

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	S. 7-9
2. Literatur	S. 10-43
2.1 Kryokonservierung von Spermien bei verschiedenen Spezies	S. 10-11
2.2 Ursachen für Schäden am Spermium durch die Kryokonservierung	S. 12-13
2.2.1 Intrazelluläre Eiskristallbildung	
2.2.2 Cold-Shock	
2.2.4 Auftauprozess	
2.3 Auswirkungen des DNA-Schadens am Spermium	S. 13-16
2.4 Kryoprotektiva	S. 16-24
2.5 Alternativen zur Kryokonservierung	S. 25-28
2.5.1 Vitrifikation	
2.5.2 Gefriertrocknung	
2.5.3 Mikroverkapselung	
2.6 Double-Freezing und Reverse-Sexing	S. 28-32
2.7 Methoden zur Bestimmung der DNA-Integrität der Spermien	S. 32-36
2.7.1 Sperm-Chromatin-Struktur-Assay (SCSA) und DNA-Fragmentations-Index (DFI)	
2.7.2 TUNEL-Assay	
2.7.3 Comet-Assay	
2.7.4 Sperm Bos Halomax-Assay	
2.8 In-vitro-Produktion (IVP) von Embryonen	S. 36-40
2.9 In-vitro-Produktion für die Erhaltung bedrohter Spezies	S. 40-43
3. Material und Methoden	S. 44-64
3.1 Herstellung der Straw-Cuts	S. 44-45
3.2 Auftauen und Aufbereiten der Straw-Cuts	S. 45-46
3.2.1 Aufbereitung für die Computer assistierte Samen-Analyse (CASA)-Messung	
3.2.2 Aufbereitung für die IVP	
3.3 Aufbereitung mit verschiedenen Spermfilterkonzentrationen	S. 46-47

3.4 Vergleich des Spermaz von verschiedenen Bullen	S. 47
3.5 Herstellen des Refreezing-Spermaz	S. 47-48
3.6 Auftauen und Aufbereitung des Refreezing-Spermaz	S. 48
3.7 Auftauen und Aufbereitung des TG-Spermaz für die Kontrollgruppe	S. 48-49
3.8 Auswertung des Spermaz der unterschiedlichen Gruppen	S. 49-52
3.9 Ermittlung des DFI	S. 53
3.10 IVP der Embryonen	S. 53-58
3.10.1 Gewinnung und Transport der Ovarien	
3.10.2 Gewinnung der Kumulus-Oozyten-Komplexe (KOK)	
3.10.3 Selektion der KOK	
3.10.4 In-vitro-Maturation (IVM)	
3.10.5 In-vitro-Fertilisation (IVF)	
3.10.6 In-vitro-Kultivierung (IVC)	
3.10.7 Ermittlung der Teilungs- und Entwicklungsrationen	
3.11 Statistische Auswertung	S. 58
3.12 Versuchsaufbau	S. 59-64
 4. Ergebnisse	S. 65-88
4.1 Ergebnisse der Vorversuche	S. 65-80
4.1.1 Verschiedene Spermfilterkonzentrationen	
4.1.2 Dichtegradient	
4.1.3 Vergleich von unterschiedlichen Bullen-TG-Sperma	
4.1.4 Refreezing	
4.1.5 Sperm-Cuts: Vergleich verschiedener Varianten der Herstellung	
4.1.6 Vergleich von Mittel- und Endstücken der Sperm-Cuts	
4.2 Ergebnisse der Hauptversuche	S. 80-88
4.2.1 Spermienkonzentration	
4.2.2 Motilität der Spermien	
4.2.3 Anteil lebender Spermien	
4.2.4 DFI	
4.2.5 IVP	

5. Diskussion	S. 89-115
5.1 Ergebnisse der Vorversuche	S. 89-95
5.2 Ergebnisse der Hauptversuche	S. 95-112
5.2.1 Sperm-Cuts End- und Mittelstücke	
5.2.2 Refreezing	
5.2.3 DFI	
5.3 Schlussfolgerungen und Fazit für die IVP	S. 112-115
6. Zusammenfassung	S. 116-117
7. Summary	S. 118-119
8. Verzeichnisse	S. 120-128
8.1 Abkürzungsverzeichnis	S. 120-122
8.2 Abbildungsverzeichnis	S. 122-124
8.3 Tabellenverzeichnis	S. 125-128
9. Anhang	S. 129-162
9.1 Einzeldaten	S. 129-149
9.2 Medien	S. 150-159
9.3 Labormaterial und Geräte	S. 160-161
9.4 Voreinstellungen CASA-System	S. 162
10. Literaturverzeichnis	S. 163-175
11. Danksagung	S. 176