



vor allem im Sperma von Rüden mit guten Trächtigkeitsraten auftraten. Dies könnte Hinweis darauf sein, dass die Vesikel auch die Fruchtbarkeit von Rüden fördern.

## Ziele der Studie

Die von der gkf geförderte Studie zur Erforschung der Vesikel im Rüdensperma hat im Einzelnen folgende Ziele:

- Weiterentwicklung von Methoden zur Gewinnung reiner Vesikel.
- Wissenschaftliche Beschreibung und biochemische Analyse der Bläschen.
- Suche nach dem Ursprungsorgan der Vesikel.
- Überprüfung der fruchtbarkeitsfördernden Wirkung der Vesikel.
- Überprüfung, ob sich die Vesikel positiv auf die Qualität von Tiefgefrüespermien auswirken.

Im Rahmen der Voruntersuchungen zu der aktuellen Studie, stellte man fest, dass die Verfahren der Vesikel-Isolierung und Gewinnung bei anderen Spezies beim Rüden keinen Erfolg haben. Das liegt wahrscheinlich daran, dass die Bläschen den Spermien in Größe und Dichte sehr ähnlich und deshalb von ihnen schwer zu trennen sind. Mittlerweile hat man in zahlreichen Versuchsreihen, die Zentrifugationsdauer und -geschwindigkeit so verändert, dass die Gewinnungsrate besser geworden ist, aber es ist noch nicht gelungen, die Vesikel völlig rein zu gewinnen, weshalb das Verfahren, eine Kombination aus Zentrifugation und Gelfiltration, noch weiter entwickelt werden muss.

## Vesikel unter der Lupe

Nach einer sorgfältigen spermatologischen Untersuchung von Samenflüssigkeit, die Vesikel enthält, werden die Bläschen mit dem noch zu entwickelnden Verfahren in möglichst reiner Form gewonnen. Anschließend wird Hauck das Aussehen der Vesikel „unter die Lupe“ nehmen und die Bläschen sowohl lichtmikroskopisch als auch elektronenmikroskopisch untersuchen. Dabei wird sie Aussehen, Struktur und Größe der Bläschen aufzeichnen. Im Anschluss daran werden mit verschiedenen Methoden Protein- und Lipidanalysen durchgeführt, um ein Bild der chemischen Zusammensetzung der Vesikel zu bekommen.

Im Anschluss daran wird Hauck nach dem Ursprungsorgan der Vesikel fahnden. Hierzu setzt sie zwei Verfahren ein. Das erste Verfahren beruht darauf, dass jedes Organ und damit auch jedes Material, das von ihm stammt, bestimmte chemische Marker aufweist: Falls die Vesikel aus dem Hoden stam-

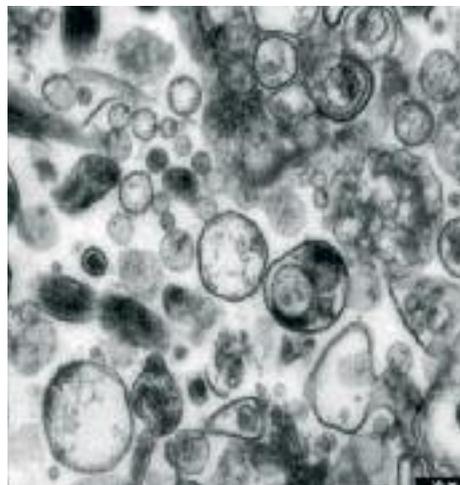


Abb. 2: Aufgereinigte Vesikel im Rüdensperma

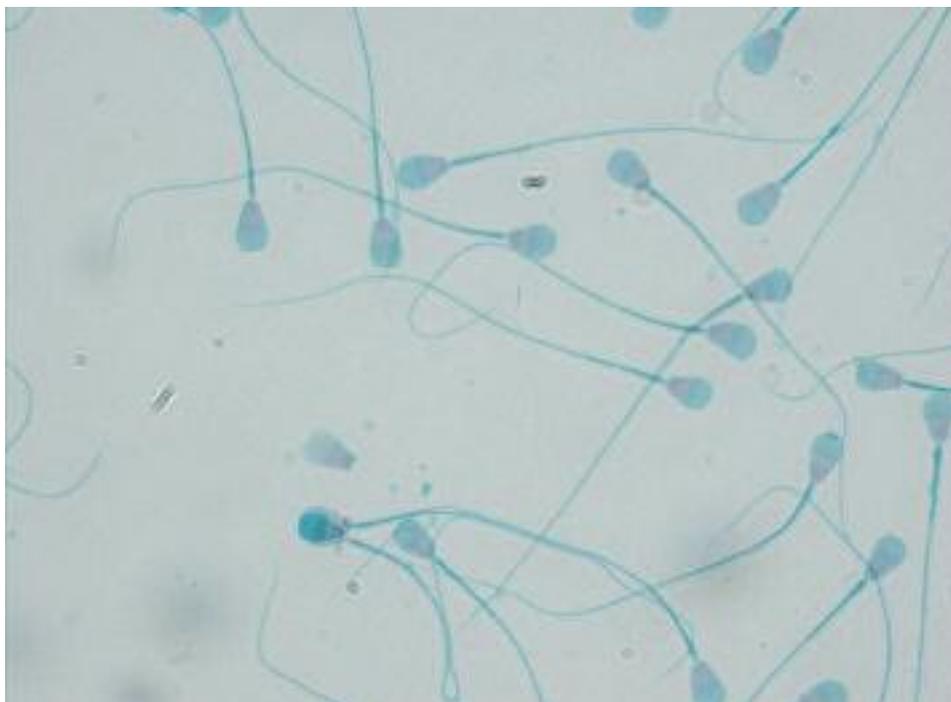


Abb. 3: Normales Rüdensperma

men, müssten sie also Hoden-Marker tragen, ist der Nebenhoden das Ursprungsorgan, wären Nebenhoden Marker zu erwarten usw. Im zweiten Verfahren sucht Hauck direkt nach den Vesikeln in aufbereiteten Gewebeproben von Hoden, Nebenhoden und Prostata.

## Funktion der Bläschen

Im letzten Teil der Studie steht die funktionelle Bedeutung der Vesikel auf dem Prüfstand. Mithilfe des Zona pellucida-Bindungsassays wird der Einfluss von Vesikeln auf das Sperma von Rüden mit einer eingeschränkten Zeugungsfähigkeit (Subferti-

tät) getestet. Die Zona pellucida ist die Schutzhülle der Eizelle, an die die Samenzelle zuerst binden muss, um schließlich in die Eizelle zu gelangen und sie zu befruchten. Beim Zona pellucida-Bindungsassay wird die Bindungsfähigkeit der Spermien überprüft, indem Samenzellen und Eizellen, die aus den Eierstöcken kastrierter Hündinnen stammen, miteinander bebrütet werden. Anschließend wird ausgezählt, wie viele Spermien sich an die Zona pellucida geheftet haben. Dieser Test wird mit dem Sperma subfertiler Rüden sowohl ohne als auch mit dem Zusatz von aufgereinigten Vesikeln durchgeführt.

In einer weiteren Versuchsreihe soll festgestellt werden, ob die Vesikel eine Qualitäts-

verbesserung bei Tiefgefriersperma bewirken. Auch hier wird jeweils einmal mit und einmal ohne Zusatz von aufgereinigten Vesikeln getestet. Das Testmaterial stammt von verschiedenen Rüden, deren Sperma jeweils vor und nach dem Gefrieren mit und ohne Zusatz von Vesikeln eingehend auf seine Beweglichkeit, den Anteil toter und lebender Samenzellen sowie den Anteil formveränderter Spermien untersucht wird. Die gesamte Studie wird etwa zwölf Monate dauern. Sollten sich die zugrunde gelegten Hypothesen bestätigen, hätte sie entscheidende Auswirkungen auf die Reproduktionsmedizin und die gesamte Hundezucht, weil die Fruchtbarkeit genetisch wertvoller Vartiere gezielt gefördert werden könnte. *(Barbara Welsch)*

**Titel des Forschungsvorhabens**  
**Identifizierung und Charakterisierung vesikulärer Strukturen im caninen Ejakulat sowie Untersuchungen zu deren funktioneller Bedeutung.**

**Kontakt**

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  
 06 41 - 9 93 87 07  
[sandra.goericke-pesch@vetmed.uni-giessen.de](mailto:sandra.goericke-pesch@vetmed.uni-giessen.de)



Abb.4: Veränderte Spermien (Knickschwänze) führen zu einer schlechten Fruchtbarkeit