

6. Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit diente der Erforschung der Plasmamembran von Eberspermien und ihrer Transportmechanismen unter Berücksichtigung kapazitationsbedingter Veränderungen. Ziel war die Erweiterung des Kenntnisstandes über die Wechselwirkungen der Sarnetzellen mit ihrem umgebenden Milieu und hierauf aufbauend die Gewinnung eines ergänzenden Parameters zur Beurteilung der Ejakulatqualität. Als Beurteilungskriterium dienten hierbei Zellvolumenänderungen als Äußerung der osmotischen Leistungen im Laufe einer Kapazitationsinkubation. Ermittelt wurden die Volumina in hypo- und isoosmotischer Lösung unter Verwendung eines Partikelzählgerätes. Begleitend wurde eine computergestützte Motilitätsanalyse sowie eine mikroskopische Überprüfung der Membranintegrität und des Kapazitationserfolges durchgeführt.

Es konnten folgende Zusammenhänge abgeleitet werden:

1. Als Antwort auf die Fertilisationsbedingungen kommt es zu einer Einschränkung der volumenregulatorischen Leistungen, die mit einer voranschreitenden Destabilisierung der Plasmamembran einhergehen.
2. An der Membran von Eberspermien konnte die Beteiligung quinine-sensitiver K^+ -Kanäle an der Volumenregulation nachgewiesen werden. Diese Kanäle scheinen unter einer Kapazitationsbehandlung in ihrer Funktionalität eingeschränkt zu werden.
3. Die durch Ouabain hemmbare Na^+/K^+ -ATPase könnte an der Volumenregulation unter isoosmotischen Bedingungen beteiligt sein. Für die Regulation unter hypoosmotischen Bedingungen scheint sie jedoch nicht von direkter Bedeutung zu sein. Denkbar ist eine indirekte Beteiligung dieses Enzym an der Aktivierung anderer Transportmechanismen, über die Aufrechterhaltung des Membranpotentials.
4. Progesteron führt zu einer herabgesetzten Regulationsleistung, welche kapazitationsbedingt voranschreitet. Das Hormon beeinflusst die isoosmotische Regulation, wobei hier möglicherweise eine Hemmung der Na^+/K^+ -ATPase vorliegt. Die Einschränkung der hypoosmotischen Regulation könnte beispielsweise durch eine Hemmung von K^+ -, Cl^- - oder Ca^{2+} - Kanäle erklärt werden.
5. Für die Volumenregulation konnte eine signifikante Estradiolsensitivität nachgewiesen werden, wobei hier die Aktivierung von Kaliumkanälen vermutet wird, welche den Kaliumefflux für einen schnellen osmotischen Ausgleich forcieren können.

Möglicherweise werden neben den Kaliumkanälen weitere Transportmechanismen beeinflusst

6. Es konnten individuell unterschiedliche Regulationsleistungen ermittelt werden, was auf Unterschiede in Art und Anzahl membranal Transportmechanismen innerhalb einer Art hindeutet.
7. Für das Ausmaß der Regulationsfähigkeit scheint sowohl die Anzahl der Chloridkanäle als auch deren Aktivierbarkeit von großer Bedeutung zu sein. Möglicherweise ist die Aktivierung der Kanäle kapazitations- und/oder kalziumabhängig
8. Lagerungsbedingt nimmt die Fähigkeit zur Volumenregulation ab, wobei hier individuelle Unterschiede nachweisbar sind.
9. Eine herabgesetzte Regulationsleistung geht mit einem verminderten Befruchtungserfolg einher, und könnte daher möglicherweise bei der Qualitätsbeurteilung Hilfestellung leisten
10. Durch gleichzeitige Erfassung mehrerer spermatologischer Parameter unter Kapazitationsbedingungen (Akrosomreaktion/Rückbildungsvermögen) wird eine bessere Vorhersage der Befruchtungsfähigkeit möglich (Anteil normal entwickelter Embryonen)

Melanie Hebel:

Volume regulation and its causes: mechanisms of transport in boar spermatozoa with respect to fertilizing conditions.

7. Summary

This study investigated the plasma membrane of boar spermatozoa, with reference to mechanisms of transport, considering capacitation-induced changes. The goal was to get more information about the interactions of spermatozoa and their medium, and furthermore to get a complementary information in the quality assessment of ejaculates. Traits were the volume changes of cells, as an expression of osmotic output during a capacitation treatment, investigating the cell volume of spermatozoa in a hypo- and isosmotic medium using a particle counter. Simultaneously a computer assisted motility analyse was performed, as well as an microscopical assessment of the membrane integrity and the success of the capacitation progress.

The following conclusions could be derived:

1. As an answer to the fertilising conditions a decrease in the volume regulating abilities occurred, accompanied by an increasing destabilisation of the plasma membrane.
2. At the membrane of boar spermatozoa seem to be quinine-sensitive K^+ -channels present, with relevance for volume regulating mechanisms. Furthermore it seems that the functionality of these channels were restricted during in-vitro-capacitation.
3. Na^+/K^+ -ATPase, which can be inhibited by Ouabain, may be involved in isosmotic volume regulation. It does not seem to have a direct role in volume regulation in hypoosmotic solutions. But according to the membrane potential, there could be a relevance for several activating mechanisms.
4. The use of Progesterone led to a restriction in the regulating mechanisms, which increased within the time of capacitation. Concerning the isosmotic regulation a blocking effect on the activity of the Na^+/K^+ -ATPase seems possible. The hypoosmotic regulation could be explained by K^+ -, Cl^- - or Ca^{2+} - channels.
5. A notable sensitivity for Estradiol could be shown by an significant increase in volume regulation. It was supposed, that an activation of K^+ - channels initiated an efflux of potassium, and by this way a fast osmotic balance. Estradiol conceivably seemed to influence more than one mechanism of transport, too.

6. Looking at the changing ability of volume regulation in the individual boar, it is presumed that the kind and the number of mechanisms of transport are differing even between animals of one species.
7. The dimension of this regulation capacity seems to be, among others, relative to the number of chlorid channels and their capability to get activated. This activation could possibly be dependent on the capacitation progress and/or calcium.
8. Concerning storage of semen, the ability of volume regulation decreases, whereas individual variances could be shown.
9. A reduced capability in regulation seems to be related to a decrease in fertilising success, so that this parameter could possibly help to predict the quality of ejaculates.
10. The assessment of more than one spermatological parameter (acrosomereaction/volume decrease) under the conditions of in-vitro-capacitation improves the diagnostic of fertilizing capability (rate of normal developed embryos)