

Inhaltsverzeichnis

1 **EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG**..... 1

2 **LITERATURÜBERSICHT** 2

2.1 **In-vitro-Penetrationstests zur Beurteilung der Samenzellqualität** 2

2.1.1 In-vitro-Penetrationstests in der Humanmedizin 2

2.1.2 In-vitro-Penetrationstests in der Veterinärmedizin 12

3 **MATERIAL UND METHODEN** 18

3.1 **Herstellung der Polyacrylamid-Gele** 18

3.1.1 Herstellung des 2 %-igen Polyacrylamid-Gels (PAG 2) 18

3.1.2 Herstellung des 1,9 %-igen Polyacrylamid-Gels (PAG 1,9) 19

3.1.3 Herstellung der Pufferlösungen..... 19

3.1.3.1 Herstellung von Puffer I 19

3.1.3.2 Herstellung von Puffer II 19

3.1.3.3 Herstellung von Puffer III 20

3.1.3.4 Herstellung der phosphatgepufferten Salzlösung zur Dialyse 20

3.2 **Herstellung der Agarose-Gele** 21

3.2.1 Herstellung des 0,1 %-igen Agarose-Gels 21

3.2.2 Herstellung des 0,2 %-igen Agarose-Gels 21

3.2.3 Herstellung des 0,3 %-igen Agarose-Gels 22

3.2.4 Herstellung des 0,4 %-igen Agarose-Gels 22

3.2.5 Herstellung des 0,5 %-igen Agarose-Gels 22

3.2.6 Herstellung der phosphatgepufferten Salzlösung 22

3.3 **Spermavorbereitung**..... 23

3.3.1.1 Versuchsaufbau I – Vorbereitung und Untersuchung des
Tiefgefrierspermas 23

3.3.1.2 Lichtmikroskopische Beurteilung des Spermas im Eosin-Ausstrich .. 24

3.3.1.3 Computergestützte Spermaanlyse 24

3.3.2 Versuchsaufbau II – Nativsperma 26

3.3.2.1 Gewinnung und Untersuchung der Ejakulate 26

3.3.2.2 Einfrieren des Frischspermas..... 27

3.4 **Migrationstest** 28

3.4.1 Auswahl der geeigneten Kapillaren..... 28

3.4.2	Durchführung des Migrationstests mittels Polyacrylamid-Gel	28
3.4.3	Durchführung des Migrationstests mittels Agarose-Gel	30
3.4.4	Auswertung des Migrationstests	31
3.5	Statistische Auswertung	35
4	ERGEBNISSE	37
4.1	Vorversuche	37
4.1.1	Schwierigkeiten bei der Herstellung der synthetischen Medien	37
4.1.2	Bildung von Luftblasen.....	37
4.1.3	Auswahl der geeigneten Pailletten/Kapillaren.....	38
4.2	Hauptversuche.....	39
4.2.1	Versuchsaufbau I - Tiefgefrier-Samen	39
4.2.1.1	Spermatologische Parameter	39
4.2.1.2	Penetrationstest in Agarose-Gel.....	40
4.2.1.3	Penetrationstest in Polyacrylamid-Gel.....	44
4.2.1.3.1	Unterschied zwischen Ansatz 1 und Ansatz 2.....	44
4.2.1.3.2	Ergebnisse des Penetrationstests in Bezug auf die einzelnen Medien	44
4.2.1.3.3	Korrelationen zwischen den Auswertmethoden.....	53
4.2.1.3.4	Korrelationen zwischen den Auswertmethoden und Parametern der spermatologischen Untersuchung.....	56
4.2.2	Versuchsaufbau II - Nativsperma.....	62
4.2.2.1	Einfluss der Behandlung der Ejakulate.....	62
4.2.2.2	Ergebnisse des Penetrationstests vor und nach Kryokonservierung.....	69
5	DISKUSSION.....	74
5.1	Diskussion der Fragestellung.....	74
5.2	Diskussion der Methode	75
5.3	Diskussion der Ergebnisse.....	78
5.3.1	Penetrationsmedium	78
5.3.2	Auswertung des Penetrationstests.....	79
5.3.3	Auswertmethoden und spermatologische Untersuchung.....	80
5.3.4	Puffer	82
5.3.5	Behandlung der Samenzellen.....	83
5.3.6	Ergebnisse des Penetrationstests vor und nach Kryokonservierung	84

5.3.7	Empfehlung zur Durchführung des Kapillarpenetrationstestes	86
5.3.8	Weiterer Forschungsbedarf.....	86
6	ZUSAMMENFASSUNG.....	87
7	SUMMARY	89
8	LITERATURVERZEICHNIS.....	91