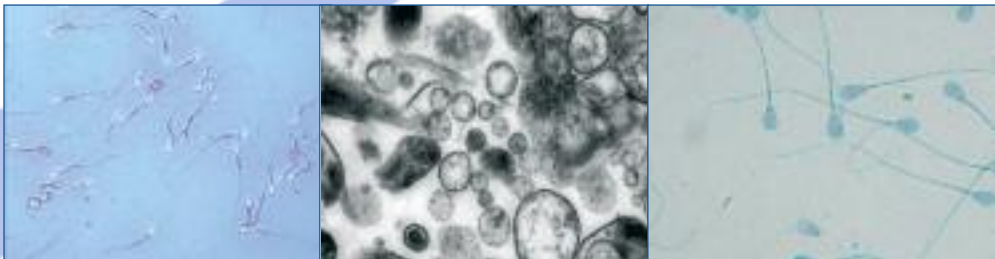




Abschlussbericht

Bläschen für eine bessere Fruchtbarkeit

aus der gkf-Info 38 | Dezember 2013



Gesellschaft zur Förderung Kynologischer Forschung



Gesellschaft zur Förderung Kynologischer Forschung e.V.

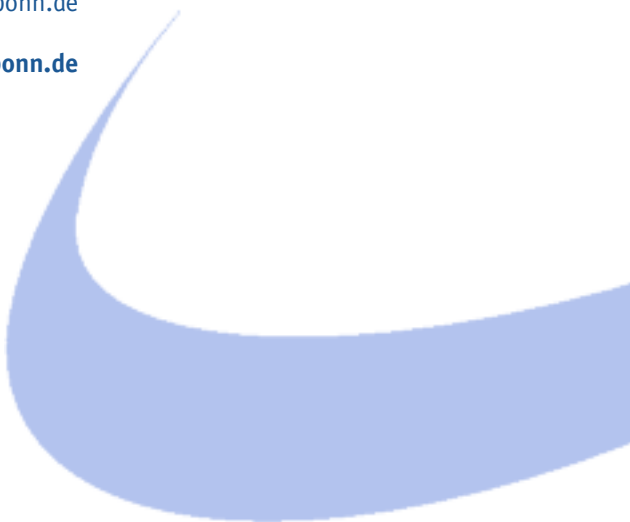
Postfach 14 03 53

53058 Bonn

Service-Telefon 0180/3 34 74 94

info@gkf-bonn.de

www.gkf-bonn.de



Abschlussbericht

Bläschen für eine bessere Fruchtbarkeit

Bei der Untersuchung von Rüdensperma werden regelmäßig Bläschen, sogenannte Vesikel, in der Samenflüssigkeit gesehen. Doch woraus diese Bläschen bestehen und welche Funktion sie haben, wurde bislang nicht erforscht. Dabei gibt es Hinweise darauf, dass die Vesikel einen Einfluss auf die Fruchtbarkeit von Rüden haben. An der Justus-Liebig Universität Gießen hat Sabine Hauck nun erste Erkenntnisse über die geheimnisvollen Bläschen gewonnen. Die Arbeiten wurden von Sandra Kathrin Goericke-Pesch angeleitet und von der gkf unterstützt.

Beim Hund wurden die Vesikel zwar bisher regelmäßig bei Routine Sperma-Untersuchungen gesehen, aber bis vor kurzem wurden sie in der Literatur nicht beschrieben. Man hat jedoch beobachtet, dass die Vesikel vor allem im Sperma von Rüden mit guten Trächtigkeitsraten auftraten. Dies könnte Hinweis darauf sein, dass die Vesikel die Fruchtbarkeit von Rüden fördern.

Auch die Forschungsergebnisse bei anderen Spezies darunter auch dem Menschen weisen darauf hin, dass die Bläschen im Sperma die Fruchtbarkeit verbessern. So ist bekannt, dass die Vesikel bei Mensch, Pferd und Schwein die Beweglichkeit (Motilität) der Spermien fördern und zu ihrer Reifung im

weiblichen Geschlechtstrakt (Kapazitation) beitragen. Bei Mensch und Schwein spielen die Bläschen außerdem eine wichtige Rolle bei der Akrosomenreaktion. Das Akrosom ist die Kopfkappe des Spermiums. Es enthält Enzyme, die die Schutzhülle der Eizelle auflösen, damit das Spermium an dieser Stelle in die Eizelle eindringen kann (Akrosomenreaktion). Beim Pferd sollen sich die Vesikel außerdem positiv auf die Qualität von Tiefgefriersperma auswirken.

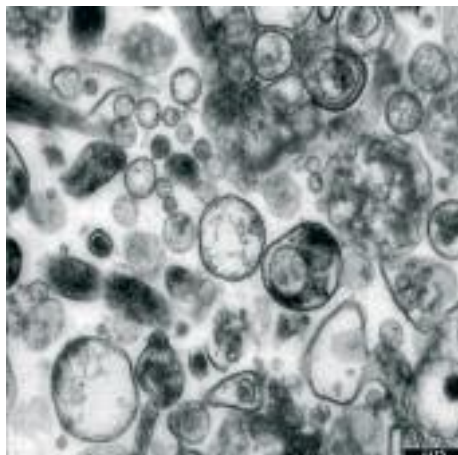
Ziel: Ein erster Steckbrief

Da man über die Vesikel im Rüdensperma bis vor kurzem keine Daten erhoben hatte, ging es Hauck zunächst darum, die Bläschen zu identifizieren und zu charakterisieren. Darüber hinaus überprüfte sie den Einfluss der Vesikel auf die Beweglichkeit von Tiefgefrierspermien, um erste Hinweise auf die funktionelle Bedeutung der Bläschen zu erhalten. Zu diesem Zweck untersuchte sie die Ejakulate von 35 zufällig ausgewählten Rüden verschiedener Rassen im Alter von einem bis elf Jahren. Unter den 35 Tieren waren 31 fruchtbare Rüden, drei Tiere, deren Spermien von der Norm abwichen und ein bereits seit Jahren kastrierter Rüde. Im Einzelnen führte Hauck folgende Arbeiten aus:

- Untersuchung von Vesikelproben mit dem Lichtmikroskop, bei 18 Proben auch mit dem Elektronenmikroskop.
- chemische Analyse der Fettzusammensetzung der Vesikel (Lipidanalyse)
- chemische Analyse der Eiweiße der Vesikel (Proteinanalyse)
- Untersuchung des Einflusses der Vesikel auf die Beweglichkeit (Motilität) von Spermien im Tiefgefriersperma.

Elf verschiedene Vesikel

Bei ihren Untersuchungen fand Hauck heraus, dass sich die Vesikel vor allem in der spermienreichen, zweiten Fraktion des dreiteiligen Rüdenejakulats befanden. In der ersten Fraktion waren hingegen keine und in der dritten Fraktion nur wenige Vesikel zu finden. Hauck konnte insgesamt elf unterschiedliche Vesikeltypen anhand von Merkmalen wie Größe, Struktur, Zusammensetzung und Elektronendichte des Inhalts



Elf verschiedene Vesikel konnten im Rüdensperma charakterisiert werden.

identifizieren. Neben Vesikeln, die mit Substanzen unterschiedlicher Struktur von wolkig bis homogen teilweise oder komplett gefüllt waren, gab es auch Bläschen, die andere Vesikel, sogenannte Tochtervesikel, enthielten.

Bei zwei Rüden mit eingeschränkter Spermienbeweglichkeit waren bei der lichtmikroskopischen Sichtung keine Abweichungen beim Aussehen und der Zusammensetzung der Vesikel festzustellen. Bei einem Rüden mit einer sehr hohen Anzahl von Spermien mit Zytoplasmotropfen waren augenscheinlich wenige Vesikel zu finden. Zytoplasmotropfen sind Reste von Zellmaterial, das Spermien während ihrer Reifung im Nebenhoden normalerweise abstoßen. Die Zytoplasmotropfen können daher auf eine gestörte Samenzellreifung hindeuten. Das Ejakulat des kastrierten Rüden wies lichtmikroskopisch nur kleine Vesikel auf.

Chemische Eigenschaften

Die Lipidanalyse zeigte, dass die Vesikel beim Hund gegenüber humanen Spermien relativ wenig Phosphatidylcholin, aber tendenziell mehr Cholesterol und Sphingomyelin enthalten, was die Unempfindlichkeit der Vesikel gegenüber physikalischen Behandlungen, wie z.B. dem Einfrieren, erklären kann. Wenn die Vesikel mit den Spermien verschmelzen, könnten diese Lipide mit ihren schützenden Eigenschaften auch auf die Samenzellen übertragen werden und so dazu beitragen, dass die Membran, die äußere Schutzhaut der Spermien, stabil bleibt. Dies ist aber bislang nur ein Gedankenspiel und nicht nachgewiesen.

Auch die Proteinzusammensetzung der Vesikel unterschied sich deutlich von der der Spermien. Insbesondere konnten in der Vesikelprobe das Protein Aktin und ein Protein S100A9 identifiziert werden. Das Eiweiß Aktin gehört zu den Bestandteilen des Zytoskeletts, damit bezeichnet man Eiweiße, die die Zelle von innen stützen und strukturieren. Dies deutet darauf hin, dass die Vesikel zellulären Ursprungs sind. Von Protein S100A9 ist bislang nur bekannt, dass es Kalzium bindet. Hier besteht also noch großer Forschungsbedarf.

Die Herkunft der Vesikel konnte leider trotz verschiedener immunochemischer und ultrastruktureller Untersuchungen nicht bestimmt werden. Durch den Nachweis von Vesikeln im Seminalplasma des kastrierten Rüden konnte jedoch eindeutig nachgewiesen werden, dass zumindest ein Teil der Vesikel aus der Prostata stammt.

Beweglichkeit nach Tiefgefrieren

Die Beweglichkeit von Spermien ist ein wichtiges Kriterium für deren Vitalität und Fruchtbarkeit. Um zu überprüfen, ob die Vesikel einen Einfluss auf die Beweglichkeit von aufgetautem Tiefgefriersperma haben, führte Hauck zwei Versuchsansätze aus.

Im ersten Teil wurden Spermien von der restlichen Samenflüssigkeit durch eine besondere Art der Zentrifugation getrennt. Danach wurde ein Teil der reinen Spermienprobe verdünnt und eingefroren (Probe 1). Ein weiterer Teil der reinen Spermienprobe wurde auch verdünnt aber vor dem Einfrieren noch mit einer bestimmten Vesikel-



Normales Rüdensperma



Veränderte Spermien (Knickschwänze) führen zu einer schlechten Fruchtbarkeit.

menge des gleichen Rüden vermischt (Probe 2). Nach dem Auftauen wurde die reine Spermienprobe (Probe 1) nochmals geteilt und einem Teil der Probe Vesikel in der gleichen Menge zugemischt. Auf diese Weise entstanden drei verschiedene Proben für die weiteren Untersuchungen.

- Probe 1: reine Spermien.
- Probe 2: Spermien, die gemeinsam mit Vesikeln tiefgefroren waren.
- Probe 3: Spermien, denen nach dem Auftauen Vesikel zugemischt worden waren.

Im zweiten Teil der Studie wurden reine Spermienproben nach dem Auftauen mit verschiedenen Vesikelproben vermischt. Die Proben unterschieden sich im Gehalt an Samenbläschen, um zu untersuchen, ob die Wirkung der Vesikel auf die Spermienmotilität konzentrationsabhängig ist.

Bei beiden Studienteilen waren deutliche Unterschiede bei der Beweglichkeit der Spermien der verschiedenen Gruppen zu erkennen. Für eine abschließende Bewertung des Effekts der Vesikel auf die Beweglichkeit steht jedoch die statistische Auswertung der Daten noch aus.

Fazit

Die Studie liefert wichtige Informationen über die Struktur und die biochemische Zusammensetzung der Vesikel im Ejakulat von Rüden. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass die Vesikel einen Einfluss auf die Beweglichkeit von Tiefgefriersperma nach dem Auftauen haben - welcher Art dieser Einfluss ist und welche Folgen er für die Qualität des Tiefgefrierspermas hat, kann jedoch erst nach einer statistischen Aus-

wertung der Ergebnisse beurteilt werden. Eventuell könnte das erstmalig in den Vesikeln nachgewiesene Protein S100A9 einen Einfluss auf die Fertilität von Rüden haben. Hier müsste jedoch noch weitergeforscht werden.

(Barbara Welsch)

Titel der Studie

Identifizierung und Charakterisierung vesikulärer Strukturen im caninen Ejakulat sowie Untersuchungen zu deren funktioneller Bedeutung.

Kontakt

Sabine Hauck, Dr. Sandra Goericke-Pesch, Prof. Dr. A. Wehrend
Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie für groß- und Kleintiere mit Tierärztlicher Ambulanz
Frankfurter Str. 106
35392 Gießen
sgp@sund.ku.dk