

6 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde das osmotische Reaktionsvermögen des Zellvolumens boviner Spermien untersucht. Außerdem sollte ein Zusammenhang zu Natrium- und Kalium-Konzentration sowie zur Osmolalität des Seminalplasmas geprüft werden. Ferner wurden die 56-Tage-Non-Return-Raten der untersuchten Bullen in die Auswertung einbezogen.

Dazu wurden über einen Zeitraum von 20 Wochen (Dezember bis April) insgesamt 380 Ejakulate von 22 Besamungsbullen untersucht, die in zwei Gruppen aufgeteilt waren. Die routinemäßig gewonnenen Ejakulate wurden auf Massenbewegung, Anteile der vorwärtsbeweglichen Spermien einschließlich Bewegungsintensität vor und nach der Verdünnung sowie vor und nach Tiefgefrierung untersucht. Aus den Motilitätswerten wurde die Summe Σ Standardparameter gebildet. Das Zellvolumen der Spermien, die in isotonen (300 mOsmol/kg) und hypotonen (150 mOsmol/kg) Medien für 5 Minuten suspendiert worden waren, wurde mit einem computergestützten Zellanalysegerät gemessen. Dieses ermöglicht die Auswertung von Volumen- und Durchmesserbestimmung ganzer Spermienpopulationen. Zusätzlich wurden die Quotienten q' (durchschnittl. Volumen_{hypoton(korr.)} / durchschnittl. Volumen_{isoton}) bzw. m' der Modalwerte (Maximum_{Durchmesser isoton} / Maximum_{Durchmesser hypoton(korr.)}) dokumentiert. Das Seminalplasma wurde mittels Zentrifugation von den Spermien getrennt und flammenphotometrisch auf seine Natrium- und Kalium-Konzentration geprüft. Aus den Ergebnissen wurde der Quotient y (Na^+ -Konzentration / K^+ -Konzentration) gebildet. Die Osmolalität des Seminalplasmas wurde mit der Gefrierpunktniedrigungsmessmethode festgestellt.

Die Untersuchungen führten zu folgenden Ergebnissen:

1. Das mittlere Volumen der Spermien aller untersuchten Ejakulate im isotonen Medium betrug $35,36 \pm 6,10 \text{ fl}$, im hypotonen Medium betrug es $62,22 \pm 4,32 \text{ fl}$ (Korrekturfaktor_{hypoton} $k = 1,39$). Zwischen den Spermien der Gruppen A und B wurde kein Unterschied festgestellt.

2. Der Durchmesser der meisten Spermien (Modalwert) betrug im isotonen Medium $2,51 \pm 0,22 \mu\text{m}$ und im hypotonen Medium $3,92 \pm 0,32 \mu\text{m}$ (Korrekturfaktor_{hypoton}: $k' = 1,12$, keine Unterschiede zwischen den Gruppen A und B).
3. Die durchschnittliche Natrium-Konzentration des Seminalplasmas betrug $90,38 \pm 25,13 \text{ mmol/l}$ mit schwach signifikanten Unterschieden ($p < 0,05$) zwischen Gruppe A und B (Gruppe A: $101,49 \pm 24,23 \text{ mmol/l}$, Gruppe B: $79,85 \pm 21,15 \text{ mmol/l}$).
4. Die Kalium-Konzentration lag im Mittel bei $66,47 \pm 22,97 \text{ mmol/l}$. Auch hier gab es einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen ($p = 0,015$, Gruppe A $55,63 \pm 21,86 \text{ mmol/l}$, Gruppe B: $76,75 \pm 18,95 \text{ mmol/l}$).
5. Die durchschnittliche Osmolalität des Seminalplasmas betrug $0,341 \pm 0,028 \text{ Osmol/kg}$.
6. Der Quotient q' ist mit dem Quotienten y schwach signifikant negativ korreliert ($r = -0,44$, $p < 0,05$), das heißt, das volumetrische Reaktionsvermögen der Spermien unter osmotischer Belastung ist geringgradig abhängig vom Verhältnis der Natrium- und Kalium-Konzentration im Seminalplasma.
7. Es besteht ein Zusammenhang ($r = 0,68$, $p < 0,001$) zwischen dem Quotienten q' und den ermittelten qualitativen Standardparametern (Σ_{sp}).
8. Der Quotient y des Seminalplasmas ist mit der Summe_{Standardparameter} hochsignifikant negativ korreliert ($r = -0,82$, $p < 0,001$). Damit wurde auch für Bullenspermien dieser Zusammenhang bestätigt.
9. Die Osmolalität des Seminalplasmas ist nur mit der Massenbewegung der Spermien schwach korreliert ($r = 0,49$, $p < 0,05$). Zur Summe_{Standardparameter} besteht kein Zusammenhang.
10. Die Konzentrationen von Natrium und Kalium im Seminalplasma sind hochsignifikant miteinander korreliert ($r = -0,92$, $p < 0,001$).
11. Es bestehen zum Teil inter- und auch intraindividuelle Unterschiede in den Untersuchungsergebnissen.

12. Die Kombination der Ergebnisse der volumetrischen Untersuchung mit den ermittelten Konzentrationen von Natrium und Kalium im Seminalplasma ermöglichen mit Hilfe einer multiplen Regressionsanalyse eine Verbesserung der Genauigkeit der Fertilitätsprognose

7 Summary

Silke Stahlberg (1999)

Analysis of the osmotic reactivity of cell volume in bovine spermatozoa

In the present study the osmotic reactivity of cell volume of bovine spermatozoa was examined. In addition there was to be proven a relationship between concentration of sodium and potassium as well as osmolality in seminal plasma. The 56-days-non-return-rates of the examined bulls were also drawn into evaluation.

Over a period of 20 weeks (December to April) 380 ejaculates of 2 groups of 11 AI-bulls were analysed. The ejaculates, collected routinely, were evaluated for mass motility, percentage of motile spermatozoa and intensity of motility before and after dilution and before and after cryoconservation. The different motility values were summed up to $\Sigma_{\text{Standardparameter}} (\Sigma_{SP})$. The cell volume of spermatozoa, incubated in isotonic (300 $mOsmol/kg$) and hypotonic (150 $mOsmol/kg$) solutions for 5 minutes, were analysed with a computer-aided cell-analyser. It allows the evaluation of volume and diameter of whole sperm-populations. Additional quotients q' ($\text{mean volume}_{\text{hypotonic (low)}} / \text{mean volume}_{\text{isotonic}}$) and m' ($\text{maximum diameter}_{\text{isotonic}} / \text{maximum diameter}_{\text{hypotonic (low)}}$) were documented. The concentration of sodium and potassium in the seminal plasma, centrifuged and separated from spermatozoa, was analysed by flamephotometric analysis. The results were documented as quotient y (Na'/K'). Osmolality of the seminal plasma was analysed by measurement of freezing point-depression.

The following results were obtained:

1. The mean volume of spermatozoa in isotonic solution was $35,36 \pm 6,10 \text{ fl}$, in hypotonic solution $62,22 \pm 4,32 \text{ fl}$. The values of mean volume under hypotonic conditions are corrected by factor $k = 1,39$.

- 2 The diameter of most of the spermatozoa in isotonic medium was $2,51 \pm 0,22 \mu m$, in hypotonic medium it was $3,92 \pm 0,32 \mu m$ (The values under hypotonic conditions are corrected by factor $k' = 1,12$).
- 3 The average concentration of sodium in seminal plasma was $90,38 \pm 25,13 \text{ mmol/l}$ with a weak significant difference ($p < 0,05$) between group A and B.
- 4 The concentration of potassium in seminal plasma was $66,47 \pm 22,97 \text{ mmol/l}$. There was a significant difference between the groups, too ($p = 0,015$).
- 5 The average osmolality of seminal plasma was $0,341 \pm 0,028 \text{ mOsmol/kg}$
- 6 Quotient q' is negatively related to quotient y with a low significance ($r = -0,44, p < 0,05$), this means volumetric reaction of spermatozoa under osmotic stress depends to a minor degree on the seminal plasmas concentration of sodium and potassium
- 7 There is significance ($p < 0,001$) for correlation ($r = 0,68$) between quotient q' and motility parameters (Σ_{SP})
- 8 Quotient y of seminal plasma shows a highly significant correlation to (Σ_{SP}) ($r = -0,82, p < 0,001$). As a consequence, correlation in these parameters is confirmed for bull spermatozoa, too
- 9 Osmolality of seminal plasma has a minor correlation to mass motility of spermatozoa ($r = 0,49, p < 0,05$). There is no relation to $\Sigma_{standardparameter}$
- 10 The concentration of sodium and potassium of the seminal plasma show a highly significant correlation in relationship to each other ($r = -0,92, p < 0,001$)
- 11 The results show noticeable inter-individual and intra-individual differences
- 12 Combination of results of the volumetric analysis with measured concentrations of sodium and potassium in seminal plasma allow with help of a multiple regression analysis a more accurate fertility-prediction.