

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Fragestellung	16
2	Literatur	18
2.1	Terminologie vesikulärer Strukturen im luminalen Kompartiment des männlichen Geschlechtstrakts	18
2.2	Gewinnung von vesikulären Strukturen	19
2.3	Vesikel in der Sekretionsflüssigkeit des Genitaltrakts des Mannes	20
2.3.1	Ursprung der Vesikel	20
2.3.2	Vesikel aus dem Seminalplasma	21
2.3.3	Vesikel aus dem Nebenhodenepithel (Epididymosomen)	37
2.3.4	Vesikel aus prostatischen Tumorzellen und deren Bedeutung für die Tumordiagnostik	38
2.4	Vesikel in der Sekretionsflüssigkeit des Genitaltrakts der Rattenspermien (Kaninchen)	40
2.4.1	Ursprung und Morphologie der Vesikel	40
2.4.2	Biochemie der Vesikel	41
2.4.3	Interaktion der Vesikel mit Spermien	42
2.5	Vesikel in der Sekretionsflüssigkeit des Genitaltrakts des Ebers	44
2.5.1	Ursprung der Vesikel	44
2.5.2	Morphologie der Vesikel	44
2.5.3	Biochemie der Vesikel	45
2.5.4	Interaktion der Vesikel mit Spermien	45
2.6	Vesikel in der Sekretionsflüssigkeit des Genitaltrakts des Bullen	46
2.6.1	Ursprung der Vesikel	46
2.6.2	Vesikulosomen	47
2.6.3	Epididymosomen	48
2.7	Vesikel in der Sekretionsflüssigkeit des Genitaltrakts des Schafbocks	51
2.7.1	Morphologie und Ursprung der Vesikel	51
2.7.2	Biochemie der Vesikel	52
2.7.3	Interaktion der Vesikel mit Spermien	52
2.8	Vesikel in der Sekretionsflüssigkeit des Genitaltrakts des Hengstes	53
2.8.1	Morphologie der Vesikel	53
2.8.2	Biochemie der Vesikel	53
2.8.3	Interaktion der Vesikel mit den Spermien	54
2.9	Vesikel in der Sekretionsflüssigkeit des Genitaltrakts des Rüden	55
2.9.1	Ursprung der Vesikel	55

2.9.2	Morphologie der Vesikel	56
2.9.3	Biochemie der Vesikel	56
3	Material und Methoden	57
3.1	Probanden	57
3.2	Spermagewinnung	57
3.3	Spermatologische Untersuchung	58
3.3.1	Progressive Spermienmotilität	59
3.3.2	Dichte	59
3.3.3	Lebend-Tot-Verhältnis (Eosin-gefärbter Spermienausstrich)	60
3.3.4	Pathomorphologie (Eosin-gefärbter Spermienausstrich)	60
3.4	Aufreinigung der Vesikel	60
3.4.1	Ermittlung des Zentrifugationsprotokolls (Vorversuch)	61
3.4.2	Aufreinigungsprotokoll	62
3.4.3	Proteinbestimmung mittels BCA-Kit	65
3.5	Elektronenmikroskopie	67
3.5.1	Gewinnung der Vesikelproben (Vorversuch)	67
3.5.2	Aufbereitung der Proben für die Elektronenmikroskopie	68
3.5.3	Deskriptive und statistische Auswertung	69
3.6	Proteinanalyse	70
3.6.1	SDS-PAGE	70
3.6.2	MALDI-TOF-MS	73
3.7	Lipidanalyse	74
3.7.1	Ansetzen der Lipidstandardlösungen	74
3.7.2	Lipid-Extraktion nach Folch (modifiziert)	75
3.7.3	Dünnschichtchromatographie	76
3.8	Untersuchung der vesikulären Wirkung auf Tiefgefriersperma	84
3.8.1	Studiendesign und Zielsetzung	84
3.8.2	Dichthegradientenzentrifugation	85
3.8.3	Kryokonservierung des Spermias	88
3.8.4	Spermatologische Untersuchung	89
3.8.5	Statistische Auswertung	92
4	Ergebnisse	94
4.1	Ergebnisse der Lichtmikroskopie	94
4.2	Ergebnisse der Transelektronenmikroskopie	98
4.2.1	Deskriptive Beobachtung	98

4.2.2	Messung der Vesikeldurchmesser	103
4.2.3	Häufigkeitsverteilung der unterschiedlichen Vesikeltypen	105
4.3	Ergebnisse der Lipidanalyse	108
4.4	Ergebnisse der Proteinanalyse	111
4.4.1	SDS-PAGE	111
4.4.2	MALDI-TOF-Analyse	114
4.5	Ergebnisse des Tiefgefrierversuches	115
4.5.1	Tiefgefrierversuch Teil 1	115
4.5.2	Tiefgefrierversuch Teil 2	133
5	Diskussion	145
5.1	Diskussion der Fragestellung	145
5.2	Diskussion der Methodik	147
5.2.1	Diskussion der Probandenauswahl	147
5.2.2	Methodik der Vesikelaufreinigung	148
5.2.3	Methodik der Spermagewinnung	151
5.2.4	Methodik der spermatologischen Untersuchung	151
5.2.5	Methodik der Elektronenmikroskopie	153
5.2.6	Methodik der Proteinanalyse	154
5.2.7	Methodik der Lipidanalyse	154
5.2.8	Methodik des Tiefgefrierversuches	156
5.3	Diskussion der Ergebnisse	163
5.3.1	Elektronenmikroskopie	163
5.3.2	Proteinanalyse	166
5.3.3	Lipidanalyse	170
5.3.4	Tiefgefrierversuch	177
5.4	Schlussbetrachtung und Fazit für die Praxis	184
5.5	Offene Fragestellungen	186
6	Zusammenfassung	187
7	Summary	190
8	Literaturverzeichnis	193
9	Anhang	219
10	Danksagung	247