

## 5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden an frisch ejakulierten Eberspermatozoen Charakteristika zur Chloridionenausschüttung ermittelt. Die Untersuchungen erfolgten in Medien mit fünf verschiedenen HEPES-Konzentrationen, die in Anlehnung an die Konzentration im Androhep-Verdünner ausgewählt wurden. Die Versuche wurden bei Temperaturen von 17°C, 22°C und 38 °C durchgeführt.

Die Werte für die Austauschkonstanten  $k$  und die Fluxe pro Spermium für den Chloridaustausch wurden berechnet. Die Berechnung erfolgte mit individuellen Parametern und vergleichend mit Angaben aus der Literatur. Die Fluxe, die auf Grundlage von individuell erhobenen Werten berechnet wurden, waren geringer als diejenigen berechnet nach Literaturwerten.

Fluxe über das Band-3-Protein der Erythrozytenmembran können durch den Einsatz von Kanalblockern um 60 % bis 70 % reduziert werden. In der vorliegenden Arbeit konnten die Chloridfluxe durch den Einsatz der effektiven  $\text{Cl}/\text{HCO}_3$ -Transportblocker DIDS und SITS bei 22°C und 25 mmol/l HEPES reduziert werden. Die Reduzierung lag bei 60 % bis 80 %, durch DIDS ließ sich zusätzlich der Protonenflux bis zu 90 % hemmen. Die ermittelten Unterschiede in den Effluxen waren nicht signifikant.

Für eine Pufferkonzentration von 5 mmol/l HEPES waren die Transmembranpotentiale bei einer Versuchstemperatur von 38°C signifikant ( $p \leq 0,05$ ) niedriger als bei 17°C. Bei Raumtemperatur und 5 mmol/l HEPES waren die Werte von Eber 2 signifikant ( $p \leq 0,05$ ) erniedrigt gegenüber den anderen drei Ebern, bei 15 mmol/l HEPES waren die Transmembranpotentiale für Eber 4 signifikant ( $p \leq 0,05$ ) höher als für Eber 1, 2 und 3.

Chlorideffluxes waren bei 22°C und einer Pufferkonzentration von 38 mmol/l HEPES signifikant geringer als bei 50 mmol/l HEPES. Für Eber 2 wiesen die Fluxe pro Spermium bei einer Versuchsbedingung von 38°C und 5 mmol/l HEPES signifikant ( $p \leq 0,05$ ) höhere Werte auf als bei Eber 4.

Im Verlauf der Versuche kam es zu einer signifikanten ( $p \leq 0,05$ ) Verringerung der Spermiovolumina. Zum Zeitpunkt der Gleichgewichtseinstellung unterschieden sich die Volumina der Spermatozoen von den untersuchten Eber für die Versuchsbedingung bei  $38^\circ\text{C}$  und  $38 \text{ mmol/l}$  HEPES signifikant ( $p \leq 0,05$ ) von fast allen anderen bei Raumtemperatur.

Die Prozentzahl lebender Spermien zum Zeitpunkt des Chloridgleichgewichtes war bei  $38^\circ\text{C}$  und  $38 \text{ mmol/l}$  HEPES signifikant niedriger als bei den anderen Versuchsbedingungen.

Das Verhältnis von intrazellulärer zu extrazellulärer Chloridkonzentration war bei einer Versuchsbedingung von  $17^\circ\text{C}$  und  $38 \text{ mmol/l}$  HEPES signifikant niedriger gegenüber  $22^\circ\text{C}$  und  $38 \text{ mmol/l}$  HEPES. Bei Raumtemperatur und einer Pufferkonzentration von  $5 \text{ mmol/l}$  HEPES waren die Werte für Eber 2 signifikant niedriger als für Eber 1, 3 und 4. Bei  $15 \text{ mmol/l}$  HEPES waren die Werte für Eber 4 signifikant höher als für Eber 1, 2 und 3.

Die Ergebnisse zeigen, daß die Reaktionsmöglichkeiten der Spermatozoen von den unterschiedlichen Versuchsbedingungen beeinflußt werden. Außerdem weisen die Resultate auf eberspezifische Eigenschaften der Spermien hin.

Die beobachteten Variabilitäten konnten für die Konservierungsfähigkeit von Eberjakulaten bedeutend sein.

Alexandra Forstreuter

Examinations to chloride exchange on fresh ejaculated boar spermatozoa using ionselective electrodes

## 6 Summary

In the present paper the characteristics of chloridion release from fresh ejaculated boar spermatozoa were studied. The examinations were made in solutions with five different concentrations of HEPES, following the concentration of Androhep-dilution. The selected temperatures were 17°C, 22°C and 38°C.

Values for the exchange constant  $k$  and the flux per spermatozoa were calculated. The calculation was based on individual parameters and on values given in the literature. The calculated flux based on individual parameters is lower than the one based on literature values.

The anion exchange of band-3-protein in the plasma membrane of human erythrocytes can be reduced by 60 % - 70 % using channel-blockers. In the present study on boar spermatozoa the chloride efflux at 22°C and 25 mmol/l HEPES was also reduced by 60 % - 80 % using DIDS and SITS, two effective blockers of chloride-bicarbonate-transport. In addition using DIDS the proton exchange was blocked up to 90 %. Differences between the results were not significant.

At 38°C and 5 mmol/l HEPES the membrane potentials were significantly lower compared to 17°C. The results of boar 2 were significantly lower than the results of the three other boars. At a concentration of 15 mmol/l HEPES the membrane potential for boar 4 was significantly higher than the values for boar 1, 2 and 3.

The chloride efflux at 22°C and 38 mmol/l HEPES was significantly lower as in case of 50 mmol/l HEPES. In the flux per spermatozoa the values for boar 2 at 38°C and 5 mmol/l HEPES were significantly higher than the values for boar 4.

During the measurements the volume of the spermatozoa decreased significantly. At the point of equilibrium the volume at 38°C and 38 mmol/l HEPES was significantly lower than most other test conditions.

The percentage of viable spermatozoa was significantly lower at 38°C and 38 mmol/l HEPES compared with the other test conditions.

At 17°C and 38 mmol/l HEPES the relation of the chloride concentration between intra and extra cellular was significantly lower than 22°C and 38 mmol/l HEPES. At 22°C and 5 mmol/l HEPES the results for boar 2 were significantly lower than the values for boar 1, 3 and 4. At a concentration of 15 mmol/l HEPES the values for boar 4 were significantly higher than the results for boar 1, 2 and 3.

The results show that the reactions of the spermatozoa are influenced by the different test conditions. Besides the results point to individual characteristics of the sperm cells.

The observed variabilities could be important for the conservation of boar ejaculates.