

6. Zusammenfassung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte die Möglichkeit untersucht werden, die Qualität spermatologischer Parameter auch im Hinblick auf die Tiefgefriertauglichkeit durch exogene Zufuhr eines GnRH - Analogons positiv zu beeinflussen. Der Zeitpunkt der Untersuchungen lag ausserhalb der Zuchtsaison, da zum einen die Tiefgefrierung equiner Ejakulate aus organisatorischen Gründen in dieser Zeit erfolgt, zum anderen hier die endogene hormonelle Stimulation der Deckhengste am geringsten ist und eine GnRH - Stimulation in dieser Zeit effektiv zu erhöhten Stereoidkonzentrationen führt und somit Einfluss auf die Reproduktionsfunktion eines Hengstes nimmt.

In der als Doppelblindversuch angelegten Arbeit erhielten 12 Warmbluthengste des Niedersächsischen Landgestüts in Celle 2 mal täglich eine intramuskuläre Injektion von 50 µg Buserelin* / in 1 ml Lösungsmittel oder das Placebo (1 ml des Lösungsmittels) enthielten. Sowohl 6 Wochen vor als auch 2 Wochen nach der GnRH - Behandlungsperiode (6 Wochen) wurde von allen 12 Hengsten Samen entnommen und sowohl nativ, zentrifugiert als auch aufgetaut untersucht.

Als Parameter der Untersuchung gingen die Motilität, die Spermienmorphologie sowie verhaltensphysiologische Aspekte des Sexualverhaltens in die Auswertungen ein. Die Spermienmotilität wurde mittels Computervideomikrografie ermittelt. Zur Erfassung der Membranintegrität wurde eine CFDA-PI - Färbung angewandt, für die Ermittlung des akrosomalen Status eine Chlortetracyclin (CTC) - Färbung. Mit Eosin - Nigrosin gefärbte Ausstriche gaben Auskunft über die Vitalität der Samenzellen sowie über pathologische Spermienformen. Ein Hypoosmotischer Belastungstest (HOS) gab zusätzlich Aufschluss über die funktionelle Integrität der Samenzellmembran. Sämtliche Daten wurden mittels Korrelationsanalyse auf ihre Beziehungen zueinander untersucht. Zur Evaluierung des Sexualverhaltens wurden sowohl Zeitmessungen als auch Hinschätzungen der Geschlechtslust vorgenommen.

Es wurden folgende Ergebnisse erzielt:

- Das Sexualverhalten der Hengste (Zeit bis zur Ejakulation, Anzahl der Aufsprünge auf das Phantom und die Geschlechtslust) konnte unter der Behandlung bei den Hengsten der GnRH - Gruppe im Vergleich zu vor und nach der Behandlungsperiode signifikant verbessert werden.
- Unter der GnRH-Behandlung konnte bei der GnRH-Versuchsgruppe eine gesteigerte Spermienkonzentrationsfähigkeit festgestellt werden. Auf das Volumen hatte die Behandlung keinen Einfluss genommen.
- Während des GnRH-Behandlungszeitraumes waren signifikant höhere Anteile an hypoosmotisch reaktiven Spermienzellen in den nativen Ejakulaten der behandelten Hengste vorhanden.
- Die Motilitäten des aufgetauten Samens waren signifikant besser innerhalb der Behandlungsperiode, die aufgetauten Ejakulate enthielten signifikant mehr membranintakte Spermien (CFDA-PJ 1), sowie Spermien mit Schwanzschwellung nach hypoosmotischer Belastung. Des weiteren konnten auch die Motilitätsverluste, die durch den Prozess der Tiefgefrierung entstehen, signifikant verringert werden.
- Durch eine GnRH - Supplementierung konnten die Schäden, die das Sperma durch den Prozess der Kryokonservierung erfährt, hinsichtlich der Anteile lebender Spermienzellen (Eosin-Nigrosin, lebend) signifikant, auch im Vergleich zur Kontrollgruppe, verringert werden.
- Die Hengste mit empirisch ungünstiger Tiefgefriereignung der GnRH - Gruppe sprachen überwiegend besser auf die GnRH - Behandlung an; die Verluste lebender Spermienzellen durch den Prozess der Tiefgefrierung konnten im Vergleich zu den Hengsten mit

empirisch guter Tiefgefriertauglichkeit im Behandlungszeitraum effektiver minimiert werden.

- Die fluoreszenzmikroskopischen Färbungen CFDA-PI und CTC, sowie die Eosin - Nigrosin- Färbung korrelieren signifikant miteinander und darüber hinaus bestanden signifikante Korrelationen zu den Motilitätsergebnissen.
- Der Hypoosmotische Belastungstest (HOS) stellte sich im Rahmen der Nativsamen - Untersuchung als nicht geeignet heraus, da keine signifikanten Korrelationen zu anderen Untersuchungsparametern des ungefrorenen Samens bestanden, hingegen korrelierten Untersuchungsergebnisse des HOS signifikant mit den übrigen Parametern der aufgetauten Ejakulate. Gleichwohl korrelierten Ergebnisse des HOS im Nativsamen mit den Auftaumotilitäten, so dass der Hypoosmotische Belastungstest zur prognostischen Einschätzung der Tiefgefriertauglichkeit verwendbar erscheint.

7. Summary

Weinrich, Sabine:

Influence of GnRH treatment on sexual behaviour and spermatological parameters in warmblood stallions during the nonbreeding season.

In the present study the possibility of a positive effect to the deep freezing quality of stallion semen by administration of the GnRH - Analogon Buserelin was tested.

Semen collection and preservation of this thesis were carried during the nonbreeding season, when the stallions hormonal stimulation is less and the cryopreservation is routinely carried out. At this time the hormone level of stallions is lower than in the breeding season, thus a GnRH - stimulation could influence the steroid concentration and could cause an increase in stallions reproductive function.

This study was performed as a double blind investigation including 12 stallions of the Niedersächsisches Landgestüt in Celle treated twice daily by an i.m. injection of 1 ml GnRH (Buserelin® , 50 µg) or placebo. The treatment period of a total of 6 weeks was preceded by a 6 weeks period and followed by a two weeks period without any treatment. Semen collection was performed the whole time. The semen was investigated immediately after collection, after centrifugation and post frozen-thawed. Semen evaluation included some quantitative semen parameters, motility and sperm morphology. Several aspects of stallions sexual behaviour has been studied also.

Motility was determined using a computerised semen analyser. Membrane integrity was checked by combined carboxyfluoresceinediacetate - (CFDA) propidiumiodide (PI) staining. For evaluation of sperm capacitation status chlortetracycline- staining (CTC) was used. The vitality and sperm morphology were assessed by an eosine-nigrosine stain (E.N.). To evaluate functional integrity of the sperm membrane and the hypoosmotic swelling test (HOS) was used.

The following findings were observed:

- The GnRH - treatment has been shown to influence male sexual behaviour positively.
- The spermcell concentrations of the ejaculates increased during the GnRH treatment, while the volume was not influenced by GnRH.
- Under GnRH treatment more native spermcells showed reaction under hypoosmotic condition.
- The treatment had also influenced in case of native and frozen-thawed sperm motility and the percentage of membrane intact sperm cells (CFDA-PI 1).
- The percentage of dead sperms which usually increase by the process of cryopreservation could decreased significantly by parenteral administration of the GnRH - Analogon Buserelin[®].
- A significant correlation was seen between the results of fluorescence stainings and the eosine-nigrosine staining. Also there were significant correlations between the different staining methods and sperm motility in native, centrifugated and frozen-thawed semen.
- The results of the HOS didn't correlate with staining methods and motility in native semen, however in post frozen-thawed semen. Nonetheless the results of HOS in native semen correlated significantly with staining methods and sperm motility of frozen-thawed semen.