Das Herz ist entsprechend der in Abb. 1, 2 und 3 verwendeten Farbwahl hervorgehoben. Abkürzungen wie zuvor verwendet.

2.2.2 Darstellung des Herzens und der Perikardhöhle von ventral (2)

Für die Darstellung der kardialen Form- und Lageverhältnisse in Ventralansichten wurden $n = 22$ Fische präpariert. Bei diesen Fischen wurden die Binnenräume des noch schlagenden Herzens über eine, von der Bauchhöhle in den *Sinus venosus* vorgeschobenen, Mikrokanüle so lange mit Locke'scher Lösung perfundiert, bis das Herz und die ventrale Aorta frei von sichtbaren Blutbestandteilen waren. Zur Erzeugung eines Herzstillstandes in genereller Dilatation erfolgte eine abschließende Perfusion der Herzen mit einer kardioplegen Lösung nach Asami (Asami 1979). Bei dieser Lösung handelt es sich um eine kalziumfreie Locke'sche Lösung mit einem Manganchloridgehalt von 20 mmol/l.

Nach Eintritt des Herzstillstandes erfolgte die weitere Präparation, sodass es zu der Herstellung zweier unterschiedlicher Körperwandpräparate kam: Bei $n = 12$ Fischen wurde zunächst das Herz direkt nach Eintritt des Herzstillstandes durch Entfernung der ventralen Brustwand und großflächige Eröffnung des Herzbeutels freigelegt. Die Oberflächen von Herz und Perikardhöhle wurden mit der o. g. kardioplegen Lösung gespült, um anhaftende Verunreinigungen zu entfernen (Asami 1979). Zur Sicherung der Form und Lageverhältnisse wurde auch bei diesen Präparaten eine äußere Spülung mit wässriger 25%iger Glutaraldehydlösung in der Präparationsschale durchgeführt (Vgl. 2.2.1). Die Freilegung des Herzens vor der Fixierung hatte jedoch den Nachteil, dass es zu einer leichten kranio-kaudalen Streckung des Herzens kam. Um eine solche Streckung zu verhindern, wurde das Herz bei $n = 10$ Fischen erst nach einer Anfixierung

mit 25%iger Glutaraldehydlösung freigelegt. Bei diesen Fischen wurde die Perikardhöhle nach Eintritt des Herzstillstandes lediglich durch eine kleine Inzision nahe der Herzspitze eröffnet. Über diese Öffnung erfolgten eine Spülung mit der o. g. kardioplegen Lösung zwecks Reinigung der Oberflächen, sowie eine daran anschließende Spülung mit 25%iger Glutaraldehydlösung zwecks Anfixierung. Im direkten Anschluss an die Anfixierung erfolgte die Entfernung der ventralen Brustwand und die großflächige Eröffnung des Herzbeutels.

Die abschließende Fixierung von $n = 12$ ausgewählten Präparaten erfolgte in zwei aufeinander folgenden Schritten nach der bereits geschilderten Vorgehensweise (Vgl. 2.2.1). Erstens, Immersionsfixierung in einer 1,56%igen Glutaraldehydlösung bei 7°C für 24 Stunden. Danach Abtrennung des kaudal vom Herzen gelegenen Rumpfteiles. Zweitens, Immersionsfixierung in Bouin'scher Lösung bei Raumtemperatur.

2.3 Rasterelektronenmikroskopie

Im Anschluss an die in Kapitel 2.2 beschriebenen Fixierungs- und Präparationsschritte wurden die insgesamt $n = 22$ ausgesuchten Präparate in aufsteigender Ethanolreihe entwässert und dann über flüssiges CO₂ als Austauschmedium durch *Critical-Point* Trocknung getrocknet (*CPD Apparatus E3000, Polaron Equipment*). Die getrockneten Präparate wurden mittels Leitsilber auf Aluminiumstiftprobenträgern befestigt. Noch anhaftende Verunreinigungen der Herz- und Perikardoberfläche wurden über Druckluft mit einer feinen Glaskanüle weggeblasen. Die Oberflächen der so gesäuberten Präparate wurden in einem Beschichtungssystem (*Leica EM ACE200*) mit Platin-Palladium beschichtet.

Die Begutachtung und fotografische Dokumentation der Präparate erfolgte mit einem Zeiss Ultra-Plus *field-emission scanning electron microscope (FE-SEM, Seriennr. 4007)*.

Während Körperscheibenpräparate sowohl äußere als auch innere Aspekte der Anatomie zeigen können, ließ sich bei den, in klassisch-anatomischer Art, von ventral freigelegten Herzen zunächst lediglich die äußere Form und Lage dokumentieren. Um auch hier die anatomischen Verhältnisse der Herzbinnenräume untersuchen und dokumentieren zu können, wurden die Herzkammern, im Anschluss an die fotografische Dokumentation der äußeren Form und Lageverhältnisse, mittels elektrolytisch gespitzter Wolframnadel unter stereomikroskopischer Sichtkontrolle eröffnet. Die freigelegten Binnenoberflächen wurden erneut mit Platin-Palladium beschichtet (s. o.) und es erfolgte eine weitere Untersuchung im REM. Mikropräparation und Beschichtung wurden, wenn zur Darstellung weiterer Aspekte nötig, mehrere Male wiederholt.

Um die Verhältnisse des Herzens auch von dorsal zu dokumentieren, wurde das Herz bei einem Präparat, im Anschluss an die fotografische Dokumentation seiner Lagebeziehungen, aus der Perikardhöhle entfernt und als isoliertes Herz weiter untersucht. Dieses Herz wurde mit seiner ventralen Oberfläche auf einem Aluminiumstiftprobenträger befestigt.

3 Befunde

3.1 Hauptbefunde

3.1.1 Makroskopische Aspekte des Ventrikels

Die geometrische Form des Ventrikels des adulten Zebrafischherzens lässt sich annähernd als eine längsgestreckte, dreiseitige Pyramide beschreiben (Abb. 5). Die Basis dieser Pyramide ist zum kranialen Ende der Perikardhöhle gerichtet und ist mit dem *Bulbus arteriosus* verbunden, der in der Medianebene des Körpers liegt. Der Apex der Pyramide wiederum zeigt zum kaudalen Ende der Perikardhöhle und liegt ebenfalls in der Medianebene. Von den drei Seitenwänden der Ventrikelpyramide ist eine nach rechts-ventral, eine nach links-ventral, und eine nach dorsal-links gerichtet. Die letztgenannte Seitenwand wird im Folgenden vereinfachend als dorsale Wand der Ventrikelpyramide bezeichnet. Sie ist mit dem Atrium über ein kurzes, schlauchförmiges Segment, den AV-Kanal, verbunden. Die Grenze zwischen der rechts-ventralen und links-ventralen Seitenwand der Ventrikelpyramide wird durch eine stumpfe Kante gebildet, die in der Medianebene verläuft. Die rechts-ventrale Seitenwand des Ventrikels berührt die rechte Wand der Perikardhöhle. Auf der linken Seite hingegen findet sich zwischen der links-ventralen Seitenwand und der linken Wand der Perikardhöhle eine Aussackung des Atriums, die im Folgenden als links-ventrales Herzohr bezeichnet wird. Somit zeigt das adulte Zebrafischherz bereits in der Ventralansicht der eröffneten Perikardhöhle eine deutliche bilaterale Asymmetrie.

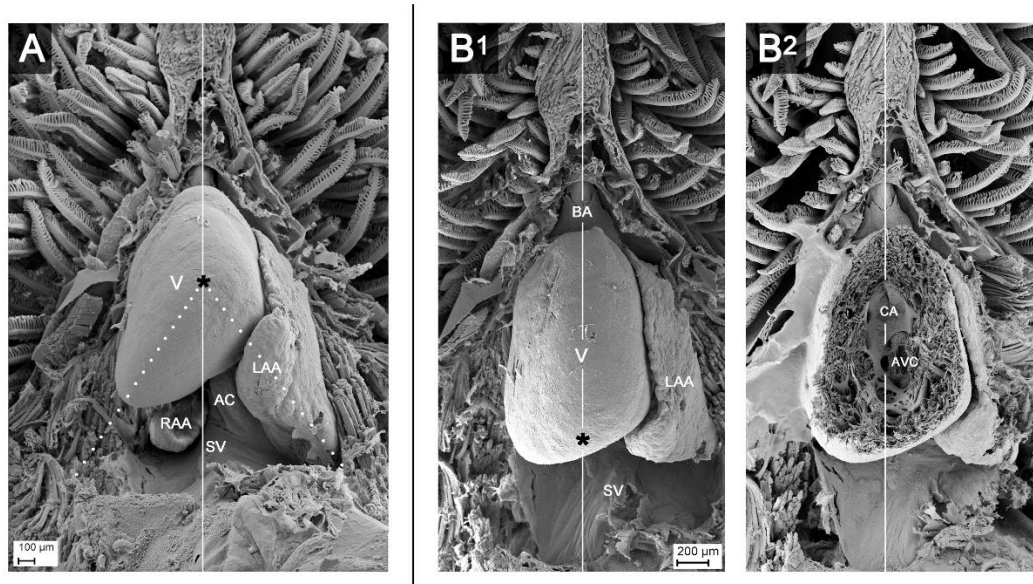


Abb. 5: Gestalt und Topografie des adulten Zebrafischherzens in der eröffneten Perikardhöhle. Ventrale Aspekte. REM-Bilder eines Herzens in Ansichten von ventral-kaudal (A) und ventral (B1, B2). B2 zeigt das Herz nach Eröffnung des Ventrikels. Die Körpermittellinie ist durch vertikale, weiße Linien markiert. Diese markiert ebenfalls die stumpfe Kante zwischen den rechts- und links-ventralen Seitenwänden der Ventrikelpyramide. Der Apex der Ventrikelpyramide ist durch Sternchen (*) gekennzeichnet. Die gestrichelten weißen Linien verdeutlichen den pyramidalen Aspekt des Herzens. Abkürzungen: AC= atrial canal (atrialer Kanal); AVC= AV-canal (AV-Kanal); BA= Bulbus arteriosus; CA= Konus arteriosus; LAA= left atrial auricle (linkes Herzohr); RAA= right atrial auricle (rechtes Herzohr); SV= Sinus venosus. Weitere Abkürzung wie zuvor verwendet.

3.1.2 Makroskopische Aspekte des Atriums und des AV-Kanals

Das Atrium besteht aus zwei Hauptkomponenten: (1.) Einem ventral gelegenen, rinnenförmigen Abschnitt, der in der Hauptstrombahn des Blutes liegt und als atrialer Kanal bezeichnet wird; und (2.) einem dorsal gelegenen, sackförmigen zentralen Hohlraum, der über drei blind-sackartige Nebenräume verfügt, die als Herzohren zu bezeichnen sind (Abb. 5 – 7). Der atriale Kanal und der zentrale Hohlraum des Atriums befinden sich dorsal und links vom Ventrikel und zeigen somit eine linksbetonte Lageasymmetrie. Von den drei oben erwähnten Herzohren befinden sich zwei in der linken Körperhälfte und nur eines in der rechten Körperhälfte (Abb. 6C1). Von den beiden linksgelegenen Herzohren zeigt eines nach ventral und das andere nach dorsal (Abb. 6A1, 6B1, 6C1). Sie werden dementsprechend als links-ventrales und links-dorsales Herzohr benannt (im Verlauf vereinfachend linkes und dorsales Herzohr benannt). Das linke Herzohr erstreckt sich, wie bereits beschrieben, zwischen die links-ventrale Seitenwand der Ventrikelpyramide und die linke Wand der Perikardhöhle. Es ist somit bereits in einer Ventralansicht der eröffneten Perikardhöhle gut sichtbar (Abb. 5). Das rechte Herzohr befindet sich hingegen zwischen der dorsalen Perikardwand und der dorsalen Seitenwand der Ventrikelpyramide (Abb. 7).

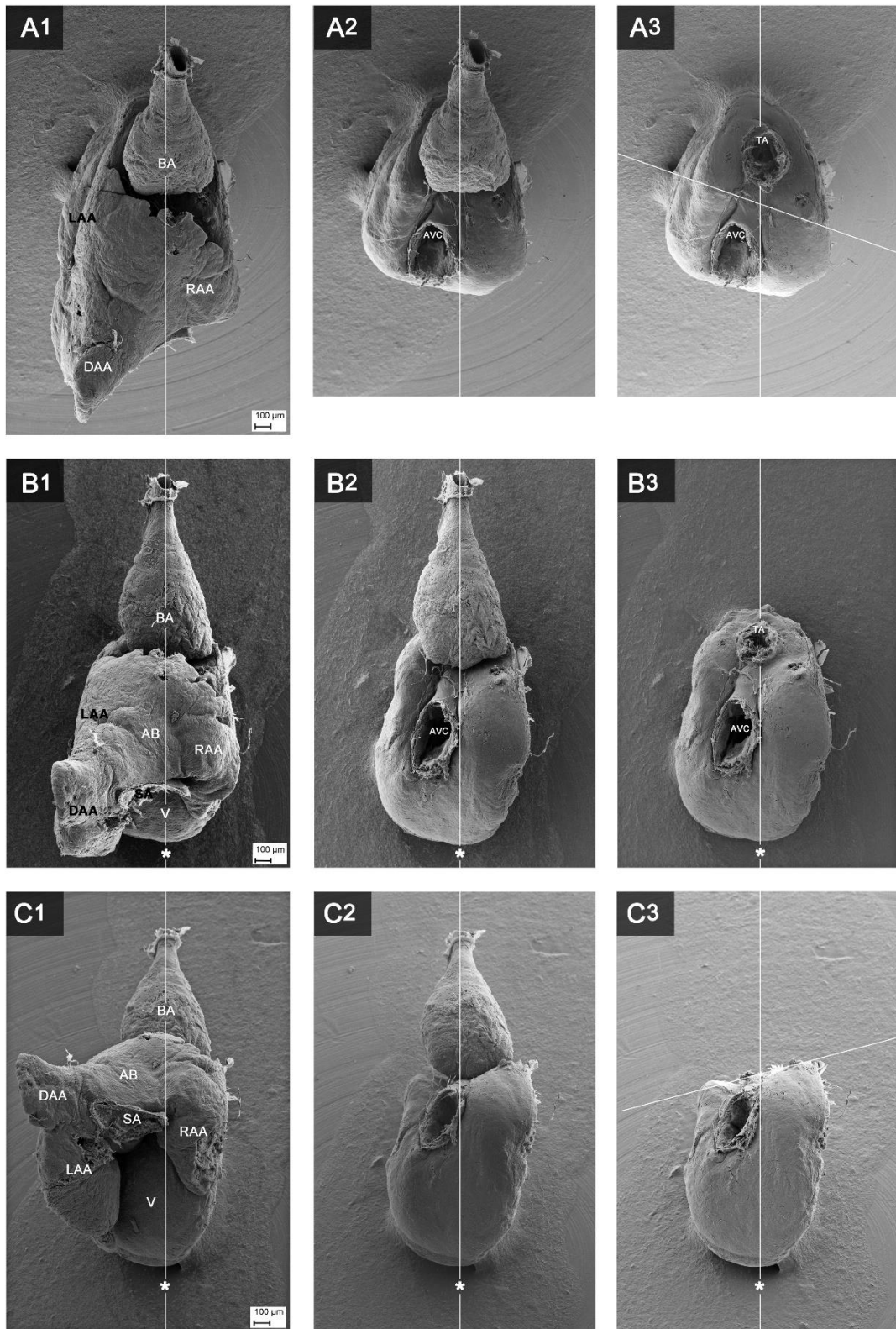


Abb. 6: Gestalt und Topografie eines isolierten adulten Zebrafischherzens. Dorsale Aspekte. Das Herz wurde entsprechend den realen räumlichen Verhältnissen ausgerichtet. REM-Bilder zeigen aufeinander folgende Präparationsschritte (1= intaktes Herz; 2= Herz nach Entfernung des Atriums; 3= Herz nach Entfernung des Atriums und des Bulbus arteriosus) in Ansichten von dorsal-kranial (A1 – A3), dorsal (B1 – B3) und dorsal-kaudal (C1 – C3). Die Medianebene und der Apex des Ventrikels sind durch vertikale Linien bzw. durch Sternchen (*) markiert. Die schräg verlaufende Linie markiert die räumliche Orientierung der dorsalen Wand der Ventrikelpyramide (A3 und C3). Abkürzungen: AB= *atrial body* (atrialer Körper); DAA= *dorsal atrial auricle* (dorsales Herzohr); SA= *sinu-atrialer Kanal*; TA= *Truncus arteriosus*. Weitere Abkürzungen wie zuvor verwendet.

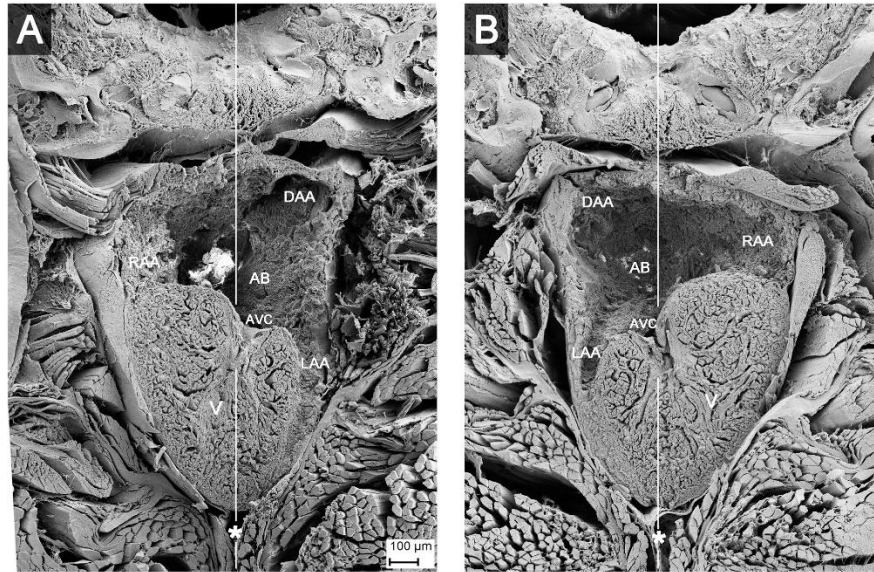


Abb. 7: Gestalt und Topografie des adulten Zebrafischherzens in transversalen Körperscheiben. REM-Bilder zeigen Blicke auf die kaudale (A) und kraniale (B) Schnittfläche desselben Schnittes. Linien- und „*“-Markierung entsprechend Abb. 5. Beachte die asymmetrische Gestalt der Ventrikelpyramide, die sich vor allem in einer Schrägstellung ihrer dorsalen Wand äußert und die asymmetrische Gestalt des Atriums mit drei Herzohren. Die asymmetrischen Gestalten von Ventrikel und Atrium korrespondieren mit den bilateral asymmetrischen Lageverhältnissen des Herzens: Der Ventrikel liegt ventral-rechts und das Atrium dorsal-links. Der AV-Kanal liegt links von der Körpermitte. Abkürzungen wie zuvor verwendet.

Das Atrium ist mit der dorsalen Seitenwand der Ventrikelpyramide über ein kurzes schlauchförmiges Element, den AV-Kanal, verbunden. Ventral geht der AV-Kanal ohne äußerlich sichtbare anatomische Grenze in den stromaufwärts gelegenen atrialen Kanal über. Der letztgenannte rinnenförmige Kanal wiederum geht ebenfalls ohne äußerlich erkennbare ventrale Grenze in ein stromaufwärts gelegenes ringförmiges Element über, das das Atrium mit dem zentralen Sammelgefäß der Venen, dem sogenannten *Sinus venosus*, verbindet. Dieses Verbindungselement wird sinu-atrialer Kanal benannt. Bei rein äußerlicher Betrachtung von ventral bilden der *Sinus venosus*, der sinu-atriale, atriale und AV-Kanal eine trichterförmige Baueinheit, die als venöse Einstrombahn des Ventrikels bezeichnet wird.

3.1.3 Makroskopische Aspekte des *Sinus venosus*, des *Bulbus arteriosus* und der Ventrikelninnenräume

Die venöse Einstrombahn hat die Form eines auf seine Basis gestellten Trichters, der über einen sich stetig verjüngenden Abfluss mit dem Ventrikel verbunden ist (Abb. 8). Der Abfluss des Trichters entspringt in der Körpermittellinie und zieht von hieraus zur dorsalen Seitenwand der Ventrikelpyramide. Im Bereich des Atriums ist die Hinterwand des Abflusses zur sackförmigen Vorkammer erweitert, sodass hier ventral nur ein rinnenförmiger Abfluss ausgebildet ist, der als atrialer Kanal bezeichnet wird (Vgl. 3.1.2). Der Abfluss des venösen Sammeltrichters (*Sinus venosus*) lässt sich somit in die drei o. g. Abschnitte unterteilen: (1.) Einen kurzen ringförmigen Abschnitt, der den *Sinus venosus* mit dem Atrium verbindet und als sinu-atrialer Kanal bezeichnet

wird; (2.) einen rinnenförmigen Abschnitt im Bereich des Atriums, der als atrialer Kanal bezeichnet wird; und (3.) einen kurzen schlauchförmigen Abschnitt, der das Atrium mit dem Ventrikel verbindet und allgemein als AV-Kanal bezeichnet wird. Die Öffnung des AV-Kanals in den Ventrikel hat eine aus vier Segeln (anteriores, posteriores, links- und rechts-laterales) bestehende Klappe und liegt links der Körpermitte in der dorsalen Seitenwand der Ventrikelpyramide (Abb. 9).

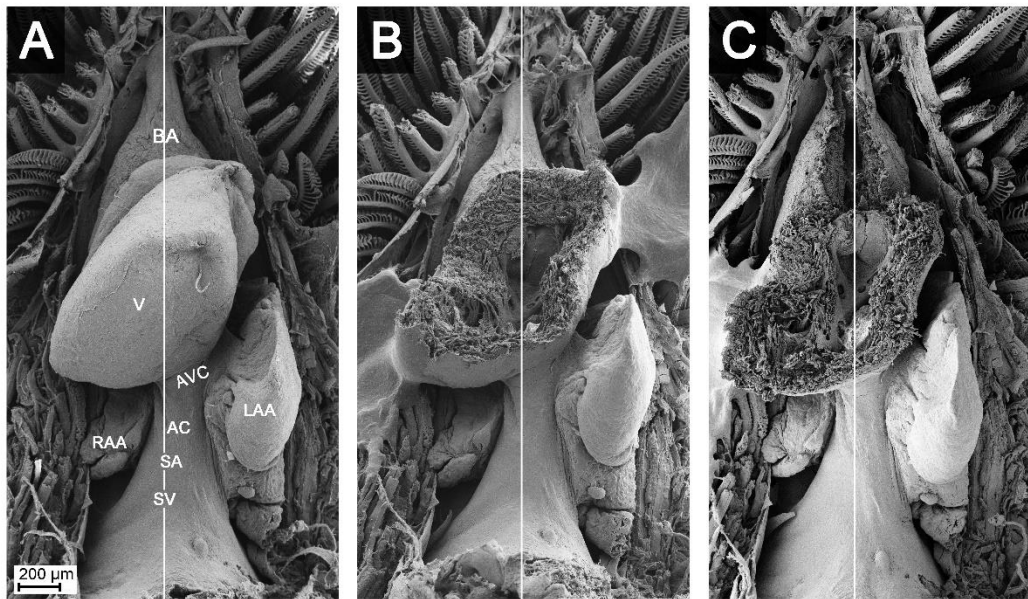


Abb. 8: Gestalt und Topografie der Einstrombahn des adulten Zebrafischherzens. Zur besseren Darstellung der venösen Einstrombahn wurde der Ventrikel vor der Fixierung leicht nach kranial verlagert. REM-Bilder zeigen Ventralansichten eines Herzens in drei aufeinander folgenden Präparationsschritten: A= intaktes Herz; B= Herz mit eröffnetem Ventrikel; C= Herz mit eröffnetem Ventrikel und eröffnetem *Bulbus arteriosus*. Linienmarkierung entsprechend Abb. 5. Die venöse Einstrombahn hat die Form eines auf seine Basis gestellten Trichters, der über einen sich stetig verjüngenden Abfluss mit dem Ventrikel verbunden ist. Beachte den nach links gerichteten Verlauf der venösen Einstrombahn, die über den AV-Kanal (AVC) in den Ventrikel mündet. Beachte weiterhin, dass die Hinterwand des Abflusses im Bereich des Atriums sackartig erweitert ist, sodass die Einstrombahn hier nicht wie ein Rohr, sondern ventral lediglich als eine Art Rinne ausgebildet ist. Abkürzungen wie zuvor verwendet.

Stromabwärts ist der Ventrikel mit dem innerhalb der Perikardhöhle liegenden arteriellen Gefäßstamm, dem sogenannten *Bulbus arteriosus*, über ein sehr kurzes, ringförmiges Element, den sogenannten *Konus arteriosus*, verbunden. Der *Konus arteriosus* liegt an der Basis der Ventrikelpyramide und besitzt eine bikuspidale Klappe, deren Verschlusssebene in der Medianebene des Körpers liegt (siehe Abb. 9). Das Ventrikellumen besteht aus zwei Kompartimenten: (1.) Einem olivenförmigen freien Lumen und (2.) einem System aus miteinander kommunizierenden Hohlräumen das sich, vom freien Lumen ausgehend, in die Lücken zwischen den schwammartigen Trabekeln der Kammermuskulatur erstreckt (Abb. 9). Das olivenförmige freie Ventrikellumen verbindet den AV-Kanal mit dem *Konus arteriosus* und zieht somit von der dorsalen Seitenwand der Ventrikelpyramide zu deren kranial gelegener Basis.

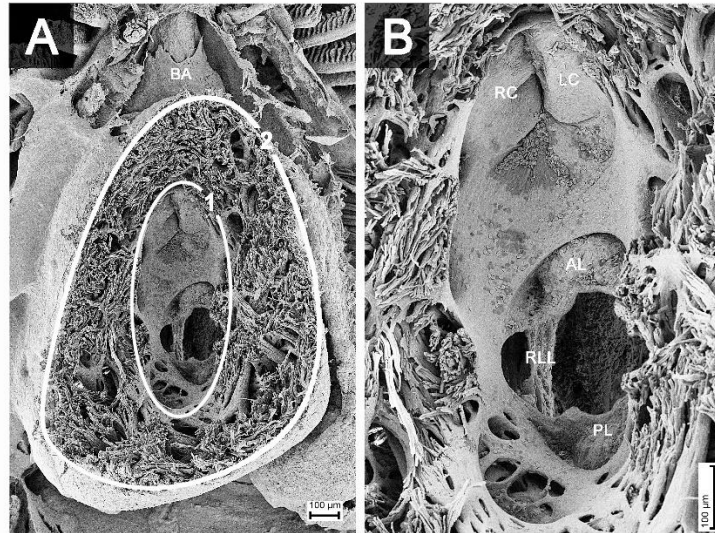


Abb. 9: Gestalt und Topografie der Herzklappen und der Binnenräume des Ventrikels des adulten Zebrafischherzens. REM-Bilder zeigen Ventralansichten eines eröffneten Ventrikels in einer Übersicht (A) und einer Nahaufnahme (B). Beachte die olivenförmige Gestalt des freien Ventrikellumens sowie die schwammartige (trabekuläre) Architektur der Wandmuskulatur. Beachte ferner den bikuspiden Bau der Gefäßklappe sowie den viersegeligen Bau der AV-Klappe, die aus einem vorderen (AL), hinteren (PL), rechts-lateralen (RLL) und links-lateralen (hier nicht zu sehen) Segel besteht. Abkürzungen: AL= *anterior leaflet* (anteriores Segel); PL= *posterior leaflet* (posteriore Segel); RLL= *right lateral leaflet* (rechts-laterales Segel); LC= *left cusp* (linke Spitze); RC= *right cusp* (rechte Spitze). Weitere Abkürzung wie zuvor verwendet.

3.1.4 Zusammenfassung der makroskopischen Aspekte

Zusammenfassend ist festzustellen, dass das adulte Zebrafischherz makroskopisch ein bilateral asymmetrisches Organ ist. Der Ventrikel liegt ventral und rechts vom Atrium und das Atrium liegt dorsal und links vom Ventrikel. Sie liegen in einer Ebene, die schräg zur Median- und Frontalebene verläuft. Der *Sinus venosus* und der *Bulbus arteriosus*, hingegen liegen in der Körpermittellinie und sind annähernd bilateral symmetrisch gebaut.

3.2 Nebenbefunde

Bei verschiedenen Fischarten sind regulär vorkommende, strangförmige Bänder, sogenannte *Ligamenta cardiaca*, beschrieben worden, die die Perikardwand mit der Herzwand verbinden (McWilliam 1885; Grant und Regnier 1926; Foxon 1950; Icardo et al. 2009). Am häufigsten finden sich derartige Bänder zwischen der ventralen Wand des *Sinus venosus* und der dorsalen Wand des Ventrikels (Icardo et al. 2009). In den hier untersuchten Präparaten ließ sich jedoch in keinem Fall ein *Ligamentum cardiacum* finden. Es ist davon auszugehen, dass derartige Ligamente beim Zebrafisch normalerweise nicht vorkommen.

Von den $n = 35$ untersuchten Fischen zeigte ein Exemplar eine Anordnung der Organe, die spiegelbildlich zu den oben beschriebenen Verhältnissen war. Entsprechend wurde der Organismus dieses Fisches als *Situs inversus* klassifiziert.

4 Diskussion

Die vorliegenden Untersuchungen wurden durchgeführt, um die Frage zu klären, ob es sich beim adulten Zebrafischherzen um ein nach Form und Lage bilateral symmetrisches oder bilateral asymmetrisches Organ handelt. Beim adulten Herzen von Lungen atmenden Wirbeltieren (Lungenfische, Amphibien, Reptilien, Vögel und Säuger) handelt es sich regulär um ein bilateral asymmetrisches Organ und die Asymmetrie schafft die baulichen Voraussetzungen für die strukturellen und funktionellen Trennungen der systemischen und pulmonalen Kreisläufe. Der asymmetrische Bau des Herzens höherer Wirbeltiere ist somit eine Voraussetzung für eine korrekte postnatale Herz-Kreislauf-Funktion. Abweichungen von der normalen Herzasymmetrie finden sich bei komplexen angeborenen Herzfehlern. Sie verursachen u. a. abnorme Verbindungen zwischen den systemischen und pulmonalen Kreisläufen.

4.1 Nutzung des Zebrafisches als Modellorganismus für die asymmetrische Morphogenese des Herzens höherer Wirbeltiere

Im Unterschied zu Lungen atmenden Wirbeltieren wird das adulte Herz von Kiemen atmenden Fischen aus der paraphyletischen Gruppe der Strahlenflosser, zu denen auch der Zebrafisch gehört, in der Fachliteratur üblicherweise als ein nach Form und Lage bilateral symmetrisches Gebilde beschrieben (Anthony et al. 1965; Van Mierop und Kutsche 1984; Sánchez-Quintana et al. 1996; Tota 1999; Victor et al. 1999). Es stellt sich somit die Frage, ob der Zebrafisch und weiter gefasst auch Strahlenflosser als passende Tiermodelle für die Genese von angeborenen Herzfehlern beim Menschen, die durch genetisch oder teratogen bedingte Störungen in der Determination der viszeralen Asymmetrien bedingt sind, gelten können. Diese mögliche Limitation des derzeit beliebten Zebrafischmodells wurde in der wissenschaftlichen Literatur bisher nicht hinlänglich diskutiert.

Die Grundlagen für die Form- und Lageverhältnisse des adulten Wirbeltierherzens werden in der Embryonalentwicklung gelegt. Das adulte Herz entwickelt sich bei allen Wirbeltierembryonen aus einem initial symmetrisch gebauten und in der Körpermittellinie liegenden, klappenlosen Herzschlauch. Dieser Herzschlauch ist zunächst gerade und wird in einem als Cardiac Looping bezeichneten Deformationsprozess in eine meist als S-förmig beschriebene Herzschleife umgeformt. Die S-förmig gebogene Herzschleife ist ein bilateral asymmetrisches Gebilde. Ihr atrialer Anteil liegt normalerweise links von der Körpermittellinie und besitzt eine links-konvexe Biegung, während ihr ventrikulärer Anteil normalerweise eine rechts-konvexe Biegung

besitzt und größtenteils rechts von der Körpermittellinie liegt (Stainier et al. 1993; Chen et al. 1997). *Fate-mapping* Studien an Tiermodellen haben gezeigt, dass die äußere Krümmung der Ventrikelbiegung von der ursprünglich ventralen Wand des Herzschlauches gebildet wird, während die äußere Krümmung des embryonalen Atriums von der ursprünglich dorsalen Wand des Herzschlauches gebildet wird (Vgl. Abb. 1 und 10; Christine und Conlon 2008; Baker et al. 2008). Die oben beschriebenen Ausrichtungen der Biegungen nach rechts bzw. links beruhen auf einem Torsionsprozess dessen Richtung durch Zytokin-/ Enzym-Signalkaskaden (z. B. Nodal-Pitx2, BMP, Lefty1, Lefty2) bestimmt wird, die an der Determination der rechts- und linksseitigen Körperidentitäten beteiligt sind (Chen et al. 1997; Lohr und Yost 2000; Boorman und Shimeld 2002; Chocron et al. 2007; Smith et al. 2008; Bakkers 2011; Lenhart et al. 2011).

Die Bildung einer S-förmigen Herzschleife mit den oben beschriebenen Form- und Lagecharakteristika konnte bei allen bisher untersuchten Wirbeltierembryonen, d. h. auch bei Kiemen atmenden Fischen, beobachtet werden. Bei Strahlenflossern wurde jedoch bereits im 19. Jahrhundert beobachtet, dass es während der frühen postembryonalen Entwicklung (Larvenstadien), genauer gesagt nach der Ausbildung der Herzklappen, zu einer Rückverlagerung des Atriums und des Ventrikels in Richtung der Medianebene des Körpers kommt (von Baer 1835). Dieser Prozess wird in der neueren Fachliteratur als Repositioning bezeichnet und scheint, sollten die Angaben in der Fachliteratur zutreffen, zur Wiederherstellung bilateral symmetrischer Verhältnisse zu führen (Singleman und Holtzman 2012; siehe Abb. 18/25 in Kunz-Ramsay 2013). Auch bei Lungen atmenden Wirbeltieren erfolgt eine gewisse Rückbildung der Herzschleifentorsion (Robertson 1914; Männer 2009). Dieser als Untwisting bezeichnete Vorgang scheint sich vom oben genannten Repositioning jedoch dadurch zu unterscheiden, dass er (1.) bereits vor Ausbildung der Herzklappen erfolgt und (2.) nicht zu einer vollständigen Rückbildung der Torsion und damit nicht zur Wiederherstellung symmetrischer Verhältnisse führt (Pernkopf und Wirtinger 1933).

Die Befunde der vorliegenden Arbeit zeigen, dass es sich beim adulten Zebrafischherz um ein nach Lage und Form bilateral asymmetrisches Organ handelt. Sein Ventrikel liegt ventral und rechts vom Atrium und das Atrium liegt dorsal und links vom Ventrikel. Im Unterschied zu den Angaben in der Fachliteratur, die die beiden Kammern des adulten Knochenfischherzens in der Medianebene lokalisieren, liegen der Ventrikel und das Atrium beim adulten Zebrafisch somit in einer Ebene, die schräg zur Median- und Frontalebene des Körpers steht. Lediglich das venöse Sammelgefäß, der sogenannte *Sinus venosus*, und das arterielle Stammgefäß, der sogenannte *Bulbus arteriosus*, liegen in der Körpermittellinie und sind annähernd bilateral symmetrisch

gebaut. Diese Befunde zeigen folglich, dass es beim Zebrafisch während des postembryonalen Cardiac Repositioning offensichtlich nicht zu einer vollständigen Wiederherstellung bilateral symmetrischer Verhältnisse kommt. Die gestaltliche Asymmetrie des Herzens ist daher auch beim Zebrafisch nicht nur auf die embryonale Entwicklungsphase beschränkt, sondern besteht in einem abgeschwächten Ausprägungsgrad während der gesamten postembryonalen Lebensspanne fort.

Auf der Grundlage dieser Befunde lässt sich schlussfolgern, dass die asymmetrische Lageentwicklung des embryonalen und larvalen Zebrafischherzens (Cardiac Looping + Repositioning) durchaus Parallelen zur asymmetrischen Lageentwicklung des embryonalen Herzens bei Lungen atmenden Wirbeltieren (Cardiac Looping + Untwisting) zeigt. Das Zebrafischherz scheint somit, trotz Fehlens eines vierkammerigen Bauplanes, als Modell für die asymmetrische Herzentwicklung von Lungen atmenden Wirbeltieren geeignet zu sein.

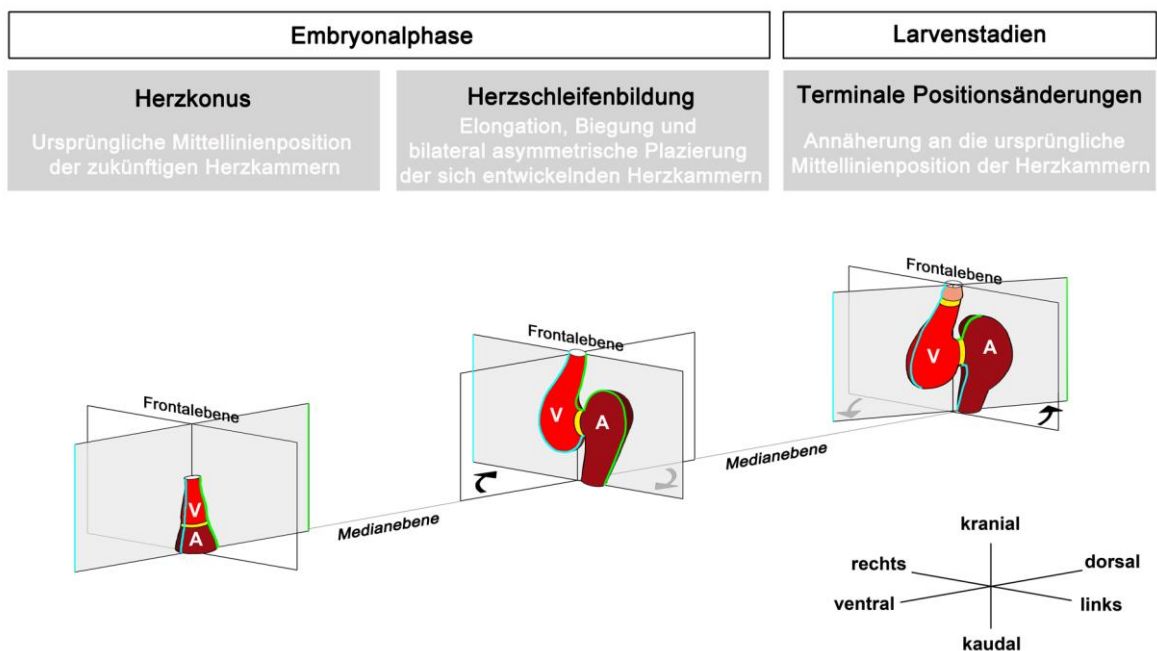


Abb. 10: Modifizierte schematische Darstellung der Form- und Lageentwicklung des Zebrafischherzens in der Embryonalphase und in frühen Larvenstadien (zweiter bis fünfter Entwicklungstag), wie sie sich aufgrund der vorliegenden Befunde darstellt. Gegenüber der früheren Darstellung (Abb. 1) wurde als wesentliche Modifikation im Prozess der „Terminale(n) Positionsänderungen“, die früher als vollständig beschriebene Wiederherstellung der Mittellinienposition durch die unvollständige Wiederherstellung der ursprünglichen Mittellinienposition des Herzens ersetzt. Abkürzungen wie zuvor verwendet.

4.1.1 Kann der asymmetrische Bau des adulten Zebrafischherzens als stellvertretend für den Bau des adulten Fischerherzens angesehen werden?

Es bleibt offen, inwiefern die vorliegenden Befunde vom Zebrafisch auch für andere Kiemen atmende Fischarten gelten. Eine Übersicht von den in der Fachliteratur veröffentlichten Abbildungen legt nahe, dass es bei Fischen hinsichtlich der bilateralen Symmetrie ihrer adulten Herzen keinen einheitlichen Bauplan gibt (siehe z. B. Tiedemann 1809). Vielmehr scheint es ein

Spektrum zu geben, an dessen einem Ende sich Herzen finden, die eine nahezu vollkommene bilateral symmetrische Anatomie zeigen und an dessen anderem Ende sich Herzen finden, deren Ventrikel und Atrium auch im adulten Zustand rechts bzw. links von der Körpermittellinie liegen. Zur erstgenannten Gruppe scheinen die Herzen von urtümlichen Knochenfischen, den sog. Ganoiden (Knochenhechte, Kahlhechte), zu gehören (siehe Abb. 1A, 4, 5 und 8A in Van Mierop und Kutsche 1984). Zur zweitgenannten Gruppe scheinen die Herzen von Rundmäulern (Schleimaale, Neunaugen) zu gehören (Rathke 1826; Santer 1985; Richardson et al. 2010; Icardo et al. 2016).

4.2 Funktionelle Bedeutung der asymmetrischen Morphogenese des embryonalen Wirbeltierherzens

In der Vergangenheit wurde die asymmetrische Form- und Lageentwicklung des embryonalen Wirbeltierherzens (Cardiac Looping) allgemein als Grundlage für eine anatomisch und physiologisch korrekte Ausbildung der systemischen und pulmonalen Strombahnen innerhalb des sich entwickelnden, mehrkammerigen Herzens angesehen (His 1885; Lohr und Yost 2000; Männer 2000; 2009; Bayraktar und Männer 2014). Hiermeier und Männer machten im Jahr 2017 jedoch erstmals darauf aufmerksam, dass diese funktionelle Interpretation des phylogenetisch hochkonservierten Prozesses des Cardiac Loopings lediglich für Lungen atmende Wirbeltiere gelten kann. Bei Kiemen atmenden Wirbeltieren hingegen ergibt diese Interpretation des Cardiac Loopings keinen Sinn, da ihre Herzen lebenslang nur über eine einzige intrakardiale Strombahn verfügen (Hiermeier und Männer 2017). Hieraus ergibt sich die Frage, ob es neben der o. g. Funktion bei Lungen atmenden Wirbeltieren möglicherweise noch eine weitere, phylogenetisch wesentlich ältere Funktion des Cardiac Loopings gibt.

Allgemein wird angenommen, dass das Herz bei allen Wirbeltierspezies während der Embryonalentwicklung eine asymmetrische Form- und Lageentwicklung durchläuft, die als Cardiac Looping bezeichnet wird. Diese Annahme beruht auf der Tatsache, dass dieser Prozess bisher ohne Ausnahme in allen untersuchten Wirbeltierspezies beobachtet wurde. Der bilateral asymmetrische Bau wird daher als ein phylogenetisch hochkonserviertes Merkmal des Wirbeltierherzens angesehen (Bischoff 1842; Santer 1985; Stainier et al. 1993; Lohr und Yost 2000; Sedmera 2011). Sollte die auf qualitativ hochwertigem Bildmaterial (Abb. 1A, 4, 5 und 8A in Van Mierop und Kutsche 1984) beruhende Vermutung zutreffen, dass einige Fischarten im adulten Zustand ein bilateral symmetrisch gebautes Herz besitzen (z. B. Ganoiden), würde dies Folgendes bedeuten: (1.) Die bilaterale Asymmetrie des Herzens kann lediglich als ein während der Embryonalentwicklung von Wirbeltieren hochkonserviertes Merkmal angesehen werden; (2.)

eine phylogenetisch alte Funktion dürfte zeitlich nur auf die Phase der Embryonalentwicklung beschränkt sein.

4.2.1 Führt das Cardiac Looping zu einer Steigerung der Pumpeffizienz des embryonalen Herzschlauches?

Hiermeier und Männer (2017) vermuteten, dass die mit dem Cardiac Looping einhergehenden Deformationen des klappenlosen, embryonalen Herzschlauches zu einer Steigerung seiner Pumpeffizienz führen könnten. Die physikalische Plausibilität dieser Hypothese konnten sie durch Simulationen an physikalischen Modellen von klappenlosen Schlauchpumpen demonstrieren (Hiermeier und Männer 2017). Einige Daten von Zebrafischmutanten haben gezeigt, dass ein Ausbleiben des Cardiac Loopings in der Tat mit einer, gegenüber geloopten Herzen, reduzierten Pumpeffizienz des klappenlosen Herzschlauchs vergesellschaftet ist (Berndt et al. 2014; Kalogirou et al. 2014). Sollte die von Hiermeier und Männer publizierte Hypothese zutreffen, würde sich die durch das Cardiac Looping bedingte Unterstützung der klappenlosen Pumpaktion des embryonalen Herzens mit Ausbildung von Herzklappen erübrigen. Dies ist interessanterweise der Zeitpunkt, bei dem bei Knochenfischlarven das Repositioning einsetzt (Kunz 1964; Singleman und Holtzman 2012; Kunz-Ramsay 2013).

4.2.2 Resultiert das Cardiac Looping lediglich aus einem Packungsproblem?

Andere Autoren haben das Phänomen des Cardiac Loopings lediglich als eine durch ein Packungsproblem („*How to fit an extremely long tube into a relatively small space*“ (Burn und Hill 2009)) verursachte Deformation des Herzschlauches interpretiert, das keine funktionelle Bedeutung für die embryonale Pumpfunktion besitzen soll (Blum et al. 2014; Clowes et al. 2014).

4.2.3 Mögliche Gründe für spezies-spezifische Unterschiede in der gestaltlichen Symmetrie/Asymmetrie des postembryonalen Fischherzens

Es bliebe dann noch die Frage offen, ob es funktionelle Gründe dafür gibt, dass es bei einigen Fischarten postembryonal möglicherweise zu einer vollständigen Wiederherstellung eines bilateral symmetrischen Baues des Herzens kommt (z. B. Ganoiden), während dieser Rückbildungsprozess (Repositioning) bei anderen Spezies nur unvollständig erfolgt (z. B. Zebrafisch). Die Tatsache, dass es sich bei Knochenhechten und Kahlhechten (Ganoiden) um Raubfische handelt, die, im Vergleich zum Zebrafisch, eine enorme Körpergröße erreichen können, lässt vermuten, dass ein symmetrisch gebautes Fischherz, gegenüber einem asymmetrisch gebauten Fischherz, keine wesentlichen Leistungseinschränkungen besitzen dürfte. Tiedemann (1809) und auch spätere Autoren (Robertson 1914; Bremer 1928; Parsons 1930; Santer et al. 1983;

Icardo et al. 2004) stellten fest, dass die Form des adulten Fischherzens mit der Körperform zu korrelieren scheint. Die Gründe für eine vollständige oder unvollständige postembryonale Wiederherstellung eines bilateral symmetrischen Baues des Fischherzens könnten somit in den räumlichen Verhältnissen der postembryonalen Perikardhöhle (Packungsproblem, Vgl. 4.2.2) liegen.

5 Zusammenfassung

Der Zebrafisch ist derzeit ein beliebtes Tiermodell für die Embryonalentwicklung des Wirbeltierherzens. Die Etablierung der Rechts-Links-Körperachse spielt eine wichtige Rolle in der Entwicklung von Wirbeltierherzen. Das Herz ist das erste innere Organ, das im Verlauf der Embryonalentwicklung eine bilateral asymmetrische Gestalt annimmt, was unabdingbar für die korrekte Kreislauffunktion von Lungen atmenden Wirbeltieren ist. Die asymmetrische Morphogenese der frühembryonalen Wirbeltierherzen ist ein phylogenetisch konservierter Prozess. Die asymmetrische Morphogenese des frühembryonalen Wirbeltierherzens wird als Cardiac Looping bezeichnet. In der Zebrafischentwicklung findet das Cardiac Looping während des zweiten Entwicklungstages statt. Der ursprünglich gestreckte und bilateral symmetrische Herzschauch wird im Verlauf des Cardiac Loopings in eine mehrfach gewundene Herzschleife umgewandelt, deren Gestalt einem in der Frontalebene liegenden Buchstaben *S* ähnelt. Während des Cardiac Loopings wird der Ventrikel normalerweise von der Körpermitte in die rechte Körperhälfte verlagert und bildet eine rechts-konvexe Kurvatur. Das Atrium hingegen wird von der Medianebene in die linke Körperhälfte verlagert und bildet eine links-konvexe Kurvatur. Nach neueren Daten sollen die beiden Herzkammern des sich entwickelnden Zebrafischherzens postembryonal (etwa fünfter Entwicklungstag) wieder in eine mediane Position zurückverlagert werden (sogenanntes Repositioning). Weiterhin wird häufig angegeben, dass das adulte Herz von echten Knochenfischen (Teleostier) ein median liegendes, bilateral symmetrisches Gebilde sei. Hierdurch stellt sich die Frage, ob die Ausbildung einer bilateralen Asymmetrie bei Herzen von Knochenfischen lediglich ein auf die embryonalen Stadien begrenztes, zeitlich vorübergehendes Phänomen sein könnte. Sollte dem so sein, wäre es fraglich, ob der Zebrafisch ein taugliches Modell für die asymmetrische Morphogenese des embryonalen Wirbeltierherzens ist. In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob das adulte Zebrafischherz ein bilateral symmetrisches oder ein bilateral asymmetrisches Organ ist.

Zur Klärung dieser Frage wurden die Topografie und Morphologie der Herzen von 35 adulten Zebrafischen (Wildtyp; ein Jahr alt) nach Fixierung und anatomischer Präparation *in situ* mittels Rasterelektronenmikroskopie (Zeiss Ultra-Plus *FE-SEM*) untersucht.

Es zeigte sich, dass der Ventrikel des Zebrafischherzens die Form einer dreiseitigen Pyramide mit einer dorsalen, rechts- und links-ventralen Seitenwand hat. Die Basis dieser Pyramide ist zum kranialen Ende der Perikardhöhle gerichtet. Die rechts-ventrale Seitenwand des Ventrikels

berührt die rechte Perikardwand. Auf der linken Seite findet sich dagegen das links-ventrale Herzohr zwischen der Perikardwand und der links-ventralen Seitenwand des Ventrikels. Das Atrium liegt dorsal und links vom Ventrikel. Es ist mit dem Ventrikel über einen kurzen, schlauchförmigen AV-Kanal verbunden. Die Öffnung des AV-Kanals liegt links der Körpermitte in der dorsalen Wand des Ventrikels und hat eine aus vier Segeln (vorderes, hinteres, links- und rechts-laterales) bestehende Klappe. Stromaufwärts geht das Atrium ohne äußerlich erkennbare Grenze in den *Sinus venosus* über, der median liegt und eine bilateral symmetrische Form hat. Der Ventrikel ist stromabwärts mit dem *Bulbus arteriosus* über ein kurzes, Klappen tragendes Segment verbunden, den sogenannten *Konus arteriosus*. Die Klappe des *Konus arteriosus* ist eine bikuspidale Klappe, deren Verschlussebene in der Medianebene liegt.

Die Befunde zeigen, dass das adulte Zebrafischherz ein nach Lage und Form bilateral asymmetrisches Organ ist. Dieser Befund steht im Widerspruch zu Angaben in der Fachliteratur, die das Herz adulter Teleostier häufig als ein median liegendes, bilateral symmetrisches Organ beschreiben. Die Befunde legen weiterhin nahe, dass es beim Zebrafisch in der postembryonalen Phase während des sogenannten Cardiac Repositioning nicht zu einer vollständigen Rückverlagerung der Herzkammern in ihre ursprüngliche mediane Position kommt. Die Ausbildung eines bilateral asymmetrischen Herzens ist beim Zebrafisch offensichtlich nicht auf die embryonale Entwicklungsphase beschränkt. Ein unvollständiges Cardiac Repositioning ähnelt der letzten Phase des Cardiac Loopings bei Lungen atmenden Wirbeltieren, die durch einen Rückgang der helikalen Verformung der Herzscheife (sogenanntes Untwisting) gekennzeichnet ist. Der Zebrafisch scheint folglich, trotz Fehlens eines Lungenkreislaufes, als Modellorganismus für die asymmetrische Morphogenese des embryonalen Herzens von Lungen atmenden Wirbeltieren geeignet zu sein.

Das Cardiac Looping wird allgemein als ein Formbildungsprozess angesehen, der die anatomischen Grundlagen für die korrekte Ausbildung der intrakardialen Strombahnen bei Lungen atmenden Wirbeltieren schafft. Die Tatsache, dass auch das embryonale Herz von Kiemen atmenden Fischen ein Cardiac Looping durchläuft, wirft die Frage auf, ob es nicht eine weitere, phylogenetisch wesentlich ältere Funktion gibt. Als mögliche Funktionen werden die Steigerung der Pumpeffizienz des klappenlosen embryonalen Herzschauches und das Packungsproblem diskutiert.

6 Literaturverzeichnis

- Anthony J, Millot J, Robineau D (1965): Le cœur et l'aorte ventrale de *Latimeria chalumnae* (Poisson Coelacanthidé). *CR Acad Sci* 261, 223-226
- Asami I: Development of the outflow tract of the rat embryonic heart. In: 5th European Congress, *Argumenta Communicationum* (Abstract book), Prague 1979, 14
- Baker K, Holtzman NG, Burdine RD (2008): Direct and indirect roles for Nodal signaling in two axis conversions during asymmetric morphogenesis of the zebrafish heart. *PNAS* 105, 13924-13929
- Bakkers J (2011): Zebrafish as a model to study cardiac development and human cardiac disease. *Cardiovasc Res* 91, 279-288
- Bartram U, Wirbelauer J, Speer CP (2005): Heterotaxy syndrome – asplenia and polysplenia as indicators of visceral malposition and complex congenital heart disease. *Biol Neonate* 88, 278-290
- Bayraktar M, Männer J (2014): Cardiac looping may be driven by compressive loads resulting from unequal growth of the heart and pericardial cavity. Observations on a physical model. *Front Physiol* 5, 112
- Berndt C, Poschmann G, Stühler K, Holmgren A, Bräutigam L (2014): Zebrafish heart development is regulated via glutaredoxin 2 dependent migration and survival of neural crest cells. *Redox Biol* 2, 673-678
- Bischoff TLW: *Entwicklungsgeschichte des Säugethier- und Menscheneies*; Leopold Voß, Leipzig 1842
- Blum M, Feistel K, Thumberger T, Schweickert A (2014): The evolution and conservation of left-right patterning mechanisms. *Development* 141, 1603-1613
- Boorman CJ, Shimeld SM (2002): The evolution of left-right asymmetry in chordates. *Bio-Essays* 24, 1004-1011
- Bremer JL (1928): Part I. An interpretation of the development of the heart. Part II. The left aorta of reptiles. *Am J Anat* 42, 307-369
- Brown DR, Samsa LA, Qian L, Liu J (2016): Advances in the Study of Heart Development and Disease Using Zebrafish. *J Cardiovasc Dev Dis* 3, 13
- Burn SF, Hill RE (2009): Left-right asymmetry in gut development: what happens next? *Bio-Essays* 31, 1026-1037

- Chen JN, van Eeden FJ, Warren KS, Chin A, Nüsslein-Volhard C, Haffter P, Fishman MC (1997): Left-right pattern of cardiac BMP4 may drive asymmetry of the heart in zebrafish. *Development* 142, 4373-4382
- Chocron S, Verhoeven MC, Rentzsch F, Hammerschmidt M, Bakkers J (2007): Zebrafish Bmp4 regulates left-right asymmetry at two distinct developmental time points. *Dev Biol* 305, 577-588
- Christine KS, Conlon FL (2008): Vertebrate CASTOR is required for differentiation of cardiac precursor cells at the ventral midline. *Dev Cell* 14, 616-923
- Clowes C, Boylan MG, Ridge LA, Barnes E, Wright JA, Hentges KE (2014): The functional diversity of essential genes required for mammalian cardiac development. *Genesis* 52, 713-737
- Foxon GEH (1950): A description of the coronary arteries in dipnoan fishes and some remarks on their importance from the evolutionary standpoint. *J Anat* 84, 121-131
- Glickman NS, Yelon D (2002): Cardiac development in zebrafish: coordination of form and function. *Semin Cell Dev Biol* 13, 507-513
- Grant RT, Regnier M (1926): The comparative anatomy of the cardiac coronary vessels. *Heart* 13, 285-317
- Goette A: Die Entwicklungsgeschichte der Unke (*Bombinator igneus*) als Grundlage einer vergleichenden Morphologie der Wirbelthiere; Leopold Voß, Leipzig 1875
- Hiermeier F, Männer J (2017): Kinking and Torsion Can Significantly Improve the Efficiency of Valveless Pumping in Periodically Compressed Tubular Conducts. Implications for Understanding of the Form-Function Relationship of Embryonic Heart Tubes. *J Cardiovasc Dev Dis* 4, 19
- His W: Anatomie menschlicher Embryonen III. Zur Geschichte der Organe; F.C.W. Vogel, Leipzig 1885
- Hu N, Sedmera D, Yost HJ, Clark EB (2000): Structure and Function of the Developing Zebrafish Heart. *Anat Rec* 260, 148-157
- Hu N, Yost HJ, Clark EB (2001): Cardiac Morphology and Blood Pressure in the Adult Zebrafish. *Anat Rec* 264, 1-12
- Icardo JM, Guerrero A, Duran AC, Domezian A, Colvee E, Sans-Coma V (2004): The development of the sturgeon heart. *Anat Embryol* 208, 439-449
- Icardo JM, Guerrero A, Durán AC, Colvee E, Domezain A, Sans-Coma V (2009): The Development of the epicardium in the sturgeon *Acipenser naccarii*. *Anat Rec* 292, 1593-1601

- Icardo JM, Colvee E, Schorno S, Lauriano ER, Fudge DS, Glover CN, Zaccone G (2016): Morphological analysis of the hagfish heart I: The ventricle, the arterial connection and the ventral aorta. *J Morphol* 277, 326-340
- Jacobs JP, Anderson RH, Weinberg PM, Walters HL 3rd, Tchervenkov CI, Del Duca D, Franklin RC, Aiello VD, Béland MJ, Colan SD et al. (2007): The nomenclature, definition and classification of cardiac structures in the setting of heterotaxy. *Cardiol Young* 17 (Suppl 2), 1-28
- Kalogirou S, Malissovas N, Moro E, Argenton E, Stainier DYR, Beis D (2014): Intracardiac flow dynamics regulate atrioventricular valve morphogenesis. *Cardiovasc Res* 104, 49-60
- Kimmel CB, Ballard WW, Kimmel SR, Ullmann B, Schilling TF (1995): Stages of embryonic development of the zebrafish. *Dev Dyn* 203, 253-310
- Kunz Y (1964): Morphologische Studien über die embryonale und postembryonale Entwicklung bei Teleostiern mit besonderer Berücksichtigung des Dottersystems und der Leber. *Rev Suisse Zool* 71, 445-525
- Kunz-Ramsay Y: *Developmental biology of Teleost fishes*; Springer Science & Business Media, Dordrecht 2013
- Larsen WJ, Schoenwolf GC: *Larsen's Human Embryology*. 4. Auflage; Churchill Livingstone/Elsevier, Philadelphia 2009
- Lee RKK, Stainier DYR, Weinstein BM, Fishman MC (1994): Cardiovascular development in the zebrafish. II. Endocardial progenitors are sequestered within the heart field. *Development* 120, 3361-3366
- Lenhart KF, Lin SY, Titus TA, Postlethwait JH, Burdine RD (2011): Two additional midline barriers function with midline *lefty1* expression to maintain asymmetric Nodal signaling during left-right axis specification in zebrafish. *Development* 138, 4405-4410
- Lohr JL, Yost HJ (2000): Vertebrate model systems in the study of early human development: *Xenopus* and zebrafish. *Am J Med Genet* 97, 248-257
- Ludwig W: *Das Rechts-Links-Problem im Tierreich und beim Menschen*; Springer Berlin Heidelberg, Berlin 1932
- Männer J (2000): Cardiac looping in the chick embryo: a morphological review with special reference to terminological and biomechanical aspects of the looping process. *Anat Rec* 259, 248-262
- Männer J (2004): On rotation, torsion, lateralization, and handedness of the embryonic heart loop: new insights from a simulation model for the heart loop of chick embryos. *Anat Rec* 278A, 481-492

- Männer J (2009): The anatomy of cardiac looping: A step towards the understanding of the morphogenesis of several forms of congenital cardiac malformations. *Clin Anat* 22, 21-35
- Männer J, Seidl W, Steding G (1996): Experimental study on the significance of abnormal cardiac looping for the development of cardiovascular anomalies in neural crest-ablated chick embryos. *Anat Embryol* 194, 289-300
- McWilliam JA (1885): On the Structure and Rhythm of the Heart in Fishes, with especial reference to the Heart of the Eel. *J Physiol* 6, 192-292
- Meyer R (1913): Die ursächlichen Beziehungen zwischen dem Situs viscerum und Situs cordis. *Arch Entwicklung Org* 37, 85-107
- Müther S, Dähnert I (2000): Das Heterotaxiesyndrom. *Z Herz Thorax Gefasschir* 14, 134-136
- Parsons CW (1930): The conus arteriosus of fishes. *Q J Microsc Sci* 73, 145-176
- Pernkopf E, Wirtinger W (1933): Die Transposition der Herzostien – ein Versuch der Erklärung dieser Erscheinung. I. Teil. Die Pheronomie der Herzentwicklung. *Z Anat Entwickl Gesch* 100, 563-711
- Rathke H: Bemerkungen über den inneren Bau der Pricke oder des Petromyzon fluvialis des Linneus; Botzon L, Danzig 1826
- Richardson MK, Admiraal J, Wright GM (2010): Developmental anatomy of lampreys. *Biol Rev* 85, 1-33
- Robertson JI (1914): The development of the heart and vascular system in *Lepidosiren paradoxa*. *Q J Microsc Sci* 59, 53-132
- Rohr S, Otten C, Abdelilah-Seyfried S (2008): Asymmetric involution of the myocardial field drives heart tube formation in the zebrafish. *Circulation Res* 102, E12-E19
- Sánchez-Quintana D, García-Martínez V, Climent V, Hurlé JM (1996): Myocardial fiber and tissue architecture in the fish heart ventricle. *J Exp Zool* 275, 112-124
- Santer RM (1985): Morphology and Innervation of the Fish Heart. *Adv Anat Embryol Cell Biol* 89, 1-102
- Santer RM, Walker MG, Emerson L, Witthames PR (1983): On the morphology of the heart ventricle in marine teleost fish (teleostei). *Comp Biochem Physiol* 76, 453-457
- Schindler YL, Garske KM, Wang J, Firulli BA, Firulli AB, Poss KD, Yelon D (2014): Hand2 elevates cardiomyocyte production during zebrafish heart development and regeneration. *Development* 141, 3112-3122
- Schoenebeck JJ, Yelon D (2007): Illuminating cardiac development: Advances in imaging add new dimensions to the utility of zebrafish genetics. *Semin Cell Dev Biol* 18, 27-35
- Sedmera D (2011): Function and form in the developing cardiovascular system. *Cardiovasc Res* 91, 252-259

- Singleman C, Holtzman NG (2012): Analysis of postembryonic heart development and maturation in the zebrafish, *Danio rerio*. *Dev Dyn* 241, 1993-2004
- Smith KA, Chocron S, von der Hardt S, de Pater E, Soufan A, Bussmann J, Schulte-Merker S, Hammerschmidt M, Bakkers J (2008): Rotation and asymmetric development of the zebrafish heart requires directed migration of cardiac progenitor cells. *Dev Cell* 14, 287-297
- Stainier DYR, Lee RKK, Fishman MC (1993): Cardiovascular development in the zebrafish. I. Myocardial fate map and heart tube formation. *Development* 119, 31-40
- Tiedemann DF: Anatomie des Fischherzens; Thomann J, Landshut 1809
- Tota B: Heart. Chapter 10. In: Hamlett WC (Hrsg.): Sharks, skates, and rays: the biology of elasmobranch fishes. Johns Hopkins University Press, Baltimore 1999, 238-272
- Van Mierop LHS, Kutsche LM: Comparative anatomy and embryology of the ventricles and arterial pole of the vertebrate heart. In: Nora JJ, Takao A (Hrsg.): Congenital heart disease: causes and processes. Futura (Futura Pub. Co), Mount Kisco, New York 1984, 459-479
- Victor S, Nayak VM, Rajasingh R (1999): Evolution of the Ventricles. *Tex Heart Inst* 26, 168-176
- Von Baer KE: Über die Entwicklungsgeschichte der Fische nebst einem Anhang über die Schwimmblase; F.C.W. Vogel, Leipzig 1835

Danksagung

Für die Themenstellung dieser Dissertation möchte ich Herrn PD Dr. med. Jörg Männer herzlich danken. Es ist nicht zuletzt seiner stets anregenden und ausgezeichneten Betreuung, seinem geschulten Auge für das Wesentliche und seiner unermüdlichen Unterstützung zu verdanken, dass ich die vorliegende Dissertation fertigstellen konnte.

Mein besonderer Dank für den freundlichen und kompetenten Beistand bei der Arbeit im Labor und bei der zeitaufwendigen Vorbereitung und Bildeinstellung der Präparate im REM gilt Herrn Hans-Georg Sydow.

Auch Herrn PD Dr. Roland Dosch möchte ich meinen Dank äußern, der mir freundlicherweise die adulten Zebrafische zur Verfügung stellte.